

|   |               |
|---|---------------|
| <b>Título de la revisión sistemática</b>  |               |
| <b>Estudios de <i>Chlorella</i> spp en Colombia</b><br><b>Revisión sistemática: Métodos de cultivo y sus aplicaciones</b> |               |
| <b>Datos de la propuesta</b>  |               |
| Grupo de investigación  | Micología     |
| Línea de investigación  | Biotecnología |

|                       |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| <b>Estudiante (s)</b> |                              |
| Nombre:               | Julián Banguera Obando       |
| Identificación        | 1143965223                   |
| Correo:               | julian.banguera00@usc.edu.co |
| Teléfono:             | 3174709989                   |
|                       |                              |
| Nombre:               | Daniel Varela Santiago       |
| Identificación        | 1006015665                   |
| Correo:               | daniel.varela00@usc.edu.co   |
| Teléfono:             | 3053282056                   |

|                   |                           |
|-------------------|---------------------------|
| <b>Director</b>   |                           |
| Nombre:           | Luz Dary Caicedo Bejarano |
| Identificación    | 29305200                  |
| Correo:           | ludcaice@usc.edu.co       |
| Teléfono:         | 3163299748                |
| <b>Codirector</b> |                           |
| Nombre:           | Santiago Ortiz            |
| Identificación    | 1128272426                |
| Correo:           | santiortizm@gmail.com     |
| Teléfono:         | 15223015330               |

# Estudios de *Chlorella* spp en Colombia

## Revisión sistemática: Métodos de cultivo y sus aplicaciones

**Julián Banguera Obando**  
**Daniel Varela Santiago**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Microbiólogo.**

Director (a):  
Mg. Luz Dary Caicedo Bejarano

Director (a):  
Título y nombre del director(a)  
PhD. Santiago Ortiz

Línea de Investigación:  
Biotecnología  
Grupo de Investigación:  
Micología

Universidad Santiago de Cali  
Facultad de Ciencias Básicas,  
Programa de Microbiología  
Cali, Colombia  
2021

# Estudios de *Chlorella* spp en Colombia

## Revisión sistemática: Métodos de cultivo y sus aplicaciones

### Resumen:

La población mundial se encuentra en constante incremento, y se espera que aproximadamente para el año 2050 haya alrededor de 9 billones de personas. La industrialización, contaminación, el consumo de alimentos, energía y gases de efecto invernadero, es un problema que se debe afrontar con el compromiso de disminuir el dióxido de carbono entre un 50% y un 80%, lo que permitiría conservar la seguridad climática y alimentaria. En Colombia el cultivo de las microalgas ya se ha implementado en varios sectores industriales, agroindustria, el sector agropecuario y en el área ambiental. Las especies del género *Chlorella* son unas de las más usadas en el país, como medio para suplir necesidades de consumo y para el tratamiento de aguas residuales, debido a su capacidad bioacumuladora y biodegradadora de metales pesados, herbicidas, fenoles, entre otros compuestos, por lo cual es utilizada en procesos de ficorremediación. También ha sido empleada en investigaciones basadas en la fijación de dióxido de carbono atmosférico con resultados positivos. Para conocer el uso biotecnológico de las microalgas en Colombia se realizó una revisión sistemática de las especies de *Chlorella spp* con el fin de conocer las condiciones de cultivo y las aplicaciones de estas microalgas a escala nacional. La alternativa de uso que presenta *Chlorella spp* es eficaz comparada con otros procesos convencionales utilizados en múltiples aplicaciones y se obtienen buenos resultados en correctas condiciones de cultivo. La información obtenida en los artículos seleccionados ofrece algunas bases para la continuidad y mejora en aplicaciones como ficorremediación, producción de proteínas, biocombustibles, pigmentos, entre otros. También se da a conocer las especies de *Chlorella* más usadas en Colombia como *C. vulgaris* y *C. sorokiniana* y las múltiples condiciones de cultivo, estableciendo que no hay una estandarización en estos procesos que permitieran lograr el máximo aprovechamiento a escala industrial de este grupo tan promisorio de microalgas.

Palabras claves: *Chlorella*, Colombia, cultivo, aplicaciones.

**Abstract:**

The world's population is constantly increasing, and it is expected that by the year 2050 there will be approximately 9 billion people. Industrialization, pollution, consumption of food, energy, and greenhouse gases, is a problem that must be faced with the commitment to reduce carbon dioxide by 50% to 80%, which would allow preserving climate and food security. In Colombia, the cultivation of microalgae has already been implemented in several industrial sectors, agribusiness, the agricultural sector and in the environmental area. The species of the *Chlorella* genus are among the most used in the country, to supply consumption needs and for wastewater treatment, due to their capacity to bioaccumulate and biodegrade heavy metals, herbicides, phenols, among other compounds, which is why they are used in phycoremediation processes. It has also been used in research based on the fixation of atmospheric carbon dioxide with positive results. To know the biotechnological use of microalgae in Colombia, a systematic review of the species of *Chlorella* spp. was carried out to know the cultivation conditions and applications of these microalgae on a national scale. The alternative use of *Chlorella* spp. is effective compared to other conventional processes used in multiple applications and good results are obtained under correct cultivation conditions. The information obtained in the selected articles offers some bases for the continuity and improvement in applications such as phycoremediation, protein production, biofuels, pigments, among others. The most used *Chlorella* species in Colombia, such as *C. vulgaris* and *C. sorokiniana*, and the multiple cultivation conditions are also presented, establishing that there is no standardization in these processes that would allow achieving the maximum use on an industrial scale of this promising group of microalgae.

Keywords: *Chlorella*, Colombia, culture, applications.

# 1 INTRODUCCIÓN

## Las microalgas

Las microalgas son seres vivos eucariotas, ubicuos, poseen clorofila y otros pigmentos que les permiten hacer procesos de fotosíntesis. Son organismos autótrofos, sin embargo, algunas pueden crecer en condiciones heterótrofas y/o mixotróficas [1], es un diverso grupo de microorganismos unicelulares, existiendo alrededor de 300.000 especies diferentes en el planeta, de los cuales solo se han descrito alrededor de 40.000, las microalgas son considerados productores primarios en la cadena trófica, por lo cual presentan un aporte significativo a la estabilidad, fertilidad y mantenimiento en variedad de ecosistemas [2][3]. La mayoría de microalgas son fotoautótrofas, es decir, la luz es su fuente de energía, mientras que el CO<sub>2</sub> es su fuente de carbono. presentan diferentes formas y tamaños, se las encuentra asociadas a sistemas de aguas lólicas y lénticas, en suelos húmedos y en otros sustratos. Las microalgas crecen bien en medios naturales o artificiales en presencia de sales minerales, CO<sub>2</sub>, luz, agua y sustancias orgánicas. Tienen plasticidad genómica, lo cual permite utilizarlas en diferentes procesos biotecnológicos como producción de biomasa, nutrición animal y humana, producción de pigmentos y combustibles [4] [5].

Las microalgas eucariotas como las algas verdes (clorófitos), las algas rojas (rodófitos) y las diatomeas (bacilariofitas) [6][7], se clasifican en una variedad de clases definidas principalmente por su pigmentación, ciclo de vida y estructura celular básica, requieren compuestos inorgánicos como el CO<sub>2</sub>, sales y fuente de energía lumínica para su crecimiento. Algunas algas fotosintéticas son mixotróficas, es decir, tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis y de adquirir nutrientes orgánicos exógenos [8].

*Chlorella* spp es una fuente de proteínas, lípidos, vitaminas y sales minerales. Posee características fisiológicas que le permiten sobrevivir en lugares con alta concentración de toxinas o metales pesados; por la composición de su pared celular tiene capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales. Del género *Chlorella* se conocen 6 especies, *Chlorella vulgaris*, *C. variabilis*, *C. sorokiniana*, *C. pyrenoidosa*, *C. minutissima* y *C. autotrophica* [9][10][11].

En las últimas décadas el avance en los procesos biotecnológicos ha permitido el desarrollo de productos a base de microalgas de interés en la industria de alimentos, cosméticos y farmacéuticos. En Colombia las algas ya se han implementado en varios sectores industriales del país, como medio para suplir necesidades de consumo, puntualmente en zonas de la agroindustria, y el sector agrícola [7]. El género *Chlorella* es uno de los más usados para el tratamiento de aguas residuales, debido a su capacidad bioacumuladora y biodegradadora de metales pesados, herbicidas, fenoles, entre otros compuestos [12], por lo cual es utilizada en procesos de ficorremediación. También ha sido empleada en investigaciones basadas en la fijación de dióxido de carbono atmosférico con resultados positivos [9].

En la ciudad de Bogotá se han realizados estudios en la producción de aceites a partir de *Chlorella*, que pueden llegar a ser más efectivos comparados con el aceite que se extrae de la soya y la palma, ya que presentan buen crecimiento y producción de biomasa en espacios reducidos [10]. Además, se han utilizado para la producción de biocombustibles, siendo esta una alternativa cada vez más sostenible, eficiente, y óptima para su aplicación a nivel de industrias [11][12]. Otras aplicaciones dadas en Colombia a las microalgas son la producción de pigmentos de interés comercial, facilitan la formación de carotenoides liposolubles e isoprenoides [13]. La población mundial se espera que aumente para el año 2050 en cerca de 9 mil millones de personas, por tanto, la industrialización, contaminación, el consumo de alimentos, energía y gases de efecto invernadero, será un problema que deban afrontar los diferentes gobiernos, sumado al compromiso de disminuir el dióxido de carbono entre un 50% y un 80%, lo que permitiría conservar la seguridad climática y alimentaria [14]. La industria de los combustibles fósiles es una de las más comprometidas en la producción de estos gases, por lo cual, en las últimas décadas se generaron comburentes de primera generación con base en productos agrícolas con valor alimenticio [15]. Posteriormente se produjeron los combustibles de segunda generación, a partir residuos agrícolas o grasas animales, que derivan en beneficios económicos y ambientales [16]. Por último, se ha optado por la producción de combustibles de tercera generación, amigables con el medio ambiente y obtenidos a partir de los aceites provenientes de cultivos de microalgas, en especial de *Chlorella* spp. [17].

En Colombia se ha utilizado *Chlorella* spp en la producción de biomasa, proteínas unicelulares, pigmentos, combustibles entre otros [19] [20]. Por la importancia del tema que aquí se aborda, el presente artículo tiene como objetivo, describir los métodos usados en Colombia para el cultivo de *Chlorella* spp y sus principales aplicaciones a partir de una revisión de la literatura científica sobre esta temática.

## La pregunta problema

¿Qué condiciones de cultivo se han utilizado en Colombia para la producción de *Chlorella* spp y cuáles han sido sus principales aplicaciones?

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Estrategia de búsqueda y criterios de selección:

Para la realización de la revisión sistemática se tuvieron en cuenta algunos elementos de PRISMA (Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses). [11] Los reportes de información sobre *Chlorella* spp, cultivos y aplicaciones fueron consultados en bases de datos electrónicas. Se realizaron búsquedas bibliográficas en ScienceDirect, Scopus, Taylor AND Francys y Springer. Se analizaron los registros de los últimos 10 años y se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras clave: *Chlorella* AND Colombia; *Chlorella* AND cultivo AND Colombia; *Chlorella* AND aplicaciones AND Colombia; *Chlorella* AND culture AND Colombia;

*Chlorella* AND application AND Colombia; *Chlorella* AND culture AND application AND Colombia; *Chlorella* AND cultivo OR growth AND Colombia; *Chlorella* AND cultivo OR crecimiento AND Colombia; *Chlorella* AND cultivo XOR growth AND Colombia; *Chlorella* AND Colombia NOT *Scenedesmus*; *Chlorella* AND Colombia NOT *Spirulina*.

## **2.2. Criterio de elegibilidad**

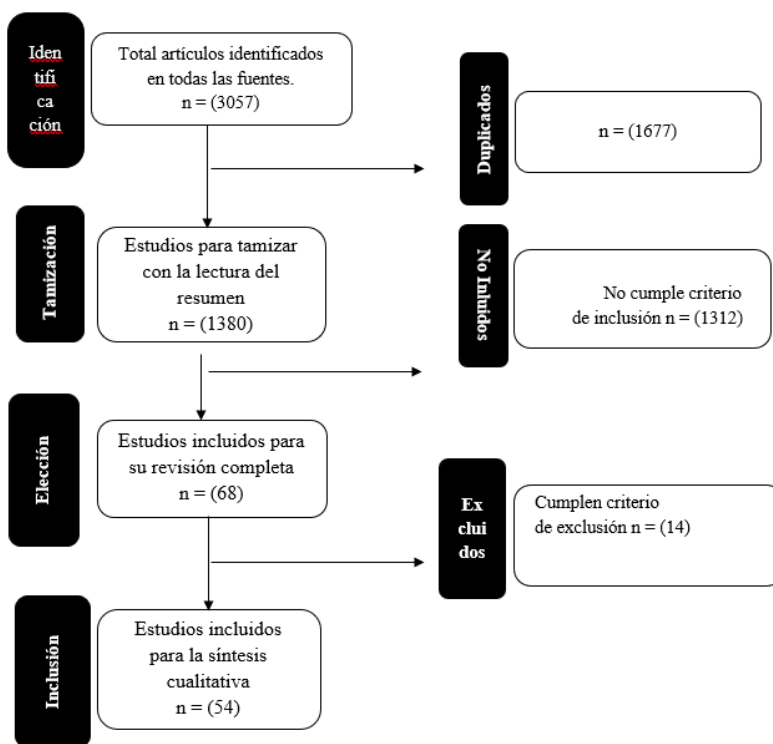
Cada artículo incluido en esta revisión debía cumplir con los siguientes criterios: (a) artículos como resultado de una investigación original realizada en Colombia; (b) que brindará información de *Chlorella*, cultivos y aplicaciones; (c) los estudios se hubieran publicado entre enero de 2010 y marzo de 2020; (d) estar escritos en inglés y español; (e) publicado en una revista científica o tesis de grado. Como criterio de exclusión se tuvieron en cuenta la literatura gris y las revisiones.

