

Departament d'Enginyeria Química
Escola Tècnica Superior d'Enginyeria
Universitat Autònoma de Barcelona

ESTUDI D'UN BUCLE DE BIOREACTORS PEL DESENVOLUPAMENT D'UN
SISTEMA DE SUPORT DE VIDA BIOLÒGIC

Memòria de Tesi Doctoral

Núria Creus i Baró
Juny de 2003

Francesc GÒDIA i CASABLANCAS, Catedràtic d'Enginyeria Química i Joan ALBIOL i SALA, Investigador Ramón y Cajal, del Departament d'Enginyeria Química de la Universitat Autònoma de Barcelona

CERTIFIQUEM : Que l'enginyera Núria Creus i Baró ha dut a terme sota la nostra direcció, en els laboratoris del Departament d'Enginyeria Química, el treball que amb el títol "**Estudi d'un bucle de bioreactors pel desenvolupament d'un sistema de suport de vida biològic**", es presenta en aquesta memòria, la qual constitueix la seva Tesi per a optar al grau de Doctora per la Universitat Autònoma de Barcelona.

I perquè en prengueu coneixement i tingui els efectes que correspongui, signem aquesta certificació a Bellaterra, el 26 de juny de 2003.

FRANCESC GÒDIA i CASABLANCAS

JOAN ALBIOL i SALA

AGRAÏMENTS

La realització d'aquest treball no hagués estat possible si no m'haguéssiu donat un cop de mà, tant a nivell professional com personal, cada cop que ho he necessitat. Així doncs, que menys que dedicar-vos un parell de línies per agrair-vos molt sincerament el vostre ajut.

GRÀCIES:

A en Quico i a en Joan per haver confiat en mi per realitzar aquest treball i pel seu assessorament. Durant 4 anys sempre hi ha alts i baixos i no sempre un està d'acord amb totes les decisions que es prenen però... oi que seria avorrit un Món on tothom pensés igual? I, tot i que sincerament dic que algun dissabte o diumenge he maleït el dia en que vaig començar a treballar amb vosaltres també he de dir que ho tornaria a repetir.

Als MELISSEROS en general per haver compartit algun que altre viatge, dinar, "progress meeting", sopar i sobretot moltíssimes hores al laboratori havent-ho fet tot més amè i suportable. I, en particular:

A la Vane i a en Dani, part d'aquest treball és també seu.

A en Nando per fer fàcil guanyar sopars i per convidar-me a cafès sempre agradables i molt necessaris.

A en Julio, per haver-me regalat algunes vacancetes i per tots els "avions", ocells de ferro d'unes quantes tones, i "àguiles polaris" que s'han creuat pel camí.

A l'Anne per ser una "gavatxa" encantadora que ha aconseguit millorar el meu vocabulari francès i castellà.

A la Sandra i l'Anna, les novates, per seguir els passos "melisseros" amb una il·lusió renovada.

A tots els amics i companys de departament, amb els quals he passat molt bones estones i dels quals he pogut aprendre moltes coses. I, en particular:

A les nenes....

A l'Eli, l'"aranesa" que ens fa de guia pels locals de moda de Barcelona.

A la Maite, sòcia nº 1 del SAF (nº 1 en rendibilitat: 4 anys de carnet 0 anades al SAF), gran filòsofa poetessa:

*No me/
se como/
e un rosco!!!!*

Maite Pijuan

(Maite disculpa però aquest gran poema s'havia de publicar...cal mencionar que quan el vas crear eren les 8 del matí i encara no t'havies pres cap cafè...)

A la Neus: "la hippy, rebel i inconformista". Per cert, com ho tenim lo de l'excursionisme?

A la Paqui, la més "pupetes" ...a ella sí que li està costant "sangre, sudor i lágrimas" això de la tesi...

A la Tri, que berena quan els altres esmorzen i que cuina com ningú...

I als nens....

A en Guisa, entre d'altres coses, per fer-me riure amb les seves sagues de mails.

A en Ramon i l'Oriol per ser companys de penes i d'alegries des de fa 9 anys...

I també, a en David, l'Ernest, l'Aitor, la Surri, en Jaume (especialment...encara et dec un sopar per la feina...), la Maria, en Julián, en Juan, l'Olga, l'Aina, la Clàudia, en Quim, la Rosi, l'Àngels, ...en Paco, en Javier, les Glòries, la Dolors, la Teresa....i a tots els que heu compartit els dinars i les festetes del Departament....

A totes les "nenes de farmàcia" i als seus respectius "nens" per fer-me riure en els moments de lleure: festes pijama, anades a "esquiar", sopars, ballaruques i....sobretot gràcies per entendre que hagi estat una mica desconnectada de tothom durant el període d'escriptura...

A l'Emma i a la Sus, i "amics respectius" amb qui no tan sovint com voldria però sí periòdicament sopo o dino i ens expliquem les nostres "penes" mútuament....

A la Natàlia, la meva germaneta, que s'ha fet gran i ha canviat de company de viatge, m'ha abandonat per tu: Francesc....

A l'Ernest, la persona a qui li tocarà fregar plats quan aquesta tesi s'hagi defensat, i amb qui espero seguir-ho compartint tot.

A la Luli i a l'Amadeu, us dec moltíssimes coses i una d'elles és aquesta tesi: VOSALTRES en sou una part MOLT IMPORTANT!

A TOTS VOSALTRES: MOLTES GRÀCIES !!!

Finalment faig constar que aquest treball s'ha dut a terme amb el suport econòmic de l'Agència Espacial Europea (ESA), del Ministeri d'Educació i Cultura i de la Generalitat de Catalunya.

He d'agrair, també, a la Generalitat de Catalunya la concessió d'una beca FPI (1999FI00123).

ÍNDIX

0.- RESUM

0.- ABSTRACT

1.- INTRODUCCIÓ

1.1.- Sistemes de suport de vida

1.1.1.- Classificació dels sistemes de suport de vida

1.1.2.- Elecció d'un sistema de suport de vida

1.1.3.- Els sistemes de suport de vida físico-qímics

1.1.4.- Els sistemes de suport de vida biològics o bioregeneratius

1.1.5.- Possibles utilitats de l'estudi dels sistemes de suport de vida fora de l'espai

1.1.6.- Evolució dels CELSS "*Controlled Ecological Life Support System*"

1.2.- El projecte MELISSA

1.2.1.- Planta Pilot del projecte MELISSA. Universitat Autònoma de Barcelona

1.2.2.- Compartiment I: Termofílic, anaerobic, fermentatiu

1.2.3.- Compartiment II: Bacteris fotoauto/heteròtrofs

1.2.4.- Compartiment III: Bacteris nitrificants

- 1.2.5.- Compartiment IVa: Compartiment fotoautotròfic
- 1.2.6.- Compartiment IVb: Compartiment de plantes superiors
- 1.2.7.- Compartiment V: La tripulació
- 1.2.8.- Sistema de control del bucle MELISSA
- 1.2.9.- La simulació del bucle MELISSA

2.- ANTECEDENTS I OBJECTIUS

3.- CONNEXIÓ DELS COMPARTIMENTS II, III i IVa A ESCALA DE LABORATORI

3.1.- Connexió preliminar dels compartiments II, III i IVa a escala de laboratori

- 3.1.1.- Equips i procediment experimental
- 3.1.2.- Elaboració del medi de cultiu
- 3.1.3.- Posada en marxa i resultats de la connexió en condicions fixes

3.2.- Efecte d'una entrada d'àcid acètic en el compartiment III

- 3.2.1.- Efecte d'una entrada d'àcid acètic en el compartiment III
- 3.2.2.- Efecte d'un consum incomplet d'àcid acètic en el compartiment II a la connexió dels tres compartiments

3.3.- Efecte d'una entrada d'amoni i nitrit en el compartiment IV a

- 3.3.1.- Efecte d'un canvi en la velocitat de dilució de la connexió dels compartiments III i IVa
- 3.3.2.- Efecte d'una disminució de la concentració d'oxigen del compartiment III sobre la connexió dels compartiments II, III i IVa

3.4.- Connexió a escala de laboratori dels compartiments II, III i IVa usant una barreja d'àcid acètic, propiònic i butíric com a font de carboni del compartiment II

- 3.4.1.- Establiment de les condicions d'operació del compartiment II
- 3.4.2.- Resultats de la connexió dels compartiments II, III i IVa usant àcid acètic, propiònic i butíric a font de carboni del compartiment II
- 3.4.3.- Anàlisis elementals de mostres de medi i biomassa

3.5.- Objectius assolits i conclusions

4.- CONNEXIÓ DELS COMPARTIMENTS III i IVa A ESCALA PILOT

- 4.1.- Equips, procediment experimental i medi de cultiu**
- 4.2.- Efectes del canvi de dilució de la connexió dels compartiments III i IVa**
- 4.3.- Connexió dels compartiments III i IVa a escala pilot a llarg termini, disminuint la concentració d'oxigen dissolt en el compartiment III**
- 4.4.- Tests del sistema de control del MELISSA (MCS)**
 - 4.4.1.- Model de creixement de *S. platensis* en funció de la intensitat lumínica disponible i sistema de control del MELISSA pel compartiment IVa
 - 4.4.2.- Muntatge per rentar el sensor de biomassa
 - 4.4.3.- Resultats del sistema de control del MELISSA (MCS) operant sobre el compartiment IVa en connexió amb el compartiment III
- 4.5.- Objectius assolits i conclusions**

5.- ESTUDI PRELIMINAR DEL TANCAMENT COMPLET DEL BUCLE LÍQUID DEL MELISSA

- 5.1.- Equips i procediment experimental**
- 5.2.- Medi de cultiu**
- 5.3.- Cultius en discontinu usant el medi sortint del I compartiment I complementat**
 - 5.3.1.- Cultius en discontinu de *R. rubrum*
 - 5.3.2.- Cultius en discontinu de *S. platensis*
- 5.4.- Connexió dels compartiments II, III i IVa usant un medi sintètic que simula el medi sortint del compartiment I**
- 5.5.- Connexió, en fase líquida, del bucle de bioreactors complet del MELISSA**
- 5.6.- Objectius assolits i conclusions**

6.- ANÀLISI DEL TANCAMENT I DIMENSIONAT DEL BUCLE MELISSA

- 6.1.- Tancament del MELISSA a nivell de planta pilot**
 - 6.1.1.- Tripulació
 - 6.1.2.- Compartiment de plantes superiors (CPS)
 - 6.1.3.- Compartiment IVa
 - 6.1.4.- Compartiment III
 - 6.1.5.- Compartiment I
 - 6.1.6.- Compartiment II
- 6.2.- Tancament del bucle MELISSA per una persona**
 - 6.2.1.- Compartiment de plantes superiors (CPS)
 - 6.2.2.- Compartiment IVa
 - 6.2.3.- Compartiment III
 - 6.2.4.- Compartiment I
 - 6.2.5.- Compartiment II

6.3.- Consideracions del tancament del MELISSA

7.- CONCLUSIONS

REFERÈNCIES

ANNEX I.- MATERIALS I MÈTODES

A.1.- Soques

A.2.- Medis

A.2.1.- Medi per *R. rubrum*

A.2.2.- Medi per *N. europaea* i *N. winogreadskyi*

A.2.3.- Medi per *S. platensis*

A.3.- Procediments analítics

A.3.1.- Mesura de la concentració de cèl·lules

A.3.2.- Mesura de la concentració d'ions nitrats, nitrits i amoni en solució

A.3.3.- Mesura de l'àcid acètic present en solució

A.3.4.- Mesura del carboni inorgànic present en solució

A.3.5.- Determinació de la concentració total de carbohidrats en una mostra de biomassa

A.3.6.- Determinació de la concentració de lípids en una mostra de biomassa

A.3.7.- Determinació de la concentració de proteïnes en una mostra de biomassa

A.3.8.- Determinació de la concentració de DNA en una mostra de biomassa

A.3.9.- Determinació de la concentració de RNA en una mostra de biomassa

A.3.10.- Determinació de la concentració de PHB en una mostra de biomassa

A.3.11.- Determinació de la concentració de glicògen en una mostra de biomassa

A.3.12.- Determinació de la concentració de metalls

A.3.13.- Determinació de la composició de C, N, H, O, S cel·lular

A.3.14.- Control de l'axenicitat del cultiu

ANNEX II.- PUBLICACIONS DERIVADES D'AQUESTA TESI

0.- RESUM

El projecte MELISSA (*Micro Ecological Life Support System Alternative*) estudia el desenvolupament d'un sistema de suport de vida biològic per les missions espacials de llarga durada. Per assolir aquest fi aquest projecte proposa, com a primer model, la utilització de quatre compartiments microbiològics i un compartiment de plantes superiors.

Una de les vessants més importants d'aquest projecte és l'estudi de la connexió dels seus compartiments. L'objectiu d'aquest sistema és treballar de forma contínua en períodes llargs d'operació. Cal doncs estudiar l'evolució d'aquesta connexió tant en condicions òptimes de funcionament com davant de possibles pertorbacions.

En aquest treball s'ha estudiat inicialment la connexió amb un medi sintètic dels compartiments II, III i IVa del bucle MELISSA a escala de laboratori. Aquesta connexió s'ha dut a terme satisfactòriament sense que s'evidenciïn efectes tòxics o nocius en cap dels compartiments al treballar en diferents condicions d'operació.

S'ha procedit també a la connexió dels compartiments III i IVa a escala pilot, comprovant el seu bon funcionament i corroborant el sistema de control del compartiment IVa quan aquest treballa en connexió.

També s'han estudiat dues de les pertorbacions possibles del sistema: l'entrada d'àcid acètic en el tercer compartiment i l'entrada de nitrats en el quart compartiment. Cap de les dues pertorbacions ha tingut efectes negatius en el funcionament dels compartiments on s'han dut a terme.

Finalment s'ha procedit a la connexió completa en fase líquida i a escala de laboratori dels quatre compartiments microbiològics del bucle global del sistema MELISSA.

Aquests estudis s'han dut a terme amb els diferents bioreactors dels quals es disposa a la planta pilot del projecte MELISSA de la UAB, lloc on s'efectua la integració i demostració dels diferents elements del bucle i del seu conjunt.

Per altra banda s'ha fet un estudi del dimensionat dels diferents compartiments del projecte MELISSA i del grau de tancament assolit en el sistema, en diferents escenaris d'operació. Aquests inclouen tant la seva operació en el laboratori, utilitzant animals d'experimentació, com la seva aplicació al manteniment de la vida humana.

0.- ABSTRACT

The MELISSA project (Microbiological Ecological Life Support System Alternative) of the European Space Agency (ESA) is a tool for the development of a biological life support system to be used during Manned Space Missions. In order to achieve this purpose the project proposes the connection between five compartments, four of which contain microbial organisms and one higher plants.

To assure the satisfactory operation of the system, it is important to study the connection between these bioreactors not only at optimal conditions but also taking into account possible deviations in the behaviour of any of them.

The connection between compartments II, III and IVa at laboratory scale and using an artificial medium has been studied at different operational conditions in this work. Using these different test conditions, the connection showed an excellent functioning during more than 5 residence times. Non relevant toxic effects have been observed.

The connection between compartments III and IVa at pilot plant scale, as well as the feasibility of the control system of compartment IVa while it is working in connection to compartment III, have been also successfully tested.

Two different deviations from the optimal operational conditions in the connection of compartments II, III and IVa have been studied: the income of volatile fatty acids in compartment III and the income of nitrite in compartment IVa. None of these two deviations produced any significant modification on the performance of these bioreactors.

Finally, the connection of the whole MELISSA microbial loop at liquid stage has been performed at laboratory scale without presenting any major problem.

In parallel, the compartments size and the achieved closure degree have been evaluated for different operational scenarios of the MELISSA loop. These scenarios include its use as a laboratory tool using experimental animals and its use as a life support system for a human crew.

1.- INTRODUCCIÓ

Aquest treball s'ha dut a terme en el marc del projecte melissa (*micro ecological life support system alternative*), projecte que té com a objectiu principal l'estudi i el desenvolupament d'un sistema de suport de vida per a tripulacions en missions espacials de llarga duració i que es basa en processos biològics.

Actualment aquest projecte és la principal iniciativa de l'agència europea de l'espai (esa) en aquest domini.

1.1.- Sistemes de suport de vida

Els sistemes de suport de vida tenen com a finalitat el permetre viure en ambients o situacions en els quals els éssers humans serien incapaços de mantenir les seves funcions vitals sense una ajuda externa. El seu objectiu és, per tant, desenvolupar totes aquelles tècniques necessàries per aconseguir l'autonomia biològica de l'home quan aquest està aïllat de la seva biosfera original. Cal, doncs, subministrar oxigen, aigua i aliments, així com eliminar els residus, diòxid de carboni, orina i matèria fecal produïts. A la figura 1.1 es presenta un esquema dels requeriments que presenta qualsevol tipus de sistema de suport de vida (Tamponet i Savage, 1994).

