

Artículo Original

Generación de biomasa a partir de *Chlorella Vulgaris* a escala industrial

Biomass generation from Chlorella Vulgaris on an industrial scale

***Allan Matías Samaniego Bordón¹, Norma Beatriz Ayala Alviso¹
Mónica Emperatriz Casanueva Ojeda¹**

¹Universidad del Cono Sur de las Américas, Carrera Ingeniería Industrial, Asunción-Paraguay

RESUMEN

La producción de biocombustibles, se basa principalmente en productos de uso alimenticio, generando esto un conflicto a la hora de utilizar los mismos, ya que generan sobre costos, y se pueden destinar al consumo humano o animal. En respuesta a esto se recurren a otras alternativas, siendo el cultivo de las microalgas una de las más atractivas; por ser fácil de cultivar, ocupar menos espacio que otros tipos de cultivos y por su fácil adaptación a las condiciones ambientales. El desarrollo de esta investigación pretendió abordar la viabilidad de producir biomasa de microalgas, específicamente de la *Chlorella vulgaris*, en condiciones ambientales naturales utilizando reactores tipo raceway. Se estudió en dos reactores: biorreactor I y II, sometidos a condiciones ambientales similares, y en ambos casos se suministró fertilizante NPK 20 20 20. En ambos reactores se realizó un monitoreo de los parámetros de temperatura ambiente, pH, oxígeno disuelto, turbidez e intensidad lumínica, encontrando resultados similares para ambos reactores. Para el biorreactor I se obtuvieron valores de biomasa de 646 mg/L y se extrajo del ambiente 16,35 mg de CO₂/L, ambos de forma diaria, mientras que para el biorreactor II se obtuvieron un promedio de 521 mg/L de biomasa por día, y se extrajo del ambiente 14,95 mg de CO₂/L de medio por día.

Palabras clave: biocombustibles; microalgas; *Chlorella vulgaris*; biomasa; reactor raceway.

ABSTRACT

The production of biofuels is mainly based on the use of food as raw material, which generates a conflict when it comes to their use, since they generate cost overruns and can be used for human or animal consumption. In response to this, other alternatives are resorted to, being the cultivation of microalgae one of the most attractive; for being easy to cultivate, occupying less space than other types of crops and for its easy adaptation to environmental conditions. The development of this research aimed to address the feasibility of producing microalgae biomass, specifically *Chlorella vulgaris*, under natural environmental conditions using raceway type reactors. Two reactors were studied: bioreactor I and II, subjected to similar environmental conditions, and in both cases NPK 20 20 20 fertilizer was supplied. In both reactors, the parameters of ambient temperature, pH, dissolved oxygen,

Autor de correspondencia: Allan Samaniego-Bordón. Universidad del Cono Sur de las Américas. Carrera Ingeniería Industrial, Asunción Paraguay.

Email: allansamaniegob@gmail.com

Fecha de recepción: diciembre 2021 Fecha de aceptación: enero 2022



turbidity and light intensity were monitored, finding similar results for both reactors. For bioreactor I, biomass values of 646 mg/L were obtained and 16.35 mg of CO₂/L was extracted from the environment, both on a daily basis, while for bioreactor II an average of 521 mg/L of biomass was obtained per day, and 14.95 mg of CO₂/L of medium was extracted from the environment per day.

Keywords: biofuels; microalgae, *Chlorella vulgaris*; biomass; raceway pond.

INTRODUCCIÓN

La producción de biocombustibles, se basa principalmente en productos de uso alimenticio, generando esto un conflicto a la hora de utilizar los mismos y la utilización de combustibles fósiles, la principal causante de CO₂ en el ambiente, dos razones por las cuales es importante explorar fuentes alternativas que contrarresten esta problemática. El [Boletín de la OMS sobre los Gases de Efecto Invernadero](#) (WMO, 2019) ha mostrado que la concentración media anual mundial de dióxido de carbono (CO₂) alcanzó las 407,8 partes por millón (ppm) en 2018, tras haber sido de 405,5 ppm en 2017; Por eso la importancia de realizar estudios de fuentes alternativas, tales como los biocombustibles, que tienen procesos de obtención, sobre todo, sustentables y sostenibles. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la producción de biocombustibles utiliza como insumo principal, productos que forman parte del mercado alimenticio, compitiendo directamente con este último (Zarini, 2011). Los diferentes insumos para la producción de biocombustibles, entre los que se destacan la caña de azúcar, el trigo, girasol y soja, representan una de las causas del incremento de los precios de los alimentos a nivel mundial. De ahí surge la producción de biodiesel a partir de otras alternativas, como es el caso del cultivo y procesamiento de microalgas, pudiendo tener así mayor cantidad del mismo, por menos espacio, en comparación a cultivos, siendo las microalgas de fácil adaptación a las condiciones ambientales expuestas. insistir en su capacidad de absorber CO₂.