## **2.3. Búsqueda de artículos**

Con los artículos inicialmente identificados con el algoritmo de búsqueda (Figura 1), se tabuló la información bibliográfica de fecha de publicación, título, autor principal, revista y resumen de cada uno. Posteriormente se revisó el título y el resumen y, a criterio de los autores, se seleccionaron aquellos que fueran relevantes y que aportarán información importante para la revisión sistemática. Los artículos identificados en esta primera lectura fueron leídos como texto completo para la verificación de los criterios de inclusión y exclusión.

## **2.4. Extracción de datos**

Todos los artículos incluidos en el análisis final fueron revisados por dos autores de forma independiente utilizando herramientas de extracción de datos estandarizadas preparadas en una hoja de Microsoft Excel para evitar sesgos y pérdida de información. La selección de artículos se guio por los criterios de elegibilidad previamente establecidos. Los desacuerdos entre los revisores se resolvieron al inspeccionar el artículo completo. Cuando los dos autores no llegaron a un consenso sobre un artículo específico, se presentó un revisor arbitral. El diagrama de flujo de PRISMA (Figura 1), muestra el número de artículos en cada paso de la selección de los artículos.

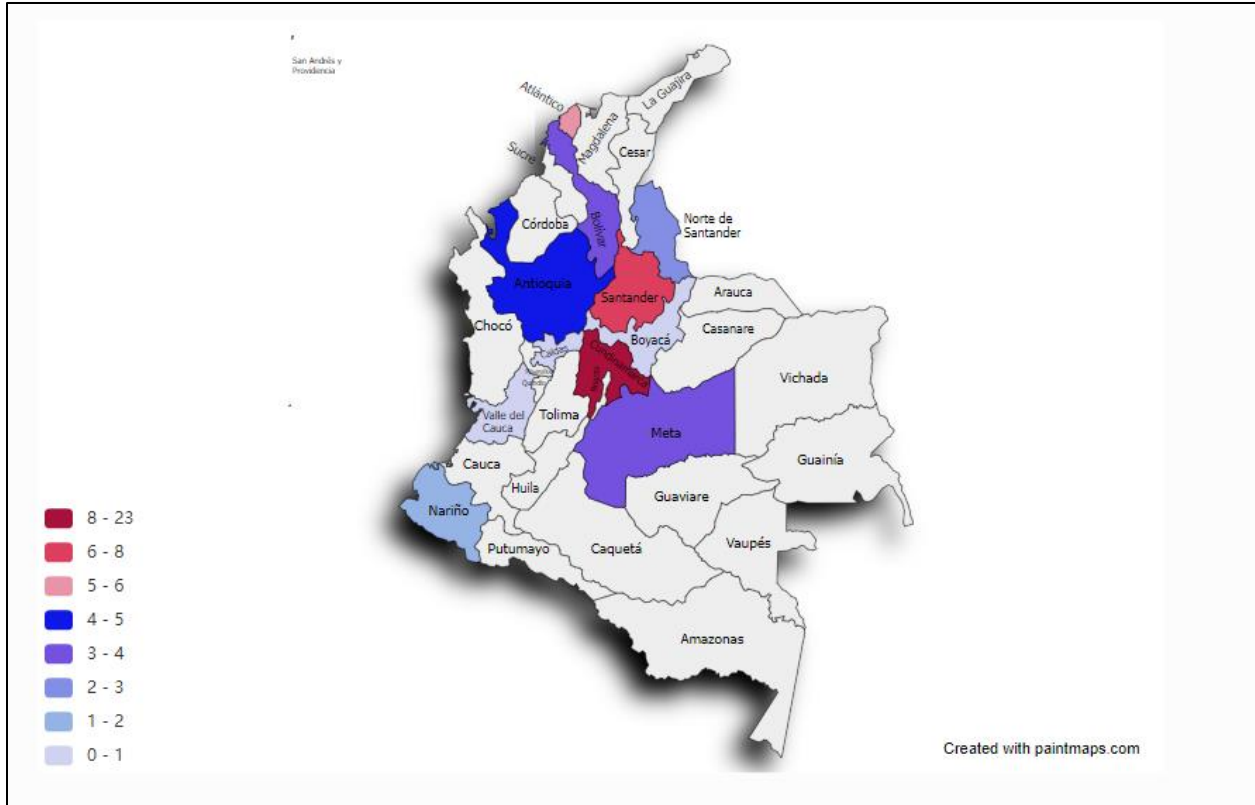


**Figura 1.** Diagrama de flujo de la estrategia de investigación y selección de artículos de Estudios de *Chlorella spp* en Colombia Revisión sistemática: Métodos de cultivo y sus aplicaciones. (Elaboración propia)

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Resultados de búsqueda

Se identificaron 3057 estudios potencialmente relevantes a través de la búsqueda en la base de datos. De estos, hubo 1677 duplicados y se excluyeron 1312 sobre la base de la selección del título y el resumen, para un total de 54 estudios ([8],[9],[17],[20],[22],[23],[24],[25],[26],[27],[28],[29],[30],[31],[32],[33],[34],[35],[36],[38],[39],[40],[41],[42],[43],[44],[46],[47],[48],[49],[50],[51],[52],[53],[55],[56],[57],[58],[60],[61],[63],[64],[65],[66],[69],[70],[75],[83],[87],[88],[89],[90],[91],[92]) que se incluyeron en la revisión final. En la *Figura 2* se muestran las investigaciones realizadas en Colombia, el mayor número de artículos fueron publicados en el departamento de Cundinamarca (40%), seguido por Santander (15%), Meta (10%), Antioquia (9%), Bolívar (7%), Atlántico (6%); Norte de Santander, Boyacá, Caldas, Valle del Cauca y Nariño realizaron investigaciones menores al 5%.



**Figura 2.** Publicaciones por departamentos en Colombia sobre estudios de *Chlorella* spp (Elaboración propia)

La figura 3 muestra la cantidad de publicaciones realizadas en 23 universidades del país basadas en *Chlorella* spp. Fundación Universidad de América ocupó el primer lugar con el 22,2% de investigaciones, seguido de la Universidad Nacional de Colombia (12,9%) y la Universidad de Cartagena y la Universidad de los Llanos con el 7,4%, la Universidad del Atlántico, UIS y UFPS con el 5,5%; las demás universidades realizaron menos de 3 investigaciones.

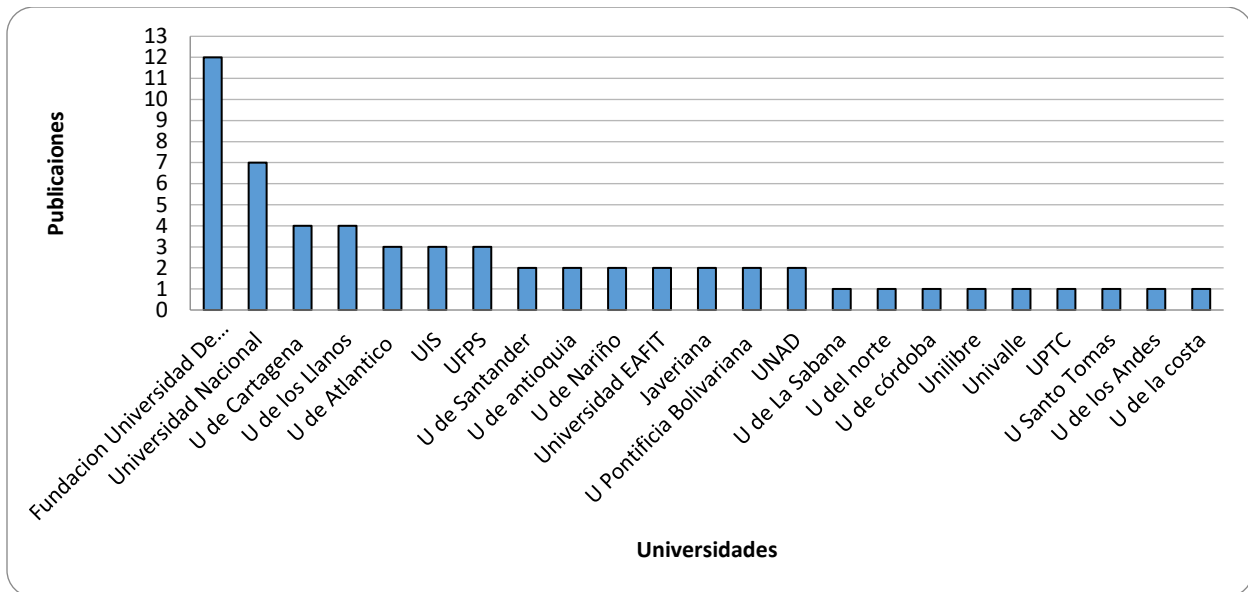


Figura 3. Publicaciones realizadas por diferentes universidades del país sobre estudios de *Chlorella* sp en Colombia (Elaboración propia)

La figura 4 muestra el número de publicaciones realizadas en Colombia durante los 10 años de revisión en este estudio. Los años donde se presentaron el mayor número de publicaciones fueron 2017, seguido de 2013, 2011 y 2019. En los otros años se encontraron 5 o menos artículos.

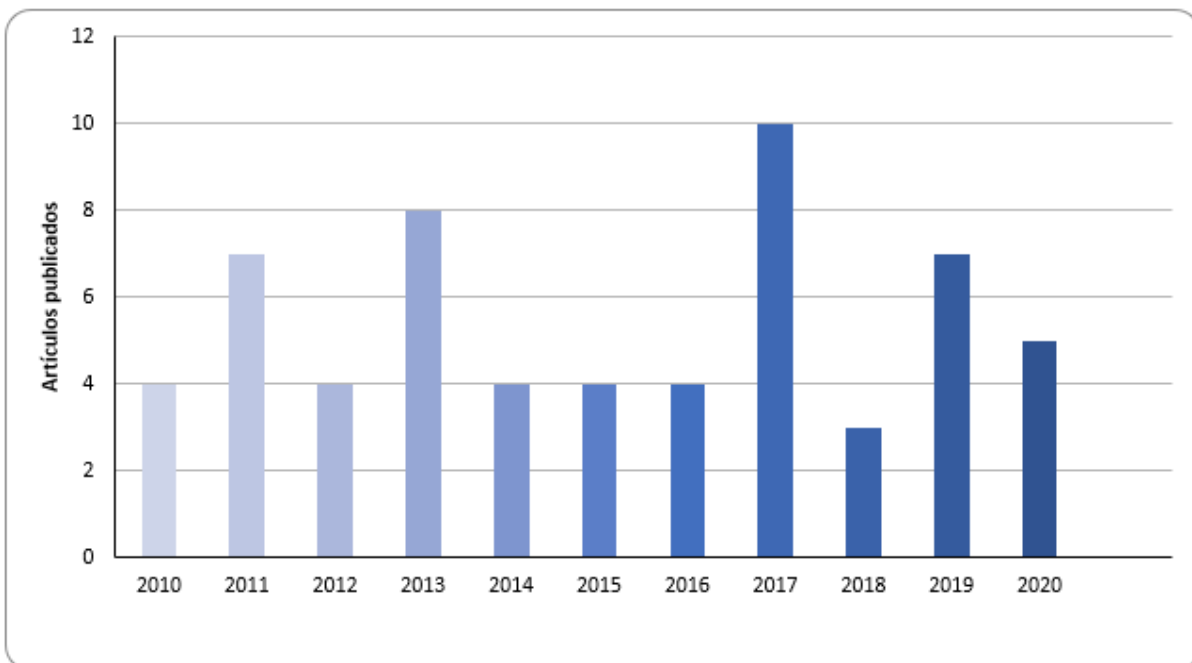


Figura 4. Publicaciones de artículos por año sobre estudios de *Chlorella* spp en Colombia (Elaboración propia)

