

Evaluación de la incidencia de la temperatura en la producción de lípidos obtenidos a partir de biomasa microalgal a escala laboratorio

págs. 31-44

Grupo de investigación en Biotecnología
Línea de investigación: investigación en biotecnología
Diego Rubio• Camilo Alcalá, Ingrid Guauque••

Recibido: 4 de septiembre de 2013 Aprobado: 16 de octubre de 2013

RESUMEN

El proyecto tiene como objetivo evaluar el proceso de producción de biomasa microalgal de la microalga *Chlorella Vulgaris* en función de la variable temperatura, con el fin de determinar la incidencia de este parámetro en la producción de lípidos. El análisis de obtención de lípidos se realizará por medio de los protocolos de extracción establecidos. El proceso consiste en la inoculación de la microalga *Chlorella Vulgaris* en un medio de cultivo seleccionando las condiciones apropiadas para el correcto funcionamiento del mismo, manejando variables como temperatura, aireación, fotoperiodo y luz con el fin de no afectar su crecimiento. La implementación de un fotobiorreactor a escala de laboratorio también permitirá el análisis de factores como la productividad volumétrica, la eficiencia y la tasa de crecimiento, aspectos que varían en función de la temperatura; para cumplir las condiciones de proceso será utilizado un fotobiorreactor con un sistema de burbujeo.

La metodología que se trabaja se divide en tres etapas; la etapa inicial donde se realiza la adquisición de la cepa de trabajo, se seleccionarán los paráme-

tros adecuados de crecimiento para el desarrollo de la microalga; en la etapa de desarrollo se procede al desarrollo experimental a partir de las condiciones establecidas en la etapa anterior empleando volúmenes de reacción correspondientes a 10 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL y 3 L para posteriormente llevar a cabo la extracción de los lípidos contenidos en la biomasa. Luego se procede a cromatografía de gases para realizar la cuantificación de lípidos y visualización de los perfiles lipídicos esperados. Finalmente en la etapa de análisis se realiza la interpretación y análisis de los resultados dados en cada fase del proceso para determinar según la temperatura, su comportamiento al momento del crecimiento. Esta evaluación se realiza teniendo en cuenta la tasa de crecimiento calculada para cada perfil con respecto al efecto de las temperaturas usadas determinando la incidencia de la temperatura en la producción de lípidos a partir de biomasa microalgal.

Palabras clave: *Chlorella Vulgaris*, Biomasa, Fotobiorreactor, Extracción, Lípidos.

• Biólogo, MsC. Biología, docente investigador Universidad de América, línea de investigación en Biotecnología.

•• Estudiantes coinvestigadores del programa de Ingeniería Química.

ABSTRACT

The Project has for objective to evaluate the process of algal biomass production, relative to the *Chlorella Vulgaris* micro alga, according to the temperature variable, in order to determine the effect of this parameter in the lipids production. The lipids obtention analysis will be made through the established extraction protocols. The process consists in the inoculation of the micro alga *Chlorella Vulgaris* in an environment crop, selecting the appropriate conditions for its proper work, taking care about the variables like temperature, ventilation, photoperiod, and light, in order not to affect its development. The implementation of a photo-bio-reactor in a lab scale will also permit the analysis of factors as volumetric productivity, efficiency, and the development measure, all of them are aspects that vary according to the temperature. In order to accomplish the process conditions, it will be used a Photo-bio-reactor whit a bubbling system. The used methodology is divided in three moments: the first is where it is made the acquisition of the stump for the work, then they will be selected the proper parameters for the micro-alga development. In the second moment, the development moment, it proceeds to the experimental development from the established conditions in the previous moment, using reaction volumes belonging to 10 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL y 3 L, and subsequently carry out the extraction of lipids contained in the biomass. After this, it proceeds a chromatography of gases to make the quantification of lipids and the visualization of the wanted lipid profiles.

Finally, in the third moment of analysis it is made the interpretation and analysis of the results obtained in every moment for determine, according the temperature, its behavior in the development moment. This evaluation is made having account of the development moment calculated for every profile in respect to the effect of the temperature in the lipid production from the micro algal biomass.

Keywords: *Chlorella Vulgaris*, Biomass, Photo-bio-reactor, Extraction, Lipid.

1. Introducción

El presente trabajo de grado, pertenece a la línea de investigación en biotecnología dedicado al estudio de las energías alternativas como fuente sostenible para el mundo, enfocado en la obtención de biomasa microalgal a escala laboratorio. La investigación por estas temáticas ofrece una gran oportunidad para la creación de productos a partir de microalgas para desarrollar nuevas rutas tecnológicas competitivas, que son consideradas en la actualidad como una alternativa importante en cuanto al uso de materias primas para producción de alimentos, combustibles, energía y derivados.

Uno de los objetivos del grupo de investigación BIOTECFUA consiste en proponer soluciones alternas para el futuro de la biomasa microalgal como fuente natural, sostenible e inagotable de productos obtenidos a partir de triglicéridos, que juegan un papel importante en la actualidad, puesto que reduce en gran proporción los problemas más relevantes de las energías no renovables, disminuye la preocupación por la competencia de fuentes de alimentos, reduce los requerimientos de tierras cultivables, asegura un alto rendimiento en la producción de biocombustibles de tercera generación y de la mano con los procesos biotecnológicos contribuye al desarrollo en la producción de otros procesos de interés industrial como es la industria alimentaria, industria de cosméticos e industria de Biolubricantes. El proyecto presenta como objetivo principal evaluar la incidencia de la temperatura en la producción de lípidos obtenidos a partir de biomasa de la microalga *Chlorella Vulgaris* en un fotobiorreactor a escala laboratorio, para así determinar la producción de biomasa microalgal en un fotobiorreactor. Establecer una comparación de los perfiles lipídicos a las temperaturas de producción de biomasa microalgal en el fotobiorreactor. El desarrollo comparativo se realiza para tres rangos de temperatura determinadas, se evalúa su comportamiento en función a la acumulación, tipo y contenido de lípidos y se proporcionan datos sobre cada clase de lípidos y la composición de ácidos grasos

correspondiente a cada rango de temperatura para microalga *Chlorella Vulgaris* complementada con las posibles aplicaciones y aportes a nivel industrial de acuerdo al campo de interés.