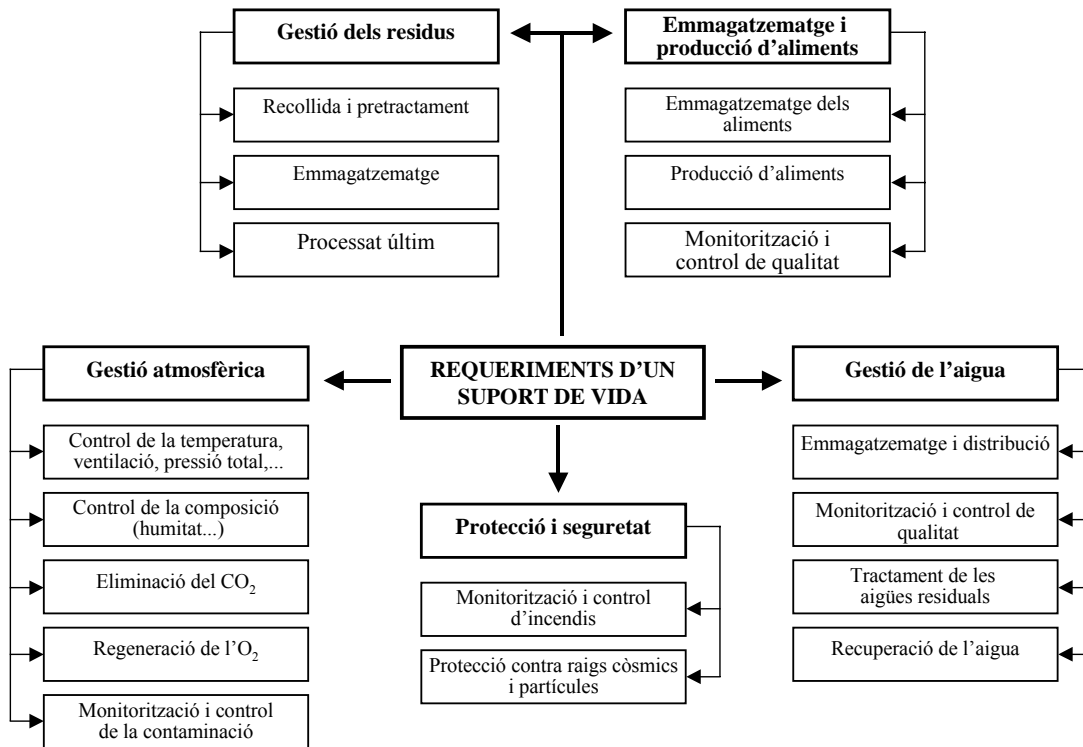


Figura 1.1.- Requeriments d'un sistema de suport de vida

Les funcions de protecció i seguretat en el manteniment de la pressió, temperatura o protecció contra meteorits o radiacions també formen part d'un sistema de suport de vida. Tot i això, no es tractaran en aquest treball.

La recerca sobre els sistemes de suport de vida ha estat desenvolupada, bàsicament, per les agències espacials per tal de poder solucionar els problemes derivats de l'aïllament de la biosfera a la que són sotmesos els astronautes durant les seves missions.

Existeixen principalment quatre possibilitats per respondre a les necessitats del suport de vida a l'espai:

- La missió parteix amb totes les provisions necessàries.
- Hi ha aportos periòdics de provisions durant el transcurs de la missió.
- Es fa un reciclatge dels materials durant la missió.
- Hi ha un ús *in situ* de les matèries locals. És el cas de, per exemple, les bases planetàries.

1.1.1.- Classificació dels sistemes de suport de vida

Els sistemes de suport de vida que es poden classificar com a oberts, són aquells en que no es recuperen els residus per assegurar l'execució de les funcions regeneratives o vitals. En contraposició els semitancats o tancats són aquells que inclouen cert grau de reciclatge, és a dir, es recuperen parcial o totalment els residus per assegurar les funcions regeneratives o vitals. L'eficàcia en assolir aquesta fita s'expressa en funció del percentatge de tancament assolit. Aquests sistemes es coneixen com a CES (Closed Ecological Systems).

Aquests sistemes es poden basar en processos físico-químics i/o en processos biològics. Existeixen, també, sistemes híbrids, en els quals s'empren ambdós tipus de processos.

Els sistemes regeneratius tancats amb un component biològic important s'anomenen “*Controlled Ecological Life Support System*” (CELSS).

A la taula 1.1 s'observa com el tancament progressiu del sistema, és a dir, l'augment del reciclatge, permet reduir fortament la dependència del sistema d'un subministre extern.

Nivell	Tipus de suport de vida	Massa relativa a embarcar (%)
0	Bucle obert	100
1	Reciclat d'aigua	45
2	1 + absorció del CO ₂	30
3	2 + reciclatge de l'oxigen a partir del CO ₂	20
4	3 + producció d'aliments reciclant els residus	10
5	4 + eliminació de fuites	5

Taula 1.1.- Reducció de la massa relativa a embarcar en una missió espacial en funció de l'augment de tancament del sistema (segons Von Puttkamer, 1987)

Fins ara, en les missions tripulades, s'han fet servir sistemes de suport de vida basats en processos físico-químics que permeten el reciclatge de l'aigua i l'aire a partir dels residus generats per la tripulació (bàsicament transpiració, orina i CO₂). Aquests processos són, però, molt costosos energèticament i no permeten el reciclatge d'aliments.

Analitzant la taula 1.1 s'observa que la reducció del percentatge de massa a embarcar no és massa significativa si es va un pas més endavant i s'intenta obtenir aliment a partir del reciclatge dels residus. Tot i això, encara que en termes de massa es pugui argumentar que l'impacte de la regeneració de residus per la producció d'aliments no és significatiu, aquest reciclatge es considera indispensable en missions espacials de llarg recorregut per, entre d'altres raons, motius psicològics. Es considera necessari que la tripulació pugui observar “el fenomen de la vida” per poder conservar cert equilibri mental (Eckart, 1999).

Cal considerar també el factor seguretat i autonomia: per exemple, si una missió a Mart perdés el menjar en un accident hauria d'esperar un mínim de 6 mesos per tornar a tenir subministres. Fet del qual evidentment no es pot dependre.

1.1.2.- Elecció d'un sistema de suport de vida

L'elecció d'un sistema de suport de vida ve marcada per dues variables principals: la duració de la missió espacial i la distància a la Terra (Tamponnet i Savage, 1994), tal i com es desprèn de la figura 1.2.

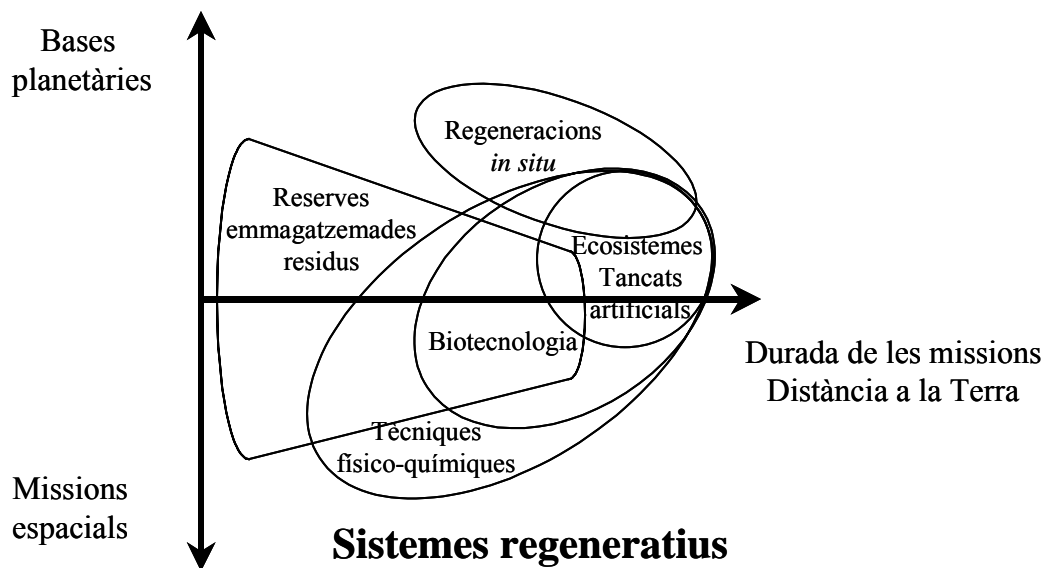


Figura 1.2.- Elecció del tipus de sistema de suport de vida a l'espai en funció de la duració de la missió i distància a la Terra

Per tal de poder establir comparacions entre els diferents sistemes de suport de vida, s'han desenvolupat certes conversions per realitzar càlculs i estimacions sobre l'autonomia de les missions tripulades que fan servir aquests diferents sistemes. Aquestes conversions permeten transformar qualsevol necessitat de la tripulació en "massa equivalent". El càlcul de la massa equivalent es pot dur a terme mitjançant l'equació 1.1 (Eckart, 1994):

$$\text{Massa equivalent} = \text{Massa del sistema} + \left\{ \begin{array}{l} \text{quantitat d'energia requerida} \cdot \text{factor de conversió} \\ \text{volum ocupat} \cdot \text{factor de conversió} \\ \text{calor requerida} \cdot \text{factor de conversió} \\ \text{manteniment requerit} \cdot \text{factor de conversió} \end{array} \right. \quad (1.1)$$

A la taula 1.2 es presenten els factors de conversió pel càlcul de la massa equivalent en sistemes de suport de vida biològics, basats en un cultiu de plantes superiors, estimats per Drysdale *et al.* (1994).

<i>Requeriment</i>	<i>Factor de conversió</i>
Superfície de cultiu	69 kg/m ²
Font d'energia	1/211 kg/kWh (fotovoltaica) 1/369 kg/kWh (solar) 1/3900 kg/kWh (nuclear)
Sistema de refrigeració	1/1590 kg/kWh
Manteniment	0.55 kg/home-hora

Taula 1.2.- Factors de conversió per conèixer la massa equivalent en sistemes de suport de vida biològics

Drysdale *et al.* (2000) van emprar aquest sistema de càlcul per aplicar-lo als suports de vida avançats per certes missions específiques: l'Estació Espacial Internacional (laboratori orbital d'investigació), i per diversos escenaris d'una missió a Mart. A l'actualitat aquest sistema de massa equivalent, ha estat adoptat pels investigadors de les diferents agències espacials (Osburg i Messerschmid, 2000; Samsonov *et al.*, 2000).

D'aquesta manera es permet la comparació entre dos sistemes o tecnologies que competeixin per una determinada funció. D'entre tots els factors esmentats a la taula 1.2 cal destacar que el temps requerit per la tripulació pel manteniment del sistema de suport de vida és un dels que presenta un major impacte en la determinació de la massa total.

1.1.3.- Els sistemes de suport de vida fisico-químics

En aquests tipus de sistemes l'únic component biològic és l'home. Els processos fisico-químics poden ser aplicats com a solució a una gran part de les necessitats d'un sistema de suport de vida, principalment, per: la gestió de l'atmosfera, el tractament de l'aigua i la gestió dels residus. Com a contrapartida cal fer constar que aquests processos no biològics no poden produir aliment i generalment consumeixen grans quantitats d'energia.

Com ja s'ha esmentat anteriorment, tots els sistemes de suport de vida utilitzats fins aquest moment han estat de tipus fisico-químic. A la taula 1.3 es resumeixen els principals processos fisico-químics que són actualment disponibles (Eckart, 1994; Tamponet *et al.*, 1999)

1.1.4.- Els sistemes de suport de vida biològics o bioregeneratius

Considerant els sistemes ecològics tancats artificials com a sistemes potencials de suport de vida, cal prendre com a referència el propi sistema de suport de vida de la Terra, la biosfera.

<i>Regeneració de l'atmosfera</i>	
Operació	Procés
Concentració de CO ₂	Tamisos moleculars Concentració per despolarització electroquímica Procés SAWD (<i>Solid Amine Water Desorption</i>)
Reducció de CO ₂	Hidròxid de liti Procés de reducció Bosch Procés Sabatier Reactors avançats per la formació de carboni
Generació d'O ₂	Electròlisi de CO ₂ Superòxids Electròlisi de l'aigua per alimentació estàtica Electròlisi de l'aigua mitjançant polímers sòlids Electròlisi del vapor d'aigua
<i>Tractament de l'aigua</i>	
Operació	Procés
Reciclatge de l'orina	Compressió-destil·lació del vapor (VCD)

	Eliminació catalítica de l'amoni en fase vapor (VAPCAR) Sistemes termoelèctrics integrats d'evaporació per membranes (TIMES) Sistema d'evaporació de l'aire (AES) Oxidació supercrítica de l'aigua
Recuperació d'H ₂ O per higiene i potabilització	Osmosi inversa Multifiltració Electrodiàlisi
Tractament o gestió dels residus	
Operació	Procés
Tractament dels residus sòlids	Oxidació humida supercrítica Oxidació humida Combustió/incineració Incineració electroquímica

Taula 1.3.- Principals tècniques utilitzades en sistemes de suport de vida físico-químics

Aquests tipus de sistemes, com ja s'ha dit, han d'aconseguir la generació d'aliments i d'oxigen, han de consumir el diòxid de carboni i han de processar els residus. A l'igual que a la Terra, el procés biològic principal que respon a aquestes expectatives és la fotosíntesi. Cal considerar però que en aquest procés només es reciclen components minerals i que, per tant, aquest procés s'ha d'acompanyar amb una descomposició dels residus orgànics generals.

Així doncs, l'ús d'algues o plantes superiors com a components bioregeneratius és factible per diverses raons (Krauss, 1979):

- El cultiu és senzill i el rendiment elevat.
- Adaptabilitat de la seva estructura a l'ambient espacial. Depenen, però, del nivell de gravetat.
- Producte apte pel consum humà.
- La facilitat amb què aquests sistemes podrien ser dissenyats per a ser utilitzats en sistemes amb microgravetat.

Cal esmentar que, a banda d'algues i plantes superiors, també s'estan cultivant microorganismes per respondre a les necessitats completes d'un sistema de suport de vida. Cal convertir en components assimilables per plantes i algues polímers i altres components de la matèria orgànica que no són directament assimilables per aquests.

Els tipus d'organismes i el paper que aquests juguen en un sistema de suport de vida biològic o bioregeneratiu són:

1 Microorganismes

Els microorganismes són utilitzats en el tractament dels residus, bàsicament, femta i orina de la tripulació i parts no comestibles de les plantes.

Els principals avantatges dels processos biològics que utilitzen microorganismes són que són processos relativament fàcils de controlar, no generen gaires residus i acostumen a tenir dinàmiques de creixement força ràpides.

Com a contrapartida cal assenyalar que la seva biomassa no acostuma a ser comestible i que, si es cultiven en aerobiosi, el seu cultiu va en contra de la regeneració atmosfèrica, consumint O₂ i produint CO₂.

Ara bé, cal destacar que hi ha processos necessaris en un sistema de suport de vida que, a nivell biològic, només els poden dur a terme microorganismes fent, així doncs, necessària la seva introducció en sistemes de suport de vida biològics o bioregeneratius. Aquests processos són, per exemple, la conversió d'amoni a nitrat. L'aport bàsic de nitrogen dins d'un sistema tancat és dona en forma d'amoni que prové de la urea. Pel creixement de plantes superiors es necessiten dues fonts de nitrogen bàsiques: l'amoni i el nitrat. Els únics organismes capaços de dur a terme els passos de nitrificació necessari per convertir l'amoni a nitrat són microorganismes nitrificants.

2 Algues

Els principals avantatges de l'ús d'aquests organismes en un sistema de suport de vida són que presenten un creixement ràpid, una dinàmica fàcilment controlable i que els intercanvis de gasos que generen són compatibles amb les necessitats de la tripulació i la regeneració de l'atmosfera.

Cal destacar però, que tot i ser comestibles, no són suficients per cobrir les necessitats nutricionals de la tripulació i que presenten un elevat contingut d'àcids nucleics, podent produir, si es consumeixen en excés, la malaltia coneguda pel nom de gota (Jassby, 1988).

La investigació de la utilització d'algues en sistemes de suport de vida va iniciar-se als anys cinquanta per les grans companyies espacials i d'aviació nord-americanes i soviètiques (Gitelson *et al.*, 1975). Els estudis duts a terme fins ara estan orientats cap a dues finalitats bàsiques: la regeneració de l'aire i l'ús d'algues amb finalitat alimentària.

Plantes superiors

La introducció de plantes superiors en un sistema de suport de vida permet aportar la major part dels elements nutritius necessaris per a l'ésser humà: proteïnes, lípids, hidrats de carboni, minerals i oligoelements.

Les plantes, mitjançant la fotosíntesi, desenvolupen també un paper fonamental en la regeneració de l'atmosfera i són útils en el sistema de regeneració de l'aigua, ja que l'aigua eliminada a través de les fulles, per la transpiració, pot ser emprada com a aigua potable o com aigua destinada a la higiene.

Per altra banda poder observar el creixement de les plantes superiors provoca un ambient similar al de la terra col·laborant així amb l'estabilitat psicològica de la tripulació. Aquest aspecte és rellevant en missions de llarga durada.

Els principals paràmetres que cal tenir en compte en l'estudi i desenvolupament del cultiu de plantes superiors són el volum i superfície de cultiu requerits, la llum (exposició, eficiència de la fotosíntesi, fotoperíode), el control de l'atmosfera i els mètodes de cultiu (el sistema que es considera més adequat pel cultiu de plantes superiors a l'espai és l'hidropònic) (Eckart, 1994).

1.1.5.- Possibles utilitats de l'estudi dels sistemes de suport de vida fora de l'espai

Els problemes que apareixen quan es considera el confinament permanent de l'home a l'espai no són exclusius d'aquest sistema. Sistemes amb problemes similars podrien ser els casos de bases permanents al pol nord o sud o una base submarina a l'oceà. Aquests problemes podrien, fins i tot, arribar a aparèixer en el que avui són entorns perfectament habitables de la terra. A mesura que la població humana augmenta, la demanda de menjar i fibra obliga a que l'agricultura sigui cada cop més especialitzada i intensiva. Aquesta s'ha de dedicar a cultivar només, determinades espècies de plantes que siguin suficients per mantenir certes espècies d'animals, entre les quals s'hi troba l'home. Com a resultat d'una població humana en constant expansió podrien, doncs, canviar les condicions de vida al planeta evolucionant cap a les que hi hauria en un assentament espacial. Així doncs, si la humanitat no controla el seu creixement, es pot arribar a haver de tractar a la terra els mateixos problemes que avui en dia es plantegen a l'espai (Krauss, 1979).

De tot això se'n desprèn que l'estudi dels cicles de matèria i la implementació de sistemes amb un alt grau de tancament, hauran de jugar un paper cada cop més important a l'activitat humana. D'entre aquests tipus de sistemes, solament aquells que estiguin basats en processos biològics podran, de moment, no només satisfer les necessitats de regeneració de l'aire i recuperació de l'aigua i dels materials sòlids, sinó que també seran capaços de tancar el cicle alimentari, mitjançant la generació de matèria comestible.

1.1.6.- Evolució dels CELSS “Controlled Ecological Life Support System”

La investigació experimental de sistemes ecològics de suport de vida s'ha accentuat aquests darrers anys degut a l'interès de les principals agències espacials a plantejar-se com a objectiu a mig termini missions interplanetàries i viatges espacials de llarga durada, fonamentalment a la Lluna i a Mart.

