



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL A PARTIR DE ALGAS

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER POR EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA

Eduardo de la Cruz Ortíz



MÉXICO, D.F. MARZO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dr. Rodolfo Pastelín Palacios
VOCAL: Dr. José de Jesús García Trejo
SECRETARIO: Dra. Alejandra Castro González
1er. SUPLENTE: M. en B. Beatriz Ruiz Villafán
2do. SUPLENTE: QFB. Verónica Domínguez Valdez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Posgrado de la Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México

ASESORA DEL TEMA:

Dra. Alejandra Castro González

SUSTENTANTE

Eduardo de la Cruz Ortiz

Índice

Índice de figuras.....	IV
Índice de tablas.....	VI
Resumen.....	VII
Introducción.....	IX
Objetivos.....	XII

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Biocombustibles.....	1
1.2 Biodiésel.....	4
1.3 Algas y su composición química.....	8
1.4 Biodiésel de microalgas.....	16

Capítulo 2. Cultivo de microalgas

2.1 Técnicas de cultivo de microalgas.....	20
2.2 Comparación entre biorreactores tipo circuito a cielo abierto y fotobiorreactores tubulares.....	27
2.3 Producción de biomasa de microalgas.....	29
2.4 Conceptos ecológicos y nutrición de algas.....	31
2.5 Limitantes nutrimentales de la producción de algas.....	31

Capítulo 3. Procesamiento de las algas

3.1 Extracción de aceite de las microalgas.....	34
3.2 Procesamiento de aceite extraído a biodiésel de microalgas.....	35

Capítulo 4. Beneficios ambientales

4.1 Tierra de cultivo.....	39
4.2 Algas y aguas residuales.....	42
4.3 Algas y nutrimentos.....	43

4.3.1. Algas y CO ₂	43
4.3.2. Nitrógeno.....	48
4.3.3. Fósforo.....	50

Capítulo 5. Avances y retos en la producción de biodiésel de microalgas

5.1 Optimización de energía para la producción de biodiésel de microalgas.....	54
5.1.1 Análisis teórico previo.....	56
5.1.2 Optimización energética experimental de un fotobiorreactor de <i>Nannochloropsis salina</i>	59
5.2 Perspectiva de costos de producción de biodiésel a partir de microalgas.....	69
5.2.1 Estrategia de producción de biodiésel de microalgas basada en biorrefinerías.....	70
5.2.2 Mejoramiento de la biología de las microalgas.....	74
5.2.3 Diseño de fotobiorreactores avanzados.....	75
5.2.4 Selección de tecnologías que aumente la eficiencia en el cultivo y secado de la biomasa de microalgas.....	77

Capítulo 6. Conclusiones

Conclusiones.....	79
-------------------	----

Glosario.....	82
---------------	----

Referencias bibliográficas....	83
--------------------------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Comparativa entre precio de etanol contra gasolina común en Brasil.....	3
Figura 1.2	Proceso general de transesterificación.....	5
Figura 1.3	Esquema de producción a partir de la conversión de biomasa de microalgas.....	16
Figura 2.1	Tanques unidos por tubos.....	20
Figura 2.2	Esquema de circuito abierto.....	21
Figura 2.3	Circuito abierto.....	22
Figura 2.4	Esquema de un fotobiorreactor tubular compuesto por tubos horizontales paralelos.....	23
Figura 2.5	Fotobiorreactor tubular compuesto de tubos horizontales paralelos.....	23
Figura 2.6	Esquema de un fotobiorreactor tipo cerca.....	24
Figura 2.7	Fotobiorreactor tipo cerca.....	24
Figura 2.8	Fotobiorreactor helicoidal.....	25
Figura 2.9	Recuperación de biomasa de microalgas por medio de filtración.....	29
Figura 2.10	Biomasa de microalgas previo secado.....	30
Figura 3.1	Esquema de producción de biodiésel.....	36
Figura 4.1	Sistema conceptual de producción de biocombustibles, biomitigación de CO ₂ y remoción de N/P de aguas residuales.....	46
Figura 5.1	Nomograma para identificación de las proporciones mínimas de gas para cultivar, Q/V.....	60
Figura 5.2	Energía de burbujeado vs densidad de biomasa obtenida.....	64
Figura 5.3	Contenido de lípidos y energía neta obtenida vs concentración de nitrato en cultivo.....	67
Figura 5.4	Efecto del enriquecimiento de CO ₂ sobre el crecimiento de algas limitado de nitrógeno.....	68
Figura 5.5	Esquema simplificado de una refinería de biodiésel.....	71

Figura 5.6	Diagrama de flujo del potencial existente en la biomasa de microalgas.....	73
------------	--	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Algunas propiedades físico-químicas de biodiésel de primera generación, biodiésel de algas, diésel y el estándar para biodiésel europeo.....	7
Tabla 1.2	Clasificación de microalgas.....	13
Tabla 1.3	Composición bioquímica de algas en valores de peso seco.....	15
Tabla 1.4	Biocombustibles proveniente de algas.....	17
Tabla 2.1	Comparativa entre fotobiorreactores vs. Circuito a cielo abierto.....	28
Tabla 3.1	Comparativa entre procesos de obtención de biodiésel a partir de diferentes materias primas.....	38
Tabla 4.1	Comparativa entre fuentes de aceite para biodiésel.....	39
Tabla 4.2	Comparativa entre microalgas de potencial uso en procesos de biomitigación de CO ₂	47
Tabla 5.1	Determinación experimental del cambio de distintas variables respecto al gasto energético.....	61
Tabla 5.2	Q/V requerido para mezclado vs. Q/V requerido para suministro de CO ₂ en prueba A y B.....	63
Tabla 5.3	Producción de lípidos con respecto a nitrato.....	66
Tabla 5.4	Algunos productos obtenidos de microalgas.....	74

RESUMEN

Este trabajo presenta un análisis general sobre los procesos y técnicas necesarios para la obtención de biodiésel a partir de las microalgas y del potencial que estas tienen para poder sustituir de forma sustancial el uso de combustibles procedentes de fuentes energéticas fósiles. En la actualidad el uso de combustibles fósiles presenta, entre varias problemáticas, la variación constante de los precios del petróleo crudo, la constante disminución de las reservas del mismo y la elevada liberación de contaminantes de efecto invernadero a la atmósfera. A partir de la revisión de diferentes fuentes, se encontró que en la actualidad existe un auge en la investigación de diferentes fuentes de aceite con el fin de optimizar y maximizar tanto la producción de biodiésel como las ganancias obtenidas de ellas, así como el minimizar los costos de producción y el área de los terrenos necesarios para el cultivo de las fuentes de aceite. Se ha observado que si bien se pueden llegar a obtener poco menos de 6000 L de aceite por cada hectárea de cultivo, el porcentaje del área de cultivo necesaria solamente para poder satisfacer la mitad de los requerimientos energéticos de Estados Unidos sería del 24% del total de las tierras cultivables de ese país. Sin embargo, diversos análisis llevados a cabo a partir de pruebas piloto han llegado a sugerir que en caso de microalgas cuya concentración de aceites esterificables sea el 50% de su peso, estas pueden llegar a tener un rendimiento teórico de poco menos de 58,000 L de aceite por hectárea de cultivo, utilizando de esta manera solamente el 2.5% de la tierra cultivable existente de Estados Unidos con el fin de satisfacer la mitad de los requerimientos energéticos de dicho país. Otra de las ventajas potenciales observadas es el hecho de que el uso de las microalgas nos permite también poder llevar a cabo procesos de biorremediación ambiental, ya que se ha observado que estos microorganismos pueden ser utilizados con el fin de eliminar contaminantes tales como N, P y CO₂ de aguas contaminadas en exceso. Considerando ciertos factores de la capacidad energética de las microalgas con respecto al petróleo, se han hecho estimaciones que el costo de un litro de aceite

procedente de microalgas debe de ser de US\$0.41 en el caso de que el costo del petróleo fuera de US\$60/barril, con el fin de que pudiese resultar un sustituto económicamente viable. Esto ha llevado a que se realicen estudios con el fin de abatir los costos de producción, como el proponer que el biodiésel se produzca en biorrefinerías, en donde se estima que al producir 1 billón de galones de biodiésel se pueden obtener y refinar aproximadamente 400,000 toneladas de glicerol, cuyo costo es de aproximadamente US\$0.30/lb; manipular genéticamente a las microalgas, como en el caso observado del incremento en la producción de triglicéridos a partir de la sobreexpresión de enzimas, que puede aumentar la cantidad de aceite obtenido a más de 58,000 L/Ha de cultivo; mejorar la tecnología asociada con los fotobiorreactores, ya que se ha observado que se puede llegar a producir 172 m³/ha de aceite de microalgas utilizando iluminación artificial, comparado con los 100 m³/ha que se llegan a obtener con iluminación natural; así como eficientar la cosecha y secado de microalgas, en donde se ha llegado a observar que la centrifugación de los cultivos a 500-1000xg por 5 minutos permiten obtener un 90% de las microalgas separadas de la fase acuosa.

Introducción

La creciente necesidad de encontrar combustibles alternativos que puedan ayudar a disminuir, y eventualmente sustituir el uso de combustibles fósiles ha derivado en el desarrollo de combustibles a partir de fuentes renovables. Estos combustibles se desean que generen una menor cantidad de contaminantes al ambiente. Se sabe que conforme la densidad poblacional mundial aumenta, también aumenta de forma proporcional la cantidad de combustibles y derivados de hidrocarburos fósiles necesarios para cubrir las necesidades de la gente.

Uno de las alternativas que se han ido desarrollando en los últimos tiempos, a pesar de que esta técnica ya era conocida con anterioridad, es el uso de biodiésel como combustible para su uso en motores de combustión interna. Esto se debe a que el biodiésel puede ser utilizado directamente en los motores sin tener que realizar un cambio sustancial en estos para que pueda funcionar, además de que para su fabricación no es necesario llevar a cabo procesos altamente complejos que pudiesen hacer imposible de costear su fabricación.

La fabricación de biodiésel solamente utiliza una fuente de ésteres (aceite) y un receptor de los ésteres (alcohol), todo esto en presencia de un catalizador para poder llevar a cabo la reacción de una manera más rápida y eficiente. El proceso, aunque sencillo, tiene la desventaja que para que pueda ser rentable desde el punto de vista de que para sustituir los combustibles fósiles a biodiésel sería necesaria una gran extensión de tierras con cultivos dedicados exclusivamente a la extracción de aceite, lo cual visto desde el punto de vista tanto económico como alimentario es imposible.

En los Estados Unidos durante el 2006, el costo del diésel proveniente del petróleo fluctuó entre US\$0.66/L y US\$0.70/L, estos precios incluían impuestos (20%), costo del petróleo crudo (52%), refinación (19%), distribución un mercadeo (9%). Si a estos precios se les descontara los costos de los impuestos y distribución, el precio promedio del diésel en Estados Unidos hubiera sido de US\$0.49, en donde el 73% del costo hubiera sido contribuido por el costo del crudo, mientras que el 27% restante del costo hubiera sido la refinación (Chisti, 2007).

En el caso del biodiésel obtenido de aceite de palma, este fue de US\$0.66, lo que fue un 35% mayor que el costo del diésel procedente del petróleo. Esto sirve como ejemplo para observar una de las razones por las cuales en la actualidad no es muy rentable la producción de biodiésel a partir de plantas para su uso extendido, ya que este producto tiene costos mayores con respecto a lo que se puede obtener a partir de combustibles fósiles, sumado al hecho de que para poder obtener las cantidades de aceite necesarios para poder obtener lo que requiere la demanda es necesario utilizar grandes cantidades de tierra que incluso pueden llevar a superar la cantidad de tierra cultivable (Chisti, 2007).

Ese impedimento ha llevado a buscar alternativas para la obtención del aceite, siendo el cultivo de microalgas una de las alternativas más prometedoras debido a que se ha observado que las algas no necesitan una gran cantidad de tierra para desarrollarse, además de que su tasa de replicación hace que puedan ser cultivadas más rápidamente de lo que se puede hacer con las plantas, obteniendo una mayor cantidad de aceite esterificable en menor tiempo.

Sin embargo y a pesar de lo prometedor que suena el hecho de que se pueda sustituir los combustibles por biodiésel de algas, las investigaciones que se han estado llevando a cabo sobre este tema han buscado la forma de optimizar tanto el cultivo de las microalgas como el rendimiento de aceite obtenido de las mismas con el fin de obtener biodiésel de ellas.

Rajvanshi y Sharma (2012) mencionan que las microalgas en general pueden ser una excelente materia prima para biodiésel, desde el punto de vista del contenido de aceite que se puede obtener de ellas, así como de la cantidad de tierra que utilizan. La cantidad de biodiésel que se llega a obtener de ellas las hace ser un excelente candidato para convertirse en la materia prima de elección para la producción de biodiésel en el futuro, siempre y cuando se puedan superar las barreras impuestas por los costos de producción y transformación.

Rajvanshi y Sharma (2012) mencionan que incluso las microalgas cuyo contenido en peso de aceite se considera bajo (30%), en condiciones ideales puede llegar a producir cantidades muy superiores de aceite en un año (58,700 L de aceite/ha)

en comparación a la cantidad de aceite que se puede obtener de la palma (5,366 L de aceite/ha). Esto debido a que la velocidad a la que las microalgas se reproduce es mayor a la velocidad en la que se obtiene la cantidad de cultivos vegetales a partir de los cuales se obtenga la misma cantidad de aceite para su procesamiento. Todo esto en un área menor de lo que se requiere con los vegetales, llegando a obtener una mayor productividad en la producción de biodiésel con microalgas de bajo contenido de aceite (61,091 L de biodiésel/ha/año). Que con la mayoría de las fuentes vegetales de aceite que han sido estudiadas con fin de producción de biodiésel en la actualidad (por ejemplo, el biodiésel de palma que tiene una productividad de 5,585 L de biodiésel/ha/año).

En lo que respecta a México, en la actualidad no existen una gran cantidad de proyectos en donde se esté buscando la optimización y obtención de aceite de microalgas para la obtención de biodiésel (Gómez-Villa y col., 2005), por lo que se busca que con este trabajo se pueda contribuir a la difusión tanto del conocimiento como del estudio e investigación en esta área que presenta un gran potencial para su aplicación con el fin de poder mejorar el entorno.

Objetivos

Objetivo general:

Investigar los avances sobre la producción de biodiésel a partir de microalgas realizando una revisión bibliográfica en México y en el Mundo.

Los objetivos particulares que han sido planteados para el presente trabajo son los siguientes:

- ❖ Mostrar un panorama general de los biocombustibles que existen en la actualidad.
- ❖ Conocer las condiciones generales para la producción de biodiésel, así como las diferencias que existen entre el biodiésel proveniente de microalgas y el proveniente de aceites convencionales.
- ❖ Diferenciar entre las principales técnicas existentes de cultivo y procesamiento de las microalgas para la obtención de biomasa y de aceite para su posterior conversión a biodiésel.
- ❖ Mostrar los beneficios ambientales que se pueden obtener a partir del cultivo de las microalgas para la producción de biodiésel.

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Biocombustibles

Debido a las preocupaciones existentes en la actualidad respecto a la seguridad energética, el cambio climático y el incremento en los precios de los derivados del petróleo, han conducido a la comunidad científica hacia la investigación y el desarrollo de fuentes energéticas alternativas con el fin de poder romper la dependencia existente hacia los combustibles derivados del petróleo (Searchinger y col., 2008).

Esto ha llevado a que los biocombustibles estén siendo promovidos como alternativas para reducir la dependencia a combustibles fósiles, lo que ha llevado a que en estos momentos exista un interés particular en obtenerlos a partir de recursos renovables tales como plantas fotosintéticas con el fin de extraer de ellas sus lípidos que pueden ser convertidos en biodiésel a partir de una simple reacción de transesterificación (Chisti, 2007; Groom y col., 2008; Sheehan y col., 1998).

El término biodiésel engloba a un diverso intervalo de tecnologías que pueden generar combustibles a partir de sistemas biológicos, los cuales en su mayoría comienzan a partir de plantas terrestres hasta convertirse en combustibles tales como el etanol (Hannon y col., 2010).

El problema que se presenta a partir del consumo de biocombustibles a partir de la biomasa es que estos presentan un impacto ambiental semejante a la combustión de combustibles fósiles en términos del impacto generado al ciclo del carbono, por ejemplo, en la conversión del carbono fijado en las estructuras que componen a la biomasa en CO₂. Esto se suma al hecho de la reducción en la cantidad de ciertas fuentes de biomasa (como la madera) sin ser compensado de forma correcta, lo cual puede llevar a la aparición de problemas ambientales, así como la pérdida masiva de fuentes de biomasa (Li y col., 2008).

Existe una gran variedad de maneras de clasificación de biocombustibles que han sido realizadas con el fin de agruparlos de una manera sencilla, esto con el fin de

realizar los estudios correspondientes para su posible implementación a nivel industrial. La forma en que son clasificados los biocombustibles se encuentra basado en la fuente de la cual se puede obtener el carbono del cual el biocombustible es derivado, lo cual da a lugar a la existencia de 3 generaciones de biocombustibles (Patil y col., 2008).

- **Biocombustibles de primera generación:** Son aquellos en donde la fuente de carbono del biocombustible proviene de carbohidratos, lípidos o almidones de plantas. Cabe mencionar que el problema que presenta esta generación de biocombustibles es precisamente que puede llegar a competir con los cultivos asignados en la actualidad para la alimentación.
- **Biocombustibles de segunda generación:** La fuente de carbono es procedente de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina. Ejemplo de este tipo de fuentes de carbono son residuos procedentes de procesos de agricultura y forestales.
- **Biocombustibles de tercera generación:** La fuente de carbono es obtenida a partir de un organismo autótrofo acuático, como las algas. Cabe mencionar que en este caso la luz, CO₂ y distintos nutrientes son utilizados por estos organismos con el fin de poderse multiplicar, y así de paso que puedan ser procesados para la obtención de biocombustibles.

A pesar de que existen varios tipos de biocombustibles disponibles para poder ser utilizados en motores de transportes, en la actualidad se utilizan principalmente 2 de ellos: etanol y biodiésel. El etanol utilizado como biocombustible es un producto obtenido a partir de la fermentación de carbohidratos, a partir de procesos semejantes a los que se llevan a cabo para la obtención de etanol para consumo humano. Sin embargo, a diferencia del etanol utilizado para consumo humano, el etanol utilizado como biocombustible se le realizan algunas modificaciones extras con el fin de que este no pueda ser consumido por la gente.

Generalmente este biocombustible es utilizado mezclado con la gasolina común con el fin de aumentar su octanaje, lo que le sirve también para disminuir las

emisiones de CO y otros contaminantes asociados con la contaminación ambiental.

El caso más emblemático del uso de etanol como un biocombustible es el que se lleva a cabo en Brasil (Hannon y col., 2010), en donde se lleva a cabo el uso extensivo de etanol proveniente de la caña de azúcar como un combustible para automóviles (Figura 1.1). Siendo este biocombustible sensiblemente más económico a comparación de los precios de la gasolina común.



Figura 1.1 Comparativa entre precio de etanol contra gasolina común en Brasil.
(MARROTURISMO, 2014)

En el caso del biodiésel, este es producido a partir de una reacción química que se lleva a cabo entre un alcohol con los triglicéridos contenidos en los aceites (vegetales y animales). Este biocombustible tiene como ventaja el ser biodegradable y que, además, una vez purificado, puede ser utilizado como fertilizante.

Uno de los proyectos que se han desarrollado en tiempos recientes es producir combustibles a partir de cultivos tales como el maíz y la soya. Sin embargo, debido al aumento de la demanda de estos cultivos con el fin de obtener aceites para convertirlos a combustibles, sus precios han alcanzado sus máximos históricos en el mercado global.

Esto a su vez ha llevado al incremento del precio de los alimentos derivados de ellos, así como del precio de la carne de los animales que son alimentados comúnmente con este tipo de cultivos. Se ha observado que, aunque se utilizaran en su totalidad todos los aceites que se pudieran obtener a partir de todos los cultivos que los generan, sería imposible simplemente a cubrir la demanda de 44 billones de galones de diésel que requiere anualmente Estados Unidos por sí solo (Pienkos, 2009).

1.2 Biodiésel

Una de las principales características que le brindan una particular importancia al biodiésel es el hecho de que tiene un desempeño semejante al diésel obtenido de petróleo, con las ventajas de que generan una menor cantidad de partículas suspendidas, CO, hidrocarburos y óxidos de azufre con respecto al diésel convencional de petróleo (Graboski y McCormick, 1994). Sin embargo, la cantidad de óxidos de nitrógeno generados por el biodiésel se ha observado que son mayores en la mayoría de los motores existentes en la actualidad. Otros beneficios del biodiésel están en el hecho de que son altamente biodegradables y que aparentemente disminuyen las emisiones de compuestos tóxicos y potencialmente carcinogénicos a la atmósfera (Um y Kim, 2009).

La producción de biodiésel se lleva a cabo al reaccionar grasas o aceites con un alcohol (generalmente metanol o etanol) en la presencia de un catalizador (pudiendo ser ácido o alcalino). El producto obtenido de la reacción es principalmente una mezcla de metil-ésteres conocido comúnmente como biodiésel y glicerol.

A partir de la representación de esta reacción, se puede observar que se requieren 3 moles de alcohol por cada mol de triglicérido para producir 1 mol de glicerina por cada 3 moles de metil ésteres (Figura 1.2). En procesos industriales, la relación que se utiliza de metanol como alcohol de elección con respecto a los triglicéridos es de 6:1 moles, garantizando de esta manera que la reacción se dirija completamente a la formación de biodiésel, dando rendimientos que exceden un el 98% de la reacción (Fukuda y col., 2001).

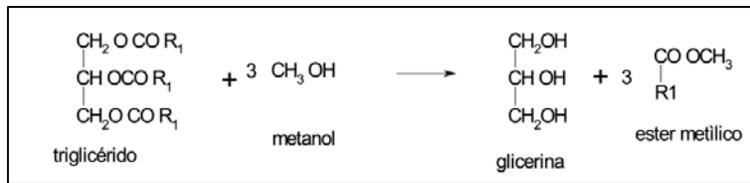


Figura 1.2 Proceso general de transesterificación (elaboración a partir de Um y Kim, 2009)

El tipo de catalizador utilizado también es un factor importante que se toma en cuenta para llevar a cabo una conversión con alto rendimiento del aceite a biodiésel. Generalmente los catalizadores básicos son los más utilizados en estos procesos debido a su bajo costo y a que las condiciones para que se lleve a cabo la reacción son relativamente ligeras. Se ha demostrado que las transesterificaciones catalizadas por álcalis pueden llegar a ser hasta 4,000 veces más rápidas que las catalizadas por ácidas (Fukuda y col., 2001), siendo los hidróxidos de potasio y sodio lo más utilizados para llevar a cabo el proceso en concentraciones que suelen ser del 1% del peso del aceite. Otra de las grandes ventajas que tiene el proceso básico es que la transesterificación se puede llevar a cabo en 90 minutos aproximadamente a 60°C, en condiciones atmosféricas normales. Se debe de considerar que para disminuir las pérdidas de rendimiento debido a saponificación, tanto el alcohol como el aceite utilizado deben de encontrarse libres de humedad, así como tener lo menos posible de ácidos grasos libres (Chisti, 2007).

Sin embargo, en el caso de que el aceite utilizado posea una gran concentración de ácidos grasos libres, el proceso mediado por catalizadores básicos tiene la desventaja que da a lugar que se lleve a cabo reacciones de saponificación en vez de transesterificación, consumiendo así el catalizador y convirtiéndolo en jabón (ASTM, 2002; Herrera-Restrepo y Vélez, 2008). En los casos de que el aceite utilizado sea uno que posea una gran cantidad de ácidos grasos libres se ha observado que el uso de catalizadores ácidos resulta ser beneficioso con el fin de llevar a cabo un pretratamiento del aceite. Sin embargo, este proceso ha mostrado dar tasas menores de conversión de los aceites a los metil-ésteres. Se sabe

también que las enzimas han mostrado tener una gran tolerancia hacia los ácidos grasos libres, sin embargo, estas tienen la desventaja de ser muy caras y que el grado de conversión obtenido de ellas no cumple con las especificaciones de ASTM (Coyle, 2007; Wu y col., 1999).

