ACTA BIOLÓGICA COLOMBIANA

http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol

Facultad de Ciencias Departamento de Biología Sede Bogotá



FCOI OGÍA

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

BIOFIJACIÓN DE CO₂ POR DOS ESPECIES DE MICROALGAS CULTIVADAS EN FOTOBIORREACTORES

Biofixation of CO₂ by two species of microalgae grown in photobioreactors

Leonardo VERGARA-PATIÑO¹*^(D), Oscar Eduardo SANCLEMENTE-REYES², Milton César ARARÁT-OROZCO³

- ^{1.} Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Carrera 28 No. 40- 56, Palmira, Colombia.
- ^{2.} Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Carrera 28 No. 40- 56, Palmira, Colombia.
- ^{3.} Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Carrera 28 No. 40- 56, Palmira, Colombia.
- * For correspondence: leonardo1130612@hotmail.com leonardo.vergara@cvc.gov.co

Received: 18th November 2020. Returned for revision: 03rd December 2021. Accepted: 23rd January 2022 Associated Editor: Michael Ahrens

Citation/ citar este artículo como: Vergara-Patiño, L., Sanclemente-Reyes, O.E., y Ararát-Orozco, M.C. (2023). Biofijación de CO2 por dos especies de microalgas cultivadas en fotobiorreactores. *Acta Biol Colomb.*, *28*(1), 5-11. https://doi.org/10.15446/abc.v28n1.90353

RESUMEN

Se evaluó la capacidad de biofijación de dióxido de carbono (CO₂) por las especies *Chlorella vulgaris y Scenedesmus obliquus* cultivadas en fotobiorreactores en un fotoperiodo 12:12 h. Se empleó un diseño experimental completamente al azar cuyas fuentes de variación fueron: especie microalgal y dosificación de CO₂ (0,36; 11,44 y 22,62 g.d⁻¹). Los fotobiorreactores fueron unidades plásticas con 3,8 L de medio de cultivo (solución NPK + micronutrientes), e iluminación artificial con lámpara fluorescente de 4400 lúmenes. Se estimaron las variables: productividad de biomasa mediante la metodología de peso seco, biofijación de CO₂ por método numérico y eficacia de remoción del CO₂ en porcentaje. Los resultados se sometieron al análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey (p<0,05). Se registró mayor productividad de biomasa y biofijación de CO₂ en *C. vulgaris* comparada con *S. obliquus*. La mayor biofijación de CO₂ por *C. vulgaris* y *S. obliquus* se registró a la dosis de 11,44 g.d-1 con 161,79 ± 4,72 y 55,31 ± 0,73 mg.L-1d-1, respectivamente. La eficiencia de remoción de CO₂ fue significativamente mayor con la dosis 0,36 g.d⁻¹ registrando valores de 49,80 ± 3,16 y 39,13 ± 0,57 % para *C. vulgaris* y *S. obliquus* respectivamente. Estos resultados sugieren la posibilidad de escalado de fotobiorreactores de bajo costo para biofijación de emisiones de CO₂ en fuentes fijas industriales, contribuyendo así a la mitigación de gases de efecto invernadero.

Palabras Clave: Biomasa, cambio climático, Chlorella vulgaris, crecimiento, Scenedesmus obliquus.

ABSTRACT

The biofixation capacity of carbon dioxide by the *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* species cultivated in photobioreactors was evaluated in a 12:12 h photoperiod. A completely randomized experimental design was used, whose sources of variation were: microalgal species and CO_2 dosage (0.36, 11.44 and 22.62 g.d⁻¹). The photobioreactors were plastic units with 3.8 L of culture medium (NPK solution + micronutrients), and artificial lighting with a 4400 lumens fluorescent lamp. The following variables were estimated: biomass productivity using the dry weight methodology, CO_2 biofixation by numerical method and CO_2 removal efficiency in percentage. The results were subjected to the analysis of variance and Tukey's mean tests (p < 0.05). Higher biomass productivity and CO_2 biofixation were recorded in *C. vulgaris* compared to *S. obliquus*. The highest biofixation of CO_2 by *C. vulgaris* and *S. obliquus* was recorded at the dose of 11.44 gd⁻¹ with 161.79 ± 4.72 and 55.31 ± 0.73 mg.L⁻¹d⁻¹, respectively. The CO_2 removal efficiency was significantly higher with the 0.36 g.d⁻¹ dose, registering values of 49.80 ± 3.16 and 39.13 ± 0.57 % for *C. vulgaris* and *S. obliquus*



respectively. These results suggest the possibility of scaling up low-cost photobioreactors for biofixation of CO_2 emissions in industrial fixed fonts, thus contributing to the mitigation of greenhouse gases.

