

Biodiesel a Partir de Microalgas

¹Adriana Garibay Hernández*, ¹Rafael Vázquez-Duhalt, ²M. del Pilar Sánchez Saavedra, ¹Leobardo Serrano Carreón, ¹Alfredo Martínez Jiménez*

¹*Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 510-3 Cuernavaca, Mor., 62250*

²*Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Km. 107 Carretera Tijuana – Ensenada, Ensenada, Baja California, 22860*
adriagh@ibt.unam.mx; alfredo@ibt.unam.mx

RESUMEN

La situación actual debida al agotamiento de los combustibles fósiles, incremento del precio del petróleo y dificultades ambientales, demanda urgentemente fuentes alternas de energía siendo una opción promisoría el biodiesel; biocombustible producido primordialmente a partir de aceites provenientes de plantas oleaginosas, cuya disponibilidad desafortunadamente, es incapaz de sustituir el mercado de petrodiesel en México y el mundo. El uso de microalgas para la producción de biodiesel es una alternativa ventajosa debido al elevado contenido de lípidos y perfil idóneo para la obtención del biocombustible que éstas ofrecen. Aunado a lo anterior, otros atributos de las microalgas son su elevada eficiencia fotosintética, su capacidad de crecer tanto en aguas marinas, dulces, residuales y salobres, así como su velocidad de crecimiento relativamente alta. No obstante, los sistemas de cultivo de microalgas actualmente presentan ciertas limitantes tales como la escasez de información para su escalamiento, la dificultad para el mantenimiento de monocultivos, los elevados costos de operación para la producción y recolección de la biomasa de microalgas, entre otros. Ante estos inconvenientes, la optimización de los sistemas de cultivo de microalgas es imprescindible. El propósito de esta revisión es el de proporcionar un panorama general y crítico de esta alternativa bioenergética, mediante el análisis de los fundamentos de la misma.

Palabras clave: Biodiesel, microalgas, biocombustible, lípidos, fotobioreactores

ABSTRACT

The current situation due to the exhaustion of the fossil energy resources, the increase of oil prices and the environmental challenges related to the accumulation of greenhouse gases, urgently demands the development of alternative energy sources, where one of the most prominent is biodiesel. Biodiesel is a biofuel mainly produced from plant oils, which are raw materials that are not enough to replace the majority of Mexico's and also the world's petroleum-based diesel demand. Microalgae appear to be a satisfactory feedstock for biodiesel production that provides several advantages such as: high photon conversion efficiency; ability to grow in marine, salt, fresh and waste waters; sustained high growth rates; elevated oil productivity; and acceptable fatty acid composition that complies with existing standards. However, there are significant limitations

associated with microalgae culture systems, such as lack of information for scaling them up, difficulty for maintaining axenic cultures and the high costs for algal biomass production and harvesting; consequently, optimization of the microalgal culture systems is necessary. This review provides a critical overview of microalgae technology by the analysis of its basic principles.

Keywords: Biodiesel, microalgae, biofuels, lipids, photobioreactors

INTRODUCCIÓN

En este siglo la humanidad afronta una grave problemática debido al aumento de la demanda energética mundial, agotamiento de los combustibles fósiles, incremento del precio del petróleo y las dificultades ambientales causadas por los gases de invernadero tales como la contaminación local del aire y el calentamiento global. Esta situación demanda urgentemente fuentes alternativas de energía basadas en procesos sustentables, renovables y amigables con el ambiente, que además posibiliten la captura de CO₂. Una alternativa energética promisoría que ha resultado muy atractiva en años recientes es el biodiesel (Donohue & Codgell, 2006; Schenk *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009).

SITUACIÓN ACTUAL DEL BIODIESEL

El biodiesel consiste en monoalquil-ésteres de alcoholes de cadena corta, usualmente etanol y metanol, con ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable y que es técnicamente capaz de sustituir al diesel derivado de petróleo como combustible (Sheehan *et al.*, 1998; Liu & Zhao, 2007; Song *et al.*, 2008).

En contraste con el petrodiesel, el biodiesel ofrece varias ventajas ya que es una fuente de energía renovable y biodegradable (se degrada cuatro veces más

rápido que el diesel fósil) y produce menos emisiones indeseables (CO, hidrocarburos aromáticos policíclicos, partículas de hollín, óxidos de azufre y nitrógeno, metales) durante su combustión a causa de su estado oxigenado, siendo éstas por ende menos nocivas. Además, posee propiedades lubricantes que reducen el desgaste del motor y es un material seguro para su transporte, almacenamiento y manejo debido a su baja volatilidad y elevado punto de inflamación (100 - 170°C). El biodiesel puede utilizar la infraestructura actual de almacenamiento y distribución para el diesel de petróleo. Asimismo, debido a la similitud de las propiedades físicas y químicas del diesel fósil con las del biocombustible, su uso no requiere de modificación alguna en los motores diesel convencionales, por lo que puede ser empleado en éste ya sea directamente (B100) o en mezclas biodiesel-petrodiesel al 2% (B2), 5% (B5) y 20% (B20) (Al-Zuhair, 2007; Anónimo, 2007; Liu & Zhao, 2007; Song *et al.*, 2008; Vasudevan & Briggs, 2008).

Existen diversas metodologías para la producción de biodiesel, cuatro de ellas han sido estudiadas exhaustivamente: uso directo de aceites o mezclas de éstos con diesel fósil, microemulsiones, pirolisis y transesterificación. La aplicación de las tres primeras alternativas en motores diesel es

impráctica e insatisfactoria, ya que ocasiona problemas tales como la obstrucción de los inyectores, la formación de depósitos de carbono, la combustión incompleta, el golpeteo en el motor, el desgaste excesivo del mismo, el daño del lubricante y, en el caso específico de la pirólisis, la eliminación de los beneficios ambientales inherentes al

uso de combustibles oxigenados. La transesterificación o alcoholólisis (Fig. 1) es la reacción química ocurrida entre los aceites (triacilglicéridos) y un alcohol (comúnmente metanol, etanol, propanol o butanol) para producir glicerol y alquil ésteres de ácidos grasos, los cuales son conocidos como

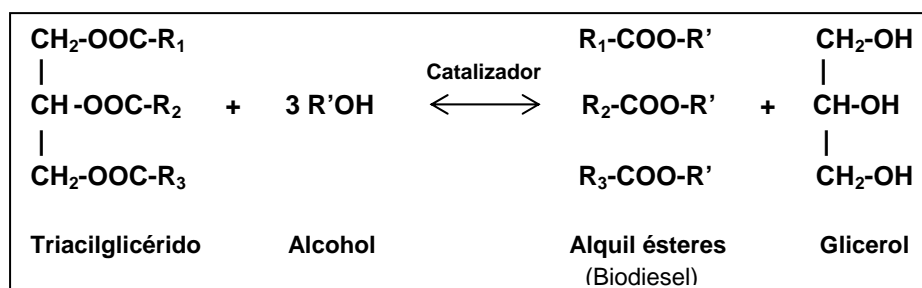


Fig. 1. Reacción general de transesterificación. R₁, R₂, R₃ y R' son radicales alquilo. Los catalizadores pueden ser álcalis, ácidos o enzimas (lipasas) (Ma & Hanna, 1999; Fukuda *et al.*, 2001; Sharma *et al.*, 2008).

biodiesel. Los principales factores que influyen en el proceso son la relación molar alcohol:glicéridos, el tipo de catalizador (álcali, ácido, lipasas), la temperatura, el tiempo de reacción y el contenido de agua y ácidos grasos libres en la materia prima. En la actualidad, la mayoría del biodiesel es producido mediante transesterificación alcalina, a causa de su rapidez y condiciones moderadas que la caracterizan (Ma & Hanna, 1999; Al-Zuhair, 2007; Liu & Zhao, 2007; Sharma *et al.*, 2008; Vasudevan & Briggs, 2008).

La Unión Europea, con una producción de 8,812 millones de litros (ML) en el 2008, es el líder mundial en la industria del biodiesel y se estima que lo seguirá siendo durante la década próxima. Alemania

encabeza la lista de países productores (3,203 ML), seguido por EUA (3,182 ML), Francia (2,063 ML) e Italia (676 ML); países en desarrollo tales como Malasia, China, Brasil, Colombia, Argentina e Indonesia, son prometedores en la industria del biodiesel. Se estima un mercado de biodiesel de 168,206 ML para el 2016 (European Biodiesel Board, 2008; Li *et al.*, 2008; US National Biodiesel Board, 2008). La introducción exitosa y comercialización del biodiesel en varios países ha dado lugar al establecimiento de normas que regulan sus propiedades y aseguran su calidad. Los estándares usualmente utilizados como referencia son la norma ASTM D6751 en EUA y las normas europeas EN 14213 (biodiesel para calefacción) y EN 14214 (biodiesel para uso

vehicular). El cumplimiento de tales disposiciones precisa de biodiesel enriquecido en ácidos grasos de cadena larga con elevado grado de saturación (preferentemente los ácidos palmitoleico (16:1), oleico (18:1) y mirístico (14:0)) que permitan disminuir las emisiones tóxicas y mejorar las propiedades del biocombustible (número de cetanos, poder calorífico y estabilidad oxidativa) sin comprometer sus características de flujo, viscosidad y lubricidad (Knothe, 2005; Chisti, 2007; Schenk *et al.*, 2008).

