



**Producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola  
empleando *Chlorella vulgaris***

**Danna Paola Rodríguez Alza**  
**Modalidad: Proyecto de investigación**

**Universidad El Bosque**  
**Facultad de ingeniería**  
**Programa de ingeniería ambiental**  
**Bogotá, 29 de mayo de 2023**

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando  
*Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

**Producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola  
empleando *Chlorella vulgaris***

Danna Paola Rodríguez Alza

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Ingeniera Ambiental**

Director:

Wilmar Alirio Botello Suárez

Líneas de investigación – Ingeniería para la sostenibilidad

Universidad El Bosque

Facultad de ingeniería

Programa de ingeniería ambiental

Bogotá, Colombia

2023

### **Nota de Salvedad de Responsabilidad Institucional**

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velara por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando  
*Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

*(Dedicatoria)*

*A mis padres, mis abuelos y mi hermana por el apoyo y el amor que me han llevado a ser una mejor persona y profesional.*

## **Agradecimientos**

Agradezco a Dios por guiarme en mi camino académico con total sabiduría, por ser el apoyo de mi vida y por bendecirme con una excelente educación. A mis padres Angely y Humberto por siempre estar conmigo, por sus consejos valiosos, por no dudar de mis capacidades, por darme la mejor educación a lo largo de mi vida, siendo mi motor para estudiar con dedicación diariamente. A mi hermana Karen, por ser la persona que más me impulsa y su admiración.

Le agradezco a Juan David y Camila, por su incondicionalidad y apoyo en los procesos que requirió este proyecto, siendo la mejor compañía que tuve.

Gracias, profesor Wilmar por ser un guía tan excelente, por su tiempo de calidad brindado, por darme la oportunidad de desarrollar esta investigación con la mejor disposición y por enseñarme a ser una mejor profesional.

## TABLA DE CONTENIDO

1. Resumen.....	11
1.1 <i>Abstract</i> .....	11
2. Introducción .....	12
3. Planteamiento del problema.....	13
3.1 <i>Pregunta de investigación</i> .....	14
4. Justificación .....	14
5. Objetivo general y específicos .....	16
5.1 <i>Objetivo general</i> .....	16
5.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	16
6. Marcos de referencia.....	16
6.1 <i>Estado del arte</i> .....	16
6.1.1 <i>Internacional</i> .....	16
6.1.2 <i>Regional</i> .....	20
6.1.3 <i>Local</i> .....	21
6.1.4 <i>Aporte de los autores en el documento</i> .....	23
6.2 <i>Marco teórico-conceptual</i> .....	24
6.2.1 <i>Energías renovables</i> .....	24
6.2.2 <i>Biocombustibles</i> .....	24
6.2.3 <i>Transesterificación</i> .....	25
6.2.4 <i>Biodiésel</i> .....	25
6.2.5 <i>Microalgas</i> .....	26
6.2.7 <i>Tratamiento de aguas</i> .....	27
6.3 <i>Marco geográfico</i> .....	28

6.4	Marco normativo.....	28
6.5	Marco institucional.....	30
7.	Metodología.....	31
7.1	Metodología para el objetivo específico No. 1:.....	31
7.1.1	Área de estudio.....	31
7.1.2	Caracterización fisicoquímica de ARA (in situ).....	32
7.1.3	Caracterización de la muestra (ex situ).....	33
7.1.3.1	Determinación de amonio.....	33
7.1.3.2	Nitratos.....	33
7.1.3.3	Alcalinidad.....	34
7.1.3.4	Sólidos sedimentables.....	34
7.2	Metodología para el objetivo específico No. 2.....	34
7.2.1	Cultivo inicial microalga.....	34
7.2.2	Control y evaluación de crecimiento.....	35
7.2.3	Remoción de compuestos nitrogenados.....	35
7.3	Metodología para el objetivo específico No. 3.....	36
7.3.1	Obtención de biomasa.....	36
7.3.2	Extracción del aceite.....	36
7.3.3	Transesterificación.....	37
8.	Plan de trabajo.....	37
9.	Resultados, análisis y discusión.....	38
9.1	Resultados objetivo específico No. 1.....	38
9.1.1	Caracterización fisicoquímica ARA (in situ).....	38
9.1.2	Caracterización de ARA (ex situ).....	40
9.1.3	Alcalinidad.....	42

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

9.1.4 Sólidos sedimentables .....	43
9.2 Resultados objetivo específico No 2 .....	43
9.2.1 Obtención de inóculo .....	43
9.2.2 Tratamientos aplicados .....	44
9.2.3 Evaluación de crecimiento con densidad óptica .....	47
9.2.4 Concentración de amonio y nitratos.....	50
9.3 Resultados objetivo específico No. 3 .....	55
10. Conclusiones .....	62
11. Recomendaciones.....	64
12. Bibliografía .....	65
13. Anexos .....	71



**LISTADO DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Tipos de reactor .....	18
<b>Figura 2.</b> Biomasa seca vs tiempo (h).....	21
<b>Figura 3.</b> Curvas de crecimiento promedio <i>Chlorella vulgaris</i> .....	22
<b>Figura 4.</b> Proceso de transesterificación .....	25
<b>Figura 5.</b> Biodiésel .....	26
<b>Figura 6.</b> <i>Chlorella vulgaris</i> .....	27
<b>Figura 7.</b> Ubicación U.D.C.A. ....	28
<b>Figura 8.</b> Ubicación Universidad El Bosque.....	28
<b>Figura 9.</b> Organigrama escenarios académicos de investigación UEB.....	31
<b>Figura 10.</b> Sistema de recirculación acuícola .....	32
<b>Figura 11.</b> Sistema de recirculación acuícola .....	39
<b>Figura 12.</b> Fases de desarrollo .....	45
<b>Figura 13.</b> Tratamientos T1, T2 y T3.....	45
<b>Figura 14.</b> Gráfica remoción amonio día 15 .....	53
<b>Figura 15.</b> Gráfica remoción nitratos día 15 .....	54
<b>Figura 16.</b> Mezcla biomasa y etanol .....	55
<b>Figura 17.</b> Proceso de ultrasonido.....	56
<b>Figura 18.</b> Extracción del aceite.....	57
<b>Figura 19.</b> Biosíntesis de ácidos grasos .....	58
<b>Figura 20.</b> Transesterificación .....	59
<b>Figura 21.</b> Diagrama de procesos.....	62

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Reducción de contaminantes.....	19
<b>Tabla 2.</b> Estado del arte usado en el proyecto .....	23
<b>Tabla 3.</b> Normativa.....	29
<b>Tabla 4.</b> Plan de trabajo.....	37
<b>Tabla 5.</b> Parámetros determinados a nivel in situ .....	39
<b>Tabla 6.</b> Parámetros efluente ex situ .....	40
<b>Tabla 7.</b> Parámetros agua de acuicultura para cultivar <i>Chlorella vulgaris</i> .....	42
<b>Tabla 8.</b> Densidad óptica.....	44
<b>Tabla 9.</b> Densidad óptica tratamiento T1, T2, T3 .....	47
<b>Tabla 10.</b> Densidad óptica ARA .....	48
<b>Tabla 11.</b> Remoción de la concentración de amonio día 7 .....	50
<b>Tabla 12.</b> Remoción de la concentración de amonio día 15 .....	51
<b>Tabla 13.</b> Remoción de la concentración de nitratos día 7 .....	51
<b>Tabla 14.</b> Remoción de la concentración de nitratos día 15 .....	52
<b>Tabla 15.</b> Rendimiento del biodiésel a partir del aceite obtenido .....	61

## 1. Resumen

La generación de biomasa de *Chlorella vulgaris* a partir de los nutrientes presentes en los efluentes acuícolas, ofrece una oportunidad única para la producción de subproductos de valor agregado. Esta alternativa posibilita, adicionalmente, el reúso de dichos efluentes en el sistema productivo, contribuyendo a la conservación del recurso. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial del cultivo de *C. vulgaris*, cultivada en aguas de recirculación acuícola (ARA) para la producción de biodiésel y la eliminación simultánea de nutrientes (amonio y nitratos). Para ello, se propuso una metodología experimental buscando establecer las condiciones óptimas del cultivo de la microalga en ARA evaluando tres tratamientos (T1, T2 y T3), variando concentraciones de ARA al 25%, 40% y 90%, respectivamente. La biomasa resultante fue empleada para la producción de biodiésel a través del proceso de transesterificación. Los resultados demostraron una alta producción de biomasa y una eliminación hasta de 81% de amonio y 49% de nitratos, siendo T3 el tratamiento más eficiente para el proceso, presentando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), en comparación con los demás tratamientos. A partir de esto, se replicaron las condiciones de T3 para cultivar *C. vulgaris* a una mayor escala, a fin de obtener la biomasa necesaria para la extracción de la fracción lipídica y la transesterificación. La estimación teórica del biodiesel tuvo un rendimiento del 90%. Se concluye que las ARA constituyen un sustrato potencialmente aplicable a la generación de biomasa de *C. vulgaris*, aprovechable para la producción de biodiesel, con remoción significativa de compuestos nitrogenados. El presente trabajo constituye un aporte al estudio de procesos de aprovechamiento de efluentes acuícolas para el reúso de agua y la generación de biomasa de *C. vulgaris* para la obtención de valor agregado, como alternativa para avanzar hacia un enfoque más sostenible en el sector acuícola.

**Palabras clave.** Biocombustible, energía renovable, tratamiento de aguas, compuestos nitrogenados, biomasa.

### 1.1 Abstract

The generation of biomass from *Chlorella vulgaris* using nutrients present in aquaculture effluents offers a unique opportunity for the production of value-added byproducts. Additionally, this alternative enables the reuse of these effluents in the production system, contributing to resource conservation. The objective of this study was to evaluate the potential of cultivating *C. vulgaris* in aquaculture recirculating water (ARW) for the production of biodiesel and simultaneous nutrient removal (ammonium and nitrates). To achieve this, an experimental methodology was proposed to establish the optimal conditions for microalgae cultivation in ARW, evaluating three treatments (T1, T2, and T3) with varying ARW concentrations of 25%, 40%, and 90%, respectively. The resulting biomass was used for biodiesel production through the transesterification process. The results demonstrated high biomass production and removal rates of up to 81% for ammonium and 49% for nitrates, with T3 being the most efficient treatment, showing statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) compared to the other treatments. Based on this, the conditions of T3 were replicated to cultivate *C. vulgaris* on a larger scale in order to obtain the necessary biomass for lipid extraction and transesterification. The theoretical estimation of biodiesel yielded a 90% efficiency. It is concluded that ARW represents a potentially applicable substrate for the generation of *C. vulgaris* biomass, which can be utilized for biodiesel production with significant nitrogen compound removal. This study contributes to the exploration of aquaculture effluent utilization for water reuse and the generation of *C. vulgaris* biomass to obtain value-added products, serving as an alternative to advance towards a more sustainable approach in the aquaculture sector.

**Key words.** Biofuel, renewable energy, water treatment, nitrogen compounds, biomass.

## 2. Introducción

El uso de combustibles fósiles representa el 80% de la energía primaria que se consume a nivel global. El sistema energético es responsable de alrededor de dos tercios de las emisiones totales de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) que se producen a nivel mundial (Foster & Elzinga), en consecuencia, es prioritario diversificar la matriz energética. Las energías renovables están teniendo más relevancia, por lo tanto, se han realizado investigaciones donde se observa la viabilidad de alternativas para generar combustibles, entre estos, el biodiésel. Este es un biocombustible producido a partir de fuentes renovables, como aceites vegetales, aceites usados y grasas animales, por tanto, puede utilizarse como alternativa al combustible diésel convencional (Fernández et al., 2012). La producción de biodiésel presenta ventajas como: la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero, desarrollo regional y estructura social (principalmente a los países en vía de desarrollo) y desligar la dependencia a los combustibles fósiles (Demirbas, 2009).

Existen diferentes procesos para producir biodiésel y se siguen explorando nuevas investigaciones para mejorar la eficiencia de esta alternativa y su sostenibilidad, un ejemplo de esto son las microalgas, que son organismos unicelulares fotosintéticos que pueden crecer en entornos de agua dulce y salada. Han recibido interés como materia prima potencial para la elaboración de biocombustibles, teniendo ventajas como la alta tasa de crecimiento, alto contenido de lípidos (de 50 a 70% de peso seco) y condiciones de cultivo sencillas (Hsin Ho et al., 2014), es decir, pueden cultivarse en diferentes tipos de sustrato (Peng et al., 2020). Entre las especies de interés para estudiar la producción de biodiésel se encuentra la microalga *Chlorella vulgaris*, la cual se caracteriza por tener múltiples propósitos como alimentación animal, acuicultura, cosméticos, entre otros; en las últimas décadas también se ha visto que tiene la capacidad de acumular lípidos, especialmente después de la privación de nitrógeno, que son aptos para la producción de biodiésel (Safi et al., 2013).

Otra área de investigación interesante es la acuicultura, actividad económica que está creciendo rápidamente en todo el mundo, como resultado, la cantidad de aguas residuales producidas por esta actividad aumentan, las cuales contienen nutrientes y otros contaminantes que pueden traer efectos negativos en el ambiente si no se tratan adecuadamente y se han desarrollado tecnologías como la recirculación (Timmonsand, 2007). En los sistemas de agua de recirculación acuícola la calidad del agua

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

se ve afectada por la presencia y acumulación de heces, alimento no digerido, parásitos y *flocs* bacterianos que son perjudiciales para los organismos cultivados. Estos sistemas de cultivo de productos acuáticos contienen altos niveles de nitrógeno amoniacal, por lo tanto, se debe mantener en niveles aceptables el amonio y el nitrato\_ (“Amonio en el cultivo del tilapia”, 2013). La microalga puede asimilar estos nutrientes aportando a la buena calidad de agua de estos sistemas (Sánchez et al., 2012). Como se ha expuesto anteriormente, al tener *C. vulgaris* el potencial para funcionar en diferentes propósitos, se puede aplicar en el tratamiento de aguas residuales como un tratamiento terciario, con una fácil capacidad de adaptación, resistencia y utilización de nitritos y fosfatos como fuentes de alimentación (Huaynate et al., 2021).

El presente trabajo presenta un estudio detallado sobre la producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *C. vulgaris*. El documento está estructurado de la siguiente manera: en la introducción se presenta el contexto y la problemática que motiva al desarrollo del proyecto; en el planteamiento del problema se detalla de manera más específica la situación actual y las limitaciones que se buscan solucionar; la justificación expone las razones por las cuales se considera importante llevar a cabo el estudio y los objetivos a alcanzar; los marcos de referencia que incluyen antecedentes a partir de revisión bibliográfica para respaldar el proyecto; en la metodología se detallan procesos y técnicas de la investigación, por último, los resultados presentan hallazgos obtenidos para interpretarlos en la discusión de resultados. Los datos obtenidos en este proyecto constituyen un aporte al estudio de procesos de estabilización de efluentes acuícolas con simultanea generación de productos de valor agregado.

### **3. Planteamiento del problema**

Los combustibles fósiles son la principal fuente de energía, siendo el motor de la economía, sin embargo, la producción de energía ha sido un desafío por la presunta disminución de las reservas petroleras y la contaminación causada por la quema de los combustibles fósiles (Fernández et al., 2012). En grandes ciudades, como Bogotá, se ha experimentado un crecimiento significativo de población y actividades económicas en los últimos años, lo que conlleva un aumento en la demanda de energía y combustibles afectando la calidad del aire. La capital Colombiana es una de las ciudades más contaminadas de América Latina por la emisión de vehículos y quema de combustibles fósiles en la industria y hogares; esta

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

contaminación trae consecuencias a la salud de los habitantes, en especial niños, adultos mayores, mujeres embarazadas y personas con morbilidades (López Hernández et al., 2019). En los próximos años será más difícil producir petróleo, debido a que actualmente se extraen crudos más pesados que son más difíciles de refinar, sumado a esto, se trata de una fuente de energía no renovable (Blinová et al., 2015).

En el contexto de la acuicultura, se ha identificado una problemática ambiental relacionada con la contaminación de los sistemas de aguas de recirculación acuícola (ARA) con amonio y nitratos. Específicamente, en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales en el sector “El Remanso”, donde se cría Tilapia Roja para diversos propósitos, se tratan las aguas residuales con sistemas de recirculación y estos se encuentran contaminados por el alto contenido de nutrientes. Ante esta problemática se busca una alternativa para el tratamiento de aguas residuales acuícolas con la implementación de la microalga *Chlorella vulgaris*, la cual utiliza los contaminantes como sustrato para su crecimiento, permitiendo reducir la concentración de compuestos nitrogenados, posteriormente, se utiliza la biomasa seca de esta microalga para la producción de biodiésel, lo que permitiría una gestión sostenible del agua y la generación de un recurso energético renovable.