El tamaño y propiedades fisicoquímicas de las cadenas de los ésteres metílicos que se formen son las que determinan las propiedades físicas del biodiésel producido, tales como el número de cetano, el flujo en frío y la estabilidad a la oxidación. (ASTM, 2002)

Como se puede observar en la Tabla 1.1, las propiedades fisicoquímicas que posee el biodiésel lo hacen ser un posible sustituto de combustibles fósiles tales como el diésel proveniente de energéticos fósiles tales como el petróleo. Es importante notar el hecho de que el biodiésel de algas tiene la ventaja sobre el biodiésel obtenido de cultivos en el hecho de que es completamente renovable y sustentable (Brennan y Owande, 2011). Esto quiere decir que no debe de generar demasiada preocupación el hecho de que el consumo del biodiésel comience a elevarse, ya que que en teoría el cultivo y cosecha de las microalgas no afecta de manera sustancial a otro tipo de necesidades humanas, tales como los cultivos dedicados a la alimentación. Además, el espacio físico requerido para llevar a cabo los procesos de cultivo y conversión resultan ser de menor tamaño que el requerido para llevar a cabo un proceso semejante utilizando plantas con un rendimiento teórico semejante en la cantidad de aceite y biodiésel obtenidos con microalgas.

También es de notar que el biodiésel de algas tiene ciertas ventajas con respecto al diésel tradicional desde el punto de vista que el biodiésel de algas es relativamente neutro con respecto a las emisiones de carbono hacia la atmósfera (Brennan y Owande, 2011), además de producir menores cantidades de monóxido de carbono particulado, hollín y óxidos de azufre, lo cual resulta beneficioso al medio ambiente. Comparado con el biodiésel de primera generación (que es el procedente del aceite obtenido de la biomasa) es que tiene un punto de congelación relativamente bajo así como una relativa alta densidad energética, lo

que puede ser aprovechado incluso en la industria de la aviación como un biocombustible de elección a comparación de los utilizados actualmente basados en el petróleo.

Tabla 1.1 Algunas propiedades físico-químicas de biodiésel de primera generación, biodiésel de algas, diésel y el estándar para biodiésel europeo (Brennan y Owende, 2011)

Propiedad del combustible	Biodiésel de primera generación	Biodiésel de algas	Diésel	Estándar 14214 para biodiésel
Poder calorífico (MJ kg⁻¹)	31.8-42.3	41	45.9	-
Viscosidad cinemática (mm² s⁻¹)	3.6-9.48	5.2	1.2-3.5	3.5-5.2
Densidad (kg L⁻¹)	0.86-0.895	0.864	0.83-0.84	0.86-0.90
Carbono (% en peso)	77	-	87	-
Hidrógeno (% en peso)	12	-	13	-
Oxígeno (% en peso)	11	-	0	-
Azufre (% en peso)	0.0-0.0015	-	Máximo 0.05	<10
Punto de ebullición (°C)	315-350	-	18-340	-
Punto de inflamación (°C)	100-170	115	60-80	>101
Punto de neblina (°C)	-3 a 12	-	-15 a 5	-
Punto de escurrimiento (°C)	-15 a 10	-12	-35 a 15	-
Número de cetano	45-65	-	51	>51

1.3 Algas y su composición química

Las algas son organismos eucariontes, o procariontes como en el caso de las cianobacterias. Esto quiere decir que en el caso de las algas eucariontes, son células que están compuestas por núcleo y organelos. Entre todos los organelos que poseen, los plastos son de particular importancia debido a que estos contienen la clorofila que llevan a cabo la fotosíntesis con la cual obtienen la energía necesaria para llevar a cabo todas sus funciones (Benemann y col., 1978 b). Estos microorganismos son organismos fotosintéticos que pueden generar una gran cantidad de biomasa a partir principalmente de energía solar, CO₂ y los nutrientes presentes en los cuerpos de agua en donde se encuentren desarrollándose. La biomasa generada se compone principalmente de metabolitos primarios de estos microorganismos, como son carbohidratos, aceites y lípidos (Pratt, 1992), los cuales pueden ser aprovechados con el fin de obtener productos de alto valor agregado, ya sea en la industria alimentaria, de combustibles, de químicos industriales e incluso fármacos.

Cabe mencionar que no deben de confundirse con las cianobacterias, que si bien también producen oxígeno a partir de la fotosíntesis, son bacterias, y por lo tanto son completamente diferentes a nivel evolutivo de las algas. Cabe mencionar también que si bien la mayoría de las algas son microscópicas, existen algunas algas macroscópicas que pueden llegar a medir hasta 60 m de longitud, tal y como sucede con las laminarias (Madigan y col., 2004).

Estos microorganismos son de vida acuática, lo que quiere decir que para que puedan proliferar y multiplicarse es necesario que se encuentren suspendidas en agua, y que esta contenga los nutrientes necesarios para que puedan llevar a cabo sus funciones metabólicas. Las algas engloban a las macroalgas y a las microalgas (Rajvanshi y Sharma, 2012).

El término macroalga se refiere a las algas que son macroscópicas, multicelulares y de vida marina o en agua dulce. Estas se caracterizan por un desarrollo rápido y por alcanzar tamaños de hasta 60 m de longitud. En la actualidad su cultivo se

centra principalmente en la industria alimenticia y en la obtención de hidrocoloides, tales como el agar (Madigan y col., 2004).

El término microalga se refiere a las algas cuyo tamaño es microscópico (2 a 200 μm), pudiendo presentarse como organismos unicelulares libres, o en agregados coloniales filamentosos. Parte de la importancia que tienen estos microorganismos reside en el hecho que debido a la gran diversidad que poseen, y debido a que llevan a cabo el proceso de fotosíntesis, llevan a cabo la producción de aproximadamente la mitad del oxígeno del planeta, utilizando como sustrato el CO_2 atmosférico. Se sabe que estos microorganismos tienen entre sus metabolitos a una gran variedad de carotenoides, antioxidantes, ácidos grasos, enzimas, polímeros, péptidos, toxinas y esteroides (Madigan y col., 2004).

El término metabolito está referido a los productos intermedios del metabolismo. Un metabolito primario es uno que se encuentra directamente involucrado en el crecimiento, desarrollo y reproducción de un organismo, mientras que uno secundario es uno que no se encuentra involucrado en alguno de esos procesos, pero que muchas veces tiene una función ecológica de mucha importancia. Los metabolitos secundarios generalmente se encuentran ligados a eventos ambientales en los cuales el organismo necesita presentar alguna característica que le permita poseer ventajas competitivas sobre otros organismos presentes en el medio en el que se encuentra (Dos-Santos y col., 2005).

Se sabe que las microalgas son una fuente importante en la producción de metabolitos bioactivos de importancia, particularmente agentes citotóxicos que poseen aplicaciones en las quimioterapias contra el cáncer. El caso de las cianobacterias es característico, debido a que estos microorganismos producen una amplia variedad de compuestos bioactivos, que incluyen un 40% de lipopéptidos, 5.6% de aminoácidos, 4.2% de ácidos grasos, 4.2% de macrolidos y 9% de amidas. Se ha observado que de los lipopéptidos que producen las cianobacterias, 41% posee actividad citotóxica, 13% posee actividad antitumoral, 4% posee actividad antiviral, 12% posee actividad antibiótica, y el 18% restante posee actividades contra la malaria, antimicóticas, herbicidas, inmunosupresoras,

entre otras (Burja y col., 2001), además de que se ha observado que ayudan a disminuir los niveles de colesterol en los animales y en los humanos (Iwata y col., 1990).

Las microalgas poseen ácidos grasos esenciales tales como el linoleico, araquidónico, linolénico, etc, los cuales son completamente necesarios en la dieta con el fin de poder tener un desarrollo balanceado. Desafortunadamente, el humano no puede sintetizar estos ácidos grasos al ritmo que el organismo necesita (Valeem y Shameel, 2005), por lo que se ha llegado a sugerir que las microalgas pueden suplir esa carencia de los ácidos grasos esenciales.

Se ha observado que las microalgas producen como metabolito a los ácidos grasos poliinsaturados, los cuales juegan roles centrales en el metabolismo celular y de los tejidos, incluyendo la regulación de la fluidez de las membranas celulares, el transporte de oxígeno y de electrones, así como permiten que exista una mejor adaptación térmica en las células (Funk, 2001). En el caso de los humanos, se ha observado que el consumo de estos ácidos grasos provenientes de las algas pueden reducir el riesgo a enfermedades coronarias, lo cual ha llevado a la comercialización de cápsulas con preparaciones de microalgas tales como *Spirulina* y *Chlorella* con el fin de ayudar en los tratamientos de hipercolesterolemia, hiperlipidemia y la arterosclerosis (Eussen y col., 2010). Se sabe que el contenido de estos ácidos grasos se encuentra influenciado por las condiciones ambientales y de cultivo de las algas (Petkov y García, 2007).

Se ha observado también que las microalgas poseen también la capacidad para generar carotenoides. La astaxantina es un pigmento carotenoide que le brinda a una gran variedad de organismos acuáticos (tales como a los salmones y los camarones) el color rojo que poseen y el cual requieren para su venta. Este pigmento no puede ser sintetizado por los organismos, por lo que es necesario el poder consumirlo en la dieta, lo cual repercute en los costos asociados a la producción (Mazhar y col., 2006). Se ha observado que el alga *Haematococcus pluvialis* produce este metabolito, por lo cual se ha convertido en un

microorganismo de interés para las industrias biotecnológicas con el fin de mejorar su producción (Sommer y col., 1992).

Actualmente existe un gran interés en encontrar antioxidantes naturales que sean seguros y efectivos, con el fin de sustituir a los antioxidantes sintéticos que se utilizan en la actualidad. Las microalgas se han convertido en candidatos potenciales para ser las fuentes de este tipo de moléculas, debido a que poseen diversos sistemas de antioxidantes con el fin de proteger a las células de los daños generados por las altas concentraciones de peróxidos y superóxidos (Abd-El-Baky y col., 2004). Los principales componentes celulares que son susceptibles a ser dañados por acción de peróxidos y superóxidos son los lípidos (por acción de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados en las membranas), las proteínas (por la desnaturalización), así como los carbohidratos y los ácidos nucleicos.

La acción antimicrobiana de las microalgas se le atribuye a que estas producen compuestos que pertenecen a diversas clases, entre las que se encuentran los indoles, los terpenos, fenoles, ácidos grasos e hidrocarburos halogenados (Mayer y Hamann, 2005). Se ha observado, por ejemplo, que la acción antimicrobiana de la microalga *Chaetoceros muelleri* se encuentra relacionada a la composición de sus lípidos (Mendiola y col., 2007).

En la actualidad las microalgas son comercializadas como alimentos en diversas presentaciones, tales como tabletas, capsulas y líquidos. También se comercializan incorporadas a las pastas, golosinas y bebidas (Liang y col., 2004; Yamaguchi, 1997). Debido a lo diverso de su composición, estas pueden funcionar como suplementos, o representar una fuente natural de colorantes para los alimentos. Este tipo de aplicaciones en la industria alimenticia se encuentran dominadas por cuatro especies de microalgas: *Arthrospira*, *Chlorella*, *Dunaliella salina* y *Aphanizomenon flosaquae*. Se sabe que la *Arthrospira* es una excelente fuente de proteínas, además de poseer un excelente valor nutritivo (Rangel-Yagui y col., 2004; Soletto y col., 2005). Esta microalga se ha observado que brinda varios efectos a la salud, tales como aliviar la hiperlipidemia, suprimir la

hipertensión, protección contra daños renales, promover el crecimiento de *Lactobacillus* en el intestino y disminuir los niveles de glucosa sérica (Liang y col., 2004; Yamaguchi, 1997).

Es de notar que si bien la mayor parte de las investigaciones con respecto a la obtención de aceites para su posterior refinación son llevadas a cabo en microalgas debido a su facilidad de manejo. En la actualidad se han comenzado a llevar a cabo investigaciones con el fin de poder convertir la biomasa de las macroalgas en fuentes energéticas alternativas (Rajvanshi y Sharma, 2012).

Las microalgas principalmente son consideradas como buenos candidatos potenciales a ser productores de bioenergéticos debido a que presentan algunos atributos que las hacen sobresalir de las plantas como productores de materia prima para la producción de bioenergéticos tales como el biodiésel debido a varios factores entre los que sobresalen los siguientes (Burlew, 1953; Choe y Yung, 2002; Li y col., 2008 b; Sheehan y col., 1998):

- Poseen una estructura celular sencilla.
- Pueden estar compuestas hasta en un 40% de lípidos.
- Poseen una rápida tasa reproductiva.
- Pueden llegar a tener eficiencias fotosintéticas de más del 10%, mientras que las plantas terrestres comunes convierten apenas 0.5% de energía en biomasa.
- Se sabe que pueden proliferar en agua salada, así como en condiciones adversas.
- Las algas pueden desarrollarse utilizando el dióxido de carbono residual de plantas eléctricas de gas y de carbón.
- El biocombustible obtenido no contiene derivados azufrados, así como no es tóxico y es altamente biodegradable.
- El cultivo de microalgas puede ser potencialmente más eficiente visto desde los costos que el cultivo de plantas convencionales.

La calidad y cantidad de lípidos que un alga produce varían con respecto a las especies de algas que presentes en el agua y de las condiciones del sitio en las que se desarrollan, ya que resultan ser un reflejo de los requerimientos lipídicos por parte de las algas que se llevan a cabo debido a las condiciones nutrimentales del entorno en el que se encuentran. (Roessler, 1990).

En la Tabla 1.2 se observa la clasificación que se tiene de las microalgas, está realizada a partir de los pigmentos que producen, su ciclo de vida y la estructura celular que poseen.

Tabla 1.2 Clasificación de microalgas (elaboración a partir de Rajvanshi y Sharma, 2012)

Grupo	Nombre de la microalga	Especies conocidas	Reservorio de energía	Hábitat
1	Diatomea (<i>Bacillariophyceae</i>)	100,000	Crisolaminarina (un polímero de glucosa) y triglicéridos	Oceanos, agua salina y agua dulce
2	Algas verdes (<i>Chlorophyceae</i>)	8,000	Almidón y triglicéridos	Agua dulce
3	Algas verde-azules (<i>Cyanophyceae</i>)	2,000	Almidón y triglicéridos	Hábitats variados
4	Algas doradas (<i>Chrysophyceae</i>)	1,000	Triglicéridos y carbohidratos	Agua dulce

Debido a estudios realizados hace algunas décadas, se sabe que el contenido de lípidos en las algas es sensible a las limitaciones nutricionales en condiciones de luz y temperaturas moderadas (Sheehan y col., 1998). Esto se puede observar de mejor manera con las células a las cuales se les limita el nitrógeno, ya que este elemento es indispensable para el desarrollo celular. Se ha observado que estas células pueden tener hasta 4 veces más lípidos que las células a las cuales se les suministra nitrógeno de forma adecuada (Alonso y col., 2000; Borowitzka, 1988;

Griffiths y Harrison, 2009; Sheehan y col., 1998; Yamaberi y col., 1998). Por lo que el maximizado de la producción de lípidos con el fin de obtener suficiente para la producción de aceites esterificables estaría de la mano de la capacidad de los operadores de los biorreactores de inducir limitantes a la cantidad de nitrógeno que estaría suministrando a las células sin llegar a matarlas.

También se ha observado que el desarrollo de las microalgas puede controlarse por medio de la regulación de la relación de nitrógeno y fósforo (N:P) que se le suministran a las células (Rhee, 1978). La limitación por nitrógeno se observa cuando la relación obtenida se encuentra por debajo de la óptima, mientras que la limitación por fósforo se observa cuando la relación obtenida se encuentra por encima de la óptima. Una especie de cambio entre las limitaciones de nitrógeno y fósforo se observa cuando las relaciones entre cada uno de estos elementos son de 20:1 a 50:1 moles (Geider y LaRoche, 2002; Guildford y Hecky, 2000). Esto es de particular importancia debido a que se ha observado que hay muchas algas que pueden producir hasta 3 veces una mayor cantidad de lípidos celulares en condiciones de nitrógeno limitado a comparación de las condiciones de fósforo limitado (Richardson y col., 1969).

La biomasa obtenida a partir de las algas tiene 3 componentes principales: proteínas, carbohidratos y aceites naturales procedentes de los lípidos. A pesar de que la cantidad de estos últimos varían dependiendo del tipo de alga, existen algunos cuya composición puede ser hasta un 40% de su peso (como en el caso de *Scenedesmus dimorphus* y de *Prymnesium parvum*) (Becker, 1994)(Tabla 1.3).

Cabe mencionar que a pesar del interés de obtener aceites a partir de las algas no es nuevo, el hecho de que ahora las investigaciones estén centradas en obtener aceite con el fin de convertirlo en biodiésel ha abierto un campo importante en la investigación con microalgas (Burlew, 1953; Neenan y col., 1986).

Tabla 1.3 Composición bioquímica de algas en valores de peso seco (Um y Kim, 2009)

Cepa	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Ácidos nucleicos
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-39	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-53	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4.5
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	-

Existen varios métodos con los cuales se busca convertir la biomasa de microalgas en biocombustibles, los cuales pueden ser clasificados en diferentes categorías: Conversión bioquímica, reacción química, combustión directa y conversión termoquímica (Dermibas, 2001; McKendry, 2002; Tsukahara y Sawayama, 2005) (Figura 1.3).

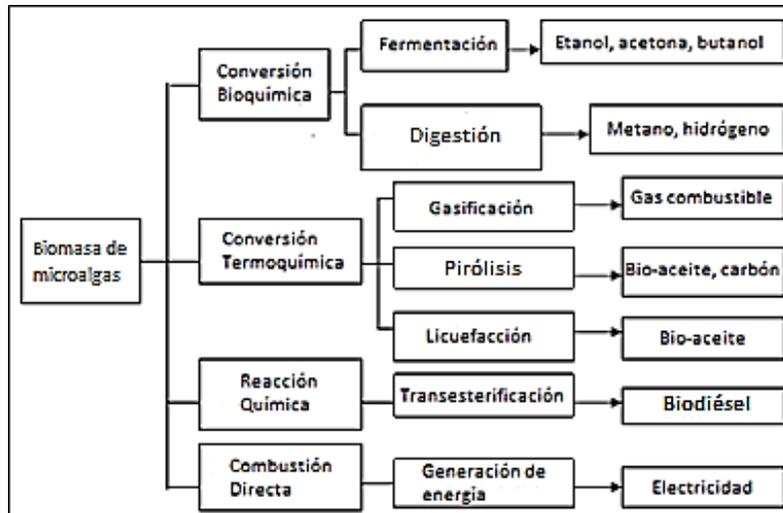


Figura 1.3 Esquema de producción de energía a partir de conversión de biomasa de microalgas (Tsukahara y Sawayama, 2005)

1.4 Biodiésel de microalgas

Las microalgas son proveedoras de diferentes tipos de biocombustibles renovables, entre los cuales se incluyen el metano producido a partir de la digestión de biomasa de las algas (Spolaore y col., 2006), biodiésel a partir de aceite de microalgas (Dunahay y col., 1996; Roessler y col., 1994; Sawayama y col., 1995; Sheehan y col., 1998), y bio-hidrógeno producido fotobiológicamente (Akkerman y col., 2002; Fedorov y col., 2005; Ghirardi y col., 2000; Kapdan y Kargi, 2006; Melis, 2002). Como se puede observar en la Tabla 1.4, existe una gran variedad en las cantidades que se pueden obtener de los biocombustibles con respecto al alga utilizada para el proceso, así como del fotobiorreactor que se utilice para ese caso. Es importante señalar que en el caso de que se desee escalar un proceso que se ha venido manejando a niveles de planta piloto, es necesario considerar que posiblemente las productividades que se puedan obtener varíen debido a que las algas, al ser un biológico, tienden a verse afectados por variables que no se pueden controlar tan fácilmente dando a lugar resultados que no se tenían contemplados.

Tabla 1.4 Biocombustibles proveniente de algas (Costa y De-Morais, 2011)

Microalga	Biocombustible	Fotobiorreactor	Productividad del biocombustible
<i>Dunaliella</i> sp.	Etanol	Matraz Erlenmeyer	11 mg g ⁻¹
<i>Chlorococum</i> sp.	Etanol	Fotobiorreactor de bolsa	3.83 g L ⁻¹
<i>Neochlorosis oleabundans</i>	Biodiésel	Bolsas de polietileno	56 g g ⁻¹
<i>Chlorococum</i> sp.	Biodiésel	Fotobiorreactor de bolsa	10 g L ⁻¹
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Hidrógeno	Botella roux	2.5 mL h ⁻¹
<i>Spirulina platensis</i>	Hidrógeno	Matraz Erlenmeyer	1.8 μmol mg ⁻¹
<i>S. platensis</i> UTEX 1926	Metano	Botella de vidrio sellada	0.40 m ³ kg ⁻¹
<i>Spirulina</i> LEB 18	Metano	Circuito abierto	0.79 g L ⁻¹

A pesar de que la idea de utilizar a las algas como productores de biodiésel (Sawayama y col., 1995), es hasta la actualidad donde ha comenzado a cobrar interés debido al aumento de precios de los productos derivados del petróleo, además de las afectaciones ambientales derivadas por el consumo masivo de combustibles fósiles (Gavrilescu y Chisti, 2005).

También se debe considerar el hecho de que el biodiésel proveniente de microalgas requiere cumplir con ciertos estándares para ser utilizado. En el caso de los Estados Unidos, el estándar más relevante que debe de cumplir el biodiésel es el Estándar D 6751 para biodiésel de la ASTM (Knothe, 2006), mientras que en la Unión Europea existen estándares separados para el uso de biodiésel como

combustibles para vehículos (Standard EN 14214) así como para el uso como combustible para calentadores (Standard EN 14213) (Knothe, 2006).

Se debe de considerar que la composición química de los aceites de microalgas difiere de aceites vegetales en el hecho de que las microalgas son ricas en ácidos grasos poli-insaturados con cuatro o más dobles enlaces (Belarbi y col., 2000). Por ejemplo, los ácidos docosahexanoicos (ADH, C22:6*n*-3; 6 doble enlaces) y eicosapentanoicos (APE, C20:5*n*-3; 5 dobles enlaces) se encuentran comúnmente en aceites de algas. Los ácidos grasos y los metil-ésteres de ácidos grasos con 4 o más dobles enlaces son susceptibles a la oxidación durante su almacenamiento, lo que los hace ser menos deseables para la producción de biodiésel, aunque cabe mencionar que este problema no es exclusivo de los aceites obtenidos de microalgas, ya que algunos aceites vegetales presentan el mismo problema. Por ejemplo, los aceites vegetales que contienen una gran cantidad de los ácidos linoleicos (C18:2*n*-6; 2 dobles enlaces) y linolenicos (C18:3*n*-3; 3 dobles enlaces). A pesar de que estos ácidos grasos poseen una mayor estabilidad oxidativa comparados con los ADH y APE, el estándar europeo EN 14214 limita que la concentración del metil-éster de ácido linolenico en el biodiésel de uso para vehículo a un 12% (mol).

La unidad utilizada para medir la insaturación de un aceite es el índice de yodo. Los estándares EN 14214 y EN 14213 mencionan que el índice de yodo en el biodiésel no debe de exceder 120 y 130 g de yodo/100 g de biodiésel respectivamente, además de restringir la concentración de metil-ésteres de ácidos grasos con 4 o más dobles enlaces no debe de superar el 1% mol.

Si se tomase en cuenta la composición de muchos de los aceites de las microalgas para producir biodiésel directamente, sería muy poco probable que pudiesen cumplir con los estándares europeos para biodiésel, aunque esto no tiene que ser realmente una limitante. La cantidad de insaturaciones del aceite de las microalgas y su contenido de ácidos grasos con más de 4 dobles enlaces puede ser reducido fácilmente a través de hidrogenaciones catalíticas parciales,

tal y como se realiza en la actualidad en la fabricación de margarina a partir de aceites vegetales (Dijkstra, 2006; Jang y col., 2005).

El proceso de hidrogenación catalítica permite, además, el proteger a la molécula de ácido graso de los procesos oxidativos que pueden suceder, impidiendo su uso en el proceso de un biodiésel de buena calidad. Este proceso se lleva a cabo a temperaturas que van desde 120°C a 220°C, dependiendo del tipo de aceite que se utilice y el producto que se quiera formar, en presencia de un catalizador metálico. Se ha observado que al realizar las reacciones de hidrogenación a mayor presión, se puede disminuir la temperatura a la cual se necesita llevar a cabo la reacción.

Capítulo 2. Cultivo de microalgas

2.1 Técnicas de cultivos de microalgas

A inicios de los años 50's, se comenzó a desarrollar el concepto de que la biomasa generada por el cultivo de microalgas podría convertirse en combustibles, lo cual fue demostrado poco tiempo después en trabajos de laboratorio, en donde las microalgas fueron utilizadas como un sustrato en una reacción de digestión, y el efluente del digester fue utilizado como una fuente de nutrientes (Meier, 1955; Golueke y col., 1957; Golueke y Oswald, 1959).