FUENTES DE MATERIA PRIMA

Los aceites vegetales son la principal materia prima para la producción de biodiesel, razón por la cual el uso de cultivos de alto contenido oleaginoso ha sido estudiado exhaustivamente. Los principales materiales oleaginosos utilizados derivan de la palma, colza y soya, además del girasol, coco, cacahuate, oliva, mostaza, entre otros (Ma & Hanna, 1999; Al-Zuhair, 2007; Anónimo, 2007; Li *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2008). El mercado creciente de producción de biodiesel a partir de aceites vegetales comestibles, requeriría del uso de enormes extensiones de terreno fértil, situación que podría conllevar a crisis alimentarias ante la escasez de suelos cultivables. En el caso particular del sureste asiático y Brasil, el considerable incremento en su tasa de producción de biodiesel a partir de palma y soya, ha ocasionado problemas ambientales inherentes a la deforestación de regiones tropicales (Dismukes *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2008). En consecuencia se ha

planteado el uso de aceites no comestibles procedentes de cultivos marginales tales como *Jatropha curcas* (piñón), *Calophyllum inophyllum* (tamanu), *Pongamia pinnata* (haya de la India, karanja), *Madhuca indica*, *Swida wilsoniana*, *Ricinus communis* (higuerilla) y *Vernicia fordii* (tung). Estos cultivos marginales no requieren de terrenos fértiles, ya que proliferan en suelos áridos, pobres en nutrientes, con altos niveles de radiación y baja precipitación pluvial (Fairless, 2007; Liu & Zhao, 2007; Sharma *et al.*, 2008; Song *et al.*, 2008). El elevado costo de la materia prima, que contribuye del 50 al 90% del precio de producción del biodiesel, ha obstaculizado la comercialización del biocombustible, motivo por el que se ha propuesto el uso de aceites de desecho y de grasas animales, alternativa que no ha sido satisfactoria a causa de los gastos adicionales necesarios para el refinamiento y la transesterificación del material (Al-Zuhair, 2007; Liu & Zhao, 2007; Song *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009). En el 2007, la producción de biodiesel a partir de aceites vegetales (comestibles y no comestibles, vírgenes y usados) y grasas animales (12 Mtons) correspondió al 0.3% del consumo global de petróleo (3952.8 Mtons), situación que constata la incapacidad de estas fuentes para desplazar la demanda actual y futura de combustible (BP Statistical Review of World Energy 2008; Schenk *et al.*, 2008). Asimismo, la obtención de biodiesel a partir de plantas oleaginosas (comestibles y no comestibles) está limitada por varios inconvenientes tales como los largos periodos de producción (meses o años) inherentes a la tecnología

agrícola, el rendimiento lipídico restringido (menor al 5% del peso seco total) y la dependencia a las condiciones climáticas, la ubicación geográfica, la fertilidad de los suelos y la variedad cultivada; no obstante, el principal obstáculo es la extensa superficie de cultivo requerida y el enorme volumen de agua necesario para el riego (Anónimo, 2007; Li *et al.*, 2007; Chisti, 2007; Chisti, 2008; Schenk *et al.*, 2008). La sustentabilidad de la industria del biodiesel requiere de materias primas alternativas que permitan operar continuamente y superar las limitaciones señaladas (Liu & Zhao, 2007); una alternativa prometedora es la obtención de aceites a partir de cultivos de microalgas.

LAS MICROALGAS COMO MATERIA PRIMA ALTERNA

Características generales de las microalgas

Las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares procariontes (cianobacterias) y eucariontes, que se localizan en hábitats diversos tales como aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo, bajo un amplio rango de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes; se les considera responsables de la producción del 50% del oxígeno y de la fijación del 50% del carbono en el planeta. Su biodiversidad es enorme, se han identificado alrededor de 40,000 especies aunque se estima que existen más de 100,000, de las cuales con frecuencia se desconoce su composición bioquímica y metabolismo. Las

microalgas se clasifican de acuerdo a varios parámetros tales como pigmentación, ciclo de vida, morfología y estructura celular (Tabla 1). Las especies más estudiadas para aplicaciones biotecnológicas corresponden a las algas verdes y a las diatomeas (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Sheehan *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 2008).

Desde la antigüedad las microalgas se han usado como alimento humano, sin embargo es hasta ahora que han atraído la atención para la investigación de su potencial biotecnológico. El interés por las microalgas surgió en Alemania en los años cincuenta y sesenta al ser consideradas como una fuente abundante de proteína de bajo costo para la nutrición humana, interés que después se extendió a países de todos los continentes. El atractivo de las microalgas posteriormente fue encauzado hacia otras aplicaciones tales como la acuicultura (cultivo de especies acuáticas vegetales y animales en medios naturales y artificiales), el tratamiento de aguas residuales, la obtención de sustancias químicas finas, la producción de farmacéuticos y los procesos de bioconversión energética. La producción de bioenergía a partir de microalgas fue contemplada desde los años cincuenta, sin embargo a partir de la crisis energética de 1975, el potencial económico de esta tecnología fue reconocido por varios países como EUA, Japón y Australia (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Huntley & Redalje, 2007).

Artículos

Tabla 1. Clasificación de las microalgas. Se describen las principales divisiones en las cuales las microalgas han sido clasificadas de acuerdo a parámetros diversos tales como pigmentación, ciclo de vida, estructura celular, etc. (AlgaeBase, www.algaebase.org; Hu *et al.*, 2008; Sheehan *et al.*, 1998).

Clase	Características
Chlorophyta (algas verdes)	División conformada por una gran cantidad de especies, en particular por las que proliferan en ambientes dulceacuícolas. Pueden existir ya sea como células individuales o colonias. Su principal reserva de carbono es el almidón, sin embargo pueden almacenar lípidos bajo determinadas condiciones. En esta división destaca la clase Prasinophyceae, caracterizada por incluir especies que forman parte del 'pico-plancton'.
Bacillariophyta (diatomeas)	Las diatomeas predominan en aguas oceánicas, no obstante también se les puede encontrar en aguas dulces y residuales. Se caracterizan por contener silicio en sus paredes celulares. Almacenan carbono de maneras diversas, ya sea como aceites o como crisolaminarina (polímero glucídico).
Heterokontophyta	División constituida por una gran diversidad de clases dentro de las cuales destaca la Cryosphyceae (algas doradas), conformada por especies similares a las diatomeas en términos de composición bioquímica y contenido de pigmentos. Las algas doradas se distinguen por los complejos pigmentos que las conforman, los cuales les proporcionan tonalidades amarillas, cafés o naranjas. Las especies de este grupo son principalmente de agua dulce. Sus reservas de carbono son los lípidos y los carbohidratos. Asimismo, otras clases relevantes de esta división son: Phaeophyceae (algas cafés), Xanthophyceae (algas verde-amarillas), Eustigmatophyceae (forma parte del 'pico-plancton'), entre otras.
Cianobacteria	Las cianobacterias son microorganismos procariotes cuya estructura y organización son similares a las de las bacterias. Las cianobacterias desempeñan un papel relevante en la fijación del nitrógeno atmosférico.
Otras divisiones	Rhodophyta (algas rojas), Dinophyta (dinoflagelados).

Destaca el proyecto solventado por el Departamento de Energía de los EUA (DOE, Department of Energy) con más de 25 millones de dólares, y el 'programa de especies acuáticas' del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL, National Renewable Energy Lab) con una duración de 18 años (1978-1996), cuyas importantes aportaciones en las áreas de aislamiento, caracterización, fisiología, bioquímica e ingeniería genética de especies microalgales aunadas a los avances en el análisis económico y escalamiento de cultivos en sistemas eficientes, constituyen las bases actuales para el desarrollo de biocombustibles a partir de microalgas.

Asimismo sobresale el programa subvencionado por el gobierno japonés (1990-2000), el cual estuvo dirigido al estudio de la fijación de CO₂ y a la optimización del crecimiento microalgal. Estos proyectos fueron suspendidos en parte, ante la falta de competitividad del biocombustible ante los precios del combustible fósil. No obstante, debido a la condición actual de agotamiento de los combustibles fósiles, incremento de los precios del petróleo y calentamiento global como consecuencia de la acumulación de gases de invernadero, el panorama para la producción de bioenergía a partir de microalgas es alentador (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Sheehan *et al.*, 1998;

Huntley & Redalje, 2007; Hu *et al.*, 2008; Rodolfi *et al.*, 2009; Waltz, 2009).