El uso de los reactores raceway ya ha sido estudiado para la producción de biomasa de varias microalgas, especialmente las variables de temperatura, medios nutritivos y el pH, a distintos tiempos. Utilizando un reactor raceway de 4,55m x 1,30m x 0,50m (3 m³) de largo, ancho y alto respectivamente, se observó en promedio un 308,4 mg/L de crecimiento de biomasa de *Chlorella vulgaris* en un rango de temperatura entre 24°C y 34°C, con un pH entre 7 y 9, con iluminación proveniente de la luz natural, además de utilizar como medio de cultivo una solución que contenía NPK en proporción 16-20-0 (Matanguihan, y otros, 2020).

En China se ha utilizado el reactor raceway para analizar la capacidad de *Chlorella vulgaris* para remover fósforo y amonio en orina de cerdo pretratada, donde se utilizó un reactor raceway de 0,80m x 0,20m x 0,15m (0.024 m³) de largo, ancho y alto, respectivamente. Se observó una producción de biomasa de 1,287 mg/L, con medio de cultivo BG11 adaptado con orina de cerdo, con pH ajustado a 6, con rango de temperatura de entre 27 °C a 33 °C y un rango de luz de entre 700 Lux a 5000 Lux (Zou, y otros, 2020). En otro estudio hecho en Argelia, utilizando *Chlorella pyrenoidosa* con un reactor raceway 1,5m x 0,6m x 0,4m (0,36 m³) de largo, ancho y profundidad respectivamente de donde las condiciones de temperatura iban de 18-31 °C durante el día, y de 6-15 °C durante la noche. Como medio se utilizó agua residual, con pH inicial de 7,8. Bajo estas condiciones se obtuvo una biomasa de 1,71 g/L

(Siham, Djamal, Luveshan, Ismail, & Faizal, 2016). Estudio realizado en Tailandia con *Chlorella JPR-1*, se obtuvo un máximo de 5,8 g/L de biomasa, con una administración de flujo de aire de 0,5 vvm con 10 % de CO₂. Esto se realizó en un reactor de 0,4m³, con medio de cultivo M4N, a temperatura constante de 30°C, con pH inicial de 5,5 realizado durante 7 días (Kumoro, Hadiyanto, & Susanto, 2013).

Solo existen antecedentes de la producción de *Chlorella* a nivel de laboratorio en Paraguay en condiciones controladas y a pequeña escala. Es por eso que se realiza un estudio de campo para observar el comportamiento de *Chlorella vulgaris* en la producción de biomasa bajo condiciones ambientales naturales del Paraguay, es importante considerar las condiciones ambientales de la bibliografía citada anteriormente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del biorreactor I

El biorreactor I consistió en una pecera de vidrio con espesor de un (1) cm, de 54cm x 20cm x 30cm de largo, ancho y alto respectivamente (Figura 1), a la cual se le colocó una lámina de vidrio de 20 cm altura y 34 cm de largo en la parte central, además de 4 láminas en las esquinas de 10 cm de ancho y 20 cm de altura, para que el medio pueda circular, y no quede estancado.

Fuente: Elaboración propia (2019).

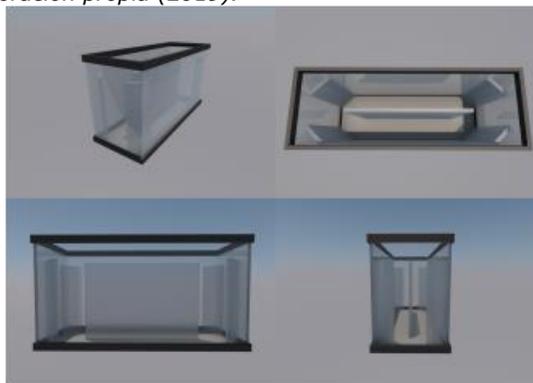


Figura 1. Diseño en 3D del biorreactor I, realizado en el programa Autocad.