### 3.2 Taxonomía de *Chlorella* spp

El género *Chlorella* fue interpretado mal en diversas oportunidades y más de 100 taxones fueron clasificados erróneamente, estos linajes evolucionaron de forma independiente dentro de las familias Chlorophyceae y Trebouxiophyceae. Para la caracterización de este género se utilizaron pruebas bioquímicas, fisiológicas y ultraestructurales, junto con datos moleculares como la composición de la base del ADN y los valores de hibridación del ADN, comparadas con secuencias completas de ARNr 18S. De acuerdo con estos estudios se mantuvieron 4 especies de *Chlorella*, *C. vulgaris* Beijerinck, *C. lobophora* Andreyeva, *C. sorokiniana* Shih. et Krauss, y *C. kessleri* Fott et Nováková, las únicas cuyo componente principal de la pared celular es la glucosamina. Posteriormente, el género *Chlorella* se redujo a *C. vulgaris*, *C. lobophora* y *C. sorokiniana*. Otras especies de *Chlorella* pertenecen a diferentes taxones dentro de la familia Trebouxiophyceae. Figura 5. [24] [25]

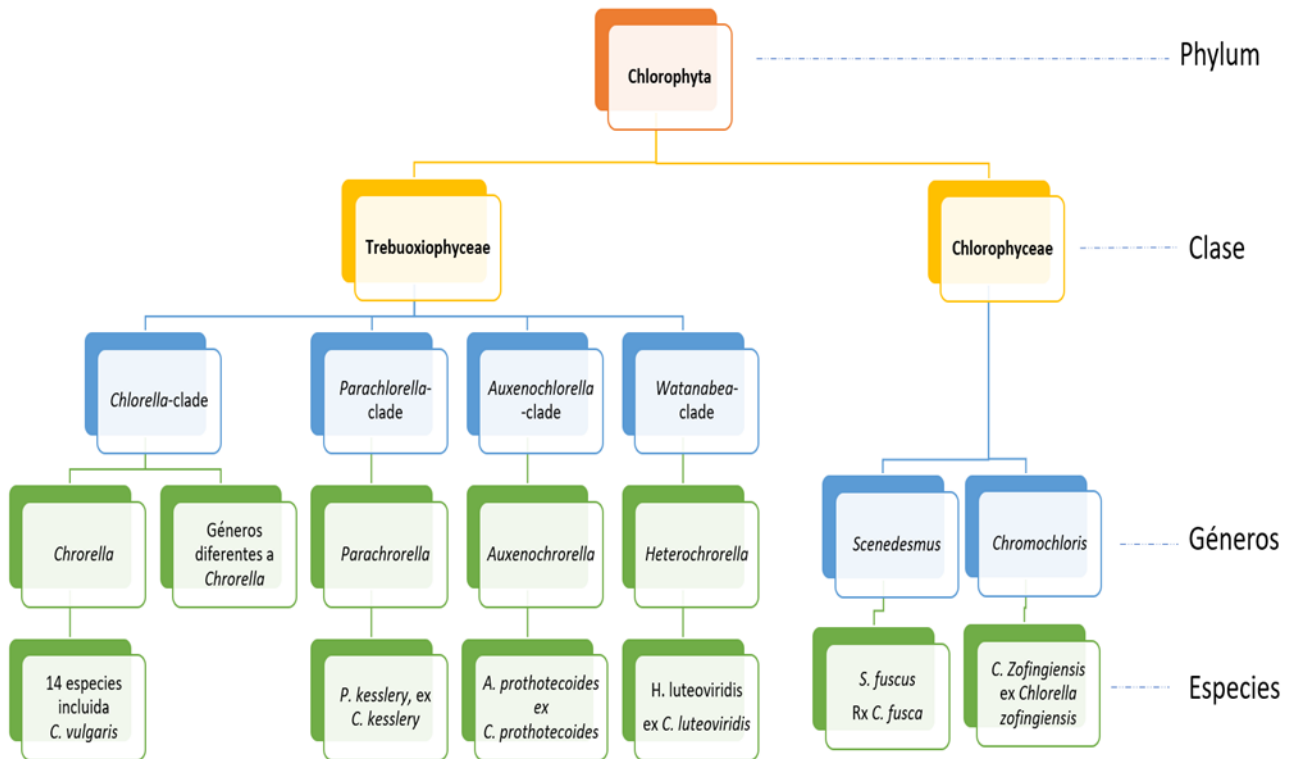


Figura 5. Clasificación de *Chlorella* y evolución independiente en dos linajes diferentes: *Trebouxiophyceae* y *Chlorophyceae* [24]. (Elaboración propia)

### 3.3 Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp

Las condiciones de cultivo de *Chlorella* son de mediana complejidad, involucran una serie de parámetros como la luz, los nutrientes, el pH, el dióxido de carbono, entre otros, los cuales pueden variar de acuerdo a la especie que se va a utilizar o las aplicaciones que se les va a dar al cultivo. El método de cultivo más utilizado para el crecimiento de *Chlorella* es el crecimiento autótrofo, la fuente de energía es la luz y la fuente de carbono es el CO<sub>2</sub> [26]. De igual forma puede crecer de forma mixotrófica, en una combinación de métodos de cultivo autótrofo y heterótrofo, en estas condiciones pueden fijar el dióxido de carbono y consumir el sustrato orgánico agregado al medio de crecimiento. [26]

**3.3.1 Luz:** La intensidad lumínica es un aspecto imprescindible a tener en cuenta para el cultivo de microalgas [27]. Durante la fotosíntesis se puede incrementar la intensidad lumínica hasta lograr la fase de crecimiento máxima, alcanzando también la saturación de la luz. Una vez es sobrepasado este punto, se llega a la fotoinhibición, la cual presenta resultados nocivos para la célula e incluso induce la apoptosis (muerte celular programada), además puede presentar una disminución en la productividad del cultivo, de igual forma los episodios de alta intensidad lumínica en cultivos al aire libre alcanzan la fotoinhibición en las primeras horas del día. Para la reproducción de microalgas se debe facilitar la exposición uniforme de la luz, lo cual se puede obtener con un sistema que mezcle de manera eficaz y repetitiva los cultivos, de ocurrir lo contrario se incrementará la turbidez, impidiendo el paso de los fotones de luz que activan los diferentes fotosistemas involucrados en el proceso de fotosíntesis. En las condiciones de cultivo de *Chlorella* spp (tabla 2) la fuente de luz artificial estuvo presente en el 83,67%, la natural en el 4,08% y en el 12,24% de los casos no se presentaron estos datos en los artículos revisados, lo cual demuestra la importancia de la luz al momento de cultivar estas microalgas sin importar la aplicación.

La literatura reporta que un fotoperíodo noche y día puede presentar una intensidad lumínica de 1000 a 3000 lux, además, este rango de lux atrae varios organismos del zooplancton, siendo la luz un promotor indispensable para el crecimiento [28]. La iluminación abarca dos términos importantes relacionados con el crecimiento de microalgas: la irradiancia, la cual es alusiva al flujo de luz por unidad de área a la cual se exponen las microalgas, y el fotoperíodo, se basa en el tiempo que las microalgas son sometidas a irradiación. En fotoperíodos usualmente se emplean ciclos de iluminación (luz, oscuridad) en horas, desde 12:12, 18:6, 14:10 luz/oscuridad al emplear irradiación artificial. De las condiciones de cultivo analizadas en esta revisión el 44.8% de los experimentos emplea el fotoperíodo 12/12h (luz/oscuridad), el 22.4% luz continua (24 horas), en el 20,4% no se logró determinar, el 12,2% presenta fotoperíodos diferentes a luz continua [29].

**3.3.2. Temperatura:** El cultivo de microalgas en sistemas cerrados (fotobiorreactores), permite controlar factores como la temperatura, pH, flujo de oxígeno, entre otros, no obstante, el sistema de cultivo abierto presenta mayor complejidad para controlar los aspectos mencionados anteriormente, aunque se pueden ejecutar acciones sencillas para mitigar el impacto producido,

como proteger los tanques o piscinas de cultivo. Uno de los factores tenidos en cuenta para el crecimiento de las microalgas es la temperatura. La temperatura mínima de crecimiento es 16°C, debajo de este valor es difícil su crecimiento, la temperatura óptima, en la cual se presenta su mayor desarrollo es entre 16 y 27°C, sin embargo, esto depende de la especie de microalgas y sus diferentes requerimientos. Por último, la temperatura máxima que pueden soportar las microalgas es cercana a 35°C, superior a este valor el crecimiento es mínimo o nulo, debido a que las proteínas pueden desnaturalizarse o tener daños irreparables. De igual forma el cultivo de microalgas con temperaturas inferiores a la óptima tienden a presentar fotoinhibición [30]. La temperatura tiene influencia en la velocidad de crecimiento, composición de lípidos y ácidos grasos, la literatura reporta que *Chlorella* spp presenta temperatura óptima de 20 a 25°C [29]. En esta revisión, las temperaturas menores a 17°C correspondieron al 4,08%, en el rango de 18 a 30°C el 89,79% que representa el rango de temperatura con mayor metabolismo para el desarrollo del género *Chlorella* según la literatura, y 6,12% a temperaturas superiores a 30°C.

**3.3.3 pH:** Las especies de microalgas presentan un rango de pH óptimo para su crecimiento. Para las microalgas de agua dulce pH básicos entre 8 a 9 [27]; los valores inferiores o superiores impactan negativamente el crecimiento, productividad y capacidad de fitorremoción de éstas en aguas residuales [27]. Para *Chlorella* spp el rango de pH ideal es entre 8.2 y 8.7 [28], teniendo presente que para preservar la estabilidad resulta necesario la aireación del medio de cultivo, debido al consumo de nutrientes, CO<sub>2</sub> y la solubilización de éste [31][32]. El pH en el cultivo de microalgas de los estudios realizados en Colombia presenta rangos que van desde 6.5 a 8.5. En esta revisión un 40,8% de los artículos no determinaron el pH de los medios de cultivo, no obstante, 40,8% mostraron valores menores a pH 8, el 12,24% con pH 8, y 6,14% presentaron valores superiores a 8, evidenciando que ha sido estudiada a diferentes rangos pero no hay una estandarización en este parámetro que es clave al momento de llevar a cabo el correcto cultivo de *Chlorella* spp. De acuerdo con la literatura el pH está relacionado con diversos aspectos como el crecimiento, respiración, actividad autotrófica, heterotrófica y composición iónica de las microalgas, entre otras. [27-30].

**3.3.4 Aireación:** La revisión sobre las condiciones de cultivo de *Chlorella* spp muestran que el 89,7% de los casos presentaban aireación y en el 10,2% no se daba esta información. La cantidad de oxígeno y CO<sub>2</sub> presente los medios de cultivo de *Chlorella* spp es un aspecto a considerar, ya que este factor puede ser la causa de problemas en el crecimiento de las microalgas, inclusive en equipos como los fotobiorreactores. La literatura además reporta la relación entre oxígeno-intensidad de luz como un factor que presenta repercusiones en la inhibición de crecimiento de las microalgas. La relación se basa en que las altas concentraciones de oxígeno se convierten en tóxicas con el incremento de luz, motivo por lo cual en algunas ocasiones se evita proporcionar oxígeno a los cultivos [28]. La agitación y aireación preserva las microalgas en suspensión, lo cual facilita el acercamiento a la fuente de luz, ya sea en la superficie o paredes transparentes del recipiente, reduciendo el tiempo sin luz del cultivo, y al mismo tiempo evitar sobrexposición que

pueda llevar a la fotoinhibición [30]. La agitación promueve la propagación y homogeneización de nutrientes y disminuye el incremento de la temperatura, gradiente salinos o densidad del cultivo, pero a su vez el exceso de agitación puede ocasionar estrés hidrodinámico, generando disminución en el crecimiento de la microalga [30]. Uno de los nutrientes necesarios para el cultivo de *Chlorella* es el nitrógeno, es el más importante después del carbono y se incorpora como nitrato o como amonio [32], también el fósforo es fundamental en la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía [33], su deficiencia en el medio de cultivo es una de las limitaciones para el crecimiento.

### 3.4 Sistemas de cultivos:

Los sistemas utilizados en Colombia para el cultivo de algas son dos, cultivos abiertos expuestos a las condiciones medioambientales, cultivos cerrados, denominados fotobiorreactores con poco o ningún contacto con el medio externo y los cultivos híbridos [33].

**3.4.1 Sistema de cultivo abierto:** Los sistemas de cultivo abiertos requieren poca inversión y mantenimiento, 6,1% de los estudios se realizaron en estanques, por lo cual el escalado resulta más fácil, sin embargo, es difícil controlar otros parámetros, lo cual se refleja en poca productividad y eficiencia, además puede presentar un mayor índice de contaminación por microorganismos diferentes a las microalgas, disminución en los niveles de agua por evaporación, expansión de terreno, la difusión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera [34]. El sistema de cultivo abierto es utilizado para cepas de microalgas (*Chlorella* sp) capaces de crecer en condiciones poco favorables y que a la vez sean hostiles para otros microorganismos como pH bajo, requerimientos nutricionales o temperaturas específicas [35].