Características relevantes de los cultivos microalgales para la producción de biodiesel

En la actualidad se ha detectado el uso de lípidos microalgales para la producción de biodiesel, ya que es una alternativa que asegura satisfacer o reemplazar la demanda global de petrodiesel. Esta tecnología es prometedora dadas las ventajas que ofrece en contraste con las plantas oleaginosas, tales como: mayor eficiencia fotosintética; eficacia superior en la asimilación de nutrientes; y periodos cortos de producción sostenida durante todo el año, a causa de los breves tiempos de duplicación de las microalgas. Los cultivos microalgales son independientes de la estacionalidad inherente a los cultivos agrícolas y de la fertilidad del suelo, condición que posibilita prescindir de herbicidas y pesticidas y además, permite emplear territorios marginales e inclusive zonas no aptas para la agricultura, ganadería, industria y turismo. Asimismo, en contraste con los cultivos tradicionales, requieren de menores cantidades de agua y son flexibles ante el tipo y la calidad de ésta, por lo que prosperan convenientemente tanto en aguas marinas, como dulces, salobres y residuales. Igualmente, el contenido oleaginoso y el perfil de composición lipídica de las microalgas, puede ser controlado en función de las condiciones de cultivo, principalmente mediante la limitación de nutrientes. Además,

esta tecnología puede ser acoplada al reciclaje del CO₂ liberado en las emisiones industriales, especialmente por las plantas de producción de electricidad a partir de combustibles fósiles. Una ventaja adicional estriba en la posibilidad de obtener subproductos (proteína, carbohidratos, biopolímeros, pigmentos, biogás, etc.) a partir de la biomasa microalgal residual una vez que los lípidos han sido extraídos. Inclusive, resulta factible el empleo de algunos de estos residuos en la alimentación humana o animal y en la producción de fertilizantes o de otros biocombustibles. Finalmente, la ventaja competitiva más importante del biodiesel de microalgas, consiste en los rendimientos lipídicos por unidad de área considerablemente superiores a los obtenidos con plantas oleaginosas (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Sheehan *et al.*, 1998; Chisti, 2007; Li *et al.*, 2007; Williams, 2007; Dismukes *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008; Rittmann, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Gouveia & Oliveira, 2009; Meng *et al.*, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009; Waltz, 2009).

Una de las estimaciones más conservadoras para el rendimiento anual de biodiesel microalgal, como se indica en la Tabla 2, por lo menos duplica los rendimientos obtenidos a partir de plantas oleaginosas. En el 2008 la demanda de petrodiesel en México fue de 23,630 ML (Indicadores Petroleros, 2008), el reemplazo de esta demanda con biodiesel de origen vegetal, incluso con aquél derivado de cultivos de elevada productividad lipídica

Artículos

Tabla 2. Comparación de distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México. Se indican las proporciones de suelo fértil y de superficie total del país necesarias para reemplazar con biodiesel el 100% de la demanda de petrodiesel en México. Las fracciones de superficie total sólo se señalan para materias primas que no precisan de suelos fértiles (CIA World Factbook, 2009; Schenk *et al.*, 2008).

Materia prima	Productividad De Biodiesel (L/ha/año)	Superficie equivalente requerida (ha x 10 ⁶)	Porcentaje equivalente de la superficie fértil requerida	Porcentaje equivalente de la superficie total (no necesariamente fértil) requerida
Palma	5,950	3.972	16.14	--
Jatropha	1,892	12.490	50.75	6.43
Colza	1,190	19.859	80.69	--
Girasol	952	24.823	100.9	--
Soya	446	52.986	215.3	--
Microalgas ^a	12,000	1.969	8.00	1.01
Microalgas ^b	20,000	1.181	4.80	0.61

^aRendimiento conservador de productividad de biodiesel microalgal acorde con Schenk *et al.* (2008).

^bProductividad de biodiesel microalgal asequible a través de la tecnología actualmente disponible, acorde con Wijffels (2008).

como la palma, requeriría de extensas regiones fértiles. Igualmente, el uso de plantas marginales como *Jatropha curcas*, precisaría de superficies mayores a las comprendidas por cultivos microalgales independientemente de la fertilidad de los suelos. La tecnología de microalgas es una alternativa prometedora, ya que para satisfacer el 100% de la demanda actual de diesel de petróleo en México, sería necesario emplear sólo 1% de la extensión total del país, al considerar el rendimiento lipídico y la independencia a la calidad de los suelos por parte de los cultivos de microalgas (Schenk *et al.*, 2008; CIA World Factbook, 2009).

Potencial de producción de biodiesel microalgal

Recientemente, el potencial de las microalgas para la producción de biodiesel ha sido sobreestimado por empresas diversas que aseguran productividades iguales o superiores al máximo teórico posible (Wijffels, 2008; Waltz, 2009). La determinación de la productividad máxima teórica se fundamenta en la eficiencia fotosintética, la cual se define como la fracción de la energía luminosa absorbida que es fijada como energía química en la biomasa durante el crecimiento fotoautotrófico. La fijación fotosintética de un mol de CO₂ en biomasa microalgal con una composición representativa (CH_{1.78}O_{0.36}N_{0.12}) en sistemas con amonio como fuente de nitrógeno, se considera que requiere de la absorción de 14 fotones, aunque de acuerdo a las estimaciones de autores diversos, esta

magnitud puede variar de 6 a 16. La incorporación de un mol de carbono resulta así en la producción de 21.25 g de peso seco con un contenido energético (entalpía de combustión) de 547.8 kJ (Wijffels, 2008). Cabe destacar que la totalidad de la radiación solar no es aprovechada en la fotosíntesis microalgal, sólo es útil el espectro comprendido entre los 400 y 700 nm de longitud de onda denominado 'radiación fotosintéticamente activa' (PAR por sus siglas en inglés), región que solo representa el 42.3% del total. La energía promedio de los fotones comprendidos en este rango es de 218 kJ. Los datos anteriores posibilitan determinar una eficiencia fotosintética máxima para las microalgas del 7.6% respecto a la radiación solar total (Apéndice 1.A), valor que a pesar de ser reportado por varios investigadores en un intervalo del 3 al 10%, es cercano o superior al máximo teórico precisado para plantas C3 (2.4 - 4.3%) y C4 (1.3 - 3.7%). El aprovechamiento parcial de la radiación fotosintéticamente activa es atribuido a fenómenos diversos, principalmente a la disipación de energía en los aparatos fotosintéticos en manera de calor o fluorescencia con la intención de evitar el daño de éstos por radiación excesiva (fotoinhibición) (Pulz & Scheibenbogen, 1998; Janssen *et al.*, 2003; Dismukes *et al.*, 2008; Wijffels, 2008).

La energía solar es un recurso renovable abundante y de alta calidad en México, ya que la radiación solar promedio es de 1,825 kWh/m²/año (Jiménez *et al.*, 2007). En el Apéndice 1.B, se describe que al considerar

una eficiencia fotosintética del 7.6%, se determina que la máxima productividad teórica de biomasa seca microalgal en México sería de 194 tons/ha/año; asimismo, al suponer un contenido de triglicéridos del 30% ($g_{TAG}/g_{Biomasa}$), una eficiencia de transesterificación del 96% (Al-Zuhair, 2007) y una densidad del biodiesel microalgal de 0.864 kg/L (Xu *et al.*, 2006), se estima una producción hipotética del biocombustible (biodiesel) de 64,500 L/ha/año, magnitud inasequible hasta ahora. Acorde con Wijffels (2008), la tecnología actualmente disponible permitiría producir alrededor de 20,000 L/ha/año de biodiesel. No obstante, este valor podría ser cercano al máximo teórico a través de avances en la selección de especies, las estrategias y sistemas de cultivo, los procedimientos de cosecha y extracción de aceites, aunados a la optimización del metabolismo de los microorganismos mediante recursos moleculares (Wijffels, 2008; Waltz, 2009). Estos datos indican la superioridad del potencial de producción de biodiesel a partir de cultivos microalgales en contraste con el uso de aceites vegetales (comestibles y no comestibles) como materia prima para la obtención de biodiesel (Tabla 2).

El contenido lipídico de las microalgas

Las microalgas con elevadas productividades lipídicas son deseables para la elaboración de biodiesel, razón por la cual la cantidad de lípidos contenidos en la biomasa y la velocidad de crecimiento, sumados a la eficiencia metabólica y la robustez del microorganismo, son

parámetros relevantes para su selección (Chisti, 2007; Rosenberg *et al.*, 2008).

La determinación del contenido oleaginoso de las microalgas resulta complicada a causa de su variación ante condiciones distintas de cultivo; el crecimiento en ambientes desfavorables o bajo situaciones de estrés, frecuentemente conlleva al incremento de la fracción lipídica, aunque en detrimento de la productividad lipídica del cultivo. Los lípidos comprendidos en las microalgas por lo general constituyen del 20 al 50% de su peso seco, sin embargo se han reportado valores en un rango del 1 al 80%, o incluso superiores, como se señala en la Tabla 3 (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Chisti, 2007; Hu *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009). Las especies que producen más de un 30% de materias grasas se denominan 'oleaginosas' (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991).

