

Uso de fibra óptica modificada para evitar el efecto de auto sombreado en cultivos de microalgas



Rafael Hernández Walls¹, Claudia Moreno Miranda²,
Enrique Valenzuela³, Zaúl García-Esquivel³

¹Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California,
Kilómetro 103 Carretera Tij.-Ens., CP 22860, Ensenada B.C., México.

²Instituto Nacional de Pesca. Centro Regional de Investigación Pesquera, Ciudad del
Carmen, Campeche. Ave. Héroes del 21 de Abril s/n esq. calle 26. Col Playa Norte, C.P.
24115. Cd. del Carmen, Campeche.

³Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California,
Kilómetro 103 Carretera Tij.-Ens., CP 22860, Ensenada B.C., México.

E-mail: rwalls@uabc.edu.mx

(Recibido el 7 de Enero de 2013; aceptado el 23 de Junio de 2013)

Resumen

En los cultivos tradicionales de microalgas no siempre se alcanza la concentración óptima, ya que estos llegan a presentar lo que se conoce como el fenómeno de auto sombreado. Atendiendo a lo anterior y basándonos en lo que sucede en la naturaleza, en este trabajo se propone el uso de las fibras ópticas modificadas para ser usadas en los cultivos tradicionales y disminuir con esto el efecto de auto sombreado. Para que las fibras ópticas puedan servir como un sistema de iluminación eficiente dentro de los cultivos de microalgas, fue necesario encontrar la mejor forma de grabar irregularidades sobre la superficie de estas. Aún cuando existen dos diferentes tipos de fibras ópticas comerciales (las formadas con sílice y las formadas con polímeros), este estudio sólo consideró las formadas por polímeros. La mejor técnica de grabado de irregularidades para estas fibras ópticas fue la realizada con abrasión mecánica. Al comparar los resultados preliminares, del uso de fibras en el reforzamiento de luz para un cultivo de *Isochrysis sp.*, se encontró que se puede mejorar la razón de concentración de microalgas en el cultivo hasta en un 20% más que lo logrado con el uso de iluminación tradicional.

Palabras clave: Fibra óptica, cultivo de microalgas, ley de Snell.

Abstract

In the traditional cultivation of microalgae not always is reached the best concentration, since this cultivation arrives to present what is known as the phenomenon of self-shadow. Attending to the foregoing and basing us on what happens in the nature and using us of the optical fibers technology, in this work is propose the use of the optical fibers modified to be used in the cultivation traditional and to reduce with this the effect of self-shadow. For the foregoing, it was necessary to find the better form of recording irregularities on the fibers, for that these could serve as an efficient lighting system within the cultivation of microalgae. Due to the fact that exist different two types of optical fibers (formed them with silica and formed them with polymers), these were studied by separated. The better technical of irregularities engraving for the optical fibers built to base of a polymer was accomplished it with abrasion mechanical. Upon comparing preliminary results of the use of fibers in enhance of light for a cultivation of *Isochrysis sp.*, it was found that is can to improve the concentration reason of microalgae in the cultivation until in a 20% more.

Keywords: Optical fiber, microalgae culture, Snell law.

PACS: 42.81.-i, 87.50.W-, 42.25.Bs.

ISSN 1870-9095

I. INTRODUCCIÓN

Los cultivos de la microalga conocida como *Isochrysis sp.* han recibido mucha atención en los últimos años. Esto no solo porque la especie es ampliamente utilizada como alimento de organismos marinos de interés acuacultural, sino también por su alto contenido de lípidos (mas de 20% del peso total) y porque se ha visto la posibilidad de extraer ácidos grasos poliinsaturados de alto valor nutricional, como

el DHA (por sus siglas en ingles, Docosa Hexaenoic Acid). Este ácido graso sobresale por su abundancia en *Isochrysis spp* y pertenece a la familia de los omega 3, el cual también abunda en ciertos peces y se cree que provee beneficios a la salud. Estos ácidos grasos poliinsaturados y sus derivados ayudan a prevenir y tratar patologías tales como enfermedades coronarias y arterosclerosis [1], problemas inflamatorios y algunos tipos de cáncer y además se cree que juegan un papel importante en la nutrición infantil [2]. Se ha