Diseño y construcción del biorreactor II

Las dimensiones del reactor fueron tomadas del trabajo de (Sanchez, González, Maceiras, Cancela, & Urrejola, 2011), con ligeras modificaciones. El modelo original poseía un ancho de 40 cm, un largo de 140 cm y una altura de 40 cm. Las dimensiones utilizadas para el ancho, largo y alto son de 50 cm, 150 cm y 40 cm respectivamente. Se decidió aumentar las dimensiones para que las algas tengan mayor superficie de contacto con la luz. El modelo inicial poseía una capacidad de aproximadamente unos 210 L, mientras que este modelo posee una capacidad de unos 280 L, es decir, un aumento aproximado de un 33%.

Fuente: Elaboración propia (2019)

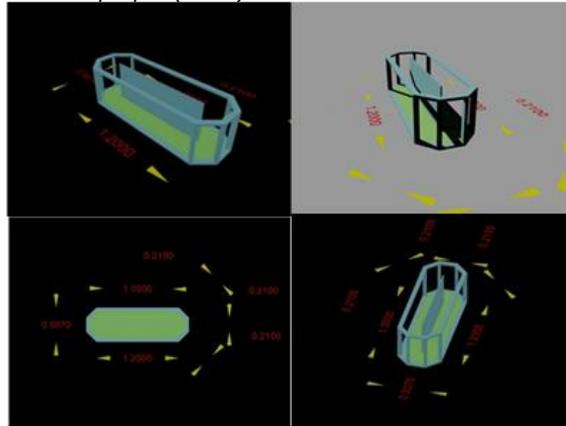


Figura 2. Diseño en 3D del biorreactor II con las medidas utilizadas, realizadas en el programa autocad.

Obtención de la cepa de *Chlorella vulgaris*

La cepa fue donada por la encargada del laboratorio de Hidrobiología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), Lic. Melissa Dos Santos. Las cepas se encontraban en dos (2) frascos de 100ml.

Cultivo y conservación del inóculo en el laboratorio.

Al inicio, se utilizaron dos (2) frascos de 100 ml que contenían las microalgas, que luego fueron vertidos en dos (2) erlenmeyer de 500 ml, donde se mantuvieron con aireación constante con una bomba de aire para acuarios, y la iluminación se realizaba con luz artificial mediante un foco de 15 watts, durante tres (3) semanas.

De cada erlenmeyer utilizado para conservar los cultivos, se tomó 250 mL para distribuirlos en cuatro (4) kitsato de un (1) L, donde permanecieron con aireación constante y luz artificial durante un mes. Las microalgas fueron alimentadas con fertilizante NPK (Nitrógeno, fósforo y potasio) 20 20 20 (Aminoleaf 600), con una concentración de 1,5 g/L en agua destilada.

Se seleccionó uno de los kitsato y se colocó los 1 (un) litro en el biorreactor I, una vez realizada la inoculación, se duplicó el volumen de inoculación y cada siete (7) días, se le agregaba 600 ml de medio NPK 20 20 20 al biorreactor I, hasta alcanzar los 10 litros.

Los 10 litros se pasaron a un bidón de 20 litros, siendo aireado por burbujeadores. Cada semana se le suministraba un (1) litro de medio fresco preparado con el mismo fertilizante en agua destilada. Una vez que se llegó a los 20 litros, cada semana se extraían dos (2) litros del medio y se colocaban en otro bidón de 20 litros, reponiéndose con otros dos (2) litros de medio fresco al bidón del cual se extrajo inicialmente. Se realizó este proceso hasta conseguir cuatro (4) bidones del mismo volumen, teniendo en total 80 litros, los cuales se trasladaron al biorreactor II. El mismo era suministrado con dos (2) L de medio fresco por día, preparado de la misma manera, con 1,5 g de fertilizante NPK 20 20 20, en un (1) litro de agua mineral para este caso.