Los grupos taxonómicos a los cuales pertenecen las microalgas oleaginosas son diversos. En los ejemplares eucariontes, el contenido lipídico es considerado como propio de la especie y no del género, de manera tal que este parámetro varía notablemente entre las especies individuales de cada grupo taxonómico (Ben-Amotz *et al.*, 1985; Hu *et al.*, 2008). No obstante, de acuerdo con Hu *et al.* (2008), es posible generalizar que microalgas oleaginosas eucariontes de grupos diversos (clorofitas, diatomeas, crisofitas, haptofitas, eustigmatofitas, dinofitas, xantofitas y rodofitas) presentan, bajo condiciones normales de cultivo, una fracción lipídica

promedio del 25.1%, magnitud que es superior (45%) en situaciones de estrés. Cabe destacar que la ubicuidad de las algas verdes (clorofitas) en hábitats diversos, además de la facilidad para su aislamiento y desarrollo en condiciones de laboratorio, ha favorecido la identificación de numerosas especies oleaginosas en este grupo, condición que no necesariamente es distintiva del mismo. Las cianobacterias por su parte presentan bajos contenidos lipídicos promedio (9.8%; Hu *et al.*, 2008), sin embargo su aplicación en la producción de biodiesel ha sido sugerida por Rittmann (2008) a causa de la producción de lípidos paralela al crecimiento y la sencillez para la manipulación genética que ofrecen, en contraste con las especies eucariontes. Químicamente los lípidos son sustancias de origen biológico que, siendo escasamente solubles en agua, pueden ser extraídas con solventes orgánicos de baja polaridad.

Las estructuras de estas biomoléculas comprenden largas cadenas hidrocarbonadas, unidades de isopreno y grupos funcionales diversos (oxigenados principalmente). En las microalgas los principales componentes de la fracción lipídica son triacilgliceroles, ácidos grasos libres, ceras, esteroides, hidrocarburos, glicolípidos (predominantes en membranas cloroplásticas), fosfolípidos (abundantes en plasmalema y diversos sistemas endomembranosos) y pigmentos (carotenoides, clorofilas, ficobilinas, etc.), aunque compuestos inusuales tales como ácidos grasos halogenados e hidroxilados, alquenonas de cadena larga, entre otros,

Artículos

Tabla 3. Contenido lipídico de algunas microalgas en condiciones autotróficas.

Especie	%Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco X100)	Especie	%Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco X100)
<i>Ankistrodesmus</i> sp. ^{2,4,6}	24.5 – 40.3	<i>Hormotilopsis gelatinosa</i> ²	49.1
<i>Botryococcus braunii</i> var. A ^{2,5}	43.0 – 63.0	<i>Isochrysis</i> sp. ^{4,8}	7.1 – 47.0
<i>Botryococcus braunii</i> var. B ^{2,5}	53.0 – 86.0	<i>Monallantus salina</i> ^{1,2}	20.0 – 72.2
<i>Botryococcus sudeticus</i> ⁷	9.39 – 23.09	<i>Monodus subterraneus</i> ^{2,10}	39.3 - 40.0
<i>Chaetoceros gracilis</i> ²	46.0	<i>Nannochloris</i> sp. ^{1,8}	20.0 – 47.8
<i>Characium polymorphum</i> ²	42.0	<i>Nannochloropsis salina</i> ⁸	40.8 – 72.2
<i>Chlamydomonas applanata</i> ²	32.8	<i>Nannochloropsis</i> sp. ^{1,9}	28.7 – 68.0
<i>Chlorella emersonii</i> ^{9,10}	63.0	<i>Naviculla pelliculosa</i> ^{2,8}	22.0 – 44.8
<i>Chlorella minutissima</i> ^{9,10}	57.0	<i>Neochloris oleoabundans</i> ^{2,3}	18.9 – 88.8
<i>Chlorella protothecoides</i> ¹⁰	23.0	<i>Nitzschia laevis</i> ¹⁰	69.1
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> ^{2,8}	14.4 – 35.8	<i>Nitzschia pelea</i> Kutz ^{2,8}	27.2 – 39.5
<i>Chlorella sorokiana</i> ^{9,10}	22.0	<i>Nitzschia</i> sp. ^{1,4}	22.1 – 47.0
<i>Chlorella</i> sp. ¹	28.0 – 32.0	<i>Ochromonas danica</i> ^{2,8}	39.0 – 71.0
<i>Chlorella vulgaris</i> ⁹	5.1 - 56.0	<i>Oocystis polymorpha</i> ²	34.7
<i>Chlorococcum oleofaciens</i> ²	44.3	<i>Parietochloris incisa</i> ¹⁰	62.0
<i>Chlorosarcinopsis nagevensis</i> ²	32.2	<i>Ourococcus</i> sp. ^{2,8}	27.0 – 49.5
<i>Chroomonas salina</i> ⁸	44.0	<i>Peridinium cinetum</i> fa. Westi ²	36.0
<i>Chrysochromulina kappa</i> ^{2,8}	32.6	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> ²	31.0
<i>Chrysochromulina polylepsis</i> ^{2,8}	47.6	<i>Protosiphon botryoides</i> ^{2,8}	37.0
<i>Cosmarium laeve</i> ^{2,8}	15.0 - 33.0	<i>Prymnesium parvm</i> ^{2,8}	22.0 - 38.2
<i>Cryptocodinium cohnii</i> ¹	20.0	<i>Radiosphaera nagevensis</i> ^{2,8}	43.0
<i>Cyclotella cryptica</i> ²	36.8	<i>Scenedesmus dimorphus</i> ^{2,8,9}	6.0 – 40.0
<i>Cyclotella</i> sp. ²	54.0	<i>Scenedesmus obliquus</i> ⁹	11.0 - 55.0
<i>Cylindrotheca</i> sp. ¹	16.0 – 37.0	<i>Scotiella</i> sp. ^{2,8}	34.5 – 48.0
<i>Dunaliella primolecta</i> ^{1,2,8}	23.0 – 53.8	<i>Schizochytrium</i> sp. ¹	50.0 - 77.0
<i>Dunaliella salina</i> ^{2,4,8}	9.2 – 47.2	<i>Skeletonema costatum</i> ²	30.3
<i>Euglena gracilis</i> ²	55.0	<i>Stichococcus bacillaris</i> ²	38.9
<i>Hantzchia</i> sp. ²	61.0	<i>Tetraselmis sueica</i> ¹	15.0 – 23.0

¹Chisti, 2007; ²Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; ³Gatenby *et al.*, 2003; ⁴Ben-Amotz *et al.*, 1985; ⁵Metzger & Largeau, 2005; ⁶Sheehan *et al.*, 1998; ⁷Vázquez-Duhalt & Greppin, 1987; ⁸Cohen, 1986; ⁹Gouveia & Oliveira, 2009; ¹⁰Li *et al.*, 2008.

también ocurren (Cohen, 1986; Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Metzger & Largeau, 2005; Guschina & Harwood, 2006; Hu *et al.*, 2008). No todos los lípidos microalgales son satisfactorios para la producción de biodiesel, sin embargo los apropiados para ello (ácidos

grasos, libres y unidos covalentemente al glicerol y sus derivados) son producidos con frecuencia y constituyen la mayor fracción de los lípidos totales, usualmente del 20% al 40% (Cohen, 1986; Chisti, 2007). Un perfil de ácidos grasos de cadena larga con un bajo

grado de insaturación es deseable para la elaboración de biocombustible de calidad (Knothe, 2005).

SÍNTESIS DE LÍPIDOS

La composición de ácidos grasos de las microalgas comúnmente incluye moléculas lineales de 12 a 22 átomos de carbono en número par, saturadas e insaturadas, donde la posición y el número de enlaces dobles (1 a 6) es variable, siendo por lo general *cis* la configuración de éstos. Los ácidos grasos de 16C a 18C son los más frecuentes, no obstante moléculas de cadena media (10C, 12C, 14C) o demasiado larga (> 20C) predominan en algunas especies. Por lo general, en las microalgas dulceacuícolas prevalecen los ácidos grasos saturados y mono-insaturados, observándose en menor proporción compuestos poli-insaturados (PUFAs, Polyunsaturated Fatty Acids). Estos últimos, ocasionalmente constituyen la mayor fracción de ácidos grasos en especies marinas. La variación del perfil de ácidos grasos entre grupos algales diversos es considerable, variabilidad que igualmente se exhibe bajo distintas condiciones de cultivo (Cohen, 1986; Hu *et al.*, 2008; Griffiths & Harrison, 2009).

