

Influencia de la concentración inicial de *Chlorella vulgaris* y CO₂ en la producción de lípidos¹

Martha Lucía Malagón Micán², Miryam Yesenia Suárez Chaparro³

Resumen

Introducción: debido a la disminución de petróleo, se plantea una alternativa energética como la biomasa de microalgas, para obtener lípidos y posteriormente biodiesel. **Objetivo:** evaluar la influencia del CO₂ y la concentración inicial de *Chlorella vulgaris* en la producción de lípidos a escala de laboratorio. **Materiales y métodos:** se desarrollaron cuatro pruebas de crecimiento de microalga, con concentraciones de CO₂ (0-3 %; 3-6 %; 6-9 %; 9-12 %) como fuente de carbono para la producción de Biomasa. Se inició con una densidad celular de 8,01x10⁶; 1,34x10⁷; 1,74x10⁷ y 1,58x10⁷ cel/mL. Los parámetros para el crecimiento fueron determinados en el grupo de investigación (Ángel & Pimienta, 2012), como medio de cultivo se utilizó Foliagro[®], dos bombillas de 21 W de luz roja para ciclos de 12/12 horas de luz/oscuridad, pH 7,5 y temperatura de 24 °C ±2,5°C. **Resultados:** se determinó que las concentraciones de CO₂ están entre 0-3 % y 6-9 %, con una producción celular de 3,65x10⁷ cel/mL, satisfactoria para los dos intervalos. El rendimiento de lípidos producidos fue 61,83 %, para una concentración de CO₂ entre 0-3 % y de

54,49 % para una concentración de CO₂ entre 6-9 %. **Conclusiones:** para la prueba 1 el índice de yodo fue 67,91 y el índice de saponificación 107,99; para la prueba 3 el primero fue 63,12, y el segundo 132,63, parámetros que indican que los lípidos producidos son útiles para la producción de biodiesel.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, CO₂, lípidos, rendimiento.

Influence of the initial concentration of *Chlorella vulgaris* and CO₂ in the production of lipids

Abstract

Introduction: Due to the decrease of oil, an alternative energy source such as microalgae biomass is planted to obtain lipids and then biodiesel. **Objective:** to evaluate the influence of CO₂ and the initial concentration of *Chlorella vulgaris* on lipid production on a laboratory scale.

1 Artículo original derivado del proyecto de investigación Evaluación de las mejores condiciones para el crecimiento de *Chlorella vulgaris* para incrementar la producción de lípidos. Realizado entre mayo-noviembre de 2015, financiado por la Universidad de América.

2 Magíster en Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Colombia, docente-investigador de la Universidad de América Correo: martha.malagon@investigadores.uamerica.edu.co ORCID: 0000-0003-1603-9324

3 Ingeniería Química de la Universidad de América Correo: miye_2318@hotmail.com ORCID: 0000-0002-9835-0927.

Autor para correspondencia: Martha Lucía Malagón Micán e-mail: iqmalu@gmail.com

Recibido: 04/12/2018 Aceptado: 21/07/2020

Material and methods: four microalgae growth tests were developed, with CO₂ concentrations (0-3 %; 3-6 %; 6-9 %; 9-12 %) as a carbon source for biomass production. Start with a cell density of 8.01x10⁶; 1.34x10⁷; 1.74x10⁷ and 1.58x10⁷ cells/mL. The growth parameters were determined in the research group (Ángel, 2012), as a culture medium Foliagro[®] was used, from the 21 W red light bulbs for cycles of 12/12 hours light/dark, pH 7.5 and a temperature of 24 °C ± 2.5 °C. **Results:** CO₂ concentrations were determined to be between 0-3 % and 6-9 %, with a cellular production of 3.65x10⁷ cells/mL, satisfactory for the two intervals. The yield of the lipids produced was 61.83 %, for a CO₂ concentration between 0-3 % and 54.49 % for a CO₂ concentration between 6-9 %. **Conclusions:** for the test 1, the iodine index was 67.91 and the saponification index 107.99; for the test 3 the first was 63.12, and second was 132.63, the parameters that indicate that the lipids produced are useful for the production of biodiesel.

Key words: *Chorella vulgaris*, CO₂, lipids, yield.

