

## **IDENTIFICACIÓN DE MICROALGAS OLEAGINOSAS EN EL ÁREA DE CONCESIÓN PARA CONSERVACIÓN, CUENCA ALTA DEL RÍO ITAYA. LORETO-PERÚ**

Marianela Cobos Ruiz\*, Juan C. Castro Gómez, Javier Del Águila Chávez, Herminio Soplín Bosmediano.

Facultad de Ciencias e Ingeniería, Universidad Científica del Perú (UCP), Av. Abelardo Quiñones Km 2.5, Iquitos, Perú.

\*e-mail: mcbos@ucp.edu.pe

### **RESUMEN**

Las microalgas oleaginosas constituyen una nueva alternativa para la producción de biodiesel, por su alta eficiencia fotobiosintética de triglicéridos y presentan productividades mayores de 10 a 100 veces que los cultivos convencionales. Además que actúan como sumideros de CO<sub>2</sub> y pueden usar aguas servidas para producir biodiesel. Sin embargo, los estudios sobre identificación de este tipo de microalgas en la amazonía son escasos. El objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar especies de microalgas oleaginosas con potencial aplicación para la producción de biodiesel que se encuentran en ambientes acuáticos del Área de Concesión para Conservación de la Universidad Científica del Perú (UCP). La colecta de las muestras se realizó del 27/06/12 al 03/07/12 entre las 12 y 15 h utilizando red planctónica tipo cono y como preservante formol al 3%. La identificación microscópica se realizó en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la UCP. La densidad de las microalgas fue realizada en base a su conteo en cámaras de Neubauer y Sedgwick-Rafter. Los resultados muestran la presencia de 20 especies de microalgas, de las cuales cinco son microalgas oleaginosas. Correspondiente a las del género *Chlorella* quienes presentaron la mayor densidad promedio ( $6 \times 10^4$  células/ml) en las tres cochas evaluadas.

**Palabras clave:** microalgas oleaginosas, biodiesel, Concesión para Conservación

## **IDENTIFICATION OF MICROALGAE OLEAGINOUS IN THE CONCESSION AREA FOR CONSERVATION, ITAYA RIVER BASIN. LORETO-PERÚ**

### **ABSTRACT**

Microalgae oleaginous are a new alternative for biodiesel production for its high photobiosynthetic efficiency for triglyceride and have higher productivities from 10 to 100 times more than conventional crops. Besides acting as a sink for CO<sub>2</sub> and wastewater can be used to produce biodiesel. However, studies on the identification of this type of microalgae in the peruvian amazon are scarce. The objective of this research was to identify species of microalgae oleaginous with potential application for the production of biodiesel found in aquatic environments Concession Area Conservation of Universidad Científica del Perú (UCP). Samples were collected from 27/06/12 to 03/07/12 between 12 and 15 h using plankton net cone and preserved with 3% formalin. Microscopic identification was performed at the Laboratorio de Ciencias Básicas of the UCP. Microalgae density was determined counting cells in Neubauer chambers and Sedgwick-Rafter. The results show the presence of 20 species of microalgae, of which five are microalgae oleaginous, corresponding principally to the genus *Chlorella*, which have the highest mean density ( $6 \times 10^4$  cells/ml) in the three ponds evaluated.

**Keywords:** microalgae oleaginous, biodiesel, Conservation Concession.

## INTRODUCCIÓN

La mayor demanda energética mundial, el agotamiento e incremento del costo de combustibles fósiles (BP Statistical, 2012) y el cambio climático (IPCC, 2007) son problemas que demandan una solución urgente. Para mitigarlos contamos con dispositivos legales para que la matriz energética de nuestro país dependa de fuentes renovables (Ley N° 28054, 2003). Estas medidas han incrementado la importación de biodiesel por la insignificante producción nacional (Nolte, 2012). La que depende primariamente del cultivo de grandes extensiones de palma aceitera (ProBiocom, 2012). Pero al cambiar el uso de la tierra arriesgamos la seguridad alimentaria y podemos provocar la pérdida de la biodiversidad y de los servicios ecosistémicos (Delucchi, 2010).