El diseño de un sistema de conversión de algas a aceite y biodiésel requiere de la combinación y optimización de varios factores tales como el cultivo de la biomasa, el manejo del crecimiento, transporte de las algas a plantas de conversión, secado de las mismas, separado y reciclado, manejo de desperdicios, transporte de los productos comerciales y la publicidad. (Patil y col., 2008; Singh y Olsen, 2011).

a) Tanques unidos por tubos

Está compuesta por una serie de tanques de almacenamiento unidos por tubos transparentes por donde el agua y las algas son bombeadas con el fin de poder hacer que estos organismos tengan la mayor exposición de luz solar posible (Figura 2.1), mientras que el CO₂ requerido por estos organismos para su crecimiento es bombeado hacia los tanques para que este se distribuya con mayor facilidad (Burlew, 1953; Choe y Jung, 2002).



Figura 2.1 Tanques unidos por tubos (STELR Project, 2010)

Entre las ventajas que tiene este método se encuentra que existe un riesgo mínimo de contaminación debido a que el entorno en el que se encuentran es uno cerrado. Además de que el espacio físico utilizado por esta técnica es mínimo a comparación del espacio utilizado por un sistema abierto (Walmsley y Shillinglaw, 1984). Sin embargo, el equipo utilizado es muy caro en parte debido a que es necesario darle mucho mantenimiento para mantener el sistema funcionando de manera correcta (Sheehan y col., 1998).

b) Circuitos a cielo abierto

Esta técnica está basada en el bombeo del agua con algas a través de circuitos al aire abierto con el fin de que estos organismos puedan estar expuestos lo más posible a la luz solar (Figura 2.2). El mezclado y la circulación se producen por medio de paletas. El flujo es dirigido a través de curvas y baffles colocados a través del canal del flujo. Este tipo de estanques son construidos generalmente de concreto o de tierra compactada, y pueden estar forrados de plástico blanco. Durante el día, el cultivo es alimentado continuamente enfrente de las paletas en donde el flujo inicia (Figura 2.2). El caldo es cultivado detrás de las paletas al momento de completar el circuito de circulación. En este tipo de técnicas, las paletas de mezclado se deben de mantener encendidas todo el tiempo con el fin de evitar que la biomasa se sedimente.

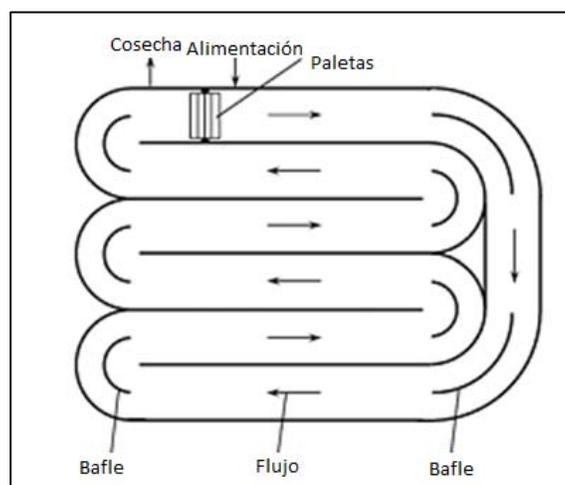


Figura 2.2 Esquema de un circuito a cielo abierto (Chisti, 2007)

En estos tipos de estanque, cualquier refrigeración solo se obtiene por medio de la evaporación. La temperatura generalmente fluctúa dentro de los ciclos diarios y estacionales, lo que puede dar a lugar que las pérdidas por evaporación sean significativas. La concentración de la biomasa en estos casos se mantiene baja debido a que estos circuitos están mezclados pobremente y no pueden mantener una zona óptica oscura (Figura 2.3).



Figura 2.3 Circuito abierto (STELR Project, 2010)

A pesar de todos los inconvenientes que presentan este tipo de sistemas para cultivo y obtención de biomasa, se considera que son menos costosos que biorreactores debido a que presentan un costo menor en su construcción y fabricación, a pesar de que esto se ve reflejado en la baja productividad en la obtención de biomasa comparada con los biorreactores (Sheehan y col., 1998).

c) Fotobiorreactores

A diferencia de los circuitos a cielo abierto, los fotobiorreactores permiten que se pueda cultivar una sola especie de microalga en grandes cantidades por tiempos prolongados (Carvalho y col., 2006; Molina-Grima y col., 1999; Pulz, 2001; Tredici, 1999).

Los biorreactores tubulares consisten en paneles solares hechos de tubos rectos transparentes fabricados generalmente de plástico o de vidrio con el fin de permitir una correcta utilización de la luz por parte de las microalgas (Figura 2.4). Generalmente los tubos colectores son de 0.1 m o menos de diámetro, esto con el fin de que la luz solar que utiliza pueda ser aprovechada de la forma más eficiente posible debido a que cuando se tiene una gran concentración de biomasa, la luz solar no la puede pasar tan fácilmente, lo que impide que se pueda llevar a cabo un buen proceso. El cultivo de microalgas circula desde un reservorio (como puede ser la columna degasificadora de la Figura 2.4) hacia el colector solar y de vuelta al reservorio. Para maximizar la captura de la luz solar, el colector solar debe de encontrarse bien orientado (Molina-Grima y col., 1999; Sánchez-Mirón y col., 1999). En un arreglo típico, los tubos solares se encuentran colocados paralelamente unos de otros y acostados sobre el suelo (Figuras 2.4 y 2.5).

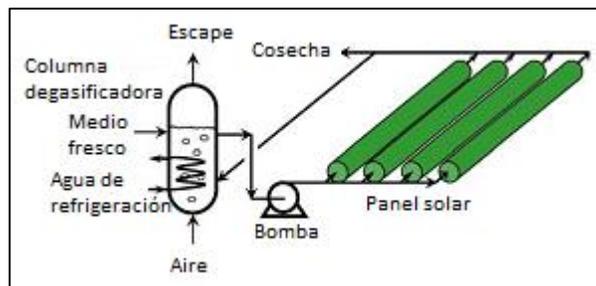


Figura 2.4 Esquema de un fotobiorreactor tubular compuesto de tubos horizontales paralelos (Chisti, 2007)



Figura 2.5 Fotobiorreactor tubular de tubos horizontales paralelos (STELR Project, 2010)

En algunos casos, los paneles son acomodados de forma horizontal de forma que aparenta ser una cerca, esto con el fin de intentar incrementar el número de tubos que se pueden acomodar en un área definida. Es de recalcar que los tubos siempre se encuentran con una orientación Norte-Sur, además de que el piso que se encuentra debajo de los paneles solares generalmente se encuentra pintada de color blanco, o cubierta con pliegos de plástico color blanco (Tredici, 1999) con el fin de maximizar la cantidad total de luz recibida por los tubos (Figuras 2.6 y 2.7).

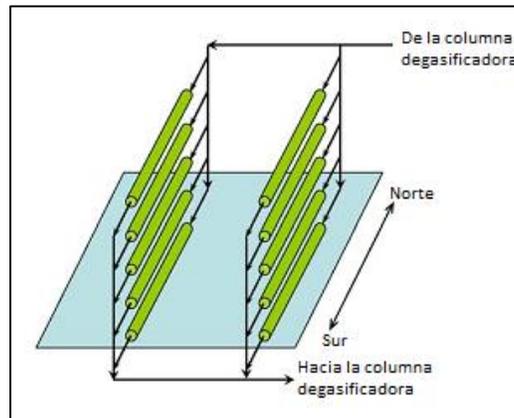


Figura 2.6 Esquema de un colector solar tipo cerca (Chisti, 2007)



Figura 2.7 Fotobiorreactor tipo cerca (STELR Project, 2010)

Existen casos en donde en vez de que los tubos que forman estos paneles estén acomodados horizontalmente en el piso, estos son fabricados de plástico flexible y enrollados alrededor de una estructura de soporte para formar un fotobiorreactor tubular con forma de bobina helicoidal. Este tipo de fotobiorreactores tienen un potencial de aplicación muy elevado en el caso de que se desee desarrollar un pequeño volumen de cultivo de algas que pudiese funcionar como un inóculo inicial para fotobiorreactores de mayor capacidad como los mostrados en la Figura 2.8 que son los utilizados en la producción a mayor escala de biodiésel.

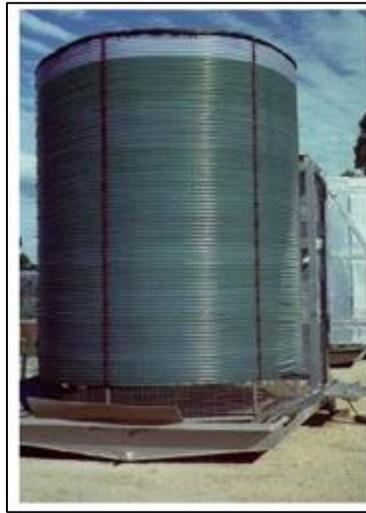


Figura 2.8 Fotobiorreactor helicoidal (Chisti, 2007)

La sedimentación en los tubos se evita manteniendo un flujo altamente turbulento. Este flujo se puede generar a partir de bombas mecánicas, o a partir de una bomba tipo airlift. El problema que se presenta al utilizar bombas mecánicas es el hecho de que la biomasa que se genere puede resultar dañada (Chisti, 1999; Mazzuca-Sabczuk y col., 2006; Sánchez-Mirón y col., 2003), pero tienen la ventaja de su fácil instalación y operación. Se ha demostrado que las bombas tipo airlift pueden utilizarse con bastante éxito (Acién-Fernández y col., 2001; Molina-Grima y col., 1999; Molina-Grima y col., 2000; Molina-Grima y col., 2001). Las bombas tipo airlift que son utilizadas en los fotobiorreactores tubulares están diseñadas utilizando los mismos métodos que fueron diseñados para el diseño de los reactores tipos airlift convencionales (Chisti, 1989; Chisti y col., 1988; Chisti y

Moo-Young, 1988; Chisti y Moo-Young, 1993). Este tipo de bombas tiene el inconveniente de que son menos flexibles en su operación que las bombas mecánicas, además de requerir un suministro continuo de aire. También es de considerar que sin importar el tipo de bomba que se utilice, los fotobiorreactores deben limpiarse y sanitizarse periódicamente.

Debido a que la fotosíntesis genera oxígeno, bajo condiciones de alta radiación lumínica, la máxima tasa de generación de oxígeno en un fotobiorreactor tubular puede ser tan alta como de 10 g O₂/m³·min, lo que puede llevar a generar que los niveles de oxígeno disueltos en el cultivo excedan a los valores de aire disueltos, inhibiendo la fotosíntesis (Molina-Grima y col., 2001). Además de que la alta concentración de oxígeno disuelta en el medio, sumada a una concentración elevada de radiación solar genera invariablemente daños a las células de las algas generadas por la foto oxidación. Para prevenir la inhibición de la fotosíntesis, así como el daño por oxidación, la cantidad máxima de oxígeno disuelta no debe exceder aproximadamente el 400% del valor de saturación de aire. Esto hace necesario que se deba de estar purgando el exceso de oxígeno del fotobiorreactor continuamente por medio de una columna degasificadora (Figura 2.4), en donde se le burbujea aire con el fin de que este sustituya al oxígeno en el cultivo.

Sumado a esto, en esta columna se deben de eliminar todas las burbujas de gas del cultivo con el fin de que este regrese sin burbujas a los tubos del panel solar, ya que las burbujas pueden generar un desarrollo menor al esperado.

A medida que el cultivo circula a través de los tubos del fotobiorreactor, el pH tiende a incrementarse debido al consumo del CO₂ por las algas (Camacho-Rubio y col., 1999). Por lo que CO₂ es incorporado en la columna degasificadora como una forma para controlar los incrementos de pH, además de que a través del circuito, existe la posibilidad de que sean necesarios más puntos en donde se pueda inyectar CO₂ en los tubos. Esto con el fin de evitar que el carbono utilizado por las algas para su desarrollo se agote, así como que suceda un incremento excesivo en el pH del medio (Molina-Grima y col., 1999).

Otro aspecto que se debe de considerar con todo tipo de fotobiorreactor es el hecho de que es necesario de que se tenga un sistema de control de temperatura. Por ejemplo, para evitar la pérdida de biomasa durante la noche debido a la respiración, se puede disminuir la temperatura del cultivo. Es de notar que los fotobiorreactores tubulares que se encuentran instalados al aire libre pueden enfriarse eficientemente y económicamente utilizando intercambiadores de calor localizados en la columna de degasificación (Figura 2.4). En el caso que se desee refrigerar el cultivo durante el día, este se puede realizar mojando los tubos con agua a través de un aspersor (Tredici, 1999), siendo este sistema útil también para climas secos y calurosos.

2.2 Comparación entre biorreactores tipo circuito a cielo abierto y fotobiorreactores tubulares

Al realizar una comparación entre los fotobiorreactores y circuitos a cielo abierto bajo condiciones de producción de 100 t anuales de biomasa como se puede observar en la Tabla 2.1, el consumo de CO₂ es idéntico entre ambos tipos de biorreactores, si la pérdida hacia la atmosfera es descartada. Se puede observar por ejemplo que los fotobiorreactores tienen un mayor rendimiento de aceite por hectárea con respecto a su contraparte de circuito a cielo abierto, ya que la productividad volumétrica de biomasa es aproximadamente 13 veces mayor en un fotobiorreactor a la obtenida en un circuito a cielo abierto.

La obtención de la biomasa se puede obtener fácilmente a través de la filtración del cultivo (Figura 2.9), la centrifugación, entre otras maneras (Molina-Grima y col., 2003). El costo de la recuperación de la biomasa puede llegar a ser significativo, aunque es importante señalar que el costo para la recuperación de la biomasa proveniente de un fotobiorreactor es solamente una fracción relativamente pequeña de lo que cuesta recuperar la biomasa obtenida de los cultivos de circuitos a cielo abierto. Esto es debido a que la concentración típica de la biomasa obtenida en un fotobiorreactor es aproximadamente 30 veces mayor a la obtenida en el circuito a cielo abierto (Tabla 2.1)

Tabla 2.1 Comparativa entre fotobiorreactores vs. circuito a cielo abierto
(elaboración a partir de Chisti, 2007)

Variable	Fotobiorreactor tubular	Circuito a cielo abierto
Producción de biomasa anual (kg)	100,000	100,000
Producción volumétrica (kg m⁻³ d⁻¹)	1.535	0.117
Productividad aérea (kg m⁻² d⁻¹)	0.048 0.072	0.035
Concentración de biomasa en el cultivo (kg m⁻³)	4.00	0.14
Tasa de dilución (d⁻¹)	0.384	0.250
Área necesaria (m²)	5681	7828
Rendimiento de aceite (m³ ha⁻¹)	136.9 58.7	99.4 42.6
Consumo anual de CO₂ (kg)	183,333	183,333
Geometría del sistema	132 tubos paralelos/unidad; Tubos de 80 m de largo; Diámetro del tubo de 0.06m	Estanque de 978 m ² ; 12 m de ancho, 82 m de largo, 0.30 m de profundidad
Número de unidades	6	8



Figura 2.9 Recuperación de biomasa de microalgas por medio de filtración (Chisti, 2007)

Cabe mencionar que un sistema de cultivo bien diseñado puede significar el incremento en la eficiencia en la fijación de CO₂ (Javanmardian y Palsson, 1991), aunque esto viene de la mano de cosas que se deben de considerar, tales como la intensidad lumínica, temperatura, la biología de las algas, etc. (Borowitzka, 1999).

2.3 Producción de biomasa de microalgas

Producir biomasa a partir de microalgas es generalmente más caro que hacer crecer los cultivos. El crecimiento fotosintético requiere de luz, dióxido de carbono, agua y sales inorgánicas, además de que la temperatura se debe de mantener entre 20 y 30 °C para un correcto desarrollo de estos microorganismos.

Es un hecho que el medio que es utilizado para llevar a cabo el desarrollo de las algas debe proveer los elementos inorgánicos que componen a las células de las algas, entre los que se encuentran elementos esenciales tales como el nitrógeno (N), fósforo (P), hierro y en algunos casos silicio. Para hacer un estimado de los requerimientos nutricionales mínimos de un cultivo de microalgas se utiliza la fórmula molecular aproximada de la biomasa de microalgas, que es CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01} (Grobbelaar, 2004). Es importante notar que nutrientes tales como el fósforo deben suministrarse en exceso debido a que los fosfatos

adicionados tienden a formar complejos con los iones metálicos, lo que implica que no todo el fósforo adicionado se encontrará biodisponible. Agua marina suplementada con fertilizantes comerciales compuestos de fosfatos y nitratos y algunos otros micronutrientes se utilizan comúnmente en el cultivo de algas marinas, lo que hace que los costos asociados a los medios de cultivo no sean generalmente caros (Molina-Grima y col., 1999).

En casos donde se realiza producción a gran escala de biomasa de microalgas generalmente se utilizan cultivos continuos durante el día, lo que significa que durante este método de operación, medio de cultivo fresco es alimentado al mismo flujo que es extraída la misma cantidad de cultivo con crecimiento de algas (Molina-Grima y col., 1999). Es de notar que la alimentación de medio de cultivo debe de cesar durante la noche, aunque la agitación del caldo de cultivo debe de continuar con el fin de evitar que la biomasa se sedimente (Molina-Grima y col., 1999) (Figura 2.10).



Figura 2.10 Biomasa de microalgas previo proceso de secado (STELR Project, 2010)

Algo seguro es que debido a que en la actualidad existe un desarrollo rápido de las tecnologías asociadas a la obtención de biocombustibles a partir de microalgas (Li y col., 2008 b). En la actualidad existen casos demostrativos comerciales en donde se ha llegado a demostrar que se pueden construir instalaciones de un tamaño considerable (2 ha) con el fin de cultivar estos microorganismos (*Haematococcus pluvialis*) y procesar biodiésel a partir de ellos (Huntley y Redalje,

2007). La estrategia que se siguió en el caso mencionado fue realizar un proceso de dos pasos, en donde fotobiorreactores tubulares fueron utilizados en el primer paso, mientras que los estanques a cielo abierto fueron utilizados en el segundo paso. La producción diaria que se logró alcanzar fue de 1.9 kg de biomasa seca a partir de un fotobiorreactor de 25,000 l, lo cual dio como resultado una productividad de 0.076 g/ l al día con una concentración de biomasa de 0.3 g/l.

En promedio, se obtuvo una tasa de aceite a partir de microalgas equivalente a 420 G·J/ha por año, aunque este resultado se encuentra alejado al máximo obtenido por *Haenatococcus pluvialis* que fue equivalente a 1,014 G·J/ha por año, que a su vez se encuentra alejado a la cantidad equivalente de aceite que teóricamente se podría obtener de algas de la especie *Chlorella*, que poseen una tasa de replicación mayor y que se han estimado que pueden dar tasas de aceite de aproximadamente 3,200 G·J/ha cada año. Lo cual podría hacer posible el sustituir la dependencia que en la actualidad se tiene hacia los combustibles procedentes de fuentes fósiles.

2.4 Conceptos ecológicos y nutrición de algas

Para producir biodiésel a gran escala utilizando microalgas es necesario ver las instalaciones de producción como biorreactores diversos que obedecen a las reglas conocidas de la ecología, y que por lo tanto es necesario tomar en cuenta diversos factores para así diseñar plantas eficientes.

2.5 Limitantes nutrimentales de la producción de algas

La productividad de las microalgas que crecen en reactores al aire libre está limitada por el suministro que se tenga de los nutrientes limitantes del desarrollo (Mostert y Grobbelaar, 1987). Estudios realizados en el S. XX con el fin de determinar cuáles son los elementos que tienen un rol más significativo fueron encaminados a limitar el desarrollo de las algas en ambientes acuáticos tanto el nitrógeno como de fósforo. Por lo que se comenzó a prestar mayor atención en el correcto suministro de estos elementos cruciales a los ecosistemas de algas de

estudio con el fin de aumentar la biomasa de las algas (Schindler, 1977; Schindler y Vallentyne, 2008; Smith y col., 1999).

En el caso de ecosistemas de agua dulce, el nutriente clave es el fósforo, tanto así que otros elementos esenciales tales como el dióxido de carbono (Schindler, 1977), el silicio y el hierro tienen influencia marginal cuando la fuente de fósforo es constante. Sin embargo, también se ha observado de la importante influencia que genera el N en la obtención de biomasa a partir de algas al momento de realizar estudios en donde la relación N:P es baja (Schindler y Vallentyne, 2008; Smith y col., 1999). Esta información resulta ser de particular importancia debido a que, de esta forma, se puede predecir el comportamiento de los biorreactores, dando a lugar obtener un mayor rendimiento de biomasa a la cual se le puede extraer aceite.

Tanto la concentración total de fósforo como la de nitrógeno en las corrientes que alimentan a los estanques de los biorreactores impactan de manera importante a la producción de biodiésel a partir de algas, debido a que a la relación N:P actúa de forma importante en el desarrollo de aceite y de la biomasa de las algas.

Las tasas de crecimiento de algas, de igual forma que las de plantas terrestres, son dependientes de su eficiencia fotosintética, que se puede definir como la fracción de energía lumínica que se puede convertir en energía química para la producción de biomasa en una célula, ya sea de las algas o vegetales. A pesar de que lo práctico que puede ser convertir la energía solar en energía química, se tiene el problema de que la fotosíntesis oxidativa es una reacción ineficiente (Stephenson y col., 2011), siendo la máxima eficiencia fotosintética de solo 10% debido a la fotoinhibición (Beilen, 2010), debido a que los complejos proteínicos de las algas que ayudan a capturar los fotones de luz solo pueden capturar un fotón cada 0.5 ms, a pesar de que la fase oscura de la reacción solo puede procesar un fotón cada 5 ms. Debido en parte a este tipo de situaciones, muchos de los sistemas comerciales para cultivo de microalgas se llevan a cabo en estanques a cielo abierto debido a que son los sistemas que pueden brindar un máximo de obtención lumínica a un costo menor (Beilen, 2010) (Chen y col., 2011). Esto

influye también en el diseño del reactor, así como de la cantidad de agua que se utiliza con el fin de reproducir las algas. Comercialmente se utilizan reactores que tiene una profundidad de entre 20 y 40 cms que son mezclados con paletas para permitir que todas las algas puedan obtener el máximo de luz, nutrientes y aire para su correcto desarrollo, minimizando también la cantidad de energía eléctrica suministrada para mover las paletas.

Capítulo 3. Procesamiento de las algas

3.1 Extracción de aceite de las microalgas

Se debe de considerar el hecho de que la cosecha de la biomasa de las microalgas es uno de los procesos que presentan mayor cantidad de problemas y de costos en la producción industrial de biomasa debido a que en los cultivos generalmente se tiene una baja densidad celular que fluctúa en el intervalo de 0.3 a 0.5 g de peso por litro. Tomando en cuenta que el material ideal para llevar a cabo cualquier proceso industrial son los sedimentos que tienen por lo menos 300-400 g de peso seco celular por litro, se hace evidente que es necesario concentrar la suspensión de las algas entre 100 y 1000 veces con el fin de trabajar con ella, lo cual es un proceso que requiere que se le suministre mucha energía (Ginzburg, 1993).

Para concentrar biomasa se consideran dos pasos (Ginzburg, 1993):

- Una cosecha mayor, con el fin de que, al separar la biomasa del resto de los componentes de la suspensión de las algas, se logre concentrar aproximadamente entre 100 y 800 veces la concentración de la biomasa dependiendo de la concentración inicial de la cual se haya partido.
- Reconcentrar la biomasa separada con el fin de que la concentración aumente entre 10 y 30 veces más.

Para el primer paso generalmente se utiliza el proceso de floculación, que está basado en la reducción o neutralización de cargas negativas en la superficie de las células en suspensión para agruparlas entre ellas. Esto se logra adicionando agentes floculantes como son los cationes multivalentes y polímeros catiónicos (Molina-Grima y col. 2003 d).

Para el caso del segundo paso (reconcentración) existen en la actualidad tecnologías eficientes para de aumentar la concentración de la biomasa obtenida en el paso anterior. Una de ellas es la centrifugación, que si bien es eficiente, también consume mucha energía (Molina-Grima y col., 2003 d)

3.2 Procesamiento de aceite extraído a biodiésel de microalgas

El proceso de transesterificación (Figura 1.1) se basa en la conversión de un alcohol y un éster, por otro alcohol y otro éster, en condiciones que generalmente son catalizadas por medio del uso de ácidos o bases. Para que el proceso se pueda llevar a cabo, es necesario que, en el caso del aceite, los ácidos grasos se encuentren previamente esterificados para llevar a cabo el proceso químico.

Sin embargo, en muchas ocasiones los aceites resultan tener una alta concentración de ácidos grasos libres, los cuales son ácidos monocarboxílicos saturados o insaturados que se encuentran presentes en las grasas y aceites, pero que, sin embargo, no se encuentran unidos a una molécula de glicerina tal y como si se encuentran unidos los triglicéridos (Vicente-Pardal, 2012).