Influência da concentração inicial de *Chlorella vulgaris* e CO₂ na produção de lípidos

artigo

Resumo

Introdução: devido ao esgotamento de petróleo, uma fonte alternativa de energia, como

a biomassa de microalgas, é plantada para obter lipídios e, em seguida, biodiesel. **Objetivo:** avaliar a influência do CO₂ e a concentração inicial de *Chlorella vulgaris* na produção de lipídios em escala laboratorial. **Material e métodos:** quatro problemas de crescimento de microalgas foram desenvolvidos, com concentrações de CO₂ (0-3 %; 3-6 %; 6-9 %; 9-12 %) como fonte de carbono para a produção de biomassa. Começou com uma densidade celular de 8,01x10⁶; 1,34x10⁷; 1,74 x 10⁷ e 1,58x10⁷ células/mL. Os parâmetros de crescimento foram determinados no grupo de pesquisa (Ángel, 2012), como meio de cultura utilizou-se Foliagro[®], a partir das lâmpadas vermelhas de 21 W durante 12/12 horas de ciclos claro/escuro, pH 7.5 e temperatura de 24 °C ± 2,5 °C. **Resultados:** as concentrações de CO₂ foram determinadas entre 0-3% e 6-9%, com uma produção celular de 3,65x10⁷ células/mL, satisfatória para os intervalos. O rendimento dos lipídios produzidos foi de 61,83%, para uma concentração de CO₂ entre 0-3% e 54,49% para uma concentração de CO₂ entre 6-9%. **Conclusões:** no primeiro, o índice de iodo foi de 67,91 e o de saponificação de 107,99; para os três seguintes, o primeiro foi 63,12 e, de acordo com 132,63, os parâmetros que indicam que os lipídios produzidos são úteis para a produção de biodiesel.

Palavras-chave: *Chorella vulgaris*, CO₂, lipídios, produtividade.

Introducción

Aproximadamente un 78 % de la energía consumida en Colombia proviene de fuentes fósiles y el 22 % restante proviene de fuentes

renovables. La disponibilidad de fuentes no convencionales de energía renovable, aun no son aprovechadas eficientemente, pero la disminución de costos de las mismas y la evolución de las tecnologías, hace que la

investigación y desarrollo se convierta en una necesidad apremiante para suplir la demanda energética que requerirá el país (UPME, 2015).

De esta manera, uno de los principales objetivos para el desarrollo sostenible de un país es proporcionar recursos energéticos, lo que significa satisfacer las necesidades actuales de energía sin comprometer a las generaciones futuras. Por otra parte, los recursos energéticos sostenibles implican principalmente una mayor inclusión de fuentes de energía renovables. La biomasa es la fuente de energía renovable más utilizada, debido a su disponibilidad y bajo precio (Kanevce & Dedinec, 2016). Así, la obtención de lípidos, especialmente ácidos grasos saturados y monoinsaturados a partir de la biomasa de microalgas como fuente renovable, es otra opción con alta productividad y un perfil adecuado para la producción de biodiesel (Hernández & Labbé, 2014).

Además, como lo mencionan Ghobrini, Brányik, Kebab, Poutout, & Aiboud (2018), *Chlorella vulgaris* ha sido un organismo modelo, debido al rápido crecimiento de la biomasa y al contenido potencialmente alto de aceite.

Por lo anterior se ha propuesto en este proyecto continuar con los ensayos experimentales, con el objetivo de incrementar el rendimiento de lípidos, a partir de los resultados obtenidos en el grupo de investigación en donde se ha trabajado con la microalga *Chlorella vulgaris*. De esta manera se trabajará en las mejores condiciones de cultivo y se tendrán en cuenta parámetros como la temperatura, el fotoperiodo, la intensidad lumínica y la relación C/N, con el fin de obtener la mayor cantidad de ácidos grasos en un Fotobiorreactor de Panel Plano. La finalidad fue determinar el efecto de la concentración inicial de la microalga y del CO₂ sobre la curva de crecimiento, la producción de biomasa y los lípidos extraídos.

Materiales y métodos

Inicialmente se seleccionó la fuente de CO₂, luego las condiciones iniciales para el crecimiento de la microalga, parámetros de cultivo, equipo para crecimiento de la microalga y conteo celular, posteriormente la producción de biomasa, extracción de lípidos y su caracterización.

Selección de la fuente de CO₂

La microalga utilizada fue *Chlorella vulgaris*, como medio de cultivo se empleó fertilizante Foliagro®, el cual representa la alternativa más económica para los medios de cultivo tradicionales, utilizados en investigaciones para el crecimiento de las microalgas. También representa una fuente importante de los principales nutrientes para el crecimiento de la microalga, como se observa en la Tabla No. 1.

