

Efecto de fertilizantes comerciales sobre la producción de biomasa de *Scenedesmus obliquus* ATCC 11457 a escala piloto

José Miguel Londoño Lopera

jlondo67@eafit.edu.co

Departamento de Biología, EAFIT

Resumen

El estudio de las microalgas ha demostrado una amplia aplicabilidad en campos tan variados como la medicina, la cosmetología, captura de CO₂, entre otras. Pese a esto, los gastos son significativos a la hora de producir biomasa microalgal a gran escala, especialmente por el costo del medio de cultivo, el cual es el más representativo, alcanzado un 40 % del costo de producción; debido a esto se buscan formas de economizar los procesos de producción. Por lo anterior, el presente estudio evaluó el efecto que tienen dos fertilizantes comerciales NPK, en el crecimiento celular de *Scenedesmus obliquus* ATCC 11457, con el fin de proponer un medio de cultivo que logre ser una fuente de nutrientes viable y reducir los costos del medio. Para ello, se realizaron ensayos a escala piloto en fotobiorreactores de 20L, utilizando fertilizantes comerciales como medio de cultivo. Se determinó que los fertilizantes Crecilizer® y Florilizer® son fuentes de nutrientes viables para *S. obliquus*. El fertilizante Florilizer® presentó mayor productividad celular, comparado con el medio tradicional, un 31 % más de proteínas y reducción de costo de producción en medio de cultivo hasta de un 66 %, por lo que se recomienda este fertilizante para la producción de biomasa con alto contenido proteico y de bajo costo.

Palabras clave: Microalgas, fertilizantes, comercial, *Scenedesmus*, nutrientes.

Abstract

The study of microalgae has shown a wide applicability in varied fields as medicine, cosmetology CO₂, capture among others. Despite this, the expenses are significant when it comes to producing microalgal biomass at large scale, especially for the cost of the culture medium, which is significantly high, reaching 40 % of the production cost; due to this, ways are being sought to save production processes. For the above, the present study evaluated the effect of two commercial NPK fertilizers have on the cell growth of *Scenedesmus obliquus*

ATCC 11457, in order to propose a culture medium that can be a viable nutrient source and reduce costs of the media. For this, pilot-scale tests were carried out in 20 L photobioreactors, using commercial fertilizers as the culture medium. Crecilizer® and Florilizer® fertilizers were determined to be viable nutrient sources for *S. obliquus*. The Florilizer® fertilizer presented higher cellular productivity, compared to the traditional medium, 31 % more proteins and a reduction in production cost in culture medium up to 66 %, so this fertilizer is recommended for the production of biomass with high protein content and low cost.

Keywords: Microalgae, fertilizers, commercial, *Scenedesmus*, nutrients.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos unicelulares, fotosintéticos, autótrofos que existen solitarios o en cadena y se encuentran en su mayoría en sistemas acuáticos, donde desempeñan un papel vital en la producción primaria de estos ambientes (Ebenezer *et al.*, 2012). Actualmente, han despertado un gran interés debido a que son microorganismos fotosintéticos que poseen un rápido crecimiento, con requerimientos simples para su desarrollo: luz, agua, CO₂, N, P, algunos macronutrientes y micronutrientes según la especie (Bermejo *et al.*, 2021).

Las microalgas poseen diferentes aplicaciones, como producción de biodiesel, participación en coprocesos de biomitigación del CO₂, tratamiento de aguas residuales, y en la obtención de productos de alto valor agregado con aplicaciones en la alimentación humana, animal, vegetal (como fertilizante), medicina y cosmética (Santos Montes *et al.*, 2014).

Para obtener un buen crecimiento celular y alta producción de biomasa microalgal es necesaria la adición de nutrientes al cultivo de gran escala, lo cual genera una alta demanda de reactivos de óptimo grado analítico y alto consumo de tiempo en la preparación de medios, elevando el costo de producción entre un 30 % y un 40 % (máximo 70 %) (Heasman *et al.*, 2001). Por ende, se hace necesaria la búsqueda de medios de cultivo económicos alternativos que no requieran de preparación y de fácil acceso, con el fin de reducir costos para cultivos a gran escala.

A razón de esto, se han desarrollado estudios de medios enriquecidos que posean macronutrientes, micronutrientes, vitaminas que faciliten y potencien el crecimiento de las microalgas, y utilizando desechos orgánicos, aguas residuales, y fertilizantes comerciales NPK, como medios de cultivo de menor costo y de fácil acceso (Baligar & Bennett, 1986; García-Balboa *et al.*, 2013; Huy *et al.*, 2018; Sudasinghe *et al.*, 2014).

Los fertilizantes NPK son utilizados tradicionalmente son desarrollados con el fin de suministrar nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas; compuestos por nitrógeno, fósforo y potasio (es decir N, P y K) (Baligar & Bennett, 1986). Debido a que estos nutrientes son requeridos en mayor proporción por las microalgas, se han realizado estudios para sustituir los medios tradicionales, con los denominados fertilizantes comerciales. En estudios reportados por Kaippilliparambil *et al.* (2021) y Ribeiro *et al.* (2019) se propone el reemplazo de medios de cultivos tradicionales por fertilizantes NPK, debido a que el crecimiento celular no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con fertilizantes y el medio tradicional. Mientras que autores como Nayak *et al.* (2016) reportan que con *Scenedesmus* se pueden obtener resultados con mayor concentración celular, a partir de fertilizantes NPK.

El género *Scenedesmus*. posee diferentes ventajas, en comparación con otras microalgas; entre ellas se resaltan: capacidad para adaptarse a duras condiciones ambientales, facilidad de cultivo y alto crecimiento celular en aguas ricas en nutrientes, especialmente nitrógeno (Ishaq *et al.*, 2016; Wehr *et al.*, 2003). Adicionalmente, se ha reportado que

Scenedesmus es una materia prima atractiva para la industria alimenticia, gracias a su alto contenidos de carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y omega 6), antioxidantes (carotenos) y niveles de proteína entre el 25 % y el 65 % (Quevedo *et al.*, 2008), por lo cual es un microorganismo ideal para evaluar el crecimiento con fertilizantes NPK. Por todo lo anterior, con el presente estudio se evaluó el efecto de dosis fertilizantes comerciales de bajo costo, en el crecimiento celular y producción de metabolitos de *Scenedesmus obliquus* ATCC 11457 a escala piloto en fotobiorreactores de 20 L, con el fin de proponer una alternativa a los medios de cultivos tradicionales y reducir costos de producción.

METODOLOGÍA

Recurso biológico

La cepa utilizada fue *S. obliquus* ATCC 11457, la cual se encuentra en el cepario del laboratorio de biotecnología del Centro de Argos para la Innovación (CAPI), ubicado en la Universidad EAFIT, sede Medellín.