Sistema de agitación

Para la agitación en el biorreactor I, se utilizó un agitador axial doble, que trabajaba a 140 rpm, con una inclinación aproximada de 40° sobre la pecera. La agitación en el reactor II se realizaba con una bomba de 4500 L/h de caudal y de 55W, reforzado con otra bomba con caudal de 750 L/h de 12 W, colocado del lado contrario a la primera bomba, para reforzar la circulación, durante 24 horas.

Sistema de iluminación

Para los cultivos en escala laboratorio, se utilizó un foco led de 15 W con 1530 lm colocado a un costado de los erlenmeyer. El biorreactor I utilizado fue puesto dentro del laboratorio de investigación, a un costado de la mesada, de manera a que se encuentre cerca de la ventana para poder recibir así la luz solar. En el caso del biorreactor II, se colocó en un lugar abierto, pero con techo, para recibir mucha fuente de luz y a la vez estar cubierto de posibles problemas con el clima.

Diseño para la recolección de datos

La recolección de datos de los distintos parámetros, en ambos reactores, fueron realizados con componentes de Arduino; los parámetros monitoreados fueron los siguientes: temperatura del ambiente, humedad del ambiente, pH, oxígeno disuelto, turbidez e intensidad lumínica. Los componentes utilizados fueron los siguientes:

- Módulo RTC DS3231 (registro de tiempo)
- Módulo sensor fotoresistivo OPAMP LM393 (sensor de intensidad lumínica)
- Kit analógico de pH (sensor de pH)
- Módulo DHT11 (sensor de temperatura y humedad ambiental)
- Sensor de turbidez analógico SN0189 (sensor de turbidez)
- Kit de Medidor/Sensor Analógico de Oxígeno Disuelto RB-Dfr-781 (sensor de oxígeno disuelto)

Todos los parámetros eran registrados cada 30 min en el software de Arduino, y al término de cada día los valores eran copiados a planillas de Excel.

TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Para el tratamiento estadístico se consideraron como principales enfoques al análisis de resultados por coeficiente de correlación, luego se procedió a la interpretación de resultados estadísticos descriptivos como las medidas de tendencia central que son la media, la moda y la mediana, y las medidas de dispersión, la varianza, el máximo, el mínimo, rango y desviación estándar. Los tratamientos se realizaron con el software Excel, añadiendo el complemento de "Análisis de datos". Para el caso de la correlación de coeficientes, se tomaron en cuenta aquellas correlaciones que tuvieron un valor por encima 0,50 y aquellas por debajo de -0,50, considerándose como correlaciones significativas. Estas consideraciones según Cohen, 1988.

RESULTADOS

ANÁLISIS DE LOS FACTORES Y CONDICIONES DE LA CHLORELLA VULGARIS EN EL BIORREACTOR TIPO RACEWAY.

Análisis de correlación entre variables.

En las siguientes tablas se muestra el grado de relación que se obtiene comparando cada variable entre sí. Los valores van desde el -1 hasta 1. Primeramente, se tienen los gráficos realizados en el biorreactor I, realizadas en los meses de octubre, noviembre y diciembre del año 2019, siendo en total 12 semanas de mediciones. Posterior a eso se tienen los gráficos del biorreactor II de escala mayor realizados en los meses de febrero, marzo y abril del año 2021, en total se tienen ocho (8) semanas.

Biorreactor I

Durante las primeras tres (3) semanas se observa una correlación fuerte entre la turbidez y el oxígeno, a partir de la cuarta semana existe poca correlación. De igual manera, se observa una correlación entre la turbidez y la temperatura, siendo esta bastante considerable durante varias semanas. Existe poca correlación entre la turbidez y la luz durante las primeras semanas, pero esta cobra una correlación considerable a partir de la semana seis (6) en adelante, a excepción de las últimas 2 semanas. Con respecto al pH, la correlación es bastante significativa y tiende a ser negativa en la mayor parte del ensayo. Con respecto a la humedad, se observa una correlación negativa considerable durante las primeras semanas.

Tabla 1. Variables con respecto a turbidez en el biorreactor I.