Keywords: Biomass, Chlorella vulgaris, climate change, increase, Scenedesmus obliquus.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los gases de efecto invernadero (GEI) más liberados a la atmosfera son el dióxido de carbono (CO₂), el gas metano (CH₄) y los óxidos de nitrógeno (NOx), de los cuales el CO $_2$ es el de mayor impacto sobre la atmosfera alcanzando una concentración global promedio de 405±0,1 ppm en 2017 (Hartfield et al., 2018). Por ello, existen diferentes tecnologías para la fijación, secuestro y almacenamiento de CO2, siendo el método biológico uno de los más atractivos gracias a la cualidad que poseen las plantas de transformar el CO₂ en materia orgánica a través del proceso de fotosíntesis (Razzak et al., 2017). Los organismos más relevantes para la biofijación de CO₂ mediante la fotosíntesis son las plantas terrestres, las macroalgas y microalgas, estas últimas representan solo el 1 % de la biomasa viva y se clasifican en procariotas (cianobacterias) y eucariotas (microalgas), y se caracterizan por tolerar niveles altos de CO₂ (Seth y Wangikar, 2015).

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos con el potencial de transformar la energía solar en biomasa, fijar hasta 20 veces más CO_2 que las plantas terrestres y producir elementos de alto valor como lípidos, proteínas y ácidos grasos poliinsaturados (Suparmaniam *et al.*, 2019). Estos microorganismos son capaces de crecer en distintos ambientes y climas, ya que una de sus grandes ventajas es el no requerir tierras fértiles ni agua potable para su desarrollo, además de poder crecer en aguas residuales o contaminadas (Acién-Fernandez *et al.*, 2017). Las microalgas poseen altas tasas de crecimiento que contribuyen a una elevada productividad de biomasa y su actividad fotosintética es apreciablemente más eficiente para la fijación del CO_2 en comparación con cultivos como la caña de azúcar y la palma de aceite (Benedetti *et al.*, 2018).

El cultivo de las microalgas posee variables que deben ser consideradas ya que podrían afectar su desarrollo, por tanto, cada especie tiene sus propias condiciones ideales de cultivo que dependen de su sitio de origen, como la intensidad de luz y la temperatura los cuales son factores determinantes para el crecimiento (Tessarolli *et al.*, 2017). Los nutrientes más importantes para el adecuado desarrollo de las microalgas son en primer lugar el carbono, obtenido principalmente del CO₂ atmosférico (Walter *et al.*, 2011), el nitrógeno, que afecta en la síntesis de proteína, ácidos nucleicos y clorofila, así como la productividad de lípidos (Menegol *et al.*, 2017). Aunque el contenido de fosforo en las microalgas no es mayor al 1 %, un medio de cultivo sin la presencia adecuada de este nutriente provocaría serias repercusiones en el desarrollo ya que es esencial en la transferencia de energía, en la constitución de fosfolípidos, nucleótidos y la constitución del ácido nucleico (Guerra-Vieira *et al.*, 2012).

La biotecnología de las microalgas sugiere que el alto potencial de biofijación de CO, de las mismas podría ser de utilidad para controlar las emisiones de CO, por actividades antropogénicas, debido a su alta capacidad fotosintética (Moraes et al., 2018). La concentración de CO₂ en el aire influye directamente en el crecimiento de las microalgas, cuanto más alta sea la concentración mayor será el crecimiento, sin embargo, cada especie tiene un límite máximo que puede tolerar en el cual se produce una disminución en el crecimiento (Gatamaneni et al., 2018). La presente investigación analizó las siguientes hipótesis: I) Existen diferencias entre la capacidad biofijadora de CO₂ en las especies de microalgas y II) El potencial genético de las microalgas les permite biofijar contenidos de CO₂ mayores a los presentes a nivel ambiental, como por ejemplo las emisiones que se presentan en las industrias. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de biofijación de CO₂ de las especies de microalgas Chlorella vulgaris y Scenedesmus obliquus mediante un sistema de cultivo en fotobiorreactores de bajo costo en condiciones controladas, como piloto para el control de las emisiones de fuentes fijas de GEI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

La investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia CEAD - Palmira en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. Los análisis de peso seco se realizaron en las instalaciones del laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca - CVC.

Microalgas empleadas y preparación de medios para cultivo

Como especies experimentales se emplearon las dos microalgas *C. vulgaris* CV-2714A y *S. obliquus* SOB-001 proporcionadas por la empresa NUTRE S.A.S ubicada en Cumaral, Meta - Colombia.

