

Ra Ximhai

Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo
Sustentable

Ra Ximhai
Universidad Autónoma Indígena de México
ISSN: 1665-0441
México

2012

PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE MICROALGAS

Luis Carlos Fernández-Linares; Jorge Montiel-Montoya; Aarón Millán-Oropeza y Jesús
Agustín Badillo-Corona

Ra Ximhai, septiembre - diciembre, año/Vol. 8, Número 3
Universidad Autónoma Indígena de México
Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 101-115.



e-revist@s

PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE MICROALGAS

PRODUCTION OF BIOFUELS OBTAINED FROM MICROALGAE

Luis Carlos **Fernández-Linares**¹; Jorge **Montiel-Montoya**²; Aarón **Millán-Oropeza**¹ y Jesús **Agustín Badillo-Corona**¹

¹Profesor investigador. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología-Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto s/n Col. Barrio la Laguna Ticomán, C.P. 07340 México D.F. ²Profesor investigador. CIIDIR- Instituto Politécnico Nacional, Unidad Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250. Guasave, Sinaloa, México. 81101. mont54@yahoo.com.

RESUMEN

Se hace una revisión de la situación de los biocombustibles en el mundo, principalmente del biodiesel. Se comparan las diferentes materias primas para la síntesis de biodiesel y se enfatiza en la producción de éste a partir de microalgas. Se comparan las diferentes microalgas de agua dulce y salada en cuanto a su contenido lipídico y productividad. Se revisa el proceso de biosíntesis de los lípidos y como se puede mejorar su producción de lípidos en estas. Se discute la importancia de manipular genéticamente a *Botryococcus braunii*, *Nannochloropsis* sp, *Noeclorisoebundans* y *Nitschia* sp. También se hace un estudio de las ventajas y desventajas de los diferentes sistemas de cultivo de microalgas. Finalmente se presenta una perspectiva de los biocombustibles a partir de las microalgas. Entre los principales retos a vencer para producir biodiesel están: El costo de producción de biomasa, que involucra la optimización de medios, selección y manipulación de cepas y el diseño de fotobiorreactores. También se debe considerar el proceso de separación de biomasa, la extracción de aceites y subproductos, la optimización del proceso de transesterificación, purificación y uso de subproductos.

Palabras clave: Biodiesel, bioetanol, fotobiorreactores, algas, cianobacterias, sustentabilidad, ecología industrial.

SUMMARY

A review of the situation of bio-fuels in the world, mainly of biodiesel is made. A comparison among the different raw materials for the synthesis of biodiesel is done and it is emphasized in the production of biodiesel from microalgae. The different fresh and salt water micro-algae in its lipid content and productivity are compared. A review of the process of biosynthesis of lipids in microalgae and how to improve the production of lipids in microalgae is shown. It is discussed the importance of the genetic manipulation to highly lipid-producing microalgae (example: *Botryococcus braunii*, *Nannochloropsis* sp, *Noeclorisoebundans* and *Nitschia* sp.). A study of the advantages and disadvantages of the different systems of cultivation of microalgae is also made. Finally, it is shown a perspective of biofuels from microalgae. Among the main challenges to overcome to produce biodiesel from microalgae are: the cost of production of biomass, which involves the optimization of media, selection and manipulation of strains and photobioreactors design. The process of separation of biomass, the extraction of oils and by-products, the optimization of the process of transesterification, purification and use of by-products must also be considered.

Key words: Biodiesel, bioethanol, photobioreactors, algae, cyanobacteria, sustainability, industrial ecology.

INTRODUCCIÓN

Existen dos grandes problemas que enfrenta el mundo en el área energética: la disminución de las reservas petroleras y la contaminación causada por la quema de los combustibles fósiles. A partir de la revolución industrial (siglo XVIII y XIX) se comenzó a observar la presencia de gases emitidos durante los procesos productivos, y solo hasta el siglo XX, los científicos y los políticos comenzaron a tomar en consideración las alteraciones generadas a los ecosistemas y a la población humana.