El metabolismo lipídico de las algas es similar al de plantas superiores, particularmente en la biosíntesis de ácidos grasos y triglicéridos, como consecuencia de las homologías de secuencia y la similitud de características bioquímicas observadas entre ciertos genes y enzimas, de origen vegetal y algal, involucrados en la producción de lípidos. En el cloroplasto ocurre la síntesis *de*

novo de ácidos grasos, cuyo paso inicial consiste en la carboxilación de acetil-CoA dependiente de ATP para su conversión en malonil-CoA. Esta reacción es catalizada por la acetil-CoA carboxilasa y es considerada el paso limitante del proceso, ya que compromete el flujo de acetil-CoA hacia la biosíntesis de lípidos, donde las unidades de acetil-CoA probablemente derivan del piruvato proveniente de la glucólisis. La reacción anterior es seguida por ciclos de adición descarboxilativa de malonil-CoA a unidades acilo y β -reducción, catalizados por el sistema ácido graso sintetasa, hasta producir moléculas de 16C y 18C saturadas. Los ácidos palmítico (16:0) y oleico (18:1 ω 9) son los precursores de las moléculas poli-insaturadas, a su vez producidas mediante mecanismos de desaturación aerobia y elongación. Por su parte, se sugiere que la biosíntesis de triglicéridos sucede en el citosol y en el retículo endoplásmico esencialmente a través de la catálisis por acil-transferasas del traslado secuencial de ácidos grasos a las posiciones 1, 2 y 3 del glicerol-3-fosfato, donde antes de la última transferencia, se requiere de la defosforilación del ácido fosfatídico previamente formado (Fischer *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008). En la Fig. 2, se presenta un esquema que describe en términos generales la biosíntesis de lípidos microalgales.

CONDICIONES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS

La producción de lípidos al igual que su composición en las microalgas, a pesar de

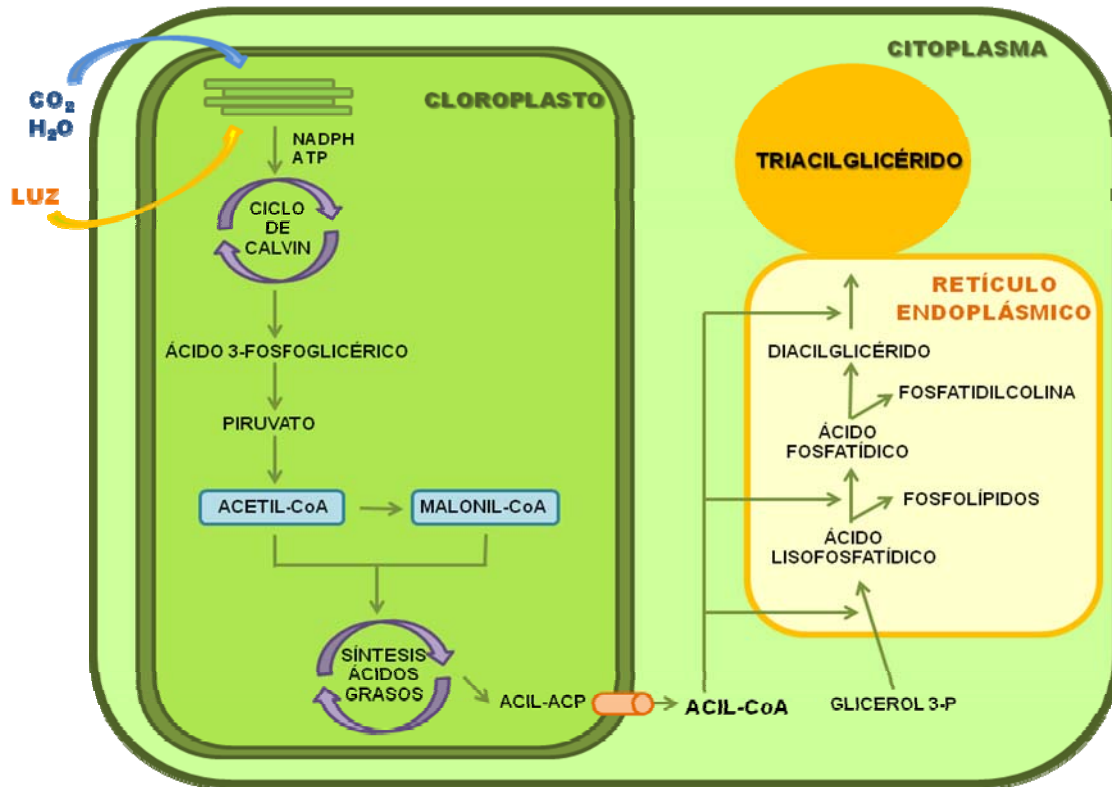


Fig. 2. Biosíntesis de lípidos microalgales. En términos generales, en el sistema fotosintético a partir de la energía proporcionada por los fotones presentes en el flujo luminoso, se lleva a cabo la oxidación catalítica del agua con la consecuente formación de protones, electrones y O_2 , los cuales a su vez posibilitan la obtención de los productos fotosintéticos: ATP y NADPH. Estos productos fotosintéticos son el sustrato del Ciclo de Calvin en el cual el CO_2 es fijado en moléculas de 3 átomos de Carbono (3 C), las cuales a su vez son asimiladas como carbohidratos, lípidos y proteínas. En el caso particular de los lípidos microalgales, las moléculas de 3 C son transformadas a piruvato y acetil-CoA en el cloroplasto, donde las moléculas de acetil-CoA son carboxiladas y sometidas a numerosos ciclos de adición descarboxilativa y β -reducción para la síntesis *de novo* de ácidos grasos (grupos acilo: ACIL-ACP). El mecanismo de transporte de ácidos grasos al exterior del citoplasma se desconoce. Posteriormente, como se indica en el texto, los ácidos grasos son secuencialmente transferidos a las posiciones 1, 2 y 3 del glicerol-3-fosfato, donde algunos intermediarios son desviados hacia la síntesis de lípidos de membrana (Fischer *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008; Rosenberg *et al.*, 2008; Beer *et al.*, 2009).

depender principalmente de la especie, y en última instancia de su constitución genética, son afectados por diversas condiciones físicas y químicas de cultivo, tales como la fase de crecimiento, la disponibilidad y la clase de nutrientes, la salinidad, el tipo, periodos e intensidad de luz, la temperatura, el pH, e incluso, la asociación con otros

microorganismos. La aclimatación de las microalgas a la restricción de nutrientes se caracteriza por la manifestación de respuestas específicas para el elemento limitado (inducción de sistemas de transporte de alta afinidad y de la síntesis de enzimas hidrolíticas para la liberación intra- o extra-celular del nutriente), además de respuestas

generales tales como cambios morfológicos, cese de la división celular, alteraciones en la permeabilidad de las membranas, acumulación de lípidos y/o polisacáridos, reducción de la actividad fotosintética y modificación de procesos metabólicos. La limitación de Nitrógeno es considerada como la estrategia más eficiente para incrementar el contenido de lípidos neutros en las microalgas, en particular el de triglicéridos conformados por ácidos grasos con un elevado grado de saturación. Respuestas similares son inducidas por la deficiencia de fósforo, azufre y silicio, siendo el efecto de este último específico para las diatomeas. Asimismo, la disponibilidad de Hierro (+3) influye en el contenido oleaginoso, aunque el mecanismo se desconoce. Sin embargo, el comportamiento de las microalgas ante la restricción de nutrientes es considerablemente variable y por tanto, no es posible establecer una tendencia generalizada entre las especies microalgales (Ben-Amotz, *et al.*, 1985; Cohen, 1986; Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Thompson, 1996; Sheehan *et al.*, 1998; Grossman & Takahashi, 2001; Gatenby *et al.*, 2003; Guschina & Harwood, 2006; Huntley & Redalje, 2007; Dismukes *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Rosenberg *et al.*, 2008; Gouveia & Oliveira, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009). La acumulación de lípidos en especies oleaginosas, a pesar de la atenuación de la división celular, es consecuencia de la asimilación continua de carbono y su orientación hacia la síntesis activa de ácidos grasos. Los lípidos bajo tales circunstancias, funcionan como una reserva de carbono y

energía, además de proteger al organismo contra el estrés fotooxidativo (Thompson, 1996; Grossman & Takahashi, 2001; Hu *et al.*, 2008; Rosenberg *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009).

La temperatura, por su parte, afecta notablemente el perfil lipídico de las microalgas, de manera tal que a bajas temperaturas incrementa el grado de insaturación. Las altas intensidades luminosas son otra de las condiciones que favorecen sustancialmente la acumulación de triglicéridos con un elevado perfil de saturación, donde intensidades bajas a su vez promueven la síntesis de lípidos polares altamente insaturados, estructural y funcionalmente asociados con las membranas. El pH y la salinidad son otros factores que modifican la síntesis de lípidos de diversas microalgas, sin embargo el tipo y cantidad de lípidos producidos también dependen de la especie y de la magnitud del cambio de éstas variables (Cohen, 1986; Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Thompson, 1996; Andersen, 2005; Guschina & Harwood, 2006; Hu *et al.*, 2008; Rodolfi *et al.*, 2009).

PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

La producción de biodiesel a partir de microalgas es un proceso conformado, en términos generales, por las etapas elementales de producción de biomasa rica en lípidos, recuperación o cosecha de la biomasa, extracción de lípidos y transesterificación, como se indica en la Fig. 3 (Chisti, 2008; Schenk *et al.*, 2008).