**3.4.2 Sistema de cultivo cerrado:** El sistema de cultivo cerrado facilita el control de factores como temperatura, pH, intensidad de luz, evaporación de agua, entre otros y facilita las condiciones que permiten el control de estos parámetros, reduciendo considerablemente las dificultades de los sistemas abiertos [36], también permite hacer cultivos con elevadas concentraciones de microalgas, ya sean mixtos o mono-algales. Las ventajas de este sistema es que presentan mayor rendimiento en la producción de biomasa, biodiesel, otros compuestos y menor grado de contaminación microbiana, sin embargo, los costos de la implementación de este sistema es más elevado [35]. El sistema cerrado para el cultivo de las especies de *Chlorella* fue del 44,8%, esto pudo deberse a que gran parte de los laboratorios en las universidades del país cuentan con elementos que facilitan el desarrollo de *Chlorella* spp, que van desde botellas, matraces hasta biorreactores, también permiten permite la obtención de resultados mas confiables, debido a la disminución de contaminación por otros microorganismo en éste tipo de cultivo.

En Colombia se han utilizado diferentes regímenes de operación entre éstos los siguientes:

- a) **Cultivo por lote:** Los cultivos por lote o discontinuos son la opción más favorable para microalgas y ampliamente utilizados a nivel industrial [37], en los estudios seleccionados

durante esta revisión el 34,6% son llevados a cabo en botellas y matraces debido a que hacen parte de los diferentes sistemas cerrados que se utilizan para esta modalidad. Emplear cultivos por lote permite fácilmente conocer la cinética de crecimiento al igual que la cuantificación de sus fases durante el proceso y las curvas de crecimiento, se presentan normalmente de forma lineal, al igual que la velocidad específica de crecimiento celular del cultivo es constante, en la que también se permite la determinación de la influencia en la deficiencia de nitrógeno y fósforo sobre el peso seco, además el porcentaje de lípidos y proteínas que provengan de la microalga. El uso de cultivos por lote a nivel de laboratorio garantiza la reproducción y disponibilidad de biomasa de microalgas [38], sin embargo la productividad de biomasa y densidad celular es reducida [39].

- b) **Cultivo semicontinuo:** La productividad de las microalgas en cultivos continuos y semicontinuos es considerablemente mayor que en los sistemas convencionales discontinuos o batch [40]. La modalidad de cultivos semicontinuos frente a la producción de microalgas permite la simplicidad de operación del sistema, productividad microalgal y composición bioquímica; esto es gracias a los cambios en los parámetros de cultivo como la tasa de renovación, concentración de nutrientes e iluminación [41]. La productividad obtenida en sistemas semicontinuos es calculada dividiendo la concentración de los metabolitos en fase estacionaria por el número de días necesarios para alcanzarla, también, en muchos casos la productividad es alta comparada con los reactores operados de forma continua, por tanto, se considera una herramienta útil en el cultivo de microalgas, brindando la calidad nutricional apropiada para el desarrollo normal de los organismos cultivados [42].
- c) **Cultivo continuo:** Los cultivos continuos son aquellos en que constantemente se están introduciendo nutrientes para mantener una tasa de crecimiento exponencial constante, las microalgas son cultivadas de forma continua y dependen estrechamente de la cantidad de nutriente limitante [43]. Este proceso es realizado en fotobiorreactores equipados con sistemas de agitación, aireación, intercambio calórico, control de pH entre otros controles para el cultivo, lo cual permite alcanzar una mayor productividad además de la reducción en esterilización y lavado del equipo [44], son altamente especializados. En el caso de la microalga *Chlorella* se emplean fotobiorreactores sencillos como los de columna, característicos por su fácil construcción y montaje debido a su forma cilíndrica. Los reactores planos o de película, comparten similitud con el reactor de columna, sin embargo, estos permiten un paso óptico de luz más definido y mejor aprovechamiento de la luz solar, entre otros. Los reactores tubulares, siendo los más sofisticados y especializados para el crecimiento algal son a su vez los más costosos y de diseños complejos. Durante esta revisión el 2,5% (un estudio) se realizó como cultivo continuo, lo cual pudo deberse al costo y dificultad de acceso a biorreactores u otros equipos que permitan emplear el

crecimiento de *Chlorella* spp en un medio moderno, pero a su vez complejo por múltiples factores mencionados anteriormente.

### 3.5 Medios de cultivo

Los medios de cultivo empleados en Colombia fueron PCG, BBM, NPK, Bristol, fertilizantes agrícolas (ver tabla 1). El medio Bold's Basal Medium (BBM) fue el más utilizado con el 46,5% de los casos, considerado adecuado para el cultivo de microalgas de agua dulce (*Chlorella* spp), la relación nitrógeno/fósforo es 2:1 (siendo el nitrógeno imprescindible en la síntesis de ácidos nucleicos, aminoácidos y el fósforo en la formación de moléculas energéticas) [45], contiene nitrato de sodio, sulfato de magnesio, cloruro de sodio, fosfato dipotásico, cloruro de calcio dihidratado, EDTA entre otros compuestos, este medio de cultivo puede utilizarse solo o con otros componentes adicionales, melaza de caña, glicerina, lixiviados y otros compuestos orgánicos e inorgánicos.

El segundo medio más utilizado fue el fertilizante agrícola con un 16,2%, esto puede ser por el bajo costo y disponibilidad que presenta en el mercado colombiano, además de la importante cantidad de macro y micronutrientes que aporta al cultivo de *Chlorella* spp, en tercer lugar, medios modificados u otras fuentes de crecimiento como suero láctico, gallinaza, agua de humedal, entre otros. Por último, se encuentran el medio Bristol con 9,3% y f/2 Guillard 6,9%. Los fertilizantes agrícolas (nutrifoliar, foliagro, foliar) resultan ser usados debido al bajo costo que representan, en comparación a un medio de cultivo comerciales, además del alto contenido de nitrógeno, fosfatos y potasio. El medio f/2 Guillard presenta alta concentración de macronutrientes como sales (similares al medio Bristol) y vitaminas [46] (ver tabla 1). El medio NPK presenta una composición del 17% nitrógeno, 18% potasio hidrosoluble, 6% fósforo, 2% magnesio, 1,6% azufre, 0,2% boro y 0,1% zinc [47]. La tabla 1 presenta diferentes medios más utilizados para el cultivo de *Chlorella* spp.

Tabla 1. Medios de cultivo más empleados para el cultivo de *Chlorella* spp y su composición química (Elaboración propia)

| Medio           | Composición  | Referencia |
|-----------------|--|------------|
| BBM             | NaNO <sub>3</sub> , CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O, MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , NaCl, EDTA, KOH, Fe, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>3</sub> B <sub>3</sub> O <sub>3</sub> , traza de metales, ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O, MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, MoO <sub>3</sub> , CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O, Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O | [45]       |
| BBM + Glicerina | CaCl <sub>2</sub> , NaCl, NaNO <sub>3</sub> , MgSO <sub>4</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O, vitamina B1, urea, glicerina  | [14]       |
| PCG             | CO <sub>2</sub> , C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> , NaHCO <sub>3</sub> , NaNO <sub>3</sub> , urea, NaCl, MgSO <sub>4</sub> , Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , MnSO <sub>4</sub> , FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O  | [48]       |
| NPK             | N, P, potasio soluble en agua, Mg, S, B, Zn  | [47]       |
| f/2 Guillard    | NaNO <sub>3</sub> , NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O, metales traza, CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O, ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O, Co, Cl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O, MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O, Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O, Na <sub>2</sub> EDTA, FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O, tiamina, biotina, cianocobalamina   | [46]       |

| Medio                           | Composición   | Referencia |
|---------------------------------|---|------------|
| (Nutrifoliar, foliagro, foliar) | N total, N amoniacal, Nitrógeno nítrico, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , K <sub>2</sub> O, CaO, MgO, S, Cu, Fe, MN, Mb, Zn, EDTA, ácido cítrico.  | [46]       |
| Bristol                         | NaNO <sub>3</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , NaCl, MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , KOH, EDTA, FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O, MoO <sub>3</sub> , CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O y Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O | [49]       |

BBM: Bold's Basal Medium, PCG: Primary Callus Grow

#### 4. Aplicaciones en Colombia de *Chlorella* spp. (Ver Tabla 8)

**4.1 Biodiesel:** El consumo de energía se incrementa al igual que la población y su demanda con consecuencias negativas para el medio ambiente [50]. A partir de microalgas se logra producir biocombustible de tercera generación, convirtiéndose en una alternativa para sustituir los cultivos comunes como soja, maíz, entre otras materias primas lignocelulósicas que requieren de grandes extensiones de tierra para su cultivo [51]. La capacidad productora de aceite de las microalgas es 10 veces mayor que la de los cultivos de semillas oleaginosas [52], el género *Chlorella* produce entre el 20% y 50% de aceite de su peso seco, siendo una de las mejores opciones en el mercado de la producción de biodiesel [53]. El valor de biocombustible a partir de microalgas tiene un alto costo, sin embargo, resulta prometedor a largo plazo, ya que tiene una fuerte competencia frente al combustible convencional. El cultivo de *C. vulgaris* puede presentar una ventaja importante; requiere menor espacio para ser cultivada y alcanzan a producir de diez a veinte veces más aceite en un corto período de tiempo [55].

Las condiciones de cultivo empleados para generar biocombustibles generalmente se han ejecutado en estanques comerciales, tanques de 1000 L, fotobiorreactores y piscinas abiertas horizontales, donde el 98% de biomasa microalgal comercial se produce en estos recipientes [54]. Los factores que más influyen en los procesos de producción de biocombustibles son luz, nutrición, temperatura y pH con la respectiva adecuación del entorno del género *Chlorella* spp, logrando sintetizar materia orgánica y generar la energía necesaria para su crecimiento. *C. vulgaris* resulta útil en la producción de biodiesel y bioetanol debido a su contenido de almidón y estabilidad oxidativa, también es posible la producción de biocombustible con *Chlorella* spp por licuefacción hidrotérmica. Las publicaciones relacionadas con la producción de biodiesel en Colombia representan el 14,28% (ver tabla 2) de las aplicaciones dadas al cultivo de *Chlorella* spp, posiblemente este ligado a producir e incentivar el uso de energías diferentes al combustible fósil, que cada día continúa deteriorando el medio ambiente.

**4.2 Lípidos:** Los lípidos presentan un grupo de diferentes compuestos que se caracterizan por ser insolubles en disolventes polares y solubles en solventes apolares [50], *Chlorella* spp bajo

condiciones óptimas de cultivo puede llegar a producir entre 5-40% de lípidos por peso seco de biomasa, éstos se componen principalmente de glicolípidos, fosfolípidos y ácidos grasos [59]. Las condiciones de cultivo son cruciales para la producción de lípidos a partir de *Chlorella* spp, si son desfavorables el contenido lipídico será triacilgliceroles en un 58% [60]. *C. vulgaris* cultivada en condiciones mixotróficas permite acumular entre un 60 y 68% de ácidos grasos monoinsaturados como ácido esteárico, palmitoleico, oleico, palmítico, resultando apropiados para la generación de biodiesel [59] y si acumula mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados como ácido eicosapentaenoico, linolénico, linoleico puede brindar más beneficios a nivel nutricional [61]. Estudios en Colombia se han basado en la extracción lípidos con *Chlorella* spp, aplicando en su metodología conservación de las cepas a 26 °C, sometidas a 24 horas de fotoperiodo con una intensidad de 300 lux, cultivadas en medio Conwy modificado en un volumen de 4L, aireación, alcanzando una producción hasta de 98.61 mg/L [62]. Los estudios de la producción de lípidos en Colombia representan el 4,08% de los artículos revisados (incluido en la producción de biodiesel del 14,28% ver tabla 2).

