

Determinación de parámetros de cultivo para la optimización del crecimiento y producción de lípidos destinados a la producción de biodiesel de la microalga *Chlorella vulgaris*

Investigación Terminada

Castañeda Ramirez, Luis Carlos

lcastaneda67@unab.edu.co

Ingeniería en Energíá

Universidad Autónoma De Bucaramanga

RESUMEN

Chlorella vulgaris es una microalga con alto potencial biotecnológico por su capacidad de sintetizar ácidos grasos de interés industrial para la producción de Biodiesel, rápido crecimiento y capacidad de adaptación a diferentes fuentes de nutrientes tanto en regímenes autotróficos como heterotróficos. El objetivo de este trabajo fue identificar los parámetros que permitieran un máximo crecimiento de *Chlorella vulgaris* para su producción masiva. Se monitorearon flujos de aire suministrado en medio de cultivo NPK el cual brinda las condiciones de cultivo ideales para esta cepa. Esto con el fin de aumentar la producción de biomasa y ácidos grasos para hacer viable la producción de biodiesel, lo que es de gran interés en el desarrollo de bioprocesos sostenibles, para ser acoplados e implementados en la industria.

Palabras Clave—microalgas, ácidos grasos, biodiesel, biomasa.

ABSTRACT

Chlorella vulgaris is a highly potential biotechnology microalgae with the ability to synthesize fatty acids of industrial use for the production of Biodiesel, fast growth and adaptability to different sources of nutrients both autotrophic and heterotrophic regimes. The aim of this study was to identify the parameters that allow maximum growth of *Chlorella vulgaris* for mass production. Airflows were monitored in the culturing of NPK which provides ideal growing conditions for this strain. All this in order to increase biomass production and fatty acids to make viable the production of biodiesel, which is of great interest in the development of sustainable bio – processes, to later be coupled and implemented in the industry.

Key words: microalgae, fatty acids, biodiesel, biomass

Área de conocimiento: Biotecnología

INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento en la demanda de lípidos y ácidos grasos para uso industrial, ha generado la necesidad de encontrar nuevas y mejores fuentes para la obtención de los mismos. Por esto se buscan mecanismos que trabajen de forma eficiente, eliminando los daños ambientales y, a su vez, permitiendo abastecer

satisfactoriamente la demanda de estas materias primas. Se considera que los combustibles provenientes de biomasa de microalga tienen un alto potencial y

pueden verse como una de las alternativas promisorias para el reemplazo del petróleo en el mediano plazo dado su desempeño en motores diésel y la disminución de liberación de CO₂.

Las microalgas son un grupo diverso de microorganismos eucarióticos fotosintéticos que crecen rápidamente debido a su estructura simple. Potencialmente pueden ser empleadas para la producción de biocombustibles (biodiesel, biogás y biohidrógeno) ambientalmente sostenibles y económicamente eficaces.

La obtención de ácidos grasos y lípidos, a partir de la biomasa de la microalga, es un tema que se viene estudiando desde hace mucho tiempo, por ser una alternativa para producir energías más limpias y amigables con el medio ambiente, y reduciendo costos a la hora de su producción. En comparación con otras materias primas, no son fuente de alimento humano, no presentan gran complejidad química en su estructura, lo que hace su modificación y manipulación más sencilla.

El cultivo de las microalgas y sus condiciones, permiten que se produzcan a gran escala y en muy cortos periodos de tiempo. Adema, por ser fotosintéticas, absorben en gran medida el dióxido de carbono presente en la atmosfera. Por lo anterior el semillero de investigación Buitá centra sus esfuerzos en evaluar las mejores condiciones de cultivo, los mejores medios químicos y físicos para la producción de lípidos y ácidos grasos de microalga.

La obtención de biomasa de microalga y su viabilidad desde el punto de vista industrial requiere de conocimiento sobre los factores que permitan disminuir los costos de producción y aumentar la cantidad de biomasa obtenida; dentro de los factores que requieren evaluación se encuentran sustancias que puedan ser empleadas como fuentes de carbono y nitrógeno y que no representen costos excesivos en los procesos de producción.

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un modelo de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* para la producción de biodiesel, el cual permita maximizar su crecimiento y rendimiento en ácidos grasos,

analizando las variables influyentes, factibilidad, y sostenibilidad ambiental y social.