Con base en la metodología planteada por Ammar (2016), los medios para cultivo empleados en los ensayos de crecimiento y biofijación de CO_2 se elaboraron a partir de los fertilizantes solubles: TODO EN UNO, 42-0-0 (SUPERABONO S.A.S., Colombia), 1,08 g.L⁻¹; FOSFACEL

800, 20-53-0 (Cosmoagro S.A., Colombia), 0,94 g.L⁻¹; Nitrato de potasio, 13-0-44 (Microfertisa S.A., Colombia), 1,16 g.L⁻¹, para el medio de cultivo de *S. obliquus* se reemplazó el fertilizante TODO EN UNO por Nitrax-S, 28-4-0-6 (YARA, Colombia), 1,64 g.L⁻¹.

Los medios para cultivo se elaboraron con agua potabilizada de acueducto y fertilizantes solubles de uso comercial con el propósito de reproducir situaciones que se pueden presentar a una escala mayor. Para la desinfección del agua del medio para cultivo se adicionó 1 ml.L⁻¹ de hipoclorito de sodio al 5 % y se dejó actuar por 24 horas, transcurrido este tiempo se adicionó 0,25 g.L⁻¹ de Tiosulfato de sodio marca Merck para neutralizar el cloro. Los nutrientes se adicionaron uno a uno y se disolvieron con agitación, posteriormente se filtró por vacío para la remoción de las partículas no disueltas, por último, se expuso el medio para cultivo a una fuente de luz ultravioleta procedente de una lámpara germicida de 15 W marca LUMEK por un periodo de cuatro horas.

Sistema y condiciones de cultivo

Los ensayos de crecimiento para *C. vulgaris y S. obliquus* se realizaron dentro de una cámara de cultivo acondicionada con un ventilador extractor, una lámpara fluorescente, un temporizador programable para el control del fotoperiodo y un temporizador cíclico para el control de la dosificación de aire y CO_2 (Figura 1). La luz del fotoperiodo se suministró mediante una lámpara de luz fluorescente blanca de la marca SYLVANIA de 54 W y una intensidad lumínica de 4400 lm. Las dimensiones internas de la cámara fueron las siguientes: largo (130 cm), fondo (30 cm) y alto (50 cm). Para los fotobiorreactores se usaron botellas PET sin filtro



Figura 1. Montaje experimental a escala laboratorio. **a)** Línea de distribución de aire y CO₂. **b)** Cilindro de CO₂ a una concentración del 87,65 %. **c)** Temporizador para la dosificación de CO₂. **d)** Conjunto de fotobiorreactores antes del inoculo inicial. **e)** Conjunto de fotobiorreactores con 5 días de cultivo.

UV con capacidad de 4 L, de cada especie se sembraron tres replicas con un volumen de 3,8 L de medio de cultivo. Los fotobiorreactores se acoplaron a un equipo de dosificación automático, con el que se alternó la dosis de aire a un caudal de 0,7 L.min⁻¹ y el CO₂ al 87,65 % a un caudal de 0,15 L.min⁻¹ con base en el método planteado por Razzak *et al.* (2017), la dosis de CO₂ se suspendió durante la fase oscura del fotoperiodo.

Para los ensayos de crecimiento se emplearon tres dosis de CO_2 , el tiempo de cultivo en cada ensayo fue de cinco días con fotoperiodos 12:12 h con base en la metodología utilizada por Zhao *et al.* (2011). En la dosis D1 se suministraron 0,36 g.dia⁻¹ de CO_2 provenientes de la inyección de aire atmosférico únicamente, en la D2 se suministraron 11,44 g.día⁻¹ de CO_2 dosificados por intervalos cada 30 minutos durante las 12 horas de luz, finalmente en la D3 se suministraron 22,62 g.día⁻¹ dosificados por intervalos cada 15 minutos durante las 12 horas de luz. La temperatura al interior de la cámara de cultivo presentó variaciones entre los 26 °C min y los 31 °C máx.

Cálculo de la productividad de biomasa y biofijación del co_2

El cálculo de la productividad de biomasa se realizó mediante la metodología del peso seco, cada 24 horas se filtraron 10 mL de muestra por medio de un filtro con un diámetro de poro de 1,2 µm (Axiva G3/3F, Sonipat Haryana, India), previamente secado en un horno Binder WTB (New York, Estado Unidos). La filtración de la muestra se hizo por vacío y seguidamente se introdujo en el horno de secado a 105 °C durante seis horas. El resultado del peso seco se obtuvo de la diferencia entre el peso final e inicial divido entre el volumen de muestra filtrada (Suzuki *et al.* 2019), el pesaje de los filtros se realizó con balanza analítica (Mettler Toledo AL204, Ohio, Estado Unidos).