A continuació es fa una breu descripció de l'evolució dels sistemes de suport de vida ecològics i tancats (Meleshko, 1991):

L'any 1961, als Estats Units d'Amèrica es van realitzar els primers experiments amb sistemes basats en cultius d'algues amb la intenció de regenerar l'aire, sistema que va estar funcionant durant més de 50 dies. En aquest mateix any a la Unió Soviètica es van realitzar experiments del mateix tipus utilitzant inicialment rates, posteriorment, gossos i finalment homes (projectes BIOS 1 i BIOS 2).

L'any 1977 es va desenvolupar el projecte CELSSUS (EUA, Japó), que estudiava un ambient controlat pel creixement de plantes superiors, regulant la llum, les condicions d'humitat, la concentració de CO₂, etc.

El projecte BIOS 3 (Unió Soviètica, 1972-1984) va utilitzar també plantes superiors en un sistema tancat per regenerar l'aigua i produir aliment (entre el 30-50% de les necessitats) en un experiment amb humans que es va prolongar durant 6 mesos.

El projecte Biosphere 2 (EUA, 1984) va consistir en un sistema de suport de vida amb un volum de 18000 m³; estava tancat pel que fa al flux de matèria però obert pel que fa al d'energia. L'aigua i l'aire es regeneraven per complet mitjançant un sistema ecològic. Vuit persones van viure en el sistema durant més de 2 anys.

El projecte CEEF (*Closed Ecology Experiment Facilities*) s'està desenvolupant des del 1994 per l'IES (*Institute for Environmental Science*) a Rokkasyo Village, Japó. Aquest projecte està constituït per 3 mòduls. Cadascun dels mòduls pot funcionar de manera independent o en cooperació amb els altres. Únicament l'energia i la informació són

intercanviats amb l'exterior del sistema, veure la figura 1.3 (Kibe *et al.*, 1997). El CEEF representa doncs un instrument important per comprendre els fluxos de matèria a la Terra, però també per desenvolupar sistemes de suports de vida a l'espai. Els 3 mòduls que componen aquest projecte així com les seves funcions es descriuen a continuació:

CPEF (*Closed Plantation Experiment Facility*), constituït per quatre cambres de cultiu de plantes superiors de tipus hidropònic. El subsistema de tractament dels residus separa les plantes recollides en una part comestible i una part no comestible. La fracció comestible de les plantes produïda s'usa en el següent mòdul com a aliment, mentre que la fracció no comestible es tracta mitjançant un procés d'oxidació humida.

CAB i HEF (*Closed Animal Breeding i Habitation Experiment Facility*), alberga els experiments d'alimentació tant animal com humana. Es regula el flux entre els diferents subsistemes: tractament de l'aire, aigua i residus.

CGHEF (*Closed Geo & Hydrosphere Experiment Facility*), integrat per dos aquaris, els quals permeten reconstruir diferents tipus d'ecosistemes marins.

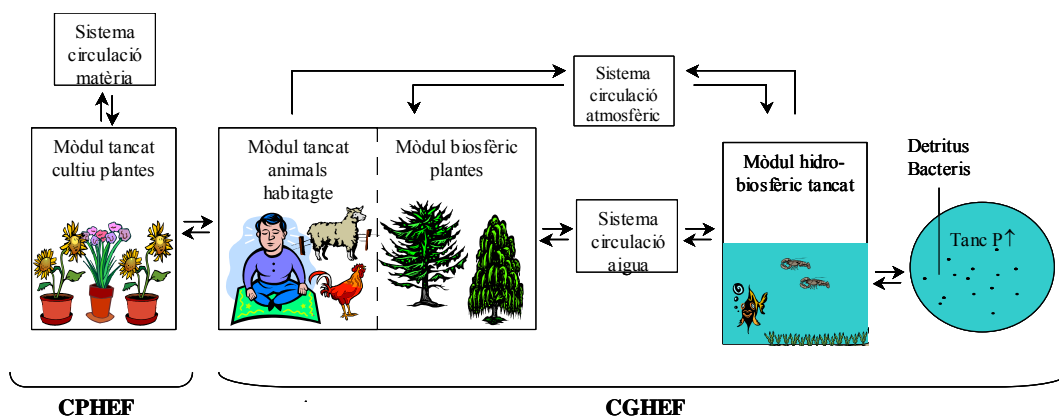


Figura 1.3.- Esquema del CEEF (*Closed Ecology Experiment Facilities*) (segons Kibe *et al.*, 1997)

L'evolució futura que es preveu dels mòduls CPEF i CAB&HEF del CEEF a l'IES es mostra a la taula 1.4 (Nitta *et al.*, 2000). El mòdul CGHEF es troba encara en fase de disseny.

La NASA va desenvolupar el projecte LMLSTP (*Lunar Mars Life Support Test Project*) durant els anys 1995 i 1997. Com a resultat es van realitzar experiments en un sistema de suport de vida regeneratiu, amb un grup de quatre persones durant 90 dies.

Durant aquest període de temps es va regenerar l'atmosfera respirable mitjançant sistemes fisico-químics i biològics (Vodovotz, 1998).

Període (any)	Tasques
Fins 2005	Desenvolupar els diferents mòduls per separat estudiant cinètiques, fluxos de matèria, etc.

2005	Començar el cultiu cíclic al CPEF i enllestir la connexió física amb els CAB&HEF.
2006	Connectar el mòdul de plantes amb el mòdul d'animals i habitatge durant 1 setmana.
2007	Connectar el mòdul de plantes amb el mòdul d'animals i habitatge durant 60 dies.
2008	Connectar el mòdul de plantes amb el mòdul d'animals i habitatge durant 180 dies.

Taula 1.4.- Evolució prevista pel CEEF (Nitta *et al.*, 2000)

La NASA està construint una instal·lació on s'haurien d'integrar diferents avenços dins del camp dels sistemes de suport de vida. Aquesta instal·lació es denomina BIO-Plex (*Bioregenerative Planetary Life Support Systems Test Complex*) i està situada al Johnson Space Center (Houston, EUA). Aquest sistema està compost per una sèrie de mòduls interconnectats i està dimensionat per experimentar amb quatre persones durant períodes de temps superiors a un any. El mòdul biològic principal per la generació d'aliments és un mòdul de plantes superiors. En aquests moments, però, aquesta instal·lació roman tancada, des del 2001, per falta de pressupost. La iniciativa actual de EUA dins del desenvolupament de sistemes de suport de vida biològics es duu a terme a la Universitat de Puche amb el projecte NSCORT.

Ara bé, els plans de futur immediat de la NASA pel que fa a sistemes de suport de vida es descriuen a la taula 1.5 (JSC 39168 CTSD-ADV-348, 2002).

L'Agència Espacial Europea (ESA), està desenvolupant un sistema denominat MELISSA des del 1989. Aquest sistema de suport de vida es descriu posteriorment amb més detall tenint en compte que aquest treball es veu englobat dins d'aquest projecte.

<i>Període (any)</i>	<i>Tasques</i>
2003	<ul style="list-style-type: none"> - Reiniciar els plans de desenvolupament del BIO-Plex. - Acabar de desenvolupar un procés catalític en fase vapor d'extracció d'amoni de l'aigua. - Dur a terme experiments de revitalització de l'aire - Actualitzar tots els càlculs i estudis referents a Sistemes de Suport de Vida avançats. - Dur a terme una demostració en vol d'un processador biològic de nitrificació d'aigües residuals.
2004	<ul style="list-style-type: none"> - Acabar de construir la instal·lació necessària del BIO-Plex. - Demostrar en microgravetat la viabilitat d'un experiment de llarga durada d'alimentació de nutrients en cultius de plantes superiors. - Actualitzar tots els càlculs i estudis referents a Sistemes de Suport de Vida avançats.
2005	<ul style="list-style-type: none"> - Seleccionar les tecnologies candidates per realitzar el primer test integrat al BIO-Plex. - Actualitzar tots els càlculs i estudis referents a Sistemes de Suport de Vida avançats.

	<ul style="list-style-type: none"> - Optimització, en un experiment de vol en microgravetat, dels substrats pel cultiu de diferents tipus de plantes superiors. - Completar els requeriments per acollir persones del BIO-Plex i demostrar-ne la viabilitat operacional.
2006	<ul style="list-style-type: none"> - Actualitzar tots els càlculs i estudis referents a Sistemes de Suport de Vida avançats. - Demostrar en òrbita la tecnologia d'un procés de dues fases d'oxigenació i separació d'aigües residuals i el corresponent paquet de sensors necessaris.
futur	<ul style="list-style-type: none"> - Començar al BIO-Plex un test de 120 dies amb 4 persones abans del 2008. - Demostrar en un experiment de vol les cinètiques de nitrificació d'aigües residuals en microgravetat. - Demostrar la possibilitat d'inocular en òrbita un bioprocessador a la ISS. - Demostrar un sistema d' evaporació d' aire per recuperar salmorra en microgravetat.

Taula 1.5.- Plans futurs de la NASA pel que fa al desenvolupament d'un sistema de suport de vida bioregeneratiu (aquests plans estan pendents d'aportacions econòmiques suficients per dur-los a terme)

1.2.- El projecte MELISSA

El projecte MELISSA (*Micro Ecological Life Support System Alternative*) és un projecte de l'Agència Espacial Europea (ESA) que consisteix, com ja s'ha dit, en el desenvolupament d'un ecosistema, basat principalment en microorganismes i plantes superiors, que ha de permetre avançar en la comprensió dels ecosistemes artificials i ha de permetre desenvolupar, en un futur, un sistema de suport de vida biològic per a missions espacials de llarga durada.

El seu funcionament es basa en recuperar biomassa comestible a partir dels residus (matèria fecal i orina), CO₂ i minerals, tot usant la llum com a font d'energia per la fotosíntesi. Per tal d'aconseguir aquest objectiu, el projecte MELISSA proposa, en una primera fase, un acoblament de sis compartiments, quatre d'origen microbiològic colonitzats per diferents soques, un de plantes superiors que té com a funció principal satisfer els requeriments nutricionals de la tripulació i un altre que el formaria la tripulació. Tots sis compartiments estan interconnectats de manera que es permet el reciclatge dels residus del seu compartiment principal (el de la tripulació) i la regeneració dels seus nutrients. A la figura 1.4 es presenta un esquema del bucle actual del MELISSA.

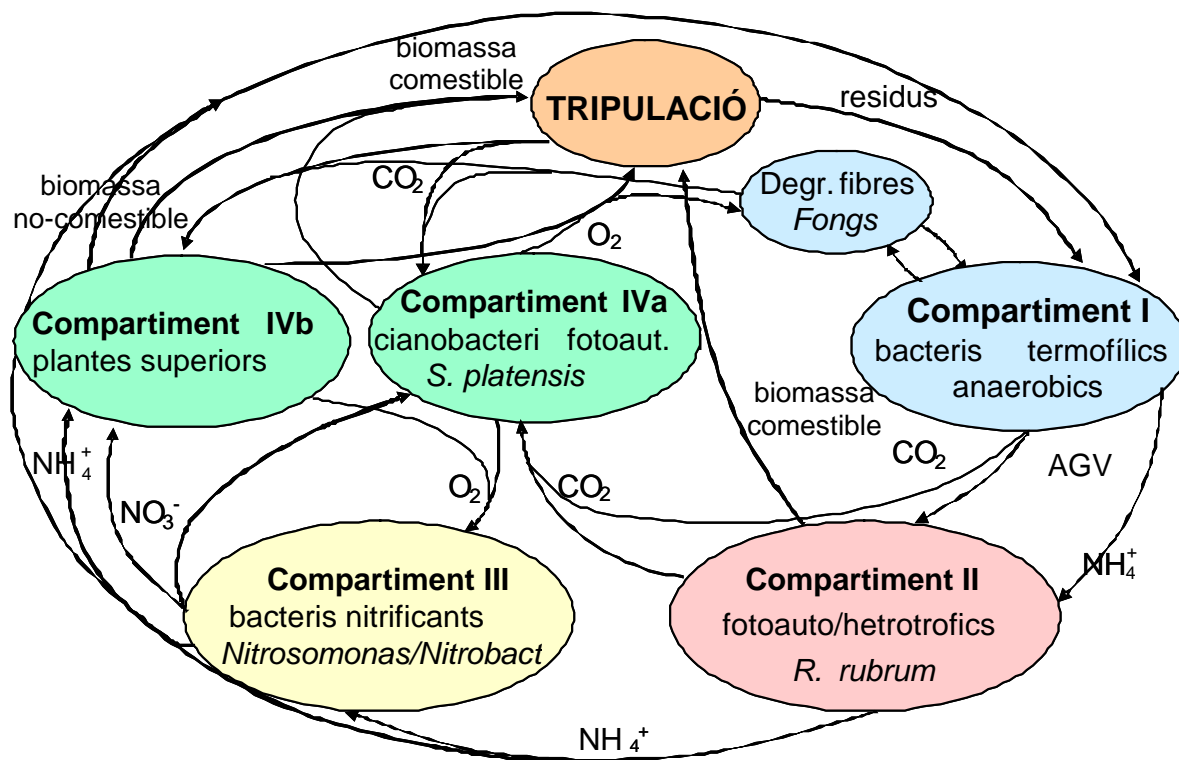


Figura 1.4.- El bucle MELISSA, compartiments en estudi de viabilitat

L'avantatge de la base microbiològica d'aquest sistema no només resideix en l'àmplia diversitat metabòlica i, per tant, en la possibilitat de seleccionar microorganismes adients per a la realització de les diferents tasques; sinó que també fa que sigui més fàcil l'estudi i el control dels seus elements, que no pas utilitzant organismes més complexes. Al mateix temps, es pot beneficiar de la tecnologia que ja ha estat desenvolupada per a la indústria de la fermentació.

El sistema MELISSA no només permet l'estudi científic dels sistemes de suport de vida sinó que també promou el desenvolupament de la tecnologia necessària per aconseguir aquest objectiu. Per exemple, en tot sistema de suport de vida, un sistema de control apropiat és absolutament important i necessari. Aquest sistema de control necessita una font d'informació, i per tant, s'ha de desenvolupar una tecnologia de sensors apropiada, capaç d'obtenir informació instantània de les variables mesurades. En cas contrari, el control del sistema no és possible i, per tant, la seva estabilitat i la realització dels seus objectius no són factibles.

La informació reunida sobre cada compartiment ha de permetre construir un model del sistema sencer, que ha de revelar, fins i tot abans de que el cicle real estigui tancat, el funcionament que se'n pot esperar; i permetre la correcció de problemes abans de que aquests sorgeixin. Així doncs, la modelització del cicle accelerarà el procés de la seva implementació en facilitar l'estudi de diferents escenaris mitjançant simulació.

Aquest projecte està impulsat i conduït per l'Agència Espacial Europea des del seu centre ESTEC (Holanda), i està integrat per diverses organitzacions que desenvolupen les següents funcions:

CNRS/IBP Gif sur Yvette/Orsay (França): encarregats de la selecció microbiana de les soques emprades en cada compartiment.

Universitat de Ghent (Bèlgica): desenvolupa el compartiment I alternatiu basat en la metanogènesis.

EPAS (Bèlgica): desenvolupa el primer compartiment.

Universitat de Clermont-Ferrand (França): desenvolupa els models de creixement de cada un dels compartiments, així com del bucle global a partir de les diferents dades experimentals i necessitats del projecte.

VITO Mol (Bèlgica): es dedica a l'estudi de processos de separació i d'estabilitat genètica dels microorganismes.

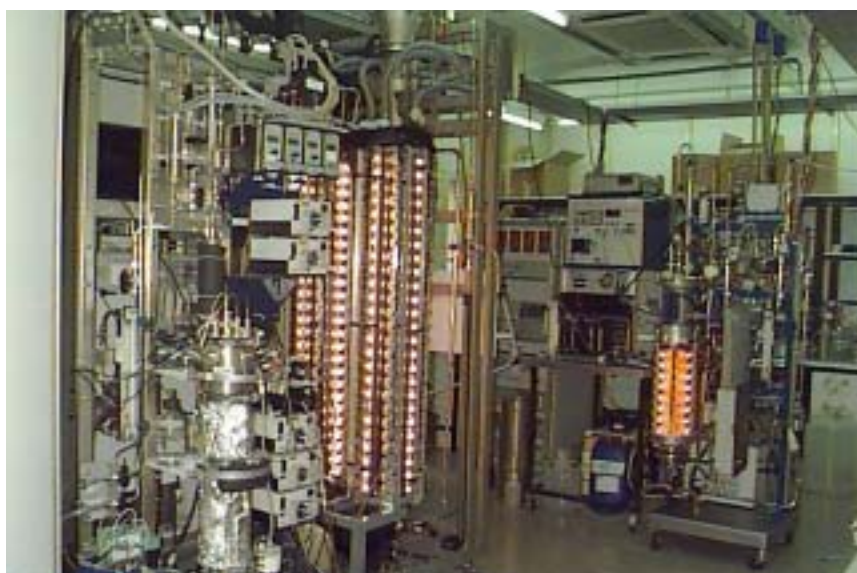
ADERSA (França): desenvolupa els sistemes de control basats en els models de creixement.

Universitat de Guelph (Canadà): desenvolupa el compartiment ivb, o compartiment de plantes superiors.

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) (Espanya): desenvolupa la planta pilot del projecte. S'encarrega de la integració dels compartiments i demostració a nivell terrestre de la viabilitat del sistema plantejat pel MELISSA.

1.2.1.- planta pilot del projecte melissa. Universitat Autònoma de Barcelona

La planta pilot del projecte melissa està ubicada al departament d'enginyeria química de la universitat autònoma de barcelona des del setembre de 1985. Una fotografia actual d'aquesta planta es presenta a la figura 1.5.



1.5.- Planta pilot del projecte melissa (Universitat Autònoma de Barcelona)

La funció principal que es vol assolir en aquesta instal·lació és la demostració experimental de la viabilitat del projecte melissa. De moment, l'objectiu és el de demostrar el funcionament a nivell terrestre del cycle proposat inicialment pel projecte. Aquest objectiu es vol aconseguir amb el nombre i tipus de compartiments dissenyats inicialment.