2. Materiales y métodos

2.1. Pre - experimentación

Se realiza un proceso detallado en la elección del sistema de temperatura, a fin de lograr el adecuado funcionamiento del medio de cultivo y una respuesta confiable basada en la experimentación; por lo cual se procede a realizar una serie de pruebas con diferentes sistemas de fuente de calor para lograr el incremento de temperatura, donde se evalúa la fuente de calor y el modo de calentamiento, dos características importantes antes de iniciar un proceso de control.

2.2. Condiciones de cultivo

Obteniendo un control básico para manejar la temperatura se procede a su acondicionamiento basado en las especificaciones aptas para su crecimiento. Se utiliza tres rangos de temperatura con el fin de evaluar la incidencia que tiene este parámetro en función a la producción de lípidos en cada tratamiento; para el tratamiento 1 se maneja el rango de (21°C – 23°C), tratamiento 2: (24°C – 26°C), Tratamiento 3: (27°C – 29°C). Estas temperaturas son controladas por medio de un microprocesador que permite mantener los rangos deseados.

El medio de cultivo inducido fue fertilizante líquido "Foliagro" con una concentración de 2ml/Lt de agua destilada, la agitación se realiza a través de una bomba que permite homogenizar el medio con la microalga. En el fotoperiodo se utilizan una relación de 12 horas oscuridad y 12 horas luz, en cuanto a la intensidad lumínica se encuentran lámparas fluorescentes de color rojo con el fin de estar en el espectro de crecimiento dado en los 700nm; finalmente el pH se encuentra en un rango (6.6 – 6.9).

2.3. Crecimiento en las condiciones de cultivo

El inoculo se monta en 9 tubos de ensayo con una capacidad de 10 ml, siendo 3 réplicas por cada tratamiento; el sistema de crecimiento se maneja por medio de escalamientos, donde se aumenta el volumen en el siguiente orden: 100ml - 500ml – 1000ml y finalmente el paso al fotobiorreactor con una capacidad de 3Lts. En cada etapa de crecimiento la microalga necesita de 15 días para sus procesos de desarrollo en función a las condiciones iniciales. La relación utilizada para el proceso de crecimiento en los escalamientos es 1:10 donde por cada 10 unidades de medio se agrega 1 de cultivo.

2.4. Construcción del FBR

Las microalgas necesitan parámetros específicos de crecimiento, por tanto se realiza una evaluación de las condiciones de operación; para la construcción del fotobiorreactor a escala laboratorio. Se inicia con la realización de un sistema cerrado por las ventajas que ofrece en su productividad, en cuanto al modo de operación, se utiliza un sistema por lotes o Batch por la facilidad de uso, limpieza y adicionalmente por su construcción. Se Construye un FBR vertical de Columna de burbujeo el cual principalmente realiza una inyección de aire en la parte inferior del recipiente, donde las burbujas presentes ascienden, generando una homogeneización del medio de cultivo con las microalgas presentes.

2.4.1. Agitación por aireación

La diferencia que se encuentra en los parámetros de cultivo para los escalamientos y el FBR es el sistema de agitación y el diseño de construcción. Las columnas de burbujeo manejan un dimensionamiento característico dado su forma cilíndrica, en donde la inyección de aire entra por la parte inferior, generando una homogeneización en todo el sistema mientras que las burbujas ascienden por todo el recipiente.

2.4.2. Dimensionamiento FBR

Concretando el material de construcción se dispone a utilizar un cilindro apropiado para el crecimiento, frasco que dispone con un diámetro de 14 cm, y una altura de 26 cm, sin embargo la altura real de operación es de 21 cm, esto se debe a la forma de la curvatura final, siendo descartada como volumen de crecimiento.

2.5. Tasa de crecimiento

La curva de crecimiento muestra cómo es el desarrollo de las microalgas en un tiempo determinado sin embargo con fines de comparación cuantitativos no expresa ningún valor concreto, por tanto se realiza la tasa de duplicación, se halla experimentalmente; conociendo las concentraciones iniciales y finales en un tiempo determinado así facilitando la eficiencia de crecimiento celular de cada tratamiento.

Ecuación 1. Densidad celular final

$$N_t = N_0 * 2^{mt}$$

Dónde:

N_0 = Densidad celular inicial

N_t = Densidad celular final

t = Tiempo de cultivo en (días)

μ (k) = Tasa de duplicación celular

Despejando μ :

$$\mu = \left(\frac{(\text{Log}_2(N_T)) - (\text{Log}_2(N_0))}{t} \right)$$

Ecuación 2. Tasa de duplicación

$$Td = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Figura 1. - Escalamiento a 100 mL, 500 mL y 1000 mL.

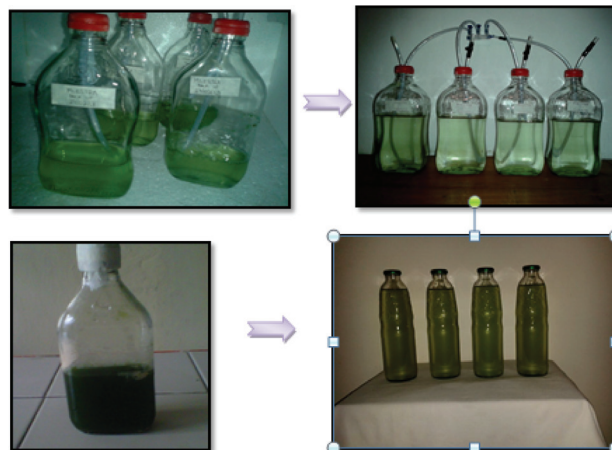
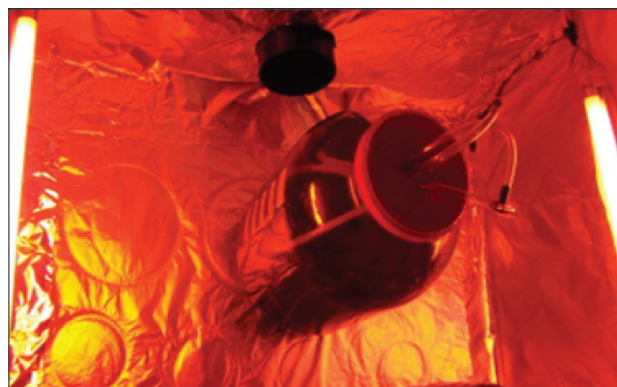