### ***3.1 Pregunta de investigación***

¿Cuál es el potencial de la microalga *Chlorella vulgaris* para la producción de biodiésel y la simultánea remoción de nutrientes en aguas de recirculación acuícola?

## **4. Justificación**

Este proyecto de investigación se enfoca en acoplar la producción de biodiésel a partir de microalgas con el tratamiento de aguas residuales acuícolas mediante el sistema de recirculación acuícola. El objetivo es reducir la concentración de compuestos nitrogenados tóxicos presentes en el agua y producir elementos necesarios para la generación de biodiésel, un tipo de biocombustible. La necesidad de abordar esta temática surge ante la creciente demanda energética y el agotamiento de los combustibles fósiles. Diversos estudios han empezado a considerar las microalgas como una alternativa para la producción de biocombustibles de segunda o tercera generación, entre los que se encuentra el biodiésel, hidrógeno y el bioetanol (Yaashikaa et al., 2022).

Las microalgas poseen un gran potencial para la producción de biocombustibles debido a que muchas de ellas son ricas en aceite, tienen alta eficiencia fotosintética, se multiplican rápidamente, pueden crecer en cualquier tipo de agua (dulce, salobre, aguas residuales), requieren menos agua y nutrientes para su crecimiento y puede acumular lípidos hasta un 70% en su cuerpo celular. La especie *Chlorella vulgaris*, un alga verde fotosintética, alcanza un contenido de lípidos de más del 30% de su peso seco y se considera una fuente potencial de materia prima para la producción de biodiésel (Fernández et al., 2012).

En este contexto, se propone el acoplamiento de la producción de biodiésel a partir de *Chlorella vulgaris* con el tratamiento de aguas residuales de la acuicultura, lo que puede proporcionar una solución sostenible para el tratamiento de aguas residuales de la industria acuícola. *Chlorella vulgaris* es capaz de crecer en aguas de la acuicultura, lo que reduce costos de tratamiento y aumenta la rentabilidad del proceso.

El proyecto busca contribuir al desarrollo de una alternativa sostenible y rentable a los combustibles fósiles, al mismo tiempo que se promueve el tratamiento efectivo de las aguas residuales acuícolas. La producción de biodiésel a partir de microalgas puede reducir paulatinamente la dependencia de los combustibles fósiles y, por ende, contribuir a mitigar los impactos ambientales asociados a su uso, lo que es relevante en el contexto del cambio climático.

Esta investigación busca aprovechar la función de *Chlorella vulgaris* para la reducción de compuestos nitrogenados encontrados en los sistemas de recirculación de la industria acuícola ubicados en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, tomando como fuente de nutrición los contaminantes, por lo tanto, estas aguas pueden funcionar como el medio de cultivo de la microalga y producir biodiésel con la biomasa resultante. En el ámbito de la ingeniería ambiental el proyecto aporta a la apertura de investigaciones para paulatinamente sustituir el uso de combustibles fósiles e innovar el tipo de tratamiento terciario de aguas residuales, teniendo afinidad con los objetivos de desarrollo sostenible número 7: Garantizar el acceso a una energía asequible, segura, sostenible y moderna; y el número 6: Agua limpia y saneamiento.

## **5. Objetivo general y específicos**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar la potencial aplicación del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en aguas de recirculación acuícola, para la generación de biodiésel con simultánea remoción de nutrientes.

### **5.2 Objetivos específicos**

- Identificar las características de aguas de recirculación acuícola asociadas a los requerimientos nutricionales de *Chlorella vulgaris* a través de un análisis físico químico.
- Determinar las condiciones óptimas de producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* a partir de aguas de recirculación acuícola, estableciendo simultáneamente la eficiencia de remoción de nutrientes a escala laboratorio.
- Establecer la eficiencia teórica de un proceso de transesterificación para la producción de biodiésel empleando biomasa de *C. vulgaris*

## **6. Marcos de referencia**

### **6.1 Estado del arte**

Para llevar a cabo el estado del arte en el uso de microalgas en el tratamiento de aguas y producción de biodiésel, se estableció claramente el tema de investigación. Se identificaron y seleccionaron fuentes relevantes que aportaran información significativa para la investigación, tales como líneas de investigación internacionales, regionales y locales, y diversos tipos de documentos, como textos, artículos científicos, trabajos de grado, libros, entre otros. La información obtenida fue sintetizada y analizada críticamente para lograr una visión completa del estado actual del conocimiento del tema.

#### **6.1.1 Internacional**

Debido a la alta demanda sobre el recurso hídrico que existe actualmente y frente a sus niveles de contaminación, se busca cada vez métodos alternativos para el tratamiento de estas aguas, así como obtener el rendimiento máximo de estos procesos para producir o generar subproductos que puedan ser



Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

de utilidad, buscando reducir los residuos de dicho proceso al nivel mínimo, procurando maximizar los tratamientos.

Dado lo anterior Yaashikaa y otros autores analizaron cómo las microalgas pueden eliminar contaminantes en aguas residuales, como nitrógeno y fósforo, para posteriormente convertirlos en biocombustibles y otros productos de valor añadido. Exploran las diferentes tecnologías utilizadas para el cultivo de microalgas en aguas residuales y se discuten los factores que afectan la producción y la calidad del biocombustible, estos factores pueden ser: tipo de microalga utilizada, tipo de cultivo, concentración de nutrientes, iluminación, temperatura y pH; Además, destacan los avances tecnológicos y las oportunidades emergentes en este campo, incluyendo la integración de microalgas con otros procesos de tratamiento de aguas residuales y la combinación de la producción de biocombustibles con la recuperación de nutrientes y la generación de alimentos para animales. En general, se concluye que el uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales es una tecnología prometedora para la producción de energía renovable y la recuperación de recursos, pero que todavía hay desafíos técnicos y económicos para hacerlo rentable, para escalarlo y aplicarlo (Yaashikaa et al., 2022).

Entre los biocombustibles de segunda generación, el biodiésel producido a partir de microalgas ha surgido como una alternativa muy prometedora, Fernández describe las características de las microalgas y como su contenido de lípidos las convierte en una opción atractiva para la producción de biodiésel. Se discuten diferentes métodos de cultivo de microalgas: Fotobiorreactor tubular de vidrio, fotobiorreactor de placa plana, fotobiorreactor de placa plana con agitación y cultivo en estanques abiertos. Los resultados mostraron que el fotobiorreactor de placa plana con agitación fue el método más eficiente en términos de crecimiento de *Chlorella vulgaris* con una productividad de biomasa de 0.73 g/L\*día y una concentración de clorofila de 6.17 mg/L en comparación el fotobiorreactor de placa plana sin agitación tuvo una productivas de biomasa de 0.64 g/L\*día y una concentración de clorofila de 4.22 mg/L, mientras que el fotobiorreactor tubular de vidrio y el cultivo en estanques abiertos obtuvieron una productividad de biomasa y concentración de clorofila aún más baja.

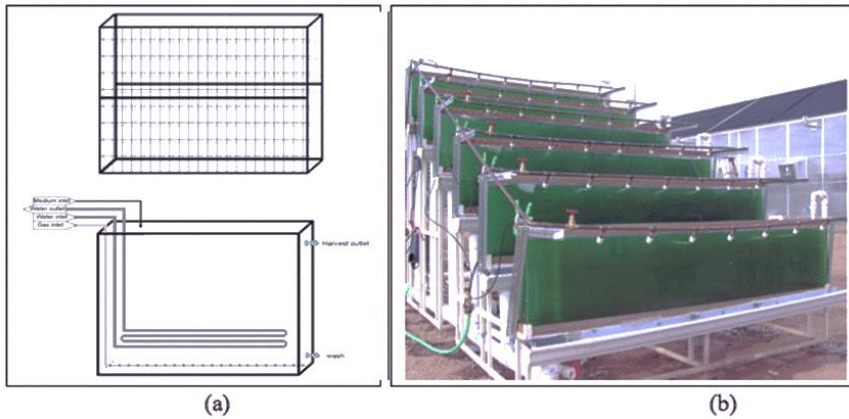
**Figura 1.**

*Tipos de reactor*

(A)

(a) Estructura y (b) Fotografía de un sistema de fotobiorreactores de placas planas.

*Fotobiorreactor de placa plana*



Fuente: Ramírez Duque (2007).

(B)

Estanques abiertos



Fuente: Agrotendencia.tv. (s.f.).

(C)

Fotobiorreactor tubular de vidrio.



Fuente: Ramírez Duque (2007).

También se describen los procesos de extracción y conversión del aceite de microalgas en biodiésel, así como los métodos para mejorar la calidad del biodiésel producido. Además, se analizan las ventajas y desventajas de la producción de biodiésel a partir de microalgas en comparación con otros biocombustibles. En conclusión, hay potencial para ver a las microalgas como una fuente de materia prima para la producción de biodiésel y se debe ampliar la necesidad de seguir investigando y

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

desarrollando tecnologías más eficientes y rentables para la producción de biocombustibles a partir de microalgas (Fernández et al., 2012).

*Chlorella vulgaris* tiene el potencial de tratamiento de aguas y producción de biodiésel, Yasar y demás autores evalúan este potencial, destacan la adaptación de *Chlorella vulgaris* para crecer en aguas residuales y eliminar los contaminantes presentes en ellas, en este caso, nitrógeno y fósforo. Analizan la composición de los lípidos de *C. vulgaris* y cómo puede utilizarse como una fuente sostenible y económica de aceites para producir biodiésel. También mencionan un método de extracción de lípidos como la extracción con solventes, en este método los lípidos se extraen utilizando solventes orgánicos como cloroformo, metanol y hexano; y discuten ventajas y desventajas.

En este estudio se comparó la reducción de contaminantes en cultivo en estanques transparentes y en estanques cubiertos con una lámina negra en sus cuatro lados con una lámina transparente en la parte superior, allí se observó que la reducción era menor que en los estanques transparentes debido a que en este último hay una mayor penetración de la luz para realizar fotosíntesis, lo que resultó en una reducción significativa del DQO, DBO, nitratos y fosfatos, sin embargo, la reducción de los coliformes totales no tuvo una diferencia significativa (ver *Tabla 1*).

**Tabla 1.**

*Reducción de contaminantes*

<b>Contaminante</b>	<b>% de reducción en tanque transparente</b>	<b>% reducción en tanque cubierto</b>
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	96,8	95,2
Demanda química de oxígeno (DQO)	95,6	94,4
Nitratos	97	96,3
Fosfatos	95,5	94,7
Coliformes totales	100	100

*Fuente: Ahmad, et al., 2013*

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

En este contexto, las microalgas tuvieron un rendimiento positivo en el tratamiento de aguas, posteriormente evalúan el potencial uso para biodiésel, mostrando la cuantificación del rendimiento de este y subproductos sintetizados a partir de la biomasa de *Chlorella vulgaris*, se usan 100g de biomasa total, de la cual 61,96g fueron residuos y 42,66g de aceite fueron extraídos. El rendimiento de biodiésel a partir del aceite extraído fue del 93,52%. Además, se produjo un 6,4% de subproductos como la glicerina u otros (Yasar et al., 2013).

Estos estudios son relevantes en el presente trabajo ya que abordan temas relacionados con la producción de biocombustibles a partir de microalgas y su potencial uso en la limpieza de aguas residuales. Es importante tener en cuenta que los resultados y conclusiones de estos estudios pueden variar según las condiciones específicas de cada país, como: clima, recursos, normatividad, infraestructura, etc.

### **6.1.2 Regional**

Dado el punto anterior, es necesario realizar investigaciones específicas en Colombia para evaluar el potencial de este proyecto para aplicarlo en el país.

Por ejemplo, Olarte & Valencia realizaron un estudio fue evaluar la capacidad de *Chlorella vulgaris* para tratar las vinazas (aguas residuales industriales provenientes de la caña de azúcar al destilar las melazas) y eliminar nutrientes como el nitrógeno, fósforo y la carga orgánica presentes en este tipo de residuos líquidos. Se llevó a cabo un experimento a escala laboratorio para medir la producción de la biomasa y la eliminación de nutrientes y otros parámetros específicos de las aguas residuales usando la microalga en un medio de vinazas. Los resultados del estudio mostraron que se logró eliminar el 75,5% del fósforo, el 84,93% del nitrógeno, y el 30,92 de la DQO y DBO5. Esto respalda la viabilidad de utilizar *Chlorella vulgaris* en la biorremediación de residuos líquidos en la industria de los biocombustibles. Se presenta una contribución importante al campo de la biorremediación y al desarrollo sostenible del país, al presentar una alternativa prometedora para el tratamiento de residuos líquidos industriales y la generación de recursos adicionales a través de la producción de biomasa (Olarte & Valencia, 2016).

En relación con la biomasa de *Chlorella* y su aplicación en biocombustible y en tratamiento de aguas, Urbina y demás autores de la Universidad del Valle, se estudió la viabilidad técnica para el crecimiento

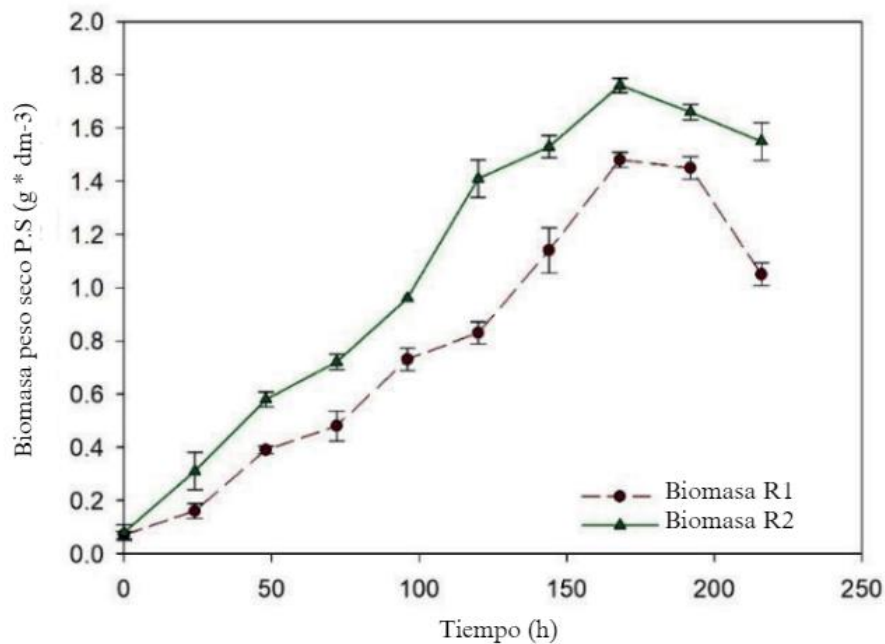
Producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

Danna Paola Rodríguez Alza

de microalgas, en este trabajo se cultivó la cepa de *Chlorella sp.* En dos tipos de efluentes generados en una finca ubicada en el este de Colombia, antes y después de un proceso biológico, se evaluó el consumo de los nutrientes que regulan el crecimiento y la producción de lípidos, con el fin de extraer, cuantificar, caracterizar y convertirlos en biodiésel, los resultados arrojaron que la microalga tiene un crecimiento más favorable en el medio R2 (aguas residuales tratadas) que en el medio R1 (aguas residuales crudas) debido a la limitación de fósforo y una mayor concentración de  $\text{NO}_3$  en R2 comparado con el R1.

**Figura 2.**

*Biomasa seca vs tiempo (h).*



Nota: Producción de biomasa de *Chlorella sp.* (peso seco PS) en el fotobiorreactor de 100 dm<sup>3</sup> en los medios de cultivo R1 y R2; Traducido y tomado de: Urbina, et al., 2021.