Així doncs, es vol avançar en l'estudi de la connexió de cada un dels compartiments sense que aquests canviïn de forma contínua per tal de poder demostrar el bon funcionament del bucle proposat pel projecte.

No s'exclou, però, el seguir investigant en paral·lel les limitacions de cada compartiment, possibles alternatives, i la futura adaptació d'aquest cycle a l'espai.

Per dur a terme aquest objectiu la planta pilot del projecte melissa disposa, de moment, dels bioreactors II, III i IVa tant a escala de laboratori com a escala pilot. En un futur immediat s'aniran traslladant a barcelona tots els altres compartiments que formen el cycle complet. Per això s'ha dissenyat un nou laboratori la distribució del qual es presenta a la figura 1.6. Aquest laboratori s'ubicarà a les noves instal·lacions del departament d'enginyeria química de la UAB.

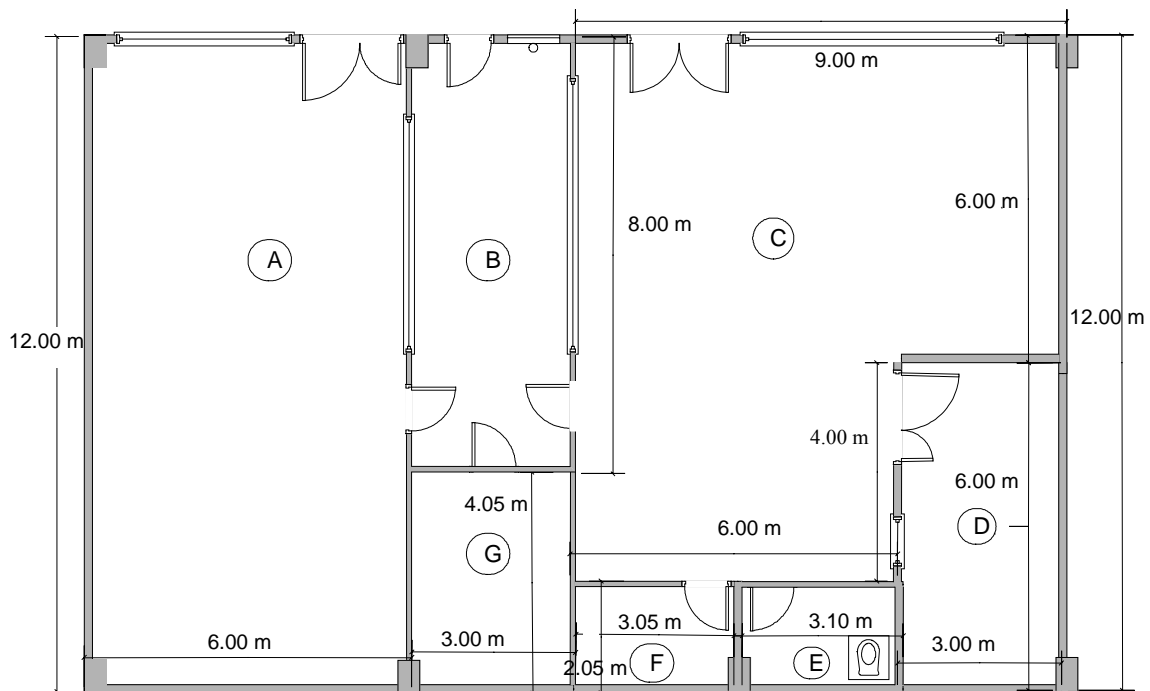


Figura 1.6.- Distribució de la futura planta pilot del projecte MELISSA on ja hi hauran integrats tots els compartiments: a: CIVb (cps), b: sala control, c: CII, CIII i CIVa, d:ci, e:cambrà de recollida de residus humans, f: cambra on hi haurà el compartiment pilot de tripulació (rates), g: habitatge humans

El procés que ha de finalitzar en la construcció de tots els components del bucle a la nova instal·lació de la planta pilot, la seva integració, demostració i operació de forma continuada es presenta a la figura 1.7.

A continuació es descriuen les funcions i les característiques i situació actual de cadascun dels compartiments del cycle proposat pel projecte MELISSA.

1.2.2.- Compartiment I: Termofilic, anaerobic, fermentatiu

L'objectiu d'aquest compartiment és la degradació biològica dels residus sòlids i líquids produïts en el compartiment de la tripulació (trencament de polímers com cel·lulosa, hemicel·lulosa, proteïnes, etc.), de la part no comestible del compartiment de plantes superiors i la biomassa produïda en el conjunt del sistema no destinada al consum humà. Aquest procés es duu a terme en anaerobiosi per tal de minimitzar el consum d'oxigen al cycle.

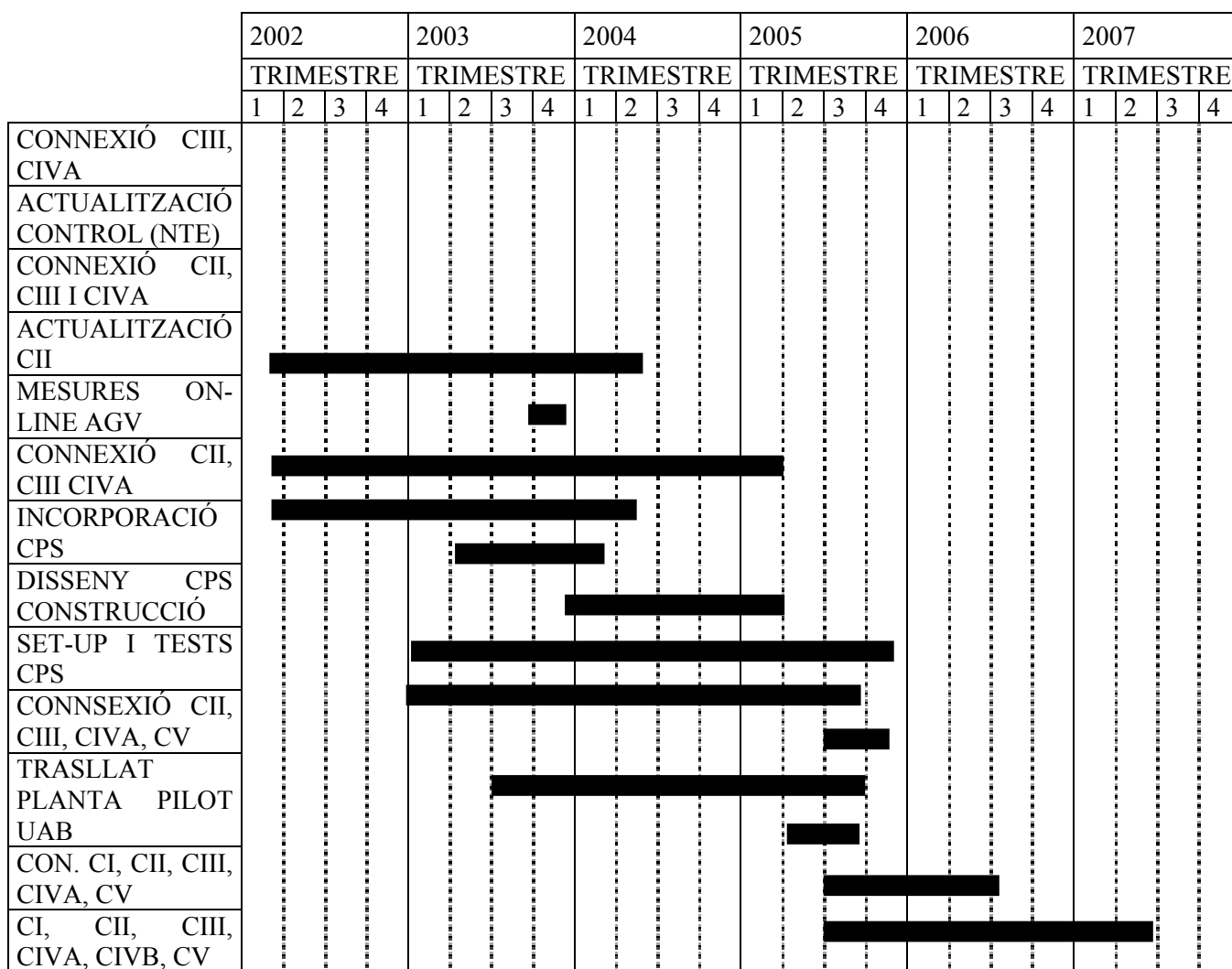


Figura 1.7.- Principals etapes en el desenvolupament futur de MELISSA fins arribar a la integració i demostració del bucle complet

No és possible assolir una degradació completa dels diferents elements utilitzant una sola espècie de microorganismes. La biodegradació anaeròbia clàssica és un procés que es realitza en quatre etapes durant les quals el substrat va sent progressivament degradat per tres grups de bacteris diferents. Un esquema del procés complet de degradació anaeròbia es presenta a la figura 1.8.

Els àcids grassos volàtils i l'amoni formats al llarg del procés de degradació anaeròbia són usats com a aliment en el segon compartiment i el CO₂ generat s'utilitza com a font de carboni en el quart compartiment microbià i en el compartiment de plantes superiors. Les dues primeres etapes (hidròlisi i acidogènesi) són dutes a terme pels bacteris fermentatius (o acidògens). Els polímers orgànics són hidrolitzats a monòmers hidrosolubles que són a la vegada degradats per un procés d'oxidació-reducció. Els productes d'aquesta degradació són diòxid de carboni, hidrogen i àcids grassos volàtils (majoritàriament: propiònic, butíric, isobutíric, valèric i isovalèric). En funció de les condicions ambientals, substrats, pH i pressió parcial d'H₂, poden produir-se també, lactat, formiat i alcohols.

Els bacteris acetogènics són responsables de la degradació dels àcids grassos i dels alcohols a, bàsicament, acetat, H₂ i CO₂. S'ha demostrat que aquesta reacció no és favorable termodinàmicament a no ser que l'hidrogen produït sigui eliminat de manera eficaç pels bacteris metanogènics.

A la darrera etapa, els bacteris metanogènics converteixen l'acetat a H₂, CO₂, CH₄ i H₂O. Aquests bacteris es divideixen en dos subgrups principals: bacteris acetotròfics i bacteris hidrogenotròfics.

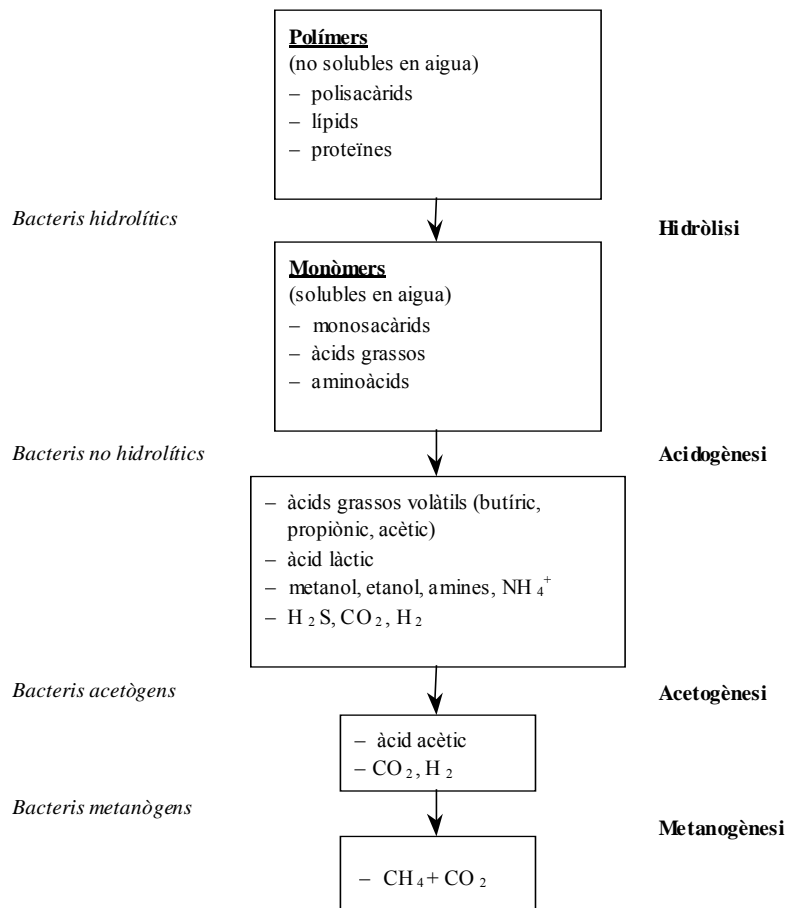


Figura 1.8.- Esquema general d'una biodegradació anaeròbia

* Evolució d'aquest compartiment dins el projecte MELISSA

Com a microorganismes per colonitzar aquest compartiment es van seleccionar, inicialment, els tres següents: *Clostridium thermocellum*, *Clostridium thermosaccharolyticum* i *Coprothermobacter proeolyticus*. Les soques d'aquests microorganismes podien degradar medis sintètics produint àcids grassos volàtils. Ara bé, eren incapaces de degradar substrats més complexes com, per exemple, la matèria fecal.

Per aquesta raó, aquests microorganismes han estat reemplaçats per un inòcul format per soques autòctones presents a la matèria fecal humana. L'anàlisi per PCR de les soques aïllades a partir d'aquest inòcul ha permès determinar que les espècies predominants són *Ruminococcus bromii* i *Petrotoga mobili*. Amb aquestes soques s'aconsegueix una eficiència de degradació global de la matèria fecal d'un 50%.

En els sistemes convencionals de degradació anaeròbia s'intenta maximitzar la producció de metà. En el bucle MELISSA, en canvi, s'ha de potenciar la producció d'àcids volàtils mentre que el metà representa un subproducte no desitjat, és a dir, cal inhibir la metanogènesi.

Estudis preliminars han posat de manifest que, quan la concentració d'amoni en el reactor és superior a 7 g/L, la metanogènesi queda totalment inhibida. S'ha de tenir en compte, però, que una concentració elevada d'amoni en el reactor inhibeix, també, la síntesi d'àcid volàtils (Hermans i Demey, 1999 i 2001).

Una operació del reactor a un pH lleugerament àcid (6.5) i en condicions de termofília (50-55°C) permet reduir la producció de metà i dificulta la presència de contaminants.

Tot i això, la degradació dels residus humans que s'aconsegueix és parcial a causa de la presència de compostos recalcitrants com cel·lulosa, xilans i lignina; la degradació dels quals, tal i com es presenta a la figura 1.4, s'està estudiant de fer posteriorment amb un compartiment de fongs.

Els rendiments globals de degradació que s'assoleixen actualment en aquest compartiment són de l'ordre del 50% (Hermans i Demey, 1999 i 2001). Ja s'espera que els percentatges de degradació d'aquest compartiment no arribin mai a un 100% treballant a unes velocitats mitjanament acceptables en aquest compartiment. És per això que, tal i com es veu a la figura 1.4, s'estan estudiant processos alternatius que complementen aquest compartiment i que han de permetre degradar de forma efectiva la fibra i altres materials no hidrolitzables en el compartiment I actual.

1.2.3.- Compartiment II: Bacteris fotoauto/heteròtrofs

L'objectiu del segon compartiment és metabolitzar els productes generats per l'activitat degradativa del compartiment I. Aquests productes són: àcids grassos volàtils, alguns alcohols, aminoàcids, amines, hidrogen, diòxid de carboni, sulfur, etc.

Per convertir aquests compostos en biomassa, en condicions anaeròbies, s'han seleccionat bacteris fototròfics anoxigènics. Es proposa fer servir dos bacteris diferents:

Rhodospirillum rubrum, encarregat de degradar la font de carboni

Rhodobacter capsulata, responsable de consumir l'hidrogen i el diòxid de carboni.

Així doncs, amb l'activitat d'aquests bacteris s'espera que la sortida d'aquest compartiment sigui simplement un corrent ric en nitrogen, en forma d'amoni i sals minerals.

En cas de presència de sulfhídric en aquest compartiment es proposa una tercera espècie (per exemple, *Thiocapsa roseopersicina*), que en sigui responsable del seu consum.

A la figura 1.9 es presenta un esquema de les funcions d'aquest compartiment.

Els microorganismes fotòtrofs que colonitzen aquest compartiment són considerats font de proteïna unicel·lular (Litchfield, 1983), ja que la seva composició és d'elevada qualitat (Vrati, 1984). El seu contingut en metionina és, segons la referència de la FAO, superior a la de la carn i de la soja. S'utilitzen en piscicultura, horticultura i a la indústria avícola i mai se n'ha observat un comportament tòxic o patògen.

Així doncs, sembla que molt probablement aquests microorganismes poden ser comestibles fent que aquest compartiment sigui, també, una font d'aliment. Actualment s'estan duent a terme experiments de consum de *R. rubrum* per part de ratolins.

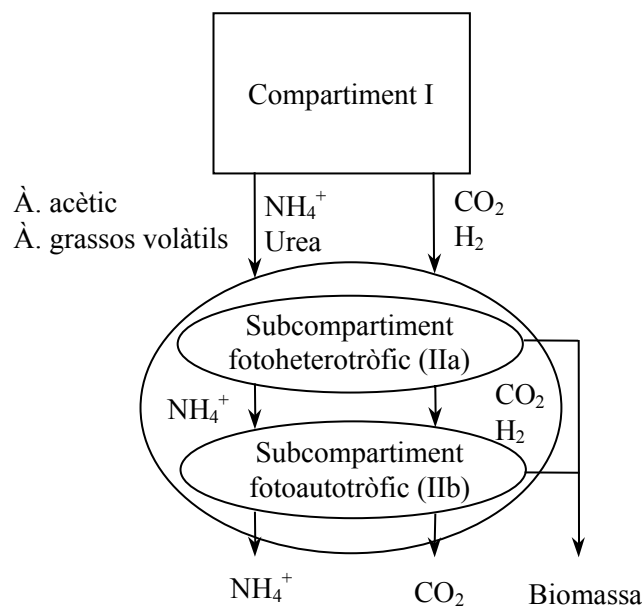


Figura 1.9.- Esquema de les funcions del segon compartiment

* Evolució d'aquest compartiment dins el projecte MELISSA

Inicialment van realitzar-se uns primers experiments de creixement de *R. rubrum* i *R. capsulata*, bacteris colonitzadors dels dos subcompartiments que formen el compartiment II, amb substrats diferents: làctic, acètic, butíric i etanol, com a font de carboni, i amoni, urea, betaïna i glutamat, com a font de nitrogen. Es van extreure les següents conclusions (Albiol, 1994):

- Cap de les dues soques va créixer en etanol sol. Ara bé, *R. rubrum* sí que va créixer quan disposava d'etanol i d' HCO_3^- .
- Es va observar que l'amoni és la millor font de nitrogen.
- *R. capsulata* no va créixer en barreges d'àcid làctic i urea.
- En presència d'àcid acètic, cap de les soques va créixer amb betaïna com a font de nitrogen.
- El glutamat es va mostrar com una font pobre de nitrogen. Existeixen evidències de que en cultius fotoheterotròfics, en presència d'urea i amoni, l'amoni es consumeix

primer. No obstant, aquest no hauria de ser el cas una vegada que els àcids orgànics s'haguessin exhaurit. Però, no hi ha proves experimentals. Això fa que sigui més important la necessitat de que el consum dels àcids orgànics sigui total al compartiment fotoheterotròfic.