Figura 2. - Crecimiento en el fotobiorreactor



2.6. Recuperación y Deshidratación de Biomasa

Para la concentración de biomasa se realiza inicialmente un proceso de sedimentación para obtener una concentración mayor de cultivo microalgal en un menor volumen; después se pasa al proceso de centrifugación el cual recupera del 80 al 90%, lo cual muestra que es una buena técnica de recuperación de biomasa, aun siendo un método costoso y prolongado, para grandes cantidades. De los tres litros de la biomasa microalgal en el FBR para cada temperatura se destina un volumen de 1 L para realizar pruebas de rendimiento volumétrico. Se utiliza una velocidad de 3800 rpm con tiempo de 10 min; capacidad de 4 tubos de 14 mL; Después

del tiempo de operación se separa las dos fases, se retiran el sobrenadante con una pipeta de 25 mL. Posteriormente se realiza una liofilización como método de deshidratación para eliminar toda el agua presente, ayudando a prevenir la descomposición.

2.7. Rendimiento volumétrico y eficiencia en el FBR

En la cuantificación de la producción de biomasa para cada tratamiento se realiza el cálculo del rendimiento volumétrico donde se necesita la masa de biomasa húmeda y seca respectivamente; obteniendo posteriormente el valor de la productividad experimental, este valor es evaluado con la eficiencia, donde se realiza la comparación con una productividad dada por la referencia bibliográfica y la encontrada experimentalmente.

Ecuación 3 - Eficiencia del Fotobiorreactor en la especie *Chlorella Vulgaris*

$$Ef.(%) = \frac{\text{Productividad Experimental}}{\text{Promedio Productividad Teórica}} * 100$$

2.8. Extracción de Lípidos

Se recolecta para cada tratamiento toda la biomasa liofilizada con el fin de aprovechar toda la materia seca que se obtiene para la extracción por el método de Folch, donde se extrae una alícuota de los extracto lipídico para el proceso de cromatografía de gases.

2.9. Perfiles de ácidos grasos

Para el proceso de identificación y evaluación de ácidos grasos presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*; se utiliza el método de cromatografía de gases, el cual permite realizar una comparación de los compuestos presentes en el aceite; donde se determina como influye los cambios de temperatura en la acumulación de lípidos y el potencial que puede generar.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Sistema de temperatura

A partir la media calculada y del concepto de la inercia térmica se determina el primer rango de temperatura; este rango tiene como mediana la media general (25,5°C) y sus límites determinados por la inercia térmica, la cual es de 1°C para cada extremo. Siendo así el primer rango de temperatura seleccionado el intervalo de 24°C a 26°C, esto con el objetivo de hacer un mejor control a la temperatura debido a las condiciones experimentales y no de 24,5°C a 26,5°C.

Del primer rango de temperatura y del concepto de la inercia térmica, se determinan los otros dos rangos, que se distanciaron en un grado centígrado, esta temperatura corresponde a 23°C como límite superior del rango inferior y 27°C como límite inferior del rango superior. Así el rango de temperatura inferior queda desde 21°C a 23°C y el rango de temperatura superior tienen como límites 27°C a 29°C.

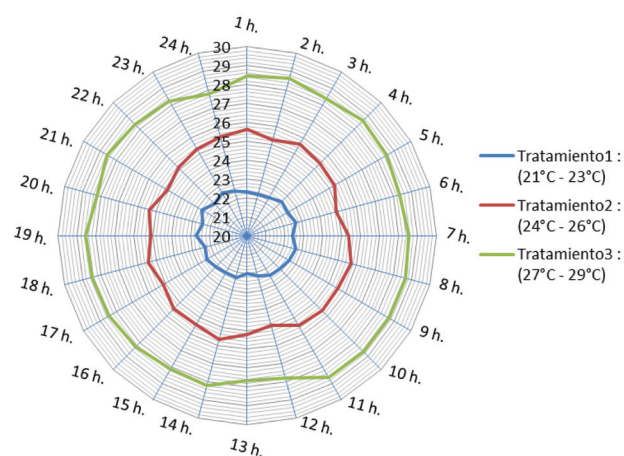
Se evidencia en la siguiente grafica que a pesar de las fluctuaciones que se presentan se encuentra entre los rangos de operación deseados. El control de temperatura se basa específicamente en la utilización de un micro controlador el cual, hace el proceso on/off, prendiendo y apagando el sistema cuando sea necesario para mantener la temperatura que requiere la microalga. Los tres rangos de temperatura de operación, en el transcurso del escalamiento no generan alteraciones gracias a la estabilidad del sistema.

3.2. Diseño y construcción de FBR

El FBR se construye en un sistema cerrado con el fin de obtener controles aproximados de los parámetros de crecimiento de la microalga, se acopla un tipo de fotobiorreactor de columna de burbujeo; se utiliza un distribuidor estático de gas, en forma de anillo para una homogeneización del medio, este flujo es dado por una bomba magnética, conectada a un regulador de flujo manual que permite de manera cualitativa adi-

cionar cierta cantidad de aire al medio que fluye por los conectores, pasan al anillo el cual tiene distribuido 16 orificios de 0,001m aproximadamente de manera simétrica así, repartir de manera uniforme oxígeno al medio; adicionalmente el tamaño de orificio permite que el tamaño de burbuja sea menor; dando una mejor difusión de la burbuja en la microalga.

Gráfica 1. Seguimiento de temperatura.



Al FBR de columna de burbujeo se le acoplan los demás parámetros que se utilizan en el escalamiento; la luz es dada por un bombillo de 6 w otro de 8 w, la temperatura se maneja basándose en un proceso de calefacción donde se transfiere el calor del dispositivo de calentamiento al medio por medio de un ventilador el cual distribuye el aire que posteriormente cubre toda la incubadora incrementando la temperaturas, este sistema es automatizado por medio de un micro controlador que actúa por una programación basada en decisiones, regulando los rangos de temperatura seleccionados inicialmente. El fotoperiodo también es incluido en la programación con un ciclo L/O (12/12) horas; contribuyendo con los procesos metabólicos de la microalga.