encontrado que los DHA ayudan en las enfermedades circulatorias y facilitan el desarrollo cerebral en infantes [3]. Dejar en los peces la única fuente de dichos DHA puede tener repercusiones, ya que estos varían dependiendo tanto de la temporada como de su distribución geográfica [4]. En estudios previos con *Isochrysis* se ha mostrado que la síntesis de ácidos grasos puede ser cualitativa y cuantitativamente afectada por las condiciones ambientales, tales como la temperatura, la intensidad de la luz y la edad del cultivo [5]. La intensidad de iluminación óptima para el crecimiento de *Isochrysis galbana* está reportada como 10 klux con iluminación continua [6]. Por todo lo anterior, los cultivos que están encaminados a generar más biomasa por unidad de volumen cobran importancia.

Se han realizado esfuerzos en aumentar las concentraciones de las microalgas en los cultivos estáticos tradicionales. Sin embargo y debido al efecto conocido como auto sombreado, la tasa de crecimiento de las microalgas disminuye significativamente al alcanzar cierta concentración, aun cuando no estén limitadas por nutrientes. El auto sombreado aparece debido a que las mismas microalgas al aumentar de concentración impiden el paso de la luz a la parte más interna del recipiente de cultivo, y por lo tanto las células que se encuentran en dicha zona constantemente están iluminadas en forma subóptima.

Por otro lado, en términos de iluminación, la naturaleza nos enseña a utilizar los recursos naturales a nuestro favor, tal es el caso de la esponja marina conocida como *Rossella racovitzae*, la cual vive en las aguas del Antártico, a una profundidad aproximada de 100 metros. Cada uno de estos animales absorbe del medio acuático dióxido de sílice, principal componente del vidrio [7]. Estos animales, utilizan el sílice para formar su esqueleto, llamadas espículas. Algunas de estas espículas forman una matriz tubular característica de las esponjas. Con esta evidencia, podemos decir que las esponjas crean fibras ópticas, ya que se ha demostrado que estas espículas conducen la luz sin pérdidas aparentes. ¿Para que utilizan la luz guiada por las espículas? Ese es todavía un tema abierto, pero algunos investigadores creen que es una adaptación que les ha permitido sobrevivir en las aguas frías del Antártico [8, 9]. Giano y Sará [10], analizando una esponja tropical, *Tethya seychellensis*, notaron que en el interior de esta vive un alga verde, por lo que es posible hipotetizar que la luz guiada por las espículas (fibras ópticas) sirve para llevar luz al alga verde (necesaria para el proceso de fotosíntesis). Dándose una simbiosis entre la esponja y el alga, ya que esta última provee nutrientes a la esponja.

La idea principal del presente trabajo es aplicar el mismo principio utilizado por la esponja para llevar luz a los cultivos de microalgas, y con esto homogenizar la iluminación en todo el recipiente a lo largo del desarrollo de las microalgas, disminuyendo así el autosombreado. Esta técnica de canalización de luz hacia las zonas más sombreadas permitirá que la luz ya no sea mas un factor limitante en los cultivos de microalgas. Para ello será necesario primero explorar la técnica de grabado de las irregularidades en la corteza de la fibra para que por estas

irregularidades pueda escapar la luz en los lugares ideales para ello.

El presente artículo está estructurado como sigue: Primero se explicará algunas propiedades de las fibras ópticas para poder entender como se guía la luz sin pérdidas significantes, y entender además como se pueden introducir algunas imperfecciones en la fibra para que la luz pueda ser esparcida dentro del cultivo. Posteriormente, se procederá a mostrar las diferentes técnicas utilizadas para el grabado de irregularidades en la corteza de la fibra, mostrando algunos resultados sobre el esparcimiento encontrado. En el siguiente apartado se procederá a describir un experimento preliminar sobre el efecto que tienen las fibras al utilizarlas como complemento de la iluminación tradicional que se utiliza en un cultivo de microalgas. Por último, se discuten los aspectos más relevantes de este trabajo.