Generalmente este tipo de casos se puede observar cuando los aceites que se han utilizado en procesos tales como la fritura de alimentos, lo que hace que se generen una gran cantidad de ácido grasos libres que afectan los rendimientos generales que se pueden obtener del proceso de transesterificación directo.

Esto debido a que, los ácidos grasos libres tienden a reaccionar preferentemente con los catalizadores básicos, llevándose a cabo el proceso de saponificación y generando jabones.

En los casos de que los aceites que se deseen utilizar para la transesterificación posean una alta cantidad de ácidos grasos libres (los cuales son cuantificados por el índice de acidez del aceite), se realiza la reducción de la cantidad de los ácidos grasos libres por medio una esterificación utilizando un catalizador ácido (tal y como puede ser el H_2SO_4).

Con el fin de permitir que estos puedan ser utilizados en la obtención de biodiésel, a pesar de que uno de los productos de este proceso es el agua, cuya presencia inhibe la reacción de transesterificación (Vicente-Pardal, 2012)(Figura 3.1).

Las microalgas tienen la ventaja de que poseen como fuente de lípidos principalmente a los triglicéridos, los cuales pueden ser sometidos al proceso de transesterificación de una manera directa sin llevar a cabo el proceso mencionado con anterioridad de la esterificación ácida de los ácidos grasos libres (Figura 3.1).

Sin embargo, si se desea mejorar el rendimiento del proceso de conversión de aceite a biodiésel en muchos casos se considera que el proceso debe de realizarse en dos pasos (Tabla 3.1), ya que de esta manera se puede asegurar que la cantidad del aceite a procesar sea mayor.

La forma en que generalmente se realizan las transesterificaciones de dos pasos es adicionando el 80% de la mezcla de alcohol-catalizador al aceite que se desea procesar con el fin de que se pueda procesar una parte del aceite dando como producto glicerina y biodiésel (Figura 3.1).

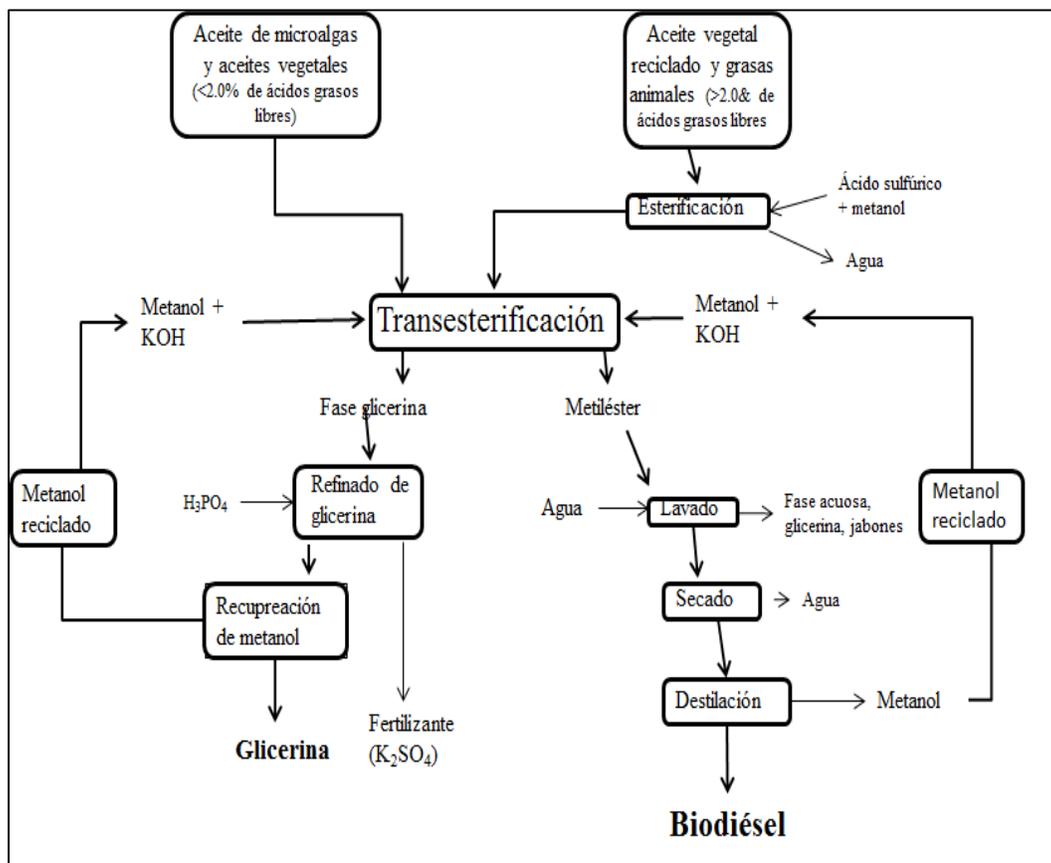


Figura 3.1 Esquema de producción de biodiésel (elaboración a partir de Loera-Quezada y Olgúin, 2010)

Una vez que la glicerina formada se haya separado del biodiésel por acción de las diferentes densidades que tienen, se separan y se le adiciona al biodiésel la mezcla de alcohol-catalizador restante para terminar de procesar el aceite residual que haya quedado disuelto.

Se elevan de esta manera los rendimientos del proceso de transesterificación y obteniendo un biodiésel de mejor calidad al que se puede obtener en un proceso de un solo paso (Tabla 3.1).

Fuente de materia prima	% ácidos grasos libres	Proceso de transesterificación utilizado	Condiciones de operación				Rendimiento
			Relación alcohol/aceite	% Catalizador/aceite	Tiempo (hr)	Temp (°C)	
Canola		Catálisis alcalina	50% de exceso de etanol con NaOCH ₃ , o 100% de exceso de etanol con KOH	0.5 % de etóxido de sodio o 1% de KOH	2	Ambiente	98
Girasol	NA	Catálisis alcalina	3.1	0.28 % (m/m) de KOH		70	96
Soya	NA	Catálisis por lipasas			2		95
Palma	NA	Catálisis alcalina	6.1	1 % de KOH	1	50	75
Maní	2	Catálisis alcalina	6.1		1	65	82
Jatropha	15	1. Catálisis alcalina	1. 0.70 (m/m)	1. 33% m/m de NaOH a aceite	2	60	88
		2. Proceso de dos pasos		i. 1% (m/m) H ₂ SO ₄	1	65	55
		i. Pretratamiento ácido (Reducción de ácidos grasos libres a 1%) ii. Catálisis alcalina	i. 0.60 (m/m) ii. 0.24 (m/m)	ii. 1.4% NaOH a aceite	i. 2 ii. 1.26	i. 50 ii. 65	90
Mahua	17	Proceso de dos pasos		i. 1.24 (v/v) H ₂ SO ₄	0.5		
		i. Pretratamiento ácido (Reducción de ácidos grasos libres a 1%) ii. Catálisis alcalina	i. 0.32 (v/v) ii. 0.25 (v/v)	ii. 0.7% (m/v) KOH a aceite	i. 3 ii. 6.5-8	i. 60 ii. 60	98
Pongamia	0.3	Catálisis básica	6-10:1	1% KOH	8	60-65	92-98
Nim		Catálisis básica	6:1 (metanol); 10:1 (etanol)	0.7% NaOH	24	60-75	88-94
Algodón		Catálisis básica	12; 10.135/25 (m/m) metanol	2% (m/m) 0.017 g de enzima/g de aceite. 32.5% t-butanol	-	60	90
		Catálisis enzimática				50	97
Sésamo		Catálisis básica	6:1	0.5% NaOH	-	60	74
Scenedesmus sp.		Catálisis de dos pasos	Relación molar metanol/aceite de 12:1	2% KOH	1	65	98
Microalgas heterotróficas	8.97	Catálisis ácida	-	H ₂ SO ₄	-	-	90

Tabla 3.1 Comparativa entre procesos de obtención de biodiésel a partir de diferentes materias primas (Elaborado a partir de Rajvanshi y Sharma, 2012)

Capítulo 4. Beneficios ambientales

4.1 Tierra de cultivo

Para ser considerado como una fuente energética alterna, un biocombustible necesita tener una ganancia energética neta, ser económicamente competitivo y que se pueda producir en grandes cantidades sin afectar la producción y abastecimiento de los alimentos (Hill y col., 2006).

Desafortunadamente en la actualidad, los cálculos que se han realizado sobre la cantidad de cultivos de maíz (en el caso de la búsqueda de obtención de bio-etanol como combustible) han arrojado que en el caso de Estados Unidos, la cantidad necesaria para satisfacer la mitad de sus requerimientos de combustible equivaldría a más de 8 veces la cantidad de tierra actualmente utilizada para cultivo (Chisti, 2007). Se ha considerado que también se podrían utilizar otros cultivos que utilizasen un área de cultivo menor para poder obtener el volumen requerido de aceite, tales como la palma aceitera (24% de la tierra cultivable), aceite de coco (54%), jatropha (77%), canola (122%) y soya (326%) (Chisti, 2007) (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Comparativa entre fuentes de aceite para biodiésel (Chisti, 2007)

Cultivo	Rendimiento de aceite (L/ha)	Área de tierra requerida (M ha)	% de área de cultivo en EE.UU.
Maíz	172	1540	846
Soya	446	594	326
Canola	1190	223	122
Jatropha	1892	140	77
Aceite de coco	2689	99	54
Palma aceitera	5950	45	24
Microalgas (70% aceite total)	136,900	2	1.1
Microalgas (50% de aceite total)	58,700	4.5	2.5

Sin embargo y a pesar de lo promisorio que pudiese parecer el hecho de que aumentando la cantidad de tierra cultivable en donde se sembrasen plantas que tengan un buen rendimiento en producción de aceite. Lo que si es cierto es el hecho de que si se decide aumentar el área cultivable para dar lugar al aumento de estos cultivos, lo que se lograría serían efectos negativos debido a la pérdida de ecosistemas y la biodiversidad asociada (Groom y col., 2008), y esto a su vez podría inducir un incremento en la cantidad de gases de efecto invernadero.

Comparando los cultivos terrestres de donde se pueden obtener biocombustibles, las microalgas generan una menor afectación debido a que estos microorganismos pueden exceder por mucho la productividad en producción de aceite al que se puede obtener de muchos cultivos, se han hecho estimaciones de que para satisfacer el 50% de las necesidades de combustible de Estados Unidos solo se necesitaría utilizar una superficie equivalente al 3% de toda la tierra cultivable de Estados Unidos (Chisti, 2007; Groom, y col., 2008).

Otra de las ventajas que presentan las microalgas como fuente de biocombustibles es que puede redituarse en un significativo control de la contaminación, ya que estudios comparativos (Hill y col., 2006) entre biodiésel de soya y etanol dieron como resultado que el biodiésel solo liberó el 1.0%, 8.3% y el 13% del nitrógeno agrícola, fósforo y contaminantes de pesticidas, respectivamente, por ganancia energética neta.

Tomando en cuenta los mismos criterios, se esperaría que un biodiésel obtenido de microalgas fuera superior en esos aspectos tanto al etanol como al biodiésel obtenido de soya, debido a que no serían necesarios los subsidios que se dan para herbicidas o insecticidas, lo que da como resultado la nula generación de flujos residuales de pesticidas.

4.2 Algas y aguas residuales

En la actualidad existen sistemas en uso como los estanques de alto rendimiento de algas que se utilizan para la remoción de nutrientes en aguas residuales ricas en compuestos nitrogenados y fosforados (Barthel y col., 2008; Morgan y Martin, 2008; Oswald, 1988). Las algas que crecen en esos biorreactores a los cuales se les suministran aguas residuales ricas en nutrientes pueden absorber contaminantes que pueden ser removidos físicamente del agua una vez que las microalgas sean cultivadas para fabricar biodiésel. Esto haría que tanto las concentraciones de nitrógeno como el fósforo residual obtenidos del filtrado fueran bastante menores a las que se podrían obtener del agua previo tratamiento. Además de que muchos contaminantes y metales pesados serían eliminados del agua, evitando su posterior descarga en corrientes de agua (Cáceres y col., 2008; Muñoz y Guieysse, 2006).

Los metales son elementos que se encuentran involucrados en todas las fases del crecimiento microbiano. Metales como el sodio, potasio, hierro, cobre, magnesio, calcio, manganeso, zinc y cobalto son necesarios para poder llevar a cabo funciones biológicas, mientras otros como el aluminio, cadmio, plata, oro, mercurio y plomo no lo son. Algunos microorganismos poseen la capacidad de adsorber algunos metales pesados en su superficie (Figueira y col., 2000; Sheng y col., 2005), o de acumularlos en su estructura, lo cual los hace ser útiles en las labores de remoción de metales contaminantes del medio ambiente (Atici y col., 2010; Lamaia y col., 2005; Shanab y Essa, 2007). Estudios realizados por Lefebvre y col. (2007), demostraron que ciertas cepas de cianobacterias (*Limnothrix planctónica*, *Synechococcus leopoldiensis* y *Phormidium limnetica*) pueden convertir Hg^{2+} en Hg^0 bajo condiciones de pH controlados y en condiciones correctas de aireación.

Reunir la producción de biodiésel por medio de microalgas con el agua proveniente de descargas humanas puede generar ventajas desde el punto de que, muchos de los problemas existentes en la actualidad debido a la gran contaminación del agua debido a las actividades humanas podrían ser resarcidos

por medio de este proceso. Además, se podría evitar el hecho de que sea necesario utilizar agua con el fin de regar los cultivos que serían de uso exclusivo para la producción de biodiésel, serían enormes y no factibles, además de que el agua filtrada después de utilizarla para reproducir microalgas sería de una mucho mejor calidad que el agua que entró al sistema, pudiendo ser utilizada con mayor seguridad en el riego de cultivos de consumo humano, y pudiendo ser descargada con seguridad a los caudales naturales para su posterior llegada al mar. También se ha observado que las microalgas poseen una alta eficiencia en la fijación y remoción de nitrógeno y fósforo presente en las aguas residuales (Mallick, 2002), así como la reducción de iones metálicos presentes en el agua residual.

Existe la posibilidad de combinar el tratamiento de aguas residuales utilizando a las microalgas, con el fin de fijar muchos de los contaminantes presentes en las aguas de desecho. Las algas utilizan para su metabolismo estos contaminantes junto con el CO₂ atmosférico, trayendo así beneficios ambientales. Esto da a lugar a incentivos económicos provenientes del ahorro en costos de uso de pesticidas y fertilizantes que ya no se utilizarían en grandes cantidades el fin de mantener a los cultivos de las algas en buen estado (Mallick, 2002) y sin tener que gastar en agua fresca (Benemann y col., 1977). Un ejemplo es el alga *B. braunii*, la cual ha demostrado poseer buena capacidad de remoción de nitrógeno y fósforo presente en aguas residuales que han sido tratadas con el fin de eliminar los sedimentos (Yun y col., 1997).

Un caso de particular interés que muestra la viabilidad que existe para el cultivo de microalgas en aguas residuales, con el fin de disminuir en esta altas concentraciones de fósforo y nitrógeno aunque no se llegue a obtener una gran cantidad de biomasa, es la reportada por Gómez-Villa (Gómez-Villa y col., 2005), en donde se cultivó al alga microscópica *Scenedesmus obliquus* en un medio que permitía recrear las condiciones nutricionales que asemejaban a las que se presentan en aguas residuales, bajo condiciones ambientales que existen durante el invierno y el verano en Mazatlán, Sinaloa. La biomasa obtenida en este estudio fue de 26 y 43 mg/L después de una incubación de 3 días en invierno y en verano

respectivamente, lo cual corresponde a productividades de 9 y 16 mg/L cada día, con una tasa de fijación de CO₂ de 16.07 y 31.0 mg CO₂ L calculado con la fórmula de biomasa de la microalga típica (Chisti, 2007). Además de observarse una disminución de nitrógeno de 47% en invierno y del 79% en verano, así como una disminución de fósforo de 45% y de 73% en el mismo periodo de tiempo.

4.3 Algas y nutrimentos

Es un hecho de que los biorreactores al aire libre para microalgas serán invadidos continuamente por otras especies de algas, protozoarios y plancton, lo que seguramente podría dar a lugar a que tuvieran una gran cantidad de comunidades de diferentes especies. Esto no es del todo negativo debido a que la presencia de diferentes algas puede dar a lugar a la obtención de una mayor cantidad de biomasa de algas de lo que se podría obtener con una sola especie de estas. Además, se ha observado que el contenido de lípidos que se pueden obtener aumenta debido a que incrementa la habilidad potencial de almacenar la energía solar y el carbono en los lípidos (Engelhardt y Ritchie, 2001; Reich y col., 2001; Tilman y col., 1997).

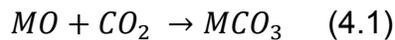
Sin embargo, también debe de señalarse el hecho de que los biorreactores, al ser sistemas abiertos, pueden ser invadidos por microorganismos que pudiesen generar daños a la biomasa de las algas, tales como plancton herbívoro. Se ha propuesto que para disminuir los daños que pudiesen generar este tipo de microorganismos, se podría hacer uso del hecho de que existen peces que se alimentan del plancton.

4.3.1 Algas y CO₂

La mayor parte del CO₂ que se libera a la atmosfera como parte de las actividades humanas proviene de la combustión de combustibles fósiles como fuentes de energía. Desafortunadamente, el incremento de la demanda de energéticos basados en combustibles fósiles tiende a aumentar la descarga de estos gases.

Se han investigado varias técnicas para mitigar las altas concentraciones de CO₂ las cuales puede clasificarse en 2 categorías: Aproximaciones basadas en reacciones químicas, y mitigación biológica de CO₂.

Un ejemplo bastante común utilizado para mitigar el CO₂ basado en reacciones químicas convencionales es la que se obtiene por la carbonación/descarbonación cíclica de CO₂ con óxidos metálicos que da como resultado carbonatos metálicos (Gupta y Fan, 2002), tal y como se puede observar:



Este tipo de reacciones químicas utilizadas para al fijar CO₂ consisten generalmente de 3 procesos: separación, transportación y secuestro. En el caso de la separación y compresión del CO₂ a 110 bar (para su transporte) se ha llegado a estimar que se encuentra entre US\$30-50 por cada tonelada de CO₂, mientras que el transporte y secuestro se han estimado que se encuentran entre US\$1-3 por cada 100 km y US\$1-3 por cada tonelada de CO₂ procesada, respectivamente (Gupta y Fan, 2002; Shi y Shen, 2003).

Debido a los costos asociados a la mitigación química del CO₂, la mitigación biológica de este contaminante ha atraído atención en los últimos tiempos debido a que este proceso lleva a la producción de biomasa a partir del fijado de CO₂ por medio de la fotosíntesis (De-Morais y Costa, 2007; Kondili y Kandellis, 2007; Ragauskas y col., 2006).

Si bien se tiene la idea de que la fotosíntesis es un proceso que las plantas realizan de manera eficiente, se ha observado que la captura y fijación de CO₂ proveniente de la emisión de combustibles fósiles por medio del uso de plantas es de solo entre el 3-6%, lo cual viene de la mano de la baja tasa de crecimiento que tienen las plantas (Skjanes y col., 2007).

En el caso de microorganismos fotosintéticos, el hecho de que puedan realizar el proceso de fijado de CO₂ es ventajoso a comparación de muchas de las plantas terrestres debido a la alta tasa de replicación que tienen a comparación de las plantas.

Lo que quiere decir que utilizan CO₂ como su fuente de carbono dando como producto de reacción oxígeno molecular de manera más rápida (NETL, 2006; Sheehan y col., 1998) al capturar la energía solar con una eficiencia que puede ser hasta 50 veces superior a las de las plantas terrestres (Li y col., 2008 b).

Algunos de los beneficios que se pueden obtener al utilizar a las microalgas para la conversión de CO₂ por medio de la fotosíntesis en productos con base de carbón con valor agregado, o incluso en biomasa proveniente de microalgas se presentan a continuación, y en la Figura 4.1:

- No es necesario utilizar CO₂ de alta pureza, por lo que se puede utilizar gas proveniente de combustión sin problemas mientras tenga entre un 2-5% de CO₂, lo que haría el proceso de purificación de gases de combustión más sencillo.
- Algunos productos de combustión tales como NO_x y SO_x pueden ser utilizados como fuentes de nitrógeno y azufre para el correcto metabolismo y desarrollo de las algas.
- El proceso metabólico es completamente renovable, dando como productos algunos compuestos de alto valor agregado debido a la conversión de CO₂ en carbón mineralizado, así como compuestos de alto valor energético como los lípidos.

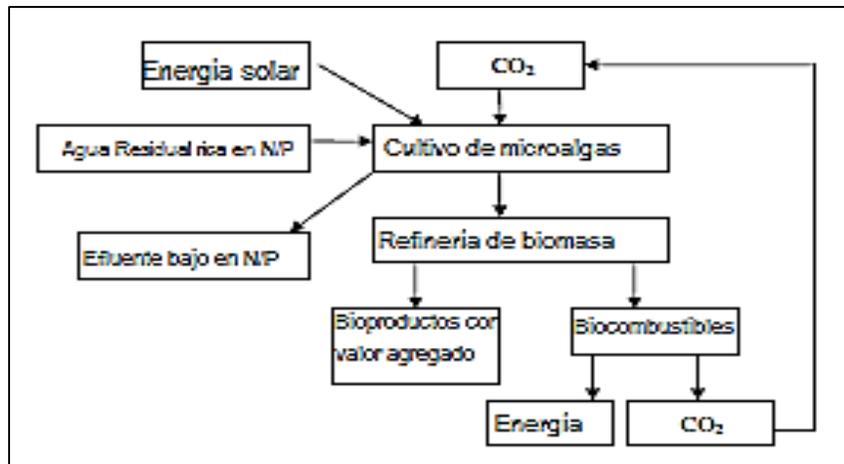


Figura 4.1 Sistema conceptual de producción de biocombustibles, biomitigación de CO₂ y remoción de N/P de aguas residuales mediante uso de microalgas (Wang, 2008)

Esto lleva a considerar que en la actualidad, las microalgas representan un sistema que puede utilizarse eficientemente para la captura biológica y utilización del CO₂ emitido por las plantas de energía consumidoras de combustibles fósiles (Benemann, 1997). Esto va siendo incluso más ventajoso que otros sistemas que utilizan a las plantas con el fin de secuestrar y limpiar el ambiente, debido a que los sistemas de microalgas tienen menos variables que controlar. Esto aunado al hecho de que la tasa de replicación de las microalgas es relativamente alta, los resultados beneficiosos al ambiente se pueden observar en algunos años a comparación de las décadas que les lleva a los sistemas que usan plantas el obtenerlos.

Como se puede observar en la Tabla 4.2, una de las ventajas que tiene el uso de las microalgas se encuentra en el hecho de que pueden procesar concentraciones altas de CO₂ en el medio en el que se encuentren. Además de que no es necesario que el medio en el cual las algas se desarrollan sea necesariamente preparado de una forma específica; ya que las algas han demostrado la capacidad desarrollarse en aguas residuales, brindándoles ventajas desde el punto de vista de mejoramiento en el tratamiento de las aguas residuales.

Tabla 4.2 Comparativa entre microalgas de potencial uso en procesos de biomitigación de CO₂ (elaboración a partir de Tsukahara y Sawayama, 2005)

Alga	CO₂%	T°C	P g/L por día	P_{CO2} g/L por día	Notas
<i>Chlorococcus littorale</i>	40	30	N/A	1.0	
<i>Chlorella kessleri</i>	18	30	0.087	0.163	
<i>Chlorella sp. UK001</i>	15	35	N/A	>1	
<i>Chlorella vulgaris</i>	15	-	N/A	0.624	Aguas residuales artificiales
<i>Chlorella vulgaris</i>	Aire	25	0.040	0.075	Medio de Watanabe
<i>Chlorella sp.</i>	40	42	N/A	1.0	
<i>Dunaliella</i>	3	27	0.17	0.313	Medio de alta salinidad y adicionado con β-caroteno
<i>Haematococcus pluvialis</i>	16-34	20	0.076	0.143	A escala comercial, aire libre
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Aire	-	0.009	0.016	Aguas residuales, aire libre en invierno
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Aire	-	0.016	0.031	Aguas residuales, aire libre en verano
<i>Botrycoccus braunii</i>	-	25-30	1.1	>1.0	Acumulando hidrocarburos
<i>Scenedesmus obliquus</i>	18	30	0.14	0.26	
<i>Spirulina sp.</i>	12	30	0.22	0.413	

En el caso que se decidiera utilizar los gases provenientes de la combustión industrial, se debe de considerar que existen especies de microalgas que

presentan cierta tolerancia a concentraciones altas de CO₂ (por encima del 15%), además de resistir niveles moderados de NO_x y SO_x en su desarrollo (hasta 150 ppm). Lo cual permitiría utilizar los gases directamente descargados de las plantas para permitir el desarrollo de estos microorganismos (Matsumoto y col., 1997). Existen reportados algunos casos excepcionales en donde *Chlorococcum littorale* ha llegado a soportar concentraciones de hasta un 40% de CO₂ sin disminuir su desarrollo (Iwasaki y col., 1998; Murakami e Ikenouchi, 1997). Estudios realizados con el alga *C. kessleri* han mostrado que esta puede llegar tener tasas de crecimiento específico (μ_{max}) de 0.267 por día cuando se cultiva en concentraciones de CO₂ de 6%(v/v), con una productividad de biomasa de 0.085 g/L en esas condiciones.