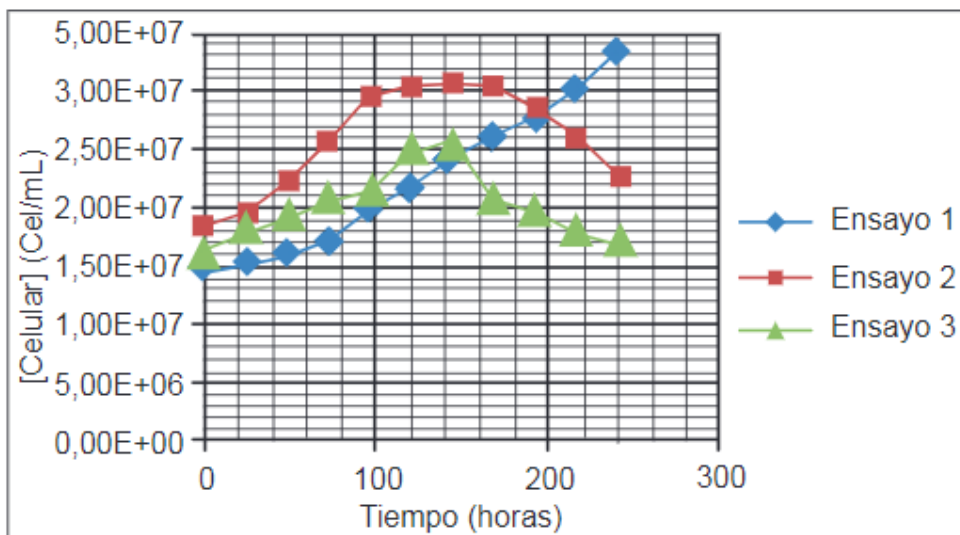
En general, los resultados demostraron el potencial de usar las aguas residuales generadas en la finca San Pablo en Cali, para producir biomasa con contenido de lípidos y obtener biodiésel, encontrando que la concentración de nutrientes, principalmente nitrógeno, teniendo una gran influencia en el metabolismo de las microalgas para acumular lípidos (Urbina-Suarez et al., 2021).

### 6.1.3 Local

Rubio Fernández junto con otros autores estudiaron la incidencia del nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio, se probaron diferentes concentraciones de nitrógeno y se midió la producción de biomasa y ácidos grasos totales. Los resultados mostraron que el aumento en la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo incrementó la producción de biomasa, pero redujo la producción de ácidos grasos. Además, se encontró una relación inversa entre la producción de biomasa y ácidos grasos, se concluyó que es posible manipular la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo para maximizar la producción de biomasa o ácidos grasos de acuerdo con los objetivos específicos del proceso (Rubio Fernández et al., 2013).

**Figura 3.**

*Curvas de crecimiento promedio Chlorella vulgaris*



Nota: Ensayo 1, 100% de NaNO<sub>3</sub>; ensayo 2, concentración de NaNO<sub>3</sub> disminuida al 20%; ensayo 3, concentración de NaNO<sub>3</sub> disminuida al 10%. Fuente: Rubio Fernández, et al., 2013.

La falta de nitrógeno provoca un cambio en la composición de los ácidos grasos producidos por la microalga, con una mayor proporción de ácidos grasos insaturados. Estos ácidos pueden ser de interés en la producción de biocombustibles porque pueden mejorar la calidad del combustible producido, por lo tanto, se deben ampliar las investigaciones para abrir campo a pruebas de crecimiento con nitrógeno.

#### 6.1.4 Aporte de los autores en el documento

El estado del arte proporcionó un contexto general para entender el enfoque y objetivos del proyecto, se pudo identificar lo que el proyecto puede ampliar siendo útil para direccionar la investigación y así evitar cubrir información ya conocida. Al incluir autores se muestra una comprensión más completa del tema para mejorar la calidad del trabajo de investigación. A continuación, la tabla 2 muestra el aporte de las investigaciones analizadas a lo largo del proyecto.

**Tabla 2.**

*Estado del arte usado en el proyecto*

<b>Autores</b>	<b>Título</b>	<b>Uso</b>
Yaashikaa et al., 2022	Algal biofuels: Technological perspective on cultivation, fuel extraction and engineering genetic pathway for enhancing productivity	Justificación
Fernández et al., 2012	Production of biofuels obtained from microalgae	Justificación Problema Marco teórico
Yasar et al., 2013	The potential of <i>Chlorella vulgaris</i> for wastewater treatment and biodiésel production	Discusión de resultados
Olarte & Valencia, 2016	Evaluación del uso de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> en el tratamiento de aguas residuales industriales (vinazas)	Discusión de resultados
Urbina-Suarez et al., 2021	Cultivation of <i>Chlorella sp.</i> For biodiésel production using two farming wastewaters in eastern Colombia	Discusión de resultados
Rubio Fernández et al., 2013	Incidencia del nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos de la microalga	Discusión de resultados

Autores	Título	Uso
<i>Chlorella vulgaris</i> en un fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio		

*Fuente: Elaboración propia*

## **6.2 Marco teórico-conceptual**

Se optó por integrar el marco teórico y conceptual subordinando los conceptos desde los más generales hasta los más específicos estableciendo conexiones claras. Se identificaron conceptos clave, se hizo revisión de literatura y la respectiva jerarquización de conceptos.

### **6.2.1 Energías renovables**

Son el producto del desarrollo de tecnologías que permiten aprovechar fuentes no convencionales para reemplazar las que han sido comunes durante mucho tiempo (Giraldo et al., 2018). La idea de estas energías se basa en producir formas de energía más sostenibles por medio de recursos renovables, esto hace que sean abundantes y “limpias”. El hecho de que sean energías limpias aporta en la reducción de contaminación producida por los combustibles fósiles.

#### **6.2.1.1 Combustibles fósiles**

Son sustancias como el petróleo, el carbón y el gas natural, se denominan así porque se forman de organismos que han muerto y quedaron enterrados bajo muchas capas de tierra y roca (sedimento), estos proporcionan energía que alimenta las necesidades de las personas (Rice, 2017). Sin embargo, son recursos no renovables, es decir, no se reponen por procesos biológicos como por ejemplo la madera, por ello se ha planteado hacer combustible con recursos renovables o bien llamados biocombustibles.

### **6.2.2 Biocombustibles**

Son combustibles que se obtienen de biomasa (cualquier tipo de materia orgánica resultante de un proceso biológico de organismos vivos) para obtener productos energéticos y materias primas de tipo



Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

renovable que se origina a partir de la materia prima orgánica formada por vía biológica (Callejas & Gasca, 2009). Existe biomasa que puede ser una materia prima básica en la producción de biocombustibles de segunda generación como el biodiésel. Se pueden usar como una alternativa más sostenible y renovable a los combustibles fósiles ya que su producción y uso emite menos dióxido de carbono u otros gases de efecto invernadero.

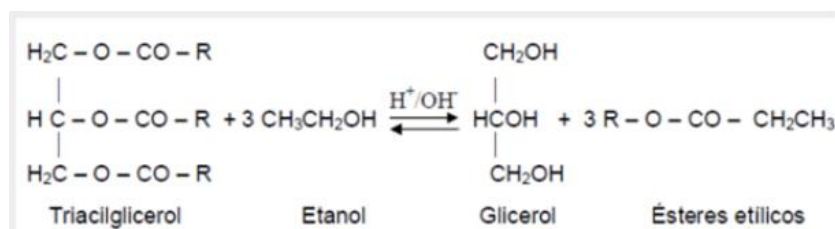
### 6.2.3 Transesterificación

Es una reacción química que convierte un éster en otro éster diferente mediante la transferencia de un grupo alquilo de un alcohol, el lípido reacciona con un alcohol de cadena corta como etanol o metanol, en presencia de un catalizador ácido o básico (generalmente hidróxido de sodio o hidróxido de potasio), este proceso implica la ruptura de los enlaces con el alcohol formando ésteres como productos principales y glicerol como subproducto (Cordoví et al., 2017).

La transesterificación se divide en fases como: la reacción previamente dicha, producida por el catalizador y la segunda, es la separación de los ésteres producidos y glicerol que se lleva a cabo mediante la separación por decantación, centrifugación o destilación (Fernández et al., 2012).

#### Figura 4.

*Proceso de transesterificación*



Fuente: Cordoví et al., 2017

### 6.2.4 Biodiésel

Es un biocombustible líquido derivado de fuentes renovables que se utiliza como sustituto del diésel convencional, está compuesto de alquil-ésteres de alcoholes de cadena corta como etanol y metanol, con

Producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable como aceites vegetales, grasas animales y aceites de microalgas (Fernández et al., 2012) se plantea más el uso de esta última para disminuir presión a muchas materias primas y liberar campos de cultivo para dedicarlos a la alimentación.

### **Figura 5.**

*Biodiésel*



*Fuente: Amaya & González, 2021*

### **6.2.5 Microalgas**

Son microorganismos unicelulares que pueden ser eucariotas o procariotas, aunque suelen ser eucariotas en su mayoría (Castillo et al., 2017), llegan a medir entre 2 a 200  $\mu$ m, específicamente las microalgas oleaginosas pueden contener ácidos grasos como componentes de su membrana, productos de almacenamiento, metabolitos y fuente de energía representan una opción viable para producir dicho biodiésel (Fernández et al., 2012). Entre estas se encuentra la especie *Chlorella vulgaris*.

### **6.2.6 Chlorella vulgaris**

Alga microscópica unicelular de color verde, forma esférica, se produce de forma rápida y asexual (Ver figura 6). Habita en ríos, arroyos de agua dulce y suelos encharcados; tiene una gran variedad de usos en el campo de la biotecnología, tiene potencial por su rápido crecimiento y facilidad de cultivo, además de su uso en producción de biodiésel (Torres & Gonzáles, 2021). Se ha investigado su uso en diferentes áreas, incluyendo suplemento alimenticio debido a su alta concentración de proteínas y nutrientes. Es una especie oleaginosa que se utiliza para producir biodiésel a partir de los ácidos grasos que están en su

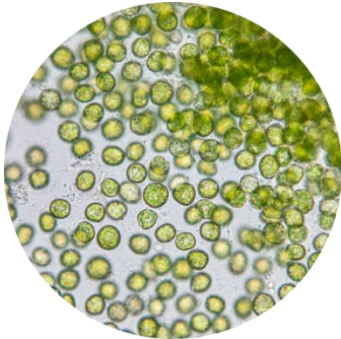
Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

estructura celular considerando su rápido crecimiento y facilidad de cultivo es una buena opción para aplicaciones biotecnológicas (Núñez, 2017).

**Figura 6.**

*Chlorella vulgaris*



Fuente: Tere Group, s/f

**6.2.7 Tratamiento de aguas**

Proceso que busca eliminar o reducir los contaminantes y otros componentes no deseados del agua para poderla usar para fines específicos. Se lleva a cabo en plantas de tratamientos de aguas y pueden ser de diferentes tipos y utilizar diferentes procesos de tratamiento, dependiendo de la calidad y el uso previsto del agua, generalmente implica una serie de procesos físicos, químicos y biológicos para eliminar los contaminantes del agua. Estos procesos incluyen la filtración, sedimentación, desinfección, adsorción, coagulación, floculación, oxidación, neutralización, evaporación, destilación, entre otros. Se utiliza comúnmente para producir agua potable, también para tratar aguas residuales generadas por actividades humanas, como producción industrial, agricultura, minería y uso doméstico. También se utiliza para recuperar y reutilizar el agua en procesos industriales y agricultura (Rice & Bridgewater, 2012).

**6.2.7.2 Recirculación acuícola**

Las aguas de recirculación son un tipo de agua residual generada en sistemas acuícolas en los que se utiliza agua para el cultivo de peces u otros organismos. Permiten la cría de estos en circuitos cerrados, donde el agua es filtrada, tratada y recirculada nuevamente en el sistema para minimizar su consumo y

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

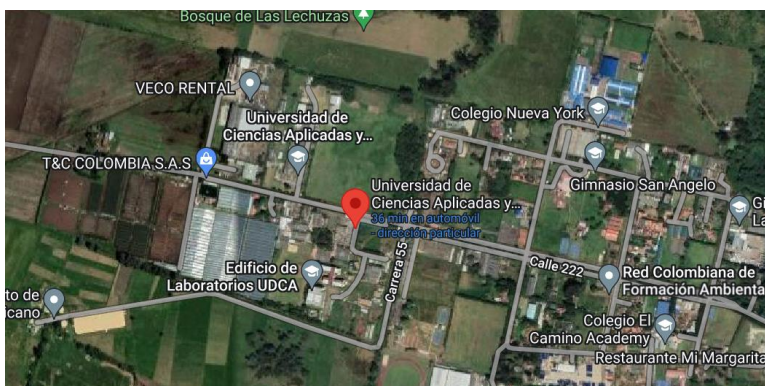
disminuir la carga contaminante que se vierte en el ambiente (Jiménez, s/f), los principales contaminantes a remover en el proceso de recirculación, se encuentran el amoníaco y los nitratos ya que generan aumento de la acidez, el desarrollo de eutrofización y el aumento de las concentraciones hasta niveles tóxicos que limitan su uso (Cárdenas & Sánchez, 2013). El uso de sistemas de recirculación de agua permite el ahorro de agua y la reducción del impacto ambiental en comparación con sistemas de cultivo tradicionales que usan agua de ríos, lagos o acuíferos, ya que se recircula el agua en el sistema después de tratarla y depurarla para que sea adecuada para la reutilización en el cultivo (Galli et al., 2007).

### 6.3 Marco geográfico

El presente estudio fue desarrollado en el laboratorio de química ambiental de la Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Adicionalmente, las muestras de agua de recirculación acuícola fueron colectadas en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá, Colombia.

**Figura 7.**

*Ubicación U.D.C.A.*



Tomado de: Google Maps

**Figura 8.**

*Ubicación Universidad El Bosque*



Tomado de: Google Maps.

### 6.4 Marco normativo

El marco normativo para el proyecto en Colombia incluye diversas normas y leyes que buscan promover la producción sostenible de biocombustibles y fuentes no convencionales de energía, así como regular la integración de las energías renovables al sistema energético nacional para establecer parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos de agua puntuales a cuerpos de agua. Además, se cuenta

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

con regulaciones en el sector agropecuario, pesquero y se reglamenta el uso de las aguas residuales. Todo lo anterior busca fomentar el uso eficiente de los recursos energéticos y proteger el ambiente del país, por lo tanto, en la siguiente tabla se reúnen las normas con su respectiva descripción:

**Tabla 3.**

*Normativa*

<b>Norma</b>	<b>Descripción</b>
CONPES 3510 de 2008	“Lineamientos de política para promover la producción sostenible de biocombustibles en Colombia”
Ley 1665 de 2013	“Prueba el Estatuto de la Agencia Internacional de Energías Renovables (IRENA), con el que Colombia asume compromisos en materia de energías renovables”
Ley 1715 de 2014	“Por medio de la cual se regula la integración de las energías renovables no convencionales al Sistema Energético Nacional.", que busca promover la gestión eficiente de la energía, que comprende tanto la eficiencia energética como la respuesta de la demanda”.
Resolución 0631 de 2015	“Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.”
Ley 2099 de 2021	“Promover la utilización de fuentes no convencionales de energía y de incentivar el uso eficiente de los recursos energéticos.”
Decreto 1835 de 2021	“Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural en lo relacionado con la administración, ordenación y fomento de la Pesca y la Acuicultura.”
Resolución 1256 de 2021	“Por la cual se reglamenta el uso de las aguas residuales y se adoptan otras disposiciones” Artículo 3.

*Nota: Elaboración propia*

Se destaca el CONPES 3510 de 2008 ya que plantea la promoción de la generación de conocimiento ambiental para el desarrollo de herramientas de planificación y gestión ambiental en la producción de biocombustibles, también busca:

“Promover opciones de reducción y mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en el marco del Protocolo de Kyoto y mercados voluntarios de carbono”

Buscando la articulación con la Comisión Técnica Nacional Intersectorial para la Prevención y el Control de la Contaminación del Aire (CONAIRE) y las políticas relacionadas con el cambio climático.

Por otro lado, hacia la recirculación se destaca la Resolución 1256 de 2021, en el artículo 3 establece que los usuarios del recurso hídrico podrán recircular sus aguas si es técnica y económicamente viable, sin necesidad de obtener autorización ambiental. Pero deberán mantener a disposición de la Autoridad Ambiental información sobre el balance hídrico del sistema de recirculación, los potenciales riesgos y las medidas de prevención contra los mismos.

### ***6.5 Marco institucional***

En primer lugar, se tiene en cuenta el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible: Es el gestor del ambiente y recursos naturales renovables, orientando y regulando el ordenamiento ambiental del territorio, encargado de definir las políticas y regulaciones para recuperar, conservar, proteger, ordenar, manejar, usar y aprovechar los recursos naturales renovables de la nación para asegurar el desarrollo sostenible según el Decreto 3550 – Artículo 1. Esta entidad participó en la formulación del documento CONPES 3510 de 2008 que establece los “Lineamientos de política para promover la producción sostenible de biocombustibles en Colombia” descrita en el marco normativo del documento

Para el desarrollo de la investigación, la realización de pruebas de laboratorio, entre otros; se encuentra la Universidad El Bosque, quien tiene líneas y área de investigación, en este caso, la línea se encuentra en Agua, salud y ambiente; y el área en Energía: Proyectos de desarrollo, construcción y conversión de energía.