Montaje y seguimiento de ensayos

El desarrollo experimental fue llevado a cabo a escala piloto, usando fotobiorreactores de 20L elaborados en acrílico transparente, con

burbujeo de aire enriquecido con CO₂, y temperatura ambiente (18 - 28°C).

Entre las actividades de seguimiento se estableció la determinación de concentración celular en el tiempo, cambio del pH en el cultivo con el tiempo, seguimiento micrográfico de los cultivos, lavado centrifugado, secado de la biomasa y los análisis bromatológicos con la biomasa final.

Cinética de crecimiento celular y determinación de la concentración celular final

La concentración celular se cuantificó por el método de peso seco para la construcción de la cinética de crecimiento para cada uno de los tratamientos, con 10 mL de muestra. La concentración celular se obtuvo como se muestra en la ecuación 1.

$$X(g/L) = \frac{P_f(g) - P_i(g)}{V(L)}$$

Ecuación 1. X=concentración biomasa, P_i=peso inicial, P_f= peso final, V=volumen tomado de muestra

Seguimiento del pH: Respecto al tiempo se midió el pH con un potenciómetro tres veces por semana, durante los 16 días de cultivo.

Lavado, centrifugado y secado de la biomasa: La biomasa final obtenida de cada uno de los tratamientos fue separada en 2 etapas:

- Decantación por gravedad: Se realizó la descarga de los 20L de la suspensión microalgal de cada uno de los FBR en tanques con capacidad de 25L, y se dejaron reposar por 24 horas.
- Separación por sifonado: Pasadas las 24 horas se realizó la separación del precipitado por sifonado, el sobrenadante se descartó y el precipitado se llevó a secar en bandejas de aluminio en un horno de convección forzada durante 48 horas a 40°C.

Análisis proximal de la biomasa: La biomasa final obtenida, luego de secada y macerada, fue sometida para la realización de análisis de humedad, cenizas, grasa total, fibra cruda y porcentaje de nitrógeno, mediante las técnicas AOAC 945.15, 923.03, 2003.06, 962.09 y 990.03, respectivamente.

Modelos cinéticos: Para los parámetros cinéticos del crecimiento, cada tratamiento se evaluó con el modelo logístico no lineal, utilizando la ecuación 2.

$$X = \frac{X_{max} \times X_0 \times e^{\mu t}}{X_{max} \times X_0 \times (e^{\mu t} - 1)}$$

Ecuación 2. X = biomasa, X_{max} = biomasa máxima obtenida, μ = tasa de crecimiento específico, t = tiempo de cultivo en días.

Diseño experimental

El diseño experimental planteado fue la factorial 2 x 3, donde el factor 1 corresponde a los fertilizantes comerciales Florilizer® (Florilizer) y Crecilizer® (Crecilizer), y el factor 2 a la concentración del fertilizante agregado (5mL, 10mL y 15mL). Cada tratamiento contó con tres réplicas para un total de 9 unidades experimentales por fertilizante y tres réplicas control utilizando el medio Basal Bristol (BBM), para un total de 21 unidades. Se utilizó nomenclatura alfabética latín para cada unidad experimental y nomenclatura alfabética para cada tratamiento (ver tabla 1). La composición NPK de cada fertilizante se observa en la Tabla 2.

Tabla 1. Nomenclatura de los diferentes tratamientos

Nomenclatura	Fertilizante	Concentración mL/L
A	Florilizer	5
B	Crecilizer	5
C	Florilizer	10
D	Crecilizer	10
E	Florilizer	15
F	Crecilizer	15

Tabla 2. Concentración de los nutrientes en los fertilizantes

Fertilizante	Florilizer	Crecilizer
% Nitrógeno (N)	10	20
% Potasio (K ₂ O)	20	10
% Fósforo (P ₂ O ₅)	10	10

Análisis de resultados

El análisis estadístico se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con el 95 % de confiabilidad. Se comprobaron los supuestos del ANOVA mediante test cuantitativos de: Shapiro - Wilk, Kolmogorov, Levene y Durbin - Watson. El test de rangos múltiples LSD se empleó para establecer qué tratamientos presentaron efecto sobre las variables de respuestas. Las barras de error presentadas en las gráficas corresponden al error estadístico entre las réplicas de cada uno de los tratamientos (Miranda *et al.*, 2019). Para el desarrollo del análisis estadístico se utilizó el Software STATGRAPHICS Centurión versión XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinéticas y modelo de crecimiento

A partir del crecimiento de *S. obliquus* de los diferentes tratamientos se realizaron la cinética y modelo de crecimiento con los fertilizantes Florilizer y Crecilizer, respectivamente. En las Figuras 1 y 2 se puede evidenciar un crecimiento celular en los diferentes tratamientos a distintas concentraciones, por lo que es posible sugerir que ambos fertilizantes pueden ser empleados como medio de cultivo para el crecimiento celular de *S. obliquus*. El patrón de crecimiento de los diferentes tratamientos presenta una fase de exponencial en los primeros siete días, seguido de una fase estacionaria, excepto en los tratamientos A y F, en tanto su crecimiento exponencial se vio

hasta el día 16. Los tratamientos que presentaron mayor concentración celular fueron el tratamiento A con Florilizer, con una concentración celular de 1,47g/L, y el tratamiento F con Crecilizer, con una concentración celular de 1,04g/L, siendo el tratamiento A el único que superó la concentración celular del control (1,33g/L).

Estos resultados son comparables con los publicados por Kaippilliparambil *et al.* (2021), en los cuales reportó un mayor crecimiento celular en tratamientos con fertilizantes NPK, en comparación con el medio tradicional BBM.

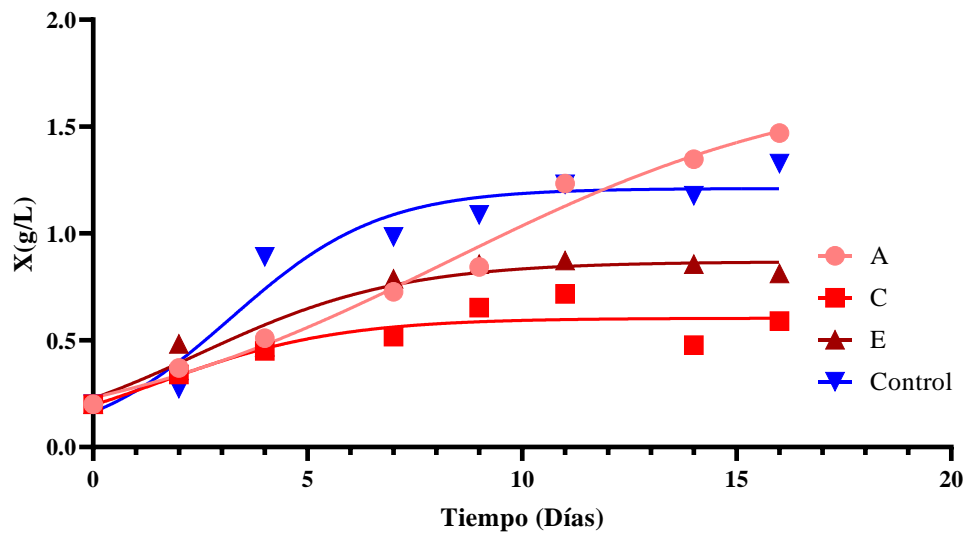


Figura 1. Curvas de crecimiento para cada uno de los tratamientos con Florilizer.