Se ha observado también que existen algunas especies de microalgas que poseen la capacidad de utilizar ciertos carbonatos solubles tales como el Na₂CO₃ y NaHCO₃ con el fin de llevar a cabo su desarrollo (Emma-Huertas y col., 2000; Ginzburg, 1993). El cultivo de este tipo de algas presenta como ventaja que, por ejemplo, el CO₂ que se pudiese generar en las noches en algunas instalaciones industriales podrían convertirse por medio de reacciones químicas en carbonatos y ser almacenados con el fin de que en el día pudiesen suministrarse a los cultivos de algas. Además de que, debido a que el número de algas que pueden desarrollarse utilizando a los carbonatos es limitada, se puede inhibir de esa manera que se puedan desarrollar microorganismos y algas que puedan contaminar los cultivos (Ginzburg, 1993).

4.3.2 Nitrógeno

Las algas utilizan comúnmente como fuente de nitrógeno a los nitratos, amoníaco y urea (Lourenco y col., 1998), siendo las sales de amonio las más fáciles de utilizar por las microalgas debido a que no necesita ser reducida antes de ser metabolizada en aminoácidos. A pesar de lo positivo que suena el hecho de que las microalgas puedan metabolizar fácilmente el amoníaco, otros estudios han demostrado que este compuesto tiene efectos nocivos en las microalgas, llegando a disminuir la tasa de crecimiento de ellas (Lourenco y col., 2002), Además de que

si es utilizado directamente siempre existe la posibilidad de que, al ser el amoníaco altamente volátil, este pueda escapar hacia la atmósfera, generando un problema ambiental y de salud mucho mayor al que se busca remediar al utilizar a las microalgas como fuente de ácidos grasos para convertirlos en biodiésel.

Una fuente barata y fácil de obtener nitrógeno son las aguas residuales, las cuales contienen una amplia variedad de fuentes de nitrógeno en ellas. Sin embargo, para su uso se recomienda tener instalaciones apropiadas debido a que se sabe que el cultivo de microalgas genera ciertos problemas de contaminación. Además de complicar el procesamiento de las microalgas para la obtención de sus aceites y metabolitos.

Se debe considerar también que para que las microalgas puedan ser consideradas como una opción viable para ser utilizada como posible fuente energética (ya sea sin procesar o procesada) es necesario que estas tengan un alto valor calorífico. Por ejemplo, se ha observado que las microalgas que son cultivadas a condiciones normales han mostrado poseer valores caloríficos entre 18 y 21 K·J/g (Illman y col., 2000). Los cuales pueden ser mejorados a partir de la optimización de las condiciones de cultivo. Algunos estudios han demostrado que los valores caloríficos de la biomasa procedente de microalgas pueden elevarse si estos organismos son cultivados en condiciones en donde el nitrógeno se encuentra limitado de cierta manera. Por ejemplo, se ha observado que el valor calorífico de la biomasa de *C. vulgaris* cultivada en condiciones adecuadas es de 18 K·J/g, mientras que en el caso de que la misma cepa de la microalga sea cultivada en condiciones donde el nitrógeno se encuentre como un limitante su valor calorífico aumenta hasta 23 K·J/g.

El aumento en el valor calorífico se encuentra ligado a un aumento en la concentración de lípidos dentro de la célula, así como en la disminución en la concentración de carbohidratos y proteínas en ellas, lo cual da como resultado una mayor obtención de aceites que pueden ser esterificados para la producción de biodiésel (Ginzburg, 1993; Illman y col., 2000; Tornabene y col., 1983; Yamaberi y col., 1988). Se ha observado que en el caso de algunas especies de algas que

son ricas en lípidos como *Neochloris oleoabundans* (Kawata y col., 1998) en condiciones de baja concentración de nitrógeno, la cantidad de lípidos acumulados puede llegar a ser entre un 35-54% del peso seco de la biomasa, de los cuales el 80% son triglicéridos (Tornabene y col., 1983).

Sin embargo, existe el dilema de que a pesar de lo positivo que pueda aparentar el que las algas generen mayor cantidad de moléculas de alto contenido energético como lo son los lípidos, el estado en el que las microalgas se encontrarían sería particularmente estresante para su desarrollo, lo cual disminuye la velocidad a la cual las células se replican; afectando tanto el rendimiento de biomasa que se puede obtener, así como del aceite que se podría extraer (Ratledge, 2002).

También se debe de considerar que se sabe que las cianobacterias tienen la capacidad de fijar el nitrógeno ambiental, lo cual puede resultar benéfico en el caso de los cultivos de microalgas. Casi todas las especies de microalgas requieren de tener un suministro constante de nitrógeno exógeno (principalmente en forma de sales de amonio) con el fin de desarrollarse de una forma correcta (Hannon y col., 2010). Si se desea producir de manera industrial biodiésel proveniente de microalgas, es necesario considerar el generar una manera de obtención del nitrógeno necesario para el desarrollo de las microalgas a partir de la fijación del nitrógeno ambiental, utilizando a las cianobacterias con el fin de obtener compuestos de nitrógeno, los cuales las microalgas utilicen de manera eficiente.

4.3.3 Fósforo

El fósforo es un elemento de particular importancia en el crecimiento celular, así como del metabolismo de las microalgas, a pesar de contener menor del 1% del total de la biomasa de las microalgas, y de que la cantidad requerida en el medio de cultivo es de apenas entre 0.03-0.06% para sostener un correcto crecimiento las mismas. Esto se debe a que es uno de los elementos esenciales que componen a una gran cantidad de moléculas presentes en toda la maquinaria celular, tales como el DNA, RNA, ATP, etc. Este elemento es esencial en todo proceso relacionado con la transferencia de energía (como la fotofosforilación), y

es de particular importancia notar que la fotosíntesis es un proceso que requiere de una gran cantidad de proteínas (como la Rubisco), y que todas esas proteínas son sintetizadas por ribosomas ricos en fósforo (Agren, 2004). Si el medio carece de la cantidad necesaria de fósforo para permitir un desarrollo correcto de las células, éstas tendrán problemas en su metabolismo que las llevará a no proliferar como se esperaría. Cabe también mencionar que el fósforo se asimila preferentemente en forma de fosfatos como las sales de H_2PO_4^- y de $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ (Gauthier y Turpin, 1997; Martínez y col., 1999).

Capítulo 5. Avances y retos en la producción de biodiésel a partir de microalgas

A pesar de que en la actualidad los biocombustibles presentan una presión mínima, se prevé que el aumento en la producción de biodiésel pueda generar problemas significativos con respecto a la cantidad de agua que estaría disponible para uso humano (Domínguez-Faus y col., 2009). Es un hecho que se necesita un mayor volumen de agua con el fin de producir por medio de biocombustibles, la misma cantidad de energía que se obtiene a través de combustibles fósiles, y es por eso que es necesario encontrar formas con las cuales se pueda mitigar este problema derivado de las enormes extensiones de terreno y de agua que se requerirían para obtener los biocombustibles a partir de cultivos (Schnoor y col., 2008).

Uno de los más grandes retos existentes es la enorme cantidad de agua requerida para llevar a cabo cualquiera de los métodos mencionados con anterioridad, ya que esta agua debe de tratar todos los días y sacándola de la luz con el fin de matar cualquier depredador u organismo que pueda estar contaminándola. Se sabe también que un estanque a cielo abierto requiere una cantidad de agua que puede ir desde 32 $L_{\text{agua}}/L_{\text{aceite}}$ hasta cantidades de 656 $L_{\text{agua}}/L_{\text{aceite}}$, ya considerando la cantidad de agua que se pierde por evaporación, agua del proceso de producción de algas y la producción de biodiésel (Harto y col., 2010). A pesar de que estos parámetros de utilización de agua pueden aparentar ser prohibitivos, también se ha demostrado que el agua que se utilizó para el proceso de las microalgas puede ser reutilizada, disminuyendo la cantidad de agua utilizada en un 84% por cada kg. de biodiésel producido (Yang y col., 2011).

La evaporación es un parámetro muy complicado de controlar en los sistemas abiertos al aire libre, afectando de esta manera a este tipo de sistema de cultivo que tiene entre sus ventajas la optimización de tierra disponible en su implementación (Clarens y col., 2010).

Debido a que el tipo de alga dominante en un estanque puede ir desde algas unicelulares pequeñas hasta especies que generan filamentos debido a su agrupación colonial, la cosecha de estas para la conversión en biomasa necesita la disponibilidad de tecnología de cultivos universales con el fin de recuperar cualquier tipo de alga (Shelef y col., 1984), tales como la floculación química o la centrifugación. Sin embargo, y a pesar de lo eficiente que son estos niveles a nivel laboratorio, al escalarse a sus costos se elevan demasiado.

Una vez que ya se tienen cosechadas las algas, otro reto que hay es el extraer los lípidos de ellas. Generalmente se utilizan para este fin las extracciones utilizando la extrusión del aceite de la biomasa, extracción con solventes orgánicos tales como el hexano, y la extracción utilizando CO₂ en estado supercrítico. Si bien este tipo de técnicas han demostrado ser útiles y eficientes para la obtención del aceite a partir de la biomasa de las microalgas, también se ha observado que su aplicación desde el punto de vista de costos puede llegar a ser algo elevada, incrementando en consecuencia los precios del biodiésel que se llegara a obtener (Hannon y col., 2010).

Aunado a esto, el aceite debe de pasar por el proceso de transesterificación con el fin de ser utilizado como combustible ya que, aunque muchos motores pueden funcionar con aceites vegetales, este genera ciertos depósitos en algunos componentes que llegaran a dañarlo (Wimmer, 1995). El proceso de transesterificación tiene la ventaja de ser sencillo, por lo que se ha llegado a considerar que muchas de las grandes empresas del ramo energético poseen los conocimientos necesarios para llevar a cabo las conversiones de aceite procedente de microalgas a biodiésel. Se ha llegado a considerar la factibilidad de solicitar colaboraciones con la industria con el fin de que por medio de la experiencia que ellos poseen, se llegase a disminuir los costos asociados a la transformación de aceite a biodiésel (Hannon y col., 2010).

El cultivo de las algas tiene el reto de obtener una cepa que contenga una gran cantidad de ácidos grasos y que se pueda reproducir en una tasa alta. Esto es debido a que las algas que contienen una gran cantidad de ácidos grasos tienden

a proliferar a una tasa muy lenta (hasta de 10 días para llevar una sola división). Mientras que algas que no poseen tanta cantidad de estos compuestos lo hacen varias veces al día (Becker, 1994). También se sabe que muchas veces, las algas tienden a producir más ácidos grasos cuando tienen pocos nutrientes en su entorno, sin embargo, también es un hecho de que con menos nutrientes estos organismos tienden a multiplicarse más lento.

Se sabe también que el tiempo de residencia hidráulica (TRH) de los biorreactores de estanque también influyen la producción total de lípidos, debido a que el contenido de lípidos en las algas está determinado por la tasa de crecimiento per cápita (r). Debido a que la biomasa obtenida en biorreactores al aire libre debe de ser la máxima que se pueda con largos TRH, y debido a que la capacidad para cultivar esta biomasa también debe de ser la mayor a largos en largos TRH (Benemann y col., 1980 c), se puede decir que la mayor obtención de lípidos de biorreactores de corriente fija al aire libre se puede maximizar usando TRHs mayores a 10 a 15 días, con algas con una tasa de crecimiento menor a 0.1 día^{-1} .

5.1 Optimización de energía para la producción de biodiésel a partir de microalgas

Un asunto de particular importancia que debe de considerarse para realizar el cultivo de algas como una alternativa rentable, es el hecho de que esta alternativa debe ser sostenible por ella misma. Lo que significa que sea deseable que el proceso de conversión de estos microorganismos a biodiésel se convierta en algo rentable, dando como resultado altas ganancias energéticas (Arudchelvam y Nirmalakhadan, 2012). Algunos retos relacionados al problema del mejoramiento de la eficientización energética de estos cultivos, incluyen que en la actualidad no se cuenta con los avances técnicos para lograr que las algas puedan generar biomasa con baja exposición lumínica. Así mismo, tampoco se cuentan con sistemas que soporten una gran densidad de biomasa de las algas así como una alta producción de lípidos para su conversión (Davis y col., 2011; Singh y col., 2011). Además de que, operacionalmente los sistemas actuales requieren de grandes cantidades de energía con el fin de poder llevar a cabo tanto el mezclado

como la recirculación de los cultivos, así como de carecer de fuentes confiables que permitan obtener suministros y abastecimientos eficientes de CO₂ (Norsker y col., 2011; Ugwu y col., 2008).

Análisis económicos realizados recientemente (Davis y col., 2011) han llegado a la conclusión que para reducir sustancialmente los costos de la obtención de biocombustibles y biodiésel, se debe centrar principalmente en maximizar el contenido de lípidos en las algas.

Se han realizado estudios en fotobiorreactores de burbujeo en columna con el fin de mejorar las condiciones que se tienen en ese tipo de sistemas experimentales, ya que en la actualidad este tipo de reactores adolecen de los mismos problemas que los fotobiorreactores de mayor tamaño, pero se pueden controlar las condiciones de manera más sencilla debido al tamaño menor que tienen.

Uno de los problemas experimentales que se ha tenido actualmente en los fotobiorreactores de burbujeo en columna es que la cantidad de gas que se burbujea se ha optimizado de manera que maximiza la producción de biomasa, despreciando el aporte de energía que se le suministra y la cantidad de energía que se puede obtener de la biomasa obtenida.

Por ejemplo, en algunos estudios realizados con la microalga *Nannochloropsis oculata* (Hsueh y col. 2009) se observó que la energía neta del sistema a un óptimo flujo de aire enriquecido por CO₂ (AEC) resultaba ser -12 Wm^3 , mientras que otros estudios (Ge y col., 2011) realizados con la microalga *Botryococcus braunii* la energía neta del sistema utilizado fue de -7.64 Wm^3 .

Muy pocos estudios se han dedicado a optimizar el volumen mínimo de gas para obtener el CO₂ necesario para el cultivo (Q/V) basado en la productividad de la biomasa. Se observó que una cepa de *Chlorella* sp. con un suministro de 5% de CO₂ tenía un Q/V óptimo de 0.2 min^{-1} (Ryu y col., 2009), pudiendo obtenerse productividades de $0.018 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ y una eficiencia de utilización de CO₂ de 0.2%.

Sin embargo, se ha observado que en el caso de que se desee evaluar la energía neta que se puede obtener a partir de los combustibles líquidos, es mejor realizar

estudios cuyo fin sea el optimizar la obtención de lípidos en vez de optimizar toda la biomasa. Así como un estudio realizado con la microalga *Scenedesmus obliquus* SJTU3 (Tang y col., 2011) en donde la cantidad total de lípidos que se podían obtener bajo concentraciones de AEC de 0.03%, 5%, 10%, 20%, 30% y 50% fueron de 15.5%, 16.45%, 19.25%, 19.85%, 19.9% y 24.4% respectivamente. Sin embargo, diversos estudios mencionan que aumentar la concentración de AEC permite obtener beneficios con respecto a la cantidad de lípidos obtenidos (Hsueh y col., 2009; Lv y col., 2010), pero existe un punto en donde la concentración de CO₂ inhibe el desarrollo de biomasa y, por lo tanto, la concentración de lípidos se ve disminuida.

5.1.1 Análisis teórico previo

En el caso de los fotobiorreactores de burbujeado de aire, la energía que se suministra generalmente es gastada en burbujear los medios de cultivo con el fin de mantenerlos mezclados y proveer (en el caso que se el aire suministrado sea AEC) el CO₂ necesario para el desarrollo de las microalgas. Cuando a un cultivo de volumen V (L) se le burbujea un flujo de gas a un ritmo Q (L min⁻¹), el ritmo óptimo de gas para el cultivo Q/V (min⁻¹) debe de seleccionarse con el fin de satisfacer las dos variables mencionadas, considerando la densidad de la biomasa X (g L⁻¹), y a la tasa de crecimiento de los cultivos μ (g L⁻¹ d⁻¹) (Arudchelvam y Nirmalakhadan, 2012).

La energía mínima requerida para mezclar bien los cultivos y mantenerlos en suspensión está determinada a partir de la siguiente ecuación empírica cuando la densidad de la biomasa es menor a 2 g L⁻¹ (Rich, 1982):

$$P_{in} = 4X + 5 \quad (5.1)$$

En donde P_{in} se refiere al suministro de energía por unidad de volumen de cultivo (W m⁻³).

El suministro de energía para mantener un flujo de gas que es burbujeado Q puede ser estimado utilizando la Ecuación 5.2, en donde γ se refiere al peso específico del caldo de cultivo (9800 N m⁻³ para medio fresco; o 9996 N m⁻³ para

medio de agua marina artificial (Hulatt y Thomas, 2011) y H se refiere a la profundidad del cultivo (m).

$$P_{in} = \frac{Q\gamma H}{60V} \quad (5.2)$$

Al combinar las ecuaciones (5.1) y (5.2) se estima el ritmo necesario para mantener un correcto mezclado con el fin de mantener las células en suspensión $(Q/V)_m$:

$$\frac{Q}{V} = \frac{60(4X+5)}{\gamma H} \quad (5.3)$$

Para determinar el requerimiento de CO_2 $M_{req}(\text{g CO}_2 \text{ d}^{-1})$ necesario para mantener el crecimiento del cultivo a una tasa μ , se calcula de la siguiente manera:

$$M_{req} = a\mu V \quad (5.4)$$

Donde:

- a es el contenido de CO_2 en la biomasa (1.833 g CO_2 por cada g de biomasa, asumiendo que hay 0.5 g-C por cada g de alga seca) (Becker, 1994).

La masa mínima de CO_2 que se suministra M_{in} (g $\text{CO}_2 \text{ d}^{-1}$) aunado a asumir que la masa que se transfiere es solamente del gas que se burbujea en el medio y que la eficiencia en la transferencia de CO_2 del gas al líquido es de 100%, está dada por la Ecuación 5.5, en donde:

$$M_{in} = Q \left(\frac{y}{100} \right) \left(\frac{MW}{v_m} \right) 60 \times 24 = 25.9Q y \quad (5.5)$$

Donde:

- y es el contenido de CO_2 (vol/vol%) que se encuentra en el gas que se burbujea al medio.
- v_m es el volumen molas de un gas ideal (24.45 L mol^{-1} , a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y 1 atm. de presión).
- MW es el peso molecular del CO_2 (44 g mol^{-1}).

La relación mínima de gas para cultivar provee del CO_2 necesario para el crecimiento de las algas $(Q/V)_c$ se puede determinar al igualar las ecuaciones (5.4) y (5.5):

$$\left(\frac{Q}{V}\right)_c = \frac{a\mu}{25.9y} \quad (5.6)$$

En el caso de la determinación del ritmo de producción volumétrica de lípidos L (g lípidos $\text{L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) en reactores de lotes, este puede ser determinado por la ecuación (5.7):

$$L = \frac{(X_f f - X_a X_0)}{\Delta t} \quad (5.7)$$

Donde:

- X_0 se refiere a la concentración inicial de biomasa (g de alga seca L^{-1}).
- X_f se refiere a la concentración final de biomasa (g de alga seca L^{-1}).
- f y f_0 están referidas a las concentraciones finales e iniciales de lípidos (g de lípidos por g de alga seca)
- Δt es el tiempo de la producción del lote (días).

Tomando en cuenta la consideración de que la energía que se generaba de la biomasa era equivalente a la cantidad de lípidos que se podían obtener, la cantidad de energía que se obtiene de la biomasa por unidad de volumen P_{out} (W m^{-3}) se estima de la siguiente manera:

$$P_{out} = 0.0116 L\Delta G \quad (5.8)$$

En donde ΔG es la energía equivalente de los lípidos ($38,390 \text{ J (g lípidos)}^{-1}$ (Feinberg, 1984)).

Para determinar la energía neta del sistema de microalgas en un fotobiorreactor de burbujeado en columna por una unidad de volumen de cultivo P_{net} (W m^{-3}) puede determinarse igualando las ecuaciones (5.2) con la (5.8), dando a lugar la ecuación (5.9):

$$P_{net} = P_{out} - P_{in} \quad (5.9)$$

Cabe mencionar que en la ecuación (5.9) no se considera la energía lumínica, ya que solo busca optimizar la energía que se puede obtener del burbujeo en el fotobiorreactor.

5.1.2 Optimización energética experimental de fotobiorreactores de *Nannochloropsis salina*

Con el fin de determinar las condiciones ideales con las cuales se debe de trabajar en un fotobiorreactor de burbujeado en columna, Arudchelvam y Nirmalakhadan (2012) realizaron una serie de experimentos.

Ellos utilizaron como base los datos obtenidos por medio de las ecuaciones mostradas para analizar y maximizar la energía neta que se obtiene a partir de este tipo de sistemas de cultivo.

Para esto se construyó un nomograma igualando (5.2) con (5.6), ilustrando la relación existente entre y , μ , X , H y Q/V determinando el requerimiento del mezclado o de crecimiento que influirían para obtener la Q/V y operar el sistema (Figura 5.1).

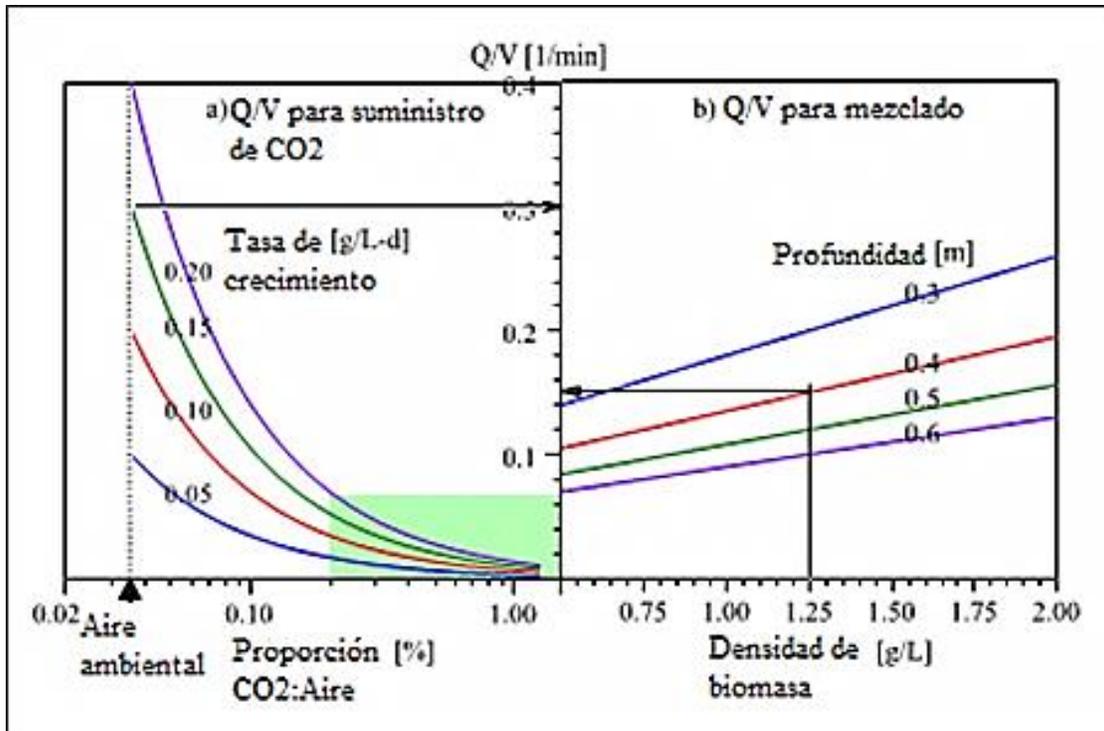


Figura 5.1 Nomograma para identificación de las proporciones mínimas de gas para cultivar, Q/V (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

En el estudio antes mencionado se realizaron una serie de experimentos en donde se analizó como afectan Q/V , el enriquecimiento de CO_2 y la acumulación de lípidos en la ganancia neta de energía utilizando al alga marina *Nannochloropsis salina* (Tabla 5.1).