Tabla 2. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para la producción de lípidos y combustibles (Elaboración propia)

| Método           | Medios cultivo  | pH      | T. °C     | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento       | Ref. |
|------------------|-----------------|---------|-----------|-----------|---------------|--------------|------|-------------------|------|
| Fotobiorreactor  | BBM + glicerina | ND      | ND        | Si        | Artificial    | ND           | 14   | (2580mg )<br>7,4% | [14] |
| Tanques abiertos | ADE + Walne     | 7.5     | 26        | Si        | Artificial    | 24 h         | 10   | 300 mg/L          | [55] |
| Estanques        | Walne           | 7.5-8.5 | 26        | Si        | Artificial    | 24h          | 30   | 39.67 mg/L/día    | [28] |
| Botellas         | BBM             | 7.1     | 22,<br>26 | Si        | Artificial    | 12/12h       | 15   | ND                | [56] |
| Biorreactor      | PCG             | 6.8     | 30        | Si        | ND            | ND           | 12   | 41%               | [48] |
| Biorreactor      | BBM             | 6.5     | 23        | Si        | Artificial    | 12/12h       | 5    | 3400 mg/L         | [57] |
| Erlenmeyer       | Humedal         | 6.5/7.5 | 24-26     | Si        | Natural       | 12/12h       | 5    | ND                | [58] |

|            |                  |    |        |    |            |       |    |                     |      |
|------------|------------------|----|--------|----|------------|-------|----|---------------------|------|
| Erlenmeyer | Bristol estándar | ND | 23 ± 1 | Si | Artificial | 16/8h | 10 | 112,4 mg/L por día. | [49] |
|------------|------------------|----|--------|----|------------|-------|----|---------------------|------|

BBM: Bold's Basal Medium, PCG: Primary Callus Grow, ND: No determinado

**4.3 Pigmentos:** *C. vulgaris* presenta pigmentos como clorofila, la cual es imprescindible para la fotosíntesis y se encuentra en los tilacoides, además produce carotenoides, estudios basados en bioenergética del crecimiento microalgal sugieren que las mayores productividades se obtienen bajo condiciones mixotróficas, dato importante para la obtención de carotenoides y pigmentos para llevar a cabo en Colombia. Los pigmentos tienen funciones fotoprotectoras que evitan la degradación de la clorofila cuando es expuesta a oxígeno y radiación. Investigaciones demuestran que los pigmentos de microalgas presentan variedad de propiedades como antioxidantes [63], terapéuticos, anticancerígenos, reguladores del colesterol, preventivo de enfermedades oculares [64] y estimulantes para el incremento de anticuerpos [65]. La producción de pigmentos sólo se encontró en el 2%, probablemente suceda porque existen otras fuentes más económicas, rápidas, abundantes y fáciles de manejar; En los artículos revisados, solo un estudio realizado por la Universidad Francisco de Paula de Santander en el año 2020 [66], implemento medio de cultivo BBM, temperatura de 35°C, y biorreactor para obtener beneficios.

#### 4.4 Proteínas

Las microalgas se han empleado durante siglos por su contenido proteico. La década de 1960 convirtió a Japón en el pionero de la producción comercial de *Chlorella* sp para el consumo humano. Las microalgas eucariotas presentan entre el 6 y 70% del peso seco en contenido proteico y existe la expectativa de que fuentes proteicas sintéticas, algas y las provenientes de insectos lleguen a ocupar el 50% del mercado para el año 2054 [34]. La producción de proteínas en Colombia a partir de *Chlorella* spp es del 8,16% de los artículos revisados. Ver Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para la producción de proteínas (Elaboración propia)

| Método                                     | Medios de cultivo     | pH           | T. °C | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento | Ref. |
|--|-----------------------|--------------|-------|-----------|---------------|--------------|------|-------------|------|
| Fotobiorreactor cerrado horizontal tubular | Macro-micronutrientes | 5.5-6.75-8.0 | 25±2  | Sí        | Artificial    | 12/12 h      | 20   | 0.92 W/mL   | [67] |
| Matraz                                     | BBM                   | ND           | 25    | Si        | ND            | ND           | 20   | 89.22%      | [68] |

| Método               | Medios de cultivo | pH | T. °C  | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento | Ref. |
|----------------------|-------------------|----|--------|-----------|---------------|--------------|------|-------------|------|
| Biorreactores        | BBM               | 7  | 25±2   | Si        | Artificial    | 12/12h       | 15   | 54%         | [22] |
| Recipiente de vidrio | Foliar            | ND | 20 ± 1 | Si        | Artificial    | 12/12h       | 7    | 34-60%      | [69] |

BBM: Bold's Basal Medium, ND: No determinado

**4.5 Tratamiento de aguas residuales:** Las microalgas se han utilizado para el tratamiento de aguas contaminadas, como las residuales, textiles y agrícolas [70], logrando absorber entre 45 a 97% de nitrógeno a 100% de amonio [71], 28 a 96% de fósforo y disminución en la demanda química de oxígeno de 61-86% [72]. La ficorremediación incluye también la absorción de CO<sub>2</sub>, investigaciones han comprobado que la capacidad de fijación que ofrece *C. vulgaris* cuando crece en fotobiorreactor alcanza hasta un 74% de efectividad [73]. Lo que permite considerar a *Chlorella* sp una de las microalgas promisorias para ser utilizada en procesos de biorremediación de aguas.

Los estudios realizados en Colombia muestran variaciones en los medios de cultivo como BBM, foliagro, nutrifoliar, NPK, F/2 Guillard, rangos de pH entre 7.5 y 8.3, temperaturas entre 20 a 31.7 °C, aireación en todos los casos, el 77.7% de los ensayos fueron con luz natural, el 22.2% entre luz artificial y fuente no determinada. El 44.4% de los artículos implementaron fotoperiodos de 12h luz/ 12h oscuridad, 44.4% no presentan información sobre la fuente de luz utilizada y sólo en una ocasión se trabajó con luz continua (equivalente al 11.1%). Se logró determinar que la ficorremediación fue la aplicación más usada con un porcentaje de 26,53% en esta revisión (ver tabla 4), motivo que quizá se debe a la búsqueda de una alternativa que mitigue los daños causados por la actividad humana en los ecosistemas y el incremento de la población.

Tabla 4. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para procesos de ficorremediación (Elaboración propia)

| Método          | Medios de cultivo                  | pH      | T. °C    | Aireación | Fuente de luz | Foto período  | Días | % Remoción                            | Ref. |
|-----------------|------------------------------------|---------|----------|-----------|---------------|---------------|------|---------------------------------------|------|
| Fotobiorreactor | BBM                                | ND      | 28.431.7 | Si        | ND            | ND            | 6    | 95% Fosfatos<br>65.5% nitratos        | [74] |
| Biorreactor     | Nutrifoliar                        | ND      | 25       | Si        | Artificial    | 12/12 h       | 18   | 97,2% Colorante índigo                | [75] |
| Biorreactor     | Nutrifoliar                        | ND      | 27       | Si        | Artificial    | 24 h          | 20   | 71,79% Cefalexina                     | [76] |
| Fotobiorreactor | ND                                 | 7.3     | 20       | Si        | Artificial    | 12/12h        | 5    | 88,24% Nitrato y fosfato              | [77] |
| Frasco          | Foliagro                           | 6-7     | 17-25    | Si        | Natural       | 12/12h        | 16   | 89,91% Materia orgánica               | [78] |
| Botellas vidrio | NPK                                | 7/7.8   | 20       | Si        | Artificial    | ND            | 5    | 75% Hidrocarburo y fenol              | [47] |
| ND              | Tris Acetato PO <sub>4</sub> (TAP) | ND      | 30       | ND        | ND            | ND            | 6    | 50% Fenol                             | [79] |
| Matraces vidrio | F/2 Guillard                       | 7.5/8.3 | 22-24    | Si        | Artificial    | ND            | 8    | 62,2% Agua residual coloreada         | [80] |
| Matraces        | BBM                                | 4.5     | 27       | Si        | Artificial    | 16-12h /8-12h | 8-10 | 88.2% Cromo                           | [81] |
| Reactores       | BBM                                | 7-8     | 25       | Si        | Artificial    | 12/12h        | 15   | 75,7% (Nitrógeno)<br>84,93% (fósforo) | [82] |
| Reactor         | BBM                                | 6.6     | 25       | Si        | Artificial    | 16/8h         | 5    | 8,2% Dióxido de carbono               | [13] |
| Estanques       | BBM                                | 7-8     | 24 ± 2   | Si        | Artificial,   | 12/12h        | 7    | 98,4 % y 99,4 % Azul de metileno      | [83] |

*BBM: Bold's Basal Medium, ND: No determinado*

Otros usos de *Chlorella* spp durante esta revisión como producción de biomasa alcanza un 18,36% (ver tabla 5), evaluación de crecimiento celular 22,44% (ver tabla 6) y otras aplicaciones diferentes a las mencionadas anteriormente, representan el 10,20% (ver tabla 7), lo cual permite ver la variedad de usos que puede brindar y aportar al país.

Tabla 5. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para la producción de biomasa (Elaboración propia)

| Método              | Medios de cultivo     | pH      | T. °C   | Aireación | Fuente de luz | Foto período             | Días | Rendimiento                 | Ref. |
|---------------------|-----------------------|---------|---------|-----------|---------------|--------------------------|------|-----------------------------|------|
| Recipiente adaptado | BBM                   | ND      | 25-27   | Si        | Artificial    | 12/12h<br>15/9h<br>18/6h | ND   | 2.339 cél/día               | [84] |
| Fotobiorreactor     | Foliar, suero láctico | ND      | 25 – 30 | Si        | Artificial    | 12/12h                   | 30   | 70630 mg/L                  | [29] |
| Fotobiorreactor     | Efeagro               | 7-9     | 17 - 25 | Si        | Artificial    | 12/12h                   | 34   | ND                          | [85] |
| Fotobiorreactor     | BBM                   | ND      | 25      | Si        | Artificial    | 24h                      | 8    | 2000 m g/L                  | [86] |
| Fotobiorreactor     | ND                    | ND      | 30      | ND        | ND            | 12/12h                   | ND   | ND                          | [87] |
| Reactor             | BBM                   | ND      | 23      | Si        | Artificial    | 12h/12h                  | 16   | 21000 mg/L                  | [88] |
| Frascos de vidrio   | F/2 Guillard          | 7.5     | 24      | Si        | Artificial    | 24h                      | 24   | 4x10 <sup>5</sup> cel/mL    | [46] |
| Matraces            | F/2 Guillard          | 7.5/8.5 | 22-24   | Si        | Artificial    | ND                       | 8    | 10,4×10 <sup>6</sup> cel/mL | [89] |
| ND                  | BBM                   | 6.3/7.5 | 24      | Si        | Artificial    | 12/12                    | 12   | 270 mg/L                    | [90] |

BBM: Bold's Basal Medium, ND: No determinado

Tabla 6. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para la producción de células (Elaboración propia)

| Método                          | Medios de cultivo                   | pH          | T. °C  | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento                  | Ref. |
|---------------------------------|-------------------------------------|-------------|--------|-----------|---------------|--------------|------|------------------------------|------|
| Erlenmeyer                      | Lixiviada gallinaza                 | 7.2/<br>6.7 | 24 ± 2 | Si        | Artificial    | 12/12h       | 15   | 86,5 ±0,75 mg/L              | [91] |
| Recipiente de vidrio de 5000 mL | N 4mM de N + fertilizante comercial | ND          | 30     | Si        | Artificial    | 12/12h       | 15   | ND                           | [38] |
| Erlenmeyer / tanques abiertos   | BBM                                 | 6,5         | 25 ± 1 | Si        | Artificial    | 16/8h        |      | 90 mg/L                      | [45] |
| Reactor                         | Fertilizante Comercial Sintético    | ND          | 22     | Si        | Artificial    | 24-4h        | 15   | 250 - 349 mg/L               | [92] |
| Biorreactor Batch               | Bristol                             | 7           | 20     | Si        | Artificial    | 24h          | 14   | 360 x 10 <sup>6</sup> cél/mL | [93] |

| Método          | Medios de cultivo | pH       | T. °C | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento                 | Ref. |
|-----------------|-------------------|----------|-------|-----------|---------------|--------------|------|-----------------------------|------|
| Biorreactor     | BBM               | 7-7,5    | 24    | Si        | Artificial    | 12/12h       | 19   | 3,91x10 <sup>7</sup> cél/mL | [94] |
| Fotobiorreactor | Bristol           | ND       | 20    | ND        | Artificial    | 18/6         | 10   | 1,2x10 <sup>7</sup> cél/mL  | [95] |
| Matraces        | BBM               | 7,3      | 23    | Si        | Artificial    | 16/8         | 10   | ND                          | [96] |
| Matraces        | BBM               | 1-6      | 22    | Si        | Artificial    | 24h          | 12   | ND                          | [97] |
| Botellas        | Elaborado         | ND       | 26-31 | Si        | Artificial    | 12/12        | 5    | 2,5x10 <sup>7</sup> cél/mL  | [98] |
| ND              | NPK               | 5,8-10,1 | 23-26 | Si        | Artificial    | 24h          | ND   | ND                          | [99] |

BBM: Bold's Basal Medium, ND: No determinado

Tabla 7. Condiciones de cultivo de *Chlorella* spp para las otras aplicaciones (Elaboración propia)

| Método                | Medios de cultivo | pH      | T. °C | Aireación | Fuente de luz | Foto período | Días | Rendimiento | Ref.  |
|-----------------------|-------------------|---------|-------|-----------|---------------|--------------|------|-------------|-------|
| Erlenmeyer            | Humedal           | 6,5/7,5 | 24-26 | Si        | Natural       | 12/12h       | 5    | ND          | [58]  |
| Fotobioreactor        | BBM               | ND      | 26    | Si        | Artificial    | Continua     | ND   | 74,8%       | [100] |
| Matraces              | BBM               | ND      | 24    | ND        | ND            | ND           | 5    | 1,2 mg/L    | [101] |
| Cerámica y polimérico | ND                | ND      | 23-28 | ND        | Artificial    | 12h luz      | 40   | 8 - 24 kV   | [102] |
| Biorreactor           | BBM               | ND      | 35    | Si        | ND            | ND           | ND   | ND          | [66]  |