Turbidez vs	pH	Temperatura	Oxígeno	Luz	Humedad
Semana 1	-0,12	0,62	0,56	-0,39	-0,58
Semana 2	-0,36	0,25	0,57	0,28	-0,30
Semana 3	-0,95	0,44	0,56	0,08	-0,41
Semana 4	-0,71	0,41	-0,12	-0,24	-0,21
Semana 5	-0,73	0,10	0,05	0,04	-0,17
Semana 6	-0,81	0,01	0,14	0,69	-0,39
Semana 7	-0,60	0,49	0,17	0,35	0,07
Semana 8	0,34	0,33	0,26	0,74	-0,15
Semana 9	-0,15	0,72	0,35	0,46	0,04
Semana 10	-0,51	0,35	0,19	0,38	-0,09
Semana 11	-0,46	0,60	0,34	0,12	-0,09
Semana 12	-0,03	0,17	0,48	-0,26	-0,13

Fuente: Elaboración propia (2021)

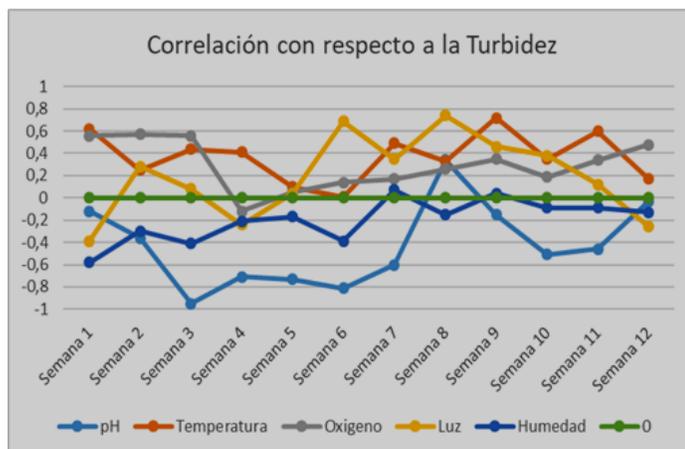


Figura 3. Gráfica de correlación de variables con respecto a turbidez en el biorreactor I.

(Las correlaciones positivas significativas están marcadas de color verde y, las correlaciones positivas débiles, de color verde claro. Mientras que las correlaciones negativas significativas están marcadas de color amarillo, y las correlaciones negativas débiles de amarillo claro. Las correlaciones no significativas, se encuentran sin color).

Biorreactor II

Se observa una correlación no tan fuerte entre la turbidez y el oxígeno, a excepción de las semanas cuatro (4), cinco (5) y ocho (8), donde se observa una correlación negativa. Durante la primera semana se observa una correlación negativa entre la turbidez y la temperatura, luego se consigue una correlación positiva durante mes y medio, hasta la semana siete (7) donde empieza a influir negativamente.

No se observa mucha correlación entre la turbidez y la luz, a excepción de las semanas dos (2) y cuatro (4). La turbidez en correlación con el pH presenta una tendencia negativa

Tabla 2. Correlaciones más resaltantes en el biorreactor II

Turbidez vs	pH	Temperatura	Oxígeno	Luz
Semana 1	-0,25	-0,41	0,01	0,18
Semana 2	-0,70	0,26	0,81	0,94
Semana 3	-0,15	0,00	0,41	-0,13
Semana 4	0,26	0,56	-0,84	0,70
Semana 5	-0,05	0,05	-0,33	0,07
Semana 6	-0,02	0,39	0,29	-0,05
Semana 7	0,12	-0,09	0,17	-0,06
Semana 8	-0,14	-0,43	-0,43	-0,18

Fuente: Elaboración propia (2021)

Fuente: Elaboración propia (2021)

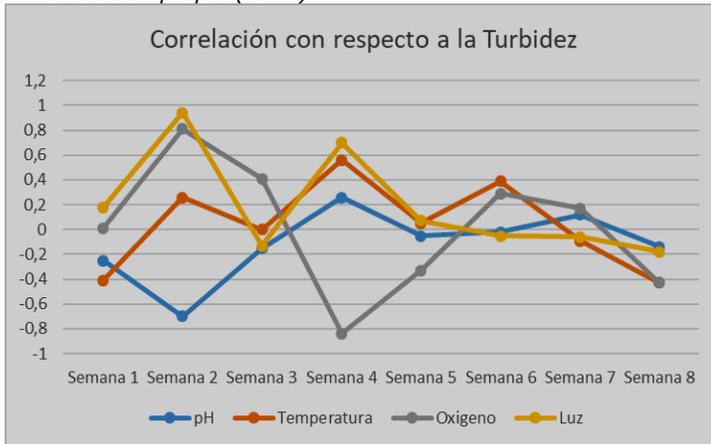


Figura 4. Correlación de variables con respecto a la turbidez en el biorreactor II.