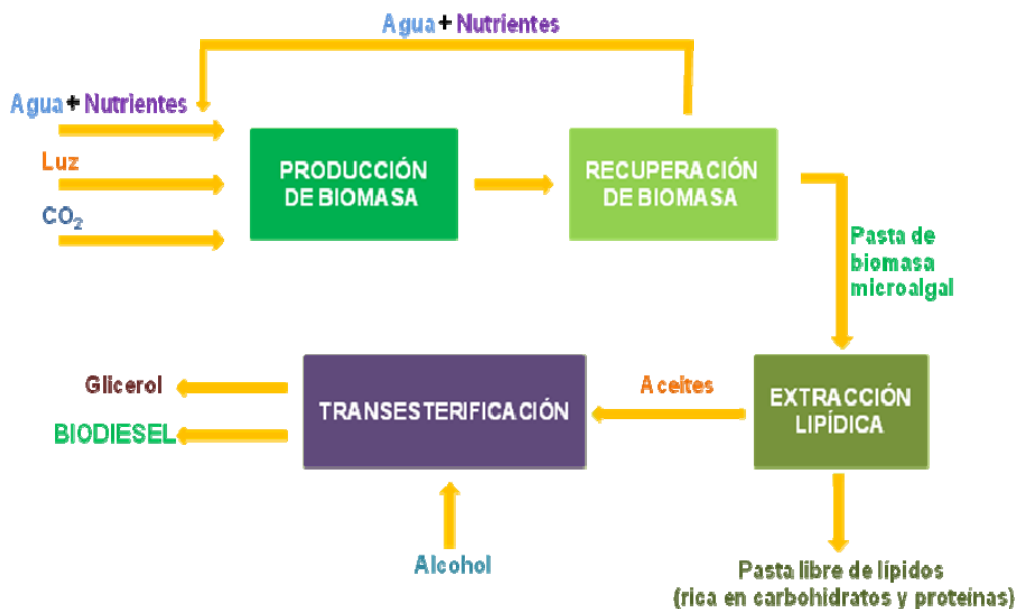


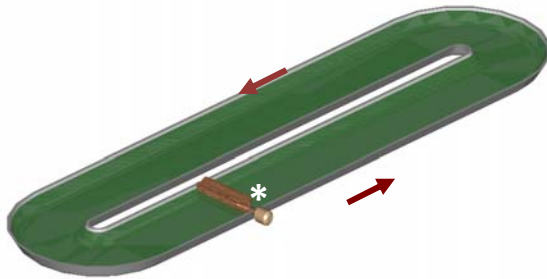
Fig. 3. Esquema conceptual del proceso de producción de biodiesel a partir de microalgas. El proceso de producción de biodiesel está conformado en términos generales por las etapas elementales indicadas en el esquema. El agua, los nutrientes, el CO₂ y la luz, son proporcionados a los sistemas de cultivo (abiertos, cerrados o híbridos) para la producción de biomasa de microalgas rica en lípidos. El CO₂ suministrado puede provenir del aire ambiente, o bien, los sistemas de cultivo pueden ser acoplados a flujos ricos en este gas procedente de emisiones industriales, tales como las de las plantas generadoras de energía eléctrica. La biomasa producida es separada del agua y los nutrientes residuales son recirculados hacia la etapa inicial de producción de biomasa. Los aceites son extraídos a partir de la pasta de microalgas, siendo después transformados en biodiesel y glicerol, mediante la reacción de transesterificación (alcalina, ácida o enzimática). Este esquema conceptual puede incluir etapas adicionales que posibiliten acoplar la producción de biodiesel al aprovechamiento de los co-productos, es decir, del glicerol y de la biomasa microalgal libre de lípidos, ya sea directamente como insumos industriales, en la alimentación humana, animal y/o acuícola, o indirectamente a través de su transformación en productos alternos tales como biogás o bioetanol, entre otros (Chisti, 2008; Schenk *et al.*, 2008).

En relación a la etapa de producción de biomasa de microalgas, actualmente existen sistemas de cultivo de microalgas destinados a la obtención de productos de alto valor agregado (pigmentos carotenoides, ácidos grasos esenciales - $\omega 3$ y $\omega 6$ -, compuestos isotópicos, ficobiliproteínas, farmacéuticos - anticancerígenos y antibióticos -, vitaminas C y E, etc.), no obstante ante la escasa flexibilidad económica del mercado de los biocombustibles, la optimización de tales

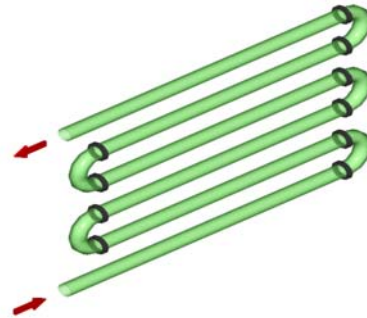
sistemas de producción resulta necesaria (Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991; Schenk *et al.*, 2008; Wijffels, 2008). Los sistemas empleados con mayor frecuencia en la producción de biomasa microalgal son los de tipo abierto, que a pesar de sus formas y tamaños diversos, destacan por asemejar el entorno natural de las microalgas. Los cultivos abiertos comprenden sistemas naturales (lagos, lagunas, estanques), artificiales, de superficie inclinada y

estanques tipo circuito ('raceway ponds'), donde estos últimos son los de uso más extendido (Fig. 4A). Los estanques tipo

'raceway' consisten en circuitos de 15 a 30 cm de profundidad, en los cuales una rueda de paletas mantiene un flujo constante del



A. Estanque tipo 'circuito'.



B. Fotobiorreactor Tubular.

Fig. 4. Sistemas para producción de microalgas. (A) Sistema tipo 'circuito': es el tipo de sistema abierto de uso más frecuente; **Paletas giratorias para la circulación del agua*. (B) Fotobiorreactor tubular: es una clase de sistema cerrado de cultivo microalgal de uso común. Las flechas indican la dirección del flujo de agua.

cultivo; las producciones y productividades biomásicas factibles en estos sistemas son bajas, próximas a 1 g/L y a 10-25 g/m²/d, respectivamente. Las ventajas inherentes a los cultivos abiertos radican en su sencillez y su bajo costo de inversión en contraste con sistemas cerrados, a causa de la diversidad de materiales útiles para su construcción (concreto, tierra, plástico, etc.) y la facilidad que ofrecen para su operación y mantenimiento. Sin embargo, acorde con Wijffels (2008), un factor determinante del costo de producción de biomasa de microalgas en sistemas abiertos es la cosecha de la biomasa, debido a la baja concentración que ésta alcanza. De este modo, al considerar la operación de cosecha de la biomasa y la tecnología actualmente disponible, los costos de producción de los sistemas abiertos no son tan bajos e incluso,

son del mismo orden de magnitud que los correspondientes a los sistemas cerrados.

Los sistemas abiertos presentan diversos inconvenientes tales como pérdidas de agua por evaporación, transferencia limitada de CO₂ al cultivo por su baja concentración en el aire (0.035% v/v) y su difusión hacia la atmósfera, control limitado de las condiciones de cultivo, alta susceptibilidad de contaminación (excepto en cultivos de especies extremófilas), requerimiento de superficies extensas, amplios periodos de producción (6 a 8 semanas), producciones reducidas de biomasa y penetración limitada de la luz (Pulz & Scheibenbogen, 1998; Pulz, 2001; Chisti, 2007; Li *et al.*, 2008; Rittmann, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Wijffels, 2008).

Los sistemas cerrados, en contraste con los abiertos, ofrecen numerosas ventajas tales como pérdidas mínimas de CO₂, riesgo

reducido de contaminación, control y reproducibilidad de las condiciones de cultivo, ahorro de agua y nutrientes, menores requerimientos de superficie, flexibilidad de diseño, cortos periodos de producción (2 a 4 semanas) y productividades considerablemente superiores (5 a 13 veces). Los fotobioreactores cerrados, con el propósito de coleccionar la mayor cuantía posible de energía solar por unidad de superficie, presentan configuraciones diversas, tubulares (vertical, horizontal, helicoidal, conformación α), paneles planos y columnas de burbujeo, principalmente. Los reactores tubulares (Fig. 4B) y de panel plano son los de uso más frecuente; habitualmente están conformados por dos unidades, una de recolección de luz y otra de transferencia de gases. La consideración de factores tales como la luz, la razón CO_2/O_2 , la temperatura, los nutrientes, la salinidad, el pH, entre otros, resulta trascendental para el diseño de sistemas cerrados. Las altas productividades inherentes a estos sistemas precisan de una penetración y distribución óptima de la luz, condición que a su vez requiere de materiales de construcción transparentes y de relaciones superficie/volumen elevadas, sin embargo, la intensidad de la luz incidente debe ser moderada, de lo contrario se presentan fenómenos de fotoinhibición y fotoblanqueo. Asimismo, la relación CO_2/O_2 debe ser tal que la proporción de O_2 sea mínima y por ende, sean impedidos procesos de fotorespiración y daño fotooxidativo. Actualmente, la principal desventaja de los sistemas cerrados consiste en sus elevados

costos, atribuidos en mayor medida a la energía invertida en la agitación mecánica de los cultivos con la finalidad de evitar la sedimentación y favorecer la transferencia de gases (Pulz & Scheibenbogen, 1998; Pulz, 2001; Carvalho *et al.*, 2006; Chisti, 2007; Chisti, 2008; Rittmann, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Wijffels, 2008).