Durante muchas décadas los combustibles fósiles han sido la principal fuente energética y también el principal motor de la economía mundial, sin embargo, no se han descubierto nuevos yacimientos petroleros de gran importancia o impacto en la producción mundial, la Agencia Internacional de la Energía (AIE) señala la necesidad de desarrollar tecnología que sustituya el uso de petróleo, ya que para el 2020 pronostica la disminución de la producción del petróleo convencional. Uno de los retos más importantes que enfrentará la sociedad en las próximas décadas será cubrir la creciente demanda de energía de forma segura y sustentable. La demanda de energía crecerá potencialmente en los próximos años, para el año 2004 el consumo mundial de energéticos fue de alrededor de 13,000 Mtoe (millones de toneladas de equivalente de petróleo) y se estima que para el año 2030 el consumo se eleve hasta los 18,000 Mtoe (Boyle, 2004).

La energía primaria proviene aproximadamente en 80% de petróleo, carbón y gas natural y aún para el año 2030 las fuentes renovables seguirán representando una pequeña fracción de la energía global (AIE, 2006). En los próximos cuarenta años será más difícil producir petróleo, esto es debido a que actualmente se extraen crudos cada vez más pesados los cuales son más difíciles de refinar, afectando directamente al costo de producción de combustibles, así como el hecho de que la política, la economía y la tecnología definen en el mercado el precio del petróleo.

La crisis del petróleo de 1970 provocó gran interés a nivel mundial en el desarrollo de biocombustibles como fuente alterna al uso de combustibles derivados de petróleo (Timilsina y Shrestha., 2011). En 2008 los combustibles fósiles se establecieron como fuente primaria de energía (Balat y Balat., 2010). Actualmente, el sector de transporte es completamente dependiente de combustibles derivados de petróleo, su demanda aumenta anualmente en promedio 1.4%. De continuar la extracción al ritmo actual, las reservas de petróleo se agotarán para mediados del presente siglo (Departamento de Energía de los Estados Unidos: *International Energy Outlook*, 2011). Esto representa serios problemas de seguridad energética y el aumento en la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) (Mata *et al.*, 2010). Aunado a eso, el uso de combustibles fósiles no es sustentable debido a la acumulación de GEI en la atmósfera (Balat, 2011). Esta situación demanda la necesidad del desarrollo de tecnologías sustentables, renovables y que permitan cubrir la demanda energética de las actividades antropogénicas (Balat y Balat., 2010).

Las energías renovables se definen según la Comisión Nacional para el Ahorro de Energía (CONAE) como formas de energía que tienen una fuente prácticamente inagotable con respecto al tiempo de vida de un ser humano en el planeta, y cuyo aprovechamiento es técnicamente viable. Dentro de estos tipos de energía se encuentran: la solar, la eólica (viento), la hidráulica, la biomasa (materia orgánica), la geotérmica (calor de las capas internas de la tierra) y la energía oceánica, principalmente. La biomasa, es el término genérico que se refiere al conjunto de la materia biológicamente renovable (árboles, cultivos), de la que se puede obtener biocombustibles como el biodiesel, obtenido de aceites de plantas o algas, y el bioetanol. Actualmente hay un gran interés por la producción de grandes cantidades de este como alternativa a los combustibles fósiles en todo el mundo.

Una alternativa es el uso de biocombustibles, definidos como combustibles líquidos o gaseosos potencialmente renovables, que pueden utilizarse para la generación de electricidad, calor y energéticos (Balat *et al.*, 2007). Los biocombustibles como: bioetanol, butanol, biodiesel, hidrógeno y metano, son sintetizados a partir de fuentes biológicas (Stephanopoulos *et al.*, 2008).

Particularmente, el biodiesel es una interesante alternativa para cubrir parte de la demanda energética de combustibles derivados de petróleo destinados al transporte (Chisti, 2011). El biodiesel es un biocombustible producido principalmente de aceites de plantas oleaginosas, cuya disponibilidad es incapaz de remplazar el mercado de diesel (Timilsina y Mevel., 2010); además de no ser sustentable por competir por alimento humano y suelos cultivables (Amaro *et al.*, 2011; Demirbas y Demirbas, 2010).