Tabla No. 1. Composición del fertilizante agrícola foliar Foliagro®

COMPUESTO	CANTIDAD (g/L)
Nitrógeno Total (N)	100
Fósforo asimilable (P ₂ O ₅)	300
Potasio Soluble en Agua (K ₂ O)	100
Calcio (CaO)	0,2
Magnesio (MgO)	0,2
Azufre Total (S)	0,8
Boro (B)	0,2
Cobre (Cu)	0,2
Hierro (Fe)	0,4
Manganeso (Mn)	0,4
Molibdeno (Mo)	0,03
Zinc (Zn)	0,5

Fuente: (Ángel & Pimienta, 2012)

Adicionalmente, se seleccionó como fuente de CO₂ un tanque de suministro, de acuerdo a la matriz de factores ponderados que se muestra

en la tabla No.2 en donde la presentación del CO₂ puede ser como hielo seco, en balas o en tanque y se ha asignado un valor de 3 para un

factor adecuado, 2 para poco adecuado y 1 para inadecuado.

Tabla No. 2. Matriz de factores ponderados para la selección de CO₂

FACTORES	PONDERACIÓN (%)	Hielo seco	Balas	Tanque
Manipulación	7	2	1	3
Precio	15	3	3	1
Disponibilidad	18	3	3	3
Eficacia	25	1	1	3
Volumen total de CO ₂	5	2	1	3
Facilidad de ensamblaje	30	1	1	3
	Resultados	1,78	1,66	2,77

Fuente: elaborada por los autores

Condiciones iniciales y parámetros de cultivo para el crecimiento de la microalga

Para iniciar con el crecimiento se tomaron 10 mL de la microalga en 100 mL de medio de cultivo, pero los resultados no fueron satisfactorios, así que se llevaron 10 mL de la microalga a 30 mL de medio de cultivo y los resultados después de ocho días fueron proporcionales al crecimiento y entonces se continuó con esta cantidad por ocho días más, pero se observó que la microalga empezó a reducir el volumen del medio de cultivo debido al consumo acelerado de los nutrientes. Después de ocho días los resultados obtenidos fueron favorables para el crecimiento de la microalga, así que se decidió seguir trabajando con esta cantidad y empezar con el escalamiento gradual hasta completar la capacidad de los recipientes de 6L.

Se utilizaron dos bombillas de color rojo de 21 W de potencia, controladas con un temporizador de frecuencia, lo cual aumenta la actividad fosfofructoquinasa (Lips & Avissar, 1986), fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad (12 L/12 O) y fertilizante foliar Foliagro de bajo costo (Ángel & Pimienta,

2012), el conteo celular de las microalgas se realiza en cámara de Neubauer cada 24 horas.

Equipo para el crecimiento de la microalga

Posteriormente se construyó una incubadora en poliestireno y cubierta con papel de aluminio, para evitar la luz del sol y que la luz roja sea absorbida por las microalgas, para la oxigenación se usaron bombas de aire de capacidad de agitación de 3 L/min, para los tres cultivos previa esterilización de todos los elementos utilizados. El crecimiento y la producción de biomasa son llevados a cabo en un fotobiorreactor (FBR) de panel plano, el cual permite tener un control más preciso de las condiciones de cultivo. El equipo consta de un marco en polimetilmetacrilato, cuyas dimensiones son: ancho 0,4 m, alto 0,2 m y espesor 0,05 m.

Un tubo aspersor de PVC se ubica en el fondo del equipo, se instala de tal forma que las perforaciones del tubo se dirijan hacia el fondo del FBR. Después se instala el termostato cuya función es proporcionar la temperatura seleccionada para las microalgas,

posteriormente se introduce la manguera de muestras y el ducto desgasificador.

El dióxido de carbono se inyecta en una concentración mayor al 1% (Riebesell, Revill, Holdsworth, & Volkman, 2000) y según (Barajas & Godoy, 2012), el crecimiento se favorece hasta un 3,8 %, con el fin de incrementar la producción de lípidos.

Se empleó una velocidad de 0,025 VVM con la ayuda de un manoreductor, que reduce la presión del CO₂ a un bar. Además, se utilizó la tarjeta CO₂ K-33 ICB, para medir el flujo de CO₂ que entra al FBR y que está conectada a un computador que muestra por medio de una gráfica el porcentaje de CO₂ y de esta manera es posible ajustarlo por medio del manoreductor.

A la salida de este último y a la entrada del FBR se conecta una cuenta-burbujas, con el fin de regular el número de burbujas por minuto y ajustar al porcentaje de CO₂ que requieren las microalgas. Un regulador electrónico monitorea el pH, por medio de una electroválvula conectada al manoreductor, que adapta la inyección de CO₂ para mantener el pH en 7,5.