**Figura 9.**

*Organigrama escenarios académicos de investigación UEB*



Fuente: Amaya & González, 2021

La Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A), la cual cuenta con líneas de investigación, con un total de 120 investigadores. La Investigación en la U.D.C.A está orientada al desarrollo del conocimiento, de la ciencia, la tecnología y al avance de las ciencias aplicadas y ambientales, siendo de especial interés el estudio del ambiente, sin que excluya otros problemas relevantes.

## 7. Metodología

La metodología de esta investigación se basa en una estructura de los objetivos específicos, los cuales guiarán el proceso experimental, cada uno de estos está diseñado para responder a la pregunta de investigación y se divide en etapas permitiendo obtener resultados para alcanzar el objetivo general.

### 7.1 Metodología para el objetivo específico No. 1:

Identificar las características de aguas de recirculación acuícola asociadas a los requerimientos nutricionales de *Chlorella vulgaris* a través de un análisis físico químico.

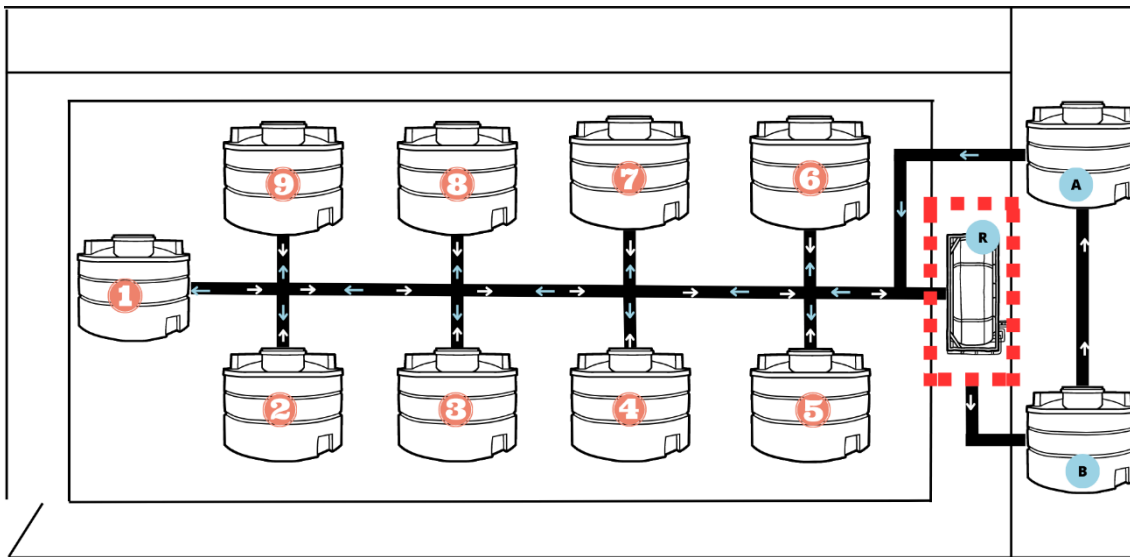
#### 7.1.1 Área de estudio

Las aguas de recirculación acuícola (ARA) empleadas en el presente estudio fueron obtenidas a partir del tanque de recolección de efluentes de un proceso de crianza de tilapia roja, mantenidas en un proceso

de recirculación, en el laboratorio “El Remanso”, de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá, Colombia. Inicialmente, se realizó una visita de reconocimiento, a fin de identificar los procesos de la crianza y los aspectos técnicos implementados en el proceso de recirculación. En la figura 10, se observa la disposición del sistema de recirculación implementado en el área en estudio.

**Figura 10.**

*Sistema de recirculación acuícola*



*Nota: 1-9: Tanques de cultivo de Tilapia Roja; B: Biofiltro; A: Tanque de almacenamiento; R: Tanque de recolección de efluentes*

### **7.1.2 Caracterización fisicoquímica de ARA (in situ)**

Para la caracterización de las muestras de agua de recirculación acuícola (ARA) se realizaron pruebas a nivel *in situ* empleando un medidor multiparámetro Hach, determinando los parámetros de pH, temperatura, turbidez, oxígeno disuelto, sólidos disueltos totales y salinidad. Adicionalmente, fueron colectadas muestras puntuales a partir de los efluentes del sistema piscícola en estudio. Para ello, las muestras se dispusieron en contenedores plásticos (V= 3L) y conservadas en frío hasta su traslado al laboratorio de química ambiental de la Universidad El Bosque.



### **7.1.3 Caracterización de la muestra (ex situ)**

La muestra colectada fue caracterizada para estimar los parámetros de amonio, nitratos, alcalinidad y sólidos sedimentables. Todos los parámetros fueron analizados conforme a Rice & Bridgewater en 2012. Adicionalmente, fueron verificados en el laboratorio los parámetros de pH, temperatura, conductividad, salinidad y sólidos disueltos totales.

#### **7.1.3.1 Determinación de amonio**

Para la determinación de amonio se disolvieron 0,2969 g de cloruro amónico anhidro en 100 mL de agua destilada (1 mL de esta solución equivale a 1 mg de ion amonio). Se preparó la solución de patrón de nitrógeno amoniacal, para esto, se diluyó 1 mL de la solución madre hasta 100 mL con agua destilada. 1 mL de esta solución equivale a 0,01 mg de ion amonio. Posteriormente, se realizó una curva de calibración con soluciones de concentración conocida en un rango de 1-10 mg/L (ver Anexo 1).

En un tubo de ensayo en vidrio de fondo redondo se añadieron 5 mL de la muestra de agua y 50 µL de solución de sulfato de zinc al 10% y se agitó. Posteriormente se agregaron 50 µL de hidróxido de sodio 6N para obtener un pH de 10,5 (aproximadamente). Se dejó reposar la muestra tratada para que sedimentara el precipitado y el líquido quedara sobrenadante incoloro y transparente. Se tomaron 5 mL del líquido sobrenadante, se agregaron 100 µL de solución de tartrato sódico potásico y se agitó. Se añadieron 100 µL del reactivo Nessler y se agitó, luego de 10 minutos se leyó en el espectrofotómetro a 410 nm.

#### **7.1.3.2 Nitratos**

Para la determinación de nitratos se tomaron 5 mL de la muestra de agua de recirculación, se agregaron a un envase del sistema de filtración al vacío, se aplicó una membrana de nitrocelulosa. Se activó el sistema y con la muestra filtrada se tomó una cubeta de cuarzo y se depositó una parte del agua filtrada; posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 220 y 275 nm. Se realizó la curva de calibración con KNO<sub>3</sub>, en una de concentración de 1-10 mg/L (Ver Anexo 2).

### 7.1.3.3 Alcalinidad

Se transfirieron 9,5mL de ácido sulfúrico a una bureta y se añaden 100mL de agua de la muestra en un Erlenmeyer y se introduce la barra magnética, se inicia la agitación y se procede a titular con la disolución de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 0,02N y se registra el volumen empleado en la titulación revisando que el pH llegue a 3,7. La alcalinidad (en mg/l de  $CaCO_3$ ) se obtiene realizando la siguiente operación:

#### Ecuación 1.

Calculo titulación alcalinidad

$$\text{Alcalinidad} = \frac{(V \text{ gastado mL } H_2SO_4)(N \text{ } H_2SO_4)(50.000)}{V \text{ muestra}}$$

### 7.1.3.4 Sólidos sedimentables

Para determinar los sólidos sedimentables se agita suavemente la muestra, se vertió la muestra en un cono Imhoff de 1 L que tiene una escala graduada en milímetros, se dejó sedimentar hasta por 1 h, tiempo después del cual se registró el volumen y se reportó la diferencia de los datos.

## 7.2 Metodología para el objetivo específico No. 2

Determinar las condiciones óptimas de producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* a partir de aguas de recirculación acuícola, estableciendo simultáneamente la eficiencia de remoción de nutrientes a escala laboratorio.

### 7.2.1 Cultivo inicial microalga

La cepa de *Chlorella vulgaris* fue obtenida a partir de un cultivo previamente establecido en el laboratorio de bioprocesos de la Universidad El Bosque, sede Chía. Para garantizar un control previo al cultivo de los tratamientos, se construyó un reactor de 500 mL. Se determinó la capacidad del reactor mediante el uso de una probeta como un instrumento de medición de volumen. El reactor fue esterilizado

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

previamente. Posteriormente el 90% del reactor se llenó con agua destilada (previamente esterilizada en autoclave) y el 10% restante de biomasa de la microalga, con el agitador se homogenizó el agua y la biomasa y se adicionó la cantidad exacta de fertilizante NPK (por cada 1L se adicionó 1g) por lo que se agregó 1g de fertilizante y así se permitió el crecimiento de la biomasa. Fue necesario tener condiciones de oxigenación y luz, por lo tanto, se suministró oxígeno por medio de un motor de pecera y una manguera, se ubicó el reactor cerca de una fuente de luz.

### **7.2.2 Control y evaluación de crecimiento**

Se llevó a cabo un estudio para controlar de crecimiento de *Chlorella vulgaris* mediante tres tratamientos por triplicado que consistían en diferentes concentraciones de ARA de 100 mL. El primer tratamiento contenía una concentración del 25% de muestra, es decir, 25 mL de ARA, 10 mL de microalga y 65 mL de agua destilada (T1-1, T1-2, T1-3); el segundo, una concentración del 50% de muestra, 50mL de ARA, 10mL de microalga y 40 mL de agua destilada (T2-1, T2-2, T2-3); y el tercero, 90 mL de ARA y 10mL de microalga (T3-1, T3-2, T3-3). Durante dos semanas, se controló la densidad óptica de cada uno de los tratamientos por triplicado utilizando un espectrofotómetro a 680 nm. Se estableció un reactor de control de 90 mL de agua destilada, 10mL de microalga y 0,1g de fertilizante NPK. Todos los ensayos fueron realizados a temperatura ambiente. La concentración de amonio y nitratos fue determinada a los 0, 7 y 15 d de operación.

Después de realizar la evaluación de los diferentes tratamientos y condiciones de cultivo se decidió construir un reactor de 500mL con agua de recirculación acuícola.

### **7.2.3 Remoción de compuestos nitrogenados**

Para la determinación de la remoción de concentraciones de amonio y nitratos de la muestra después de los tres tratamientos, se realizó la misma metodología con todos los tratamientos de la sección 7.1.3.1 y 7.1.4.1 del presente documento. El porcentaje de remoción fue calculado conforme a la siguiente ecuación:

## Ecuación 2.

Calculo porcentaje de remoción

$$\% \text{ remoción (amonio o nitrato)} = \frac{\text{Concentración inicial} - \text{concentración final}}{\text{Concentración inicial}} \times 100$$

A partir de los datos obtenidos en cada uno de los tratamientos evaluados asociados a la concentración de compuestos nitrogenados (amonio y nitratos), fue realizado un análisis estadístico con la finalidad de establecer si entre los tratamientos aplicados existía una diferencia estadísticamente significativamente. Para ello, inicialmente fue verificada la normalidad de la distribución de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilks. Posteriormente, los datos se compararon utilizando el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis fueron realizados usando el software R (Versión 4.2.2).

### 7.3 Metodología para el objetivo específico No. 3

Establecer la eficiencia de un proceso de transesterificación para la producción de biodiésel empleando biomasa de *Chlorella vulgaris*.

#### 7.3.1 Obtención de biomasa

Se logró obtener una biomasa semihúmeda de 1,5 mL después de centrifugar la solución de cultivo de 250 mL a 5200 rpm durante 15 minutos para separarla del medio de cultivo. La biomasa obtenida fue secada en una estufa con circulación de aire a 30°C por un periodo de cuatro (4) días.

#### 7.3.2 Extracción del aceite

Para la extracción de lípidos se añadieron 0,5 g de biomasa de *Chlorella vulgaris* en un vaso precipitado y se agregaron 20 mL del solvente orgánico (etanol) por triplicado, cabe resaltar que el último proceso se realizó con 0,28 g de biomasa y 11,2 mL de etanol. Se sujetaron los vasos en el baño ultrasónico para someterlos a ultrasonidos durante 20 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó la

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

muestra a 2000 rpm durante 5 minutos. Se recolectó la fase orgánica con ayuda de una micropipeta Al descartar la fase superior se evaporó el solvente en un rotaevaporador a 60°C y se secó la fracción lipídica hasta alcanzar un peso constante en una estufa con circulación de aire a 30°C (Dos Santos et al., 2015).

### 7.3.3 Transesterificación

A partir de la fracción lipídica obtenida en la sección 7.3.2, se agregaron 1,80 mL de etanol (95%) mezclándolo con hidróxido de potasio (concentración), empleado como catalizador. Este paso es fundamental acelerar la reacción. Esta mezcla se homogenizó durante 10 minutos a una temperatura de 70°C.

Los aceites están hechos de triglicéridos (glicerina esterificada con 3 ácidos grasos) que reaccionan con el alcohol, convirtiéndolos en diglicéridos y monoglicéridos, por lo tanto, al tener densidades diferentes los ésteres flotan y se separa la glicerina del biodiésel, formándolo para su uso en biocombustibles (Liu et al., 2017).

## 8. Plan de trabajo

**Tabla 4.**

*Plan de trabajo*

Actividad	Mes				
	1	2	3	4	5
<b>Objetivo específico 1</b>					
Recolección de muestras		X			
Análisis de parámetros <i>in situ</i> y <i>ex situ</i>		X			
Análisis físicoquímico de nitratos, amonio, alcalinidad, sólidos sedimentables, entre otros		X	X	X	
<b>Objetivo específico 2</b>					
Experimentalmente, realizar tres tratamiento con <i>Chlorella vulgaris</i> en las aguas de recirculación (Escala de laboratorio)		X			

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

Cultivo de <i>Chlorella vulgaris</i> en ARA de acuerdo con el tratamiento que tuviera las condiciones adecuadas para la producción de biomasa	X	X	X
Análisis de nitratos y amonio para obtener el porcentaje de remoción de los tratamientos evaluados	X	X	
<b>Objetivo específico 3</b>			
Obtención de biomasa a partir de centrifugación y secado			X
Una vez obtenida la biomasa se realiza el proceso de extracción de lípidos por ultrasonido			X
Proceso de transesterificación			X

*Nota: Elaboración propia*

## 9. Resultados, análisis y discusión

Los resultados de esta investigación se presentan en función de los objetivos específicos establecidos anteriormente. La división por objetivos permite presentar los hallazgos obtenidos de manera organizada y sistemática. Cada objetivo está diseñado para responder a la pregunta de investigación, de esta manera, los resultados están enfocados para ofrecer una visión detallada del alcance y logros del trabajo experimental realizado.

### 9.1 Resultados objetivo específico No. 1

Identificar las características de aguas de recirculación acuícola asociadas a los requerimientos nutricionales de *Chlorella vulgaris* a través de un análisis físico químico.

#### 9.1.1 Caracterización fisicoquímica ARA (in situ)

En la figura 11 se puede observar el sistema de recirculación, el cual está organizado por 9 tanques independientes de cultivo de la especie Tilapia Roja, para obtener un detalle de los parámetros de los tanques ver anexos del 3 al 12.

**Figura 11.**

Sistema de recirculación acuícola



*Nota: Elaboración propia. 1-9: Tanques de cultivo de Tilapia Roja; B: Biofiltro; A: Tanque de almacenamiento; R: Tanque de recolección de efluentes.*

La siguiente tabla presenta los parámetros del efluente *in situ*, donde se detallan las cantidades y unidades de estos, siendo de importancia para la evaluación de la calidad del agua de recirculación.

**Tabla 5.**

*Parámetros determinados a nivel in situ*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
<b>pH</b>	7,06	-
<b>Temperatura</b>	27,89	°C
<b>Turbidez</b>	26,4	NTU
<b>Oxígeno disuelto</b>	5,47	mg/L
<b>Sólidos disueltos totales</b>	190	mg/L
<b>Salinidad</b>	0,14	ppt

*Nota: Elaboración propia*

### 9.1.2 Caracterización de ARA (*ex situ*)

La siguiente tabla presenta los parámetros del efluente *ex situ*, donde se detallan las cantidades y unidades de estos, siendo de importancia para la evaluación de la calidad del agua de recirculación.