Por tanto, es imperioso disponer de alternativas bioenergéticas más adecuadas. Una buena opción son las microalgas oleaginosas, por su alta eficiencia fotobiosintética de triglicéridos (Georgianna y Mayfield, 2012), presentan productividades mayores de 10 a 100 veces que los cultivos convencionales (Loera y Olguín, 2010), actúan como sumideros de CO<sub>2</sub> y pueden usar aguas servidas para producir biodiesel (Zhou *et al.*, 2011).

Pero aún existen varios obstáculos tecnológicos y económicos que deben solucionarse (Delrue *et al.*, 2012) y uno de los mayores retos es el aislamiento, selección y cultivo de microalgas robustas que presenten óptimo contenido de triglicéridos, muestren altas tasas de crecimiento y sean inmunes a la invasión de microbios locales (Georgianna y Mayfield, 2012; Sheehan *et al.*, 2012). Diversas investigaciones en la amazonía, indican la existencia de microalgas (Vela, 1984; Sánchez, 1991; López, 2009). En este sentido, la Universidad Científica del Perú está incursionando en una nueva línea de investigación; Fuentes energéticas renovables con la Creación de un banco de cepas de microalgas oleaginosas para la producción de biodiesel, realizando estudios en su Área de Concesión con fines de Conservación ubicado en la Cuenca alta del río Itaya. Por lo que el objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar especies de microalgas oleaginosas con potencial aplicación para la producción de biodiesel que se encuentran en ambientes acuáticos del Área de Concesión para Conservación de la Universidad Científica del Perú.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Zonas de muestreo

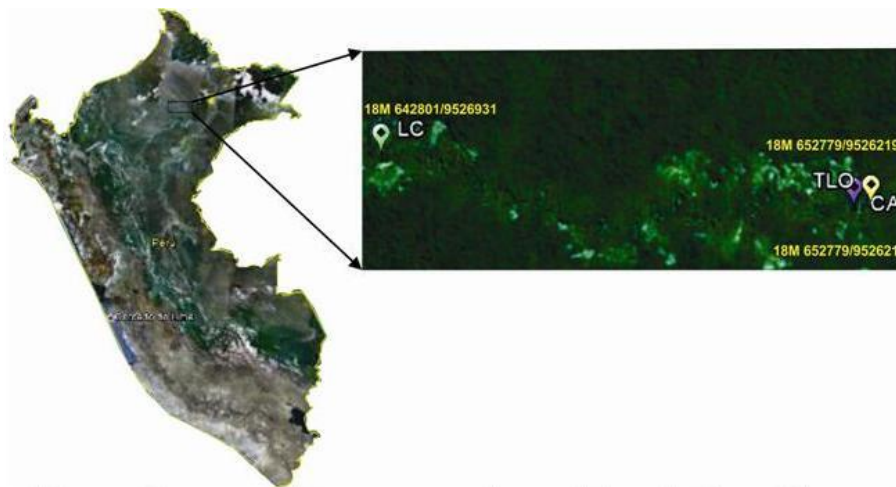
Las muestras fueron colectadas de tres ambientes lénticos: Lamas cocha, Cocha Anguillal y Tipishca Luz del Oriente del área de Concesión para Conservación de la Universidad Científica del Perú en la Cuenca Alta del río Itaya, ubicada al sur este de la ciudad de Iquitos, localizada entre los ríos Amazonas, Marañón y Nanay (Figura 1). Políticamente pertenece al Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto. Las características que presentan las cochas son:

Lamas cocha (LC): ubicado en la margen derecha del río Itaya, dentro de la jurisdicción de la comunidad de Nueva Villa Belén, cuyas coordenadas son 18M 0642801 y 9526931. La característica principal de este ambiente es su forma curva, lo que evidencia su origen meándrico, cuyo recorrido presenta 448 m de largo y un promedio de 40,5 m de ancho, equivalente a un área aproximada de 18,144 m<sup>2</sup> de espejo de agua. Sus aguas son de coloración blanca tenue, semejante a las aguas mixtas, con una transparencia media de 88 cm y una profundidad media de 2,6 m.