BBM: Bold's Basal Medium, ND: No determinado

Tabla 8. Especies de *Chlorella* y sus principales aplicaciones por año (Elaboración propia)

| AÑO  | MICROALGA                    | APLICACIÓN                            | UNIVERSIDAD                               | REF.  |
|------|------------------------------|---------------------------------------|---|-------|
| 2010 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Potencial para crecimiento vegetal    | Universidad de La Sabana (UniSabana)      | [95]  |
| 2010 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de hidrógeno               | Universidad de América (UAmérica)         | [58]  |
| 2010 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de biocombustible          | Universidad de Cartagena (UdeC)           | [55]  |
| 2010 | <i>Chlorella</i> sp          | Transesterificación homogénea         | Universidad de Santander (UDES)           | [103] |
| 2011 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Piscicultura                          | Universidad de los Llanos (UNILLANOS)     | [99]  |
| 2011 | <i>Chlorella</i> sp          | Evaluación de crecimiento             | UNILLANOS                                 | [91]  |
| 2011 | <i>Chlorella sorokiniana</i> | Producción de biomoléculas (lípidos)  | Universidad del Nariño (Udenar)           | [104] |
| 2011 | <i>Chlorella</i> sp          | Evaluación de crecimiento             | Universidad del Atlántico (Uniatlántico)  | [38]  |
| 2011 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de biodiesel               | UdeC                                      | [28]  |
| 2011 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Evaluación de crecimiento             | Universidad Nacional (UNAL)               | [93]  |
| 2011 | <i>Chlorella</i> sp          | Bioacumulación                        | UNAL                                      | [30]  |
| 2012 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Producción de biomasa                 | Universidad Industrial de Santander (UIS) | [49]  |
| 2012 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Evaluación de crecimiento             | UNILLANOS                                 | [45]  |
| 2012 | <i>Chlorella</i> sp          | Ficorremediación                      | Uniatlántico                              | [83]  |
| 2013 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Evaluación de crecimiento             | UIS                                       | [57]  |
| 2013 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de ácidos grasos           | Universidad EAFIT                         | [105] |
| 2013 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Producción de biomasa                 | UAmérica                                  | [106] |
| 2013 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de biomasa                 | Universidad EAFIT                         | [107] |
| 2013 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Evaluación de crecimiento             | Universidad Pontificia Bolivariana (UPB)  | [108] |
| 2013 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Evaluación de crecimiento             | UAmérica                                  | [109] |
| 2014 | <i>Chlorella</i> sp          | Producción de biomasa y ácidos grasos | UAmérica                                  | [106] |
| 2014 | <i>Chlorella vulgaris</i>    | Biodegradación                        | Universidad de los Andes (Uniandes)       | [79]  |

| AÑO  | MICROALGA                 | APLICACIÓN                                  | UNIVERSIDAD  | REF.  |
|------|---------------------------|---|--|-------|
| 2014 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Crecimiento bajo condiciones de laboratorio | UAmérica   | [13]  |
| 2014 | <i>Chlorella</i> sp       | Producción de biomasa                       | UAmérica   | [106] |
| 2015 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Extracción de proteínas                     | Universidad del Valle (Univalle)                       | [67]  |
| 2015 | <i>Chlorella</i> sp       | Floculación                                 | Universida Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) | [100] |
| 2015 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Desempeño eléctrico                         | UNAL   | [102] |
| 2015 | <i>Chlorella</i> sp       | Aceites                                     | UdeC   | [62]  |
| 2016 | <i>Chlorella</i> sp       | Biomasa                                     | Universidad Francisco de Paula Santander (UFPS)        | [48]  |
| 2016 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Extracción de carbohidratos y proteínas     | Universidad de Santander UDES                          | [68]  |
| 2016 | <i>Chlorella</i> sp       | TTO de aguas residuales                     | UNAD   | [82]  |
| 2016 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Productividad                               | UAmérica   | [94]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Producción de proteínas                     | UdeC   | [22]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Deposición de metabolitos                   | UIS  | [57]  |
| 2017 | <i>Chlorella</i> sp       | Tto de aguas residuales                     | UNAL   | [110] |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Hidrólisis térmica                          | UPB  | [56]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Producción de biomasa y lípidos             | UAmérica   | [29]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Concentración de nutrientes                 | UNAL   | [96]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Biomasa                                     | UAmérica   | [85]  |
| 2017 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Aceite                                      | Universidad Santo Tomas (USTA)                         | [14]  |
| 2017 | <i>Chlorella</i> sp       | TTO de aguas residuales (ficorremediación)  | Universidad De La costa (CUC)                          | [74]  |
| 2017 | <i>Chlorella</i> sp       | TTO de aguas residuales (ficorremediación)  | Uniatlántico   | [75]  |
| 2018 | <i>Chlorella</i> sp       | Ficorremediación                            | Uniatlántico   | [76]  |
| 2018 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Ficorremediación                            | Universidad Libre (Unilibre)                           | [77]  |
| 2018 | <i>Chlorella vulgaris</i> | Ficorremediación                            | UAmérica   | [78]  |
| 2019 | <i>Chlorella</i> sp       | Tolerancia al Cd                            | Universidad de Antioquia (UdeA)                        | [97]  |

| AÑO  | MICROALGA                        | APLICACIÓN                         | UNIVERSIDAD                            | REF.  |
|------|----------------------------------|------------------------------------|--|-------|
| 2019 | <i>Chlorella vulgaris</i>        | Biorremediación                    | UNILLANOS                              | [47]  |
| 2019 | <i>Chlorella</i> sp              | Floculación                        | Universidad del norte<br>(Uninorte)    | [101] |
| 2019 | <i>Chlorella</i> sp              | Producción de biomasa              | UFPS                                   | [87]  |
| 2019 | <i>Chlorella</i> sp              | Crecimiento                        | Universidad de Córdoba<br>(UNICÓRDOBA) | [46]  |
| 2019 | <i>Chlorella</i> sp              | Alimento                           | Udenar                                 | [89]  |
| 2019 | <i>Chlorella vulgaris</i>        | Fabricación de proteínas           | UAmérica                               | [69]  |
| 2020 | <i>Chlorella</i> sp              | Tratamiento de aguas<br>residuales | Universidad Javeriana<br>(PUJ)         | [80]  |
| 2020 | <i>Chlorella<br/>pyrenoidosa</i> | Transformación de<br>subproductos  | UdeA                                   | [86]  |
| 2020 | <i>Chlorella vulgaris</i>        | Producción de lípidos              | UAmérica                               | [111] |
| 2020 | <i>Chlorella vulgaris</i>        | Producción de cosméticos           | UFPS                                   | [66]  |
| 2020 | <i>Chlorella vulgaris</i>        | Cinética de crecimiento            | UNAD                                   | [98]  |

### Conclusión

El uso de *Chlorella* spp es eficaz comparada con otros procesos convencionales utilizados para múltiples aplicaciones. Estas microalgas promueven buenos resultados en correctas condiciones de cultivo (luz 1000 a 3000 lux, temperatura de 20 a 25°C, pH de 8.2 a 8.7, cultivo mixotrófico y aireación) siendo una buena alternativa para la producción de alimentos, combustibles y en procesos de ficorremediación.

Los sistemas de cultivo de las especies de *Chlorella* en Colombia son diversos, pero más que repetir modelos en laboratorio se necesita implementar los estudios a escala piloto para tener una mejor aproximación de la producción, rendimiento y rentabilidad de los procesos. Los estudios de ficorremediación demostraron ser efectivos y eficientes, siendo una buena alternativa a más bajo costo para el tratamiento de aguas residuales.

El cultivo de especies de *Chlorella* para la producción de biocombustibles fue otra de las aplicaciones más estudiadas, representa una alternativa viable por el perfil de ácidos grasos producidos por esta microalga, sin embargo, falta desarrollar mejores tecnologías que permitan una mejor rentabilidad o menores costos de producción.

Se desarrollaron además cultivos para la producción de biomasa o proteína unicelular, con buenos resultados, se podrían implementar o mejorar algunas técnicas para obtener a partir de este producto algunos compuestos como cosméticos, alimentos nutraceúticos, pigmentos, saborizantes entre otros.

La información obtenida en los artículos seleccionados da a conocer las condiciones de cultivo de especies de *Chlorella* en Colombia, ofrece algunas bases para la continuidad y mejora en aplicaciones como ficorremediación, producción de proteínas, biocombustibles, pigmentos, entre otras.

Las especies más empleadas del género *Chlorella* fueron *C. vulgaris* y *C. sorokiniana*, son especies que se adaptan bien a diferentes ambientes, sin embargo, no hay una estandarización de los métodos de cultivo que permitan conocer las condiciones ideales para la obtención de diferentes productos a partir de estas microalgas.

### BIBLIOGRAFÍA.

- [1] L. G. R. Mérida, C. R. de Menezes, E. Jacob-Lopes, L. Q. Zepka, and E. Jacob-Lopes, "Microalgas: potencial para la producción de compuestos bioactivos nanoencapsulados," *Ciência e Nat.*, vol. 37, p. 07, 2015, doi: 10.5902/2179460x19690.
- [2] J. Lewandowski, Iris Melvin Lippe, Castro Montoya, J. P. Uta Dickhofer, Gerhard Langenberger, F. D. Ursula Schließmann, U. Schmid-Staiger, and C. Lippert, *Processing of biobased resources*. 2018.
- [3] D. Suarez-Montes, Y. J. Borrell, J. M. Gonzalez, and J. M. Rico, "Isolation and identification of microalgal strains with potential as carotenoids producers from a municipal solid waste landfill," *Sci. Total Environ.*, vol. 802, pp. 1–21, 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149755.
- [4] L. Gomez, "Aspectos ecológicos y biotecnológicos.," *Rev. Cuba. Química*, vol. XIX, núm., p. 19, 2007, [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543707001.pdf>.
- [5] G. Muhammad *et al.*, "Modern developmental aspects in the field of economical harvesting and biodiesel production from microalgae biomass," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 135, no. July 2020, p. 110209, 2021, doi: 10.1016/j.rser.2020.110209.
- [6] R. W. Castenholz, "General Characteristics of the Cyanobacteria," *Bergey's Man. Syst. Archaea Bact.*, pp. 1–23, 2015, doi: 10.1002/9781118960608.cbm00019.
- [7] B. A. Whitton, "Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time," *Ecol. Cyanobacteria II Their Divers. Sp. Time*, vol. 9789400738, pp. 1–760, 2012, doi: 10.1007/978-94-007-3855-3.
- [8] D. Lazar, A. Stirbet, L. O. Björn, and G. Govindjee, "Light quality, oxygenic photosynthesis and more," *Photosynthetica*, vol. 60, pp. 23–56, 2022, doi: 10.32615/ps.2021.055.
- [9] M. E. Almeida Portero, "Efecto del ácido indol 3-acético (aia) exógeno en presencia de luz azul y blanca en la productividad de biomasa de tres biotipos de *Chlorella* sp. En el alto andino ecuatoriano," Universidad De Las Américas, 2020.
- [10] W. H. A. Ng and H. Liu, "Diel variation of the cellular carbon to nitrogen ratio of *Chlorella* autotrophica (Chlorophyta) growing in phosphorus and nitrogen limited continuous cultures," *J. Phycol.*, vol. 51, no. 1, p. 11, 2014, doi: 10.1111/jpy.12254.
- [11] N. Nirmala, S. S. Dawn, and C. Harindra, "Analysis of performance and emission characteristics of Waste cooking oil and *Chlorella variabilis* MK039712.1 biodiesel blends