- Les dues soques van poder créixer en condicions autotròfiques ($\text{CO}_2 + \text{H}_2$), mostrant *R. capsulata* una velocitat de creixement superior. Aquesta forma de créixer requereix l'absència completa de substàncies orgàniques al medi de cultiu. Aquest fet va determinar que aquest segon compartiment es dividís en dos subcompartiment diferents.

- *R. capsulata* pot consumir sulfur, però això ho fa acumulant-lo extracel·lularment com a sofre elemental (Hansen i Gernerden, 1972, Kompatseva, 1981). S'espera un comportament similar per a *R. rubrum*. És necessari, doncs, emprar una soca que sigui capaç de reduir el sulfat a sulfur. En una primera selecció es van considerar els gèneres *Thiobacillii* i *Thiocapsa*. Aquestes soques són, malgrat tot, aeròbies estrictes i només es podrien inocular en el tercer compartiment. No obstant, es va proposar l'ús d'una soca del segon gènere per a ser utilitzada sota les condicions anaeròbies del segon compartiment. Es van portar a terme uns experiments preliminars amb diferents soques de *Thiocapsa roseopersicina*. Els resultats van mostrar el creixement d'aquestes soques utilitzant el sulfur com a font d'electrons, i emprant com a font de nitrogen tant amoni com urea. Ara bé, els primers experiments per comprovar el creixement de *Thiocapsa roseopersicina* en efluent d'un cultiu de *Clostridia* tingueren un resultat negatiu.

Una vegada definides aquestes condicions de partida, s'ha treballat en el desenvolupament del subcompartiment fotoheterotròfic del compartiment II.

Actualment aquest compartiment ja es troba operant a la planta del projecte MELISSA a escala pilot. S'està estudiant l'optimització de les condicions d'operació i disseny del reactor per tal d'assolir el consum complet dels compostos orgànics presents a l'entrada del segon compartiment (Cabello, 2000).

S'està determinant, també, l'efecte de diferents condicions d'operació per tenir, així, un coneixement complet d'aquest subcompartiment permetent desenvolupar models matemàtics fiables (Albiol *et al.*, 1997; Cornet i Albiol, 2000) i implementar-ne un sistema de control.

El desenvolupament del segon subcompartiment es troba, de moment, aturat. Cal acabar-ne de determinar la seva necessitat, ja que semblaria que la producció de H_2 queda completament inhibida al primer compartiment, essent així aquest innecessari (Hermans i Demey, 1998 i 2001). Cal destacar, també, la capacitat de *R. rubrum* d'assimilar H_2 i créixer fotoautotròficament. Aquests fets fan que segurament s'opti per simplificar el disseny inicial i que els segon compartiment sigui exclusivament un compartiment amb *R. rubrum*.

Rhodospirillum rubrum

R. rubrum és un bacteri porpra no del sofre que pot créixer tant fotoheterotròficament com fotoautotròficament. Creix tant en condicions aeròbies com anaeròbies i té un pH i una temperatura òptimes de creixement de 6.8 i 30°C, respectivament.

La funció principal de *R. rubrum* en aquest compartiment és, com ja s'ha dit, la d'assimilar tots els àcids grassos volàtils que hi entren. En aquest apartat es presenten les principals rutes metabòliques de *R. rubrum* per dur a terme aquesta funció.

Metabolisme del carboni: Àcids orgànics

La utilització d'àcids orgànics és una característica de molts bacteris porpres i per a moltes espècies són el substrat que millor s'assimila. Els àcids orgànics majorment utilitzats per aquests bacteris són àcids grassos saturats (fins a C₉), àcids di- i tri-carboxílics i hidroxí- i cetoàcids (de C₃ a C₆).

Les principals rutes metabòliques del carboni per aquest bacteri es presenten a la figura 1.10.

S'han realitzat molts estudis sobre el metabolisme de l'acetat, principal àcid volàtil present a l'entrada del segon compartiment, en *R. rubrum* (Hoare, 1963; Merrick, 1978; Albiol, 1994).

La utilització de l'acetat comença amb la formació d'acetil-CoA, catalitzada per l'acetil-CoA sintasa. L'acetil-CoA pot estar involucrat en diferents reaccions en funció de les espècies bacterianes i del medi de cultiu.

En cultius de bacteris porpres on la font de carboni és acetat s'observa la ràpida formació d'aminoàcids, especialment aspartat i glutamat. A part dels aminoàcids es formen, també, compostos del cicle dels àcids tricarboxílics (TCA), com succinat, malat, fumarat i citrat.

També hi ha una altra ruta del metabolisme de l'acetat àmpliament distribuïda als bacteris porpres. Aquesta ruta consisteix en la producció de polihidroxibutirat a partir d'acetat. Aquest procés comença amb la condensació de dues molècules d'acetil-CoA, formant acetoacetil-CoA.

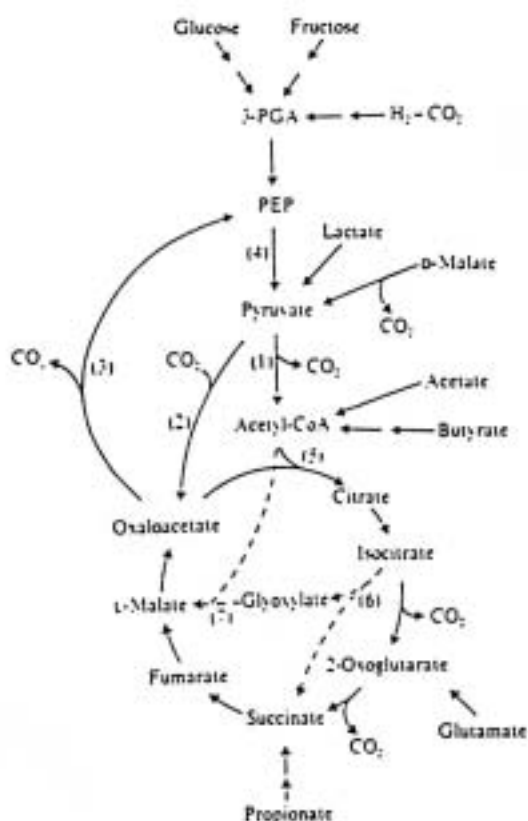


Figura 1.10.- Rutes metabòliques més importants del metabolisme del carboni (TCA i la via Embden Meyerhoff). (1) Piruvat deshidrogenasa; (2) piruvat carboxilasa; (3) fosfoenolpiruvat carboxiquinasa; (4) piruvat quinasa; (5) citrat sintasa; (6) isocitrat liasa; (7) Malat sintasa

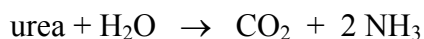
Metabolisme del nitrogen

R. rubrum és capaç de créixer amb amoni com a font de nitrogen independentment de la font de carboni que utilitzi. Encara que l'amoni és la font de nitrogen principal, pot utilitzar altres compostos de nitrogen inorgànics i orgànics (Gicqueau, 1993; Viprey, 1994).

Cal destacar que la producció d'hidrogen gasós està molt relacionada amb el metabolisme del nitrogen. Sembla que la producció d'hidrogen és nul·la quan hi ha amoni, o una font de nitrogen que produeix amoni, en el medi de cultiu.

Quan en el medi de cultiu hi ha urea i amoni, les dues fonts de nitrogen més probables a l'entrada del segon compartiment, l'amoni s'assimila en primer lloc.

El catabolisme de la urea implica l'activitat d'una ureasa i comporta la producció d'amoniac:



Polímers de reserva

Aquests bacteris poden emmagatzemar polímers de reserva de carboni en dues formes diferents: glicogen i poli- β -hidroxibutirat (PHB) (Merrick, 1978).

La síntesi del material de reserva depèn principalment de la font de carboni i de l'excés de carboni i de llum (energia). Això significa que la composició C/N del medi de cultiu està relacionada directament amb la síntesi dels polímers de reserva. Com ja s'ha dit, existeixen dos polímers de reserva possibles:

Glicogen: Les fonts de carboni més importants que condueixen a la síntesi de glicogen són el diòxid de carboni, piruvat, malat, succinat i lactat. El metabolisme del glicogen es presenta a la figura 1.11.

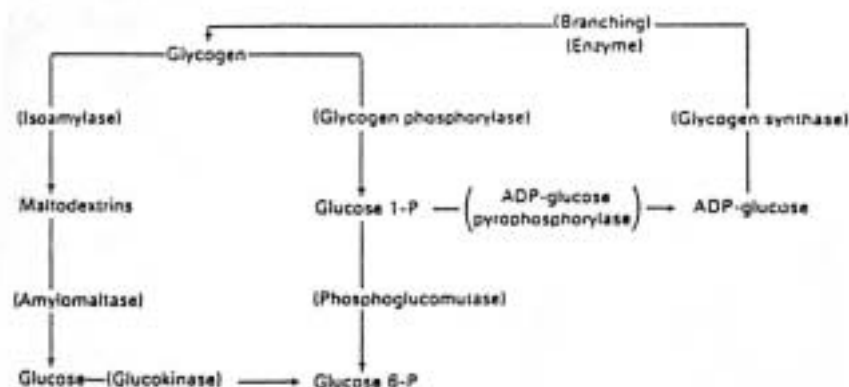


Figura 1.11.- Metabolisme del glicogen (Merrick, 1978)

Polihidroxiabutirat (PHB): Les fonts de carboni més importants que ajuden a la síntesi de poli- β -hidroxiabutirat són principalment l'àcid acètic i l'àcid butíric. Tant la síntesi de PHB com el seu trencament impliquen vies com la síntesi d'àcids grassos i la seva oxidació, tal i com es presenta a la figura 1.12.

Efecte de la llum

Conèixer la disponibilitat de llum que tenen els bacteris fotosintètics és un paràmetre clau per tal de poder predir el seu creixement. És per aquest motiu que dins del projecte MELISSA s'està intentant modelitzar la disponibilitat de llum en els reactors fotosintètics del sistema plantejat així com el seu efecte en el creixement dels microorganismes corresponents (Cabello, 2000; Cornet i Albiol, 2000)

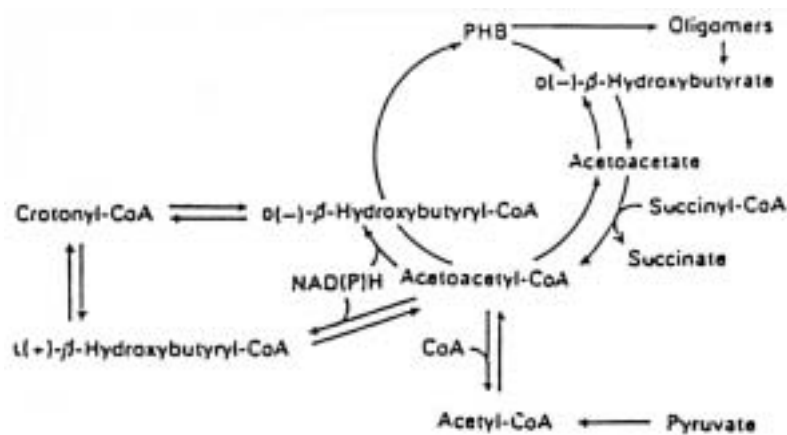


Figura 1.12.- Síntesi i degradació del PHB (Merrick, 1978)

La fotosíntesi consisteix en la conversió de l'energia lluminosa en energia química que pot ser després utilitzada per a les reaccions que la consumeixen en la biosíntesi, incloent la reducció de CO_2 a compostos orgànics.

La capacitat de dur a terme la fotosíntesi depèn de la presència de pigments especials que capten la llum, les clorofil·les. L'absorció dels fotons per aquests pigments inicia el procés de conversió fotosintètica de l'energia.

El creixement d'un organisme fotosintètic es pot caracteritzar per dos conjunts diferents de reaccions: les reaccions que tenen lloc a la fase il·luminada, en les quals l'energia lluminosa esdevé energia química i les reaccions que tenen lloc sense que intervingui la llum, en les que l'energia química s'utilitza per reduir el CO_2 a compostos orgànics. Les reaccions de la fase il·luminada porten a terme la conversió de l'energia de la llum en energia química en forma d'ATP. Els bacteris porpres utilitzen principalment la llum per formar ATP; els electrons per a la reducció del CO_2 provenen del NADPH i aquest és produït a partir de substàncies reductores existents en el seu ambient com poden ser compostos orgànics. Aquest procés rep el nom de fotosíntesi anoxigènica perquè per produir NADPH no cal trencar molècules d'aigua i no es produeix O_2 com a subproducte.

L'aparell fotosintètic dels bacteris porpres està localitzat dins les cèl·lules en sistemes intracitoplasmàtics de membrana. Consta de quatre complexos pigment-proteïna associats a la membrana, més una ATPasa complexa que permet la síntesi de l'ATP a expenses d'un gradient de protons. Tres dels quatre complexos específics per a la

fotosíntesi són el centre de reacció, els captadors de llum I i les antenes captadores de llum II. El quart complex de l'aparell fotosintètic, el complex citocrom BC_1 és comú en el flux respiratori d'electrons i fotosintètic.

El centre de reacció està envoltat de dues molècules antena de bacteriolorofil·la *a* que capten la llum i dirigeixen l'energia lluminosa cap al centre de reacció. L'energia lluminosa es transfereix de les antenes al centre de reacció en paquets que s'anomenen excitons, estats electrònics mòbils que migren a través de les antenes al centre de reacció amb alta eficàcia. La fotosíntesi s'inicia quan l'energia de l'excitò passa al parell especial de molècules de bacteriolorofil·la *a*. L'absorció de l'energia excita aquest parell de molècules de bacteriolorofil·la *a* convertint-lo en un enèrgic reductor, suficientment energètic com per reduir una molècula acceptora de potencial molt baix.

Abans de l'excitació, el centre de reacció té un E_0' de + 0.5 V, després de l'excitació té un potencial de - 0.7 V, suficient per a reduir la bacteriofeofitina *a*, tal i com es presenta a la figura 1.13.

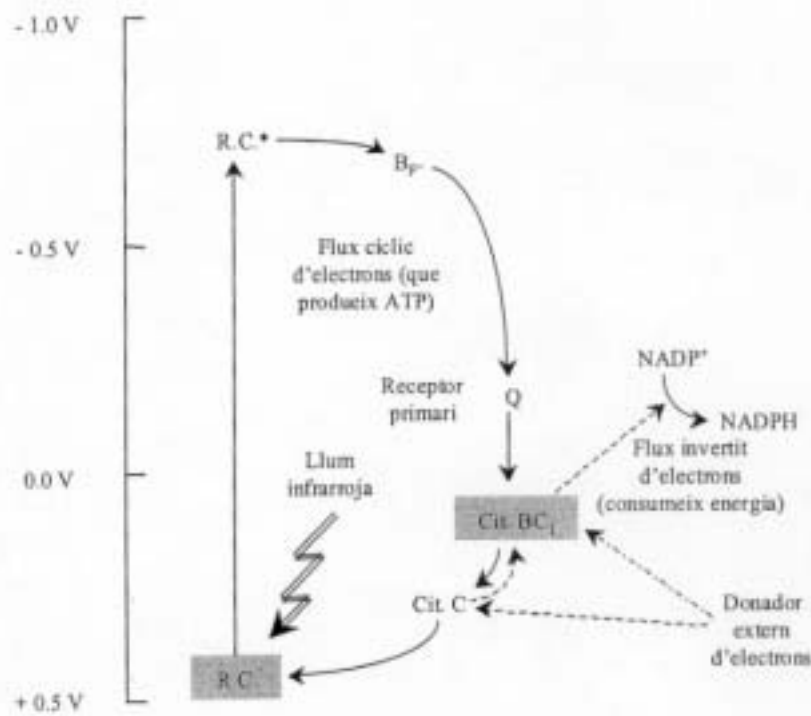


Figura 1.13.- Flux d'electrons a la fotosíntesi anoxigènica. R.C: bacteriolorofil·la del centre de reacció
BF: bacteriofeofitina, Q:quinona, Cit.: citocrom

A continuació l'electró excitat dins del parell especial redueix una molècula de bacteriofeofitina en el centre de reacció. Aquesta transició es duu a terme a una velocitat molt elevada. Un cop reduïda, la bacteriofeofitina *a* redueix una molècula de quinona, la qual forma part del centre de reacció estant molt a prop de la superfície externa de la membrana fotosintètica. La quinona es considera l'acceptor primari d'electrons. De la quinona els electrons són transportats a la membrana a través d'una sèrie de proteïnes que contenen sofre i citocroms, tornant finalment al centre de reacció. Les proteïnes clau del transport d'electrons inclouen el citocrom BC_1 i el citocrom C.

La síntesi d'ATP durant el flux fotosintètic dels electrons es dona com a resultat de la formació d'un gradient d'electrons, generat per l'expulsió de protons durant el transport d'electrons i l'activitat de les ATPases a l'acoblar la dissipació del gradient de protons

amb la formació d'ATP. La reacció en sèrie finalitza quan el citocrom C torna l'electró al parell especial de bacterioclorigil·les, el qual serveix per tornar a aquestes molècules el seu estat basal original ($E_0' + 0.5 \text{ V}$). Aleshores, el centre de reacció és capaç d'absorbir nova energia i repetir el procés. Aquest mètode de producció d'ATP es coneix com a fotofosforil·lació cíclica, a causa de que els electrons es mouen repetidament al voltant d'un cercle tancat; en la fotofosforil·lació cíclica no hi ha consum ni generació d'electrons com en la respiració.