Conteo celular de microalgas

El procedimiento elaborado para el conteo en cámara de Neubauer que se realizó cada 24 horas para las pruebas de producción de biomasa con las respectivas concentraciones de CO₂, se basó en el protocolo para recuento en cámara de Neubauer de hematíes.

Producción de biomasa

Se realiza la producción de biomasa en el fotobiorreactor con cuatro pruebas y concentraciones de CO₂ de 0 %–3 %, 3 %–6 %, 6 %–9 %, 9 %–12 % y para cada una se tomó un volumen total de 4 litros que contenía el biorreactor.

Extracción de lípidos de la biomasa

El método utilizado para la extracción de lípidos es el de (Bligh, 1959), el cual aprovecha la solubilidad de los lípidos en solventes polares como el cloroformo, éter y benceno. Para esto fue necesario llevar la muestra a centrifugación a 250 rpm durante 20 minutos aproximadamente. Posterior a esto se elimina el sobrenadante de la muestra quedando de esta manera la biomasa concentrada. Luego, se traspasó a un crisol llevándolo a un horno de secado durante 48 horas aproximadamente para obtener la biomasa totalmente seca y así poder aplicar la metodología.

Las microalgas bajo condiciones normales de cultivo presentan un contenido de lípidos que por lo general varía entre el 20 y el 50 % de su peso seco. Las especies predominantes de microalgas para la obtención de lípidos y su posterior conversión a biodiesel se encuentran dentro del grupo de las algas verdes. De acuerdo al Instituto de Investigación en Energía Solar (SERI por sus siglas en inglés), las especies más prometedoras son *Nannochloropsis salina* y *Dunaliella salina* por su elevada concentración de ácidos grasos.

De igual forma, el NREL en Estados Unidos reportó que *Dunaliella*, *Scenedesmus* y *Chlorella* son los géneros más populares que se han cultivado con éxito a escala comercial para la obtención de biodiesel. En la tabla No. 3 se presenta el porcentaje en peso de lípidos de algunas microalgas y se pueden apreciar diferencias significativas entre géneros y especies lo que llevó a tomar como opción más viable la *Chlorella vulgaris*.

Tabla No. 3. Contenido Lipídico de algunas algas

AGUA DULCE / MARINA	MICROALGA	LÍPIDOS (% peso seco)
Agua Dulce	<i>Chlorella emersonii</i>	63
	<i>Chlorella vulgaris</i>	15–58
	<i>Chlorella zofingiensis</i>	51
	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	31
	<i>Scenedesmus incrassatulus</i>	8–12
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	10–43
Marina	<i>Chlorella minutissima</i>	57
	<i>Chlorella vulgaris</i>	57
	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	24
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	8–54
	<i>Nannochloropsis sp.</i>	24–60

Fuente: (Arias, Martínez, & Cañizares, 2013)

Caracterización de lípidos

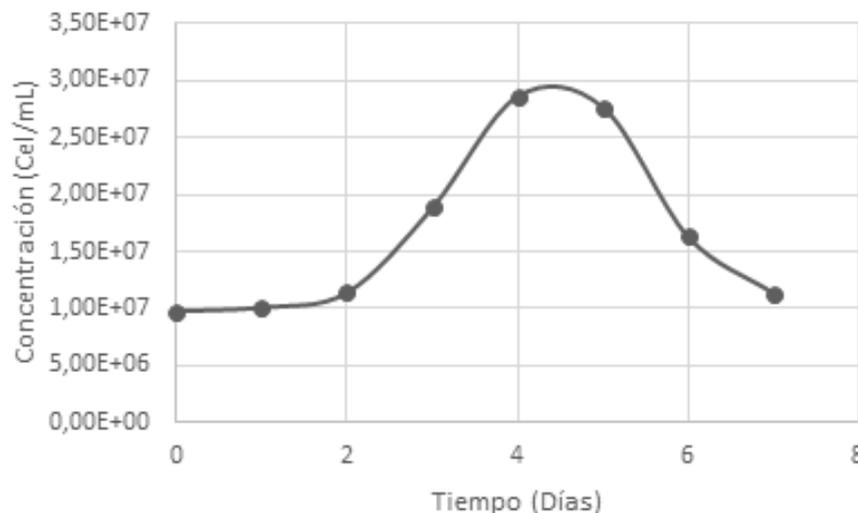
La caracterización de lípidos se realizó por medio del índice de yodo y el índice de saponificación.