II. FIBRAS ÓPTICAS

Para explicar como funciona una fibra óptica es necesario repasar algunos conceptos de óptica. La luz puede ser representada como una onda electromagnética que se mueve a una velocidad de 3×10^8 m/s en el vacío, pero esta velocidad puede cambiar al propagarse en un medio diferente al vacío, en cuyo caso su velocidad será menor. Esto quiere decir, que la luz al propagarse de un medio a otro, su velocidad cambia, dando lugar a lo que se conoce como reflexión (parte de la luz que se regresa al medio) y refracción (la luz que se transmite al otro medio), por causas de su cambio en el módulo de su velocidad, la luz puede cambiar de dirección de propagación.

A la razón entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad en un medio se le conoce como índice de refracción (n). Los efectos de refracción que se dan en la frontera entre dos medios están definidos por la ley de Snell, la cual dice que: el índice de refracción del primer medio (n), por el seno del ángulo con el que incide la luz en el primer medio, es igual al índice del segundo medio (n') por el seno del ángulo con el que sale propagada la luz en el segundo medio. En términos matemáticos, la ecuación a que describe dicho comportamiento queda descrita de la siguiente manera:

$$n \cdot \text{sen}(\alpha) = n' \cdot \text{sen}(\alpha') \quad (1)$$

La parte más importante de esta relación, para el presente artículo, es encontrar el ángulo al cual no se presenta la refracción, y por lo tanto se presenta la reflexión total interna, lo que es la base teórica de la explicación de cómo la luz se propaga, sin pérdidas, en una fibra óptica. Para ello es necesario que fijemos uno de los ángulos (el de refracción, α') de tal forma que no se produzca la refracción, es decir, a un ángulo de 90° , así que al hacer esto nos queda que el ángulo de reflexión estará en función de la razón de índices de refracción dados por la siguiente expresión:

$$\alpha = \arcsen\left(\frac{n'}{n}\right), \quad (2)$$

lo que indica que para ángulos mayores a este se producirá lo que se conoce como reflexión total interna, base de la propagación de la luz en las fibras ópticas y que se pueda guiar la luz de forma controlada tal como se ve en la figura 1 (que representa de forma esquemática como es la fibra óptica).

Al ver la figura 1 podemos observar que tenemos un material envolvente con índice n' y un material interior con índice n , de esta forma se consigue guiar la luz por la fibra óptica.

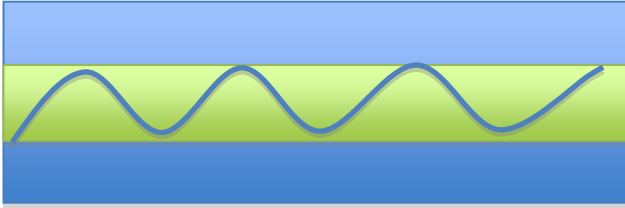


FIGURA 1. Esquema de la propagación de la luz en una fibra óptica. El contraste de los índices de refracción hace que la luz no pueda escaparse del medio interno.

III. GRABADO DE IRREGULARIDADES EN LA CORTEZA DE LA FIBRA

La idea fundamental del sistema propuesto para reforzar la iluminación tradicional en medios de cultivo microalgal, usando fibras ópticas, se basa en guiar la luz por medio de la fibra óptica (dicha luz se propaga sin pérdidas). Al llegar al cultivo es necesario que la luz se difunda, o en otras palabras, será necesario que las fibras ópticas puedan dejar salir la luz. Para lograr esto, se propone alterar la sección de las fibras ópticas que penetran en el medio de cultivo. Debido a que usamos fibras ópticas hechas con polímeros, es decir, no son de sílice sino más bien de un material similar al plástico, estamos proponiendo que se les realice una serie de irregularidades en la superficie de la fibra de tal forma que la condición de reflexión total interna ya no se cumpla, y con ello podamos iluminar el cultivo en los lugares deseados. Estas irregularidades se pueden realizar por diferentes medios: usando moldes de calor, ataque químico y por medios abrasivos. Este último es el que utilizamos y nos permitió tener bajo control la cantidad de luz que se quería utilizar. La técnica de abrasión consistió en realizar, en forma aleatoria y sobre ciertas secciones a lo largo de la fibra óptica, pequeños cortes transversales (ver figura 2). La cantidad máxima de cortes se logra cuando se hace incidir luz por un extremo y se logra que por el otro extremo ya no salga luz o esta sea mínima. Para probar la iluminación con este tipo de fibras se utilizó luz amarilla guiada y diferentes tipos de agua coloreada, esto con el fin de ver la efectividad de usar dicha técnica de iluminación. La figura 3 muestra una de estas pruebas de iluminación.