En función a la relación de S/V dada por la ecuación:

$$\text{Relación} \frac{S}{V} = \frac{\text{Área}}{\text{Volúmen}}$$

Se observa que se encuentra en un valor de $28,57 \text{ m}^{-1}$ de acuerdo con el estudio realizado por Mata, Martins y Caetanoy (2010), la relación S/V es alta, entre los 20 y 200 m^{-1} , por lo tanto, el fotobiorreactor de columna de burbujeo construido posee una alta relación S/V; lo que indica que el FBR maneja un acceso adecuado de la luz, atribuyendo un buen desarrollo fotosintético de las microalgas.

3.2.1. Simulación del control de la Temperatura para el FBR

El proceso de simulación para el control de temperatura se realiza con el programa PROTEUS, el cual permite crear un proceso de control para ver el funcionamiento que efectúa el PIC 16F873A, las acciones y las decisiones que toma en función a los rangos de temperatura que se plantean; complementado con cada componente que permite el funcionamiento correcto de todo el circuito.

3.3. Efecto de la temperatura en el crecimiento celular

Para analizar mejor el proceso de crecimiento en función a los rangos de temperatura, se procede a realizar un promedio de las curvas de crecimiento por cada tratamiento y se visualiza el comportamiento aproximado.

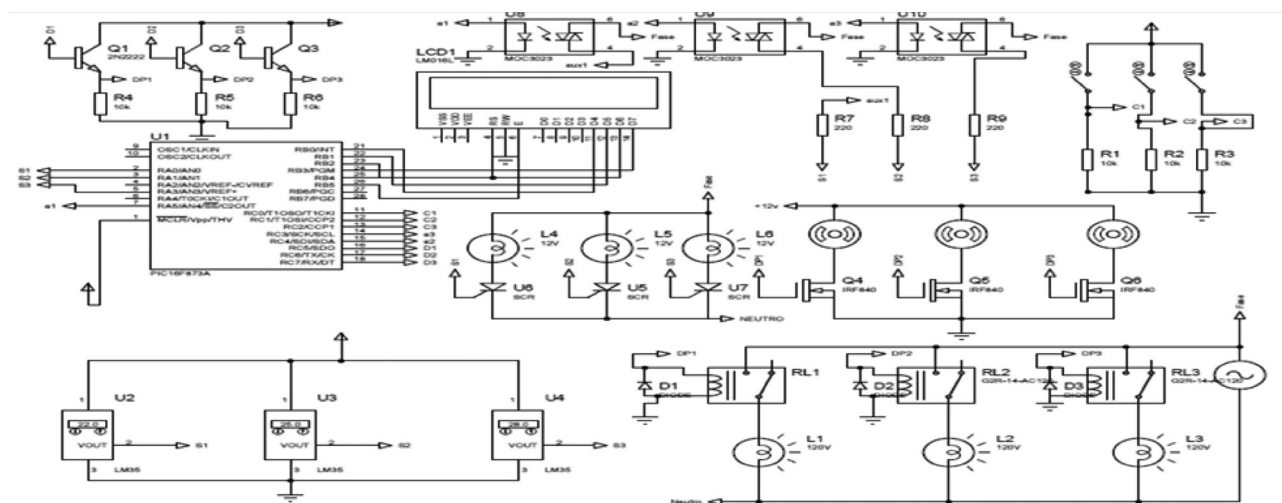
3.3.1. Tasa de duplicación

El rango de temperatura ($24^{\circ}\text{C} - 26^{\circ}\text{C}$), comenzó con la mayor concentración inicial de microorganismos, se adaptó fácilmente a las condiciones de operación, por tanto su crecimiento exponencial fue más amplio en función a los demás tratamientos; al compararlo con el rango de temperatura ($26^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$), maneja una mayor concentración final, analizando que temperaturas cercanas a los 25°C para la microalga *Chlorella Vulgaris* manejan un mejor crecimiento a nivel general. Completando la comparación del rango ($21^{\circ}\text{C} - 23^{\circ}\text{C}$) muestra un crecimiento paulatino; la temperatura no es suficiente para suplir sus procesos metabólicos por tanto el crecimiento se limita.

Tabla 1. Características Técnicas del FBR

Material construcción	
Vidrio	Volumen en de operación (0,003 m)
Sistema temperatura	
Sistema calefacción	Micro controlador (sensor LM35), bombillos (60 – 100 w), ventilador 12V
Sistema agitación	
Bomba	110 v/60 Hz – (2 salidas) – presión > 0,01 MPA
Distribuidor estático de gas	Forma de anillo, mangueras plástico flexible, T de 3 y 4 salidas
Regulador de flujo	Rosca manual plástico
Remoción bases	
Desgasificador	Manguera orificio de 0,5 cm
Fotoperiodo e intensidad lumínica	
Microcontrolador	Lámparas fluorescente color ojo T4 de 6 y T5 de 8 W, relación L/O (12:12)

Figura 3. Diagrama de Simulación para control de temperatura y fotoperiodo



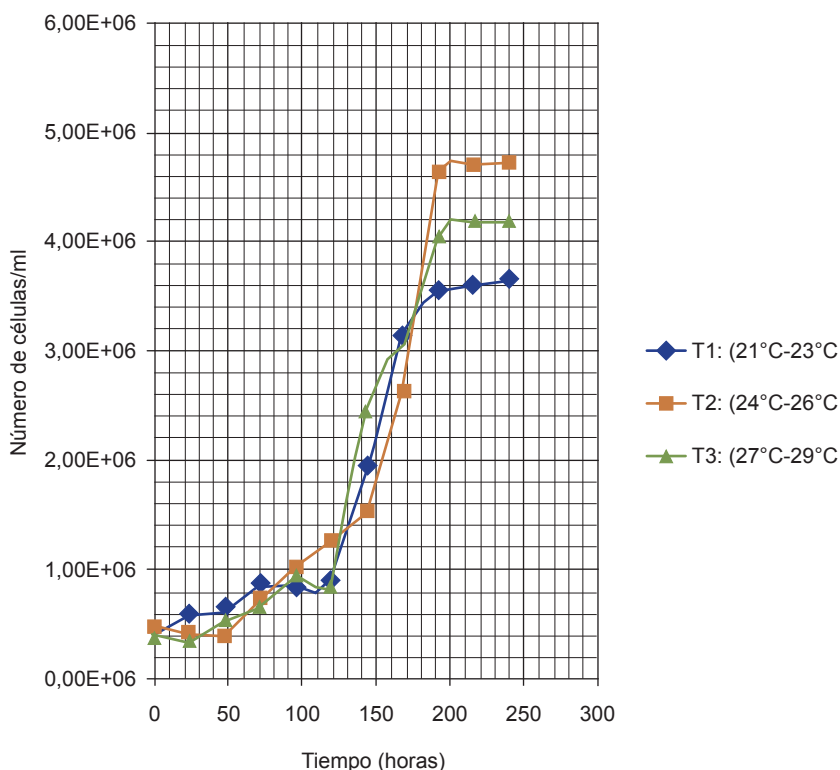
La tasa de crecimiento más alta se obtiene en el tratamiento dos como se observa en la tabla 2; esta reporta mayor cantidad de microorganismos duplicados y mantenidos durante los