Cocha Anguillal (CA): ubicado en la margen derecha del río Itaya a 15 min de la Comunidad de Luz del Oriente en las coordenadas 18M 0652435 y 9526157. La forma curva y menos pronunciada de este ambiente se debe a sus 64 m de largo y una media del ancho de 31,3 m, equivalente a un área aproximada del 1942,7 m<sup>2</sup>. Sus aguas son negras, con una transparencia media de 91 cm y una

profundidad media de 2,8 m. Además, predominan especies vegetales tales como "shimbillo" *Inga* sp., "renaco" *Ficus* sp. y "ñejilla" *Bactris amoena*.

Tipishca Luz del Oriente (TLO): ubicado en la margen izquierda del río Itaya a 5 min de la Comunidad Luz del Oriente, en las coordenadas 18M 0652779 y 9526219. Presenta un recorrido de 747 m en línea curva y una media del ancho de 36,3 m, con un espejo de agua de 27,116 m<sup>2</sup>. Sus aguas son blancas con una transparencia de 84 cm y profundidad promedio de 3,81 m.



**Figura 1.** Ubicación de los ambientes acuáticos muestreados en el Área de Concesión para Conservación de la Universidad Científica del Perú. Imagen tomada de Google Earth.

### Colecta de muestras de agua

Se realizó del 27/06/12 al 03/07/12 entre las 12 y 15 h y 200 ml de muestra con microalgas se obtuvo después de tamizar 50 litros de agua con una red planctónica tipo cono (45 µm de  $\phi$ ). Las muestras fueron preservadas en formol al 3% según Ortega *et al.* (1996), luego transportadas (protegidas del sol y en un termo con hielo) al Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Científica del Perú (Figura 2).

### Identificación de las microalgas

Fueron identificadas mediante observación microscópica a 400x (CarlZeiss Axiostar plus) y en base al manual de Ettl y Gartner (1995). La densidad de las microalgas (células/ml) presentes en las muestras de agua fue realizada en base a su conteo en cámaras de Neubauer y Sedgwick-Rafter de 1 ml de capacidad (Paniagua *et al.*, 1986).



**Figura 2.** Flujograma del procedimiento para identificar microalgas a partir de muestras de agua.

## RESULTADOS

Se identificaron cinco divisiones correspondientes a Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta, Bacylarophyta y Dynophyta (Tabla 1). De estos taxones Chlorophyta fue la que presentó un mayor número de familias y especies, encontrándose seis familias y ocho especies. Mientras que, Euglenophyta presentó una familia y cinco especies. Las demás divisiones presentaron un menor número de familias y especies. Así para las divisiones Bacylarophyta y Dynophyta se registraron dos familias y tres especies, finalmente la Cyanophyta presentó una familia y una especie.

**Tabla 1.** Especies y densidades (células/ml) de microalgas registradas en tres ambientes lénticos del área Concesionada de la Cuenca Alta del río Itaya-UCP

Microalgas			Cochas		
División	Familia	Especie	LC	CA	TLO
			CYANOPHYTA	Nostocaceae	<i>Anabaena sp.</i>
CHLOROPHYTA	Oocystaceae	<i>Chlorella sp.*</i>	74889	70000	35000
	Scenedesmaceae	<i>Scenedemus sp1.*</i>	3	15	0
		<i>Scenedemus sp2.*</i>	3	0	0
	Chlorellaceae	<i>Kirchneriella sp.</i>	0	0	100
	Palmellaceae	<i>Palmella sp.</i>	29	15	0
	Volvocaceae	<i>Eudorina elegans</i>	6	0	0
		<i>Volvox sp.</i>	3	0	0
	Chloroococcaceae	<i>Ankistrodesmus sp.*</i>	150	0	0
EUGLENOPHYTA	Euglenaceae	<i>Euglena sp.*</i>	3	0	25
		<i>Phacus myersi</i>	6	15	0
		<i>Phacus sp1.</i>	27	67	100
		<i>Phacus sp2.</i>	3	17	25
		<i>Phacus longicauda</i>	0	35	25
BACYLLAROPHYTA	Fragilariaceae	<i>Fragilaria sp1.</i>	17	67	0
		<i>Fragilaria sp2.</i>	9	0	0
	Melosisiraceae	<i>Melosira granulata</i>	3	0	0
DYNOPHYTA	Pinnulariaceae	<i>Pinnularia bogotensis</i>	23	109	0
		<i>Peridinium sp1</i>	8	0	0
		<i>Peridinium sp2</i>	6	0	0