Resultados

Curva de crecimiento con Foliagro

Se construyó la curva de crecimiento de la microalga, sin inyección de CO₂ con el fin de determinar su ciclo de vida y el tiempo en el que alcanza su máximo crecimiento, como se presenta en la figura No. 1.

Figura No. 1. Curva de crecimiento patrón de *Chlorella vulgaris*.



Fuente: elaborada por los autores

Se observa que la microalga *Chlorella vulgaris* tuvo un tiempo de adaptación de aproximadamente dos días y logró su máximo crecimiento el día cinco, alcanzando una concentración celular de $2,86 \times 10^7$ cel/mL, que comparado con un valor de $1,5 \times 10^7$ cel/mL reportado por (Castro & Ortiz, 2013), permite observar que el microorganismo se encuentra en buenas condiciones de crecimiento.

Pre-experimentación

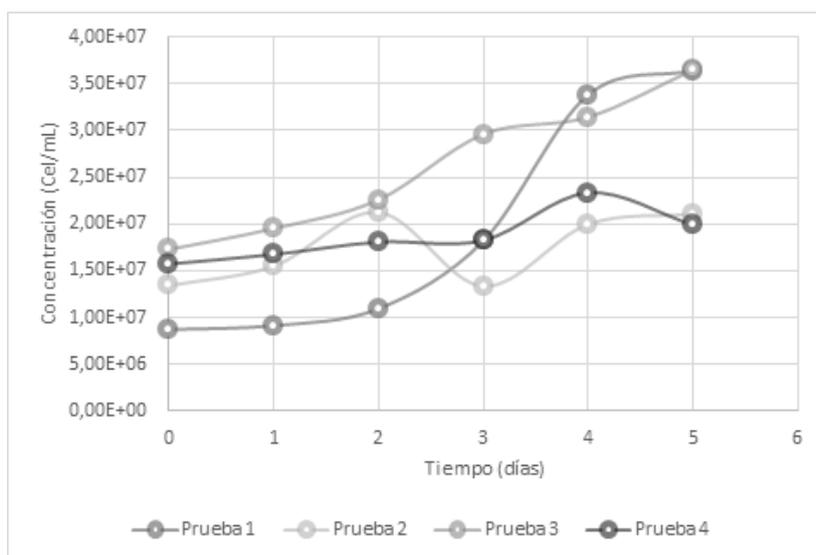
Posteriormente se realizó una pre-experimentación con el fin de determinar los intervalos de CO_2 a trabajar, no superándose

una concentración del 12% porque las algas empezaban a morir sin lograr un tiempo de adaptación.

Se evaluó el comportamiento de la microalga en cada uno de los intervalos de CO_2 propuestos, con el fin de seleccionar aquellos que presentaran una mejor concentración celular. En cada prueba se hicieron tres réplicas cada día, con el fin de asegurar la validez y precisión de los conteos.

A continuación, se muestra la figura No. 2, en donde se aprecian las diferencias para cada una de las pruebas realizadas.

Figura No. 2. Curvas de crecimiento de *Chlorella vulgaris* a diferentes intervalos de CO_2



Fuente: elaborada por los autores

Como se puede observar en la Figura 2, las pruebas 1 y 3 fueron las que alcanzaron la mayor concentración celular y un crecimiento uniforme durante cinco días, tiempo en el cual se alcanza su crecimiento máximo, con una densidad celular de $3,65 \times 10^7$ células/mL, que comparado con un valor de $1,5 \times 10^7$ células/mL reportado por (Adamczyk & Skawińska, 2016), cuya concentración celular obtenida fue de $1,7 \times 10^7$ células/mL, permite evidenciar que

el CO_2 influye de una manera positiva en el crecimiento de la microalga.

Para las pruebas 2 y 4, cuyos los intervalos de CO_2 son (3 %–6 %) y (9 %–12 %) se observa que el comportamiento no es uniforme a lo largo del tiempo; por el contrario, en la prueba 2 se ve un máximo de crecimiento en el día 2, pero al día siguiente se convierte en muerte celular y en el día 4 se vuelve a recuperar aunque no

en igual cantidad a la que existía en el día 2; lo anterior evidencia que no son intervalos a tener en cuenta al presenciarse cambios impredecibles. (Sorensen, Nyholm, & Baun, 1996), explicó que una alta concentración de CO₂ puede ocasionar una disminución de pH, porque el CO₂ excedente se convierte en H₂CO₃.