9 días de crecimiento, por tanto también teniendo la mejor tasa de duplicación con un valor de 1,83 días; en comparación a los demás tratamientos.

Tabla 2. Tasa de crecimiento celular para tratamientos

	T_1	T_2	T_3
No (Número de células (ml))	4,07E+5	4,47E+0,5	4,23E+05
N (Número de células (ml))	3,61E+06	4,71E+06	4,18E+06
T (días)	9		
K (días ⁻¹)	0,35	0,38	0,37
Td (días)	1,98	1,83	1,89

Gráfica 3. Curvas de crecimiento de los tres tratamientos



3.4. Efecto de la temperatura en la producción de biomasa

Para determinar la producción de biomasa se procede a evaluar el efecto de la temperatura en función a los siguientes conceptos: Productividad volumétrica ($g \cdot L^{-1} \cdot día^{-1}$) y la Eficiencia.

Cada FBR dispone de tres litros de la biomasa microalgal los cuales pasan por un proceso de recuperación por centrifugación; para cada tratamiento se destina un litro para realizar pruebas de rendimiento volumétrico; En la tabla 3 se presentan los resultados de la eficiencia.

Tabla 3. Productividad volumétrica y Eficiencia en el FBR

	T_1	T_2	T_3
Masa seco muestra em Crisol (g)	7,46	7,86	7,67
(Gramos biomasa/9 días) * L)	0,6	1	0,8
(Gramos Biomasa/día * L)	0,0666	0,1111	0,0888
Eficiencia (%)	51,28%	85,47%	68,36%

Se puede evidenciar que la eficiencia es buena para los tratamientos dos y tres; una característica que influye es la relación S/V, ya que les permitió obtener mayor cantidad de luz, por tanto se da un aumento del crecimiento celular y biomasa; según la evaluación de rendimien-

to se afirma que la mejor productividad y por consiguiente mejor eficiencia se encuentra en el tratamiento 2 con un porcentaje de 85,47%, por tanto entre temperaturas de 24°C a 26°C se encuentra el mejor crecimiento celular y producción de biomasa.

3.5. Efecto de la temperatura en los perfiles lípidos por cromatografía de gases

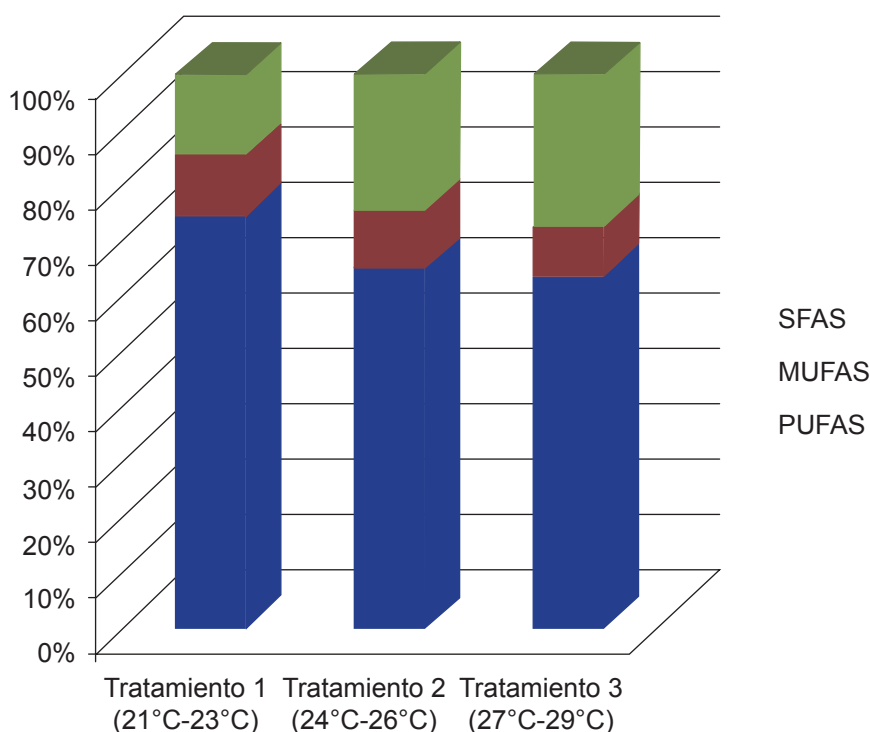
3.5.1. Composición Ácidos Grasos.

Al realizar la comparación del porcentaje de lípidos en los tres tratamientos se observa un comportamiento donde la temperatura influye en la composición de ácidos grasos; la composición de los ácidos grasos de los lípidos acumulados presenta que cuando aumenta la temperatura, se produce una menor acumulación de PUFAS

presentes y un aumento en la presencia de SFAs; en cuanto al porcentaje de MUFAs, la variable temperatura no afecta su composición en proporciones significativas.

En el tratamiento uno (rango de temperatura 21°C – 23°C) muestra un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs), mientras que los tratamientos dos (rango de temperatura 24°C – 26°C) y tres (rango de temperatura 27°C – 29°C) presentan un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), grafica 4.

Gráfica 4. Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, monoinsaturados y saturados en los tres tratamientos.