El cálculo de la biofijación de CO_2 a partir de la biomasa producida se realizó por medio de la ecuación uno, basado en la metodología utilizada por Fan *et al.* (2015).

$$CO_2$$
 biofijado=P*C* $\frac{MCO_2}{M_c}$ (Ecuación 1)

Donde P corresponde al peso de la biomasa producida (base seca), C al porcentaje total de carbono de la especie de microalga, MCO_2 es el peso molecular del CO_2 y Mc el peso molecular del carbono.

El cálculo del porcentaje de remoción del CO_2 por el sistema de fotobiorreactores se realizó con base en la metodología propuesta por Pirkarami y Olaya (2017) sobre la base del CO₂ biofijado en g.L⁻¹ por medio de la ecuación dos.

$$%R = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100$$
 (Ecuación 2)

Donde C_i es el CO₂ de entrada al fotobiorreactor y C_f es el CO₂ a la salida (CO₂ no fijado).

La tasa de crecimiento especifica $(\mu_{max} (d^{-1}))$ definida como el incremento de la concentración de biomasa en el tiempo, se calculó con base en la metodología usada por Nayak *et al.* (2016). mediante la ecuación tres

$$\mu_{\max}(d^{-1}) = \frac{LN(W_1 / W_0)}{\Delta t}$$
 (Ecuación 3)

Donde, W_1 y W_0 se refiere a la concentración final e inicial de la biomasa en g.L⁻¹. Δt es el tiempo de cultivo en días.

El tiempo de duplicación (T_D) es el tiempo necesario para lograr la duplicación de la concentración celular viable calculado en función de la tasa de crecimiento especifica mediante la ecuación cuatro, de acuerdo con lo planteado por Nayak *et al.* (2016).

$$T_{\rm D} = \frac{\ln 2}{\mu}$$
 (Ecuación 4)

Una vez se confirmó que los datos cumplieran con los supuestos de normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilks y de homocedasticidad mediante pruebas de Levene para cada análisis realizado, los datos experimentales obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey (p<0,05) mediante el software estadístico S.A.S versión 9.3, para la productividad de biomasa microalgal, y del CO₂ biofijado en función de la dosis aplicada de CO₂ en ambas especies.

RESULTADOS

Influencia de la dosificación de CO₂ sobre la productividad de biomasa en el cultivo de microalgas.

En la Figura 2 se observó que la dosificación más adecuada de CO, fue la establecida en la D2 (11,44 g.día-1), la cual incidió en una mayor productividad de biomasa para las especies C. vulgaris y S. obliquus, alcanzando en un periodo de cinco días de cultivo 0,485 ± 0,014 g.L⁻¹ y 0,158 ± 0,002 g.L⁻¹ de biomasa respectivamente. Los menores resultados fueron obtenidos en la D1 donde se dosificó únicamente aire atmosférico (0,36 g.día⁻¹ de CO₂) registrando una productividad de 0,141 ± 0,009 g.L⁻¹ y 0,106 ± 0,002 g.L⁻¹ ¹ de biomasa respectivamente. Igualmente, se observó que en las tres dosificaciones de CO, realizadas en el estudio la tendencia de crecimiento es similar en ambas especies, alcanzándose una mayor productividad con una dosis de CO₂ moderada. La prueba de medias de Tukey mostró diferencias significativas (p<0,05) entre cepas para las tres dosis utilizadas; los valores p correspondientes a la diferencia mínima significativa en las tres dosis fueron p = 0,0146 para D1, *p* = 0,0229 para D2 y *p* = 0,0096 para D3.



Las letras A y B en las barras indican las diferencias entre C. *vulgaris* y S. *obliquus* para cada dosis de CO_2 mediante prueba de medias de Tukey (p<0,05).

Figura 2. Productividad microalgal expresada en biomasa de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Dosificaciones de CO_2 D1, D2 y D3 en un periodo de cinco días de cultivo. Iluminación artificial (4400 lm), fotoperiodo 12:12 h, rango de temperatura 26 °C – 31 °C.