METODOLOGÍA

3.1 Cepa de Microalga, Condiciones y Medio de Cultivo

La cepa de trabajo es la microalga *Chlorella vulgaris*, seleccionada por su alta concentración en clorofila y su gran capacidad de fotosintética. Tiene un contenido de lípidos de 5-58% (porcentaje de biomasa peso seco) dependiendo de las condiciones de cultivo.

El crecimiento de la microalga se llevó a cabo en fotobiorreactores, en donde se monitorean las condiciones de crecimiento, el flujo de aire suministrado se realizó por medio de bombas de acuario JAD con capacidad de 4 L/min, a su vez se utilizó como medio de cultivo el fertilizante agrícola 10-30-10.

Se prepararon medios de cultivo con una concentración de 17 milimolar de fertilizante con agua destilada. Para ello se utilizaron recipientes plásticos con capacidad de 1 L.

La microalga fue seleccionada de cultivos obtenidos en experimentos anteriores a los cuales se le realizaron estudios previos para descartar cualquier tipo de contaminación. Se inocularon 170 mL de microalga en fotobiorreactores de vidrio con capacidad de 1.7 L cada uno, manteniendo una relación de 1:10 volumen/volumen. La relación inicial microalga-agua-medio de cultivo, se estableció teniendo en cuenta que durante la etapa de crecimiento es importante que los microorganismos tengan buena disponibilidad de nutrientes minerales.



1

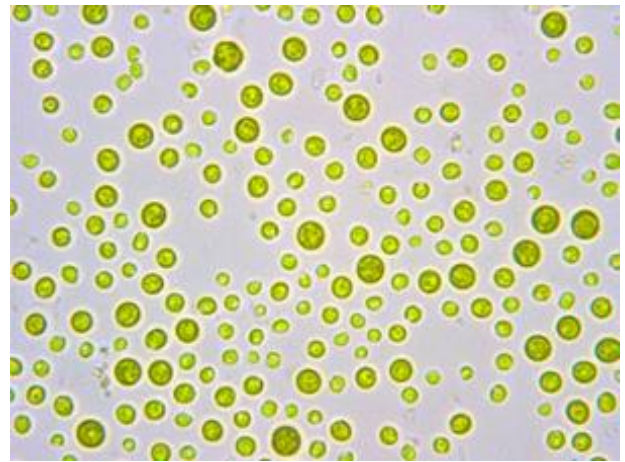
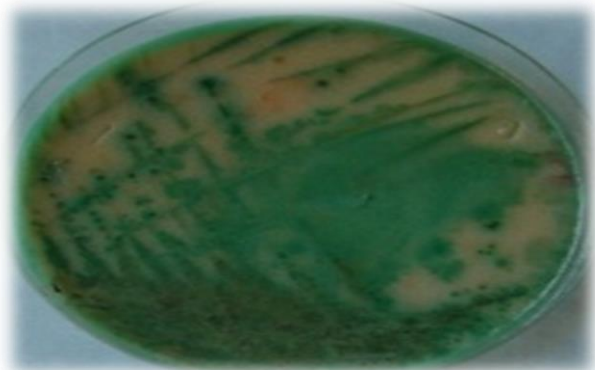


Figura 1. Observación del crecimiento en fotobiorreactores (1), cultivo macroscópico (2) y observación microscópica (3) de *Chlorella vulgaris*

Fuente: Cinbbya

3.2 Selección de Flujos de Aire Suministrado

El flujo de aire suministrado se estableció como parámetro experimental, teniendo en cuenta criterios teóricos y soportados con un proceso previo de pre-experimentación. Para esta investigación se implementaron 5 fotobiorreactores numerados de izquierda a derecha (ver figura 2), en los fotobiorreactores número 1 y 2 se suministró un flujo netamente laminar alrededor de 1 L/min, para el fotobiorreactor número 3 se suministró un flujo de 2.5 L/min, y por último en los fotobiorreactores 4 y 5 se suministró un flujo de aire de 4 L/min en flujo totalmente turbulento.



Figura 2. Observación del flujo de aire en fotobiorreactores

Fuente: Autor

3.3 Crecimiento Microbiano en las Condiciones Establecidas

Una vez seleccionados los diferentes flujos de aire suministrado, se monitoreo la etapa de crecimiento de la microalga por medios cualitativos y cuantitativos como espectrofotometría y cambios de pH.