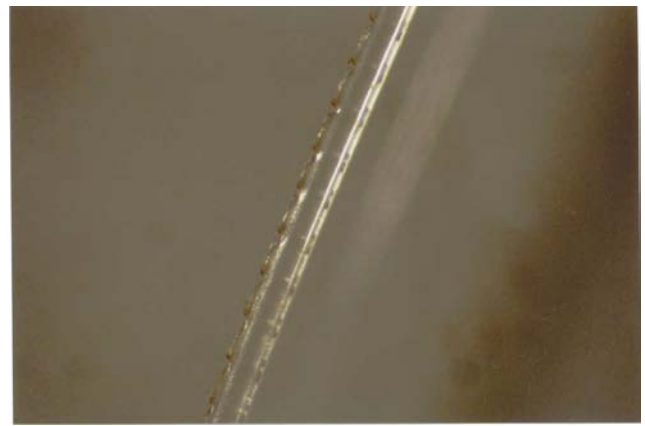


FIGURA 2. Detalle de la fibra óptica modificada por abrasión, lo que permite romper la condición de reflexión total interna.

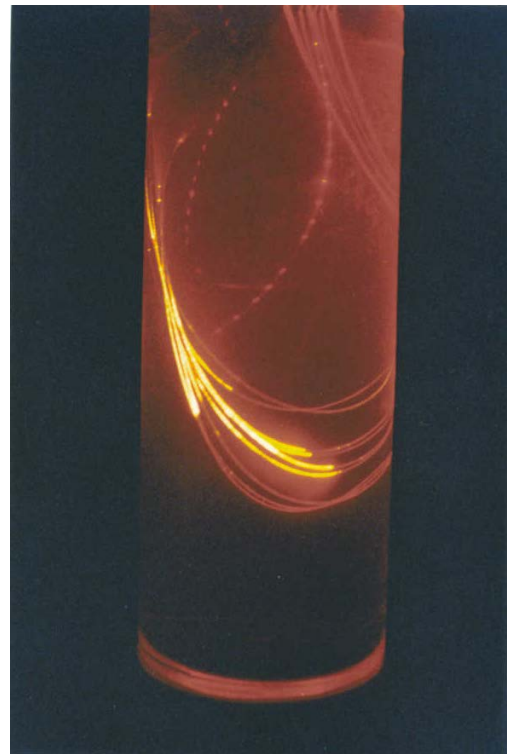


FIGURA 3. Prueba de iluminación usando fibra óptica modificada, usada en un líquido con colorante artificial para ver el comportamiento de la luz en medios con atenuación de luz. La parte más iluminada corresponde a la fibra que fue modificada para que la luz pudiera salir e iluminar el medio de cultivo.

IV. EXPERIMENTO PRELIMINAR

Para probar las fibras ópticas modificadas en un cultivo de microalgas se procedió de la siguiente manera: Se utilizó una microalga de la especie *Isochrysis sp* (clon T-ISO), que se encuentra en el cepario del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC, a 19 ± 1 °C. Las microalgas se cultivaron en un medio de cultivo enriquecido con la formulación f/2 (Guillard, 1975).