Asimismo, los resultados muestran la presencia de 20 especies de microalgas, de las cuales cinco son microalgas oleaginosas. De las microalgas oleaginosas registradas, las del género *Chlorella* presentaron la mayor densidad promedio ( $6 \times 10^4$  células/ml) en las tres cochas evaluadas.

## DISCUSIÓN

En ambientes acuáticos del Área de Concesión para Conservación de la Universidad Científica del Perú se han identificado cinco especies de microalgas oleaginosas con potencial aplicación para la producción de biodiesel. Otros estudios realizados en la amazonía peruana reportan la existencia de estas especies de microalgas en diferentes ambientes acuáticos, como la Laguna Quistococha (Vela, 1084), Cuenca del bajo Marañón y algunos tributarios (Sánchez, 1991), río Corrientes (Sinti y Ruiz, 1996), Laguna Urcococha-río Amazonas (Del Águila, 2000), Piscigranja UNAP (Bazán y Arista, 2006) y Cocha Llanchama (López, 2009).

La producción de biodiesel a partir de microalgas oleaginosas es un área de considerable interés en la actualidad. Porque es una de las fuentes alternativas de energía renovable más promisorias (Sheehan *et al.* 2012), debido a sus altas productividades con respecto a los cultivos existentes (Garibay *et al.* 2009), acumulan triglicéridos por su capacidad fotobiosintética (Menetrez, 2012), pueden secuestrar CO<sub>2</sub> de fuentes industriales y demandan menos área que los cultivos tradicionales (Smith *et al.* 2010). Además, las microalgas pueden producir diversas sustancias de interés comercial como: nutrientes, aditivos alimenticios, fármacos y otras sustancias (Stephens *et al.* 2010).

Debido a esta gran diversidad biosintética se han realizado aislamientos y existen colecciones de microalgas en varias instituciones del mundo (Duong *et al.* 2012). Se estima que unas 50,000 especies han sido identificadas y son mantenidas en colecciones (Richmond 2004). Estas sólo representan una pequeña fracción de la enorme biodiversidad de especies que existen. Asimismo, se estima que menos del 10% han sido evaluadas por su capacidad de producción de biodiesel y sólo de algunas especies se han secuenciado sus genomas (Derelle *et al.* 2006). Por ello se han iniciado varios esfuerzos bioprospectivos (Rodolfi *et al.* 2009), para aislar e incrementar la diversidad de las colecciones y tener más probabilidades de encontrar cepas de microalgas oleaginosas ideales (Wijffels y Barbosa, 2010).

Sin embargo, existen ciertas limitaciones principalmente en el proceso de aislamiento y cultivo de estas especies. En ese sentido, la Universidad Científica del Perú a través de su iniciativa en implementar un banco de cepas de microalgas oleaginosas amazónicas pretende conocer la composición y abundancia de las principales comunidades de microalgas en las diversas cuencas amazónicas. Asimismo, el presente estudio corresponde a una etapa preliminar del mismo ya que se tiene previsto realizar una siguiente prospección en otros cuerpos de agua del área concesionada e iniciar el aislamiento de las especies de microalgas oleaginosas.