El uso de microalgas para la producción de biodiesel ha surgido como una opción promisoriosa, debido a que presentan mayor eficiencia fotosintética, son más eficaces en la asimilación de CO₂ y otros nutrientes con respecto a las plantas, acumulan entre 20 y 80% de triglicéridos (Chisti, 2011), no requieren tierras cultivables, demandan menor consumo de agua renovable y pueden cultivarse en agua salobre (Amaro *et al.*, 2011; Chisti, 2007; Demirbas, 2009). La composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento de microalgas tienen un efecto importante en el rendimiento de biomasa y en el contenido de lípidos (Sims y Christenson, 2011). Se ha demostrado que la limitación de nitrógeno y fósforo, incrementan el contenido lipídico en microalgas (Beer *et al.*, 2009; Scott *et al.*, 2010).

Para su cultivo existen dos principales tipos de fotobiorreactores: sistemas cerrados y sistemas abiertos tipo raceway (Sims y Christenson, 2011). Los sistemas abiertos presentan menor

productividad comparados con los sistemas cerrados (Chisti, 2011). Sin embargo, su operación, limpieza, construcción y escalabilidad son aspectos más económicos a comparación de los sistemas cerrados (Ugwu *et al.*, 2008); por lo que su desarrollo representaría una opción promisoriosa en la optimización de costos de producción para un bioproceso de biodiesel a nivel industrial.

México como Colombia y otros países Latinoamericanos actualmente son exportadores de petróleo, pero las reservas probadas y la calidad del petróleo están disminuyendo. Actualmente es imperante que se desarrollen planes para la implementación y desarrollo de tecnologías para la obtención de energías renovables. Varias de estas tecnologías ya llevan un gran avance en el desarrollo tecnológico (eólicas, solar, mareomotriz), así como la obtención de biocombustibles a partir de caña y granos. En el caso de los biocombustibles, se deben desarrollar tecnologías que sean sustentables, es decir, que respondan a las necesidades y realidades de los países Latinoamericanos. Los biocombustibles a partir de algas son tecnologías que permitirán dar respuesta a las necesidades de combustibles líquidos de forma sustentable y contribuir a la seguridad energética nacional.

Situación de los biocombustibles en el mundo

El incremento del precio del petróleo, la naturaleza finita de los combustibles fósiles y la preocupación con respecto al impacto ambiental, especialmente sobre la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), han establecido la necesidad de buscar nuevas fuentes energéticas; así como desarrollar tecnologías alternas para motores de combustión (Balat, 2011). Debido a que aproximadamente el 98% de las emisiones de carbono resultan de la combustión de energéticos fósiles (Balat y Balat., 2010).

A partir de la crisis de petróleo en la década de 1970, surgió gran interés en desarrollar biocombustibles para el uso en medios de transporte en países como: Brasil, Estados Unidos, China, Kenya y Zimbawe (Timilsinay Shrestha., 2011).

En la actualidad el sector de transporte es casi totalmente dependiente de los combustibles derivados de petróleo, alcanzando el 73.3% del consumo global de petróleo. La mayoría de los expertos coinciden en que de continuar la extracción al ritmo actual, las reservas de petróleo se agotarán para mediados del presente siglo (Balat y Balat., 2010; Departamento de Energía de los Estados Unidos: *International Energy Outlook*, 2011).

A pesar de la existencia de tecnologías para captar energía solar, hídrica y eólica, el uso de biocombustibles líquidos y gaseosos a partir de biomasa permitirá cubrir gran parte de la demanda energética requerida para el transporte (Balat, 2011; Chisti y Yan, 2011).