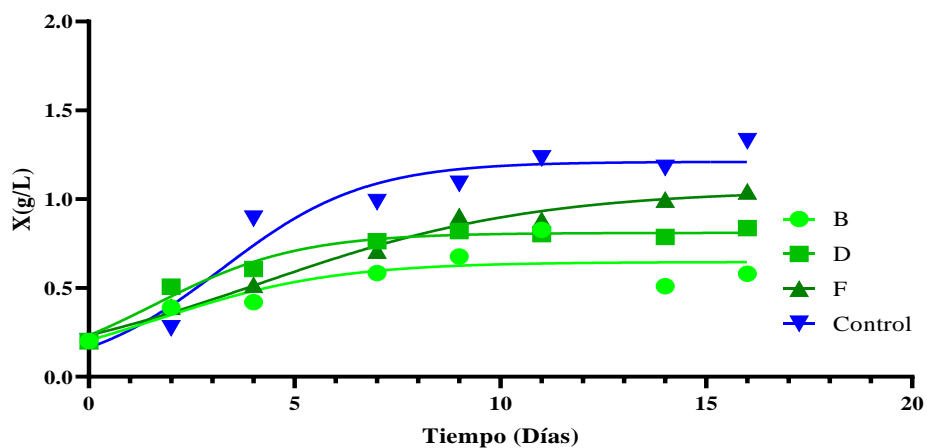


Figura 2. Curvas de crecimiento para cada uno de los tratamientos con Crecilizer.

En la tabla 3, por su parte, se observan los parámetros cinéticos de los diferentes tratamientos evaluados, obtenidos por el modelo logístico mediante regresión no lineal; con esto se obtiene la velocidad máxima de crecimiento, tasa de crecimiento de la biomasa donde se evidencia la velocidad que tarda en alcanzar su punto máximo cada tratamiento. Así las cosas, la concentración inicial de los modelos (X_0) se acerca mucho a la concentración inicial de los tratamientos, mientras que la concentración máxima (X_{max}) de los modelos está por debajo de la concentración máxima obtenida, que posee un coeficiente de determinación (R^2) para ver que tan bien se ajustan los datos respecto al modelo, hallándose en rangos aceptables y mostrando resultados confiables. Por otra parte, el coeficiente de determinación corregido (R^{2c}) muestra un ajuste muy satisfactorio en los modelos de la mayoría de los tratamientos satisfactorios, exceptuando los casos de los tratamientos B y C.

Tabla 3. Valores de la modelación cinética para los diferentes tratamientos

Tratamiento	μ_{max}	X_0	X_{max}	R^2	R^{2c}
A	0,24	0,22	1,64	0,98	0,97
B	0,50	0,20	0,60	0,71	0,50
C	0,50	0,20	0,57	0,80	0,65
D	0,68	0,20	0,80	0,97	0,95

E	0,42	0,21	0,86	0,94	0,89
F	0,35	0,21	1,01	0,98	0,97
Control	0,43	0,17	1,28	0,92	0,86

En la figura 3 se observa la concentración celular final para los tratamientos con el fertilizante Florilizer. Al realizar un análisis de varianza (ANOVA) se obtiene que existe diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0,05$). Esta diferencia se da entre el tratamiento A, con respecto a los tratamientos C y E, lo que sugiere, que el tratamiento A tiene una mayor producción de biomasa microalgal, en comparación con los tratamientos C y E. Por lo cual, entre los tratamientos con Florilizer, el tratamiento A es el más recomendable en cuanto al crecimiento celular final.

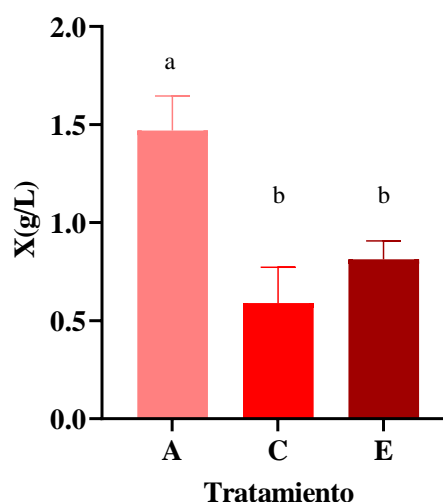


Figura 3. Concentración celular final para los diferentes tratamientos realizados con Florilizer. Las letras iguales corresponden a grupos

estadísticamente homogéneos mediante el test de rangos múltiples LSD.

De otro lado, la figura 4 muestra la concentración celular final de los tratamientos con el fertilizante Crecilizer. Al realizarse un ANOVA con un nivel de confianza del 95 %, se obtiene que entre los diferentes tratamientos no se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($P > 0,05$), por lo cual es posible sugerir que el uso de diferentes concentraciones de este fertilizante no presenta un efecto sobre la variable de respuesta.

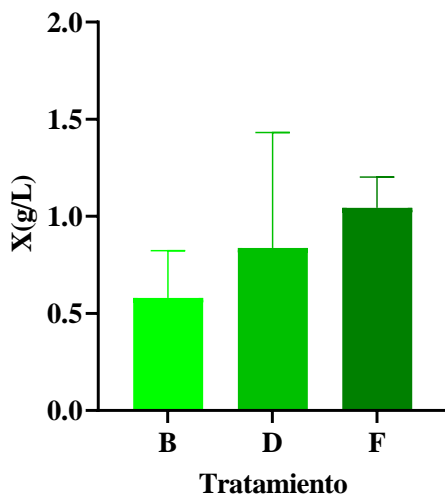


Figura 4. Concentración celular final para los diferentes tratamientos realizados con Crecilizer.

En los resultados obtenidos es posible evidenciar que ambos fertilizantes suplieron los requerimientos nutricionales *S. obliquus*. En el caso del Florilizer, la tasa de crecimiento celular se ve afectada de forma negativa en las concentraciones

mayores a 5mL/L. Mientras que, en el caso del Crecilizer, la tasa de crecimiento celular, pese a no mostrar una diferencia significativa, aumenta, evidenciándose un crecimiento con las diferentes concentraciones del medio, por lo que es posible descartar algún efecto nocivo o inhibición en el desarrollo celular.

