



## EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE TRANSESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICAS DE LA FRACCIÓN GRASA DEL CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL

Ruth Anakaren Rosas-Reyna <sup>(1)</sup>, Flor Virginia Pérez-Barradas <sup>(1)</sup>; Luis Alfredo Ortega-Clemente\*<sup>(1)</sup>, Ariana Arlene Huerta-Heredia <sup>(2)</sup>, Ignacio Alejandro Pérez-Legaspi <sup>(1)</sup>.

<sup>1)</sup> Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Boca del Río. División de Estudios de Posgrado e Investigación. Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Veracruz. 94290. México.

\* alfclemen2002@yahoo.com.mx

<sup>(2)</sup> Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec/Cátedra CONACYT, Circuito Central 200, Parque Industrial, C.P. 68301 San Juan Bautista, Tuxtepec, Oaxaca, México

*Palabras clave: Chlorella vulgaris, transesterificación enzimática, biodiesel*

**Introducción.** El interés por la producción de biodiesel a partir de grasas y aceites como combustible alternativo para motores diésel ha ido aumentando debido al incremento de los precios del petróleo y las preocupaciones ambientales sobre el calentamiento global. Diversas son las fuentes de obtención de los aceites para la generación de este biocombustible; sin embargo, el interés por el uso de microalgas va en aumento debido a la alta productividad de aceite comparado con las plantas oleaginosas y a los cortos periodos de cosecha. En objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, además de las productividades de biomasa y lípidos totales, el perfil de ácidos grasos y el proceso de transesterificación enzimática (Novozyme 435) para la obtención de biodiesel (conversión).

**Metodología.** *Chlorella vulgaris* fue propagada en matraces de 125 mL con medio Bold estéril a  $20 \pm 2$  °C, a  $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Se escaló a fotobioreactores a 540 L (inóculo de  $1 \times 10^6$  cel  $\text{mL}^{-1}$ ) a las mismas condiciones. Las fases de crecimiento y densidad celular se determinaron a través de muestras diarias del cultivo microalgal. La producción de biomasa ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), se determinó en fase exponencial y estacionaria. La biomasa seca y pesada (mg) fue sometida a extracción de lípidos por el método Soxhlet con una mezcla cloroformo/metanol (1:2v/v) (1). La cuantificación de ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo de gases PerkinElmer (Clarus 580), la transesterificación enzimática fue en 100 mg de aceite de microalga, se le añadió 25  $\mu\text{L}$  de dimetil sulfóxido y 975  $\mu\text{L}$  metanol, la mezcla fue sonicada y agitada durante 10 s en un rango de 40 a 50 °C. La reacción de transesterificación fue en tubos Eppendorf, una vez resuspendida la muestra, se le añadió 5 mg de la enzima Novozyme 435, los tubos se mantuvieron en agitación constante a  $45 \pm 5$  °C. Se tomaron muestras de aproximadamente 200  $\mu\text{L}$  a las dos, cuatro, seis, y ocho horas de reacción (2, 3). La eficiencia de conversión de biodiesel se expresó por el porcentaje de peso de FAMES convertidos, con respecto al peso contenido de aceite (% en peso de aceite) contra el peso de biomasa seca (% en peso de biomasa).

**Resultados.** La microalga fue cultivada en medio Bold con iluminación continua a  $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  alcanzando la máxima densidad durante la fase estacionaria al día 11 con  $40.2 \times 10^7$  cel  $\text{mL}^{-1}$ . Asimismo, la productividad de biomasa ( $0.0621 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) y de lípidos totales ( $12.96 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) se presentó durante esta fase de crecimiento (**Tabla 1**). Por otra parte, la composición de ésteres metílicos de ácidos grasos fue de ácido esteárico

(C18:0), oleico (C18:1), araquidónico (C20:0), linolénico (C18:3) indicando que fueron óptimos para la obtención de biodiesel por su composición en el número de átomos de carbono, con una conversión de 100% peso/aceite y 61.28% peso/biomasa (**Tabla 2**).

**Tabla 1.** Valores promedio y desviación estándar de los parámetros evaluados.

Microalga	Fase de crecimiento	Contenido			Producción		Productividad	
		Biomasa (cel $\text{mL}^{-1}$ )	Lípidos (%)	(%)	Biomasa ( $\text{g L}^{-1}$ )	Lípidos ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Biomasa ( $\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ )	Lípidos ( $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ )
<i>Chlorella vulgaris</i>	Exponencial	$10.8 \times 10^6$	$27.66 \pm 5.72$		$0.2754 \pm 0.0168$	$75.75 \pm 11.06$	$0.0344 \pm 0.0028$	$9.47 \pm 1.38$
	Estacionaria	$40.2 \times 10^6$	$21.04 \pm 4.99$		$0.6832 \pm 0.0400$	$142.58 \pm 24.92$	$0.0621 \pm 0.0036$	$12.96 \pm 2.26$

**Tabla 2.** Conversión a biodiesel por peso/ aceite y peso/ biomasa (%).

Ácido graso (%)	Tiempo en horas				Control <i>C. vulgaris</i>
	2	4	6	8	
C18:0 Esteárico				1.78	4.91
C18:1 Oleico	7.46		6.89	2.15	30.85
C20:0 Araquidónico	2.3				17.94
C18:3 Linolénico				2.52	7.58
Total	9.76	0	6.89	6.45	61.28
Conversión peso/ aceite (%)	84.07	100	88.75	89.45	
Conversión peso/ biomasa (%)	51.52	61.28	54.39	54.88	

**Conclusiones.** El contenido de biomasa fue superior en fase estacionaria; sin embargo, el porcentaje de lípidos fue más abundante durante la fase exponencial. La composición de ésteres metílicos de ácidos grasos obtenidos mediante transesterificación catalizada por Novozym 435 fue de C18:0, C18:1, C20:0, C18:3 por ello, *C. vulgaris* demostró ser eficiente para generar biodiesel.

**Agradecimientos.** Se agradece al TecNM por el apoyo otorgado, a través de la Convocatoria 2019 "Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica en los Programas Educativos de los Institutos Tecnológicos Federales y Centros".

### Bibliografía.

- Halim R, Danquah M & Webley P (2012) *Biotechnol. Adv.* 30: 709-732.
- Lee OK *et al.* (2013) *Bioresour. Technol.* 147: 240-245.
- Alavijeh RS *et al.* (2015) *J. Oleo Sci.* 64: 69-74.