Estos resultados indican que para las especies C. vulgaris y S. obliquus, el exceso de CO₂ produce una inhibición en el crecimiento, mientras que una dosificación muy baja deriva en una limitación, ambas situaciones inciden en una disminución de la productividad de biomasa. Igualmente se observa que la especie S. obliquus obtuvo menores resultados en las tres dosis aplicadas en comparación con C. vulgaris, ya que los resultados obtuvieron una diferencia altamente significativa en las tres dosis según los resultados arrojados por la prueba de medias de Tukey (p<0,05), lo cual indica que C. vulgaris tiene una mejor respuesta a dosis altas de CO, dentro del medio de cultivo utilizado. La adecuada dosificación de CO₂ en un cultivo de microalgas es un parámetro que debe ajustarse a las necesidades de cada especie, ya que todas no poseen la misma capacidad de tolerancia al CO₂. En general, las microalgas pueden agruparse en dos rangos de tolerancia al CO₂, las sensibles, que pueden soportar concentraciones entre el 2 - 5 % y las tolerantes que soportan un rango del 5 - 20 % de concentración de CO₂ (Kassim y Meng, 2017).

Tasa de biofijación de CO₂

Las características productivas en cuanto a biomasa microalgal manifestadas por ambas especies en un periodo de cultivo de cinco días, muestran que la especie *C. vulgaris* se adaptó con mayor éxito a las diferentes dosificaciones de CO_2 principalmente en las D2 y D3, alcanzando un rendimiento de productividad 1,33 veces más alto en la D1, adicionalmente fue 3,07 veces más alto en D2 y 2,57 veces en la D3 en comparación con *S. obliquus*. Los valores de la tasa de crecimiento específica y tiempo de duplicación obtenidos para ambas especies corroboran una mayor eficiencia en *C*.

vulgaris a dosificaciones altas de CO ₂ obteniendo val	ores d	e
0,56 d-1 y 1,25 d en D2 y 0,47 d-1 y 1,48 d en D3 (Tab	la 1).	

Tabla 1. Tasa de crecimiento especifica (μ_{max} (d⁻¹)), tiempo de duplicación ($T_D(d)$). Productividad de biomasa microalgal y CO₂ biofijado. Periodo de cultivo de cinco días. Dosis D1 – D3. Iluminación artificial (4400 lm), fotoperiodo 12:12 h, temperatura 26 °C – 31 °C.

Dosis	Especie	μ _{max} (d ⁻¹)	Т_р (d)	Productividad de biomasa (mg.L ⁻¹ .día ⁻¹)	CO ₂ biofijado (mg.L ⁻¹ .día ⁻¹)
D1	C. vulgaris.	0,34	2,05	28,27±1,79	47,18±2,99
	S. obliquus.	0,33	2,12	21,13±0,31	37,07±0,54
D2	C. vulgaris.	0,56	1,25	96,93±2,83	161,79±4,72
	S. obliquus.	0,39	1,76	31,53±0,42	55,31±0,73
D3	C. vulgaris.	0,47	1,48	60,27±1,01	100,59±1,68
	S. obliquus.	0,35	2,01	23,47±0,64	41,16±1,13

Los valores son expresados como media ± desviación estándar

La productividad de biomasa como se describe en la Tabla 1, mostró una relación directa con la cantidad de CO_2 biofijado por las microalgas, indicando que a mayor cantidad de biomasa producida habrá una mayor cantidad de CO_2 biofijado. Para estimar el CO_2 biofijado por las microalgas se requiere del valor del porcentaje de carbono contenido en la biomasa, que en las especies de estudio se ha estimado en 45,52 % en *C. vulgaris* y en 47,84 % en *S. obliquus* (Radmann *et al.*, 2011).

Los valores de CO₂ biofijado más altos se registraron en C. vulgaris para las dosificaciones D2 y D3 donde se usó CO, al 87,65 % inyectado directamente en el medio de cultivo, en las cuales se logró biofijar hasta 161,79 ± 4,72 mg.L⁻¹. día⁻¹ y 100,59 ± 1,68 mg.L⁻¹.día⁻¹ de CO₂ respectivamente. El valor más bajo de biofijación se registró en la D1 con 47,18 ± 2,99 mg.L⁻¹.día⁻¹ de CO₂. Debido a la baja productividad de biomasa generada por S. obliquus, la cantidad de CO, biofijado fue inferior a la de C. vulgaris en las tres dosificaciones realizadas en las cuales se registraron valores de 37,07 ± 0,54 mg.L⁻¹.día⁻¹, 55,31 ± 0,73 mg.L⁻¹.día⁻¹ y 41,16 ± 1,13 mg.L⁻¹.día⁻¹ de CO₂ en D1, D2 y D3 respectivamente. La prueba de medias de Tukey mostró diferencias significativas (p<0,05) entre cepas para las tres dosis utilizadas; los valores p correspondientes a la diferencia mínima significativa en las tres dosis fueron p = 0,0241 para D1, p = 0,0385 para D2 y p= 0,0163 para D3. Los coeficientes de determinación para la relación productividad de biomasa/CO₂ biofijado descritos en la Tabla 2 muestran que en las tres dosificaciones existe una relación alta, lo que corrobora que el total de CO, que es biofijado por las especies C. vulgaris y S. obliquus está vinculado directamente al total de biomasa generada.