Adicionalmente a partir de las cinéticas de crecimiento obtenidas con los tratamientos se realizó la evaluación de productividad, la cual se muestra en las figuras 5 y 6, esta productividad se calculó tomando la concentración celular obtenida en los días donde el cultivo de cada tratamiento entraba en su fase estacionaria, siendo el día 9 para los tratamientos D y E, el día 11 para B, C y el control, el día 14 para el F y el día 16 para el tratamiento A.

La figura 5, por su lado, presenta la productividad celular obtenida con Florilizer, pese a que ningún tratamiento posee mayor productividad que el control, al realizarse un ANOVA no se obtiene una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) entre los diferentes tratamientos, siendo el tratamiento A el de mejor productividad, por lo que se recomienda su uso.

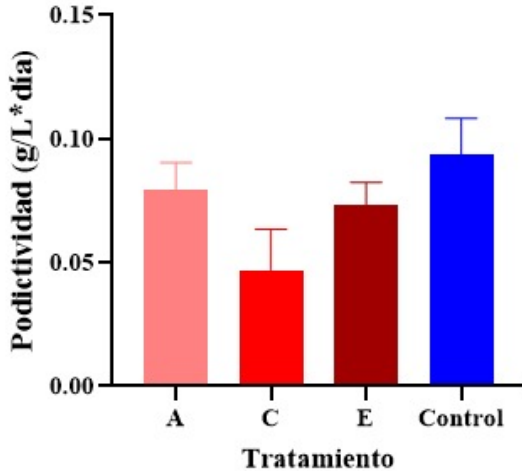


Figura 5. Productividad presentada en los tratamientos con Florilizer

En cuanto a la figura 6 se muestra la productividad celular de los tratamientos con Crecilizer. Al realizarse el ANOVA, se obtiene que entre los diferentes tratamientos no se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($P > 0,05$), por lo cual no hay ningún efecto entre las concentraciones del fertilizante sobre la variable de respuesta.

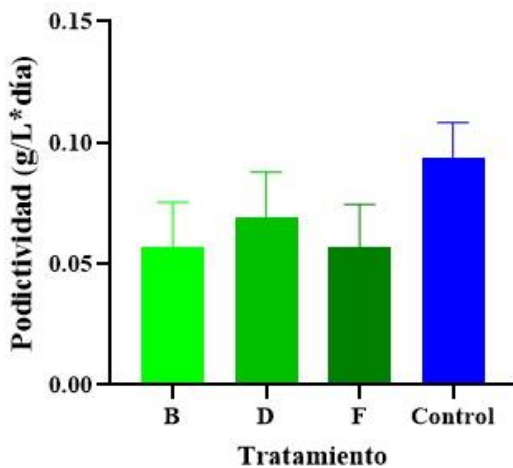


Figura 6. Productividad presentada en los tratamientos con Crecilizer

Un comportamiento semejante, respecto a la cinética de crecimiento microalgal con fertilizantes NPK, se vio en el estudio realizado por Kaippilliparambil *et al.* (2021), donde se observa que aumentar la contracción del fertilizante mejora la producción de biomasa, hasta que se alcanza una concentración del fertilizante que afecta al crecimiento. Esto se debe a que en los fertilizantes NPK comúnmente hay porcentaje considerable de nitrógeno ureico, incluido en el nitrógeno total, el cual en el proceso metabólico que realizan las microalgas, para la fijación de nitrógeno, se produce amonio (Miriam *et al.*, 2017). El amonio puede ser utilizado por las microalgas también como fuente de nitrógeno, pero a altas concentraciones inhibe la formación de adenosín trifosfato (ATP) en los cloroplastos (Miriam *et al.*, 2017), lo cual afecta la actividad fotosintética, reduciendo la tasa de replicación celular en del medio.

Efecto de pH

La variación del pH con respecto al tiempo presentado por los tratamientos con Florizer se puede evidenciar en la figura 7. En ella se observa un aumento del pH en el transcurso de los primeros seis días, y luego se mantiene constante hasta finalizar el ensayo. En el caso de estos tratamientos

se logra apreciar que a menor concentración de Florilizer se normaliza el pH más rápidamente, mostrando que *S. obliquus* se adaptó más rápido, siendo el tratamiento A y el control los primeros en normalizarse. Al adaptarse a los medios no se presentó limitación en el crecimiento

celular ni factores que generaran estrés ambiental en las microalgas; esto se observa en el pH, ya que no presentaron cambios significativos y un comportamiento semejante al reportado por Nayak *et al.* (2016).

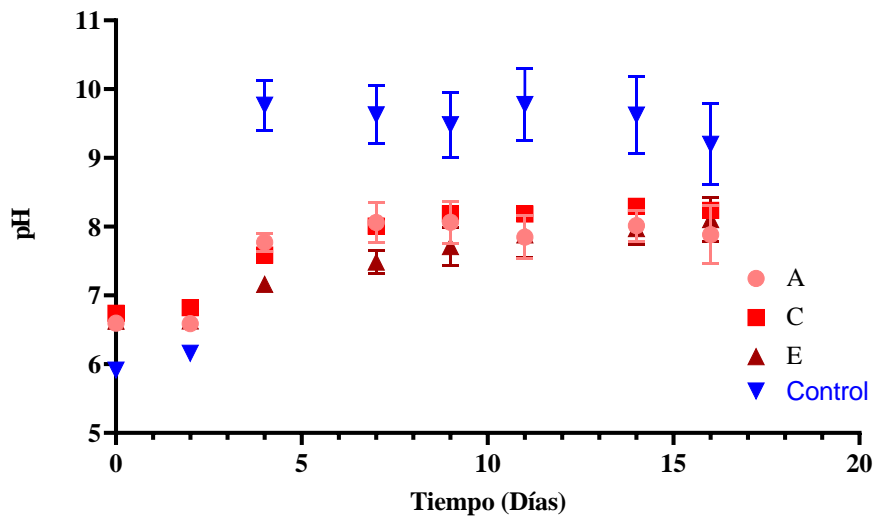


Figura 7. pH de los diferentes tratamientos del Florilizer a diferentes concentraciones

En la figura 8 se muestra el pH del Crecilizer, a lo largo de los días, evidenciando que el pH se normaliza en tiempos similares en las tres concentraciones, lo cual indica una adaptación al medio en tiempos semejantes. Además, se logra observar que

el pH aumenta a menor concentración de fertilizante en el medio, esto posiblemente es producido por la síntesis y acumulación de triglicéridos (TAG), generados por la limitación de nutrientes (Nayak *et al.*, 2016).