Respecto a la prueba 4, el tiempo de adaptabilidad es de tres días, un resultado no esperado y después del cual las algas crecen a la misma velocidad en la que mueren. De esta prueba se demuestra que la *Chlorella vulgaris* tiene una gran capacidad para adaptarse, pero a la vez se corrobora que una alta concentración de CO₂ no le es favorable.

La prueba 3, realizada a un intervalo de 6 % a 9 % muestra un periodo de adaptabilidad de 2 días después de los cuales la microalga empieza a crecer de forma satisfactoria, presentándose del día 3 al 4 un crecimiento menor que vuelve a aumentar significativamente para el día 5. Esto muestra que el intervalo de CO₂ es adecuado, además de que no se evidencia muerte celular.

Obtención de biomasa

La cantidad de biomasa húmeda para la prueba fue de 41,46 g y para la prueba 3 fue de 56,7 g. Con el fin de obtener los ácidos grasos se seca la biomasa, procedimiento que se realiza después de combinar las masas húmedas de las diferentes réplicas para cada una de las pruebas, teniendo en cuenta que no hay diferencias significativas entre réplicas. La biomasa seca obtenida para la prueba 1 fue de 4,93 g y para la prueba 3 fue de 7,19 g, que corresponde al intervalo de CO₂ de 6 % a 9 %.

Extracción de lípidos

En cuanto a los lípidos obtenidos, en la prueba 1 fueron de 3,05 g y para la prueba 3 los lípidos fueron de 3,92 g, el rendimiento definido

como la masa de lípidos extraídos por cantidad de masa inicial fue de 61,83 % para la prueba 1 y 54,49 % para la prueba 3, superiores a los reportados por (Barsanti & Gualteri, 2006), quienes obtuvieron un rendimiento del 45 % y a la vez, se confirma que la concentración de CO₂ que beneficia a la *Chlorella vulgaris* debe ser baja, porque de 4,93 g de biomasa seca se extrajo 3,05 g de lípidos en un rango de 0% a 3% y en la prueba 3, se perdió aproximadamente la mitad de masa en la extracción.

Por otra parte Praveenkumar y otros (2012), alcanzaron un 77,74 % de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, además, (Chang, y otros, 2017), reportan un 65,45 %–68,47 % de ácidos grasos insaturados, utilizando como fuente de carbono un gas enriquecido en CO₂ al 5 %, también (Ding, y otros, 2017) lograron un 67,69% de lípidos extraídos por medio de una hidrólisis hidrotérmica y (Bhola, Desikan, Santosh, Subburamu, & Bux, 2011), comentaron que un aumento adicional en la intensidad de la luz dio como resultado una disminución de la velocidad de transporte de electrones y un contenido de lípidos del 21 %, utilizaron un medio BG11, ciclos de luz/oscuridad de 16/8 h, temperatura de 25 ± 1 °C y 80 rpm.

Caracterización de los lípidos

En cuanto a la caracterización de los lípidos para la prueba 1 el índice de saponificación es de 107,99 y para la prueba 3 es de 132,63. De acuerdo con la Norma NTC 2781, el intervalo para el índice de saponificación es de 177 a 185 mg KOH/g de aceite, al observar los resultados obtenidos se aprecia que se encuentran por debajo de tal intervalo, por lo que se consideraría que la cantidad de jabón formada en la transesterificación será baja y la producción de biodiesel será mayor.

Discusión

Se tomó como opción más viable la microalga *Chlorella vulgaris*, debido a la alta proporción de lípidos que se pueden extraer para la obtención de biodiesel.

La prueba 1, cuyo resultado es el más conveniente corresponde a un intervalo de CO₂ de 0 % a 3 %, que al comparar con datos bibliográficos se encontró un aumento de biomasa, con un suministro de 2 % de CO₂ (Zhi, B., Zi, & Yen, 2015) lo cual evidencia que pequeñas dosis de CO₂ permiten obtener mayor cantidad de biomasa. En esta prueba se observa un periodo de adaptabilidad de 2 días y luego hay un crecimiento significativo hasta el día 4, en el cual crece a una menor velocidad.

Por otra parte, si se tiene en cuenta la concentración inicial de microalga, se observa que no es influyente porque en las pruebas 1 y 3, cuyos resultados fueron los mejores, se evidencia que pese a tener diferentes concentraciones iniciales, el periodo de adaptabilidad fue de dos días. Se realizó un análisis de varianza, el cual dio como resultado que no existen diferencias significativas entre las concentraciones iniciales de microalga a las cuales se llevaron a cabo los experimentos y sus respectivas réplicas.