La eficiencia máxima de remoción de CO_2 en el sistema de fotobiorreactores se obtuvo por ambas especies en la dosis D1, registrando valore de 49,80 ± 3,16 % en *C. vulgaris* y 39,13 ± 0,57 % en *S. obliquus* como se describe en la tabla 3. Esto contrastó con los resultados obtenidos de productividad de biomasa y biofijación de CO_2 , indicando que a mayores dosis de CO_2 no hubo mayor eficiencia de remoción.

Tabla 2. Relación entre CO, biofijado y productividad de bio
--

Ensayo	Especie	Coeficiente de determinación Biomasa/CO ₂ Biofijado
D1	C. vulgaris	0,9995
	S. obliquus	0,9999
D2	C. vulgaris	0,9998
	S. obliquus	0,9879
D3	C. vulgaris	0,9998
	S. obliquus	0,9957

Tabla 3. Eficiencia de remoción de CO_2 por C. *vulgaris* y S. *obliquus.* Dosis D1 – D3. Iluminación artificial (4400 lm), fotoperiodo 12:12 h, temperatura 26 °C – 31 °C, en un periodo de cinco días de cultivo.

Especie	Dosificación CO ₂ (g.L ^{.1} .dia ^{.1})	Eficiencia de remoción (%)
C. vulgaris.	0,0947	49,80±3,16
S. obliquus.		39,13±0,57
C. vulgaris.	3,0105	5,37±0,16
S. obliquus.		1,84±0,02
C. vulgaris.	5,9526	1,69±0,03
S. obliquus.		0,69±0,02

Los valores son expresados como media ± desviación estándar

DISCUSIÓN

Las microalgas en general pueden tolerar concentraciones de CO₂ más altas que la concentración atmosférica, motivo por el cual los cultivos de microalgas pueden ser alimentados con gases de combustión provenientes de las emisiones industriales (Arias et al., 2013). Los resultados obtenidos en el presente estudio evidenciaron que el uso de una fuente de CO, adicional en un cultivo de microalgas favorece la productividad de la biomasa microalgal en comparación con los cultivos alimentados con aire atmosférico. Es importante tener en cuenta que la capacidad de asimilación del CO, varía en cada especie de microalga, una concentración muy elevada de CO, podría inhibir el crecimiento del cultivo (Arias et al., 2013). Siendo esto concordante con los resultados del presente estudio, donde la dosis de 11,44 g.día⁻¹ de CO₂ generó las mayores productividades en ambas especies. Resultados similares fueron registrados por Nayak et al. (2016) en un estudio en el cual la microalga Scenedesmus sp. cultivada a diferentes concentraciones de CO2, 0,03%, 1%, 2,5%, 5% y 10%, obtuvo producciones de 127 ± 4,1, 148 ± 4,5, $196 \pm 5,1, 180 \pm 4,9 \text{ y} 163 \pm 4,8 \text{ mg } \text{L}^{-1}\text{D}^{-1}$ respectivamente, observándose que el límite máximo de concentración de CO en el cual la producción de biomasa disminuye es a partir del 5%. Para el caso de C. vulgaris Liu et al. (2017) reportaron producciones de biomasa de 0,18, 0,62, 1,00, 1,12 y 0,63

g L⁻¹ usando mezclas de aire y CO₂ a concentraciones del 0,04%, 1%, 5%, 10% y 20% respectivamente, registrando una disminución significativa en la producción de biomasa en la concentración más alta de CO₂. Por su parte, Chaudhary et al. (2019) evaluaron el crecimiento de C. vulgaris y S. obliquus en concentraciones de CO₂ al 0,03% y 5%, los resultados de producción de biomasa en C. vulgaris fueron 17,9 mg L-1 D⁻¹ y 94,1 mg L⁻¹ D⁻¹ y en S. obliquus fueron 16,7 mg L⁻¹ D⁻¹ y 86,5 mg L⁻¹ D⁻¹ respectivamente, registrando un efecto positivo de la aplicación de CO₂ sobre el crecimiento de las microalgas. En general, el aumento de la concentración de CO₂ en el aire de alimentación de los cultivos de microalgas incrementa notoriamente su producción de biomasa, sin embargo, cada especie tiene un potencial diferencial máximo de tolerancia de CO₂, donde un incremento en la concentración reduce drásticamente la producción de biomasa y con ello la biofijación. En este estudio se observó que a pesar de que las dos especies de microalgas redujeron notablemente la producción de biomasa con la dosis más alta de CO₂ empleada, estas si lograron alta biofijación en concentraciones cercanas a treinta veces la del aire atmosférico (11,44 g.día-1), pudiendo emplearse en controles de contaminación atmosférica en fuentes fijas industriales. De igual forma, la biomasa producida podría ser aprovechada en la industria cosmética, alimenticia y de biocombustibles (Ararát et al., 2020) con lo que se favorece la producción de materias primas y la mitigación de gases de efecto invernadero.