Cabe mencionar también que en el caso mencionado, los fotobiorreactores utilizados fueron en realidad tubos de vidrio graduados, los cuales fueron adaptados de forma tal que en ellos pudieran funcionar con el fin de permitir el desarrollo de cultivos de algas.

También es de resaltar que los reactores utilizados en el experimento fueron sometidos a intensidades de luz semejantes y controladas para que todos recibieran la misma cantidad de energía lumínica.

A pesar de que se sabe que la luz también juega un papel importante en el desarrollo de biomasa procedente de cultivos de microalgas, además de generar

un gasto energético que se debe de considerar en fotobiorreactores de mayor tamaño.

Tabla 5.1 Determinación experimental del cambio de distintas variables respecto al gasto energético (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

Prueba	No. reactores	Q/V (1/min)	Gas burbujeado	Nitrato (mM)	Objetivo
A	5	0.08, 0.11, 0.14, 0.18, 0.28	Aire ambiental	1	Establecer el Q/V óptimo con aire ambiental
B	9	0.02, 0.03, 0.06, 0.10, 0.18, 0.22, 0.33, 0.5, 1.0	AEC con 0.5% CO ₂	1	Establecer el Q/V óptimo con AEC
C	5	0.18	AEC con 0.5% CO ₂	1, 3, 5, 7, 10	Establecer la cantidad óptima de nitrato para maximizar la producción de lípidos
D	3	0.18	Aire ambiental y AEC con 0.5%, 4.0% CO ₂	0	Evaluar el efecto del CO ₂ en la acumulación de lípidos bajo condiciones de nitrógeno limitado

En las dos primeras pruebas se esperaba que conforme aumentara proporcionalmente Q/V con la biomasa obtenida, así como la tasa de crecimiento,

a pesar de que las condiciones de CO₂ que era burbujeadado al cultivo eran completamente diferentes.

A partir de los resultados obtenidos en la Tabla 5.2, se puede observar la importancia de que exista una suficiente Q/V con el fin de que se pueda mezclar correctamente el cultivo con el aire que se le está suministrando. Así mismo la importancia de que las células de igual manera se encuentren bien suspendidas en el medio y de que el CO₂ suministrado sea el necesario.

Esto se hace evidente cuando se observa tanto las tasas de crecimiento con la densidad de la biomasa obtenida en las pruebas A1, A2, B1, B2, B3 y B4. Que si bien son condiciones diferentes de CO₂ suministrado dan como resultado tanto tasas de crecimiento y densidades de biomasa diferentes. Se puede observar y confirmar que la influencia que ejerce la Q/V sea lo suficiente para sostener tanto el mezclado correcto del cultivo como que pueda suministrar la cantidad suficiente de CO₂. A pesar de eso, se observa también la importancia que tiene el suministrarle CO₂ al cultivo con el fin de aumentar la cantidad de biomasa que se puede obtener. Asimismo, se aumenta la velocidad a la cual los microorganismos se reproducen en el cultivo debido a que se le está suministrando el sustrato necesario para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis, obteniendo al mismo tiempo la cantidad de carbón necesaria para aumentar la cantidad de biomasa en el cultivo.

Tabla 5.2 Q/V requerido para mezclado vs. Q/V requerido para suministro de CO₂ en prueba A y B (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

Prueba	Reactor	CO ₂ en el aire burbujeado	Densidad de biomasa máxima (g L ⁻¹)	Tasa de crecimiento (g L ⁻¹ d ⁻¹)	de Q/V		
					Exp. (min ⁻¹)	Calc ^a (min ⁻¹)	Calc ^b (min ⁻¹)
A	A1	0.035	0.43±.007	0.04±.003	0.08	0.12	0.08
	A2	0.035	0.46±.015	0.04±.002	0.11	0.13	0.09
	A3	0.035	0.50±.011	0.05±.001	0.14	0.13	0.10
	A4	0.035	0.65±.006	0.06±.002	0.18	0.14	0.12
	A5	0.035	0.70±.002	0.08±.001	0.28	0.14	0.17
B	B1	0.5	0.80±.065	0.12±.002	0.02	0.15	0.02
	B2	0.5	0.87±.030	0.12±.005	0.03	0.16	0.02
	B3	0.5	1.02±.002	0.13±.002	0.06	0.17	0.02
	B4	0.5	1.04±.020	0.14±.001	0.10	0.17	0.02
	B5	0.5	1.14±.085	0.16±.000	0.18	0.18	0.02
	B6	0.5	1.20±.002	0.16±.006	0.22	0.18	0.02
	B7	0.5	1.22±.023	0.16±.004	0.33	0.18	0.02
	B8	0.5	1.21±.012	0.16±.004	0.50	0.18	0.02
	B9	0.5	1.24±.021	0.16±.005	1.00	0.18	0.02

De particular importancia que al utilizar la Ecuación 5.1 permite calcular la cantidad mínima de energía que es requerida para llevar a cabo el mezclado correcto del cultivo.

A partir de los resultados obtenidos, se puede observar que una mayor de energía en el mezclado del cultivo (Figura 5.2) da como resultado el aumento de la cantidad de biomasa a partir de las algas, existe un punto donde, la cantidad de

biomasa que se pueda obtener ya no podrá seguir aumentando. Esto debido a que las condiciones mismas del reactor y de los mismos nutrientes del cultivo ya no lo harán posible. Por lo que, seguir aumentando la cantidad de energía se considera como algo inútil, generando mayores gastos en vez de generar beneficios económicos.

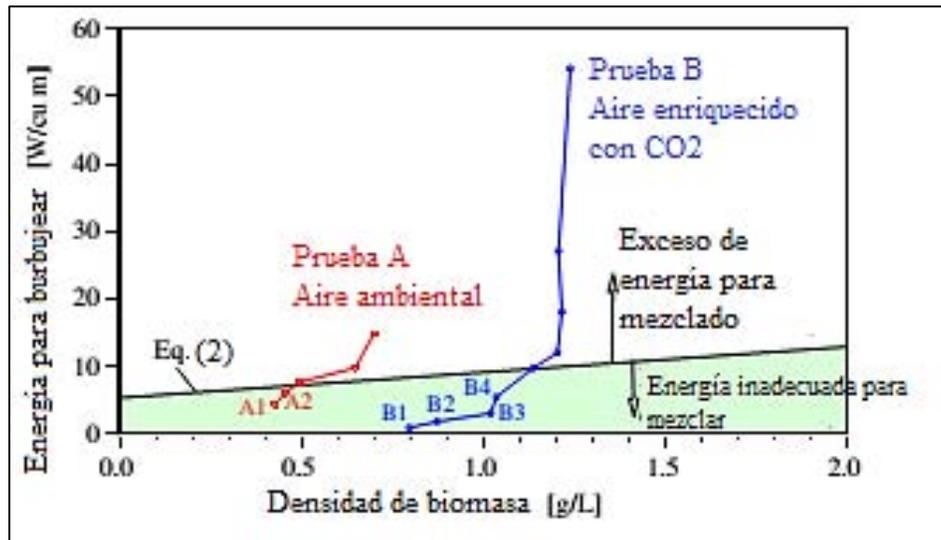


Figura 5.2 Energía de burbujeador vs densidad de biomasa obtenida (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

La lógica indica que la cantidad de lípidos que se pueden obtener de las microalgas también debe de aumentar proporcionalmente a la biomasa que se vaya obteniendo. Sin embargo, experimentalmente se ha observado que esa afirmación no es del todo cierta ni completa, ya que si bien es correcto de que ciertas algas producen una gran cantidad de lípidos como resultado del metabolismo que llevan a cabo, en muchos de los casos es necesario brindarle las condiciones necesarias para que estos puedan alcanzar las máximas concentraciones en las microalgas. Se tiene conocimiento que las algas son capaces de incrementar la acumulación de lípidos cuando estas se encuentran en condiciones de falta de nitrógeno (Li y col., 2008 a), aunque se debe de tomar en cuenta que para que el proceso sea rentable, de debe observar un enfoque en

donde se logre el maximizar tanto los contenidos de lípidos dentro de las algas, así como la producción de estas mismas moléculas.

Tal como se puede observar en la Tabla 5.3, la tasa de crecimiento de las algas no se incrementa sustancialmente con las diferentes concentraciones de nitrato en el medio. Primero el nitrato que se le agregó es consumido por las células hasta el punto en donde comienza a ser limitante para el crecimiento. Tal y como se acaba de mencionar, es de esperar que a pesar de que la tasa de crecimiento es constante para las diferentes concentraciones de nitrato, los cultivos que han sido inoculados con una menor cantidad de nitrato alcanzarán su fase estacionaria de crecimiento antes que aquellos que han sido inoculados con una mayor cantidad. Lo cual al final repercutirá también en la densidad de biomasa que se puede obtener después de los tiempos que se mantengan los cultivos (Arudchelvam y Nirmalakhadan, 2012).

Tabla 5.3 Producción de lípidos con respecto a nitrato (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

Prueba. Q/V utilizado = 0.18 min⁻¹. Biomasa inicial = 0.094 g/L					
	C1	C2	C3	C4	C5
Concentración de nitrato (mM)	1	3	5	7	10
Concentración de biomasa (g L⁻¹)	1.47±.007	1.78±.015	1.92±.011	1.99±.006	1.96±.022
Tasa de crecimiento (g L⁻¹ d⁻¹)	0.158±.003	0.160±.002	0.162±.002	0.160±.004	0.158±.003
Productividad de biomasa (g L⁻¹ d⁻¹)					
A 10 días	0.090±.003	0.114±.001	0.111±.010	0.109±.008	0.111±.003
A 30 días	0.046±.001	0.056±.006	0.061±.012	0.063±.011	0.061±.025
Lectura de la Radiación Fotosintéticamente activa en el centro del reactor (μmol m⁻² s⁻¹)					
A 10 días	70±3.0	61±1.4	54±1.4	56±0.7	55±2.1
A 30 días	52±5.0	33±2.5	19±4.2	22±1.3	20±3.4
Contenido de lípidos (%)					
A 10 días	67.8±1.5	51.9±2.2	49.8±4.5	51.2±2.3	52.1±3.8
A 30 días	n/a	49.6±3.5	47.0±3.0	47.0±1.7	46.4±2.9
Productividad de lípidos (g L⁻¹ d⁻¹)					
A 10 días	0.060±0.00	0.058±0.00	0.055±0.00	0.057±0.00	0.059±0.00
	2	4	2	2	4
A 30 días	-	0.028±0.00	0.028±0.00	0.030±0.00	0.027±0.00
		1	2	1	4

De igual forma se observó, el caso donde la concentración de nitrato adicionada fue menor que el contenido de los lípidos que se produjeron.

Esto fue mucho mayor a los otros casos en donde las cantidades de nitrato adicionados fue mayor, además de que se puede observar si un cultivo es dejado por más tiempo con el fin de que se pueda obtener una gran cantidad de lípidos y por ende de energía neta (Figura 4.3).

Lo que realmente se obtiene es gasto energía que se utiliza con el fin de burbujear el gas al cultivo de algas además del utilizado para llevar a cabo un buen mezclado del mismo.

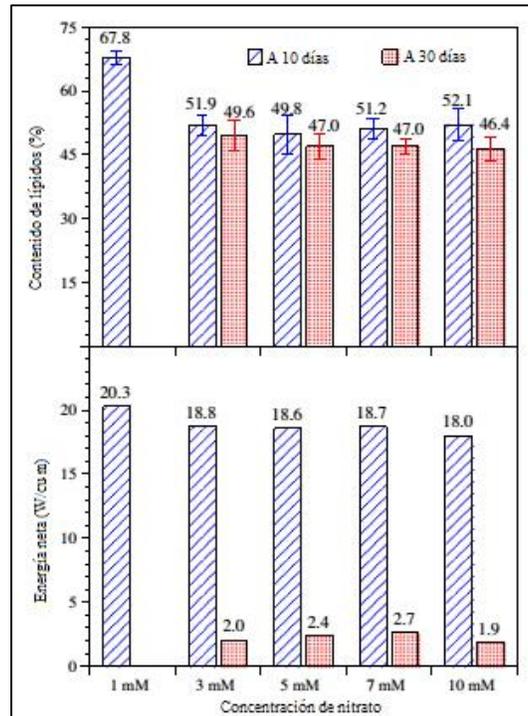


Figura 5.3 Contenido de lípidos y energía neta obtenida vs concentración de nitrato en cultivo (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

Otros estudios realizados con anterioridad (Chiu y col., 2008; Li y col., 2008 a; Takagi y col., 2000), mencionan que la limitación de nitratos generará una mayor acumulación de lípidos en las microalgas. Esto hace que sea necesario que los

reactores con los cuales se espera obtener este producto, contengan concentraciones adecuadas de nitrato. Además de que es necesario que proporcionen el estrés óptimo al cultivo, esto con el fin de obtener la máxima cantidad de lípidos sin afectar la cantidad de energía neta que se puede obtener. Se debe de tomar en cuenta que las concentraciones de nitrato varían dependiendo de las tasas de crecimiento, la densidad de la biomasa del cultivo y de las mismas algas.

Junto a las condiciones óptimas para llevar a cabo las incubaciones de los cultivos de algas, y con el fin de maximizar la cantidad de biomasa obtenida, agregar CO₂ extra en el aire que se burbujea a los cultivos de algas, maximiza la cantidad de biomasa y mejora el rendimiento del reactor. Si bien el aumento de la cantidad de CO₂ permite obtener una mayor cantidad de biomasa de algas, debido a que se está favoreciendo el proceso de fotosíntesis (Tang y col., 2011), también se sabe que cuando las algas se encuentran en condiciones donde existe la falta de nitrógeno, las células comienzan a utilizar las moléculas de clorofila que tienen acumuladas para obtener el nitrógeno que necesitan para su desarrollo (Li y col., 2008) (Figura 5.4).

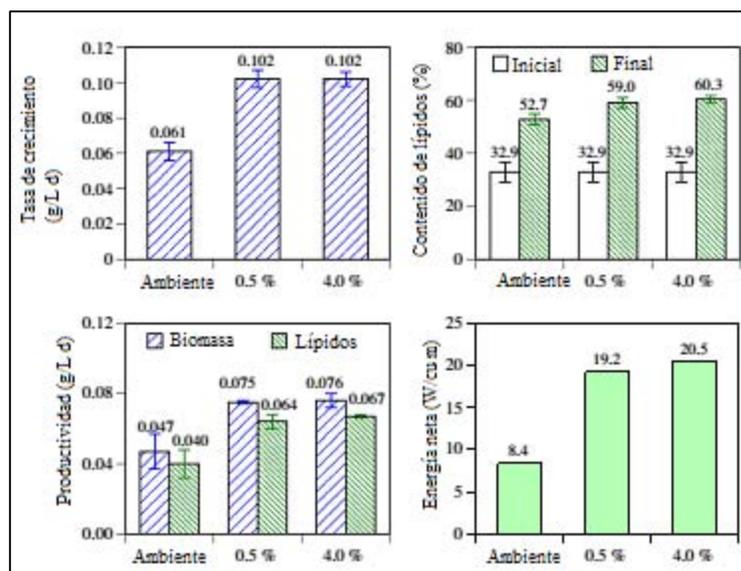


Figura 5.4 Efecto del enriquecimiento de CO₂ sobre el crecimiento de algas limitado de nitrógeno (Arudchelvam y Nimarlakhadan, 2012)

Si bien el limitar la cantidad de nitrógeno puede llevar a un incremento considerable en la cantidad de lípidos que se puedan almacenar en las algas, se debe de considerar que la productividad de la biomasa puede disminuir al mismo tiempo, lo que irremediablemente llevaría a la disminución en la producción neta de lípidos (Ho y col., 2010; Li y col., 2008 a). Por lo que, en algunos trabajos (Ho y col., 2010) se ha llegado a proponer, que si se desea el maximizar la cantidad de lípidos, se podría llevar a cabo una estrategia de dos pasos. El primer paso se debe buscar maximizar la cantidad de biomasa que se puede obtener de las algas. En un segundo paso se podría pasar la biomasa obtenida a un medio en donde se tenga una concentración limitada de nitratos y enriquecido con CO₂ para maximizar los lípidos a partir de una gran concentración de biomasa de algas.

5.2 Perspectiva de costos de producción de biodiésel a partir de microalgas

El costo estimado para la producción de un kilogramo de biomasa de microalgas es de US\$2.95 utilizando fotobiorreactores, y de US\$3.80 utilizando circuitos a cielo abierto, teniendo a consideración que el CO₂ utilizado por las microalgas no tiene ningún costo (Humphreys, 1991; Molina-Grima y col., 2003).

Sin embargo, tomando en cuenta que la capacidad de producción se incrementara a 10,000 t, los costos de producción por kilogramo podrían disminuir hasta llegar a US\$0.47 en el caso de la biomasa producida por fotobiorreactor. En el caso de la obtenida a partir de circuitos a cielo abierto costaría US\$0.60, esto realizando el respectivo escalamiento en los costos de producción. En el caso que las microalgas utilizadas tengan un rendimiento de 30% de aceite con respecto al peso seco de ellas, el costo de la biomasa necesaria para obtener un litro de aceite de ella sería aproximadamente de US\$1.40 en el caso de provenir de fotobiorreactores y de US\$1.81 en caso de provenir de circuitos a cielo abierto. Esto tomando a consideración que el proceso de recuperación contribuye con un 50% del costo total de la recuperación del aceite (Chisti, 2007).

Para el caso que se desee que los aceites provenientes de microalgas puedan sustituir a los aceites provenientes del petróleo como fuentes de hidrocarburos es necesario que sus precios se encuentren relacionados de la siguiente manera:

$$C_{aceite\ algal} = 6.9 \times 10^{-3} C_{petróleo} \quad (5.10)$$

Dónde:

- $C_{aceite\ algal}$ (US\$ por litro) es el precio del aceite procedente de algas
- $C_{petróleo}$ es el precio en US\$ por barril de petróleo crudo

Por ejemplo, utilizando la Ecuación 5.10, en el caso de que el precio del petróleo crudo es de US\$60/barril, el precio del aceite procedente de algas no debe de ser superior a US\$0.41 para que esta pueda ser considerada como un sustituto de elección con respecto al aceite de petróleo. Es de notar que la Ecuación (5.10) tiene como consideración que el aceite de algas posee aproximadamente un 80% la capacidad energética del petróleo.

Con el fin de disminuir los costos asociados se ha buscado desarrollar diferentes técnicas que permitan obtener mayores rendimientos a partir de las algas utilizadas. A pesar de que las microalgas presentan un gran potencial para sustituir en gran medida una buena parte de la demanda de combustibles fósiles, los costos actuales que se tienen que cubrir con el fin de poder fabricar el biodiésel lo hacen ser algo poco factible.

Es por eso que se han buscado alternativas con el fin de disminuir los costos de producción de alguna manera para hacer el proceso rentable. Algunos ejemplos son:

- El tener una estrategia de producción en biorrefinerías.
- Mejorar la biología de las microalgas.
- Diseñar fotobiorreactores más avanzados.
- Seleccionar tecnologías que efficienten la cosecha.
- El secado de la biomasa para la obtención de aceites.

5.2.1 Estrategia de producción de biodiésel de microalgas basada en biorrefinerías

Esta técnica tiene sus bases en que tal y como sucede con el petróleo al refinarse en diferentes compuestos, las biorrefinerías utilizarían todos los componentes

obtenidos de la biomasa para obtener productos útiles. Lo que llevaría a la consecuentes disminución de costos de producción de todas cosas que de allí se pudiesen obtener (Chisti, 2007).

En la actualidad este tipo de refinerías están siendo operadas en Canadá, Estados Unidos y Alemania para la producción de biocombustibles a partir de cultivos de maíz y de soya. Sin embargo, es un hecho que está cerca el aprovechamiento de la biomasa obtenida a partir de algas que se pueden utilizar con el fin de disminuir los costos asociados a la producción de biodiésel de algas.

Esto es debido en parte al hecho de que la biomasa de las algas contiene cantidades significativas de proteínas, carbohidratos y otros nutrientes que pueden ser aprovechados de muchas formas (Chisti, 1999). Por ejemplo, la biomasa residual resultante de la producción de biodiésel puede ser utilizada como alimento de animales, así como ser procesada por medio de digestión con el fin de producir metano que puede ser utilizado en la generación de energía eléctrica, con el fin de disminuir los costos de la producción de biodiésel (Figura 5.5). Cabe mencionar que si bien la biomasa puede ser digerida directamente para la producción de metano (Mata-Alvarez y col., 2000; Raven y Gregersenn, 2007), su bioconversión resulta ser menos eficiente que otros sustratos disponibles. La viabilidad económica de la producción de biodiésel debería de ser, en teoría, aumentada por una estrategia integral que incluya darle un valor agregado obtenido a los coproductos de la producción (Li y col., 2008 b).

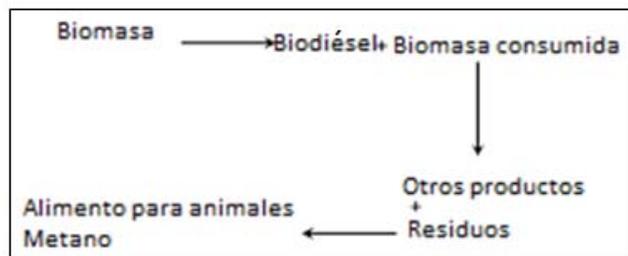


Figura 5.5 Esquema simplificado de una refinería de biodiésel (Chisti, 2007)

Idealmente la biorrefinería debe seguir un proceso secuencial en donde se tengan instalaciones para llevar a cabo el cultivo de las microalgas (mitigación de CO₂),

extracción de los productos biorreactivos de la biomasa cultivada, procesamiento térmico (pirólisis, licuefacción o gasificación), extracción de productos de alto valor de las fases líquidas, gaseosas o sólidas, y refinado de los compuestos resultantes para la obtención de biocombustibles para diferentes aplicaciones (Li y col., 2008b).

Todo esto siendo posible debido a que la biomasa obtenida puede tratarse por medio de diferentes técnicas a partir del conocimiento previo que se tenga de lo que puede producir la microalga así como de lo que se desee obtener (Figura 5.6).

Además de que a partir del conocimiento que se tenga de la biología y de los procesos metabólicos del microorganismo, se pueden llevar a cabo procesos biotecnológicos relacionados con la modificación de ciertas rutas que pueda utilizar el microorganismo para la producción de productos de interés industrial. Ya sea que se obtenga una mayor cantidad de lípidos y que puedan incluso ser más fáciles de procesar y separar de otros compuestos de interés.

También es de particular importancia mencionar que las microalgas tienen la capacidad de producir una gran variedad de compuestos bioactivos con alto valor comercial. Esto debido a que pueden utilizarse en la industria farmacéutica, alimenticia y de los pigmentos naturales (Jiang, 2000; Oh y col., 2003) (Figura 5.6).