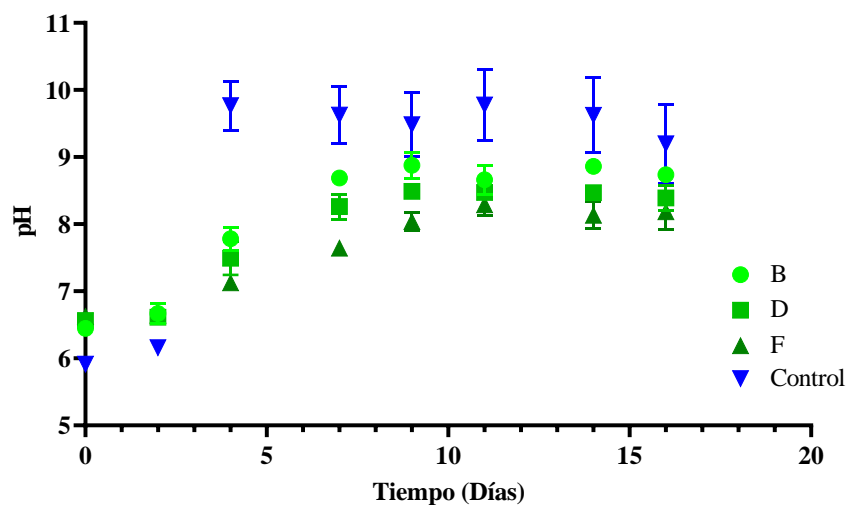


Figura 8. Curva de pH de los diferentes tratamientos con Crecilizer a diferentes concentraciones

En las figuras 7 y 8 se logra apreciar una gran diferencia de los tratamientos con respecto al control del control, lo cual se debe a que los fertilizantes comerciales posiblemente contengan nitrógeno ureico, que conlleva al aumento en la acides del medio (Nayak *et al.*, 2016), generando con ello que los tratamientos posean un pH más bajo que en el control BBM.

En el estudio realizado por Gardner *et al.* (2013) se reporta que en cultivos de *S. obliquus* es común que el pH aumente, debido a la producción y acumulación de TAG, la cual se produce cuando el ciclo celular se retrasa o detiene debido a la limitación de nutrientes o estrés ambiental, y la acumulación de TAG conlleva a la alcalinización del medio.

Seguimiento micro y fotográfico de los cultivos

Las figuras 9 y 10 muestran microfotografías de *S. obliquus* en diferentes tiempos, con el fin de observar los posibles efectos que pudieran tener los tratamientos con fertilizantes sobre morfología. *S. obliquus* se caracterizan por su forma elipsoidal, ovoide o en forma de media luna y pared celular lisa (Lee, 2008). La reproducción normalmente se da de forma asexual, y se forman autocolonias donde células se organizan en múltiplos de dos, las cuales se liberan con la ruptura de la pared celular de la madre (Lee, 2008).

Como se observa en las figuras 9 y 10 no se logra evidenciar ningún cambio evidente en cuanto a apariencia de la microalga, color o morfología. Estos

resultados son los esperados, según Kaippilliparambil *et al.* (2021); pese a esto, distintos autores han reportado que la contracción de nitrógeno puede afectar el tamaño de las células, siendo más pequeñas a mayor concentración (Dean *et*

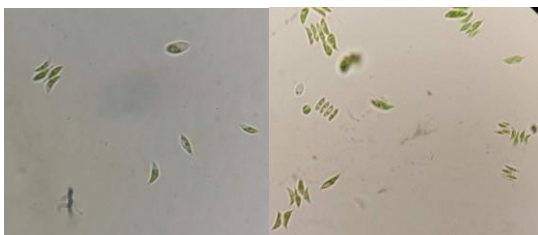


Figura 9. Micrografías de *S. obliquus* en el día 0.

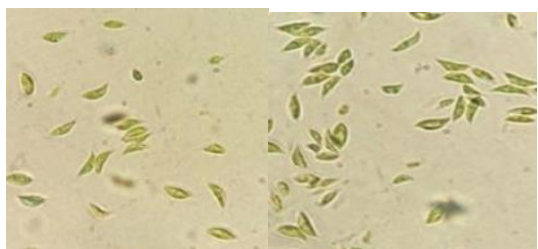


Figura 10. Micrografías de *S. obliquus* en el día 16.

Las tablas 4 y 5, de otro lado, muestran cómo en los tratamientos a B y D del Crecilizer se observó que las tres réplicas de ambos tratamientos se tornaron de color

al., 2010), y a menores concentraciones de fósforo y nitrógeno muestran mayor tendencia a formar autocolonias (Pancha *et al.*, 2014); estos cambios no afectan de forma directa a los cultivos, y no fueron evidentes.

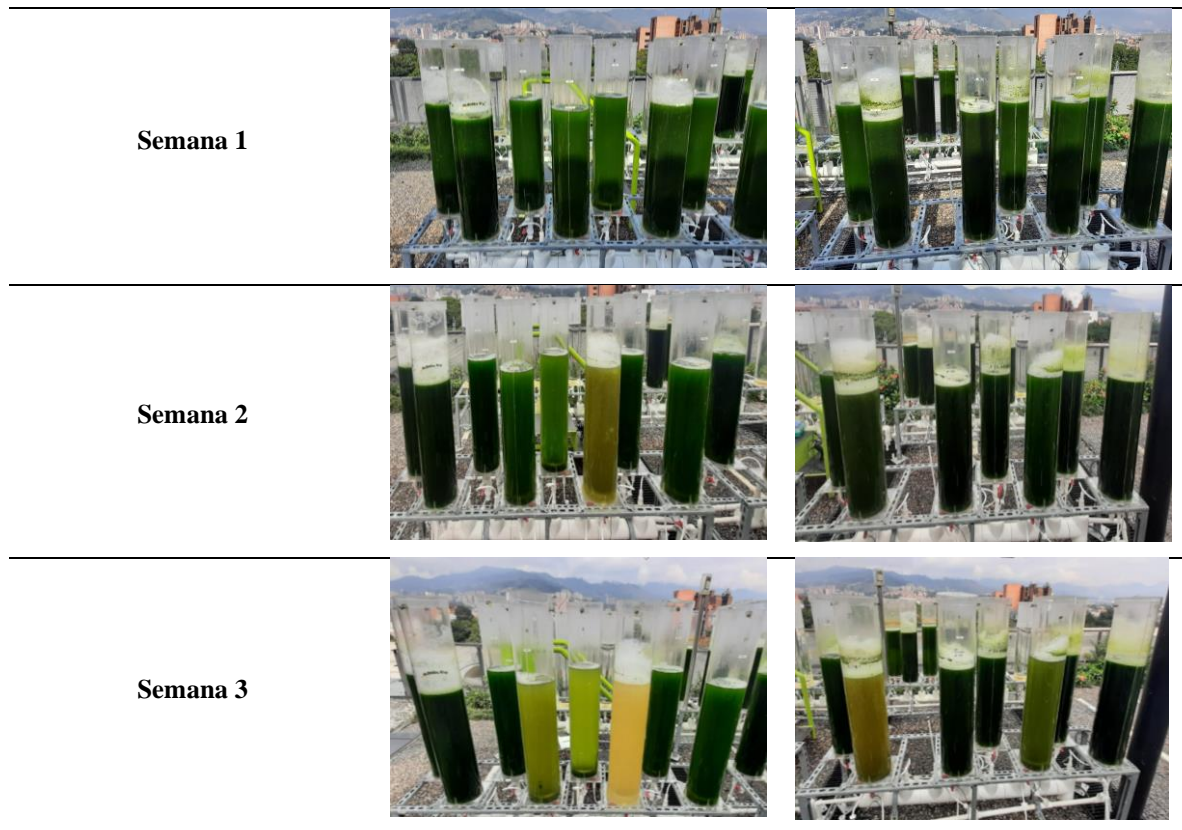
amarillo, en el caso del tratamiento B en la segunda semana, y a la semana tres en el tratamiento D, lo cual es evidencia de lisis celular, lo que conlleva a degradación de los pigmentos fotosintéticos (Bermejo *et al.*, 2021). Por esto, es posible sugerir que la concentración de nutrientes esenciales en los tratamientos con Crecilizer, B y D, fue muy baja, ya que la muerte celular fue más rápida a menor concentración, posiblemente debido a un consumo más acelerado de algunos nutrientes esenciales contenidos en Crecilizer. Adicionalmente, también esta limitación de nutrientes pudo generar un aumento en el pH, siendo el aumento del pH una consecuencia a de la limitación del nutriente en el medio.