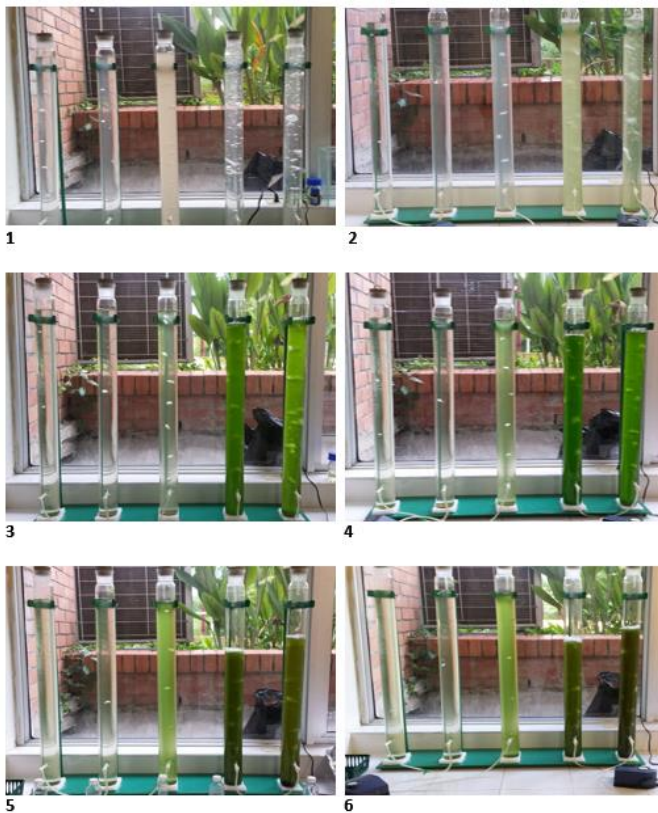


Figura 3. Observación del crecimiento en fotobiorreactores día 1 (1), Observación del crecimiento en fotobiorreactores día 2 (2), Observación del crecimiento en fotobiorreactores semana 3 (3), Observación del crecimiento en fotobiorreactores semana 5 (4), Observación del crecimiento en fotobiorreactores semana 6 (5), Observación del crecimiento en fotobiorreactores semana 8 (6) de *Chlorella vulgaris*

Fuente: Autor

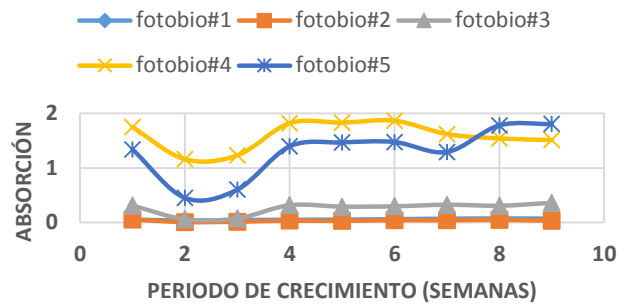
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Crecimiento Inicial de la Microalga

La verificación del crecimiento del cultivo y la producción de biomasa en los diferentes fotobiorreactores se realizó cualitativamente por cambios físicos como el color y el volumen del cultivo; así mismo se realizó seguimiento cuantitativo a través de las mediciones de pH y pruebas de absorción por espectrofotometría donde se comprobó el aumento diario de las células en los diferentes fotobiorreactores.

Se observan las curvas de crecimiento de los 5 fotobiorreactores (ver grafica 1), quedando en evidencia que los flujos de 4 L/min favorecen al rápido crecimiento en un periodo de tres semanas, el fotobiorreactor número 3 al cual se le proporciono un flujo de 2.5 L/min muestra un suave crecimiento a partir de la tercera semana sin cambios significativos en el volumen de cultivo, los fotobiorreactores 1 y 2 con flujo de aire suministrado de 1 L/min no muestran cambios en el crecimiento microbiano en el periodo de tiempo estudiado.

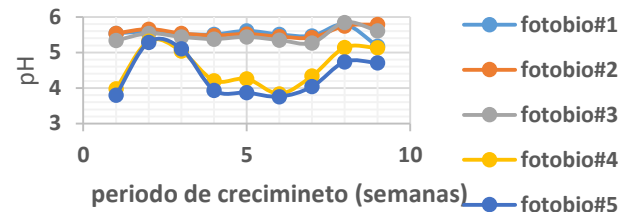
CURVA DE CRECIMIENTO



Grafica 1. Curvas de crecimiento de microalga con cambios de flujo de aire (Fuente: Datos obtenidos por el autor).

En la gráfica 2 se observa una relación inversamente proporcional entre el crecimiento de la microalga y la caída del pH, parámetro que sirve como medidor del crecimiento microbiano.