Los sistemas híbridos han sido propuestos como una alternativa económica para la producción de biodiesel microalgal a gran escala. En términos generales, tales sistemas consisten en una etapa inicial de producción de biomasa en fotobioreactores cerrados, en la cual los microorganismos son mantenidos en crecimiento continuo bajo condiciones de suficiencia de nutrientes, etapa que es seguida por una fase de acumulación de producto (lípidos) en estanques abiertos, inducida mediante la deficiencia de nutrientes (Schenk *et al.*, 2008).

Una vez que la biomasa de microalgas ha sido producida en alguno de los sistemas descritos, se da inicio a la etapa de cosecha o recolección, cuyo propósito es el de remover el agua y concentrar las células microalgales para su posterior procesamiento. Esta etapa, como se ha mencionado, influye notablemente en los costos de producción del biodiesel, por lo que la selección de una técnica de recolección eficiente y de bajo costo es trascendental. La centrifugación, sedimentación, filtración y floculación, ya sea individualmente o combinados, son los procedimientos de cosecha más comunes, cuya aplicación depende de las propiedades de la especie de

microalga cultivada (morfologías particulares, presencia de vacuolas gaseosas, etc.), ya que algunas presentan características que facilitan su recolección (Dismukes *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2009). La filtración resulta conveniente para especies microalgales de forma filamentosa o capaces de formar colonias; cabe mencionar que esta operación a gran escala presenta inconvenientes tales como la obstrucción de los filtros, formación de tortas de filtración compresibles y altos costos de mantenimiento. La aplicación de la sedimentación o de la centrifugación podría ser factible en microalgas con diámetros mayores a los 5 μm y paredes celulares relativamente gruesas. A pesar del frecuente empleo de la sedimentación en la acuicultura, su principal desventaja es la larga duración de esta operación. Por su parte, la centrifugación sólo resulta conveniente para productos de alto valor agregado, ya que implica altos costos y demanda un elevado consumo de energía. La floculación es otro procedimiento común de cosecha, el cual consiste en la aglomeración y posterior sedimentación o flotación de la biomasa de microalgas; esta puede ser inducida de diversos modos. La floculación mediante la adición de sales inorgánicas (alúmina, cloruro férrico, óxido de calcio) no es recomendada por su alto costo y por contaminar la biomasa, de manera tal que ésta no puede ser utilizada posteriormente como alimento. El uso de polímeros orgánicos catiónicos como floculantes no presenta estos inconvenientes,

sin embargo su efectividad puede ser disminuida en aguas salobres como consecuencia de la elevada fuerza iónica que las caracteriza. Por su parte, la biofloculación es un procedimiento alterno de cosecha que consiste en el uso de especies de microalgas que naturalmente floculan o cuya aglomeración puede ser inducida mediante la aplicación de condiciones de estrés tales como cambios de pH, temperaturas extremas y restricción de nutrientes. No obstante, la modificación de las condiciones de cultivo puede alterar la composición bioquímica de la microalga y por tanto el rendimiento lipídico. Finalmente, se ha propuesto la floculación microbiana o co-biofloculación, procedimiento en el cual se adicionan microorganismos autofloculantes (tales como levaduras) al cultivo microalgal, de manera tal que se promueve la aglomeración conjunta de éstos con la biomasa que se desea cosechar (Belter *et al.*, 1988; Schenk *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2009).

A partir de la biomasa cosechada se extraen los aceites mediante procedimiento tales como lixiviación con solventes orgánicos, principalmente hexano. Sin embargo, algunos inconvenientes de esta técnica de extracción son los costos y la energía adicionales necesarios para la recuperación del solvente, además de la contaminación de la biomasa microalgal libre de lípidos, restringiendo así las posibilidades para el posterior aprovechamiento de este co-producto. En esta década, se han propuesto variantes para la lixiviación con solventes orgánicos, tales como la extracción *in situ* a partir de células vivas de microalgas

o el acoplamiento de la etapa de extracción lipídica con la de transesterificación, no obstante, tanto su aplicación a gran escala, como su factibilidad económica, deben ser evaluadas. Asimismo, la extracción mediante prensado ha sido sugerida aunque, a pesar de no implicar el uso de solventes, su eficiencia es menor a la de la lixiviación (Hejazi & Wijffels, 2004; Chisti, 2008; Schenk *et al.*, 2008).

FACTIBILIDAD ECONÓMICA DEL BIODIESEL DE MICROALGAS

La factibilidad de la producción de biodiesel de microalgas depende de su competitividad con los combustibles fósiles, de manera tal que los costos de producción resultan decisivos. La estimación de la viabilidad de esta tecnología es posible mediante una evaluación análoga a la realizada por Chisti (2008), en la cual se determina el máximo costo de producción de biomasa microalgal con un contenido oleaginoso específico, que posibilitaría su competencia con los precios actuales del petróleo. El cálculo se fundamenta en la definición de la cantidad de biomasa que, a partir del biodiesel y biogás derivados de la misma, proporciona una cantidad de energía equivalente a la de un barril de crudo (159 L). Acorde con la OPEC (OPEC Annual Report, 2008), en el 2008 el costo promedio del barril de petróleo fue de US\$ 94.45. Para poder contener con este precio, el gasto en la obtención de biomasa microalgal con un contenido lipídico del 55% ($\text{g}_{\text{Lípidos}}/\text{g}_{\text{Biomasa}}$) debe ser inferior a los US\$ 323 $\text{ton}_{\text{Biomasa}}^{-1}$ (Chisti, 2008). Recientemente, compañías

productoras de biomasa microalgal han reportado costos de producción de US\$ 370 $\text{ton}_{\text{Biomasa}}^{-1}$ o inferiores, por ende la tecnología actual podría ser económicamente viable (Schenk *et al.*, 2008). Sin embargo, las fluctuaciones en el precio del crudo deben ser consideradas ya que en el transcurso del 2009, el costo del barril ha disminuido considerablemente (OPEC Basket Price, 2008), situación que demanda la reducción de los costos de producción de biomasa microalgal a alrededor de la mitad del valor antes estimado para el 2008 (US\$ 142 $\text{ton}_{\text{Biomasa}}^{-1}$).

COMENTARIOS FINALES

La tecnología microalgal presenta limitaciones diversas, siendo las más destacadas la dificultad para mantener monocultivos con altos rendimientos de biomasa, la selección de cepas de microalgas oleaginosas, la escasez de información relativa al escalamiento de sistemas de producción y el consumo elevado de energía por procesos de bombeo, transferencia de gases, mezclado, recolección y deshidratación de la biomasa. No obstante, los costos de producción de biodiesel microalgal pueden ser aminorados a través de distintas estrategias. Avances en la ingeniería de fotobioreactores, además del desarrollo de procesos económicos para la recolección de biomasa y su posterior transesterificación sin el requerimiento previo de procedimientos de deshidratación, son aspectos trascendentales para la reducción de costos. Con tal propósito, también se ha sugerido el acoplamiento de los cultivos de

microalgas a los flujos ricos en CO₂ derivados de emisiones industriales y al tratamiento de aguas residuales. Asimismo, se ha propuesto el aislamiento y selección de especies oleaginosas, además de su modificación mediante procedimientos de ingeniería genética y metabólica con propósitos diversos, tales como incrementar la eficiencia fotosintética, mejorar la productividad, aumentar la fracción oleaginosa, reducir los fenómenos de fotoinhibición y daño fotooxidativo, entre otros. Finalmente, resulta imprescindible la consideración de estrategias de producción basadas en el concepto de 'biorefinerías', donde los componentes restantes de la biomasa microalgal después de extraer los lípidos, pueden ser transformados en productos comercializables tales como: alimento para ganado, extracción de pigmentos naturales, otras sustancias químicas de alto valor agregado y hasta el uso de la digestión anaerobia para obtener biogas o metano (Chisti, 2007; Chisti, 2008; Dismukes *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Song *et al.*, 2008; Wijffels, 2008; Rodolfi *et al.*, 2009).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo del Fondo Sectorial CONACyT-SAGARPA y de la Red de Fuentes de Energía del CONACyT.

REFERENCIAS

Al-Zuhair S (2007) Production of biodiesel: possibilities and challenges. *Biofuels Bioprod. Bioref.* 1: 57-66.

Andersen RA (2005) *Algal Culturing Techniques*. Phycological Society. Elsevier Academic Press. Amsterdam. pp. 578.

Anónimo (2007) Biodiesel: combustible del futuro. *Claridades Agropecuarias*. 163: 3-12.

Arredondo BO & Vázquez-Duhalt R (1991) Aplicaciones biotecnológicas en el cultivo de microalgas. *Ciencia y Desarrollo*. 17: 99-111.

Beer LL, Boyd ES, Peters JW & Posewitz MC (2009) Engineering microalgae for biohydrogen and biofuel production. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20: 264-271.