La creación de biocombustibles líquidos a partir de biomasa ha sido un gran logro de la biotecnología, porque son una fuente renovable y abundante en lugares donde los combustibles líquidos derivados de petróleo no están disponibles (Stephanopulus *et al.*, 2008). En años recientes se han estudiado los impactos económicos y ambientales de la producción de biocombustibles como etanol, metano, hidrógeno, y biodiesel. Resaltando la importancia del estudio de la producción de biodiesel, debido a que es la única tecnología capaz de sustituir el consumo de combustibles derivados de petróleo (Chisti, 2011), principalmente aquellos destinados para el sector de transporte. Además ofrece ventajas ambientales como la reducción de emisiones de GEIs hasta el 70-90% con respecto al diesel convencional (Timilsina y Mevel, 2010).

Biodiesel

El biodiesel es un biocombustible líquido compuesto de alquil-ésteres de alcoholes de cadena corta como etanol y metanol, con ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable: aceites vegetales, grasas animales y aceites de microalgas (Robles-Medina *et al.*, 2009).

Se han hecho esfuerzos considerables para el desarrollo de derivados lipídicos (triglicéridos) que se asemejen a las propiedades y comportamiento de energéticos a base de hidrocarburos fósiles (Balat,

2011). Los principales problemas asociados a la bioconversión de triglicéridos en biodiesel son las altas viscosidades, baja volatilidad y la poliinsaturación (Demirbas, 2009).

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, pirólisis y transesterificación (Balat y Balat., 2010; Garibay-Hernández *et al.*, 2009). De las cuatro técnicas, la conversión química ó transesterificación de aceites es la solución más factible al problema de altas viscosidades (Balat, 2011). La transesterificación o alcoholólisis es la reacción reversible entre triglicéridos y un alcohol para producir alquil ésteres de ácidos grasos (biodiesel) y glicerol como subproducto (Fig. 1). La reacción de transesterificación se realiza mediante alcoholes alifáticos monohídricos de cadena corta, principalmente: metanol, etanol, propanol y butanol (Abdullah *et al.*, 2007).

Es preferible el uso de etanol en la reacción de transesterificación, debido a que puede generarse de productos agrícolas, es renovable y ambientalmente más amigable, sin embargo, el metanol es el alcohol más empleado por sus ventajas físicas, químicas y bajo costo (Balat y Balat., 2010).

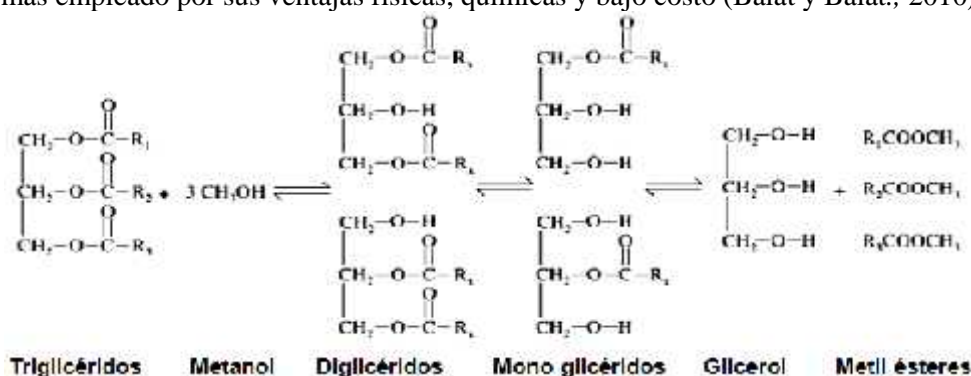


Figura 1. Reacción general de transesterificación (Abdullah *et al.*, 2007).

El biodiesel tiene las principales ventajas de ser una fuente de energía potencialmente renovable y biodegradable, durante su combustión produce menos emisiones nocivas de sulfuros, hidrocarburos aromáticos y partículas de hollín (Balat y Balat., 2010), posee propiedades lubricantes que reducen el desgaste de los motores, es un producto seguro para su transporte y manejo debido a su elevado punto de inflamación (150 °C) y baja volatilidad (Demirbas, 2009). Además, el biodiesel puede utilizar la infraestructura actual de almacenamiento y de distribución para el diesel de petróleo (Robles-Medina *et al.*, 2009).