CONCLUSIONES

Se logró evidenciar una relación directa entre el total de CO₂ biofijado por las especies de microalgas C. vulgaris y S. obliquus y la productividad de la biomasa microalgal. Igualmente, la especie C. vulgaris mostró una mejor adaptación a las tres dosis de CO, ya que alcanzó la mayor producción de biomasa, y fue la dosis de 11,44 g.día-1 la que favoreció el máximo crecimiento. Así mismo, en términos generales se evidenció que tanto la falta de CO, como el exceso del mismo, influye de forma negativa en la productividad y crecimiento de las microalgas, debido a que causa limitaciones en el crecimiento e inhibición. Por otra parte, la eficiencia de remoción de CO₂ del fotobiorreactor dependió directamente de la relación entre el volumen de cultivo y la dosis de CO₂, donde se pudo apreciar que a cargas altas de CO, la eficiencia de remoción fue mínima, mientras una carga baja de CO, como la suministrada en D1 logró remover más del 30 % de CO₂ en ambas especies, en este caso se requieren de más estudios para lograr hallar una relación adecuada entre el volumen de cultivo, cantidad de CO, suministrado y especie de microalga que permita incrementar la eficiencia en la remoción del CO₂. Los resultados de esta investigación permiten identificar posibles biotecnologías enfocadas en la mitigación de los

GEI, asociadas a la productividad de biomasa microalgal y metabolitos de interés industrial.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Abierta y a Distancia la cual mediante la convocatoria 007 para la financiación de Proyectos de Investigación desarrollados por los semilleros de Investigación, aporto los recursos necesarios para el desarrollo de este trabajo. Igualmente, se agradece al laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca – CVC, por prestar apoyo en la realización de los análisis de peso seco y el permitir el uso de sus instalaciones y equipos para su realización.

REFERENCIAS

- Acién-Fernandez, FG., Fernandez-Sevilla, JM. y Molina-Grima, E. (2017). Microalgae: The Basis of Mankind Sustainability. En Moya BL, Gracia MDS de, Mazadiego LF, (Ed). Case Study of Innovative Projects - Successful Real Cases (pp. 123-136). InTech. http://www.intechopen.com/ books/case-study-of-innovative-projects-successful-realcases/microalgae-the-basis-of-mankind-sustainability
- Ammar, SH. (2016). Cultivation of Microalgae Chlorella vulgaris in Airlift photobioreactor for Biomass Production using commercial NPK Nutrients. *Al-Khwarizmi Engineering Journal*, 12(1), 90-99. https://alkej.uobaghdad.edu.iq/ index.php/alkej/article/view/287
- Ararát- Orozco, MC., Sanclemente-Reyes, OE. y Vergara-Patiño, L. (2020). Perspectivas industriales en tecnologías de biofijación de CO₂ por microalgas. *Documentos De Trabajo ECAPMA*, 4(1). https://doi.org/10.22490/ ECAPMA.3481
- Arias-Peñaranda, MT., Martínez-Roldan, AdeJ. y Cañizares-Villanueva, RO. (2013). Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta biol. Colomb*, 18(1):43-68. https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/ view/32832
- Benedetti, M., Vecchi, V., Barera, S. y Dall'Osto, L. (2018). Biomass from microalgae: the potential of domestication towards sustainable biofactories. *Microb Cell Fact*, 17(1):173. https://doi.org/10.1186/s12934-018-1019-3
- Hartfield, G., Blunden, J. y Arndt, DS. (2018). State of the Climate in 2017. Bull. Amer. Meteor. Soc, 99(8), S46-S48. https://doi. org/10.1175/2018BAMSStateoftheClimate.1
- Chaudhary, R., Dikshit, AK. y Tong, YW. (2017). Carbondioxide biofixation and phycoremediation of municipal wastewater using Chlorella vulgaris and Scenedesmus obliquus. *Environ Sci Pollut Res*, 25, 20399-20406. https:// doi.org/10.1007/s11356-017-9575-3