Para el cultivo se utilizaron inicialmente en matraces Erlenmeyer de 150 ml, los cuales se esterizaron en autoclave durante 15 minutos a 121°C, y 1.05 kg/cm² de presión. Posteriormente cada unidad de cultivo se inoculó asepticamente con 2ml de *Isochrysis spp.* (clone T-ISO) mediante una pipeta automática. El cultivo en este nivel se mantuvo por un tiempo de 7 días, a partir del cual, se continuó en matraces Fernbach de 3 L, los cuales fueron preparados con 1.850 L de medio f/2 de Guillard (1975), se esterizaron en autoclave a 121°C, y 1.05 kg/cm² de presión por 15 minutos, y asepticamente se inocularon con 150ml de *Isochrysis spp* (clone T-ISO) obtenido del nivel anterior. En este nivel de volumen se realizó el experimento, utilizando tres tratamientos de iluminación con dos réplicas o unidades experimentales (fernbach) cada uno (figuras 4): T1 (luz fluorescente), T2 (luz fluorescente reforzada con fibra óptica modificada) y T3 (luz guiada sólo por fibra óptica modificada). El tratamiento T1 sirvió como control, ya que es el método tradicional de iluminación en los laboratorios dedicados al cultivo de microalgas. La fuente de luz para la fibra óptica fue un iluminador de fibra óptica 41722 (Cole-Parmer) con dos brazos de iluminación (Fig. 4). La fibra óptica se unió directamente a cada brazo y se selló con cinta adhesiva color negro para evitar la fuga de luz en el punto de unión. Los fernbach con microalgas se distribuyeron aleatoriamente a lo largo de una batería de lámparas fluorescentes ubicadas en la pared (Fig. 4).

Las unidades experimentales se mantuvieron en condiciones similares en cuanto a la composición del medio y densidad inicial de microalgas inoculadas. El pH en los cultivos fue controlado mediante la adición de CO₂ y la única condición variable fue la luz. En los tres tratamientos se midió la irradiancia, con un irradiómetro Biospherical Instrument Inc., modelo QSL sensor 4 π .

En cada unidad de cultivo se realizaron muestreos diarios e independientes de 1ml, y se cuantificó la densidad celular diaria mediante un contador de partículas Multisizer 3 (Beckman, Co.).

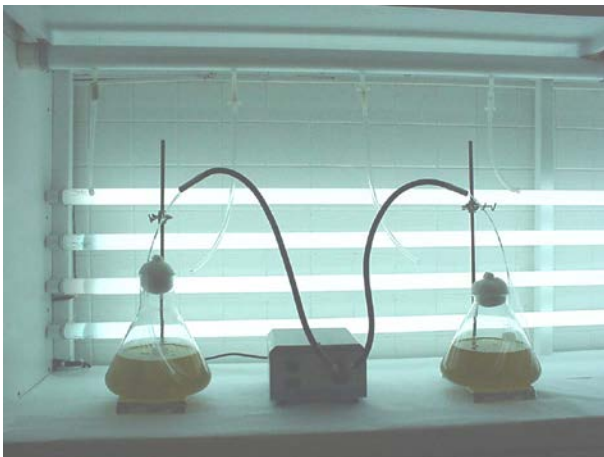


FIGURA 4. Detalle de la instalación de los cultivos por duplicado, donde se puede apreciar la iluminación tradicional con luz fluorescente (atrás) y reforzada con fibra óptica (la fibra entra a los cultivos). Para el tratamiento T1 se utilizó solo la lámpara de luz fluorescente, mientras que para el tratamiento T2 se utilizaron

ambos tipos de iluminación (luz fluorescente reforzada con fibra óptica modificada) y para el tratamiento T3 solo se utilizó luz guiada sólo por fibra óptica modificada.

La figura 5 muestra los cambios temporales de la densidad celular para los tres tratamientos. Es evidente que hay una mejora de hasta 20% en cuanto a la densidad celular cuando se utiliza luz estándar reforzada con fibra óptica en comparación con el tratamiento de utilizar sólo la iluminación estándar.