- in a single cylinder, four strokes diesel engine,” *Renew. Energy*, vol. 147, pp. 284–292, 2020, doi: 10.1016/j.renene.2019.08.133.
- [12] I. Baldiris Navarro, J. Sanchez-Aponte, A. Gonzalez-Delgado, A. R. Jimenez, and M. Acevedo-Morantes, “Removal and biodegradation of phenol by the freshwater microalgae *Chlorella vulgaris*,” *Contemp. Eng. Sci.*, vol. 11, no. 40, pp. 1961–1970, 2018, doi: 10.12988/ces.2018.84201.
- [13] I. R. Astros, M. C. Navarro, and A. I. Páez, “Evaluación del cambio en la concentración de dióxido de carbono en una corriente de gas mediante el uso de *Chlorella vulgaris*,” p. 9, 2014, doi: 10.15765/e.v4i4.519.
- [14] M. D. P. Nuñez Castellanos, “Cultivo a pequeña escala de microalgas de la especie ~ *Chlorella vulgaris* para la obtencion de aceite,” Universidad Santo Tomás, 2017.
- [15] R. Vazquez Duhalt and B. O. Arredondo Vega, “Haloadaptation of the green alga *Botryococcus braunii* (race a),” *Phytochemistry*, vol. 30, no. 9, pp. 2919–2925, 1991, doi: 10.1016/S0031-9422(00)98225-6.
- [16] L. Xin, H. Hong ying, G. Ke, and S. Ying-xue, “Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp.,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 14, pp. 5494–5500, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.02.016.
- [17] R. M. Letelier, R. R. Bidigare, D. V. Hebel, M. Ondrusek, C. D. Winn, and D. M. Karl, “Temporal variability of phytoplankton community structure based on pigment analysis,” *Limnol. Oceanogr.*, vol. 38, no. 7, pp. 1420–1437, 1993, doi: 10.4319/lo.1993.38.7.1420.
- [18] J. Jiménez-Llanos, M. Ramírez-Carmona, L. Rendón-Castrillón, and C. Ocampo-López, “Sustainable biohydrogen production by *Chlorella* sp. microalgae: A review,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 45, no. 15, pp. 8310–8328, 2020, doi: 10.1016/j.ijhydene.2020.01.059.
- [19] E. Jankowska, A. K. Sahu, and P. Oleskowicz-Popiel, “Biogas from microalgae: Review on microalgae’s cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 75, no. October 2015, pp. 692–709, 2017, doi: 10.1016/j.rser.2016.11.045.
- [20] P. Havlík *et al.*, “Global land-use implications of first and second generation biofuel targets,” *Energy Policy*, vol. 39, no. 10, pp. 5690–5702, 2011, doi: 10.1016/j.enpol.2010.03.030.
- [21] A. Alaswad, M. Dassisti, T. Prescott, and A. G. Olabi, “Technologies and developments of third generation biofuel production,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 51, pp. 1446–1460, 2015, doi: 10.1016/j.rser.2015.07.058.
- [22] Á. D. González Delgado, A. F. Barajas Solano, and A. M. Ardila Álvarez, “Producción de biomasa y proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Chlorellales: Chlorellaceae) a través del diseño de medios de cultivo selectivos,” *Cienc. Tecnol. Agropecu.*, vol. 18, no. 3, pp. 451–461, 2017.
- [23] V. Bholá, R. Desikan, S. K. Santosh, K. Subburamu, E. Sanniyasi, and F. Bux, “Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behaviour of *Chlorella vulgaris*,” *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 111, no. 3, pp. 377–382, 2011, doi: 10.1016/j.jbiosc.2010.11.006.
- [24] J. Champenois, H. Marfaing, and R. Pierre, “Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 27, no. 5, pp. 1845–1851, 2015, doi: 10.1007/s10811-014-0431-2.
- [25] L. Krienitz, V. A. R. Huss, and C. Bock, “*Chlorella*: 125 years of the green survivalist,”

- Trends Plant Sci.*, vol. 20, no. 2, pp. 67–69, 2015, doi: 10.1016/j.tplants.2014.11.005.
- [26] J. J. Tate, M. T. Gutierrez-Wing, K. A. Rusch, and M. G. Benton, “The Effects of Plant Growth Substances and Mixed Cultures on Growth and Metabolite Production of Green Algae *Chlorella* sp.: A Review,” *J. Plant Growth Regul.*, vol. 32, no. 2, pp. 417–428, 2013, doi: 10.1007/s00344-012-9302-8.
- [27] J. B. K. Park, R. J. Craggs, and A. N. Shilton, “Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond,” *Water Res.*, vol. 45, no. 20, pp. 6637–6649, 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.09.042.
- [28] M. R. Alayon Alvear, C. R. Castillo Saldarriaga, and D. L. Henao Argumedo, “Evaluación del pH y concentración de nitrógeno e el cultivo de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como fuente de aceite vegetal,” 2011.
- [29] G. V. Chaparro Rojas, “Evaluación del suero lácteo en la producción de biomasa y lípidos en la microalga *Chlorella vulgaris* a escala de laboratorio,” 2017.
- [30] L. Serrano, “Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel,” 2012.
- [31] B. Sialve, N. Bernet, and O. Bernard, “Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 27, no. 4, pp. 409–416, 2009, doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.03.001.
- [32] N. Abdel-Raouf, A. A. Al-Homaidan, and I. B. M. Ibraheem, “Microalgae and wastewater treatment,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 19, no. 3, pp. 257–275, 2012, doi: 10.1016/j.sjbs.2012.04.005.
- [33] F. G. Acién, J. M. Fernández, J. J. Magán, and E. Molina, “Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 30, no. 6, pp. 1344–1353, 2012, doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.02.005.
- [34] E. A. Cezare Gomes *et al.*, “Potential of Microalgae Carotenoids for Industrial Application,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 188, no. 3, pp. 602–634, 2019, doi: 10.1007/s12010-018-02945-4.
- [35] J. Sánchez, J. Loaña, M. Agualongo, and K. Espinoza, “Técnicas de cultivo y métodos de extracción de ácidos grasos a base de microalgas en beneficio de la humanidad,” vol. 3, pp. 1–10, 2020.
- [36] R. Muñiz, “Los fotobiorreactores de microalgas : Un recurso para el tratamiento terciario de aguas residuales,” vol. 22, pp. 13–25, 2019.
- [37] S. Y. Li, R. Srivastava, S. L. Suib, Y. Li, and R. S. Parnas, “Performance of batch, fed-batch, and continuous A-B-E fermentation with pH-control,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 5, pp. 4241–4250, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.12.078.
- [38] E. A. Cherlys Infante, A. Zárate, J. Z. Florez, F. Barrios, and C. Zapata, “Cultivation of *Chlorella* sp. microalgae in batch culture : Cell growth,” *Av. en Ciencias e Ing.*, pp. 159–164, 2011, [Online]. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323627686016>.
- [39] B. D. Fernandes, A. Mota, J. A. Teixeira, and A. A. Vicente, “Continuous cultivation of photosynthetic microorganisms: Approaches, applications and future trends,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 33, no. 6, pp. 1228–1245, 2015, doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.03.004.
- [40] J. Fábregas, A. Maseda, A. Domínguez, and A. Otero, “The cell composition of *Nannochloropsis* sp. changes under different irradiances in semicontinuous culture,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 20, no. 1, pp. 31–35, 2004, doi: 10.1023/B:WIBI.0000013288.67536.ed.
- [41] F. Pernet, R. Tremblay, E. Demers, and M. Roussy, “Variation of lipid class and fatty acid

- composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system,” *Aquaculture*, vol. 221, no. 1–4, pp. 393–406, 2003, doi: 10.1016/S0044-8486(03)00030-9.
- [42] N. R. Loaiza, M. Guevara, and C. Lodeiros, “Productividad de las microalgas marinas *Chaetoceros* sp. LAEP-35 y *Chroomonas* sp. MOF-03 en cultivos semicontinuos de interés en acuicultura,” *Ciencia*, vol. 20, no. 2, pp. 1–8, 2012.
- [43] K. A. García Bustos, “Tratamiento fisicoquímico de efluente avícola y subsecuente uso para cultivo de microalgas *Chlorella vulgaris* en biorreactores operado en modo continuo,” 2021.
- [44] R. S. Coelho, A. D. S. Vidotti, É. M. Reis, and T. T. Franco, “High cell density cultures of microalgae under fed-batch and continuous growth,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 38, no. August 2015, pp. 313–318, 2014, doi: 10.3303/CET1438053.
- [45] L. Ardila Forero, “Medición de la capacidad de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* para la remoción de cromo de aguas de curtiembre,” 2012.
- [46] H. D. Oviedo-Montiel, E. E. Herrera-Cruz, J. K. Hoya-Florez, M. J. Prieto-Guevara, A. L. Estrada-Posada, and J. A. Yepes-Blandón, “Crecimiento poblacional de *Macrothrix spinosa* alimentada con *Chlorella* sp.,” *Orinoquia*, vol. 23, no. 2, pp. 79–86, 2019, doi: 10.22579/20112629.571.
- [47] I. C. Calderón-Delgado, D. A. Mora-Solarte, and Y. M. Velasco-Santamaría, “Physiological and enzymatic responses of *Chlorella vulgaris* exposed to produced water and its potential for bioremediation,” *Environ. Monit. Assess.*, vol. 191, no. 6, 2019, doi: 10.1007/s10661-019-7519-8.
- [48] G. I. Leal Medina, J. E. Abril Bonett, S. J. Martínez Gélvez, Y. A. Muñoz Peñaloza, E. M. Peñaranda Lizarazo, and N. A. Urbina Suárez, “Producción de Ácidos Grasos Poliinsaturados a partir de Biomasa Microalgal en un Cultivo Heterotrófico,” *Rev. ION*, vol. 30, no. 1, pp. 91–103, 2017, doi: 10.18273/revion.v30n1-2017007.
- [49] L. M. Serrano Bermúdez *et al.*, “Efecto del hierro en el crecimiento y acumulación de lípidos en la microalga colombiana *Chlorella vulgaris* LAUN 0019,” *Iteckne*, vol. 8, no. 1, pp. 15–22, 2011, doi: 10.15332/iteckne.v8i1.257.
- [50] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P. Y. Pontalier, and C. Vaca-Garcia, “Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 35, pp. 265–278, 2014, doi: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- [51] A. Singh, P. S. Nigam, and J. D. Murphy, “Renewable fuels from algae: An answer to debatable land based fuels,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 10–16, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.032.
- [52] C. Gao *et al.*, “Oil accumulation mechanisms of the oleaginous microalga *Chlorella* protothecoides revealed through its genome, transcriptomes, and proteomes,” *BMC Genomics*, vol. 15, no. 1, pp. 1–14, 2014, doi: 10.1186/1471-2164-15-582.
- [53] H. Chen, T. Li, and Q. Wang, “Ten years of algal biofuel and bioproducts: gains and pains,” *Planta*, vol. 249, no. 1, pp. 195–219, 2019, doi: 10.1007/s00425-018-3066-8.
- [54] J. Zhu, J. Rong, and B. Zong, “Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel,” *Cuihua Xuebao/Chinese J. Catal.*, vol. 34, no. 1, pp. 80–100, 2013, doi: 10.1016/s1872-2067(11)60497-x.
- [55] C. Castillo, D. Henao, and L. Tejada, “Obtención y comparación de los aceites obtenidos de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como materia prima para la producción de biodiesel,” pp. 1–8, 2010.
- [56] A. Cerón Vivas, J. P. Acosta, L. V. Alvear, and Y. Gamarra, “Potencial bioquímico de metano de la *Chlorella vulgaris*: influencia de la hidrólisis térmica,” *Rev. ION*, vol. 31, no.

- 2, pp. 27–36, 2019, doi: 10.18273/revion.v31n2-2018002.
- [57] L. L. Estévez Landazábal, A.-F. Barajas Solano, C. Barajas Ferreira<sup>1</sup>, and V. Kafarov, “Improvement of lipid productivity on *Chlorella vulgaris* using waste glycerol and sodium acetate,” *Latinoam. J. oil gas Altern. energy*, vol. 5, pp. 1–3, 2013.
- [58] F. L. Alfonso Moreno and D. Rubio Fernández, “Generación de biohidrógeno por un proceso de biofotólisis directa utilizando un cultivo mixto de microalgas,” pp. 7–18, 2010.
- [59] Q. Hu *et al.*, “Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances,” *Plant J.*, vol. 54, no. 4, pp. 621–639, 2008, doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x.
- [60] A. L. Stephenson, J. S. Dennis, C. J. Howe, S. A. Scott, and A. G. Smith, “Influence of nitrogen-limitation regime on the production by,” vol. 1, pp. 47–58, 2010.
- [61] K. L. Yeh and J. S. Chang, “Nitrogen starvation strategies and photobioreactor design for enhancing lipid content and lipid production of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31: Implications for biofuels,” *Biotechnol. J.*, vol. 6, no. 11, pp. 1358–1366, 2011, doi: 10.1002/biot.201000433.
- [62] L. Tejada-Benítez, D. Henao-Argumedo, M. Alvear-Alayón, and C. R. Castillo Saldarriaga, “Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas,” *Rev. Fac. Ing. (Fac. Ing.)*, Mayo-Agosto, vol. 24, no. 39, pp. 43–54, 2015, [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/pdf/4139/413940776005.pdf>.
- [63] L. Gouveia, A. Raymundo, A. P. Batista, I. Sousa, and J. Empis, “*Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 222, no. 3–4, pp. 362–367, 2006, doi: 10.1007/s00217-005-0105-z.
- [64] J. Fernández Sevilla, G. Acién Fernández, and E. Molina Grima, “Obtaining Lutein-Rich Extract from Microalgal Biomass at Preparative Scale,” *Ser. Methods Mol. Biol. Vol. 892*, vol. 892, pp. 307–314, 2012, doi: 10.1007/978-1-61779-879-5.
- [65] H. C. Kwang, Y. I. K. Song, and D. U. Lee, “Antiproliferative effects of carotenoids extracted from *Chlorella ellipsoidea* and *Chlorella vulgaris* on human colon cancer cells,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 22, pp. 10521–10526, 2008, doi: 10.1021/jf802111x.
- [66] Y. Caicedo, C. Suarez, and G. Gelves, “Evaluation of preliminary plant design for *Chlorella vulgaris* microalgae production focused on cosmetics purposes,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1655, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1655/1/012086.
- [67] C. Bernal, “Extracción de proteínas de *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis gaditana* asistido por ultrasonido,” 2015.
- [68] J. B. García-Martínez *et al.*, “Evaluation of a two-phase extraction system of carbohydrates and proteins from *Chlorella vulgaris* utex 1803,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 49, no. April, pp. 355–360, 2016, doi: 10.3303/CET1649060.
- [69] M. A. Parra, L. J. Murcia, D. Rubio Fernández, and J. Sandoval Herrera, “Uso de residuos agroindustriales para fabricar proteínas a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*,” *Av. Investig. en Ing.*, vol. 16, no. 1, pp. 66–75, 2019, doi: 10.18041/1794-4953/avances.1.4316.
- [70] S. Aslan and I. K. Kapdan, “Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae,” *Ecol. Eng.*, vol. 28, no. 1, pp. 64–70, 2006, doi: 10.1016/j.ecoleng.2006.04.003.
- [71] P. Biller, R. Riley, and A. B. Ross, “Catalytic hydrothermal processing of microalgae: Decomposition and upgrading of lipids,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 7, pp. 4841–4848, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.12.113.