En cuanto a la extracción de lípidos, el intervalo de CO₂ de 6 % a 9% influyó favorablemente para la producción de biomasa, pero afectó la obtención de lípidos, efecto confirmado cuando se analiza solo la concentración de carbono (Castro & Ortiz, 2013).

Para la caracterización de los lípidos, según la Norma NTC 2781 el intervalo para el índice de yodo es de 82 a 90 g I₂/100g aceite. Este parámetro para la prueba 1 es de 67,91 y para la prueba 3 es de 63,12, dado que el índice de

yodo es menor de 100 en ambas pruebas, las grasas se clasifican como no secantes, es decir que no tienen una gran cantidad de ácidos insaturados, lo cual es deseable si se destina para la producción de biodiesel, puesto que tiene mayor estabilidad oxidativa.

Por tanto, una concentración de 0 % a 3 % de CO₂ producirá una mayor cantidad de lípidos, los cuales acorde a los índices de saponificación y yodo, podían usarse en la industria farmacológica, alimentaria y para la producción de biodiesel.

El *rendimiento* definido como la cantidad de biomasa seca en gramos por cada litro de medio de cultivo fue de 0,55 g/L para la prueba 1 y de 0,79 g/L para la prueba 3.

Para *Chlorella vulgaris* el rendimiento reportado cuando crece en medio fertilizante es de 0,4 g/L (Alvear, Castillo, Henao, & Tejada, 2010). El resultado obtenido para las pruebas 1 y 3, evidencia que la adición de CO₂ en los intervalos señalados favorece el rendimiento.

Conclusiones

La selección del tanque de dióxido de carbono y su conexión directa a la tarjeta K-33 ICB, asegura un proceso más controlado porque no hay riesgo que ingrese al medio de cultivo una concentración no fijada, lo cual favorece los resultados y reduce el margen de error. Esto no hubiese sido posible con el hielo seco o los cartuchos de CO₂ a causa de la dificultad que conlleva su manipulación y la imposibilidad de medir con exactitud la concentración.

Se determinó que el tiempo de crecimiento máximo para la microalga fue de cinco días y que los mejores intervalos fueron de 0 % a 3 % y de 6 % a 9 %, al respecto (Widjaja, Chienb, & Jub, 2009), argumentan que la biomasa se

incrementa, por el aumento de la concentración de CO₂ y que por lo tanto su concentración desempeñó un papel importante en el aumento de la productividad de los lípidos, pero en este caso en el intervalo 3 % a 6 % hubo una fluctuación constante y en el de 9 % a 12 % la adaptabilidad fue un periodo largo después del cual las microalgas empezaron a morir.

Se concluye que la concentración inicial de las microalgas no influye significativamente en el crecimiento y en el intervalo de 6% a 9 % hubo un menor rendimiento lipídico (54,49 %), pero un mayor rendimiento de biomasa seca (0,79 g/L), similar a lo encontrado por (Chica & Parra, 2011), quien obtuvo un rendimiento de biomasa de 1,01 g/mL y de lípidos del 58 %.

De acuerdo a los estudios citados, se requiere de una concentración de aproximadamente 2 % de CO₂, para la obtención de lípidos y en este trabajo se encontró que en el intervalo de 0 % a 3 % se obtuvo un 61,83 % de rendimiento de lípidos y para el intervalo de 6 % a 9 % un rendimiento del 54,49 %, pero se observa que aún falta investigación en este campo, para llevarlo a una escala industrial, porque de 3L usados inicialmente se obtuvo 3,05 g de lípidos en el caso de 0 % a 3 % y 3,92 g en la prueba de 6 % a 9 %.

Con respecto a la caracterización de los lípidos, el índice de saponificación para la prueba 1 fue de 107,99 y para la prueba 3 fue de 132,63 y el índice de yodo para la prueba 1 fue de 67,91 y para la prueba 3 fue de 63,12, lo cual indica que pueden ser utilizados para la producción de biodiesel.

Referencias

Adamczyk, M. L., & Skawińska, A. (2016). CO₂ Biofixation and Growth Kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*.

Appl Biochem Biotechnol, 179, 1248-1261. doi:10.1007/s12010-016-2062-3

Alvear, M., Castillo, C., Henao, D., & Tejada, L. (2010). Obtención y comparación de los aceites obtenidos de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como materia prima para la producción de biodiesel., (págs. 1-8). Buenos Aires. Recuperado el 23 de Enero de 2017, de http://www.apiperu.com/argentina/trabajos/ECC_187_Alvear_Alayon_Mario.pdf

Ángel, M. C., & Pimienta, W. Y. (2012). *Evaluación de la incidencia del nitrógeno en el medio de cultivo bold basal para la producción de biomasa de la microalga Chlorella vulgaris en un fotobiorreactor, para la obtención de ácidos grasos*. Universidad de América. Bogotá: Repositorio Institucional.