Tabla 4. Cambio en la coloración de lo fotobioreactores a través del tiempo. V = Verde, Vo= Verde oliva, VA = Verde amarillento, Vc = Verde claro, A = Amarillo.

Tratamiento	Replica	Día								
		0	2	4	7	9	11	14	16	
A	A1	V	V	V	V	V	V	V	V	V
	A2	V	V	V	V	V	V	V	V	V
	A3	V	V	V	V	V	V	V	V	V
B	B1	V	V	V	V	V	Vo	VA	VA	

	B2	V	V	V	V	V	Vo	VA	Vc
	B3	V	V	V	Vo	Vo	VA	Vc	A
C	C1	V	V	V	V	V	V	V	V
	C2	V	V	V	V	V	V	V	V
	C3	V	V	V	V	V	V	V	V
D	D1	V	V	V	V	V	Vo	Vo	VA
	D2	V	V	V	V	V	V	V	Vo
	D3	V	V	V	V	V	Vo	Vo	VA
E	E1	V	V	V	V	V	V	V	V
	E2	V	V	V	V	V	V	V	V
	E3	V	V	V	V	V	V	V	V
F	F1	V	V	V	V	V	V	V	V
	F2	V	V	V	V	V	V	V	V
	F3	V	V	V	V	V	V	V	V
Control	Co 1	V	V	V	V	V	V	V	V
	Co 2	V	V	V	V	V	V	V	V
	Co 3	V	V	V	V	V	V	V	V

Tabla 5. Capturas fotográficas del cambio de los cultivos a lo largo de las semanas



Composición bromatológica

Las cuantificaciones de la composición química en la biomasa final se pueden contemplar en la tabla 6 y la figura 11. Estos resultados muestran que las

microalgas realizaron una biofijación de nitrógeno muy alta en todos los tratamientos con los fertilizantes, en comparación con la presentada en el control.

Tabla 6. Comparación en los valores bromatológicos para los tratamientos y el control

Composición Tratamiento	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteína (%)	Extracto etéreo (%)	Fibra cruda (%)	Carbohidratos (%)
A	6,25	15,53	55,31	6,31	5,23	11,37
B	9,75	14,21	56,88	0,50	8,05	10,62
C	7,27	19,30	57,56	2,37	2,18	11,32
D	7,55	16,95	58,00	1,53	2,13	13,84
E	6,63	19,00	60,75	2,40	3,64	7,58
F	6,73	10,80	58,19	3,32	8,82	12,14
Control	6,50	13,28	24,50	6,50	9,87	39,36

Al comparar el tratamiento de mejor respuesta, en cuanto a la concentración celular final, (tratamiento A) contra el control, es posible ver que su contenido de fibra cruda y carbohidratos es mucho menor en el tratamiento A, mientras que su humedad y grasas son equiparables entre

el tratamiento A y el control, lo mismo con sus cenizas que es semejante, aunque en menor medida. Por ende, la mayor diferencia en la composición del tratamiento A, con respecto al control, es el contenido proteínico y de carbohidratos.

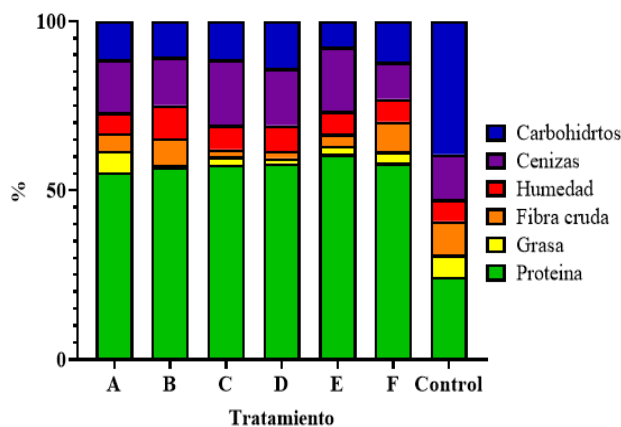


Figura 11. Comparación en de la composición bromatológicos de los tratamientos y el control.

Basado en los resultados arrojados por el análisis bromatológico, se obtiene que el contenido proteínico es superior al 50 % en todos los tratamientos con fertilizantes, con respecto al control. Esta diferencia posiblemente puede deberse a que la fijación de nitrógeno se ve afectada por la especie de nitrógeno que se encuentra disponible en el medio, como lo sugiere Allen & Arnon (1955). La diferencia en la biofijación de nitrógeno y producción de proteína es debido a que en los fertilizantes se encuentra nitrógeno úrico, del cual las microalgas pueden obtener dos átomos de nitrógeno por molécula; mientras que en el control el NaNO_3 es la fuente principal de nitrógeno, del cual las microalgas solo obtienen un átomo de nitrógeno por molécula (Wijanarko, 2011). Adicionalmente, la ruta metabólica para el nitrógeno úrico, que puede ser tanto la ruta de la urea amidohidrolasa como la ruta urea amidoliasa, solo consumen ATP; mientras que la ruta metabólica del NaNO_3 , conocida como reducción de nitrato, requiere NADH, el cual es necesario también para la producción de lípidos, proteínas y clorofililla (Leftley & Syrett, 1973). Lo anterior, conlleva a que las microalgas por medio de la ruta metabólica del nitrógeno ureico aumenten su fijación de nitrógeno y su producción de proteínas (Wijanarko, 2011).