A la figura 1.14 es mostren les relacions espacials dels components del transport d'electrons en la membrana fotosintètica. Els protons són bombats al centre de la membrana del cromatòfor, establint-se així el gradient de protons que s'utilitza a la síntesi d'ATP. El resultat net de la reacció lluminosa és la translocació de tres protons a través de la membrana per cada electró excitat fotoquímicament. El gradient de protons és utilitzat en el flux invers d'electrons per generar NADPH. Cal destacar que l'únic paper que fa la llum en aquest procés és crear un reductor enèrgic; la resta de reaccions no depenen de la llum i són termodinàmicament favorables en el sentit de transferència d'electrons.

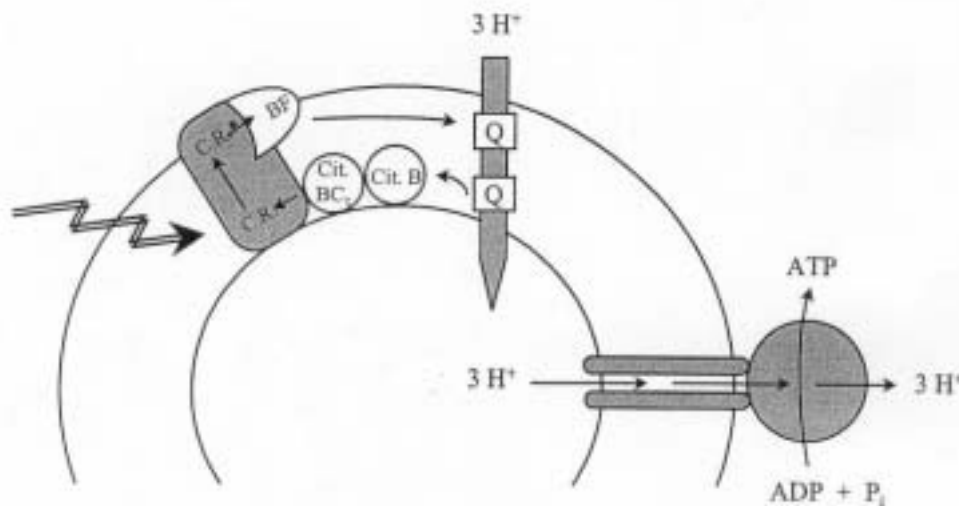


Figura 1.14.- Flux d'electrons i translocació de protons en la membrana fotosintètica. El gradient de protons generat s'utilitza en la síntesi d'ATP, via l'ATPasa associada a la membrana

1.2.4.- Compartiment III: Bacteris nitrificants

Els principals components a la sortida del segon compartiment són amoni i minerals en fase líquida i un excés de CO_2 en fase gasosa.

Si es té en compte que la font de nitrogen principal necessària pel creixement de les microalgues, *Spirulina platensis*, que s'utilitzen al compartiment IVa, així com, pel creixement de les plantes superiors, al compartiment IVb, és el nitrat, es necessita convertir aquest amoni a nitrat.

Aquesta conversió, que es duu a terme al tercer compartiment, és assolida amb l'activitat combinada de dos bacteris quimiolitotròfics *Nitrosomonas europaea*, que transforma l'amoni a nitrit, i *Nitrobacter winogradskyi*, que transforma el nitrit a nitrat. Ambdós bacteris poden usar com a font de carboni el diòxid de carboni.

La manera més habitual de descriure el procés de nitrificació és mitjançant les reaccions d'oxidació d'amoni a nitrit i de nitrit a nitrat que es presenten a continuació:

Transformació de l'amoni a nitrit (*N. europaea*):

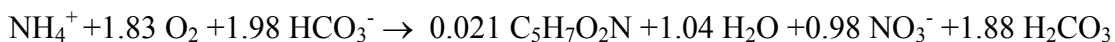


Transformació dels nitrits a nitrats (*N. winogradskyi*):



Aquest tipus de representació és la que es va utilitzar per realitzar estudis cinètics del procés (Hunik *et al.*, 1994) o per descriure'n els efectes inhibidors (Anthonisen *et al.*, 1976). Sovint, però, s'inclou a aquestes reaccions l'expressió de la biomassa formada, d'aquesta manera s'obté una representació més completa d'aquest procés.

Ara bé, degut a que la velocitat de creixement d'aquests microorganismes és molt baixa, la producció de biomassa és costosa i és difícil, per tant, analitzar-ne la seva composició. Això fa que la composició de biomassa que es troba habitualment a la bibliografia sigui una mitjana calculada per diferents bacteris aerobis. Les estequiometries, proposades per diversos autors, que inclouen la formació de biomassa estan basades en la determinació experimental de la relació mitjana de CO₂ consumit / N oxidat. Un exemple seria la proposada per Kowalski i Lewandowski (1983):



* Evolució d'aquest compartiment dins el projecte MELISSA

Tenint en compte que el creixement d'aquests bacteris és lent, la seva fase de latència llarga, i que no són ni comestibles ni utilitzables a cap nivell del bucle, es va dissenyar, com a model inicial per aquest cas un sistema amb cèl·lules immobilitzades.

Es van fer experiments per estudiar diferents procediments per fixar les cèl·lules amb diferents càrregues d'amoni, tant en condicions axèniques com no axèniques. No es van observar diferències entre els cultius axènic i no axènic. Així doncs, el cultiu no axènic va ser proposat per al compartiment de nitrificació, principalment per la seva facilitat d'ús. No obstant, per als estudis del MELISSA es prefereix el cultiu axènic, donat que per motius de bioseguretat es considera molt important que els sistemes biològics emprats siguin el màxim de definits.

Els experiments fets per estudiar com immobilitzar les cèl·lules es van dur a terme provant diferents suports d'immobilització i provant tres sistemes d'operació: llit fix, llit fluïditzat i reactor de tanc agitat (Forler, 1992; Zeghal, 1992). D'acord amb els resultats, es va decidir dissenyar un bioreactor de llit fix, utilitzant partícules de poliestirè Biostyr com a suport d'immobilització. A la fase de disseny es van tenir en compte problemes com la dificultat de l'esterilització (el suport és sensible a la calor), el volum de bioreactor ocupat, la possibilitat de colmatació del llit, la monitorització de la massa cel·lular i el control i automatització del funcionament. El disseny final es va realitzar a les instal·lacions d'ESTEC on es van dur a terme, també, els primers experiments de caracterització física del reactor (Forler, 1994).

Actualment aquesta columna es troba instal·lada a la planta pilot de la UAB, on s'ha procedit a la caracterització física del reactor i a la implementació de la instrumentació del reactor, així com tots els seus llaços de control. S'han realitzat, també, diferents

experiments en cultiu continu, tant a escala de laboratori com a escala pilot (Pérez, 1997 i 2001).

Nitrosomonas europaea i *Nitrobacter winogradskyi*

Tant *N. europaea* com *N. winogradskyi* obtenen l'energia necessària per a la supervivència de l'oxidació de la font de nitrogen en presència d'oxigen. L'eficàcia de l'ús de l'energia és baixa (20%) i el contingut en energia dels compostos de nitrogen és molt baix; s'espera, per tant, un elevat consum d'amoni per unitat de biomassa. Probablement és per aquests motius que les velocitats específiques màximes de creixement observades són baixes: *N. europaea* 0.057 h^{-1} (Hunik *et al.*, 1994), *Nitrobacter* 0.02 h^{-1} (Hanaki *et al.*, 1990).

Pel que fa a altres paràmetres representatius d'aquests dos microorganismes, aquests varien en uns rangs molt amplis. Per exemple, el rendiment biomassa substrat de *N. europaea* va de 1.66 g biomassa/mol d'amoni (Hunik *et al.*, 1994) fins a 5.88 g biomassa/mol d'amoni (Prosser, 1989) i el coeficient de manteniment varia de $3.88 \cdot 10^{-3} \text{ mol}/(\text{g biomassa} \cdot \text{h})$ (Hunik *et al.*, 1994) fins a $0.88 \text{ mol}/(\text{g biomassa} \cdot \text{h})$ (Prosser, 1989).

Per *Nitrobacter sp.*, el rendiment de biomassa per mol de nitrit varia de 0.58 g biomassa/mol de nitrit (Hunik *et al.*, 1994) fins a 9.8 g biomassa/mol de nitrit (Prosser, 1989) i el coeficient de manteniment va de $7.92 \cdot 10^{-3} \text{ mol}/(\text{g biomassa} \cdot \text{h})$ (Hunik *et al.*, 1994) fins a $0.78 \text{ mol}/(\text{g biomassa} \cdot \text{h})$ (Prosser, 1989). Aquestes grans diferències poden ésser degudes a factors que limitin el seu creixement.

Els factors que poden limitar o inhibir el creixement poden ser, en aquest cas, de dos tipus: deguts al substrat i deguts a condicions físiques.

Limitacions o inhibicions degudes al substrat

CO_2 : Alguns autors sostenen que el CO_2 no limita el creixement d'aquests microorganismes ja que aquests presenten un rendiment molt baix i el CO_2 té una solubilitat molt elevada (Bazin *et al.*, 1982). Altres autors, en canvi, opinen que, en ser l'anió HCO_3^- la forma real de la font de carboni que consumeixen aquests bacteris, a pressions parcials baixes de CO_2 , existeix una limitació de creixement per falta de font de carboni (Poughon, 1996).

O_2 : Aquests bacteris necessiten quantitats d'oxigen importants, això ha fet que l'efecte de la limitació del creixement provocada per la manca d'oxigen hagi estat molt estudiat. Així doncs, les constants d'afinitat per cultius purs de bacteris nitrificants es troben en un rang aproximat de 0.25-2.5 mg d' O_2 dissolt/L (Painter, 1986). S'ha vist, també, que els bacteris que oxiden amoni tenen una constant d'afinitat superior a la dels bacteris que oxiden nitrit. Ara bé, elevades concentracions d'oxigen poden inhibir el creixement d'aquests bacteris i induir un augment en l'acumulació de polifosfats (Prosser, 1989). Sembla, però, que la inhibició per oxigen sigui més important en processos en els que s'afegeix oxigen pur o en processos on hi ha una elevada pressió parcial d'oxigen que en els que s'hi aporta aire. En absència d'oxigen *N. winogradskyi* és capaç de créixer usant nitrat com a donador d'electrons i una font de carboni orgànica (Bock *et al.*, 1988). En aquestes condicions, *Nitrobacter* és capaç de reduir el nitrat a nitrit, a amoni i a compostos de nitrogen (N_2O).

NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- : L'amoní i el nitrit són les fonts d'energia de *N. europaea* i *N. winogradskyi* respectivament, i també són, per tant, els principals factors limitants del seu creixement. Aquests compostos poden arribar a inhibir el creixement d'ambdós bacteris. Com a resultat de l'estudi de la inhibició de la nitrificació deguda a NH_3 i HNO_2 , s'ha proposat un diagrama que combina el pH amb l'efecte inhibitor dels compostos NH_3 i HNO_2 en els cocultius de *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* (Anthonisen *et al.*, 1976). Aquest diagrama es presenta a la figura 1.15.

Matèria orgànica : Apareixen efectes inhibidors causats per la presència de matèria orgànica quan també existeix una limitació de creixement deguda a l'oxigen (Hanaki *et al.*, 1990). En aquestes condicions es produeix la nitrificació i desnitrificació.

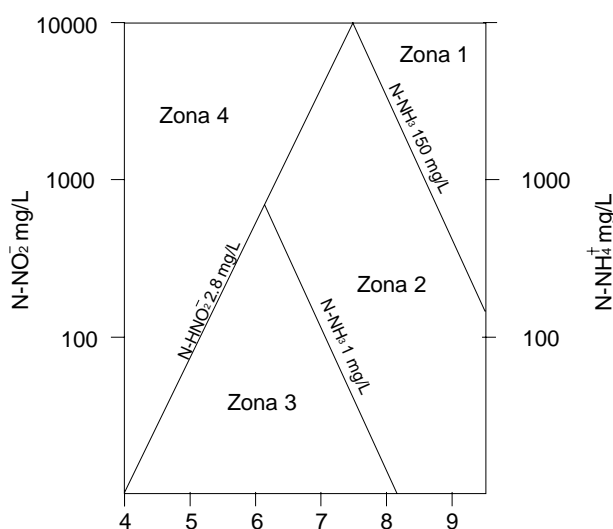


Figura 1.15.- Diagrama d'Anthonisen i col.laboradors. Zona 1: Inhibició de *Nitrosomonas sp.* i *Nitrobacter sp.* Zona 2: Inhibició de *Nitrobacter sp.* per NH_3 . Zona 3: Nitrificació. Zona 4: Inhibició de *Nitrobacter sp.* per HNO_2

Limitacions físiques

pH : El pH òptim de creixement d'aquests microorganismes es situa entre 7.5-8.5. L'efecte del pH sobre el creixement es deu a que la concentració de protons afecta a la força iònica degut al pK dels substrats: $\text{NH}_3 / \text{NH}_4^+$, $\text{NO}_2^- / \text{HNO}_2$, a més d'afectar a l'activitat enzimàtica i a la concentració disponible de HCO_3^- (font de carboni).

Temperatura : El valor òptim de creixement es situa a 28°C.

Limitacions degudes a la transferència i la difusió : Aquestes limitacions es presenten en el cas de cèl·lules immobilitzades. Per exemple, en el model dinàmic desenvolupat per Hunik *et al.* (1994), s'inclouen les equacions de transferència de diferents compostos (O_2 , NO_2^- , NH_4^+ , NO_3^-) en les partícules de gel en les que estaven immobilitzats els bacteris nitrificants (*N. europaea* i *N. winogradskyi*).

Llum : La inhibició de creixement deguda a la presència de llum és significativa. S'ha observat una reducció d'un 50% de l'activitat dels bacteris nitrificants a intensitats de llums d'un ordre de magnitud tres vegades inferior a la intensitat de llum a ple dia.

1.2.5.- Compartiment IVa: Compartiment fotoautotròfic

En aquest compartiment es requeria un microorganisme fotoautòtrof, s'havia d'alimentar del CO₂ espirat per la tripulació i de la font de nitrogen i minerals procedents del tercer compartiment i s'havia d'ajustar als següents requisits:

- Bon rendiment energètic de la fotosíntesi.
- Un valor nutricional elevat.
- Un temps de generació curt.
- Baixa sensibilitat als microorganismes patògens i, en general, un baix risc de contaminació.
- Bona digestibilitat i que no fós tòxic.

El cianobacteri *Spirulina platensis* va ser el microorganisme que es va considerar que s'ajustava millor als requisits que exigia aquest compartiment.

* Evolució d'aquest compartiment dins el projecte MELISSA

Aquest és, amb diferència, el compartiment més estudiat dins de MELISSA, ja que va ser el primer compartiment en desenvolupar-se. Està colonitzat, com ja s'ha dit, pel cianobacteri *S. platensis*, que creix a partir de diòxid de carboni, llum i dels nitrats produïts al tercer compartiment.

En realitzar experiments de toxicitat amb els medis utilitzats pel cocultiu de *Nitrosomonas* i *Nitrobacter* i pel de *R. capsulata*, es va demostrar que els medis filtrats emprats no tenen un efecte tòxic sobre les cèl·lules de *S. platensis*. No obstant, es van detectar alguns problemes quan el medi s'esterilitzava per calor (Mergeay *et al.*, 1990). S'han determinat les condicions òptimes de cultiu de *S. platensis*: pH igual a 9.5 i 36 °C de temperatura. I s'ha estudiat, també, l'efecte de la limitació de sofre i nitrogen. L'exhauriment d'aquest últim porta a la proteòlisi de les ficocianines i l'acumulació d'exopolisacàrid sulfatat i glicogen intracel·lular. És a dir, quan limita el nitrogen, les proteïnes són degradades. S'ha determinat també, la composició de l'exopolisacàrid i diferents efectes de la força iònica del medi en la composició de la biomassa.

S'ha avaluat l'efecte que produeix la llum en el creixement d'aquest cianobacteri veient que el creixement exponencial passa a ser lineal en disminuir la llum incident al cultiu, és a dir, la llum passa a limitar el creixement; mentre que, si s'incrementa la llum incident al reactor, augmenta la quantitat de polisacàrid que aquests microorganismes acumulen.

Així doncs, tenint en compte la importància de l'aportació de llum per al creixement de *S. platensis* s'ha desenvolupat un model matemàtic, basat en les equacions de transferència de radiació de Shuster, que permet conèixer amb fiabilitat la distribució de la llum a l'interior del reactor (de geometria cilíndrica), en funció de la concentració de cèl·lules i la llum incident (Cornet *et al.*, 1992a, b i c).

Amb els coneixements obtinguts i el model proposat s'ha desenvolupat un programa (PHOTOSIM) que permet la simulació del comportament de cultius de *S. platensis*, tant per l'operació en continu com en discontinu.

Els treballs desenvolupats fins ara a la planta pilot del MELISSA en aquest compartiment han estat realitzats en reactors de tipus "air-lift" de 7 litres i 77 litres (reactor "air-lift" amb recirculació externa dissenyat a partir dels resultats obtinguts en el reactor de 7 litres de volum) on s'ha estudiat l'operació en continu a diferents intensitats d'il·luminació, velocitat de dilució i concentració de nutrients, entre d'altres (Vernerey, 2000).

Spirulina platensis

Spirulina platensis (o *Arthrospira platensis*) és un cianobacteri que pertany al subgrup dels cianobacteris filamentosos i a l'ordre dels oscil·latorials. Els cianobacteris són anomenats, també, algues blau-verdes. Són organismes procariotes fotosintètics superiors que ocupen un lloc intermedi entre els organismes fotosintètics més primitius (bacteris fotosintètics) i els organismes fotosintètics que tenen una organització cel·lular eucariota com les algues o les plantes superiors.