Los resultados experimentales se asimilan a los reportados para las microalgas *Rhodomonas sp.*, *Cryptomonas sp.* y *Prymnesiophyte*, analizados por RENAUD et al. (2002), donde el comportamiento tiene la misma variabilidad con respecto a la temperatura. Sin embargo no se

puede estandarizar ya que no todas las especies, tienen algún efecto significativo en el cambio de composiciones por las variaciones de la temperatura, donde se encuentran la especie *Isochrysis sp.* Análisis realizado por RENAUD et al. (2002).

El estudio que se realiza para la especie microalga *Chlorella Vulgaris* muestra que un aumento en la temperatura afecta negativamente la producción de PUFAs, utilizadas comúnmente en la industria alimentaria, por tanto cuando se requiera una acumulación de PUFAs lo más recomendable es utilizar temperaturas inferiores a 25°C. En cuanto a la acumulación de SFAs dando la misma relación genera un aumento en la producción de ácidos grasos saturados.

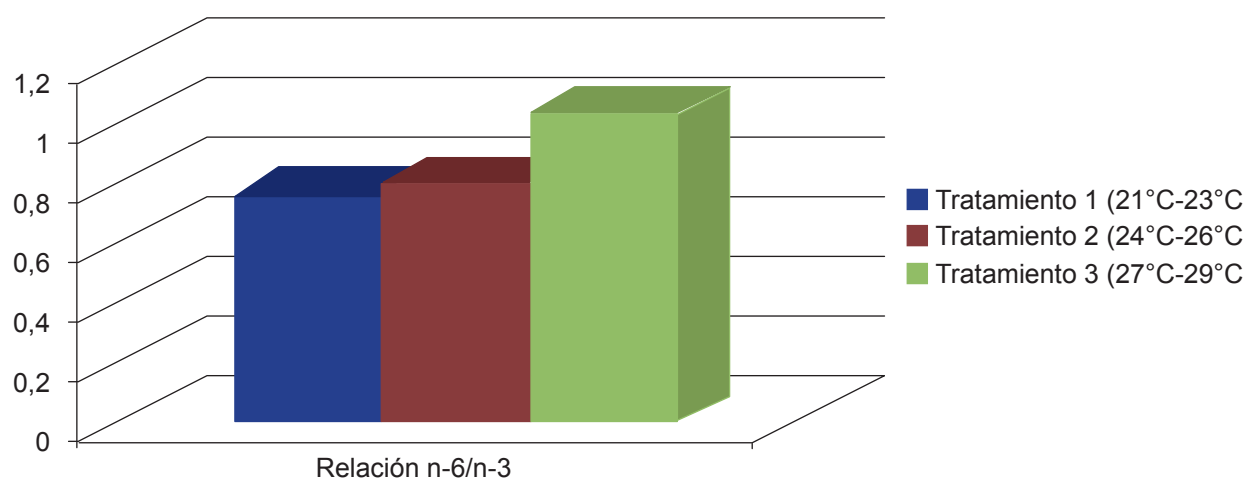
Adicionalmente según HERNANDEZ et al. (2009) "La temperatura, por su parte, afecta notablemente el perfil lipídico de las microalgas, de manera tal que a bajas temperaturas incrementa el grado de instauración", comprobando que la variabilidad para la especie *Chlorella Vulgaris* adopta este comportamiento para la ob-

tención de los ácidos grasos, donde se muestra un aumento de los PUFAs presentes con la disminución de la temperatura.

3.5.2. Relación Omega 3 y 6

En cuanto a la proporción de omega 3 y 6 en cada tratamiento, se deriva un comportamiento donde a mayor temperatura hay menor cantidad de omega 3, por tanto, el tratamiento 1 es más adecuado para la producción de aceites esenciales que no metaboliza el ser humano como es el ácido α -linolénico, sin embargo las diferencias no son significativas por tanto la microalga *Chlorella Vulgaris* para los tres tratamientos son aptas para el consumo humano generando beneficios en la salud y aportando nutrientes que permiten el desarrollo adecuado en su metabolismo.

Gráfica 5. Relación de Omega 3 y 6 en cada tratamiento.



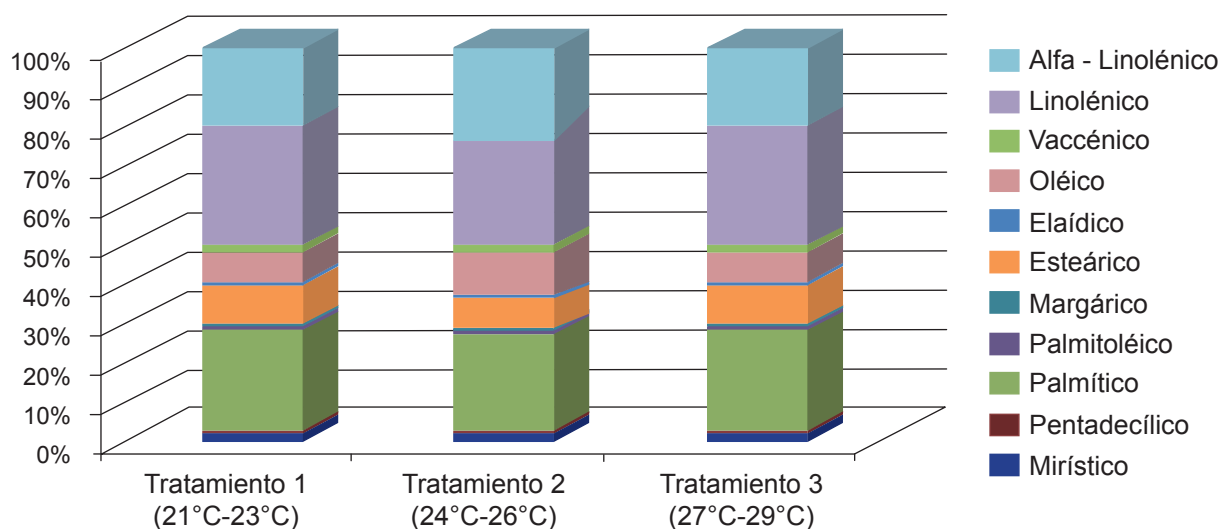
3.5.3. Potencial industrial de los ácidos grasos

La microalga *Chlorella vulgaris*, posee de acuerdo a su contenido en ácidos grasos ciertas aplicaciones y enfoques dirigidos a la industria. La productividad de compuestos químicos de interés industrial por parte de las microalgas para alimentación animal, incluyendo acuicultura, alimentación humana como nutraceuticos, entre otros.