Por lo que el contar con especies de microalgas oleaginosas de la amazonía, podremos enriquecer su diversidad genética con el aislamiento de nuevas especies autóctonas e intercambio con otros laboratorios. También, estaremos en condiciones de suministrar a la comunidad científica y empresarial cultivos vivos de microalgas para su evaluación en usos diversos como: insumo alimenticio en acuicultura, biotecnología, biorefinería, tratamiento de aguas residuales, mitigación de la emisión de CO<sub>2</sub>, ensayos de ecotoxicidad, entre otros. Del mismo modo, contribuiremos en establecer bases científicas sólidas para realizar investigaciones básicas y aplicadas, que en conjunto permitirán que los sistemas de producción de biodiesel a partir de microalgas oleaginosas sean económicamente rentables. Asimismo, la producción de biodiesel contribuirá a mitigar el cambio climático por la asimilación de CO<sub>2</sub> atmosférico. También, los actores de la cadena de producción del biodiesel se beneficiarán económicamente al satisfacer la creciente demanda de biocombustibles en el mercado local, nacional e internacional. En consecuencia, los mayores ingresos económicos permitirán mejoras en la calidad de vida de los productores de microalgas oleaginosas, propiciando la creación de más empleos, consecuentemente, el índice de pobreza puede menguar significativamente en la región Loreto.

## **CONCLUSIONES**

Se identificaron cinco especies de microalgas oleaginosas en ambientes acuáticos del Área de influencia de la Concesión para Conservación del la UCP y el género *Chlorophyta* fue la que presentó mayor densidad promedio en los tres cuerpos de agua evaluados. A diferencia de *Chlorella* sp. y *Phacus* sp. las otras especies reportadas estuvieron distribuidas exclusivamente en uno o dos de los ambientes evaluados.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Científica del Perú, por el financiamiento del presente estudio, al Rector Juan Remigio Saldaña Rojas por la confianza y apoyo en el inicio de esta nueva línea de investigación en la UCP. Asimismo, agradecemos de manera especial al Sr. Apolinario Sangama Arimuya, al estudiante Percy Paull Ruiz Manuyama y al Tesista en Ecología Junior Benito Ruiz Ramírez por el apoyo técnico brindado en la colecta de muestras. A los guías de las comunidades de Nueva Villa Belén y Luz del Oriente; Alejandro Pezo Saavedra y Jimmy Del Aguila Ricopa por brindarnos sus conocimientos acerca del área de estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bazán Arista, M y Reátegui Vásquez, G. 2006. Sucesión de la comunidad fitoplanctónica en estanques semi naturales fertilizados y no fertilizados de la piscigranja experimental.. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú.
- BP Statistical Review of World Energy. Disponible en:  
[http://www.bp.com/assts/bp\\_internet/globalbp/globalb\\_uk\\_english/reports\\_and\\_publications/statistical\\_energy\\_review\\_2011/STAGGING/local\\_assets/pdf/statistical\\_review\\_of\\_world\\_energ\\_full\\_report\\_2012.pdf](http://www.bp.com/assts/bp_internet/globalbp/globalb_uk_english/reports_and_publications/statistical_energy_review_2011/STAGGING/local_assets/pdf/statistical_review_of_world_energ_full_report_2012.pdf).  
[Consultado 03 Set 2012]
- Delucchi MA. 2010. Impacts of Biofuels on Climate Change, Water use, and Land Use. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1195, 28-45.
- Delrue F, Setier PA, Sahut C, Cournac L, Roubaud A, Peltier G, Froment AK. 2012. An economic, sustainability, and energetic model of biodiesel production from microalgae. *Bioresource Technology* 111, 191–200.
- Del Águila Erick A. Flora Algológica de la laguna Urcococha rio Amazonas, Loreto- Perú. 2000. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú. P.14-17.
- Derelle E, Ferraz C, Rombauts S, Rouzé P, Worden AZ, Robbens S. 2006. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103, 11647-11652.
- Duong VT, Li Y, Nowak E, and Schenk M. 2012. Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production. *Energies* 5, 1835-1849.
- Ettl H y Gartner G. 1995. Syllabus der Boden-Luft, und Flechtenalgen. *Gustav Fisher.* New York
- Georgianna DR & Mayfield SP. 2012. Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels. *Nature.* 488, 329-335.
- Garibay A, Vásquez R, Sánchez M, Serrano L, Martínez A. 2009. Biodiesel a Partir de Microalgas. *Biotecnología* 13(3), 38-61.
- IPCC. Cambio climático 2007. Informe de Síntesis. Contribución de los grupos de trabajo I, II y III al cuarto informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de expertos sobre el cambio climático [equipo de redacción principal: Pachauri R.K., Reisinger, A.]. IPCC Ginebra Suiza. 104 pp.
- Loera M y Olguín E. 2010. Las Microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Rev. Latinoam Biotecnol Amb Algal* 1(1), 91-116.
- López R. 2009. Caracterización Fitoplanctónica Física y Química de la Cocha Llanchara en Los Períodos Hidrológicos De Creciente Y Media Vaciente Loreto Perú. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú.
- Menetrez MY. 2012. An Overview of Algae Biofuel Production and Potential Environmental Impact. *Environ Sci Technol* 46, 7073–7085.
- Nolte G. Perú: Biofuels Annual. Disponible en:  
[http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual\\_Lima\\_Peru\\_6-27-2011.pdf](http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual_Lima_Peru_6-27-2011.pdf).  
[Consultado 31 Ago 2012]