La fotosíntesi és un procés metabòlic a través del qual tots els organismes fotòtrofs (bacteris fotosintètics, cianobacteris i plantes superiors) són capaços de transformar l'energia lluminosa a energia química en forma d'hidrats de carboni.

Factors importants pel creixement de *S. platensis*

Font de carboni : A l'igual que la majoria de cianobacteris, *S. platensis* és principalment fotoautòtrof. Per a realitzar la fotosíntesi, és capaç d'utilitzar el CO₂ en forma gasosa i carbonats i bicarbonats existents en el medi aquós en forma de sals dissoltes. La fixació del CO₂ pels cianobacteris segueix el metabolisme C₃ de les plantes superiors. El cicle de Calvin és efectiu en *Spirulina*, que presenta elevades quantitats de Rubisco (ribulosa bisfosfat carboxilasa oxigenasa) per paliar la seva baixa afinitat pel CO₂. El cicle de Calvin es presenta a la figura 1.16.

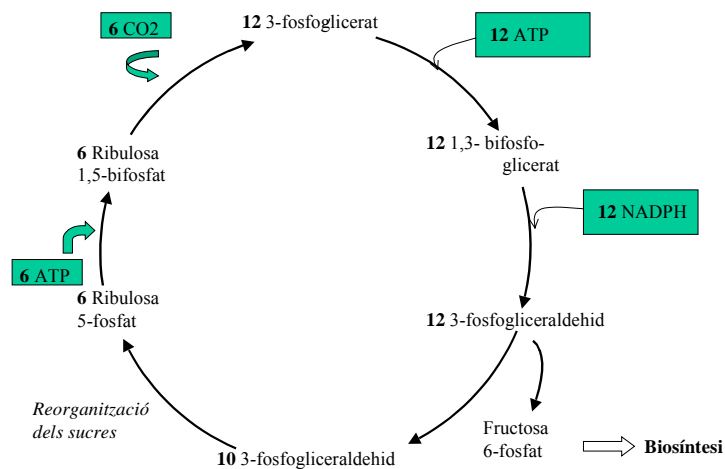


Figura 1. 16.- Cicle de Calvin

Font de nitrogen : Els cianobacteris són capaços d'utilitzar nombroses fonts de nitrogen, com l'amoni, els nitrats i els nitrits. Generalment també poden utilitzar fonts de nitrogen orgànic tal i com la urea. Alguns d'ells poden fixar també el nitrogen atmosfèric (Becker, 1994). *S. platensis* no és capaç de fixar directament el nitrogen atmosfèric. Ara bé, sí que pot usar tant fonts de nitrogen orgàniques com minerals (amoni, nitrats, nitrits i urea) (Filali i Dubertret, 1996). Entre aquests substrats, els nitrats són els compostos més adequats: en efecte, poden ser usats en concentracions elevades i, en canvi, l'amoni és tòxic a concentracions superiors de 100 mg N/L, el nitrit és tòxic a concentracions superiors a 28 mg N/L i la urea a concentracions superiors a 1.5 g N/L (Soong, 1980).

pH : El pH òptim de creixement es situa entre 8.3-11 amb un màxim al voltant de 9.5.

Temperatura : *S. platensis* és una alga mesòfila que presenta una temperatura de creixement òptima entre 35-37°C.

Llum : Mentre que els nutrients i la temperatura no són pas limitants pel creixement, la llum n'és el principal factor limitant. Ogawa i Terui (1970) van trobar que la intensitat de llum òptima està compresa entre 20 et 30 klx (200-300 W/m²). A més, les interaccions entre els efectes de la temperatura i de la intensitat de la llum representen un paràmetre essencial per la producció de massa cel·lular de *S. platensis*, en la mesura que aquests dos factors representen sovint els principals factors limitants (Jensen i Knutsen, 1993).

S. platensis com a font d'alimentació

La composició química de *S. platensis* reflexa el seu potencial per l'alimentació humana i animal. La composició química de *S. platensis* és variable, essent el component principal les proteïnes, doncs aquestes són entre el 55 i 65 % del pes sec. La composició elemental s'ha determinat, sent: CH_{1.650}O_{0.531}N_{0.170}S_{0.007}P_{0.006} (Cornet, 1992 a).

La digestibilitat i el valor biològic de les proteïnes alimentàries es tradueix en el valor d'utilització net de proteïnes (NPU). Segons aquest criteri, un aliment totalment utilitzable i que tingui un perfil d'aminoàcids ideal presenta un NPU de 100 (Becker i Venkatamaran, 1984). Els valors de NPU donats per *Spirulina* estan compresos entre un 43 i 63 % (Durand-Chastel i Clément, 1975). La qualitat de les proteïnes de certes soques de *S. platensis* és, doncs, comparable a les de les millors fonts de proteïnes vegetals, com per exemple la soja, tot i ser inferior a les proteïnes d'aport animal. El valor de les proteïnes utilitzables (PU) és un altre criteri per la classificació de les proteïnes provinents de diferents fonts. A la taula 1.6 es presenten els valors de NPU i PU per diferents aliments.

Grups d'aliments	NPU (%)	TP(%PH)	PU(%PH)	TP(%PS)	PU(%PS)
<i>Spirulina</i>	43-63	63	29-40	66	30-42
Làctics (parmesà)	70	36	25	51	36
Aus (gall dindi)	70	31	22	81	57
Lleguminoses(soja)	61	34	21	38	23
Peix (tonyina)	80	24	19	62	50
Carn (porc)	50	29	19	54	36
Fruits secs (pinyons)	60	32	16	34	17

Cereals (blat)	60	14	8	16	10
Verdura (bròquil)	<60	4	<3	38	<24

Taula 1. 6.- Comparació de la qualitat i la quantitat de proteïnes de *Spirulina* i d'altres grups alimentaris (NPU: proteïnes netes utilitzables, PU: proteïnes utilitzables, TP: proteïnes totals, PS: pes sec, PH: pes humit o pes fresc)

És important assenyalar que el valor biològic de la major part de proteïnes que provenen de microorganismes està limitat pel baix contingut en aminoàcids que contenen sofre. *S. platensis* no n'és pas cap excepció, ja que per exemple, el seu contingut de metionina és baix. Ara bé, la composició en aminoàcids varia fortament entre les soques salvatges, i s'han pogut aïllar mutants amb un alt contingut de metionina (Riccardi *et al.*, 1981). A més, la concentració d'aminoàcids que contenen sofre es pot modular augmentant la quantitat de sulfats presents en el medi de cultiu (Wouters, 1969).

S. platensis presenta també, en la seva composició, quantitats excepcionals de vitamines A, B₁₂ i de ferro. En efecte, la quantitat de *S. platensis* necessària per l'aport de la QDR (quantitat diària recomanada) d'aquests tres elements és de 4.3 g, 1.8 g i 12 g, respectivament, per la vitamina A, la vitamina B₁₂ i el ferro. Entre les altres qualitats nutricionals de *S. platensis* cal destacar el seu contingut en àcids grassos insaturats, especialment en àcid linoleic i γ -linoleic (GLA). γ -linoleic és obtingut per dessaturació de l'àcid linoleic per *S. platensis* i la seva concentració pot arribar al 2% del pes sec (Nichols i Wood, 1968).

Aspectes toxicològics

La presència de certes toxines, així com l'elevada concentració d'àcids nucleics en les algues i d'altres microorganismes, representen sovint una limitació per la seva utilització com a aliment: en efecte, a la digestió, els àcids nucleics generen àcid úric que pot precipitar en forma de cristalls d'urat de sodi provocant l'aparició de gota (Jassby, 1988).

Degut a aquest fet està recomanat ingerir una quantitat diària màxima de 2 g d'àcids nucleics provinents de SCP (single cell protein). El contingut d'àcids nucleics en *S. platensis* està al voltant d'un 4 %, així doncs, es poden consumir 50 g de *S. platensis* diaris. Cal destacar, però, que amb un tractament enzimàtic senzill de la fracció proteica de l'alga, es pot reduir la quantitat d'àcids nucleics en un 92 %. Això faria que la quantitat d'alga consumible diàriament s'incrementés fins a un màxim de 190 g / dia (Nakhost i Karel, 1989).

No s'ha detectat presència de ficotoxines, micotoxines, ni de toxines bacterianes mitjançant anàlisis químiques i biològiques de *S. platensis* (Becker i Ventakamaran, 1984).

1.2.6.- Compartiment IVb: Compartiment de plantes superiors (CPS)

Aquest compartiment s'ha inclòs en el projecte MELISSA per tal de poder assolir un grau de tancament més elevat en el conjunt global del cicle, aconseguint un sistema més complet amb una major grau d'aproximació a la solució que finalment caldrà adoptar, en la que segur hi figuraran mòduls de plantes superiors.

Una dieta humana basada només en *S. platensis* i *R. rubrum* és insuficient nutricionalment per, bàsicament, pels següent motius:

1.- Com ja s'ha comentat anteriorment, l'alt contingut d'àcids nucleics presents en els microorganismes en limita el consum humà diari permès.

2.- Una dieta equilibrada prové d'un mínim de dues fonts d'aliments diferents. La dieta és la base per l'aport d'energia a l'organisme humà (catabolisme) i per la biosíntesi de diverses molècules de l'organisme (anabolisme). La nutrició humana consisteix en la ingesta de substàncies orgàniques en forma de fruita, vegetals i carn, essent nutrients principals: els carbohidrats, els lípids i les proteïnes.

Per definir una dieta equilibrada per un astronauta cal tenir en compte dos factors:

Els requeriments metabòlics: considerant l'activitat d'un home a l'espai es calcula una energia necessària mitjana (eer) de 3000 kcal per dia (*Thermal control & life support division*, 1992).

La relació requerida entre els nutrients principals: S'agafa una mitjana dels valors diaris obtinguts per Soyuz a l'Skylab (*Thermal Control & Life Support Division*, 1992).

A la taula 1.7 es presenta un exemple de dieta equilibrada per un astronauta.

	Percentatge màssic	Percentatge EER
<i>Proteïnes</i>	21.25	17.50
<i>Lípids</i>	14.97	28.37
<i>Carbohidrats</i>	63.79	53.73
TOTAL	632 g/(dia·home)	3000 Kcal/(dia·home)

Taula 1.7.- Exemple de dieta equilibrada per un astronauta

Prenent com a base aquesta dieta, amb una alimentació de només *S. platensis* i, en part, *R. rubrum* es podria satisfer la demanda diària de proteïnes, però no passaria el mateix amb les necessitats de carbohidrats i lípids.

Els inconvenients i els avantatges de tenir un sistema de suport de vida amb un compartiment de plantes superiors es presenten a la taula 1.8 (Poughon, 1997).

Cal destacar que, a més dels avantatges presentats a la taula 1.8, la presència d'un compartiment de plantes superiors aporta també (a banda de l'aport nutricional):

- Una regeneració de l'atmosfera.
- Una regeneració de l'aigua mitjançant el procés de transpiració.
- Un confort psicològic per la tripulació en crear un ambient més proper a l'existent a la Terra.

	Avantatges	Inconvenients
<i>Microorganismes</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Processos controlats. - Converteixen el nitrogen orgànic. 	<ul style="list-style-type: none"> - Biomassa no comestible (generalment). - Producció de gasos (CO₂, CH₄, H₂, NO_x). - Elevat contingut d'àcids nucleics.
<i>Algues</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Converteixen CO₂ a O₂. - Biomassa comestible. - Baixa inèrcia. - Processos controlats. - Volums baixos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevat contingut d'àcids nucleics. - No satisfan les necessitats nutricionals.

<i>Plantes superiors</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Converteixen CO₂ a O₂. - Produeixen aliments. - Processen aigua via transpiració. 	<ul style="list-style-type: none"> - Part de la biomassa no és comestible. - Necessitats elevades d'energia i superfície. - Inèrcia elevada (cicle de vida >30dies).
--------------------------	---	--

Taula 1.8.- Avantatges de la presència de plantes superiors en els CELSS

La selecció de plantes que poden ser utilitzades en un sistema ecològic tancat de suport de vida es basa en el següents criteris:

- Producció de biomassa i aspectes nutricionals.
- Requeriments de les plantes i condicions de creixement.
- Capacitat de regeneració de l'atmosfera.
- Capacitat de regeneració dels residus.
- Capacitat de regeneració de l'aigua.
- Comportament en ambients de microgravetat.
- Interaccions amb els altres sistemes.

Les plantes que són habitualment seleccionades poden ser classificades en dos grups diferents:

El primer grup correspon a aquelles espècies utilitzades normalment i que poden aportar la majoria de les necessitats nutricionals de l'ésser humà.

El segon grup correspon a aquelles espècies amb un valor nutricional més petit però, en canvi, amb un valor psicològic important.

Les qualitats de diverses espècies de plantes que pertanyen a ambdós grups es recullen a les taules 1.9 i 1.10 (segons Poughon, 1997).

En una primera aproximació, de totes les opcions possibles, s'ha optat per la presència en el compartiment de plantes superiors del MELISSA de vuit espècies diferents. Aquestes són:

Grup 1 (elevat valor nutricional): blat, patata, arròs, enciam, espinacs i mongeta de soja.

Grup 2 (elevat valor psicològic): ceba i tomàquet.

Grup 1.- Interès nutricional	
<i>Blat</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada densitat calòrica. - Base de molts tipus de menjars. - Part comestible elevada.
<i>Arròs</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada densitat calòrica. - 8% de proteïnes de valor nutricional equilibrat. - Contingut en P, Fe, tiamina i niacina.
<i>Patata</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada densitat calòrica. - Processament mínim. - Elevat contingut en carbohidrats.

	<ul style="list-style-type: none"> - Concentració en proteïnes igual a la de l'arròs. - Bona font de vitamines.
<i>Moniato</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Propietats similars a les de la patata. - Adaptabilitat a ambients càlids. - Contingut en carbohidrats 30% superior a la patata. - La fulla i branquetes joves són comestibles. - Creix de manera similar a la vinya.
<i>Mongeta de soja</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gran font de proteïnes.
<i>Cacauet</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gran font de proteïnes. - Elevat contingut d'oli. - Creixement dificultós.
<i>Enciam</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elevat contingut en vitamines A i C.
<i>Remolatxa</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Té sucre. - Comestibles crua.

Taula 1.9.- Espècies de plantes que tenen un interès nutricional dins d'un sistema de suport de vida, i les seves propietats

Grup 2.- Interès psicològic	
<i>Taro</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cultiu tropical.
<i>Mongeta alada</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Comestible (font proteica). - Adaptabilitat a climes càlids.
<i>Bròquil</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Conté vitamines A, B1, B2, B7 i C.
<i>Maduixa</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Elevadíssim valor psicològic. - Conté vitamines B2, B7 i C.
<i>Ceba</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Baix valor nutricional.
<i>Pèsol</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Font de proteïnes. - Gran quantitat de minerals. - Requereix un cultiu especial.

Taula 1.10.- Espècies de plantes que tenen un interès psicològic dins d'un sistema de suport de vida, i les seves propietats

Dins del MELISSA s'estan fent estudis per dissenyar una dieta, el més equilibrada possible, per un grup de 6 astronautes amb un menú cíclic de 10 dies. Per això s'opta per plantejar un cultiu de 25 espècies diferents (brocoli, remolatxa, mongetes, pastanagues, herbes, col, cogombres, enciam, ceba, ceba tendra, pebrot, cacauets, patates, arròs, moniatos, soja, espinacs, tomàquets, blat, alfals, col, pebrots picants, xampinyons, pèsols i carbassa).

D'aquests estudis bibliogràfics se'n desprèn que l'àrea de cultiu necessària per poder subministrar un menú cíclic de 10-dies a una tripulació de 6 membres és de 453 m², s'assumeix però una producció contínua. Una estimació de la quantitat total de massa requerida seria de 439 kg per cicle de menú o 7.3 kg ESM / persona.dia (Cloutier *et al.*, 2001)

Actualment s'està en fase de disseny i construcció del compartiment pilot de plantes superiors. Aquest compartiment ha de servir per demostrar la viabilitat del projecte, així doncs, no és necessari que hi siguin cultivades totes les espècies. De les 8 o 25 espècies anteriorment citades s'ha decidit triar les més representatives de cada grup (tiges, fulles i arrels) per tal de ser cultivades a nivell pilot (Masot *et al.*, 2003):

Blat (tiges)
Enciams (fulles)
Remolatxa (arrels)

1.2.7.- Compartiment V: La tripulació

Tots els altres compartiments del bucle MELISSA han estat dissenyats per tal de satisfer els requeriments d'aquest compartiment, és a dir, per subministrar l'oxigen, aigua i nutrients que aquest compartiment necessita a partir dels residus que origina.

Les necessitats diàries d'aquest compartiment són les que fixa el metabolisme quotidià d'una persona multiplicades pel nombre de persones que formen part de la tripulació.

El metabolisme quotidià d'una persona es resumeix a la figura 1.17.

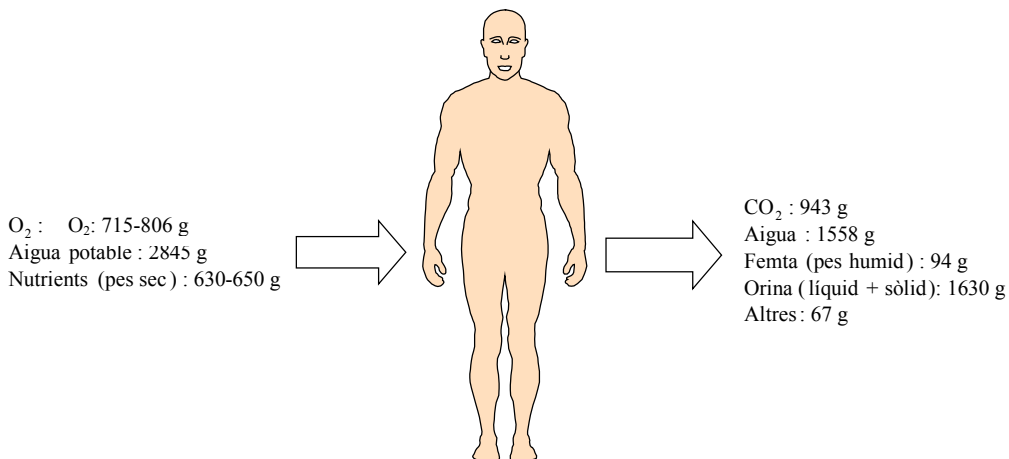


Figura 1.17.- Metabolisme quotidià d'una persona

Ara bé, per l'estudi d'aquest compartiment a nivell de laboratori s'ha escollit la rata com a organisme model, podent així, simplificar, tant a nivell pràctic com ètic, el tancament del cicle. Aquesta tria queda justificada ja que es tracta d'un animal mamífer que pot ser utilitzat fàcilment en experiments de laboratori, que fisiològicament està molt ben estudiat i que comparteix característiques dietètiques comunes amb l'ésser humà.