- Fan, J., Xu, H., Luo, Y., Wan, M., Huang, J., Wang, W. y Li, Y. (2015). Impacts of CO₂ concentration on growth, lipid accumulation, and carbon-concentrating-mechanismrelated gene expression in oleaginous Chlorella. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(5), 2451-2462. https://doi. org/10.1007/s00253-015-6397-4
- Gatamaneni, BL., Orsat, V. y Lefsrud, M. (2018). Factors Affecting Growth of Various Microalgal Species. *Environmental Engineering Science*, 35, 1037-1048. https:// doi.org/10.1089/ees.2017.0521
- Guerra-Vieira, J., Jacob-Lopes, E., da Silva-Manetti, AG. y Queiroz, MI. (2012). Influence of temperature in phosphate removal by microalgae in heterotrophic bioreactors. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 7(2), 101-109. https://doi.org/10.4136/ ambi-agua.856
- Kassim, MA. y Meng, TK. (2017). Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. *Science of The Total Environment*, 584-585, 1121-1129. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2017.01.172
- Liu, X., Ying, K., Chen, G., Zhou, C., Zhang, W., Zhang, X., Cai, Z., Holmes, T. y Tao, Y. (2017). Growth of Chlorella vulgaris and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide. *Chemosphere*, 186, 977-985. https://doi.org/10.1016/j. chemosphere.2017.07.160
- Menegol, T., Diprat, AB., Rodrigues, E. y Rech, R. (2017).
 Effect of temperature and nitrogen concentration on biomass composition of Heterochlorella luteoviridis.
 Food Sci. Technol, 37(SPE), 28-37. https://doi. org/10.1590/1678-457x.13417
- Moraes, L., da Rosa, GM., Zimmermann-de Souza, M da RA. y Vieira-Costa, JA. (2018). Carbon Dioxide Biofixation and Production of Spirulina sp. LEB 18 Biomass with Different Concentrations of NaNO3 and NaCl. *Braz. arch. biol. technol.*, 61, 1-10. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2018150711
- Nayak, M., Karemore, A. y Sen, R. (2016). Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. *Algal Research*, 16, 216-223. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.020
- Pirkarami, A. y Olya, ME. (2017). Removal of dye from industrial wastewater with an emphasis on improving economic efficiency and degradation mechanism. *Journal* of Saudi Chemical Society, 21, S179-S186. https://doi. org/10.1016/j.jscs.2013.12.008

- Radmann, EM., Camerini-Vieira, F., Duarte-Santos, T. y Vieira-Costa, JA. (2011). Isolation and application of SOX and NOX resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Conversion* and Management, 52(10), 3132-3136. https://doi. org/10.1016/j.enconman.2011.04.021
- Razzak, SA., Ali, SAM., Hossain, MM. y deLasa, H. (2017).
 Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 379-390. https://doi.org/10.1016/j. rser.2017.02.038
- Seth, JR. y Wangikar, PP. (2015). Challenges and opportunities for microalgae-mediated CO₂ capture and biorefinery. *Biotechnol. Bioeng*, 112(7), 1281-1296. https://doi.org/10.1002/bit.25619
- Suparmaniam, U., Lam, MK., Uemura, Y., Lim, JW., Lee, KT. y Shuit, SH. (2019). Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 115, 1-23. https://doi.org/10.1016/j. rser.2019.109361
- Suzuki, H., Hulatt, CJ., Wijffels, RH. y Kiron, V. (2019). Growth and LC-PUFA production of the cold-adapted microalga Koliella antarctica in photobioreactors. *J Appl Phycol*, 31, 981–997. https://doi.org/10.1007/s10811-018-1606-z
- Tessarolli, LP., Day, JG. y Vieira, AAH. (2017). Establishment of a cryopreserved biobank for the Culture Collection of Freshwater Microalgae (CCMA-UFSCar), São Paulo, Brazil. *Biota Neotrop*, 17(2), 1-9. http://dx.doi. org/10.1590/1676-0611-BN-2016-0299
- Walter, A., de Carvalho, JC., Soccol, VT., Bisinella-de Faria, AB., Ghiggi, V. y Soccol, CR. (2011). Study of phycocyanin production from Spirulina platensis under different light spectra. *Braz. arch. biol. technol*, 54(4), 675-682. https:// doi.org/10.1590/S1516-89132011000400005
- Zhao, B., Zhang, Y., Xiong, K., Zhang, Z., Hao, X. y Liu, T. (2011). Effect of cultivation mode on microalgal growth and CO₂ fixation. *Chemical Engineering Research and Design*, 89(9), 1758-1762. https://doi.org/10.1016/j. cherd.2011.02.018