Belter PA, Cusler EL & Hu WS (1988) *Bioseparations: Downstream processing for biotechnology*. John Wiley & Sons. pp. 587

Ben-Amotz A, Tornabene TG & Thomas WH (1985) Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21: 72-81.

BP Statistical Review of World Energy (2008) www.bp.com/liveassets/bp_internet/globalbp/globalbp_uk_english/reports_and_publications/statistical_energy_review_2008/STAGING/local_assets/downloads/pdf/statistical_review_of_world_energy_full_review_2008.pdf

Carvalho AP, Meireles LA & Malcata FX (2006) Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol. Prog.* 22: 1490-1506.

Chisti Y (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25: 294-306.

Artículos

- Chisti Y (2008) Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol.* 26: 126-131.
- CIA World Factbook (2009) www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/
- Cohen Z (1986) Products from microalgae. In: Handbook of microalgal mass culture. Richmond A (ed.) CRC Press pp. 421-454.
- Dismukes GC, Carrieri D, Bennette N, Ananyev GM & Posewitz MC (2008) Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 235-240.
- Donohue T & Cogdell R (2006) Microorganisms and clean energy. *Nat Rev. Microbiol.* 4: 800.
- European Biodiesel Board (2008) www.ebb-eu.org/stats.php
- Fairless D (2007) The little shrub that could – maybe. *Nature*, 449: 652-655.
- Fischer CR, Klein-Marcuschamer D & Stephanopoulos G (2008) Selection and optimization of microbial hosts for biofuels production. *Metab. Eng.* 10: 295-304.
- Fukuda H, Kondo A & Noda H (2001) Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *J. Biosci. Bioeng.* 92: 405-416.
- Gatenby CM, Orcutt DM, Kreeger DA, Parker BC, Jones VA & Neves RJ (2003) Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *J. Appl. Phycol.* 15: 1-11.
- Gouveia L & Oliveira AC (2009) Microalgae as raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36: 269-274.
- Griffiths MJ & Harrison STL (2009) Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J. Appl. Phycol.* 21: 493-507.
- Grossman A & Takahashi H (2001) Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 163-210.
- Guschina IA & Harwood JL (2006) Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Prog. Lipid Res.* 45: 160-186.
- Hejazi AM & Wijffels RH (2004) Milking of microalgae. *Trends Biotechnol.* 22: 189-194.
- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M & Darzins A (2008) Microalgal triacylglycerols as feedstock for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.* 54: 621-639.
- Huntley ME & Redalje DG (2007) CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change.* 12: 573-608.
- Indicadores Petroleros (2008) www.ri.pemex.com/index.cfm?action=content§ionID=16&catID=12155;
- Janssen M, Tramper J, Mur LR & Wijffels RH (2003) Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up and

Artículos

- future prospects. *Biotechnol Bioeng.* 81: 193-210.
- Jiménez A, Sánchez-Juárez A, Fernández A, Mathew X & Sebastian PJ (2007) Converting solar radiation to electric power in Mexico. *In: Towards a cleaner planet.* Klapp J, Cervantes-Cota JL & Chávez JF (eds.) Springer Berlin Heidelberg pp. 281-303.
- Knothe G (2005) Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Process Technol.* 86: 1059-1070.
- Lee AK, Lewis DM & Ashman P (2009) Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. *J. Appl. Phycol.* 21: 559-567.
- Li Q, Du W & Liu D (2008) Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80: 749-756.
- Li X, Xu H & Wu Q (2007) Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* 98: 764-771.
- Liu B & Zhao Z (2007) Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 82: 775-780.
- Ma F & Hanna MA (1999) Biodiesel production: a review. *Bioresour Technol.* 70: 1-15.
- Meng X, Yang X, Xu X, Zhang L, Nie Q & Xian M (2009) Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable Energy.* 34: 1-5.
- Metzger P & Largeau C (2005) *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66: 486-496.
- OPEC Annual Report (2008) www.opec.org/library/Annual%20Reports/pdf/AR2008.pdf
- OPEC Basket Price (2008) www.opec.org/Home/basket.aspx
- Pulz O (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 287-293.
- Pulz O & Scheibenbogen K (1998) Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. *In: Advances in biochemical engineering / biotechnology.* Scheper T (ed.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg pp. 123-152.
- Rittmann BE (2008) Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.* 100: 203-212.
- Rodolfi L, Zittelli GC, Bassi N, Padovani G, Biondi N, Bonini G & Tredici MR (2009) Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102: 100-112.
- Rosenberg JN, Oyler GA, Wilkinson L & Betenbaugh MJ (2008) A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 430-436.

- Schenk PM, Thomas-Hall SR, Stephens E, Marx UC, Mussnug JH, Posten C, Kruse O & Hankamer B (2008) Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenerg. Res.* 1: 20-43.
- Sharma YC, Singh B & Upadhyay SN (2008) Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. *Fuel.* 87: 2355-2373.
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, & Roessler P (1998) A look back to the US Department of Energy's Aquatic Species Program – biodiesel from algae. National Renewable Energy Laboratory, Golden CO; Report NREL/TP-580-24190, 328 p. www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf
- Song D, Fu J & Shi D (2008) Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel. *Chin. J. Biotech.* 24: 341-348.
- Thompson Jr GA (1996) Lipids and membrane function in green algae. *Biochim Biophys Acta.* 1302: 17-45.
- US National Biodiesel Board (2008) Estimated US biodiesel production by fiscal year. www.biodiesel.org/pdf_files/fuelfactsheets/Production_graph_slides/Production_graph_slide.pdf
- Vasudevan PT & Briggs M (2008) Biodiesel production – current state of the art and challenges. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35: 421-430.
- Vázquez-Duhalt R & Greppin H (1987) Growth and production of cell constituents in batch cultures of *Botryococcus sudeticus*. *Phytochem.* 26: 885-889.
- Waltz E (2009) Biotech's new gold? *Nat. Biotechnol.* 27: 15-18.
- Wijffels RH (2008) Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trends Biotechnol.* 26: 26-31.
- Williams PJ (2007) Biofuel: microalgae cut the social and ecological costs. *Nature*, 450: 478.
- Xu H, Miao X & Wu Q (2006) High quality biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *J. Biotechnol.* 126: 499-507.

Apéndice 1. Cálculo de la eficiencia fotosintética y de la máxima productividad teórica de biodiesel de microalgas a partir de la radiación solar promedio de México.

A. Eficiencia fotosintética.

La eficiencia fotosintética se define como la fracción de energía luminosa absorbida que es fijada como energía química en la biomasa microalgal durante el crecimiento fotoautotrófico. El cálculo de la eficiencia fotosintética es posible si se considera que la fijación de un mol de CO₂ en la biomasa microalgal requiere de la absorción de 14 fotones y resulta en la producción de 21.25 g de peso seco con una composición representativa CH_{1.78}O_{0.36}N_{0.12} (esto es un peso molecular promedio de la microalga de 21.25 g/mol) y un contenido energético de 547.8 kJ. Asimismo, se considera que la radiación fotosintéticamente activa (PAR) sólo comprende el 42.3% de la radiación solar total y que la energía promedio de los fotones PAR es de 218 kJ (Wijffels, 2008). De este modo, la eficiencia fotosintética respecto a la radiación total, se determina de la siguiente manera:

$$\% \text{ Eficiencia fotosintética} = \frac{\text{Energía química fijada}}{\text{Energía luminosa absorbida}} \cdot 100$$

$$\% \text{ Eficiencia fotosintética} = \frac{547.8 \text{ kJ}_{\text{Biomasa}}}{14 \text{ fotones} \cdot \left(\frac{1 \text{ fotón PAR}}{0.423 \text{ fotones}} \right) \cdot \left(\frac{218 \text{ kJ}_{\text{Radiación}}}{1 \text{ fotón PAR}} \right)} \cdot 100 = 7.6 \%$$

B. Máxima productividad teórica de biodiesel de microalgas en México.

La máxima productividad teórica de biomasa microalgal ($Q_{\text{Máxima Teórica}}$) en México se estima al considerar la radiación solar promedio en el país de 1,825 kWh/m²/año (Jiménez *et al.*, 2007) y la eficiencia fotosintética de las microalgas en relación a la radiación solar incidente calculada en el

Apéndice 1.A.

$$Q_{\text{Máxima Teórica}} = \frac{\text{Radiación}_{\text{Solar-Promedio}} \cdot \text{Eficiencia fotosintética} \cdot \text{Peso molecular}_{\text{Biomasa-Algas}}}{\text{Energía química fijada}_{\text{mol C}}}$$

$$Q_{\text{Máxima Teórica}} = 194 \text{ tons}_{\text{Biomasa}}/\text{ha/año}$$

De este modo, al suponer un contenido de triglicéridos en la biomasa microalgal del 30% ($g_{\text{TAG}}/g_{\text{Biomasa}} \times 100$), una eficiencia de transesterificación del 96% (Al-Zuhair, 2007) y una densidad de biodiesel proveniente de microalgas de 0.864 kg_{Biodiesel}/L (Xu *et al.*, 2006), se estima una producción hipotética máxima de **64,500 L_{Biodiesel}/ha/año**.