Algunos ejemplos de compuestos de alto valor que pueden ser obtenidos a partir de la refinación de metabolitos de algas son ácidos acetílicos, β -caroteno, vitamina B, astaxantina, ácidos grasos poliinsaturados y luteína (Tabla 5.4)

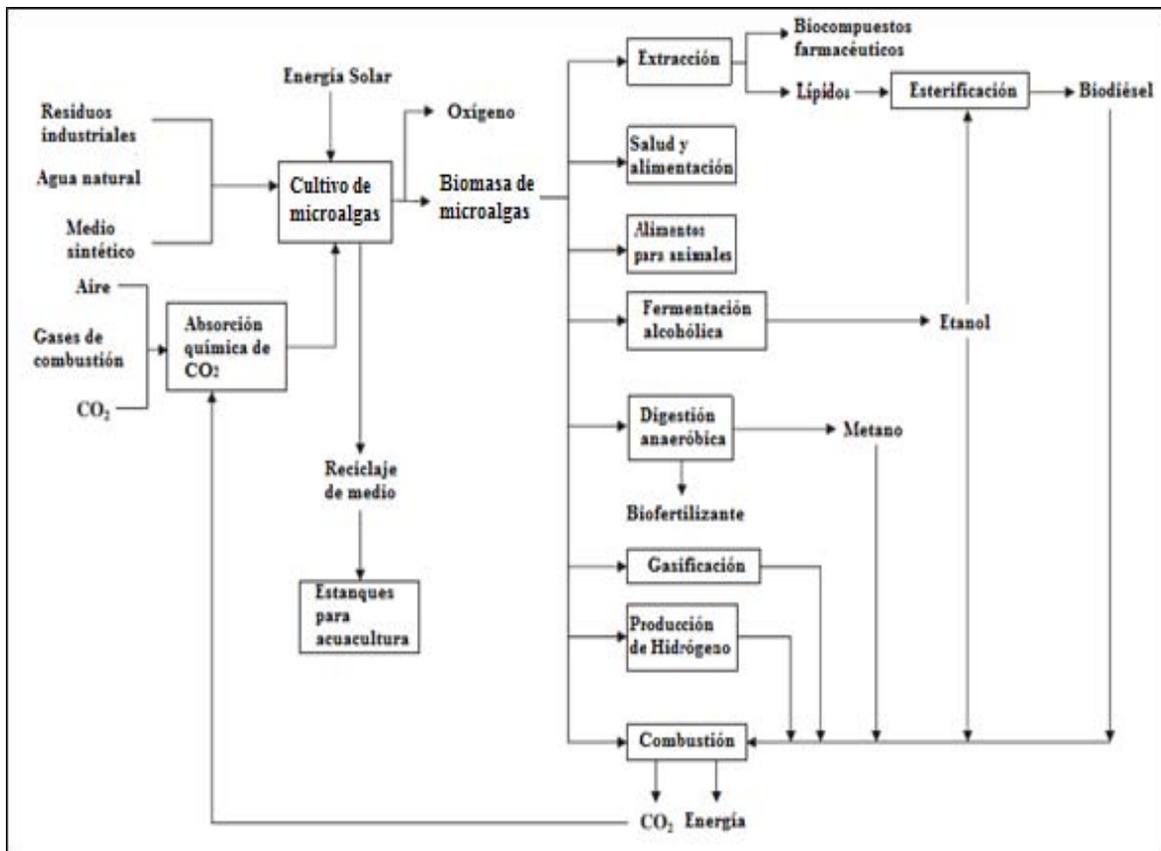


Figura 5.6 Diagrama de flujo del potencial existente en la biomasa de microalgas (Costa y De-Morais, 2011)

Tabla 5.4 Algunos productos obtenidos de microalgas (Li y col., 2008 b)

Productos	Aplicaciones	Ejemplos (productor)
Ficobiliproteínas carotenoides	Pigmentos, cosméticos, provitaminas, pigmentación	-Ficocianina (<i>Spirulina platensis</i>) -β-caroteno (<i>Dunaliella salina</i>) -Astaxantina y luteína (<i>Haematococcus pluvialis</i>)
Ácidos grasos poliinsaturados	Aditivos alimenticios, nutraceuticos	-Ácido eicosapentaenoico (<i>Chlorella minutissima</i>) -Ácido docosahexaenoico (<i>Schizochytrium</i> sp.) -Acido araquidónico (<i>Parietochlorisincise</i>)
Vitaminas	Nutrición	-Biotina (<i>Euglena gracilis</i>) -A-tocoferol (Vitamina E) (<i>Euglena gracilis</i>) -Ácido ascórbico (Vitamina C) (<i>Prototheca moriformis</i> , <i>Chlorella</i> Spp.)

5.2.2 Mejoramiento de la biología de las microalgas

A pesar de que las ingenierías genética y metabólica presentan un enorme potencial para impactar positivamente los factores económicos de la economía de la producción de biodiésel a partir de microalgas (Dunahay y col., 1996; Roessler y col., 1994), la modificación genética de microalgas ha recibido poca atención por parte de los especialistas (León-Bañares y col., 2004). Algunos de los beneficios potenciales de la modificación a nivel molecular son los siguientes:

- Incrementar la eficiencia fotosintética para permitir el aumento del rendimiento de obtención de biomasa con la luz.
- Incrementar la tasa de crecimiento de biomasa.
- Incrementar el contenido de aceite en la biomasa.
- Mejorar la tolerancia a los cambios de temperatura para disminuir los costos en la refrigeración del cultivo.
- Eliminar el fenómeno de saturación lumínica con el fin de que el crecimiento continúe incrementándose en respuesta al incremento de la cantidad de luz recibida.
- Reducir la foto inhibición que reduce la tasa de crecimiento con la intensidad lumínica del medio día que ocurre en las zonas tropicales
- Reducir la susceptibilidad a la foto-oxidación que daña a las algas.

5.2.3 Diseño del fotobiorreactores avanzados

A pesar de que el diseño y operación de los fotobiorreactores se ha ido optimizando en los últimos tiempos, en la actualidad todavía presentan algunos problemas que deben resolverse.

Los tubos del fotobiorreactor que operan con una alta densidad de cultivo para obtener una alta productividad, inevitablemente presentan una zona central en donde la iluminación de las células es mucho menor a la que se da en las zonas periféricas de los tubos (Molina-Grima y col., 1999; Molina-Grima y col., 2001). La turbulencia que se lleva dentro de los tubos del fotobiorreactor generan que el fluido que se encuentra circulando a través de ella cambie rápidamente entre las zonas iluminadas y oscuras (Molina-Grima y col., 2000; Molina-Grima y col., 2001). En condiciones de exceso de irradiación externa, el ciclo de luz-oscuridad en ciertas frecuencias pueden ayudar a incrementar la productividad de la biomasa comparado al caso en donde la misma intensidad de luz es irradiada continuamente el mismo tiempo (Camacho-Rubio, 2003; Grobbelaar, 1994; Grobbelaar y col, 1996; Nedbal y col., 1996; Phillips y Myers, 1953; Terry, 1986). Los efectos benéficos de un ciclo rápido de luz-oscuridad bajo condiciones de saturación lumínica se deben a que un corto periodo de oscuridad durante la

fotosíntesis, permite que los organelos encargados de llevar a cabo ese proceso puedan recuperarse de un estado de excitación a un momento previo a ese evento.

El ciclo luz-obscuridad permite obtener un aumento en la producción de algas, pero resulta ser complicado para llevarlo a cabo en su escalamiento. Por ello, se propone una turbulencia para un cultivo denso. Esto asegura que las células en el cultivo no residan mucho tiempo en la zona de buena iluminación, así como en la zona mal iluminada, brindando el cambio de luz-obscuridad necesarios para la mejorar el rendimiento de la producción de algas.

Esto se realizaría instalando mezcladores fijos dentro de los tubos del fotobiorreactor que podrían utilizarse para mejorar de manera substancial el mezclado entre la zona periférica (bien iluminada) con la zona central (zona mal iluminada) (Molina-Grima y col., 1999; Sánchez-Mirón y col., 1999). El problema es que a pesar de que este tipo de mezcladores han resultado ser útiles para muchos tipos de reactores tubulares, los resultados obtenidos en los fotobiorreactores tubulares no son satisfactorios debido a que los mezcladores reducen la penetración de la luz en los tubos.

Se debe de considerar también que las células de las microalgas pueden ser dañadas si existe una intensa fuerza hidrodinámica, como las que pueden llegar a ocurrir en las tuberías, bombas y tanques de mezclado de los reactores y fotobiorreactores (Chisti, 1999; García-Camacho y col., 2001; García-Camacho y col., 2007; Mazzuca-Sabczuk y col., 2003).

Algunas algas crecen preferentemente adheridas a las paredes internas de los tubos de los fotobiorreactores generando biopelículas, lo cual evidentemente evita que la luz pueda penetrar correctamente dentro del tubo, reduciendo la productividad del fotobiorreactor. Esto actualmente se evita por medio de métodos tales como:

- Uso de burbujas grandes de aire con el fin de purgar las paredes de la superficie interna del tubo

- Uso de pelotas que puedan circular ajustadamente sobre el tubo con el fin de limpiar la superficie interna
- Flujo altamente turbulento del cultivo
- Suspender arena o partículas abrasivas dentro del fotobiorreactor con el fin de abrazar toda biomasa que se encuentra adherida en la superficie interna de los tubos (Chisti, 2007).

5.2.4 Selección de tecnologías que aumenten la eficiencia en el cultivo y secado de biomasa de microalgas

Dada la baja concentración que se presenta en los diferentes tipos de cultivo de microalgas (en intervalos de 1-5 g/L) y el pequeño tamaño de las células (entre 2 a 20 μm de diámetro) (Li y col., 2008 b), el consumo entre costo y energía del cultivo de la biomasa generan preocupaciones que necesitan ser solucionadas para disminuir costos. Diferentes tecnologías que incluyen floculación, floculación biológica, filtración, centrifugación y agregación ultrasónica (Li y col., 2008 b) son estudiadas en el cultivo de biomasa procedente de microalgas. Si bien la floculación tanto química y biológica son baratas en su operación, estas requieren un tiempo largo de procesamiento para generar la degradación de los productos biorreactivos. Por otra parte, la filtración, centrifugación y agregación ultrasónica suelen tener costos más altos de operación, aunque estos también presentan una eficiencia mayor en el cultivo de la biomasa.

En la actualidad el proceso que se ha utilizado más extensamente debido a que presenta una relación costo/beneficio mayor es el secado por el sol. Aunque como sucede en los casos de los dos tipos de floculación, se requiere de un elevado tiempo de secado además de amplias zonas donde se pueda llevar a cabo, pudiendo ocasionar la pérdida de productos biorreactivos que pudiesen utilizarse para generar un valor agregado extra a la producción del biodiésel. Métodos de secado más eficientes son investigados en la actualidad con el fin de observar su viabilidad en el secado de microalgas. Algunas técnicas son el secado en tambores (Prakash y col., 1997), secado en aerosoles (Desmorieux y Decaen, 2006; Leach y col., 1998), secado en camas fluidizadas (Leach y col., 1998),

secado frío (Millamena y col., 1990) y tecnologías de deshidratación refractaria (Nindo y Tang, 2007).

Capítulo 6

Conclusiones

Conforme a los objetivos que se plantearon al inicio de este trabajo, se pudo dar a conocer el estado actual sobre los avances existentes en la obtención de biodiésel a partir de microalgas, así como los beneficios ambientales y económicos que se pueden obtener en su implementación a gran escala.

En la actualidad existe una gran variedad de biocombustibles a partir de diferentes fuentes renovables, todos con ventajas y desventajas tanto en su obtención como en su implementación.

Una parte importante de los biocombustibles que existen en la actualidad, poseen como desventajas el requerir una gran cantidad de tierra para poder obtener la materia prima, o que la materia prima de donde se obtienen es necesaria como fuente de alimentación, y por lo tanto se ha llegado a considerar que son inviables para poder ser utilizados a gran escala.

El caso de las microalgas es interesante debido a que, como se expuso en este trabajo, no requieren de una gran cantidad de espacio para poder replicarse, así como existen cepas y variedades que pueden producir una gran cantidad de aceite al momento de replicarse.

Si bien la investigación de estos microorganismos como proveedoras de materia prima para biodiésel lleva dándose desde hace algo de tiempo, es hasta ahora que se ha llegado a considerar de forma importante el que puedan serlo, debido principalmente a las desventajas observadas en las fuentes convencionales de biocombustibles.

El hecho de que se pueda obtener biodiésel a partir de estos microorganismos, entre las ventajas que tiene que se puedan cultivar en un espacio pequeño y con nutrientes relativamente fáciles de obtener, presenta una valiosa oportunidad debido a que el biodiésel es un combustible que requiere muy pocos cambios en

los motores de combustión interna para hacerlos funcionar de manera correcta, cosa que no sucede en el caso del etanol y el hidrógeno.

A pesar de esto, el uso comercial del biodiésel todavía se encuentra en etapas tempranas de su desarrollo, y es necesario que se superen algunos problemas técnicos consistentes en su refinación y su utilización en los motores.

De igual manera, se mostró que a pesar de existir una gran semejanza entre el biodiésel convencional y el proveniente de microalgas, es necesario llevar procesos de mejor refinamiento del aceite obtenido de las microalgas debido a que este puede venir contaminado por componentes celulares y otras moléculas que poco o nada benefician el proceso de transesterificación.

En este trabajo se expuso también que, si bien la producción de biodiésel puede llegar a ser rentable por sí misma, en el caso del biodiésel proveniente de microalgas se pueden obtener otros productos que hagan más redituable el proceso, por lo cual se sugiere que, en el caso de producción a gran escala, este lleve un último paso de refinación para poder obtener todos esos productos metabólicos que le den valor agregado.

Con este trabajo se buscó presentar un panorama amplio sobre los conocimientos actuales en las técnicas actuales que existen en la producción de biodiésel, con énfasis en las microalgas.

Esto debido a que el crecimiento de la población humana, y su consecuente aumento en el consumo de combustibles y alimentos, ha llevado al ser humano a buscar alternativas que permitan sustituir la dependencia a los combustibles fósiles sin afectar al ambiente y sin afectar en lo posible la capacidad que se tiene en la actualidad de poder producir alimentos para la alimentación.

Si bien las microalgas por si solas no son una solución completa a la problemática de la sustitución de los combustibles fósiles, si se maneja por medio de una estrategia integral en donde además de utilizarlas para sustituir una parte de las necesidades energéticas humanas en conjunto a otras estrategias, se puede llegar a beneficiar a la humanidad.

En el trabajo se expuso que ecológicamente, las microalgas benefician a la población al consumir parte de los gases de efecto invernadero con el fin de poder llevar a cabo los procesos fotosintéticos necesarios para su propagación.

Esto puede llevar a considerar que el CO₂ que se produzca al quemar la diversa variedad de biocombustibles que se pueden utilizar, resultará ser ambientalmente neutro debido a que las microalgas consumirían el CO₂ que producen con el fin de seguirse replicando.

En el trabajo se expuso que de igual manera, las microalgas cultivadas con el objetivo de la obtención de aceite para producción de biodiésel y derivados pueden generar beneficios ecológicos al ayudar en el proceso de biorremediación de aguas residuales, degradando moléculas de metales pesados y quitándolas del agua.

Esto permitiría el desarrollo de una estrategia integral de biorrefinerías en zonas altamente contaminadas, donde se pudiese obtener fácilmente el CO₂ necesario para el desarrollo de las microalgas, además de tratar agua contaminada por metales pesados provenientes de zonas industrializadas, logrando un beneficio amplio al medio ambiente y a la población que rodea las zonas.

Glosario

Algas	Grupo de organismos acuáticos, fotosintéticos y eucariotas, unicelulares o pluricelulares. Poseen generalmente clorofila, aunque carecen de raíces, tallos y hojas características de las plantas terrestres.
Biocombustible	Combustible obtenido mediante el tratamiento físico o químico de materia vegetal o de residuos orgánicos.
Biodiésel	Biocombustible líquido obtenido a partir de lípidos naturales mediante procesos industriales de esterificación y transesterificación, utilizado como sustituto parcial o total de combustibles obtenidos del petróleo.
Biomasa	Materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía.
Cianobacterias	Grupo de procariontes, caracterizados por ser en su mayoría fotosintéticos, ser verde-azules, unicelulares o filamentosas y capaces de fijar nitrógeno.
Floculación	Agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal, en general por la adición de algún agente.
Fotobiorreactor	Instrumentos que generan productos biológicos a partir de la energía lumínica. Se utilizan para la generación controlada de biomasa de cianobacterias, algas y hongos.
Microalga	Algas unicelulares microscópicas que se pueden encontrar tanto en cuerpos de agua salada como en cuerpos de agua dulce.
Tiempo de Residencia Hidráulica	Tiempo promedio en que tarda en salir un volumen de agua que entra a un depósito.
Transesterificación	Reacción entre un éster de un alcohol y otro alcohol que da como resultado el éster del segundo alcohol y el alcohol del éster original.
Triglicérido	Éster obtenido de la esterificación con ácidos grasos de los 3 grupos hidroxilos del glicerol, obtenidos naturalmente en los animales y vegetales. Son una fuente importante de energía en el cuerpo.

Referencias Bibliográficas

- Abd-El-Baky, H.H., El-Baz, F.K. y El-Baroty G.S. 2004. Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*. ***Intl. J. Agric. Biol.*** 6(1):49-57.
- Acién-Fernández, F.G., Fernández-Sevilla, J.M., Sánchez-Pérez, J.A., Molina-Grima, E. y Chisti, Y. 2001. Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. ***Chem. Eng. Sci.*** 56:2721-2732.
- Agren, G.I. 2004. The C:N:P stoichiometry of autotrophs—theory and observations. ***Ecol. Lett.*** 7:185-191.
- Akkerman, I., Janseen, M., Rocha, J. y Wijffels, R.H. 2002. Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design. ***Int. J. Hydrogen Energy.*** 27:1195-1208.
- Alonso, D.L., Belarbi, E.H., Fernandez-Sevilla, J.M., Rodriguez-Ruiz, J. y Grima, E.M. 2000. Acyl lipid composition variation related to culture age and nitrogen concentration in continuous culture of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. ***Phytochemistry.*** 54:461-471.
- Arudchelvam, Y. y Nirmalakhandan, N. 2012. Optimizing net energy gain in algal cultivation for biodiésel production. ***Bioresour. Technol.*** 114:294-302.
- ASTM, 2002. Standard Specification for Biodiésel Fuel (B100) Blend Stock for Distillate Fuels. Publicación de American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EE.UU.
- Atici, T.O., Obali, A., Altindag, S., Ahiska y Aydin, D. 2010. The accumulation of heavy metals (Cd, Pb, Hg, Cr) and their state in phytoplanktonic algae and zooplanktonic organisms in Beysehir Lake and Mogan Lake, Turkey. ***African J. Biotechnol.*** 9:475-487.

- Barthel, L., Victoria-de-Oliveira, P.A. y Ribeira-da-Costa, R.H. 2008. Plankton biomass in secondary ponds treating piggery waste. ***Brazil Arch. Biol. Technol.*** 51:1287-1298.
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge, NY, EE.UU.
- Beilen, J. 2010. Why microalgal biofuels won't save the internal combustion machine?. ***Biofuels Bioprod. Bioref.*** 4:41-52.
- Belarbi, E-H., Molina-Grima, E. y Chisti, Y. 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. ***Enzyme Microb. Technol.*** 26:516-529.
- Benemann, J.R. 1997. CO₂ mitigation with microalgae systems. ***Energy Convers. Mgmt.***38(Suppl): S475-S479.
- Benemann, J.R., Koopman, B.L., Weissman, J.C. y Oswald, W.J. 1977. Solar energy conversion with microalgal sewage treatment ponds. ***Proc. Ann. Meet. Am. Sect. Int. Sol. Energy.***Golden, CO, EE.UU.
- Benemann, J.R., Koopman, B.L., Weissman, J.C., Eisenberg, D.M. y Oswald, W.J. 1978. An integrated system for the conversion of solar energy with sewage-grown micro-algae. Reporte final. Publicación de San. Engrs. Res. Lab. Universidad de California. Berkeley, EE.UU.
- Benemann, J.R., Koopman, B.L., Weissman, J.C., Eisenberg, D.M. y Goebel, P. 1980. Development of microalgae harvesting and high-rate pond technologies in California. En: *Algae Biomass*. Editado por Shelef, G. y Soeder, C.J. Pág. 457-495. Elsevier.
- Bold, H.C. y Wynne, M.J. 1985. *Introduction to the algae. Structure and Reproduction*. Ed. Prentice Hall Inc. 2da Edición. Englewood Cliffs, NJ, EE.UU.
- Borowitzka, M.A. 1988. Fats, oils and hydrocarbons. En: *Micro-algal Biotechnology*. Editado por Borowitzka, M.A. y Borowitzka, L.J. Pág: 257-287. Cambridge University Press. Cambridge, NY, EE.UU.

- Borowitzka, M.A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.* 70:313-321.
- Brennan, L. y Owende, P. 2011. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energy Rev.* 14:557-577.
- Burja, A.M., Banaigs, B., Abou-Mansour, E., Burgess, J.G. y Wright, P.C. 2001. Marine cyanobacteria – a prolific source of natural products. *Tetrahedron.* 57:9347-9377.
- Burlew, J. 1953. Algae Culture: From laboratory to pilot plant. Publicación de Carnegie Institute. Washington, DC, EE.UU.
- Cáceres, T.P., Megharaj, M. y Naidu, R. 2008. Biodegradation of the pesticide Fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria. *Curr. Microbiol.* 57:643-646.
- Camacho-Rubio, F., Acién-Fernández, F.G., García-Camacho, F., Sánchez-Pérez, J.A. y Molina-Grima, E. 1999. Prediction of dissolved oxygen and carbón dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng.* 62:71-86.
- Camacho-Rubio, F., García-Camacho, F., Fernández-Sevilla, J.M., Chisti, Y y Molina-Grima, E. 2003. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnol. Bioeng.* 81:459-473.
- Carvalho, A.P., Meireles, L.A. y Malcata, F.X. 2006. Microalgal bioreactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol. Prog.* 22:1490-1506.
- Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R.A., Lee, D.J. y Chang, J.S. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiésel production: a critical review. *Bioresour. Technol.* 102:71-81.
- Chisti, Y. 1989. Airlift bioreactors. Pág. 355. Elsevier. Londres, Inglaterra.

- Chisti, Y. 1999. Shear sensitivity. En: Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, and bioseparation. Editado por Drew, S.W. y Flickinger, M.C. Vol. 5. Wiley.
- Chisti, Y. 2007. Biodiésel from microalgae. **Biotechnol. Adv.** 25:295-306
- Chisti, Y. y Moo-Young, M. 1988. Prediction of liquid circulation velocity in airlift reactors with biological media. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 42:211-219.
- Chisti, Y. y Moo-Young, M. 1993. Improve the performance of airlift reactors. **Chem. Eng. Prog.** 89(6):38-45.
- Chisti, Y., Halard, B. y Moo-Young, M. 1988. Liquid circulation in airlift reactors. **Chem. Eng. Sci.** 43:451-457.
- Chiu, S.Y., Kao, C.Y., Chen, C.H., Kuan, T.C., Ong, S.C. y Lin, C.S. 2008. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. **Bioresour. Technol.** 99:3389-3396.
- Choe, S.H. y Jung, I.H. 2002. Growth inhibition of freshwater algae by ester compounds released from rotted plants. **J. Ind. Eng. Chem.** 8(4):297-304.
- Clarens, A., Resurreccion, E., White, M. y Colosi, L. 2010. Environmental life cycle comparison of algae to other bioenergy feedstocks. **Environ. Sci. Technol.** 44:1813-1819.
- Costa, J.A.V. y De-Morais, M.G. 2011. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. **Bioresour. Technol.** 102:2-9.
- Coyle, W. 2007. A Global Perspective: The Future of Biofuels. Publicación de Economic Research Service. U.S. Dept. Of Agriculture. Washington, DC, EE.UU.
- Davis, R., Aden, A. y Pienkos, P.T. 2011. Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. **Appl. Energy.** 88:3524-3531.
- Demirbas, A. 2001. Biomass resource facilities and biomass conversion processing for fuels and chemicals. **Energy Convers. Manag.** 42:1357-1278.

- De-Morais, M.G. y Costa, J.A.V. 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **J. Biotechnol.**129:439-445.
- Desmorieux, H. y Decaen, N. 2006. Convective drying of *Spirulina* in thin layer. **J. Food Eng.** 77:64-70.
- Dijkstra, A.J. 2006. Revisiting the formation of trans isomers during partial hydrogenation of triacylglycerol oils. **Eur. J. Lipid. Sci. Technol.** 108(3):249-264.
- Dominguez-Faus, R., Powers, S.E., Burken, J.G. y Alvarez, P.J. 2009. The water footprint of biofuels: a drink or drive issue?. **Environ. Sci. Technol.** 43:3005-3010.
- Dos-Santos, M.D., Guaratini, T., Lopes, J.L.C., Colepicolo, P. y Lopes, N.P. 2005. Plant cell and microalgae culture. En: Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry. Kerala, India.
- Dunahay, T.G., Jarvis, E.E., Dais, S.S. y Roessler, P.G. 1996. Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 57-58:223-231.
- Emma-Huertas, I., Colman, B., Espi,e G.S. y Lubian, L.M. 2000. Active transport of CO₂ by three species of marine microalgae. **J. Phycol.** 36:314-320.
- Engelhardt, K.A. y Ritchie, M.E. 2001. Effects of macrophyte species richness on wetland ecosystem functioning and services. **Nature.** 411:687-689.
- Eussen, S., Klungel, O., Garssen, J., Verhagen, H., van Kranen, H., van Loveren, H. y Rompelberg, C. 2010. Support of drug therapy using functional foods and dietary supplements: focus on statin therapy. **Br. J. Nutr.** 103(9):1260-1277.
- Fedorov, A.S., Kosourov, S., Ghirardi, M.L. y Seibert, M. 2005. Continuous H₂ photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii* using a novel two-stage,

sulfate-limited chemostat system. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 121-124:403-412.

Feinberg, D.A. 1984. Fuel options from microalgae with representative chemical compositions. Publicación de Solar Energy Research Institute. Golden, Colorado, EE.UU.

Figueira, M.M., Volesky, B., Ciminelli, V.S.T. y Roddick, F.A. 2000. Biosorption of metals in Brown seaweed biomass. **Water Res.** 34:196-204.

Fukuda, H., Kondo, A. y Noda, H. 2001. Biodiésel fuel production by transesterification of oils. **J. Biosci. Bioeng.** 92:405-416.