Comparación de costos de los diferentes medios

En las figuras 12 y 13 se puede observar mejor el costo de los medios de tratamientos y del control, a la hora de producir 1kg de biomasa microalgal. Se ve un costo en el medio que oscila entre \$118.000 y \$643.000. La figura 12 muestra el costo de producir 1 kg con Florilizer; aquí se evidencia que el tratamiento A posee menor costo de producción que el control. Así las cosas, se recomiendan los tratamientos A para reducir costos, dado que producir 1kg de biomasa microalgal cuesta \$227.828 menos que producir un kg con BBM.

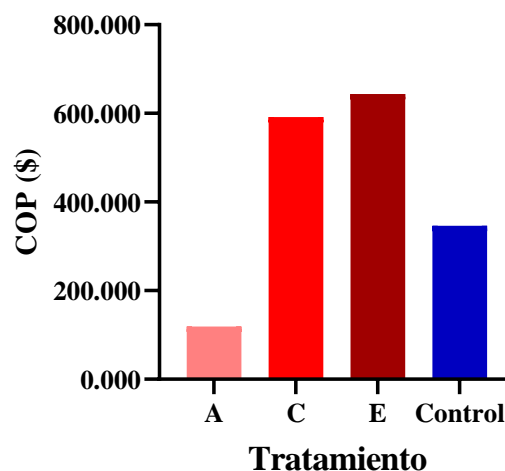


Figura 12. Costo en pesos colombianos (COP) por kg de biomasa de los diferentes tratamientos con Florilizer.

Por su parte, la figura 13 presenta el costo de producir 1kg con Crecilizer, donde se

observa que los B y D poseen menores costos de producción que el control. Así las cosas, siendo el B el más barato de los dos es el más recomendable, reduciendo el costo de producción de un kg de biomasa en \$106.018, con respecto al costo del BBM.

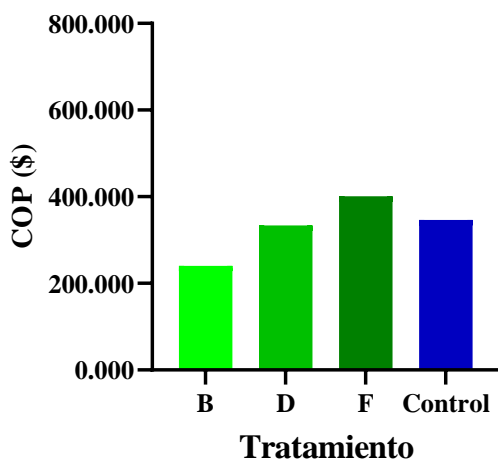


Figura 13. Costo en pesos colombianos (COP) por kg de biomasa de los diferentes tratamientos con Crecilizer.

El contraste de costo en COP y la concentración final de biomasa, obtenida de cada tratamiento, se puede observar en la figura 14, mostrando el costo de producir 20L de medio de cada tratamiento y la biomasa que es producida a partir de estos. En cuanto a costos, en la figura 14 se evidencia que el tratamiento B es el de menor costo, pero con una concentración celular baja, en comparación con los demás tratamientos; mientras que el tratamiento A es el segundo de menor costo, y arrojó mayor concentración celular final, incluso superior a la del control (el cual fue uno de los de mayor costo).

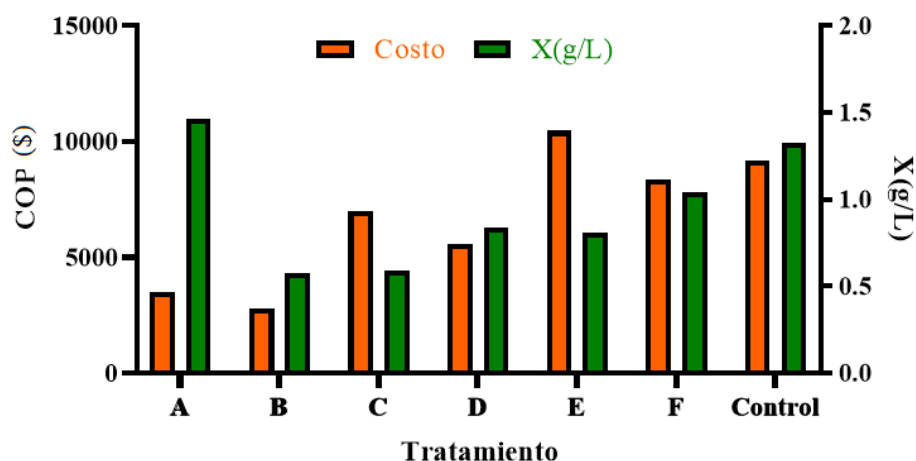


Figura 14. Contraste de costo en pesos colombianos (COP) del medio para preparar los 20L de los fotobiorreactores y concentración microalgal final de los diferentes tratamientos.

Teniendo en cuenta el análisis de costo realizado a partir de las figuras 12, 13 y 14 se puede afirmar que el tratamiento A es el más eficiente en costo y producción de biomasa, en escala piloto en Fotobiorreactor, reduciendo el costo del medio de cultivo en un 65,7 %, en comparación con el de control (BBM). Esto conlleva a que los costos de operación se vean reducidos en un 12-24%.

CONCLUSIÓN

Los diferentes tratamientos con los fertilizantes mostraron un crecimiento celular positivo de *S. obliquus* en fotobiorreactores de 20L, demostrando ser efectivos como medio nutritivo. El tratamiento con Florilizer a 5mL/L presentó la mejor respuesta en cuanto a crecimiento y biomasa final, superando incluso al control. Por ello, es el tratamiento más recomendado a la hora de producir biomasa microalgal, a base de los fertilizantes comerciales evaluados.

La composición bromatológica de los diferentes tratamientos con fertilizantes, en todos los tratamientos, pese a ser diferente a la del control, obtuvo un porcentaje de proteína mucho más alto que el control, dándole a la biomasa producida con estos fertilizantes un atractivo como fuente de proteína, con niveles de esta del

55 %, siendo viable como fuente de proteína para alimentación.

Al contrastar productividad/costos de cada tratamiento, se obtiene que, en cuanto a producción de biomasa microalgal de *S. obliquus* en fotobiorreactores, los tratamientos Florilizer 5mL/L, Crecilicer 5mL/L y Crecilicer 10mL/L producen biomasa a menor costo, destacando entre ellos el tratamiento del Florilizer a 5mL/L, y por ello es el más rentable de todos los tratamientos.

Con esto se concluye que el uso de Florilizer a 5mL/L, como medio, es una alternativa viable para reducir costos en el cultivo de microalgas con niveles de proteína del 55 %, lo que da una fuente de proteína sustentable, con costos reducidos y ecoamigable.