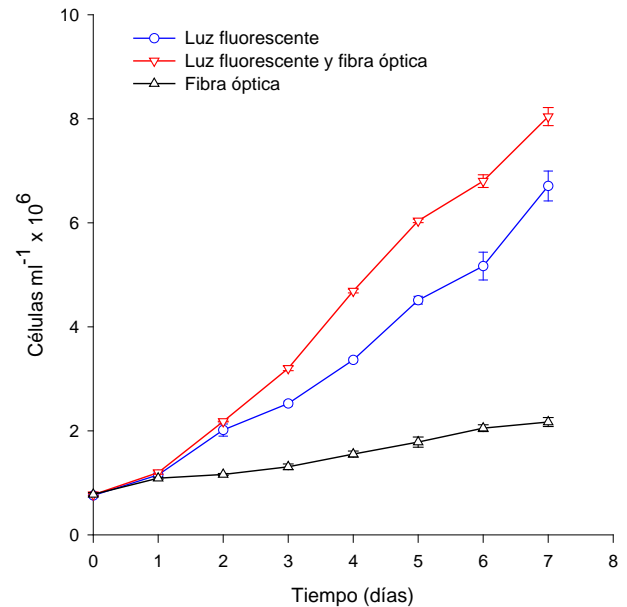


FIGURA 5. Comportamiento temporal de la concentración de microalgas para los tres diferentes sistemas de iluminación trabajados en esta publicación.

V. CONCLUSIONES

Se llevaron a cabo diferentes técnicas para el grabado de irregularidades en la superficie de la fibra óptica, incluyendo: a) calor, b) químicas (ácidos) y c) mecánicas o abrasivas. Estas últimas mostraron mejores resultados en la grabación de irregularidades, ya que esta técnica puede ser implementada en forma más sencilla. La técnica de reforzar la iluminación estándar con fibra óptica modificada nos ha permitido obtener más cantidad de microalga por unidad de volumen. En un trabajo posterior se estudiarán los efectos que esto podría tener en la calidad del cultivo y la cantidad de algunas sustancias aprovechables de las microalgas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la UABC por el apoyo brindado a este proyecto bajo la 6ta. Convocatoria interna (UABC-6ta. Convocatoria-proyecto_274).

REFERENCIAS

- [1] Norday, A. y B. Hansen. 1994. N-3 fatty acids and cardiovascular risk factors, *World Rev. Nutr. Diet.* **76**, 51-54.
- [2] Conner W. E. y Neuringer, M., *Importance of dietary omega-3 fatty acids in retinal function and brain chemistry, in nutritional modulation of neural function*, (Academic Press., NY, 1987) pp. 191-201.
- [3] Yongmanitchai, W. y Ward, O. P., *Screening of algae for potential alternative sources of eicosapentaenoic acid*, *Phytochemistry* **30**, 2963-2967 (1991).
- [4] Varela et al., *Changes in the quantitative and qualitative composition of fat from fish, due to seasonality and industrial and culinary processing*, En J.C. Somogyi y D. Hoztel (eds.), *Marine foods. Biol. Nutr. Dieta. Basel, Harger* **40**, 104-109 (1990).
- [5] Bajpai, P. y Bajpai, P. K., *Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganism: a review*, *J. Biotechnol.* **30**, 161-183 (1993).
- [6] Lui y Lin, *Ultrastructural study and lipid formation of Isochrysis sp. CCMP1324*, *Bot. Bull. Acad. Sin.* **42**, 207-214 (2001).
- [7] Weiss, P., Soaking up rays. *Science News* (2001). http://www.phschool.com/science/science_news/articles/soaking_up_rays.html
- [8] Cattaneo-Vietti, et al., *Optical fibers in an Antarctic sponge*, *Nature* **383**, 397 (1996).
- [9] Sarikaya et al., *Biomimetic model of a sponge-spicular optical fiber: mechanical properties and structure*, *J. of Materials Res.* **16**, 1420 (2001).
- [10] Giano, G. y Sará, M., *Siliceous spicules of Tethya seychellensis (Porifera) support the growth of a green alga: A possible light conducting system*, *Marine Ecology Progress Series.* **108**, 147 (1994).