Arias, M. T., Martínez, A., & Cañizares, R. O. (2013). Producción de biodiesel a partir de Microalgas: Parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta Biológica Colombiana*, 18(1), 43-68.

Barajas, A., & Godoy, C. (2012). Mejoramiento del secuestro de CO₂ por *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala laboratorio. *ION*, 25(2), 39-47.

Barsanti, L., & Gualteri, P. (2006). *Algae anatomy biochemistry and biotechnology*. New York: Francis Group.

Bhola, V., Desikan, R., Santosh, S., Subburamu, E., & Bux, F. (2011). Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behavior or *Chlorella vulgaris*. *Journal of bioscience and bioengineering Review*, 111(3), 377-382.

Bligh, E. G. (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911.

- Castro, S. K., & Ortiz, A. E. (2013). *Determinación de la incidencia de la relación carbono: nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos en la microalga Chlorella vulgaris a escala de laboratorio.* Universidad de América. Bogotá D. C.: Lumieres.
- Chang, H. X., Liao, Q., Fu, Q., Huang, Y., Xia, A., & Zheng, Y. P. (March de 2017). Phase-feeding strategy for Chlorella vulgaris to enhance biomass and lipid productivity. *Int. J. Agric. & Biol. Eng.*, 10(2), 205-215. doi: 10.3965/j.ijabe.20171002.2735
- Chica, C. C., & Parra, M. H. (2011). *Obtención de ácidos de ácidos grasos a partir de biomasa producida por microalgas Chlorella a escala de laboratorio.* Fundación Universidad de América, Bogotá D. C. U/niversidad de América. Bogotá: Lumieres.
- Ding, X. J., Huang, Y., Liao, Q., Fu, Q., Xia, A., & Xiao, C. (January de 2017). Medium-low temperature hydrothermal hydrolysis kinetic characteristics of concentrated wet microalgae biomass. *Int. J. Agric. & Biol. Eng.*, 10(1), 154-162. doi: 10.3965/j.ijabe.20171001.2699
- Ghobrini, D., Brányik, T., Kebbab, L., Poutout, B., & Aiboud, K. (2018). Cultivation of Chlorella Vulgaris using medium from a dairy effluent., (págs. 1-5). Rabat, Morocco. doi:10.1109/IRSEC.2018.8702962.
- Hernández, A., & Labbé, J. (agosto de 2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía.*, 49(2), 157-173. doi:10.4067/S0718-19572014000200001
- Kanevce, G., & Dedinec, A. (2016). Optimal usage of biomass for energy purposes toward sustainable development, a case of Macedonia. *Thermal Science*, 20(Suppl. 1), 77-91. doi: 10.2298/TSCI160208057K
- Lips, S., & Avissar, Y. (1986). *Handbook of microalgal mass cultura.* Boca Raton,: CRCpress Inc.
- Praveenkumar, R., Shameera, K., Mahalakshmi, G., Akbarsha, M., & Thajuddin, N. (2012). Influence of nutrient deprivations on lipid accumulation in a dominant indigenous microalga Chlorella sp BUM11008: Evaluation for biodiesel production. *Biomass and bioenergy*, 37, 60-66.
- Riebesell, U., Reville, A., Holdsworth, D. G., & Volkman, J. K. (2000). The Effects of Varying CO2 Concentration on Lipid Composition and Carbon Isotope Fractionation in *Emiliania huxleyi*, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 64(24), 4179.
- Sorensen, B. H., Nyholm, N., & Baun, A. (1996). Algal toxicity tests with volatile and hazardous compounds in air-tight test flasks with CO2 enriched headspace. *Chemosphere*, 32(8), 1513–1526.
- UPME. (2015). *Integración de las energías renovables no convencionales en Colombia.* Bogotá, D. C.
- Widjaja, A., Chienb, C., & Jub, Y. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris. Vol. 40, 13-20. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40, 13-20.
- Zhi, G., B., W., Zi, J., & Yen, W. (2015). Control of CO2 input conditions during outdoor culture of Chlorella vulgaris in bubble column photobioreactors. *Bioresource Technology*(186), 238-245. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.065.