CALCULO DE LA PRODUCCION DE BIOMASA ALGAL Y LA CANTIDAD DE CO₂ EXTRAIDO DEL MEDIO AMBIENTE.

En la Tabla 3 y 4 se pueden observar la cantidad de biomasa generada en promedio semanal para ambos biorreactores, así como el consumo de CO₂, en promedio diario. Los valores obtenidos de biomasa, son promedios de cada semana provenientes de la recopilación realizada por el Arduino. Para el cálculo de CO₂, se hizo estequiometría, de la obtención de biomasa, utilizada de la siguiente manera:

$$\frac{1mgO_2}{L} \times \frac{1gO_2}{1000mgO_2} \times \frac{1molO_2}{16O_2} \times \frac{1molCO_2}{0,898 molO_2} \times \frac{44gCO_2}{1molCO_2} \times \frac{1000mgCO_2}{1gCO_2}$$

Para conocer el volumen de CO₂ que se extrae del medio ambiente, se hace una conversión utilizando la fórmula de los gases ideales, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$P.V = n.R.T \quad (2)$$

Donde la presión y la temperatura se consideran constantes, por lo que la expresión se compone de la siguiente manera:

$$V = n.R \quad (3)$$

Donde:

- R: 0,082 atm.L/mol.K
- N: número de moles, en este caso de los moles de CO₂

Para el caso del biorreactor I, se extrajo 58,99 mL de CO₂ por cada L de medio; mientras que para el biorreactor II, serían unos 53,93 mL de CO₂ por cada L de medio.

Tabla 3. Valores promedio de CO₂ consumidos y la biomasa generada en el bioreactor I.

Semanas	Promedio de CO₂ (mg/L.día)	Biomasa (mg/L.día)
1	19,94	669
2	19,17	602
3	16,35	532
4	16,11	485
5	19,35	558
6	17,19	781
7	14,55	696
8	15,34	631
9	15,12	676
10	13,80	611
11	14,88	711
12	14,42	797
General	16,35	646

Fuente: Elaboración propia (2021)

Tabla 4. Valores promedio de CO₂ consumidos y la biomasa generada en el bioreactor II.

Semanas	Promedio de CO₂ (mg/L.día)	Biomasa (mg/L.día)
1	11,49	625
2	9,66	625
3	10,88	738
4	20,37	460
5	15,82	370
6	16,65	491
7	18,32	429
8	16,43	432
General	14,95	521

Fuente: Elaboración propia (2021)

DISCUSIÓN

Se obtuvo en promedio 521,2 mg/L de biomasa por día, durante el tiempo de funcionamiento del biorreactor II. Cabe resaltar que estas estimaciones son teóricas, ya que no hubo manera de demostrar estos valores de forma empírica. Diariamente se extrajo alrededor de 14,95 mg/L de CO₂ del ambiente (o equivalente 53.93 mL de CO₂/L por día). Esto puede beneficiar a agroindustrias, ganadería o actividades urbanas, para disminuir la huella de carbono, ya que aparte del CO₂, las microalgas absorben nutrientes que se encuentran en los residuos producidos en las mismas. Contrastando con los estudios bibliográficos citados en la introducción, el valor de biomasa que resulta más similar a lo obtenido en este trabajo, fue el obtenido en el estudio de Matanguihan y otros, 2020. Mucha de la similitud se debe al rango de temperatura de entre 24°C y 34°C, rango de pH de entre siete (7) y nueve (9), el medio utilizado (es bastante similar, a diferencia de la proporción de potasio), iluminación totalmente natural y el funcionamiento del reactor durante un largo periodo de tiempo, en relación a los demás estudios. Para mejorar la producción de biomasa se podría optar por cambiar el medio de cultivo a BG11. Si bien el periodo de funcionamiento resulta un factor fundamental, lo ideal es que se trabaje cuatro (4) semanas, porque luego de este periodo, la productividad empieza a decaer al aumentar la turbidez. A nivel industrial se debe de considerar este punto para realizar la cosecha y la

renovación del medio. En cuanto a temperatura y luz, es primordial mantenerlos estables, esto a escala industrial resultaría difícil sin recurrir a medios mecánicos de agitación y control de temperatura. En un sistema bien controlado, como en el caso del biorreactor I, se comprueba que se obtiene una buena productividad de biomasa al ser un sistema de poco volumen, en el cual es fácil controlar la temperatura, la iluminación y la agitación. La agitación, en ambos casos, es influyente en la absorción del CO₂ y la disipación del O₂ al ambiente.