3.5.3.1. Industria alimentaria

Los ácidos grasos presentes en la producción de alimentos, como los ácidos grasos esenciales, son aquellos ácidos grasos que el organismo no puede sintetizar, por lo que deben obtenerse por medio de la dieta. Se trata de ácidos grasos poliinsaturados como los omega-6 (ω -6), donde se encuentran el ácido linolénico, que tienen un alto contenido en los tratamientos uno (30,41) y tres (30,41) y el ácido γ linolénico

Gráfica 6. Perfil de ácidos grasos para los tres tratamientos



un alto contenido en el tratamiento dos (23,57). Este alto contenido de ácidos grasos esenciales también es aplicable en la alimentación animal, específicamente a la acuicultura.

3.5.3.2. Industria cosmética

La industria de los cosméticos y de belleza; jabones, champú, cremas, cosméticos y productos para los cuidados de la piel son ricos en ácidos grasos esenciales, Omega 3, 6 y 9 presentes en los tres tratamientos con mayor contenido en el tratamiento dos para fuentes

de omega 3 y en el tratamiento uno y tres para el omega 6.

3.5.3.3. Industria de Biolubricantes

Los biolubricantes se aplican a todos los lubricantes que sean tanto de rápida biodegradabilidad como no tóxicos para el entorno humano y acuático, que puede ser de base vegetal o basada en ésteres sintéticos. Para la producción de biodiesel se emplean en su mayoría cerca de 14 diferentes tipos de ácidos grasos, los cuales son transformados a ésteres de metilo (FAME).

Figura 4. Ácidos grasos presentes en el biodiesel.

Ácidos grasos	Carbonos y dobles enlaces	Estructura química (= denota los dobles enlaces)
Caprílico	C ₈	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH
Cáprico	C ₁₀	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH
Láurico	C ₁₂	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
Mirístico	C ₁₄	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
Palmítico	C _{16:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
Palmitoléico	C _{18:0}	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Esteárico	C _{18:1}	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
Oléico	C _{18:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Linoléico	C _{18:2}	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH

Ácidos grasos	Carbonos y dobles enlaces	Estructura química (= denota los dobles enlaces)
Linolénico	C _{18:3}	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Aracídico	C _{20:0}	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH
Eicosenóico	C _{20:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH
Beénico	C _{22:0}	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH
Eurícico	C _{22:1}	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH

Con base a la figura anterior se evalúan los tres tratamientos a las diferentes temperaturas y se concluye que presentan un perfil lipídico apto de ácidos grasos saturados para su aplicación; los tres tratamientos presentan un alto contenido en ácido palmítico, (25,67), (24,75) y (25,67); ácido Linolénico, (30,41), (26,56) y (30,41); ácido α -Linolénico, (19,62), (23,57) y (19,62) respectivamente.

Sin embargo, en los tres tratamientos la fracción lipídica de ácido linolénico se hace mayor, por lo tanto, el aceite obtenido a partir de *Chlorella vulgaris* requiere de un tratamiento adicional, bien sea una hidrogenación catalítica o un mezclado con un biodiesel más rico en ácidos grasos saturados; con el fin de cumplir con las especificaciones de biodiesel de la norma europea EN 14214 (2003).

4. Conclusiones

Las condiciones de cultivo establecidas a los tres rangos de temperatura usando un micro controlador para el adecuado ajuste de esta, reportó un buen manejo de la temperatura con una desviación de +/- 1°C y un sistema de control que garantiza el crecimiento microalgal siendo un método confiable y adecuado para el crecimiento adecuado de la microalga *Chlorella vulgaris* y posterior crecimiento en el fotobio-reactor, reporta una concentración celular para el rango de temperatura uno de 3,66E+06 cel/ml, para el rango de temperatura dos 4,68E+06 de cel/ml y para el rango de temperatura tres de 5,13E+06 cel/ml.

La microalga *Chlorella vulgaris* presenta tres fases de desarrollo, una fase de adaptación que dura dos días, una fase exponencial donde la microalga alcanza su mayor nivel de crecimiento dura nueve días y finalmente llega a su fase estacionaria después del doceavo día de crecimiento. De acuerdo con las curvas de crecimiento se observa que el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* tiene un periodo de desarrollo de 12 días dado que no se presenta la fase de muerte para las células. A partir de este análisis, se evaluó que se presentan diferencias significativas a través del tiempo en cada uno de los rangos de temperatura.

La variación del perfil de lípidos depende del rango de temperatura a la que se encuentra la microalga *Chlorella Vulgaris*, un aumento de la temperatura conlleva a una disminución de los ácidos grasos poliinsaturados y un aumento de los ácidos grasos saturados. Con respecto a la relación de omega 3 y omega 6, oscila aproximadamente 1:1, confiriendo que este fitoplancton es apto para consumo, generando un gran aporte de nutrientes esenciales que no sintetiza el ser humano como es el ácido α - linoleo. El rango de temperatura para la mejor producción de biomasa microalgal de la *Chlorella Vulgaris* es de (24°C – 26°C), donde se obtiene en un FBR de columna de burbujeo de 3 litros una eficiencia del 85,47%, dando una buena productividad.

5. Agradecimientos

Los autores dan reconocimientos a los apoyos que contribuyeron a la culminación de esta in-

vestigación. Agradecen a: Dios, por la sabiduría; a nuestros padres por la ayuda incondicional, a Diego Rubio, biólogo, director de esta investigación que permitió con su conocimiento formar un nuevo conocimiento; a los ingenieros Álvaro Zambrano, Alejandro Guauque, y Elizabeth

Torres por sus orientaciones; a la bacterióloga Cecilita Romero, a la Universidad de América y a la Universidad de la Salle. Con admiración y respeto, a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para llevar a cabo y terminar satisfactoriamente este logro.