**Tabla 6.**

*Parámetros efluente ex situ*

Parámetro	Cantidad	Unidad
pH	6,10	-
Temperatura	25	°C
Conductividad	289	μS/cm
Salinidad NaCl	0,143	ppt
Salinidad práctica	0,176	ppt
Sólidos disueltos totales	175	mg/L

*Nota: Elaboración propia*

Con base en los resultados presentados de los parámetros de la tabla 5 y 6 se puede observar que el pH del agua de recirculación acuícola es ácido-neutro, con valores entre 6,10 y 7,06 unidades. Es importante destacar que el pH del agua de recirculación acuícola es un parámetro que puede influir en el crecimiento de las microalgas, este valor de pH puede ser beneficioso para el crecimiento de *Chlorella vulgaris* ya que esta prefiere un pH de ácido a neutro para crecer en condiciones óptimas (Urbano, 2019), esto se debe a que la microalga es capaz de regular su pH interno para evitar la acumulación de ácidos orgánicos en su medio y según Ophtanie, 2020 el rango de pH de 5 – 8,5 favorece la remoción de elementos orgánicos e inorgánicos (Ophtanie, 2020). En ambientes de pH alto, la microalga puede experimentar acidosis interna debido a la acumulación de protones limitando su crecimiento y metabolismo.



Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

Por otro lado, la temperatura fue de 25°C, siendo dentro del rango óptimo para el crecimiento de la microalga, igualmente se debe tener en cuenta que la temperatura puede variar según la ubicación geográfica, la estación del año y las condiciones ambientales del sistema de producción (Urbano, 2019; Vega Ayala, 2022).

En tercer lugar, la salinidad es baja, con un valor de NaCl de 0,1433 ppt y una salinidad práctica de 0,176 ppt, esto puede ser beneficioso para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, ya que se ha demostrado que esta especie prefiere ambientes de agua dulce con bajo contenido de sales. Sin embargo, este parámetro puede variar según la fuente de agua utilizada y las prácticas de manejo del cultivo (Antonio et al., 2011).

En lo que se refiere a la cantidad de sólidos disueltos se puede observar que es moderadamente alto el valor, siendo de 175 mg/L, lo que puede tener un impacto en la disponibilidad de nutrientes, se debe considerar que la cantidad y tipo de nutrientes disponibles en el agua son críticos para el crecimiento de las microalgas, ya que necesitan nitrógeno y fósforo para su metabolismo y crecimiento (Bermúdez Pinzón & Gallegos, 2019).

La turbidez hallada en la medición de parámetros in situ, muestra un valor de turbidez de 26,4 NTU, esto puede considerarse aceptable para el cultivo de *Chlorella vulgaris* ya que está por debajo del valor límite recomendado de 30 NTU para aguas de acuicultura (Boyd & McNevin, 2021).

Por otro lado, el oxígeno disuelto es un indicador importante, un bajo nivel puede limitar la tasa de crecimiento y producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*. En este caso, el valor de oxígeno disuelto es de 5,47 mg/L, es decir, es aceptable para el cultivo de *Chlorella vulgaris*, ya que está dentro del rango recomendado (Boyd & McNevin, 2021; Stickney, 2018).

A continuación, a modo de comparar con respecto a otros autores, se presenta una tabla con los parámetros recomendados de aguas acuícolas para cultivar *Chlorella vulgaris* teniendo la relación de calidad de agua y requerimientos de la microalga.

**Tabla 7.**

*Parámetros agua de acuicultura para cultivar Chlorella vulgaris*

<b>Parámetro</b>	<b>Rango deseado</b>	<b>Unidad</b>
<b>pH</b>	6,5-8,5	-
<b>Sólidos disueltos</b>	<2500	mg/L
<b>Oxígeno disuelto</b>	4,0-8,0	mg/L
<b>Salinidad</b>	0,2 - 2	ppt
<b>Turbidez</b>	30	NTU
<b>Temperatura</b>	20-30	°C
<b>Nitrato</b>	10 – 50	mg/L

Tomado de: Boyd & McNevin, 2021; Stickney, 2018

Con base en los datos obtenidos y revisión bibliográfica se puede afirmar que los valores están dentro del rango óptimo para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*. La evaluación fisicoquímica del agua de recirculación acuícola asociadas a los requerimientos nutricionales de *Chlorella vulgaris* es fundamental para el diseño y operación de sistemas de producción de biodiésel. El pH es adecuado para el cultivo de la especie y la temperatura de 25°C es adecuada para su crecimiento. La salinidad también se encontró en un rango óptimo. En cuanto a la alcalinidad, aunque es ligeramente baja, puede ser corregida mediante adición de bicarbonato de sodio u otra sustancia alcalinizante.

Es importante tener en cuenta que el éxito del cultivo de *Chlorella vulgaris* no solo depende de las condiciones del agua, sino también de factores como la luz, aireación y disponibilidad de nutrientes, por lo tanto, se deben realizar estudios adicionales para determinar si estas aguas son adecuadas para el crecimiento de la microalga, por lo que se realizaron tratamientos con diferentes condiciones de cultivo para identificar cuáles son las mejores para la producción de biomasa.

### 9.1.3 Alcalinidad

Volumen gastado: 0,7 mL

$$\text{Alcalinidad} = \frac{(0,7 \text{ mL } H_2SO_4)(0,02 \text{ N } H_2SO_4)(50.000)}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{Alcalinidad} = 7 \text{ mg CaCO}_3/\text{mL}$$

Se tiene una alcalinidad de 0,7 mg CaCO<sub>3</sub>/L, que se consideran moderados. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la alteración del pH en el medio de cultivo de *Chlorella vulgaris* puede llegar a afectar su crecimiento, por lo que se debe optar por mantener un pH neutro en constante monitoreo (Gómez Luna et al., 2021).

#### **9.1.4 Sólidos sedimentables**

El volumen de los sólidos sedimentables en el cono Imhoff fue 0,9 mL/L. Según la resolución 0631 de 2015, el valor promedio de los sólidos sedimentables es de 5mL/L, esto está significativamente por debajo del límite establecido por el ministerio de ambiente, esto indica que el agua de recirculación acuícola presenta baja carga de solidos suspendidos, lo que es altamente beneficiosos para la eficiencia y el rendimiento del proceso de cultivo (Arcila et al., 2020).

### **9.2 Resultados objetivo específico No 2**

Determinar las condiciones óptimas de producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* a partir de aguas de recirculación acuícola, estableciendo simultáneamente la eficiencia de remoción de nutrientes a escala laboratorio.

#### **9.2.1 Obtención de inóculo**

Las pruebas preliminares para la obtención de biomasa se realizaron en un sistema de 1000 ml. En la siguiente tabla se presenta la densidad óptica obtenida del día de cultivo y transcurridos 8 días del cultivo en agua destilada con adición de fertilizante NPK (1 g). Esto a partir de la lectura de espectrofotometría a 680 nm, teniendo valores de absorbancia como:

**Tabla 8.**

*Densidad óptica*

	(A) a 680 nm	
	Día 15	Día 30
<b>Cultivo (agua destilada + NPK)</b>	2,277 A	1,75 A

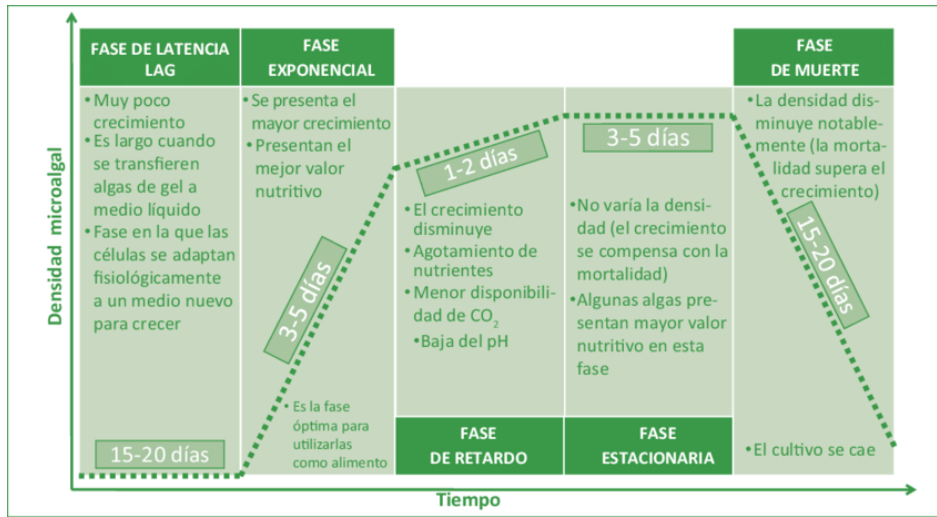
*Nota:* Elaboración propia

Según (Baldiris Navarro et al., 2019), quienes realizaron un estudio donde se aplicó un cultivo de *Chlorella vulgaris* en aguas residuales de camaroneras, establecieron un control sin agua residual con el medio Conway, este tuvo una densidad óptica entre 0,75 a 1 A en una longitud de onda de 680 nm en un periodo de cuatro (4) días, siendo correspondiente al valor obtenido, ya que en este periodo de tiempo se encontraba en la fase exponencial. Esto indica que en el presente estudio hubo un crecimiento más rápido y una mayor producción de biomasa en comparación con el estudio de Baldiris Navarro.

### 9.2.2 Tratamientos aplicados

Para analizar el crecimiento de *Chlorella vulgaris* se tiene en cuenta que las microalgas pasan por cinco fases o etapas de desarrollo distintas. En la fase de ajuste, se adaptan a nuevas condiciones de cultivo, lo que resulta en un crecimiento poblacional neto mínimo. En la fase exponencial, la biomasa se duplica debido a la asimilación de nutrientes del medio y al proceso de reproducción. La fase de retardo se produce cuando la tasa de crecimiento se reduce como resultado de la disminución de nutrientes, lo que aumenta el tiempo para duplicar la población. Esta fase es la que tiene el mayor valor nutritivo y densidad poblacional. En la fase estacionaria, las densidades celulares se mantienen constantes y no hay aumento neto de la población, y la tasa de crecimiento se compensa con la tasa de mortalidad celular. Finalmente, en la fase de declinación, la tasa de crecimiento es superada por la tasa de mortalidad de la población (Urbano, 2019).

**Figura 12.**  
Fases de desarrollo



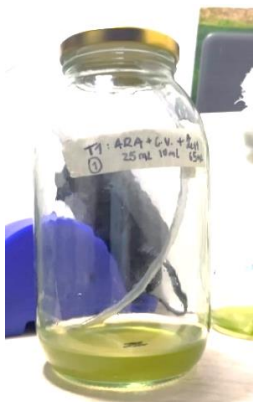
Tomado de: Ospina, et al., 2011

A continuación, se presenta la figura 13 con los tratamientos aplicados T1, T2 y T3 por triplicado transcurridos 7 días:

**Figura 13.**  
Tratamientos T1, T2 y T3

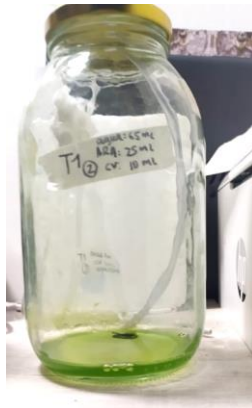
(A)

T1-1 transcurridos 7 días



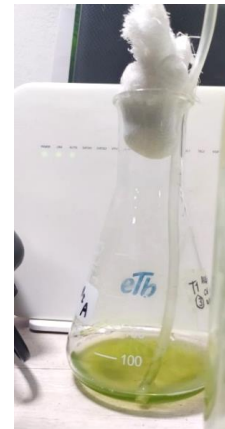
(B)

T1-2 transcurridos 7 días



(C)

T1-3 transcurridos 7 días

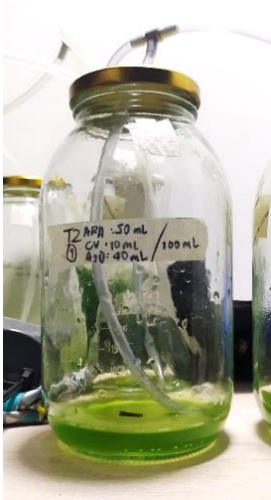


Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

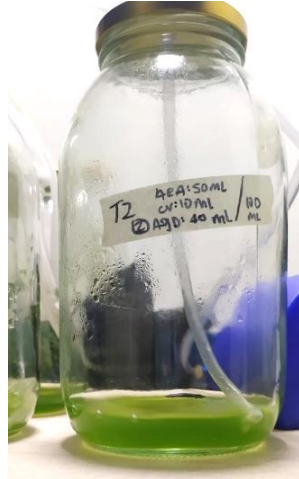
**(D)**

*T2-1 transcurridos 7 días*



**(E)**

*T2-2 transcurridos 7 días*



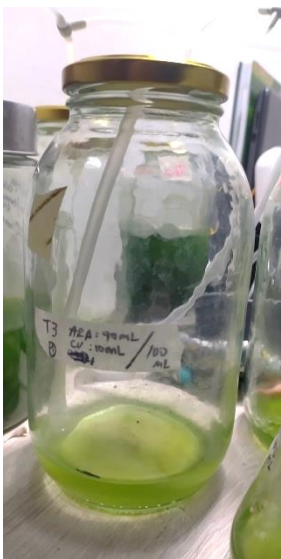
**(F)**

*T2-3 transcurridos 7 días*



**(G)**

*T3-1 transcurridos 7 días*



**(H)**

*T3-2 transcurridos 7 días*



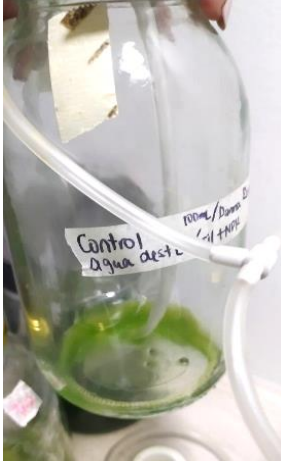
**(I)**

*T3-3 transcurridos 7 días*



(J)

Control 90% agua destilada



Nota: Elaboración propia

Según la figura 13, se puede analizar que en el día 7 las microalgas se encontraban en la fase de crecimiento exponencial. Sin embargo, se observa que los tratamientos T1-1, T1-3 y T3-1 tuvieron una aireación intermitente debido a la inconsistencia en la intensidad del motor. Estos tratamientos no mostraron un color verde tan intenso en comparación con los demás tratamientos. Esto indica que si adaptación al medio de cultivo tomó más tiempo y también consumieron más agua en comparación con los tratamientos restantes.

### 9.2.3 Evaluación de crecimiento con densidad óptica

En la siguiente tabla se presenta la densidad óptica obtenida del día de cultivo con agua de recirculación acuícola y transcurridos siete (7) días. Esto a partir de la lectura de espectrofotometría a 680 nm, teniendo valores de absorbancia como:

**Tabla 9.**

*Densidad óptica tratamiento T1, T2, T3*

Densidad óptica	
Tratamiento	DO (680 nm)

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

	<b>Día 0</b>	<b>Día 7</b>	<b>Día 15</b>
<b>T1-1</b>	0,155	0,295	0,472
<b>T1-2</b>	0,139	0,393	0,629
<b>T1-3</b>	0,128	0,590	0,944
<b>T2-1</b>	0,167	0,466	0,763
<b>T2-2</b>	0,160	0,339	0,500
<b>T2-3</b>	0,149	0,597	0,632
<b>T3-1</b>	0,181	0,742	2,099
<b>T3-2</b>	0,160	0,545	2,144
<b>T3-3</b>	0,168	0,686	2,055
<b>Control</b>	0,160	1,799	3,240

*Nota:* Elaboración propia

Dado lo anterior, el tratamiento T3 tuvo un mejor rendimiento en términos de densidad óptica en comparación con los otros tratamientos y el control. La densidad óptica del tratamiento T3 fue mayor en el día 15 en comparación con el día 7, lo que sugiere que las microalgas estaban en la fase exponencial de crecimiento durante el día 15. Es por esto, que se optó por el cultivo de la microalga en las condiciones del tratamiento 3 (90% agua ARA y 10% *Chlorella vulgaris*) presentando un crecimiento óptimo como se muestra en la tabla 10:

**Tabla 10.**

*Densidad óptica ARA*

	<b>(A) a 680 nm</b>	
	<b>Día 15</b>	<b>Día 30</b>
<b>Cultivo (ARA)</b>	2,127 A	1,89 A

*Nota:* Elaboración propia

Estos resultados muestran una tendencia positiva en comparación con los hallazgos de otros autores. Por ejemplo, en el estudio realizado por Vega Ayala (2022), se obtuvo una densidad óptica de 0,376 A en el día 0, la cual aumentó de manera exponencial hasta alcanzar un valor máximo de 1,708 A en el día 10.



Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

Sin embargo, en los días posteriores, la densidad óptica disminuyó gradualmente, llegando a 1,665 A en el día 12 de cultivo. Según los datos de la Tabla 10, se observa que el día de mayor densidad óptica en este estudio fue el día 15, con una absorbancia de 2,127. Es relevante destacar que el estudio de Vega Ayala utilizó un cultivo previamente autoclavado, mientras que en el presente estudio no se realizó la autoclavación del agua residual acuícola, lo que permitió mantener sus características iniciales. (Vega Ayala, 2022). De los demás tratamientos, se puede inferir que el 1 y 2 presentaron una baja concentración de agua de recirculación y una mayor proporción de agua destilada tuvieron un menor crecimiento debido a la alta demanda nutricional de las microalgas, esto es posible ya que pudieron haber llegado a la fase de retardo o estacionaria, donde la tasa de crecimiento se reduce y las densidades celulares se mantienen constantes o disminuyen, eso puede deberse a la disminución de nutrientes en el medio de cultivo, lo que limita la capacidad de *Chlorella vulgaris* para crecer y reproducirse. Un aumento en la densidad poblacional también puede contribuir a la disminución de nutrientes y al agotamiento del medio de cultivo, lo que a su vez lleva a la muerte celular y la posterior desecación del cultivo (Martínez Solís, 2018).

La alta concentración de agua de recirculación acuícola puede implicar una mayor concentración de compuestos nitrogenados, como el amonio y los nitratos que fueron utilizados por las microalgas para su crecimiento y proliferación (Yasar et al., 2013). Por lo tanto, el tratamiento 3 presentó una mayor proporción de agua de recirculación acuícola sin alguna concentración de agua destilada, lo que permitió una disponibilidad constante de nutrientes en el medio de cultivo durante un periodo prolongado de tiempo, teniendo un buen crecimiento de las microalga como se demuestra en la tabla 9. Esto es consistente con lo reportado por (Prieto Márquez et al., 2020) el cual reportó que una baja concentración de microalgas en el medio de cultivo en combinación con una alta concentración de nutrientes puede promover un crecimiento óptimo y prolongando. Además, algunos estudios han demostrado que la presencia de una cantidad adecuada de nutrientes en el medio de cultivo es crucial para el crecimiento y la supervivencia de las microalgas, ya que la escasez de nutrientes puede limitar su crecimiento y llevar a su muerte (Ophtanie, 2020). Por lo tanto, es importante encontrar un equilibrio entre la concentración de microalgas y nutrientes en el medio de cultivo para obtener un crecimiento óptimo y así, una buena remoción de nutrientes.

### 9.2.4 Concentración de amonio y nitratos

Para entrar en contexto sobre como *Chlorella vulgaris* consume los nutrientes a remover propuestos, es importante aclarar que la microalga puede utilizar nitrato y amonio como fuente de nitrógeno para la síntesis de proteínas y otros componentes celulares. La ruta metabólica que utiliza esta microalga para asimilar el nitrato es conocida como la vía del ácido tricarbóxico o TCA, en esta ruta el nitrato es reducido a nitrito por la enzima nitrato reductasa, y luego el nitrito es reducido a amonio por la enzima nitrito reductasa, el amonio se incorpora en la biosíntesis de aminoácidos y proteínas a través de la ruta de biosíntesis de aminoácidos. Pasa asimilar el amonio *Chlorella vulgaris* usa la enzima glutamato deshidrogenasa, que cataliza la conversión del amonio a glutamato, el glutamato se transforma en otros aminoácidos como alanina, aspartato y asparagina, posteriormente en proteínas (Losada, 1974; Vega Ayala, 2022).

Las tablas 11 a 14 corresponden a las remociones de concentración de amonio al día 7 y día 15, donde se muestra el promedio de porcentaje de remoción de cada uno de los tratamientos con base en la concentración inicial y concentración final:

**Tabla 11.**

*Remoción de la concentración de amonio día 7*

Tratamientos	Amonio (mg/L) día 7		%	Promedio	Desviación estándar
	Inicial	Final			
<b>T1-1</b>	2,52	1,95	22,76	37,28	14,73
<b>T1-2</b>	2,52	1,21	52,20		
<b>T1-3</b>	2,52	1,59	36,89		
<b>T2-1</b>	4,04	0,93	76,94	65,89	12,06
<b>T2-2</b>	4,04	1,89	53,01		
<b>T2-3</b>	4,04	1,30	67,73		
<b>T3-1</b>	9,09	2,38	73,80	78,38	5,30
<b>T3-2</b>	9,09	2,08	77,15		

<b>T3-3</b>	9,09	1,44	84,19
-------------	------	------	-------

Nota: Elaboración propia

**Tabla 12.**

Remoción de la concentración de amonio día 15

Tratamiento	Amonio (mg/L) día 15		% remoción	Promedio	Desviación estándar
	Inicial	Final			
<b>T1-1</b>	2,52	1,24	51,03	48,18	7,90
<b>T1-2</b>	2,52	1,15	54,27		
<b>T1-3</b>	2,52	1,53	39,25		
<b>T2-1</b>	4,04	0,56	86,14	72,34	12,98
<b>T2-2</b>	4,04	1,60	60,37		
<b>T2-3</b>	4,04	1,19	70,49		
<b>T3-1</b>	9,09	1,97	78,29	81,95	3,49
<b>T3-2</b>	9,09	1,34	85,25		
<b>T3-3</b>	9,09	1,61	82,30		

Nota: Elaboración propia

**Tabla 13.**

Remoción de la concentración de nitratos día 7

Tratamiento	Nitratos (mg/L) día 7		% Remoción	Promedio	Desviación estándar
	Inicial	Final			
<b>T1</b>	15,09	11,41	24,34	13,82	9,14
<b>T1</b>	15,09	13,68	9,31		
<b>T1</b>	15,09	13,91	7,81		
<b>T2</b>	24,14	15,24	36,84	30,08	12,95
<b>T2</b>	24,14	14,90	38,25		
<b>T2</b>	24,14	20,48	15,14		
<b>T3</b>	54,32	47,19	13,11	44,78	33,42

<b>T3</b>	54,32	31,78	41,50
<b>T3</b>	54,32	11,00	79,73

Nota: Elaboración propia

**Tabla 14.**

Remoción de la concentración de nitratos día 15

Tratamiento	Nitratos (mg/L) día 15		% Remoción	Promedio	Desviación estándar
	Inicial	Final			
<b>T1-1</b>	15,09	10,58	29,82	27,42	2,65
<b>T1-2</b>	15,09	11,38	24,56		
<b>T1-3</b>	15,09	10,88	27,87		
<b>T2-1</b>	24,14	15,14	37,26	37,39	1,13
<b>T2-2</b>	24,14	14,82	38,58		
<b>T2-3</b>	24,14	15,37	36,32		
<b>T3-1</b>	54,32	35,39	34,84	49,04	15,26
<b>T3-2</b>	54,32	28,73	47,11		
<b>T3-3</b>	54,32	18,91	65,18		

Nota: Elaboración propia

Dado lo anterior, este proceso se ve reflejado al obtener una reducción de nitrato en el día 7 de un 13,82%, 30,08% y 44,78% en los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente, comparado con el día 15 que tuvo un 27,42%, 37,39% y 49,04% en los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente. Por otro lado, el amonio tuvo un porcentaje de remoción en el día 7 de 37,28%, 65,89%, 78,37% en el tratamiento 1, 2 y 3 respectivamente, comparado con el día 15 donde el porcentaje es mayor, obteniendo un 48,18%, 72,33% y 81,95%. Dado lo anterior, el tratamiento 3 en el día 15 además de tener la mayor producción de biomasa también redujo la concentración de nutrientes, este tratamiento es el adecuado para reducir las concentraciones de nitrato, ya que pasó de una concentración inicial de 54,32 mg/L a una concentración final de 18,91 mg/L y la concentración de amonio pasó de 9,09 mg/L a 1,34 mg/L. Esto es positivo ya que el amonio es tóxico cuando los niveles superan los 2,0 mg/L siendo este el máximo nivel de tolerancia

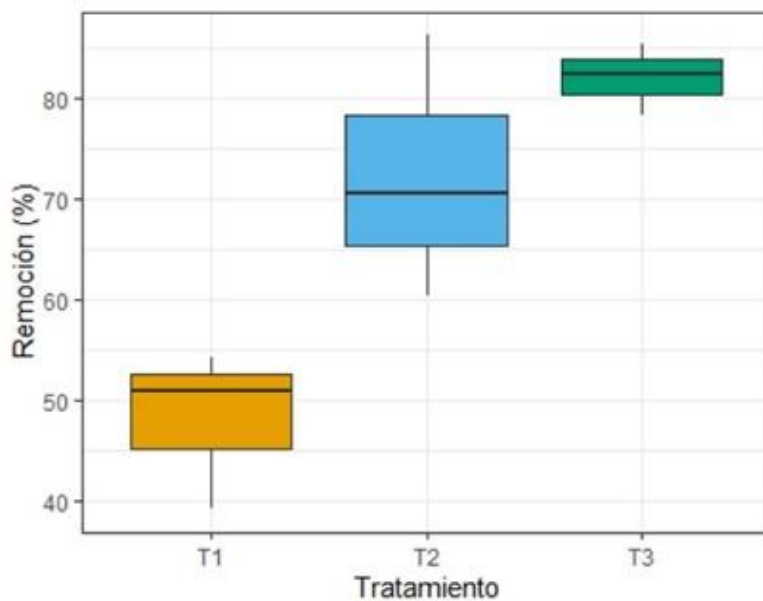
Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

de la especie Tilapia Roja. La reducción de las concentración de los nutrientes son evidencia de que la microalga está utilizando estos nutrientes para su crecimiento, lo que es beneficioso para la acuicultura, ya que reduce los riesgos de toxicidad para los peces (“Amonio en el cultivo del tilapia”, 2013). El nitrato es tóxico para los peces, sin embargo, las altas concentraciones de amonio son más críticas para la especie, siendo una combinación peligrosa para la supervivencia de los organismos y si se reduce el amonio, el nitrato no representaría un riesgo mayor para el desarrollo de los peces, disminuyendo problemas de salud, alteraciones en la tasa de crecimiento, pérdida de la resistencia a enfermedades y su muerte. Por lo tanto, es importante monitorear regularme los niveles de compuestos nitrogenados en el agua de acuicultura, por lo que, de acuerdo con los resultados obtenidos, el proceso de remoción de nitrato y amonio mediante el uso de *Chlorella vulgaris* es altamente efectivo (Valenzuela Vargas, 2014).

**Figura 14.**

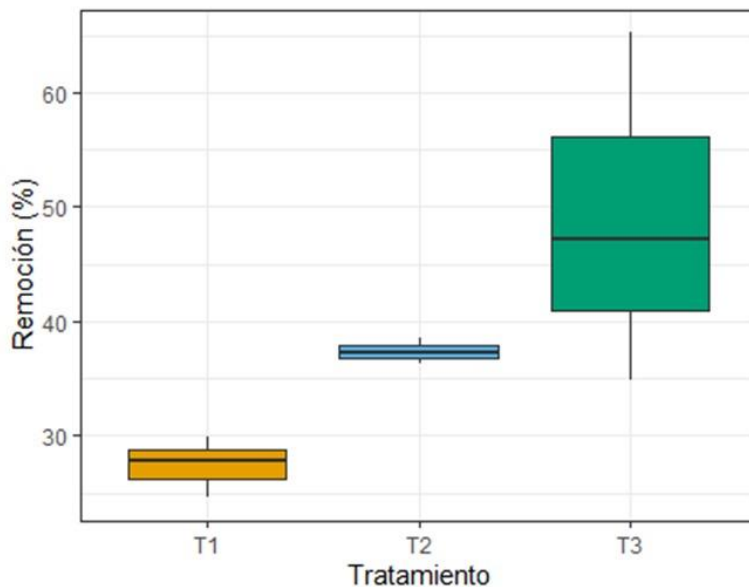
*Gráfica remoción amonio día 15*



*Nota: Elaboración propia*

**Figura 15.**

Gráfica remoción nitratos día 15



Nota: Elaboración propia

Se presenta una gráfica de boxplot para el tratamiento 3 en un estudio de remoción de nitratos. El eje y de la gráfica representa el porcentaje de remoción, mientras que el eje x representa los diferentes tratamientos. En el tratamiento 1 (T1), se observa que el porcentaje de remoción de nitratos se encuentra en el rango del 24% al 29%. El promedio de remoción en el T1 fue de 27,42%, con una desviación estándar de 2,65. En el tratamiento 2 (T2), el porcentaje de remoción oscila entre el 36% y el 38%. El promedio de remoción en el T2 fue de 37,39%, con una desviación estándar de 1,13. Por último, en el tratamiento 3 (T3), se registró una variación más amplia, con un rango de remoción que va desde 34% hasta 65%. El promedio de remoción en el T3 fue de 49,04%, con una desviación estándar de 15,26.

Además, se presenta una gráfica similar para el amonio. En el tratamiento 1 (T1), se evidencia una remoción de amonio que se sitúa entre el 39% y el 54%. El promedio de remoción en el T1 fue de 48,18%, con una desviación estándar de 7,90. En el tratamiento 2 (T2), el porcentaje de remoción de amonio oscila entre el 70% y el 86%. El promedio de remoción en el T2 fue de 72,34%, con una desviación estándar de 12,98. Por último, en el tratamiento 3 (T3), se registra una remoción de amonio que va desde el 78% hasta el 85%. El promedio de remoción en el T3 fue de 81,95%, con una desviación estándar de 3,49, representando el tratamiento más eficiente, este presentó diferencias estadísticamente significativas

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

( $p < 0,05$ ) en comparación con los demás tratamientos, tanto para remoción de amonio, como para remoción de nitratos. Estos datos adicionales sobre los promedios y desviaciones estándar proporcionan información sobre la tendencia central y la dispersión de los datos en cada tratamiento, lo cual es relevante para una evaluación más completa de los resultados del estudio.

Es importante destacar que el monitoreo regular de los niveles de compuestos nitrogenados en el agua de acuicultura es esencial para garantizar la salud y supervivencia de los organismos acuáticos. La utilización de nutrientes es una alternativa efectiva y sostenible para la reducción de nitrato y amonio en aguas acuícolas. En Colombia, el rango deseado de las concentraciones de amonio y nitratos son de  $>2\text{mg/L}$  y  $>25\text{ mg/L}$  respectivamente, representando los límites recomendados en las aguas de recirculación para garantizar un ambiente adecuado para el cultivo de especies acuáticas.

### **9.3 Resultados objetivo específico No. 3**

Establecer la eficiencia de un proceso de transesterificación para la producción de biodiésel empleando biomasa de *Chlorella vulgaris*

Tras llevar a cabo el cultivo y posterior cosecha de la microalga *Chlorella vulgaris*, se procedió a cuantificar la cantidad de biomasa obtenida. En concreto, se registró un peso de 1,2996 g de biomasa semihúmeda. Esta biomasa se empleó como materia prima para la obtención de biodiésel, siguiendo un proceso que incluía la adición de 20 mL de etanol, tal y como se indica en la figura 16.

#### **Figura 16.**

*Mezcla biomasa y etanol*



*Nota: Vasos 1 y 2 (0,5g:20mL de solvente); vaso 3 (0,28g:11,2mL de solvente)*

Comenzando por la producción de biomasa, es importante tener en cuenta que la cantidad que se obtiene estuvo influenciada por diversos factores, como la fase de crecimiento de las microalgas, la densidad de cultivo, el medio de cultivo y las condiciones ambientales. Al obtener 1,2996 g de biomasa semihúmeda se debe considerar que al no hacer la cosecha de *C. vulgaris* en su fase exponencial o declive, sino que se realizó dos meses después de su cultivo, es posible que haya alcanzado la fase de mortalidad, donde la tasa de crecimiento y producción de biomasa disminuyeron, lo que explicaría la cantidad de biomasa obtenida.

En la figura 17 se puede observar el proceso de centrifugación de la mezcla de etanol y la biomasa obtenida posterior al baño de ultrasonido. Este proceso de centrifugación resulta fundamental para obtener una separación eficiente de la biomasa y el solvente, lo que permite continuar con la purificación y concentración de los componentes de interés.

**Figura 17.**

*Proceso de ultrasonido*

(A)

*Baño ultrasónico (20 min)*



(B)

*Previo a la centrifugación*



(C)

*Posterior a la centrifugación*



Una vez finalizado el proceso de evaporación del solvente y centrifugación se separaron las fases resultantes, como se puede apreciar en la figura 18, se aceite se encuentra en la parte inferior, y descartando la fase superior con la micropipeta obteniendo el aceite purificado para el posterior procesamiento.