REFERENCIAS

- Allen, M. B., & Arnon, D. I. (1955). Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. I. Growth and nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica* Lemm. *Plant Physiology*, 30(4), 366-372.
<https://doi.org/10.1104/pp.30.4.366>
- Baligar, V. C., & Bennett, O. L. (1986). NPK-fertilizer efficiency—a situation analysis for the

- tropics. *Fertilizer Research*, 10(2), 147-164.
<https://doi.org/10.1007/BF01074369>
- Bermejo, E., Filali, R., & Taidi, B. (2021). Microalgae culture quality indicators: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(4), 457-473.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1854672>
- Dean, A. P., Sigee, D. C., Estrada, B., & Pittman, J. K. (2010). Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource Technology*, 101(12), 4499-4507.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.065>
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M. C., Mohanty, K., & Goud, V. V. (2015). Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. *Biofuels*, 6(1-2), 37-44.
<https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1045274>
- Ebenezer, V., Medlin, L. K., & Ki, J. S. (2012). Molecular detection, quantification, and diversity evaluation of microalgae. *Marine Biotechnology*, 14(2), 129-142.
<https://doi.org/10.1007/s10126-011-9427-y>
- Fontes, A. G., Vargas, M. A., Moreno, J., Guerrero, M. G., & Losada, M. (1987). Factors affecting the production of biomass by a nitrogen-fixing blue-green alga in outdoor culture. *Biomass*, 13(1), 33-43.
[https://doi.org/10.1016/0144-4565\(87\)90070-9](https://doi.org/10.1016/0144-4565(87)90070-9)
- García-Balboa, C., Baselga-Cervera, B., García-Sánchez, A., Igual, J. M., Lopez-Rodas, V., & Costas, E. (2013). Rapid adaptation of microalgae to bodies of water with extreme pollution from uranium mining: an explanation of how mesophilic organisms can rapidly colonise extremely toxic environments. *Aquatic Toxicology*, 144-145, 116-123.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.003>
- Gardner, R. D., Lohman, E. J., Cooksey, K. E., Gerlach, R., & Peyton, B. M. (2013). Cellular cycling, carbon utilization, and photosynthetic oxygen production during

- bicarbonate-induced triacylglycerol accumulation in a *Scenedesmus* sp. *Energies*, 6(11), 6060-6076.
<https://doi.org/10.3390/en6116060>
- Heasman, M. P., Sushames, T. M., Diemar, J. M., O'Connor, W. A., & Foulkes, L. A. (2001). *Production of microalgal concentrates for aquaculture part 2: Development and evaluation of harvesting, preservation, storage and feeding technology*. NSW Fisheries.
- Huy, M., Kumar, G., Kim, H. W., & Kim, S. H. (2018). Photoautotrophic cultivation of mixed microalgae consortia using various organic waste streams towards remediation and resource recovery. *Bioresource Technology*, 247, 576-581.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.108>
- Ishaq, A. G., Matias-Peralta, H. M., & Basri, H. (2016). Bioactive Compounds from Green Microalga-*Scenedesmus* and its Potential Applications: A Brief Review. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 39(1), 1-16.
<https://www.semanticscholar.org/paper/Bioactive-compounds-from-green-microalga-%E2%80%93-and-its-Gogoba-Matias-Peralta/c7ff233f9a9dbe0311eb62e3d57cd8337c666fe5>
- Kaippilliparambil, J., Aikkarakunnath, S., & Thajudeen, J. (2021). Cost effective cultivation and biomass production of green microalga *Desmodesmus subspicatus* mb. 23 in NPK fertilizer medium. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(3), 599-604.
<https://www.doi.org/10.15414/jmbfs.2019/20.9.3.599-604>
- Lee, R. E. (2008). *Phycology* (4 Ed.). Cambridge University Press.
- Leftley, J. W., & Syrett, P. J. (1973). Urease and ATP: urea amidolyase activity in unicellular algae. *Journal of General Microbiology*, 77(1), 109-115.
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-77-1-109>
- Miranda, A. M., Ossa, E. A., Vargas, G. J., y Sáez, A. A. (2019). Efecto de las Bajas Concentraciones de Nitratos y Fosfatos sobre la Acumulación de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* UTEX 2505. *Información Tecnológica*, 30(1), 23-32.

- <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000100023>
- Miriam, L. M., Raj, R. E., Kings, A. J., & Visvanathan, M. A. (2017). Identification and characterization of a novel biodiesel producing halophilic *Aphanothece halophytica* and its growth and lipid optimization in various media. *Energy Conversion and Management*, *141*, 93-100. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.05.041>
- Nayak, M., Thirunavoukkarasu, M., & Mohanty, R. C. (2016). Cultivation of freshwater microalga *Scenedesmus sp.* using a low-cost inorganic fertilizer for enhanced biomass and lipid yield. *The Journal of General and Applied Microbiology*, *62*(1), 7-13. <https://doi.org/10.2323/jgam.62.7>
- Pancha, I., Chokshi, K., George, B., Ghosh, T., Paliwal, C., Maurya, R., & Mishra, S. (2014). Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus sp.* CCNM 1077. *Bioresource Technology*, *156*, 146-154. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852414000431>
- Quevedo, C., Morales, S. P., y Acosta, A. (2008). Crecimiento de *Scenedesmus sp* en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. *Vitae*, *15*(1), 25-31. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042008000100004&script=sciabstract&tlng=es>
- Ribeiro, D. M., Tais Zanetti, G., Moreno Julião, M. H., Masetto, T. E., Lafayette Neves Gelinski, J. M., & Graciano Fonseca, G. (2019). Effect of different culture media on growth of *Chlorella sorokiniana* and the influence of microalgal effluents on the germination of lettuce seeds. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, *7*(1), 006-010. <https://doi.org/10.7324/JABB.2019.70102>
- Santos Montes, A. M., González-Arechavala, Y., y Martín-Sastre, C. (2014). Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. *Anales de Mecánica y Electricidad*, *91*(1), 20-28. <https://www.iit.comillas.edu/docu>

[mentacion/IIT-14-027A/Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas.pdf](#)

Sudasinghe, N., Dungan, B., Lammers, P., Albrecht, K., Elliott, D., Hallen, R., & Schaub, T. (2014). High resolution FT-ICR mass spectral analysis of bio-oil and residual water soluble organics produced by hydrothermal liquefaction of the marine microalga *Nannochloropsis salina*. *Fuel*, 119(1), 47-56.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.11.019>

Wehr, J. D., Sheath, R. G., & Kociolek, P. (2003). *Freshwater algae of North America. Ecology and classification*. Academic Press.

Wijanarko, A. (2011). Effect of the Presence of Substituted Urea and Also Ammonia as Nitrogen Source in Cultivated Medium on Chlorella Lipid Content. In S. Shaukat (Ed.), *Progress in Biomass and Bioenergy Production*. IntechOpen.