Funk, C.D. 2001. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoids biology. **Science.** 294:1871-1875.

García-Camacho, F., Gallardo-Rodríguez, J., Sánchez-Mirón, A., Cerón-García, M.C., Belarbi, E.H. y Chisti, Y. 2007. Biotechnological significance of toxic marine dinoflagellates. **Biotechnol. Adv.** 25:176-194.

García-Camacho, F., Molina-Grima, E., Sánchez-Mirón, A., González-Pascual, V. y Chisti, Y. 2001. Carboxymethyl cellulose protects algal cells against hydrodynamic stress. **Enzyme Microb. Technol.** 29:602-610.

Gauthier, D.A. y Turpin, D.H. 1997. Interactions between inorganic phosphate (Pi) assimilation, photosynthesis and respiration in the Pi-limited green alga *Selenastrum minutum*. **Plant Cell. Environ.** 20:12-24.

Gavrilescu, M. y Chisti, Y. 2005. Biotechnology – a sustainable alternative for chemical industry. **Biotechnol. Adv.** 23:471-499.

Ge, Y., Liu, H. y Tian, G. 2011. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor. **Bioresour. Technol.** 102:130-134.

Geider, R.J. y LaRoche, J. 2002. Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. **Eur. J. Phycol.** 37:1-17.

- Ghirardi, M.L., Zhang, J.P., Lee, J.W., Flynn, T., Seibert, M., Greenbaum, E. y col. 2000. Microalgae: a green source of renewable H₂. **Trends Biotechnol.** 18:506-511.
- Ginzburg, B.Z. 1993. Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy. **Renew. Energy.** 3:249-252.
- Goldman, J.C. 1980. Physiological aspects in algal mass cultures. En: *Algae Biomass*. Editado por Shelef, G. y Soeder, C.J. Pág. 343-359. Elsevier.
- Golueke, C.G. y Oswald, W.J. 1959. Biological conversion of light energy to chemical energy of methane. **Appl. Microbiol.** 7:219-227.
- Golueke, C.G., Oswald, W.J. y Gotaas, H.B. 1957. Anaerobic digestion of algae. **Appl. Microbiol.** 47(5):47-55.
- Gomez-Villa, H., Voltolina, D., Nieves, M. y Pina, P. 2005. Biomass production and nutrient budget in outdoor cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under the winter and summer conditions of Mazatlan, Sinaloa, Mexico. **Vie et Milieu.** 55:121-126.
- Graboski, M. y McCormick, R. 1994. Final report: Emissions from biodiésel blends and neat biodiésel from a 1991 Model series 60 engine operating at high altitude. En Report to National Renewable Energy Laboratory. Golden, Colorado, EE.UU
- Griffiths, M.J. y Harrison, S.T.L. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiésel production. **J. Appl. Phycol.** 21:493-507.
- Grobbelaar, J., Nedbal, L. y Tichy, V. 1996. Influence of high frequency light/dark fluctuations on photosynthetic characteristics of microalgae photo acclimated to different light intensities and implications for mass algal cultivation. **J. Appl. Phycol.** 8:335-343.
- Grobbelaar, J.U. 1994. Turbulence in algal mass cultures and the role of light/dark fluctuations. **J. Appl. Phycol.** 6:331-335.

Grobbelaar, J.U. 2004. Algal nutrition. En: Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Editado por Richmond, A. Pág 97-115. Blackwell, Oxford, Inglaterra.

Groom, M.J., Gray, E.M. y Townsend, P.A. 2008. Biofuels and biodiversity: principles for creating better policies for biofuel production. **Conserv. Biol.** 22(3):602-609.

Guildford, S.J. y Hecky, R.E. 2000. Total nitrogen, total phosphorus and nutrient limitation in lakes and oceans: is there a common relationship?. **Limnol. Oceanogr.** 45:1213-1223.

Gupta, H. y Fan, L.S. 2002. Carbonation–calcination cycle using high reactivity calcium oxide for carbon dioxide separation from flue gas. **Ind. Eng. Chem. Res.** 41:4035-4042.

Hannon, M., Gimpel, J., Tran, M., Rasala, B. y Mayfield, S. 2010. Biofuels from algae: challenges and potential. **Biofuels.** 1(5):763-784.

Harto, C., Meyers, R. y Williams, E. 2010. Life cycle water use of low-carbon transport fuels. **Energ. Policy.** 38:4933-4944.

Herrera-Restrepo, J.A. y Vélez, J.A. 2008. Caracterización y aprovechamiento del aceite residual de frituras para la obtención de un combustible (Biodiésel). Trabajo de Grado de Tecnólogo Químico. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia.

Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S. y Tiffany, D. 2006. Environmental, economic and energetic costs and benefits of biodiésel and ethanol biofuels. **Prod. Natl. Acad. Sci.** 103(3):11206-11210.

Ho, S.H., Chen, W.M. y Chang, J.S. 2010. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO₂ mitigation and biodiésel production. **Bioresour. Technol.** 101:8752-8730.

- Hsueh, H.T., Li, W.J., Chen, H.H. y Chu, H. 2009. Carbon biofixation by photosynthesis of *Thermosynechococcus* sp. CL-1 and *Nanochlropsis oculata*. **Photochem. Photobiol.** B 95: 33-39.
- Hulatt, C.J. y Thomas, D.N. 2011. Productivity, carbon dioxide uptake and net energy return of microalgal bubble column photobioreactors. **Bioresour. Technol.** 102:5775-5787.
- Humphreys, K. 1991. Jelen's cost and optimization engineering. Ed. McGraw-Hill. Vol. 3. New York, NY, EE.UU.
- Huntley, M.E. y Redalje, D.G. 2007. CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. **Mitig. Adapt. Strategies Glob. Chang.** 12:573-608.
- Illman, A.M., Scragg, A.H. y Shales, S.W. 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme Microb. Technol.** 27:631-635.
- Iwasaki, I., Hu, Q., Kurano, N. y Miyachi, S. 1998. Effect of extremely high-CO₂ stress on energy distribution between photosystem I and photosystem II in 'high-CO₂' tolerant green alga, *Chlorococcum littorale* and the intolerant green alga *Stichococcus bacillaris*. **J. Photochem. Phtobiol.** 44:184-190.
- Iwata, K., Inayama, T. y Katoh, T. 1990. Effect of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose induced hiperlipidemia in rats. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** 36:165-171.
- Jang, E.S., Jung, M.Y. y Min, D.B. 2005. Hydrogenation for low trans and high conjugated fatty acids. **Comp. Rev. Sci. Saf.** 4:22-30.
- Javanmardian, M. y Palsson, B.O. 1991. High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system. **Biotechnol. Bioeng.** 38:1182-1189.
- Jiang, F.C. 2000. Algae and Their Biotechnological Potential. Ed. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. Dordrecht, Holanda.

- Kapdan, I.K. y Kargi, F. 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme Microb. Technol.** 38:569-582.
- Kawata, M., Nanba, M., Matsukawa, R., Chihara, M. y Karube, I. 1998. Isolation and characterization of a green alga *Neochloris* sp. for CO₂ fixation. **Stud. Surf. Sci. Catal.** 114:637-640.
- Knothe, G. 2006. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 83:823-833.
- Kondili, E.M. y Kaldellis, J.K. 2007. Biofuel implementation in East Europe: current status and future prospects. **Renew. Sustain. Energy Rev.** 11:2137-2151.
- Lamaia, C., Kruatrachuea, M., Pokethitiyooka, P., Upathamb, E.S. y Soonthornsarathoola, V. 2005. Toxicity and Accumulation of Lead and Cadmium in the Filamentous Green Alga *Cladophora fracta*(O.F. Muller ex Vahl): A laboratory Study. **Science Asia.** 31:121-127.
- Leach, G., Oliveira, G. y Morais, R. 1998. Spray-drying of *Dunaliella salina* to produce a b-carotene rich powder. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** 20:82-85.
- Lefebvre, D.D., Kelly, D. y Budd, K. 2007. Biotransformation of HgII by cyanobacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 73:243-249.
- León-Bañares, R., González-Ballester, D., Galváan, A. y Fernández, E. 2004. Transgenic microalgae as green cell-factories. **Trends Biotechnol.** 22:45-52
- Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N. y Lan, C.Q. 2008 a. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 81:629-636.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q. y Dubois-Calero, N. 2008 b. Biofuels from microalgae. **Biotechnol. Prog.** 24(4):629-641.
- Liang, S., Xueming, L., Chen, F. y Chen, Z. 2004. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiologia.** 512:45-48

- Loera-Quzada, M.M. y Olgún, E.J. 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiésel: retos y oportunidades. **Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal.** 1(1):91-116.
- Lourenco, S.O., Barbarino, E., Lanfer-Márquez, U.M. y Aidar, E. 1998. Distribution of intracellular nitrogen in marine microalgae: basis for the calculation of specific nitrogen-to-protein conversion factors. **J. Phycol.** 34:798-811.
- Lourenco, S.O., Barbarino, E., Mancini-Filho, J., Schinke, K.P. y Aidar, E. 2002. Effects of different nitrogen sources on the growth and biochemical profile of 10 marine microalgae in batch culture: an evaluation for aquaculture. **Phycologia.** 41:158-168.
- Lv, J-M., Cheng, L-H., Xu, X-H., Zhang, L. y Chen H-L. 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. **Bioresour. Technol.** 101:6797-6804.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. Ed. Pearson-Prentice Hall. 10ª Edición. Madrid, España
- Mallick, N. 2002. Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review. **BioMetals.** 15:377-390.
- MARROTURISMO. 2014. Etanol. São Paulo, Brasil.
- Martinez, M.E., Jimenez, J.M. y El-Yousfi, F. 1999. Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresour. Technol.** 67: 233:240.
- Mata-Alvarez, J., Mace, S. y Llabres, P. 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. **Bioresour. Technol.** 74:4-16.
- Matsumoto, H., Hamasaki, A., Sioji, N. e Ikuta, Y. 1997. Influence of CO₂, SO₂ and no in flue gas on microalgae productivity. **J. Chem. Eng. Japan.** 30:620-624.

Mayer, A.M.S. y Hamann, M.T. 2005. Marine pharmacology in 2001–2002: marine compounds with antihelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. ***Comparative Biochemistry and Phycology, Part C.*** 140:265-286.

Mazhar, D., Ang, R. y Waxman, J. 2006. COX inhibitors and breast cancer. ***Br. J. Cancer.*** 94:346-350.

Mazzuca-Sobczuk, T., García-Camacho, F., Molina-Grima, E. y Chisti, Y. 2006. Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* and *Porphyridium cruentum*, ***Bioprocess Biosyst. Eng.*** 28:143-250.

McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 2). ***Bioresour. Technol.*** 83:47-52.

Meier, R.L. 1955. Biological cycles in the transformation of solar energy into useful fuels. En: Solar Energy Research. Editado por Daniels, F. y Duffie, J.A. Pág. 179-183. University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, EE.UU.

Melis., A. 2002. Green alpha hydrogen production: progress, challenges and prospects. ***Int. J. Hydrogen Energy.*** 27:1217-1228.

Mendiola, J.A., Torres, C.F., Martín-Alvarez, P.J., Santoyo, S., Toré, A., Arredondo, B.O., Señoráns, F.J., Cifuentes, A. e Ibáñez, E. 2007. Use of supercritical CO₂ to obtain extracts with antimicrobial activity from *Chaetoceros muellerimicroalga*. A correlation with their lipidic content. ***European Food Research and Technology.*** 224-505-510.

Millamena, O.M., Aujero, E.J. y Borlongan, I.G. 1990. Techniques on algae harvesting and preservation for use in culture and as larval food. ***Aquacult. Eng.*** 9:295-304.

- Molina-Grima, E., Ación-Fernández, F.G., Carcía-Camacho, F. y Chisti, Y. 1999. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. **J. Biotechnol.** 70:231-247.
- Molina-Grima, E., Ación-Fernández, F.G., García-Camacho, F., Camacho-Rubio, F. y Chisti, Y. 2000. Scale-up of tubular photobioreactors. **J. Appl. Phycol.** 12:355-368.
- Molina-Grima, E., Belarbi, E-H., Ación-Fernández, F.G., Robles-Medina, A. y Chisti, Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnol. Adv.** 20:491-515.
- Molina-Grima, E., Fernández, J., Ación-Fernández, F.G. y Chisti, Y. 2001. Tubular photobioreactor design for algal cultures. **J. Biotechnol.** 92:113-131.
- Morgan, J.A. y Martin, J.F. 2008. Performance of an ecological treatment system at three strengths of dairy wastewater loading. **Ecol. Engineer.** 33:195-209.
- Mostert, E.U. y Grobbelaar, J.U. 1987. The influence of nitrogen and phosphorus on algal growth and quality in outdoor mass algal cultures. **Biomass.** 13:219-233.
- Muñoz, R. y Guieysse, B. 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. **Water Res.** 40:2799-2815.
- Murakami, M. e Ikenouchi, M. 1997. The biological CO₂ fixation and utilization project by RITE (2): screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO₂. **Energy Convers. Manag.** 38(Suppl 1):S493-S497.
- Nedbal, L., Tichý, V., Grobbelaar, J.U., Xiong, V.F. y Neori, A. 1996. Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. **J. Appl. Phycol.** 8:325-333.
- Neenan, B., Feinberg, D., Hill, A., McIntosh, R. y Terry, K. 1986. Fuels from microalgae: Technology status, potential and research requirements. Publicación del Solar Energy Research Institute. Golden, Colorado, EE.UU.

NETL. 2006. Recovery and Sequestration of CO₂ from Stationary Combustion Systems by Photosynthesis of Microalgae. Publicación de U.S. Department of Energy. Pittsburgh, PA. EE.UU.

Nindo, C.I. y Tang, J. 2007. Refractance window dehydration technology: a novel contact drying method. ***Drying Technol.*** 25:37-48.

Norsker, N-H., Barbosa, M.J., Vermuë, M.H. y Wijffels, R.H. 2011. Microalgal production – a close look at the economics. ***Biotechnol. Adv.*** 29:24-27.

Oh, H.M., Choi, A. y Mheen, T.I. 2003. High-value materials from microalgae. ***Korean J. Microbiol. Biotechnol.*** 31:95-102.

Oswald, W.J. 1988. The role of microalgae in liquid waste treatment and reclamation. En: *Algae and human affairs*. Ed. Lembi, C.A. y Waaland, J.R. Cambridge University Press. Cambridge, Inglaterra.

Patil, V., Tran, K.Q. y Giselrod, H.R. 2008. Towards sustainable production of biofuels from microalgae. ***Int. J. Mol. Sci.*** 9:1188-1195.

Petkov, G. y García, G. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*?. ***Bioch. Systemat. Ecol.*** 35:281-285.

Phillips, J.N. y Myers, J. 1953. Growth rate of *Chlorella* in flashing light. ***Plant Physiol.*** 29:152-161.

Pienkos, P.T. 2009. Algal biofuels: ponds and promises. En: 13th Annual Symposium on Industrial and Fermentation Microbiology. Wisconsin, EE.UU.

Prakash, J., Pushparaj, B., Carozzi, P., Torzillo, G., Montaini, E. y Materassi, R. 1997. Microalgal biomass drying by a simple solar device. ***Int. J. Solar Energy.*** 18:303-311.

Pratt, D.T. 1992. Natural antioxidants from plant material. En: *Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health*. II. Editado por Huang, M.T., Ho, C.T. y Lee, C.Y. Pag: 54-71. American Chemical Society. ACS Symposium Series, 507. Washington. EE.UU.

- Pulz, O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. ***Appl. Microbiol. Biotechnol.*** 57:287-293.
- Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G. y Cairney, J. 2006. The path forward for biofuels and biomaterials. ***Science.*** 311(5760):484-489.
- Rajvnashi, S. y Sharma, M.P. 2012. Microalgae: A potential source of biodiésel. ***J. Sustain. Bioenergy Sys.*** 2:49-59.
- Rangel-Yagui, C.O., Godoy-Danesi, E.D., Carvalho, J.C.M. y Sato, S. 2004. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. ***Bioresour. Technol.*** 92:133-140.
- Ratledge, C. 2002. Regulation of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. ***Biochem. Soc. Trans.*** 30:1047-1050.
- Raven, R.P.J.M. y Gregersen, K.H. 2007. Biogas plants in Denmark: successes and setbacks. ***Renew. Sustain. Energy Rev.*** 11:116-132.
- Reich, P.B., Knops, J., Tilman, D., Craine, J., Ellsworth, D., Tjoelker, M., Lee, T., Wedin, D., Naeem, S., Bahaeddin, D., Hendrey, G., Jose, S., Wrage, K., Goth, J. y Bengston, W. 2001. Plant diversity enhances ecosystem responses to elevated CO₂ and nitrogen deposition. ***Nature.*** 410:809-812.
- Rhee, G-Y. 1978. Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake. ***Limnol. Oceanogr.*** 23:10-25.
- Rich, L.G. 1982. Design approach to dual-power aerated lagoons. ***J. Environ. Eng. Div. Am. Soc. Civ. Eng.*** 108:532-548.
- Richardson, B., Orcutt, D.M., Schwertner, H.A., Martinez, C.L. y Wickline, H.E. 1969. Effects of nitrogen limitation on the growth and composition of unicellular algae in continuous culture. ***Appl. Microbiol.*** 18(2):245-250.

Roessler, P.G. 1990. Environmental control of glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions. **J. Phycol.** 21:493-507.

Roessler, P.G., Brown, L.M., Dunahay, T.G., Heacox, D.A., Jarvis, E.E., Schneider, J.C. y col. 1994. Genetic-engineering approaches for enhanced production of biodiésel from microalgae. **ACS. Symp. Ser.** 566:255-270.

Ryu, H.J., Oh, K.K. y Kim, Y.S. 2009. Optimization of the influential factors for the improvement of CO₂ utilization efficiency and CO₂ mass transfer rate. **J. Ind. Eng. Chem.** 15(4): 471-475.

Sánchez-Mirón, A., Cerón-García, M-C., Contreras-Gómez, A., García-Camacho, F., Molina-Grima, E. y Chisti, Y. 2003 b. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. **Biochem. Eng. J.** 16:287-297.

Sánchez-Mirón, A., Contreras-Gómez, A., García-Camacho, F., Molina-Grima, E. y Chisti, Y. 1999 a. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. **J. Biotechnol.** 70:249-270.

Sawayama, S., Inoue, S., Dote, Y. y Yokoyama, S-Y. 1995. CO₂ fixation and oil production through microalga. **Energy Convers. Manag.** 36:729-731.

Schindler, D.W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. **Science.** 195:260-262.

Schindler, D.W. y Vallentyne, J.R. 2008. The algal bowl: overfertilization of the world's freshwaters and estuaries. Editado por University of Alberta Press. Alberta, Canada.

Schnoor, J., Doering, O., Entekhabi, D., Hiler, E.A., Hullar, T.L., Tilman, G.D., Logan, W.S., Huddleston, N. y Stoeber, M. 2008. Water Implications of Biofuels Production in the United States. National Academies Press. Washington, DC, EE.UU.

Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R.A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D. y Yu, T-H. 2008. Use of U. S croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change. **Science**. 319(5867):1238-1240.

Shanab, S.M.M. y Essa, A.M. 2007. Heavy metals tolerance, biosorption and bioaccumulation by some microalgae (Egyptian isolates) N. Egypt. **J. Microbiol.** 17:65-77.

Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. y Roessler, P. 1998. A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program-Biodiésel from algae. **NREL REPORT**. NREL/TP-580-24190.

Shelef, G.A., Sukneik, A. y Green, M. 1984. Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review. Publicación de Solar Energy Research Institute. Golden, Colorado, EE.UU.

Sheng, P.X., Lai, H., Tan, P., Chen, J. y Yen-Peng, T. 2005. Biosorption performance of two brown marine algae for removal of chromium and cadmium. **J. Dispersion Sci. Technol.** 25(5):679-686.

Shi, M. y Shen, Y.M. 2003. Recent progresses on the fixation of carbon dioxide. **Curr. Org. Chem.** 7:737-745.

Shifrin, N.S. y Chisholm, S.W. 1980. Phytoplankton lipids: environmental influences on production and possible commercial applications. En: Algae Biomass. Editado por Soeder, C.J. y Shelef, G. Pág. 627-645. Elsevier.

Singh, A. y Olsen, S.I. 2011. A critical review of biochemical conversion, sustainability and life cycle assessment of algal biofuels. **Appl. Energ.** 88:3548-3555.

Singh, A., Nigam, P.S. y Murphy, J.D. 2011. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. **Bioresour. Technol.** 102:26-34.

Skjanes, K., Lindblad, P. y Muller, J. 2007. BioCO₂—a multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products. **Biomol. Eng.** 24:405-413.

Smith, V.H., Tilman, G.D. y Nekola, J.C. 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. **Environ. Pollut.** 100:179-196.

Soletto, D., Binaghi, L., Lodi, A., Carvalho, J.C.M. y Converti, A. 2005. Batch and fedbatch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. **Aquaculture.** 243:217-224.

Sommer, T.R., D'Souza, F.M.L. y Morrissy, N.M. 1992. Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus pluvialis*. **Aquaculture.** 106:63-74

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. e Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. **J. Biosci. Bioeng.** 101:87-96.

STELR Project. 2010. Case Study:SARDI Aquatic Sciences – Microalgal fuels. Publicación de The Australian Academy of Technological Sciences and Engineering. Melbourne, VIC, Australia.

Stephenson, P.G., Moore, C.M., Terry, M..J., Zubkov, M.V. y Bibby, T.S. 2011. Improving photosynthesis for algal biofuels: toward a green revolution. **Trends Biotechnol.** 12(29):615-623.

Takagi, M., Watanabe, K., Yamaberi, K. y Yoshida, T. 2000. Limited feeding of potassium nitrate for intracellular lipid and triglyceride accumulation of *Nannochloris sp.* UTEX LB1999. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 54:112-117.

Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. y Zhong, J. 2011. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresour. Technol.** 102:3071-3076.

- Terry, K.L. 1986. Photosynthesis in modulated light: quantitative dependence of photosynthesis enhancement on flashing rate. **Biotechnol. Bioeng.** 28:988-995.
- Tilman, D., Lehman, C.L. y Thomson, K.T. 1997. Plant diversity and ecosystem productivity: theoretical considerations. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 94:1857-1861.
- Tornabene, T.G., Holzer, G., Lien, S. y Burris, N. 1983. Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans*. **Enzyme Microb. Technol.** 5(6): 435-440.
- Tredecí, M.R. 1999. Bioreactors. En: Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation. Editado por Drew, S.W. y Flickinger, M.C. Pág: 395-419. Wiley.
- Tredecí, M.R. 1999. Bioreactors. En: Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation. Editado por Drew, S.W. y Flickinger, M.C. Pág: 395-419. Wiley
- Tsukahara, K. y Sawayama, S. 2005. Liquid fuel production using microalgae. **J. Jpn. Petrol. Inst.** 48:251-259.
- Ugwu, C.U., Aoyagi, H. y Uchiyama, H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresour. Technol.** 99:4021-4028.
- Um, B-H. y Kim, Y-S. 2009. A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology. **J. Ind. Eng. Chem.** 15:1-7.
- Valeem, E.E. y Shameel, M. 2005. Fatty acid composition of blue-green algae of Sindh, Pakistan. **Int. Journal of Phycology and Phycochemistry.** 1:83-92.
- Vicente-Pardal, A.C.D. 2012. Obtención de biodiésel por transesterificación de aceites vegetales: nuevos métodos de síntesis. Trabajo de Grado de Doctor. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. Badajoz, Extremadura, España

- Walmsley, R.D. y Shillinglaw, S.N. 1984. Mass algal culture in outdoors plastic-covered miniponds. **Ann. Appl. Biol.** 104:185-197.
- Wimmer, T. 1995. Process for the Production of Fatty Acid Esters of Lower Alcohols. US Patent No. 5,399,731. EE.UU.
- Wu, W.H., Foglia, T.A., Marmer, W.N. y Phillips, J.G. 1999. Optimizing production of ethyl esters of grease using 95% ethanol by response surface technology. **JAOCs.** 76(4):517-552.
- Yamaberi, K., Takagi, M. y Yoshida, T. 1998. Nitrogen depletion for intracellular triglyceride accumulation to enhance liquefaction yield of marine microalgal cells into a fuel oil. **J. Mar. Biotechnol.** 6:44-48.
- Yamaguchi, K. 1997. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. **J. Appl. Phycol.** 8:487-502.
- Yang, J., Xu, M., Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M. y Chen, Y. 2011. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrient balance. **Bioresour. Technol.** 102:159-165.
- Yun, Y.S., Lee, S.B., Park, J.M., Lee, C.I. y Yang, J.W. 1997. Carbon dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 69:451-455.