- [72] L. Brennan and P. Owende, “Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, no. 2, pp. 557–577, 2010, doi: 10.1016/j.rser.2009.10.009.
- [73] J. E. Keffer and G. T. Kleinheinz, “Use of *Chlorella vulgaris* for CO<sub>2</sub> mitigation in a photobioreactor,” *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 29, no. 5, pp. 275–280, 2002, doi: 10.1038/sj.jim.7000313.
- [74] A. Polo and I. Vargas, “Eliminación de fosfatos y nitratos de agua residual municipal mediante un inóculo optimizado de *Chlorella* sp. en un sistema de fotobiorreactores verticales con columna de burbujeo a escala piloto,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2019, [Online]. Available: [http://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/5297/Eliminación de fosfatos y nitratos de agua residual municipal mediante un inóculo optimizado de \*Chlorella\* sp. en un sistema de fotobiorreactores verticales con columna de burbujeo a escala piloto.p](http://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/5297/Eliminación%20de%20fosfatos%20y%20nitratos%20de%20agua%20residual%20municipal%20mediante%20un%20in%C3%B3culo%20optimizado%20de%20Chlorella%20sp.%20en%20un%20sistema%20de%20fotobiorreactores%20verticales%20con%20columna%20de%20burbujeo%20a%20escala%20piloto.p).
- [75] V. A. Vacca Jimeno, E. R. Angulo Mercado, D. M. Puentes Ballesteros, J. G. Torres Yépez, and M. E. Plaza Vega, “Uso de la microalga *Chlorella* sp. viva en suspensión en la decoloración del agua residual de una empresa textil/Using the microalgae *Chlorella* sp. live suspended in decoloration wastewater from a textile factory,” *Prospectiva*, vol. 15, no. 1, pp. 93–99, 2017, doi: 10.15665/rp.v15i1.829.
- [76] E. Angulo, L. Bula, I. Mercado, A. Montaña, and N. Cubillán, “Bioremediation of Cephalexin with non-living *Chlorella* sp., biomass after lipid extraction,” *Bioresour. Technol.*, vol. 257, no. February, pp. 17–22, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.079.
- [77] M. A. Romero-Morales, M. T. Ortiz-Villota, and L. D. Meza-Rodríguez, “La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia,” *Rev. Investig. Desarro. E Innovación*, vol. 9, no. 1, pp. 163–176, 2018, doi: 10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153.
- [78] J. A. Sandoval Herrera, B. O. Malo Malo, J. C. Cartagena Arévalo, and D. Rubio Fernández, “Evaluación a nivel laboratorio de la capacidad de remoción de materia orgánica de *Chlorella vulgaris* en las aguas residuales de la PTAR Salitre,” *Rev. Mutis*, vol. 8, no. 1, pp. 34–42, 2018, doi: 10.21789/22561498.1368.
- [79] D. N. B. Bohórquez, “Cinética de biodegradación de fenol, a partir de un cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* aislada mediante selección, en consorcio con *Chlorella vulgaris* como matriz de inmovilización,” pp. 1–14, 2014.
- [80] L. D. Ardila-Leal *et al.*, “Tertiary treatment (*Chlorella* sp.) of a mixed effluent from two secondary treatments (immobilized recombinant P. pastori and rPOXA 1B concentrate) of coloured laboratory wastewater (CLWW),” *3 Biotech*, vol. 10, no. 5, pp. 1–19, 2020, doi: 10.1007/s13205-020-02232-2.
- [81] L. Ardila, R. Godoy, and L. Montenegro, “Sorption Capacity Measurement of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* to Remove Chromium from Tannery Waste Water,” in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Sep. 2017, vol. 83, no. 1, p. 12031, doi: 10.1088/1755-1315/83/1/012031.
- [82] E. A. Olarte Gómez and M. J. Valencia Giraldo, “Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales industriales (vinazas),” 2015.
- [83] E. Angulo, G. Castellar Ortega, E. Morales, and M. Barrios Solano, “Remoción de azul de metileno por la microalga *Chlorella* sp. Viva,” *Rev. Prospect.*, vol. 10, no. 1, pp. 53–60, 2012, doi: 10.15665/rp.v10i1.396.

- [84] D. Rubio Fernández, C. Chica, and M. Parra, “Obtención de ácidos grasos a partir de biomasa microalgal cultivada bajo diferentes condiciones de iluminación,” *Elementos*, vol. 3, no. 3, 2013, doi: 10.15765/e.v3i3.418.
- [85] V. Z. L. NATALIA, “Evaluación de harina de semilla de moringa como agente floculante en la separación de biomasa microalgal *Chlorella vulgaris* de su medio de cultivo,” 2017.
- [86] N. D. Giraldo, R. J. R. Buchelly, D. E. Hincapié, and L. Atehortua, “Transformation of Brewery Subproducts into Valuable Biomass Using Mixotrophic Culture of *Chlorella pyrenoidosa* and Associated Bacteria,” *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 63, 2020, doi: 10.1590/1678-4324-2020190229.
- [87] L. P. Gámez-Ortiz, M. J. González-Soto, M. E. Perez-Roa, J. B. García-Martínez, N. A. Urbina-Suarez, and C. E. Diaz-Castañeda, “Bioconversion of post-culture wastewater from farm fisheries for the production of high-value algal biomass,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1388, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1388/1/012036.
- [88] A. M. Ardila-Álvarez, V. Quintero-Dallos, V. E. Blanco-Suárez, S. S. Villamizar-Sánchez, A. F. Barajas-Solano, and C. Barajas-Ferreira, “Efecto de la glicerina residual en la deposición de metabolitos para la *Chlorella vulgaris* utex 1803, mediante técnicas de inmovilización,” *Iteckne*, vol. 14, no. 1, p. 17, 2017, doi: 10.15332/iteckne.v14i1.1626.
- [89] H. A. Jaramillo-Campaña, N. C. Calpa-Anaguano, and V. Y. Gómez-Nieves, “Evaluación del periodo de llenado y evacuación intestinal de *Brachionus calyciflorus* alimentado con *Chlorella* sp.,” *Orinoquia*, vol. 23, no. 1, pp. 41–47, 2019, doi: 10.22579/20112629.540.
- [90] D. Rubio Fernández, M. C. Ángel, and W. Pimienta, “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,” pp. 1–12, 2013.
- [91] M. L. Ortiz- Moreno, C. E. Cortés - Castillo, J. Sánchez-Villarraga, A. M. Otero-Paternina, and J. Padilla, “Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas,” *Orinoquia*, vol. 16, no. 1, p. 11, 2012, doi: 10.22579/20112629.224.
- [92] P. Mejía Rendón, Sebastián. Colmenares Roldan, Gabriel Jaime. Voroney, “Effect of Carbon Dioxide Concentration on the Growth Response of *Chlorella vulgaris* Under Four Different Led Illumination,” *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, pp. 125–131, 2013, doi: 10.6000/1927-3037.2013.02.03.3.
- [93] L. Gómez Luna, I. Álvarez, and R. Rivero, “Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residual de soja con la aplicación de un campo magnético,” *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 13, no. 2, pp. 27–38, 2011.
- [94] D. Rubio and G. Hernández, “Evaluation of the incidences of salinity and pH on the biomass, productivity and lipids accumulation in cultures of *Chlorella vulgaris* in a flat plate photobioreactor,” *Iteckne*, vol. 13, no. 1, pp. 44–56, 2016, [Online]. Available: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-17982016000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-17982016000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es).
- [95] T. L. C. Lee, “Efecto de la aplicación de soluciones de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* sobre el contenido de compuestos funcionales en germinados de brócoli (*brassica oleracea* var. *italica*),” 2010.
- [96] A. Pineda, G. Pinilla-Agudelo, L. C. Montenegro-Ruiz, and L. M. Melgarejo, “Does the nutrient concentration of water ecosystems affect growth rates and maximum PSII quantum yield in calcium alginate-encapsulated *Scenedesmus ovalternus* and *Chlorella vulgaris*?,” *Limnetica*, vol. 36, no. 2, pp. 405–425, 2017, doi: 10.23818/limn.36.12.

- [97] D. Duque, C. Montoya, and L. R. Botero, “Cadmium (Cd) tolerance evaluation of three strains of microalgae of the genus *Ankistrodesmus*, *Chlorella* and *Scenedesmus*,” *Rev. Fac. Ing.*, no. 92, pp. 60–69, 2019, doi: 10.17533/udea.redin.20190523.
- [98] M. C. Orozco Ararat, O. E. Sanclemente Reyes, and L. Vergara, “Efecto de la dosificación de CO<sub>2</sub> en la cinética de crecimiento de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus*,” vol. 12, pp. 1–9, 2021.
- [99] M. Muñoz-Peñuela, J. A. Ramírez-Merlano, A. M. P. Otero, V. M. Medina-Robles, P. E. Cruz-Casallas, and Y. M. Velasco-Santamaría, “Effect of culture medium on growth and protein content of *Chlorella vulgaris*,” *Rev. Colomb. Ciencias Pecu.*, vol. 25, no. 3, pp. 438–449, 2012.
- [100] L. M. Moreno and H. Casanova, “Flocculation with Chitosan of Microalgae Native of the Colombian Plateau Flocculación con quitosano de las microalgas nativas de la altillanura Colombiana,” vol. 6, no. 1, pp. 25–31, 2015.
- [101] L. A. Di Mare Pareja, “Determinación de una Alternativa Costo-Efectiva de Flocculación para Cultivos de la Microalga *Chlorella* en el Caribe Colombiano,” 2019.
- [102] H. E. Rojas and L. F. Cantor, “Electrical performance of distribution insulators with *Chlorella vulgaris* growth on its surface,” vol. 2015, pp. 21–27, 2015.
- [103] V. Plata, V. Kafarov, and N. Moreno, “Optimization of third generation biofuels production: Biodiesel from microalgae oil by homogeneous transesterification,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 21, no. January, pp. 1201–1206, 2010, doi: 10.3303/CET1021201.
- [104] J.-V. Pérez Pazos, F. Izquierdo, and Pablo, “Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* sp. under different light and carbonate conditions,” *Ciencia, Tecnol. Y Futur.*, vol. 4, pp. 47–58, 2011.
- [105] M. A. Colorado Gómez, D. A. Moreno Tirado, and J. L. Pérez Posada, “Desarrollo , producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas,” *Ambient. y Desarro.*, vol. 17, no. 32, pp. 113–126, 2013.
- [106] K. Castro, E. Ortiz, and D. Rubio, “Determinación de incidencia de la relación carbono: nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos de la microalga *Chlorella vulgaris* a escala de laboratorio,” *Rev. Invest. (Guadalajara).*, vol. 7, no. 1, pp. 21–29, 2014, doi: 10.29097/2011-639x.159.
- [107] F. Campillo, “Análisis de prefactibilidad para la implementación de una planta de producción de biomasa a partir de microalgas en Colombia,” 2013.
- [108] S. Mejía Rendón, G. J. Colmenares Roldan, Voroney, and R. Paul, “Effect of Carbon Dioxide Concentration on the Growth Response of *Chlorella vulgaris* Under Four Different Led Illumination,” *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, no. January, 2013, doi: 10.6000/1927-3037.2013.02.03.3.
- [109] K. Castro and E. Ortiz, “Determinación de incidencia de la relación carbono: nitrógeno en la producción de biomasa y ácidos grasos de la microalga *Chlorella vulgaris* a escala de laboratorio,” *Rev. Invest. (Guadalajara).*, vol. 7, no. 1, pp. 21–29, 2014, doi: 10.29097/2011-639x.159.
- [110] J. Mendoza Bobadilla, C. Guerrero Escobedob, Adolfo Vasquez Blasb, A. Alfaro Floresa, and G. Flores Quiñones, “Growth evaluation of the microalgae *Chlorella* sp. with tannery effluent from the soaking stage,” vol. 5, no. 1, pp. 29–36, 2021.
- [111] M. L. M. Micán and M. Y. S. Chaparro, “Influence of the initial concentration of *Chlorella vulgaris* and CO<sub>2</sub> in the production of lipids,” *Rev. Lasallista Investig.*, vol. 17, no. 1, pp. 59–69, 2020, doi: 10.22507/rli.v17n1a5.