Se recomienda a escala piloto e industrial, en condiciones ambientales, trabajar con un sistema con mayor área de trabajo, para lograr captar más luz, lograr mejor captación de CO₂ y disipación de O₂, dado que disminuiría el uso de agitadores (costo energético). El control de la temperatura, sería, por tanto, un parámetro a investigar de acuerdo a la estación climática, régimen de lluvia, mapa de radiación solar, ubicación geográfica para ver la incidencia de estos en la producción de biomasa.

Se debería de analizar el perfil lipídico del microorganismo cultivado a escala industrial y determinar así, si resulta rentable la utilización de la biomasa para la producción de biodiesel, o si por otra parte, resulta rentable su utilización para la obtención de aceites esenciales para el consumo humano y/o animal.

AGRADECIMIENTOS

Está investigación fue posible realizar, de una forma más completa, gracias a que la Universidad del Cono Sur de las Américas, proveyó el sensor de Arduino de oxígeno disuelto, y también proveer el espacio en el laboratorio de química.

Agradecemos a la licenciada Melissa Dos Santos encargada del laboratorio de Hidrobiología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), por proveer la cepa utilizada.

Conflicto de interés: Ninguno.

Contribución de los autores: Norma Beatriz Ayala Alviso y Allan Matias Samaniego Bordón participaron en la concepción y diseño del trabajo, obtención y cultivo de la cepa, recolección y obtención de resultados, análisis e interpretación de datos, redacción del manuscrito. Mónica Emperatriz Casanueva Ojeda participó en el análisis e interpretación de datos, redacción del manuscrito, revisión crítica del manuscrito y aprobación de su versión final.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cohen, J. (1988). Statistical power analysis for the behavioral sciences. En J. Cohen, *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (pág. 567). Hillsdale: Erlbaum Associates.
- Kumoro, A. C., Hadiyanto, & Susanto, H. (2013). Impact of hazardous components on CO₂ biofixation from synthetic flue gas using *Chlorella* sp. JPR-1 in a raceway pond photobioreactor. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 563-568.
- Matanguihan, A. E., Demafelis, R. B., Martínez-Goss, M., Nacorda, J. O., Torreta, N. K., & Sanchez, D. E. (2020). Design, Fabrication, and Performance Evaluation of Open Raceway Ponds for the Cultivation of *Chlorella vulgaris* Beijerinck in the Philippines. *Philippine Journal of Science*, 383-392.

- Sanchez, A., González, A., Maceiras, R., Cancela, A., & Urrejola, S. (2011). Raceway pond design for microalgae culture for biodiesel. *Chemical Engineering Transactions*, 25, 845-850.
- Siham, D., Djamel, Z., Luveshan, R., Ismail, R., & Faizal, B. (2016). Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in outdoor open raceway pond using domestic wastewater as medium in arid desert region. *Bioresource Technology*, 749-752.
- WMO. (25 de noviembre de 2019). *WMO Greenhouse Gas Bulletin (GHG Bulletin) - No. 15: The State of Greenhouse Gases in the Atmosphere Based on Global Observations through 2018*. Obtenido de World meteorological organization: https://library.wmo.int/index.php?lvl=notice_display&id=21647#.Xw4D0ihKhPY
- Zarini, P. (2011). *Producción de biodiesel a partir de micro algas: una alternativa sustentable*. Buenos Aires: TESIS DE GRADO DE INGENIERIA INDUSTRIAL.
- Zou, G., Liu, Y., Zhang, Q., Zhou, T., Xiang, S., Gu, Z., Liu, M. (2020). Cultivation of *Chlorella vulgaris* in a Light-Receiving-Plate (LRP)-Enhanced Raceway Pond for Ammonium and Phosphorus Removal from Pretreated Pig Urine. *Energies*.