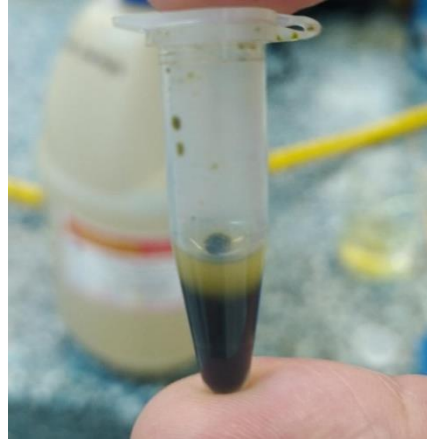


**Figura 18.**  
*Extracción del aceite*

(A)  
*Rota evaporador 60°*



(B)  
*Separación de fases*



Para hallar el porcentaje de aceite obtenido a partir de la biomasa se calculó de la siguiente forma:

**Ecuación 3.**

*Porcentaje de lípidos*

$$\frac{0,2699 \text{ g de aceite}}{1,2996 \text{ g de biomasa}} \times 100 = 22,82 \% \text{ de aceite}$$

El porcentaje de aceite obtenido concuerda con lo logrado por (Converti et al., 2009) quienes consiguieron resultados que oscilan entre el 15% y el 30% de aceite obtenido a partir de la biomasa, pero en esta caso varían diferentes factores, entre ellos, la condición de los cultivos, el método de extracción utilizado y las características específicas de las cepas de *Chlorella vulgaris* utilizadas. Es importante aclarar que los resultados varían debido a la utilización de diferentes metodologías y condiciones experimentales utilizadas.

Los lípidos son la materia prima para la producción de biodiésel, esto lo realiza a través de la ruta metabólica de la biosíntesis de ácidos grasos. Estos son componentes esenciales de los lípidos y son

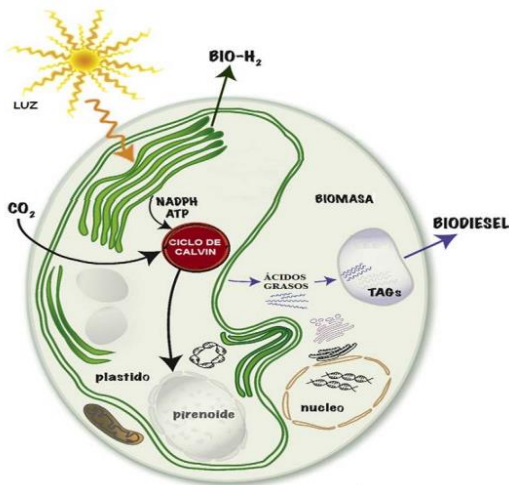
Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

sintetizados a partir de la acetil-CoA, que es generada por la glucólisis y la vía del ácido tricarbóxico. El nitrógeno del amonio y del nitrato se utiliza para sintetizar aminoácidos y a su vez se utilizan para sintetizar proteínas y otros compuestos nitrogenados. La biosíntesis de lípidos comienza con la unión del complejo luz-biomasa, que es mediado por la clorofila. La clorofila capta la energía de la luz en forma de fotones, que son utilizados por el fotosistema II para oxidar el agua y generar protones, electrones y O<sub>2</sub> molecular. Los electrones son transportados a través de la cadena transportadora fotosintética para producir la enzima NADPH mientras que los protones generan un gradiente electroquímico que ayuda al movimiento de los sustratos y se utiliza para la formación de ATP. Estos sustratos son necesarios para que el CO<sub>2</sub> los convierta en piruvato y acetil-CoA que son transferidos al complejo multi-enzimático sintasa de ácidos grasos (SAG) a través de la proteína de grupos acil (ACP). La enzima AP-sintasa abre la cadena acil y libera el ácido graso. La formación de triacilgliceroles (TAG) tiene lugar en el retículo endoplasmático y en los plastidios. Los lípidos se producen para almacenar energía y liberar espacio dentro de la célula. Los TAG resultantes son almacenados en cuerpos de aceites y se utilizan como materia prima para producir biodiésel (Ver figura 19) (Fernández et al., 2012).

**Figura 19.**

*Biosíntesis de ácidos grasos*



Tomado de: Fernández, et al., 2012

Después de la producción de lípidos, el aceite extraído a partir de la biomasa es el componente clave para la producción de biodiésel. En cuanto a la cantidad de aceite obtenido, es importante tener en cuenta que

la producción de lípidos en las microalgas está influenciada por varios factores, como la especie de microalga, fase de crecimiento, densidad de cultivo, la calidad del medio de cultivo, iluminación, temperatura y concentración de nutrientes (Dos Santos et al., 2015). Además, la técnica de extracción de aceite también puede influir en la cantidad y calidad del aceite obtenido. Para hacer una comparación directa con otros estudios, algunos autores han reportado producciones de aceite en microalgas en el rango de 20 a 50% del peso de la biomasa. Según lo obtenido, se considera dentro del rango, sin embargo, podría ser mayor (Mehariya et al., 2021).

Es importante destacar que los resultados obtenidos del reactor en las condiciones del tratamiento 3, sugiere que el crecimiento de *Chlorella vulgaris* fue exitoso en el sistema de cultivo, sin embargo, la cantidad de aceite extraído es relativamente “bajo”, esto puede ser influenciado por el hecho de cosechar la biomasa después de 2 meses tienen un impacto significativo en la producción del aceite, ya que las microalgas suelen acumular lípidos en fases específicas de su ciclo de vida (Urbano, 2019). En general, las fases de crecimiento exponencial y estacionario son las más favorables para producir aceite, es posible que, al cosechar la biomasa en un tiempo tan prologado se perdió la mayor cantidad de lípidos posibles en la fase de crecimiento óptima.

Una vez finalizado el proceso de transesterificación del aceite obtenido se puede evidenciar la separación de fases en la figura 20, se extrajeron aproximadamente 200  $\mu$ L de aceite. Este resultado representa una cantidad significativa de biodiésel a partir de la biomasa.

**Figura 20.**

*Transesterificación*

(A)

*Proceso de transesterificación*



(B)

*Separación de fases*



Para saber la cantidad de biodiésel obtenido se optó por realizar una estimación teórica, tomando en cuenta que en promedio se estima que el contenido de aceite que puede producir *C. vulgaris* puede estar entre el 20% y el 40% (Loera & Olguín, 2010), en este caso es del 22,82%. Por lo tanto, si se tienen 200  $\mu\text{L}$  de aceite de *C. vulgaris* se estima de acuerdo con la eficiencia de conversión después del proceso de transesterificación, que puede variar dependiendo de las condiciones y el catalizador usado, pero en promedio se puede esperar una eficiencia de conversión de al menos un 90% (Plata et al., 2009), aplicando esto:

$$200 \mu\text{L de lípidos} \times 0,9 \text{ (eficiencia de conversión)} = 180 \mu\text{L de biodiésel estimado}$$

Y para estimar los gramos (g) del biodiésel se realizó a partir de los 200  $\mu\text{L}$  de aceite que pesaron 0,2699g, es decir:

$$\frac{0,2699 \text{ g de aceite}}{200 \mu\text{L de aceite}} \times 180 \mu\text{L de biodiésel} = 0,2429 \text{ g de biodiésel}$$

En cuanto al porcentaje de obtención de biodiésel, después de realizar la transesterificación se obtuvieron 180  $\mu\text{L}$  de biodiésel, lo cual significa que:

$$\frac{180 \mu\text{L de biodiésel}}{200 \mu\text{L de aceite}} \times 100 = 90\% \text{ de rendimiento}$$

Indicando que a pesar de las condiciones de cosecha se obtuvo un 90% del biocombustible a partir de 200  $\mu\text{L}$  de aceite extraído, esto sugiere que el proceso de transesterificación fue efectivo. El porcentaje de biodiésel obtenido puede variar dependiendo de múltiples factores, en general, los estudios han informado rangos de rendimiento de biodiesel que oscilan entre el 10% y el 50%, en este caso, el rendimiento teórico fue del 90%, esto indica la alta eficiencia del aceite extraído para convertirse en biodiésel. Sin embargo, la cantidad en volumen es baja debido a la fase de desarrollo de la microalga para cosecharla. Es decir, que para cuantificarlo con el fin verificar su punto de nube, punto de inflamación, viscosidad, poder calorífico y contenido de agua el volumen es bajo y se complica el proceso

(Lafont et al., 2011). En general, los resultados obtenidos (ver Tabla 15) muestran una posible alternativa de producción de biodiésel en el campo de la energía sostenible.

**Tabla 15.**  
*Rendimiento del biodiésel a partir del aceite obtenido*

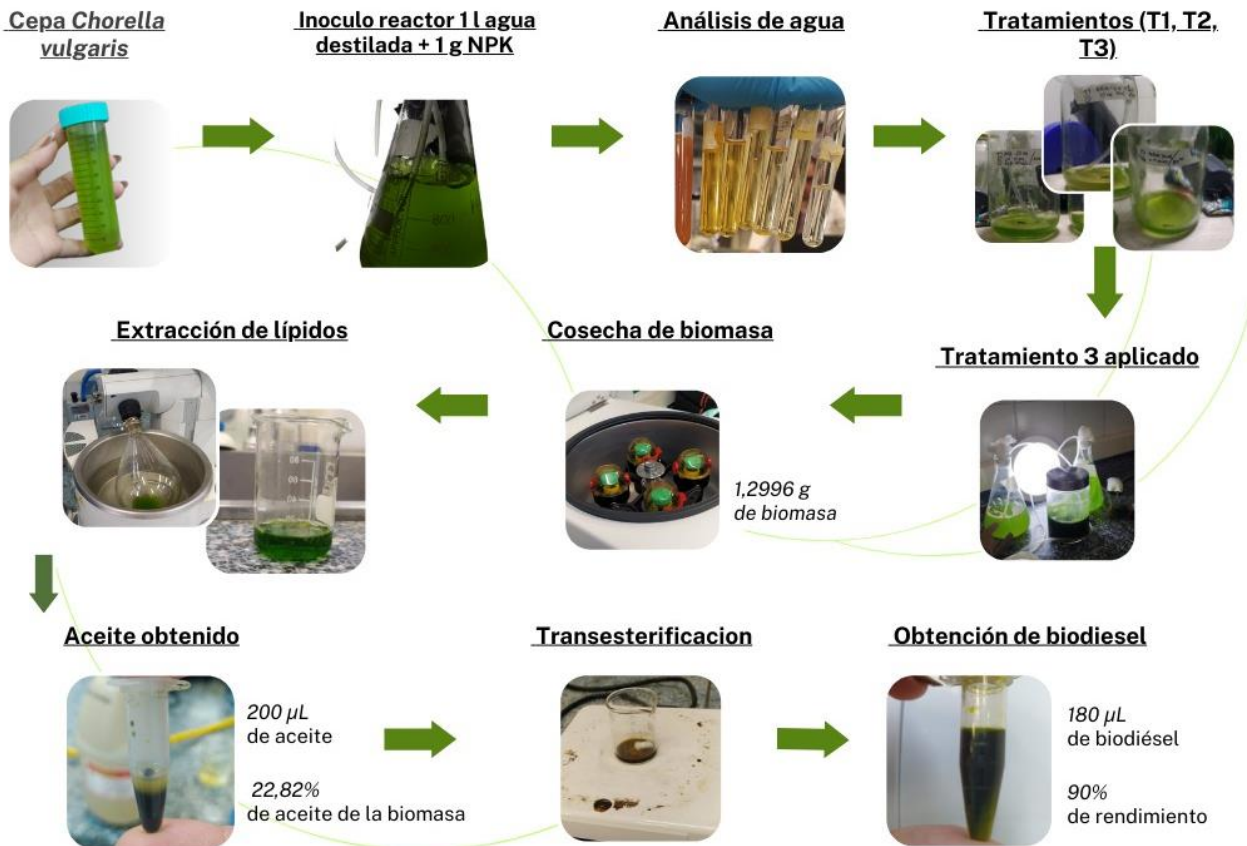
<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Aceite (g)	0,2699
Aceite (μL)	200
Biodiésel (g)	0,2429
Biodiésel (%)	90%
Biodiésel (μL)	180 μL

*Nota: Elaboración propia*

Teniendo en cuenta los resultados de la tabla 15, se puede evidenciar que el proceso de obtención de biodiésel a partir de microalgas implica varias etapas. En primer lugar, se cultivan las microalgas en condiciones controladas. Este cultivo permite que las microalgas acumulen lípidos en sus células. Luego, se realiza la cosecha de las microalgas, donde se separan del medio de cultivo. Esto puede hacerse mediante diferentes métodos, como la centrifugación.

Una vez cosechadas, las microalgas se procesan para extraer los lípidos contenidos en sus células. Esto puede implicar técnicas como la extracción con solventes, a continuación, los lípidos extraídos se someten a una reacción de transesterificación, donde se convierten en biodiésel. En esta reacción, los lípidos se combinan con un alcohol, como el metanol o el etanol, en presencia de un catalizador, generalmente una base, para formar ésteres de ácidos grasos, que constituyen el biodiesel. Este proceso se puede observar en la figura 21:

**Figura 21.**  
Diagrama de procesos



Nota: Elaboración propia

## 10. Conclusiones

El análisis fisicoquímico sugiere que las aguas de recirculación acuícola son adecuadas para el cultivo de *Chlorella vulgaris*. Los valores de pH, temperatura y salinidad están dentro del rango óptimo para el crecimiento de la microalga y aunque la alcalinidad es ligeramente baja puede corregirse. Los resultados obtenidos son una herramienta importante para el diseño del sistema de cultivo y la optimización de este, además de ser útiles para el monitoreo de las aguas de recirculación acuícola.

Se observó que los tratamientos con mayor concentración de agua acuícola tuvieron mejores resultados en cuanto a la remoción de nutrientes y el crecimiento celular. Es importante mantener una buena aireación y temperatura adecuada para asegurar el crecimiento de las microalgas ya que en algunos

Producción de biodiésel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

tratamientos la densidad óptica fue más baja influenciado por este factor teniendo en cuenta que por la potencia de los motores y las mangueras fue intermitente. El tratamiento 3 (90% agua de recirculación y 10% de microalga) fue el que presentó el mejor crecimiento y una menor tendencia a la desecación del medio de cultivo en comparación con el tratamiento 1 y 2.

En tercer lugar, el estudio proporciona resultados de interés sobre la capacidad de *Chlorella vulgaris* para remover nutrientes en el agua, incluyendo nitratos y amonio, son resultados consistentes con estudios previos. Se debe tener en cuenta que la eficacia de la remoción de nutrientes puede variar dependiendo de las condiciones experimentales.

El aprovechamiento de los efluentes acuícolas para el reúso de agua permite reducir la demanda de agua dulce y minimizar el impacto en los recursos hídricos locales. Mediante el tratamiento adecuado de los efluentes, es posible obtener agua de calidad para ser utilizada nuevamente en los procesos acuícolas, lo que contribuye a la conservación de este recurso escaso y valioso.

*Chlorella vulgaris* experimenta diferentes fases de crecimiento, entre estas se destaca la fase exponencial, ya que se presenta mayor crecimiento y producción de biomasa, es decir, es la más adecuada para cosechar con fines energéticos como la producción de biocombustibles. La producción de biodiésel a partir de la biomasa de la microalga es posible y muestra una alternativa prometedora para la producción de combustibles sostenibles, al obtener biomasa y aceites se demuestra el cultivo fue efectivo. La producción de obtuvo un estimado de 41,076  $\mu\text{L}$  de biodiésel a partir de 200  $\mu\text{L}$  de aceite, aproximadamente un 90% de rendimiento, indicando que el proceso de transesterificación fue eficiente y produjo un producto final de valor agregado.

En general, los resultados del proyecto sugieren que el uso de la biomasa de *Chlorella vulgaris* para la producción de biodiésel es una alternativa prometedora para los biocombustibles y que el uso de aguas de recirculación acuícola pueden ser una fuente de agua para cultivar *Chlorella vulgaris* y obtener un buen crecimiento.

## 11. Recomendaciones

Es importante realizar un monitoreo regular para mantener los rangos adecuados, especialmente pH, temperatura y oxígeno disuelto ya que puede mejorar significativamente la producción de biomasa y lípidos. Esto permitirá que los parámetros se ajusten a las necesidades de la microalga para lograr un buen crecimiento celular y maximizar su producción de biomasa.

Se recomienda mantener las condiciones adecuadas de cultivo como temperatura constante, pH, buena iluminación y en especial, mantener una aireación constante con motores y mangueras que repartan la oxigenación del cultivo uniformemente ya que cualquier cambio brusco en las condiciones puede afectar negativamente el crecimiento y calidad de la biomasa.