Cambios de pH en etapa de crecimiento



Grafica 2. Curvas de pH en etapa de crecimiento del alga *Chlorella Vulgaris*

Fuente: Datos obtenidos por el autor.

CONCLUSIONES

Los flujos de aire suministrados para los fotobiorreactores 1 y 2 no mostraron resultados favorables para el crecimiento de la microalga, en el caso del fotobiorreactor número 3, se muestra un crecimiento lento sin cambios significativos en el volumen de cultivo y manteniendo el pH siempre entre 5-6.

Las condiciones de cultivo seleccionadas en los fotobiorreactores 4 y 5: flujo de aire (4 L/min) temperatura (23°C + 10°C), pH (3-5), para el crecimiento y posterior escalamiento de la microalga, demostraron ser las adecuadas acumulación acelerada de biomasa y ácidos grasos, debido a que por medios cuantitativos, como las pruebas de absorción por espectrofotometría, se demostró el favorable crecimiento celular de microalga.

Del mismo modo se confirmó por medios cualitativos, como el cambio de coloración (a verde oscuro), la disminución de

volumen inicial, la clara adaptación del microalga en el medio de cultivo.

RECOMENDACIONES

Para un mejor aprovechamiento de las condiciones de cultivo se aconseja mantener el flujo de aire de 4L/min hasta la 4 semana, y de esta forma evitar la reducción de volumen de agua por exceso de aireación, la cual limita el medio de cultivo y a su vez el crecimiento de la microalga, desde la cuarta semana debe implementarse un flujo de aire de 2.5 L/min para aumentar y favorecer el crecimiento si tener cambios bruscos de pH.

IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Nombre del Semillero	Centro de Investigación en Biotecnología, Bioética y Ambiente CINBBYA
Tutor del Proyecto	Dra. Graciela Chálela Álvarez
Grupo de Investigación	Biotecnología y Ambiente
Línea de Investigación	Biotecnología
Fecha de Presentación	Abril 21 de 2016

REFERENCIAS

Chisti, Y., Biodiesel From microalgae, *Biotechnology Advances*, 2007. 25: P. 294- 306

Liam Brennan, P.O., *Biofuels From Microalgae- A Review Of Technologies For Production, Processing, And Extractions Of Biofuels And Co-Products*. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 2009 Accepted.

Sarmidi Amin. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*. 2009; 50: 1834-1887.

Woon Wallace, Fong Leung. *Centrifugal separations in biotechnology*. Elsevier. 2007.

Murphy Thomas, Berberoglu Halil. Effect of algae pigmentation on photobioreactor productivity and scale-up: A light transfer perspective. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. 2011; 2-10.

Cardozo, K.H.M., Et Al., *Metabolites From Algae With Economical Impact. Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 146(1-2): P. 60-78.

Frater, D., Kaloustian, J., Teixeira, C., Garcia, M, *Biodiesel A Partir De Aceite De Algas*, In Conferencia Monográfica Internacional. 23 De Enero Del 2008. 2008, Global Energy.

Rojan P. John, G.S.A., K. Madhavan Nampoothiri, Ashok Pandey, *Micro And Macroalgal Biomass: A Renewable Source For Bioethanol*. *Bioresource Technology*, 2011. 102: P. 186-193.

Liang, Y., N. Sarkany, And Y. Cui, *Biomass And Lipid Productivities Of Chlorella Vulgaris Under Autotrophic, Heterotrophic And Mixotrophic Growth Conditions*. *Biotechnology Letters*, 2009. 31(7): P. 1043-1049

Li, Y., Et Al., *Effects Of Nitrogen Sources On Cell Growth And Lipid Accumulation Of Green Alga Neochloris Oleoabundans*. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 2008. 81(4): P. 629-636.

Chisti, Y., *Biodiesel From microalgae*, *Biotechnology Advances*, 2007. 25: P. 294- 306

Liam Brennan, P.O., *Biofuels From Microalgae- A Review Of Technologies For Production, Processing, And Extractions Of Biofuels And Co-Products*. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 2009 Accepted.

Sarmidi Amin. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*. 2009; 50: 1834-1887.

Woon Wallace, Fong Leung. *Centrifugal separations in biotechnology*. Elsevier. 2007.

Murphy Thomas, Berberoglu Halil. Effect of algae pigmentation on photobioreactor productivity and scale-up: A light transfer perspective. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. 2011; 2-10