S'han realitzat diversos estudis per conèixer l'acceptació de la incorporació de *S. platensis* en la dieta de la rata.

En els primers experiments aquest aliment es va introduir en un 50% de la seva dieta durant dues setmanes obtenint uns resultats molt positius. No es van observar diferències estadístiques (ANOVA) en guany de pes, consum de menjar i salut dels animals entre els grups experimental i de control.

En un segon grup d'experiments, que va durar 17 setmanes, es va seguir un grup més extens de paràmetres. Durant aquest període, es van seguir diferents grups d'animals als

que se'ls subministrava a la seva dieta percentatges de *S. platensis*, que anaven d'un 5-40%. Es van comparar els nivells de colesterol, triglicèrids, sucres, etc., a més del pes dels animals de tots els grups, i no es van trobar diferències estadísticament significatives. L'únic fet a destacar és que, en afegir un 40% de *S. platensis* en la seva dieta, es va detectar un descens significatiu en el nivell de glucosa en sang (Tranquille *et al.*, 1994).

Es va observar, també, una disminució en la producció de diòxid de carboni, tot i que aquesta disminució no era estadísticament significativa. Aquests resultats es van interpretar com la conseqüència d'un possible efecte tòxic de *S. platensis* provocant canvis en les funcions del fetge. Es va concloure, doncs, que *S. platensis* pot ésser utilitzada perfectament com a complement alimentari podent compensar alguns paràmetres en dietes deficientes, sempre i quan no es prengui a elevades dosis. Estudis posteriors van aconseguir augmentar el percentatge d'aquest cianobacteri en la dieta de la rata sense observar problemes de toxicitat (Tranquille *et al.*, 1994).

El segon aspecte a considerar a nivell experimental d'aquest compartiment és la generació de residus. El plantejament actual del projecte MELISSA preveu la utilització de residus humans, tot i que encara que no han estat dissenyats ni el sistema de recollida ni els protocols experimentals que s'utilitzaran.

Pel seu disseny s'hauran d'incloure aspectes tal i com el control de la dieta dels voluntaris que aportaran el material residual (femta i orina).

1.2.8.- Sistema de control del bucle MELISSA

Els sistemes de suport de vida ecològics destinats a futures missions espacials han de permetre l'obtenció de productivitats òptimes per tal d'assolir el tancament del cicle, garantint un alt nivell de seguretat en el seu funcionament.

S'ha de tenir en compte que el seu comportament és molt complex i que la seva estabilitat està fortament influenciada pel seu control intern intrínsec. Cal desenvolupar, doncs, un sistema de control capaç de mantenir l'estabilitat del cicle i assegurar la supervivència de la tripulació. Aquest és també l'objectiu del sistema de control del bucle MELISSA.

L'estratègia implementada de control, en el bucle MELISSA, consisteix en considerar que el sistema global està dividit en subsistemes interconnectats. Cada subsistema representa una entitat física diferent, en aquest cas un compartiment. L'estabilitat global del bucle MELISSA depèn, doncs, de l'estabilitat dels subsistemes petits. Ara bé, aquest tipus de sistemes són inestables en llaç de control obert. Així doncs, l'estabilitat del cicle depèn completament del control extern.

El sistema de control del bucle MELISSA està estructurat en quatre nivells jeràrquics, cadascun amb una funció específica i amb el següent esquema de funcionament:

Nivell 0, Local: Està compost pel sistema físic en si, o procés, i el seu corresponent nivell de regulació més pròxim. Els reactors estan equipats amb sensors dels que s'obtenen dades que s'usen per tal de modificar, basats en una estratègia fixa, els valors de les diferents variables.

Dins del bucle MELISSA aquest nivell de control s'identifica a les regulacions d'una única variable, és a dir, controls ràpids. Diferents exemples de regulacions de nivell 0 són: la temperatura, el pH, intensitat de llum incident al bioreactor, etc.

Nivell 1, Regulació del procés: Inclou la regulació de les variables de sortida importants del procés, les quals són obtingudes mitjançant la instrumentació requerida i defineixen la correcta operació de la planta.

Dins del bucle MELISSA aquest nivell de control s'identifica a les regulacions multivariables, les respostes de les quals són generalment superiors a les del nivell 0, com per exemple, el control de la densitat de biomassa d'un reactor.

Nivell 2, Optimització: Es basa també en el procés físic en si. Les seves sortides corresponen als set-points de les variables descrites en el nivell 1 i les entrades són les mesures de qualitat i quantitat desitjades. L'objectiu d'aquest nivell és fixar l'operació de la planta de manera que les especificacions de qualitat i quantitat es compleixin minimitzant els costos de producció.

Dins del bucle MELISSA a nivell de planta pilot l'optimització de qualitat es basa en controlar la possible contaminació entre compartiments, o la qualitat del flux d'interconnexió. Ara bé, quan es pensa en un MELISSA aplicat a l'espai, els costos bàsics depenen sobretot del pes i del volum. Així doncs, l'optimització requereix minimitzar aquests factors, reduint per exemple, els tancs pulmó intermedis, els diferents temps de residència o el volum global del sistema.

Nivell 3, Planificació de producció: En general s'entén que aquest nivell de regulació inclou la planificació de la producció de la planta en funció dels requeriments, necessitats i stocks existents. Aquesta activitat de regulació es suporta usant les estratègies de comandament òptimes considerant els aspectes dinàmics del procés. El bon funcionament d'aquest nivell de regulació està directament lligat a l'assoliment dels objectius dels nivells inferiors de regulació plantejats.

Dins del bucle MELISSA aquest nivell de control s'identifica, per exemple, a la planificació de la productivitat d'un reactor en funció dels menús i activitats planejats per a la tripulació, la planificació setmanal o mensual del compartiment de plantes superiors, etc.

Arquitectura del sistema de control

Un esquema de l'arquitectura del sistema de control del MELISSA es presenta a la figura 1.18.

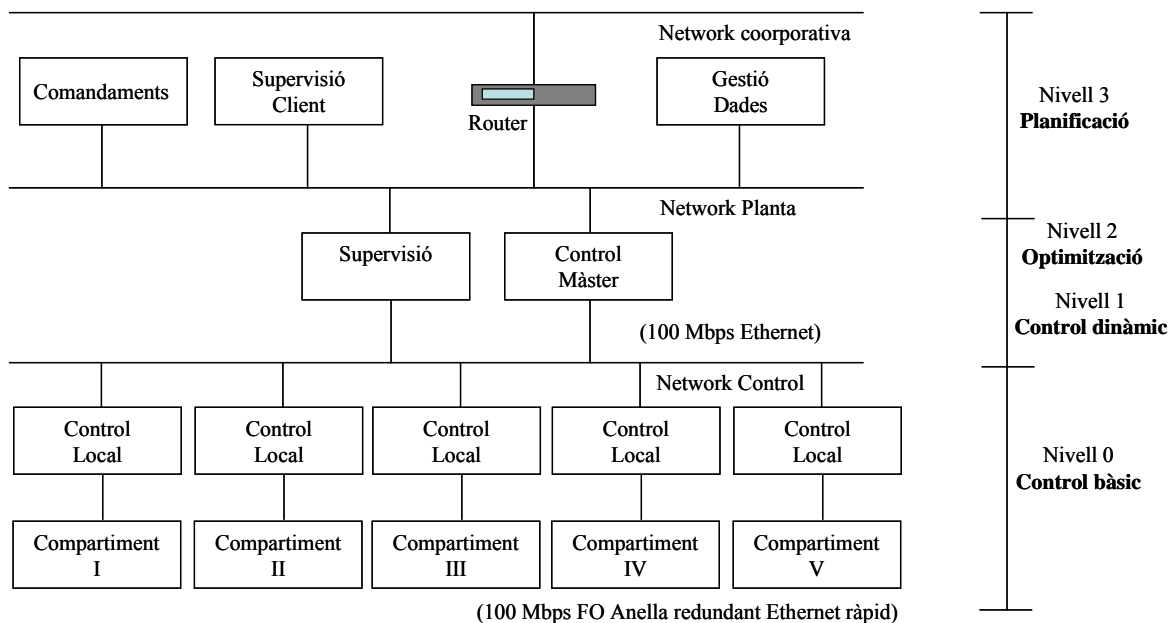


Figura 1.18.- Arquitectura del sistema de control en el cicle MELISSA

La funcionalitat del sistema del control plantejat separa un Control Màster i un Control Local. Una breu descripció de les funcions associades a cada funció de control es descriu a continuació:

Comandaments: Desenvolupament, modificació i contrast dels algoritmes de control, supervisió dels visualitzadors i administració del Sistema de Control.

Supervisió Client: Visualització i supervisió dels visualitzadors, modificació on-line de les variables. Execució dels algoritmes de planificació (nivell 3) per modificar els comandaments de nivell inferior. Interacciona amb el Servidor de Supervisió.

Gestió de dades: Emmagatzema les dades en una Base de Dades Històriques mitjançant el RDBMS (Relational Database Management System). Permet accedir a extractes de dades per analitzar-les, reportar-les, etc.

Servidor de supervisió: Realitza tasques de supervisió, emmagatzemant les dades adquirides a temps real a la RTDB (Real Time Database) mitjançant el RDBMS.

Control Màster: Algoritmes de control dinàmic i optimització (nivells 1 i 2).

Control Local: Controladors bàsics (nivell 0).

Per tal de dur a terme la implementació física d'aquesta arquitectura de control plantejada el MELISSA proposa un sistema mixt PLC/PC i una xarxa Ethernet entre les diferents estacions. Aquest sistema, que es presenta a la figura 1.19, permet minimitzar qualsevol error permetent també la redundància d'aquells paràmetres claus.

Dins del consorci MELISSA, ADERSA (França) és el grup encarregat de desenvolupar els algoritmes de control i NTE l'empresa encarregada de dur a terme la implementació

física del sistema de control a la planta pilot. S'estan utilitzant algorismes avançats de control predictiu basats en models dinàmics no lineals. De moment aquests només s'apliquen als compartiments III i IVa.

1.2.9.- La simulació del bucle MELISSA

Degut a la complexitat dels sistemes de suport de vida, com és el projecte MELISSA, la possibilitat de simular el seu comportament i de predir la seva evolució millora de forma considerable el desenvolupament del projecte. Això permet avaluar diferents configuracions i condicions d'operació de manera ràpida, simple i econòmica.

Per simular de forma eficient un procés, és necessari un coneixement profund del sistema, del comportament dels seus components, i la seva representació en forma de model matemàtic. Com que el bucle MELISSA es basa en processos biològics, molta de la informació necessària per a la simulació s'obté necessàriament dels experiments que es van realitzant al llarg d'aquest projecte. Per avançar en aquest objectiu, la feina de la simulació s'ha dut a terme utilitzant una aproximació modular.

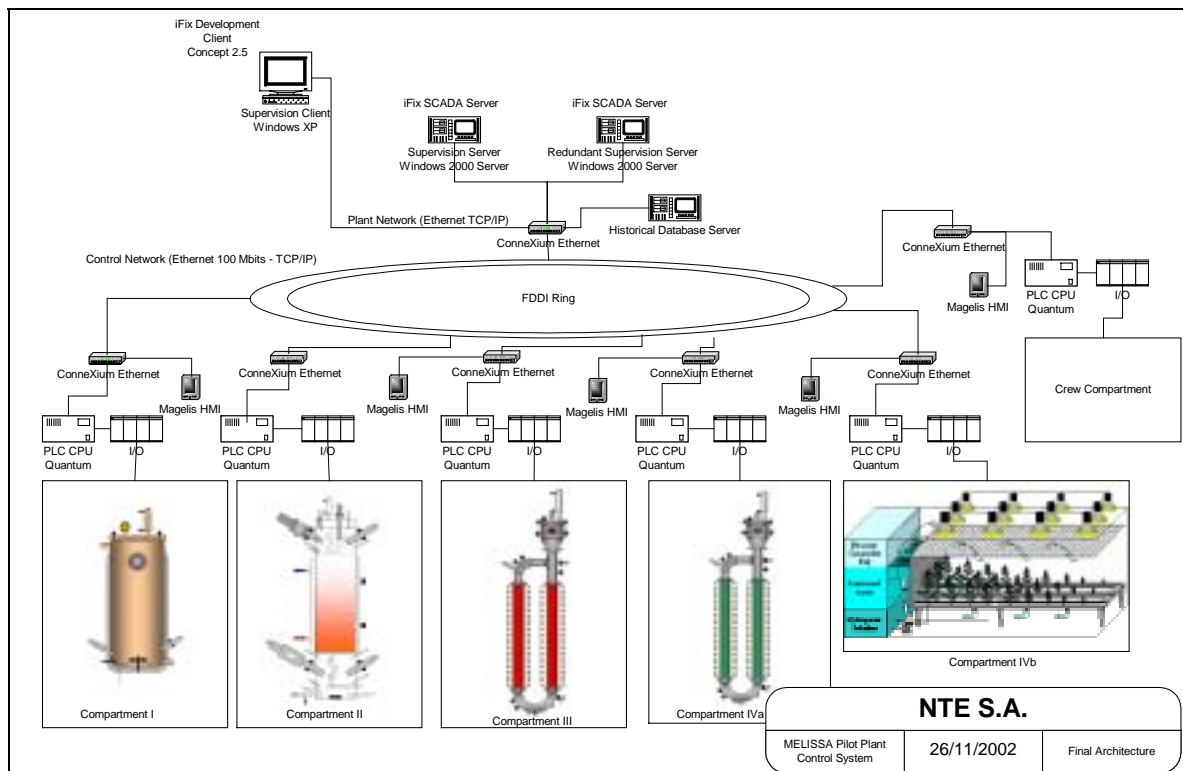


Figura 1.19.- Implementació física de l'arquitectura del sistema de control del MELISSA

La simulació del bucle MELISSA ha consistit, doncs, en la descripció de cadascun dels compartiments mitjançant models matemàtics. Aquests models es basen en una aproximació estadística (Noorman, 1991), tenint en compte, per separat, l'estequiometria i la cinètica de les reaccions biològiques i la hidrodinàmica que caracteritza els fenòmens físics del procés.

Cada reacció metabòlica principal és caracteritzada per una equació estequiomètrica global i per una equació cinètica, que expressa la velocitat de reacció en funció de les

concentracions de les diferents espècies en dissolució i dels factors ambientals. La velocitat global de producció o de consum es calcula com la suma de cada velocitat de reacció.

Actualment, els models estructurals bioquímics ja estan disponibles pels compartiments II, III i IVa. Pels altres compartiments, aquests models encara s'estan formulant. I per a la seva simulació s'utilitzen equacions estequiomètriques globals més senzilles a les quals se'ls dona estructura progressivament. Cal assenyalar que, com ja s'ha dit, aquests models han de ser periòdicament revisats en funció dels resultats experimentals obtinguts pels diferents col·laboradors del projecte.

Utilitzant la informació disponible es va desenvolupant un programa de simulació que permet estudiar els balanços de matèria i energia del bucle MELISSA en la seva totalitat, per a diferents situacions (reciclant tot el nitrogen, reciclant tot l'oxigen, etc.) i condicions d'operació (grau de tancament, intensitat de la llum, etc.).

2.- ANTECEDENTS I OBJECTIUS

Així doncs, un cop definits cadascun dels compartiments cal demostrar la viabilitat del seu funcionament quan aquests es troben interconnectats.

En aquest treball es planteja la connexió experimental dels compartiments microbians, compartiments I, II, III i IVa, del bucle MELISSA a escala de laboratori.

Estudis previs demostren que *Nitrosomonas europaea* i *Nitrobacter winogradskyi* poden créixer en el medi resultant d'haver fet créixer *Rhodospirillum rubrum* i que *Spirulina platensis* pot créixer en el medi resultant d'haver fet créixer *N. europaea* i *N. winogradskyi* (Mergeay *et al.*, 1990). Ara bé, aquests estudis s'han fet en petits erlenmeyers i en discontinu.

No es tenen proves del creixement de *R. rubrum* en l'afluent líquid del primer compartiment.

Així doncs, el següent pas, objecte d'aquest treball, constitueix en estudiar si, a llarg termini i en continu, s'observen efectes nocius o tòxics en connectar aquests quatre compartiments.

Els objectius d'aquest treball són, doncs:

1.- Estudi de la connexió, utilitzant un medi sintètic, dels compartiments II, III i IVa del MELISSA a escala de laboratori. Fet que implica:

- a) Muntatge experimental a escala de laboratori dels compartiments II, III i IVa del bucle MELISSA.
- b) Elaboració d'un medi de cultiu per a dur a terme la connexió dels compartiments II, III i IVa del MELISSA.

2.- Estudi de com afecten possibles desviacions del funcionament òptim del sistema en diferents compartiments. Les pertorbacions estudiades seran dues: l'entrada

de nitrats en el quart compartiment i l'entrada d'àcid acètic en el tercer compartiment.

3.- Estudi de la connexió dels compartiments III i IVa del MELISSA a escala pilot. Estudiant també el funcionament del sistema de control del compartiment IVa quan aquest es troba connectat al tercer compartiment.

4.- Demostrar la viabilitat de la connexió dels quatre compartiments microbians del bucle MELISSA. Implicant:

- a) Muntatge experimental per dur a terme aquesta nova connexió
- b) Estudis en discontinu i en continu del funcionament de la connexió global en fase líquida del bucle microbià del sistema MELISSA.

5.- Dimensionat preliminar del MELISSA i estudi del grau de tancament assolit pels elements principals en funció de diferents escenaris.