- Ortega, H. 1996. Ictiofauna del Parque Nacional Manu, MD, Perú. En: Wilson & Sandoval: MANU: La Biodiversidad en el Sureste del Perú. Smithsonian Institution, Washington D.C.
- Paniagua J, Buckle F, Granads C, Loya D. 1986. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE. México. p. 93.
- Perú. Comisión Permanente del Congreso de la República. Ley N° 28054. Ley de Promoción del mercado de biocombustibles. Lima 15 de julio de 2003.
- Promoción de Inversiones en Biocombustibles (ProBiocom). Disponible en:  
<http://intranet2.minem.gob.pe/web/archivos/ogp/GVEP/cober/10.pdf>.  
[Consultado 01 Set 2012].
- Richmond A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: *Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science Ltd.: Hudson County, NJ,USA.
- Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N, Padovani G, Biondi N, Bonini G, Tredici MR. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng*. 102(1), 100-12.
- Sánchez R. Estudio del Fitoplancton en la Cuenca del Bajo Marañón y Algunos Tributarios Menores (Departamento De Loreto) En Los Períodos de Vaciente y Creciente. 1991. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú.
- Sinti Hesse, C y Ruiz Manuyama, V. Evaluación del Fitoplancton del rio Corrientes. 1996. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú.
- Smith VL, Sturm B, Denoyelles F and Billings SH. 2010. The ecology of algal biodiesel production. *Trends ecol Evol* 25(5), 301-309.
- Stephens E, Ross I, Mussgnug JH, Wagner L.D, Borowitzka MA, Posten C, Kruse O and Hankamer B. 2010. Future prospects of microalgal biofuel production systems. *Trends in Plant Science*. 15(10), 554-564.
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P. 1998. A look back to the US Department of Energy's Aquatic Species Program – biodiesel from algae. *National Renewable Energy Laboratory*. Golden CO; Report NREL/TP-580-24190, 328 p.  
[www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf](http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf)  
[Consultado 07 Set 2012].
- Vela L.E. 1984. Variación Cualitativa y Cuantitativa de Plancton de Cuatro Estanques Semi Naturales de la Piscigranja Quistocoha, UNAP. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú.
- Wijffels RH and Barbosa MJ. 2010. An Outlook on Microalgal Biofuels. *Science* 329, 796.
- Zhou W, Li Y, Min M, Hu B, Chen P, Ruan R. 2011. Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production. *Bioresour Technol*. 102(13), 6909-19.

**Recibido:** 22 Setiembre / **Aceptado:** 28 Noviembre 2012