Es de suma importancia cosechar en la fase adecuada, recordando que la fase estacionaria es la más indicada para la cosecha de *Chlorella vulgaris* ya que si se cosecha en una fase anterior la biomasa puede ser de baja calidad y si se cosecha en una fase posterior porque se puede generar toxinas u otros compuestos no deseables, así mismo, se debe evitar la contaminación del cultivo por algún factor externo.

También es importante continuar explorando la utilización de aguas residuales en la industria acuícola como medio de cultivo y se recomienda investigar a profundidad más métodos de extracción de lípidos. Por otro lado, se debe realizar estudios adicionales sobre la calidad del biodiésel producido a partir de microalgas, incluyendo la estabilidad del combustible y su impacto en el ambiente.

Por último, es recomendable seguir investigando y explorando el uso de biomasa de microalgas, como la *Chlorella vulgaris*, para la alimentación de peces en la industria acuícola. Esto implicaría evaluar la calidad nutricional y la aceptabilidad de la biomasa de algas, así como adaptar la dieta a las necesidades específicas de los peces. Además, se debe monitorear y evaluar el impacto ambiental de esta práctica, considerando el ciclo de vida completo de la producción de microalgas y promoviendo prácticas sostenibles, como el uso de aguas residuales tratadas como medio de cultivo. Asimismo, es importante



Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

realizar estudios adicionales sobre la calidad del biodiésel producido a partir de microalgas, incluyendo la estabilidad del combustible y su impacto ambiental, con el fin de avanzar hacia un enfoque más sostenible en la industria acuícola.

## 12. Bibliografía

Amonio en el cultivo del tilapia. (2013). *La divisa del nuevo milenio*.

Antonio, N. E., Marín, A. R., Jorge, L., Reda, P., Zarracino, R. G., Canedo López, Y., Del Carmen, S., Garcia, C., Yolanda, M., Perez, S., Griselda, J., Bretón, C., Cordova Quiroz, A. V., & Moreno López, H. (2011). *UNACAR TECNOCIENCIA CELLULAR DENSITY AND ACCUMULATION OF LIPIDS IN FREE CULTURES GIVES Chlorella vulgaris AND Neochloris oleoabundans TO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF NITROGEN AND CARBONATE OF SODIUM*.

Arcila, J., Osorio Piedrahita, S., & Céspedes, D. (2020). *Catalisis electroquímica View project microalgae-bacteria systems View project*.  
<https://www.researchgate.net/publication/349702474>

Baldiris Navarro, I., Torres Virviesca, M., & Sánchez Aponte, J. (2019). Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* como biorremediadora de vertimientos de la industria acuícola en el Caribe Colombiano. *Universidad del Sinu*.

Bermúdez Pinzón, N., & Gallegos, D. (2019). DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE LABORATORIO DE UNDISPOSITIVO PARA LA REMOCIÓN DE SÓLIDOS, ADSORCIÓN DE AMONIO Y AIREACIÓN EN MUESTRAS DE AGUA DEL HUMEDAL CÓRDOBA DE BOGOTÁ. *Universidad El Bosque*.

Blinová, L., Bartošová, A., Gerulová, K., Blinová, I. L., Bartošová, I. A., & Gerulová, I. K. (2015). *CULTIVATION OF MICROALGAE (Chlorella vulgaris) FOR BIODIESEL PRODUCTION*.

Boyd, C., & McNevin, A. (2021). Aquaculture Water Quality. *Management of Fish Ponds, Raceways, and Recirculating Systems*.

- Callejas, E., & Gasca, V. (2009). *Los biocombustibles*.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=32512739009>
- Cárdenas, G., & Sánchez, I. (2013). Nitrógeno en aguas residuales: orígenes, efectos y mecanismos de remoción para preservar el ambiente y la salud pública. En *Año* (Vol. 15, Número 1).
- Castillo, O. S., Torres, S. G., Núñez, C. A., Peña, V., Herrera, C. H., & Rodríguez, J. R. (2017). *Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas Biodiesel production from microalgae: progress and biotechnological prospects* (Vol. 27, Número 3).
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009). 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: Process Intensification*, 48(6), 1146–1151.  
<https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006>
- Cordoví, C., Ferrer, A., & Linhares, J. (2017). Pretratamientos de grasa residual de cocción de alimentos para la producción de biodiesel. *Facultad de Ingeniería Mecánica. Instituto Superior Politécnico*, 20.
- Demirbas, A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management*, 50(1), 14–34. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.001>
- Dos Santos, R. R., Moreira, D. M., Kunigami, C. N., Aranda, D. A. G., & Teixeira, C. M. L. L. (2015). Comparison between several methods of total lipid extraction from *Chlorella vulgaris* biomass. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 95–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.015>
- Fernández, L., Montoya, J., Millán, O., Jesús, Y., & Badillo-Corona, A. (2012). *PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE MICROALGAS* (Vol. 8).
- Foster, S., & Elzinga, D. (s/f). *El papel de los combustibles fósiles en un sistema energético sostenible*. ONU.

- Galli, O., Facundo, M., & Sal, M. (2007). *Sistemas de Recirculación y Tratamiento de agua*.
- Giraldo, M., Vacca Ramírez, R., & Quintanilla, A. U. (2018). *LAS ENERGÍAS ALTERNATIVAS ¿UNA OPORTUNIDAD PARA COLOMBIA?*
- Gómez Luna, L., Ortega Díaz, Y., Tormos Cedeño, L., Gómez Luna, L., Ortega Díaz, Y., & Tormos Cedeño, L. (2021). Efecto del pH sobre el crecimiento y viabilidad celular de una cepa local de *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Tecnología Química*, 41(2), 252–276. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-61852021000200252&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852021000200252&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Hsin Ho, S., Ye, X., Hasunuma, T., Changa, J., & Kndo, A. (2014). *Perspectivas sobre estrategias de ingeniería para mejorar la producción de biocombustibles de microalgas — Una revisión crítica*.
- Huaynate, A. O., Gallegos, M. C., Ramos, L. F., & Soto, A. R. (2021). Potential assessment of *Desmodesmus asymmetricus* and *Chlorella vulgaris* for removal of nitrates and phosphates in wastewater. *Revista Peruana de Biología*, 28(1). <https://doi.org/10.15381/RPB.V28I1.18082>
- Jiménez, A. (s/f). *Definición de un sistema de recir-culación en acuicultura*. [www.hannainst.com.mx](http://www.hannainst.com.mx)
- Lafont, J. J., Páez, M. S., & Torres, Y. C. (2011). Análisis químico de mezclas biodiesel de aceite de cocina usado y diesel por espectroscopia infrarroja. *Informacion Tecnologica*, 22(4), 35–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642011000400005>
- Liu, Y., Tu, Q., Knothe, G., & Lu, M. (2017). Direct transesterification of spent coffee grounds for biodiesel production. *Fuel*, 199, 157–161. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.02.094>
- Loera, M., & Olgúin, E. (2010). *Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades*.

López Hernández, N., Pulido Puerto, C. J., Rincón Escobar, A. C., Saenz Pulido, E. H., Garavito Calderón, H. J., Hernández González, Á. L., & Quiñones Cantor, L. (2019). *Informe anual de calidad del aire de Bogotá*.

Losada, M. (1974). La asimilación del nitrato y su regulación. *Universidad de Sevilla*.

Martínez Solís, C. (2018). Aplicación de *Chlorella vulgaris* en agua residual para su reuso. *BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA*.

Mehariya, S., Goswami, R. K., Verma, P., Lavecchia, R., & Zuurro, A. (2021). Integrated approach for wastewater treatment and biofuel production in microalgae biorefineries. En *Energies* (Vol. 14, Número 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/en14082282>

Núñez, M. del P. (2017). *CULTIVO A PEQUEÑA ESCALA DE MICROALGAS DE LA ESPECIE ~ Chlorella vulgaris PARA LA OBTENCIÓN DE ACEITE*.

Olarte, E., & Valencia, M. (2016). *EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA Chlorella vulgaris EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES (VINAZAS)*.

Ophtanie, G. (2020). *Aplicación de microalgas para la remoción de nutrientes en efluentes agrícolas: Revisión de literatura*.

Peng, L., Fu, D., Chu, H., Wang, Z., & Qi, H. (2020). Biofuel production from microalgae: a review. En *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 18, Número 2, pp. 285–297). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00939-0>

Plata, I. V., Kafarov, V., & Moreno, N. (2009). *Desarrollo de una metodología de transesterificación de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas*.

Prieto Márquez, I., Elena, C., & Alías, B. (2020). *“ESTUDIO DEL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA Chlorella vulgaris Y SU CAPACIDAD DE DEPURACIÓN DE AGUA RESIDUAL”*.

- Rice, E. W., & Bridgewater, L. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association*, 10.
- Rubio Fernández, D., Ángel, M. C., & Pimienta, W. (2013). *Incidencia del nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos de la microalga Chlorella vulgaris en un fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio.*
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Garcia, C.-V. (2013). *Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review.*
- Sánchez, I. O., Revelo, D. R., Burbano, Á. E., García, R. C., & Guerrero, C. R. (2012). *EFICIENCIA DE CONSORCIOS MICROBIANOS PARA TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN UN SISTEMA DE RECIRCULACIÓN ACUÍCOLA.*
- Stickney, R. (2018). Principles of Aquaculture. *John Wiley & Sons.*
- Timmonsand, M.-E. J. (2007). *RECIRCULATING AQUACULTURE.*
- Torres, J., & Gonzáles, M. (2021). Obtención de un biopolímero a base de exopolisacáridos extraídos de cultivos de *Chlorella vulgaris*. *Environmental Pollution*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.087>
- Urbano, T. (2019, noviembre 12). *Cultivo de microalgas: en que consiste, métodos y ventajas.* Agrotendencia.tv.
- Urbina-Suarez, N. A., Barajas-Solano, A. F., Garcia-Martinez, J. B., Lopez-Barrera, G. L., & Gonzalez-Delgado, A. D. (2021). Cultivation of *Chlorella* sp. For biodiesel production using two farming wastewaters in eastern Colombia. *Journal of Water and Land Development*, 50, 141–149. <https://doi.org/10.24425/jwld.2021.138169>
- Valenzuela Vargas, R. (2014). *EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UN SISTEMA DE RECIRCULACIÓN DE AGUAS PARA UN PROTOTIPO IMPLEMENTADO EN LA PRODUCCIÓN DE TILAPIA ROJA (Oreochromis sp.).* www.usco.edu.co,

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

Vega Ayala, A. S. (2022). *OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE Chlorella vulgaris CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE ORIGEN ACUÍCOLA.*

William B. Rice. (2017). *La historia de los combustibles fósiles.* Catherine Hollinger.

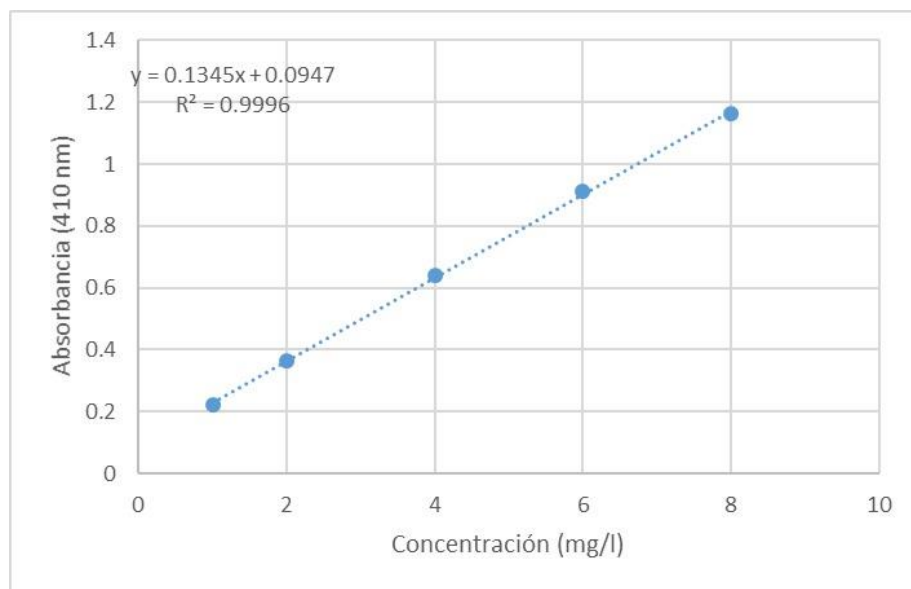
Yaashikaa, P. R., Keerthana Devi, M., & Senthil Kumar, P. (2022). Algal biofuels: Technological perspective on cultivation, fuel extraction and engineering genetic pathway for enhancing productivity. *Fuel*, 320. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123814>

Yasar, A., Ahmad, F., & Khan, A. U. (2013). *The potential of Chlorella vulgaris for wastewater treatment and biodiesel production* (Vol. 45, Número S1).

### 13. Anexos

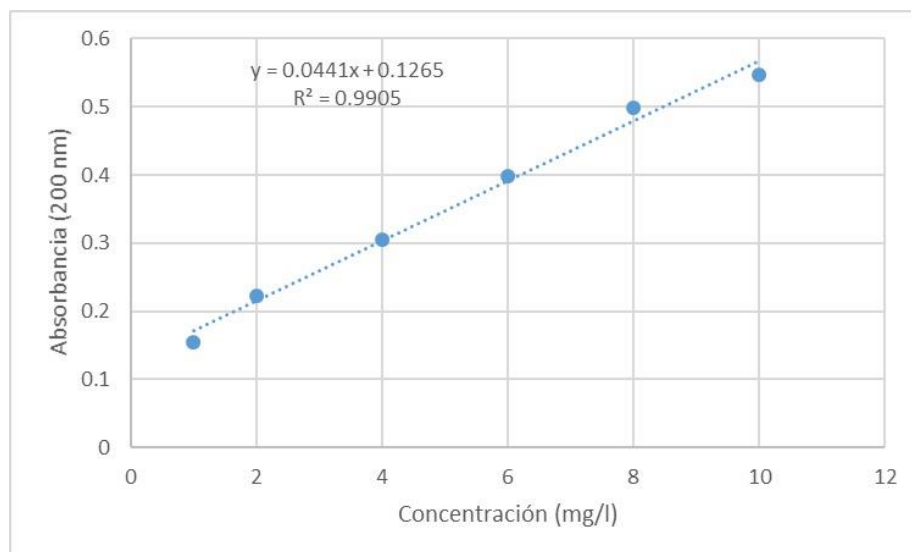
#### Anexo 1.

##### Curva de calibración amonio



#### Anexo 2.

##### Curva de calibración nitratos



**Anexo 3.**

*Tabla parámetros tanque 1*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,10	-
Temperatura	27,34	°C
Turbidez	8,8	NTU
Oxígeno disuelto	4,45	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,208	g/L
Salinidad	0,15	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 4.**

*Tabla parámetros tanque 2*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,70	-
Temperatura	27,57	°C
Turbidez	8,2	NTU
Oxígeno disuelto	4,60	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,195	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 5.**

*Tabla parámetros tanque 3*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,79	-
Temperatura	27,64	°C
Turbidez	7,2	NTU



Oxígeno disuelto	4,49	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,193	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

## Anexo 6.

*Tabla parámetros tanque 4*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,84	-
Temperatura	27,70	°C
Turbidez	7,1	NTU
Oxígeno disuelto	4,12	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,192	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

## Anexo 7.

*Tabla parámetros tanque 5*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,92	-
Temperatura	27,80	°C
Turbidez	6,3	NTU
Oxígeno disuelto	5,78	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,192	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 8.**

*Tabla parámetros tanque 6*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,96	-
Temperatura	27,64	°C
Turbidez	7,9	NTU
Oxígeno disuelto	6,18	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,192	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 9.**

*Tabla parámetros tanque 7*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,98	-
Temperatura	27,71	°C
Turbidez	7,4	NTU
Oxígeno disuelto	8,15	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,191	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 10.**

*Tabla parámetros tanque 8*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,99	-
Temperatura	27,74	°C
Turbidez	8,5	NTU

Producción de biodiesel acoplada al tratamiento de aguas de recirculación acuícola empleando *Chlorella vulgaris*

*Danna Paola Rodríguez Alza*

Oxígeno disuelto	4,44	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,189	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 11.**

*Tabla parámetros tanque 9*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	7,00	-
Temperatura	27,71	°C
Turbidez	7,2	NTU
Oxígeno disuelto	4,05	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,189	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*

**Anexo 12.**

*Tabla parámetros tanque biofiltro*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>
pH	7,08	-
Temperatura	28,13	°C
Turbidez	6,8	NTU
Oxígeno disuelto	4,73	mg/L
Sólidos disueltos totales	0,193	g/L
Salinidad	0,14	ppt

*Elaboración propia*