REFERENCIAS

Abalde, J. Et al. "Concepción, micro algas: cultivo y aplicaciones". Coruña: Universidad de la Coruña, 1995, p. 32.

Bermúdez, M. et al. "Moldeamiento de la transferencia de oxígeno para el cultivo de microorganismos en un biorreactor de columna de burbujeo". Proyecto de grado ingeniero químico. Manizales: universidad nacional de Colombia. Facultad de ingeniería y arquitectura, 2013. 100p.

Campos, H y Monge, R. Universidad de Harvard, Escuela de Salud Pública. Tabla de composición de alimentos de costa rica: ácidos grasos. Inciensa, 2006

Contreras, C et al. "Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas". Caracas, Venezuela: Interciencia, revista de ciencia y tecnología de américa, agosto de 2003. Vol. 28, 008, Pág. 454

Converti, A. Et al. "Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of nannochloropsis oculata and chlorella vulgaris for biodiesel production". Chemical

engineering and processing 48 (2009). P 1146–1151.

"Detector de ionización de llama (fid)". Disponible en internet en: <[http://www.abellolinde.es/international/web/lg/es/like35lges.nsf/repositorybyalias/a_instrumentacion_analitica/\\$file/gases%20para%20la%20instrumentaci%c3%b3n%20anal%c3%adtica](http://www.abellolinde.es/international/web/lg/es/like35lges.nsf/repositorybyalias/a_instrumentacion_analitica/$file/gases%20para%20la%20instrumentaci%c3%b3n%20anal%c3%adtica)

> [con acceso el 03-05-2012].

Disponible en: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedramicro/10_esterilizaci%c3%b3n_por_calor_h%c3%bamedo.pdf (visitada el 06 de marzo de 2013)

Díaz, A. "Diseño estadístico de experimentos". 2° ed. Medellín: editorial universidad de Antioquia, 2009. 284p.

"Fertilizante foliar líquido foliar" npk. [en línea] disponible en internet en: <[http://www.ransa.com/agro/ran-foliar_npk\(5-5-12\).pdf](http://www.ransa.com/agro/ran-foliar_npk(5-5-12).pdf)> [citado el 03-05-2012].

García, J., y Díaz, I. "Nuevas tendencias en el análisis de ácidos grasos centro de tecnología de la carne". Centro de tecnología de la carne. Unidad

de química alimentaria. Granja camps i armet. 17121 monells.

Garduño, et al. "Cultivos de microalgas del lago de Catemaco", Veracruz. P 67- 80

Garibay, A. Et al. "Biodiesel a partir de microalgas". Biotecnología, año 2009, vol. 13 no. 3. P. 38 – 71.

Gómez, J. Et al. "Las microalgas, nuevos caminos hacia alimentos funcionales". P. 77 -80.

Gómez, H. "Estadística experimental aplicada a las ciencias agrícolas". 1° ed. Sta. fe de Bogotá. Imprenta universidad nacional, 1997. 572p.

Harun, R. Et al. "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products". Renewable and sustainable energy reviews 14 (2010). P 1037-1047

González, A.; Kafarov, V. y Monsalve, A. "Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de micro algas". Prospect. Vol. 7, no. 2, julio. Diciembre 2009, p 53-60.

Lundquist, T. Et al. "A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production". P 1-178.

Martínez B. "Estadística apuntes y 600 problemas resueltos". Ecoe ed. Bogotá: ediciones Alcaravan Ltda. 1978. 915 p.

Mora, R. Et al. "Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. Aislada de la represa de Tulé, municipio Mara, estado Zulia, Venezuela". P. 1-9.

Nag, C. Et al. "Recent trends on the development of photo biological processes and photo bioreactors for the improvement of hydrogen production. En: International journal of hydrogen energy. Vol., 35. No 19 (2010); p 1-21.

Palomino, A.; Estrada, C.; López, J. "Micro algas: potencial para la producción de biodiesel". Cali, valle: universidad del valle. Facultad de ingeniería. I simposio internacional de oleaginosas energéticas, Joao Pessoa, pb – 2010. P 149- 157.

Pérez, J. "Efecto de la longitud de onda de luz y variación en el suministro de carbono en la síntesis de lípidos neutros en la microalga *Chlorella* sp." Grupo de investigación biotecnología microbiana. Universidad de Nariño. P 1-2.

Piedrahita J. y Urbano, S. "Diseño del sistema de alimentación y control de temperatura en un fotobiorreactor para la producción de biomasa y ácidos grasos a partir del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*. Proyecto de grado ingeniero mecánico". Santiago de Cali: Universidad Autónoma de Occidente. Facultad de ingeniería. departamento de energética y mecánica., 2012. 110 p.

Rodríguez, A.; Triana, F. "Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de grado microbiólogo industrial." Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias, 2006. 62 p.

Ruiz, Ana. "Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Máster universitario en ingeniería hidráulica y medio ambiente". Universidad politécnica de Valencia. Facultad de ingeniería. Departamento de hidráulica, 2011. 93 p.

Saavedra, L. Et al. "Guía para la práctica de identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada". Segunda edición. Cimmyt. 68 p.

Serrano, L. "Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel.

Tesis de investigación magister en ingeniería química". Bogotá D. C.: Universidad Nacional de Colombia. Facultad ingeniería, departamento ingeniería química y ambiental, 2012. 141 p.

Toledo, A. "Captura de CO₂ por una comunidad de micro algas obtenidas de un ecosistema natural mexicano. Tesis de grado de maestra en biotecnología". Universidad Autónoma Metropolitana. 104 p.

Vera, A.; Martínez, M. y Kerston, S. "Cultivo discontinuo de *Chlorella* sp. En medios enriquecidos con el exudado gomoso de acacia *Macracantha*". [Laboratorio de microbiología y ecología, centro de investigaciones biológicas - centro de investigaciones en química de los productos naturales]. Maracaibo, Venezuela: s.n. Pág. 6.

Vieira J. y Greque, M. "The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae". October 2010. P 2-9.

Weij, H. Et al. "Microalgae-based bio-refinery – from biofuels to natural products". Pág 1-9.

Yen, C.; Ling, K.; Rifka, J. y Duu y S. "Cultivation, photo bioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production". En: bioresources technology. Vol., 102, no 1 (ene, 2010); p. 77.