Estados Unidos de Norteamérica es el país con mayor producción de biodiesel (4050 ML/año) seguido por Alemania (3446 ML/año) y Francia (2301 ML/año) (European Biodiesel Board, 2012; NBB US National Biodiesel Board, 2012). Países emergentes como Malasia, China, Brasil, Colombia, Argentina e Indonesia, desarrollan tecnologías promisorias en la industria del biodiesel (Li *et al.*, 2008). Y se estima que la producción mundial del biocombustible incrementará considerablemente con un mercado de 168,206 millones de litros para el 2016 (Li y Liu., 2008; Timilsina y Mevel, 2010).

A pesar de la tendencia de consumo y producción de biodiesel, la realidad es que no será un producto económicamente competitivo mientras no cuente con el subsidio del gobierno y cuando el precio del crudo de petróleo esté por encima de los USD\$100 por barril (Chisti *et al.*, 2011); hoy en día el costo por barril es de aproximadamente USD\$106.45 (Departamento de Energía de los Estados Unidos: *WorldCrudeOilPrices*, 2011). Sin embargo, más de la mitad de los costos de producción son dependientes del precio de la materia prima, por ende, la reducción de los costos está estrechamente ligada a la optimización en los precios de la fuente de producción (Timilsina y Mevel., 2010).

Materia prima para la síntesis de biodiesel

Los principales sustratos empleados para producir biodiesel son aceites vegetales extraídos de plantas oleaginosas, cuyo costo representa cerca del 70% del costo total de producción (Behzadi y Farid, 2007); lo cual indicaría que los aceites vegetales más apropiados son aquellos de cultivos con las mayores productividades por hectárea (Cuadro 1) o aceites de bajo costo como aceites de cocina gastados (Robles-Medina *et al.*, 2009).

La constitución básica de los aceites vegetales es del 90-98% de triglicéridos y una pequeña cantidad de mono y diglicéridos; los cuales contienen usualmente ácidos grasos libres, agua, esteroides, fosfolípidos, odorantes y otras impurezas (Srivastava y Prasad, 2000).

Las ventajas que ofrecen los aceites vegetales como materia prima para biodiesel son su portabilidad, disponibilidad inmediata, regeneración, bajo contenido de sulfuros, alto contenido calórico (aproximadamente 88% del combustible D2) y biodegradabilidad (Balat *et al.*, 2010). Las principales desventajas son la alta viscosidad, baja volatilidad, la reactividad de las cadenas de hidrocarburos insaturados y la competencia por suelos cultivables y alimento humano (Demirbas., 2010).

Cuadro1. Comparación de distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel.

Organismo	Rendimiento de aceite (L/ha)	Productividad de Biodiesel (L/ha/año)	Superficie equivalente requerida (ha x 10 ⁶)
Palma ^a	2400	5950	3.972
<i>Jatropha</i> ^a	1300	1892	12.490
Colza ^a	1100	1190	19.859
Girasol ^a	690	952	24.823
Soja ^a	400	446	52.986
Microalga ^b	18750	12000	1.969
Microalga ^c	58760	-	-

^a (Schenk *et al.*, 2008).

^b *Phaeodactylum tricornutum*, 20% aceite (% peso) en biomasa a 5 g lípidos/m² día.

^c 30% aceite (% peso) en biomasa (Chisti, 2007).

Una alternativa al uso de aceites vegetales como fuente para la generación de biodiesel es el aceite gastado de cocina (AGC) como medida para reducir costos de producción, el AGC sería una buena opción como material crudo debido a que es 2-3 veces más barato que el aceite vegetal virgen (Srivastava y Prasad, 2000). La conversión de AGC en metil-ésteres mediante el proceso de transesterificación reduce la viscosidad a una séptima parte, reduce el peso molecular a una tercera parte, incrementa ligeramente la volatilidad, y reduce el punto de fluencia considerablemente (Demirbas, 2009). Sin embargo, la producción de biodiesel a partir de AGC es un gran reto debido a la presencia en gran cantidad de componentes indeseables como ácidos grasos libres y agua (Balat y Balat., 2010), que disminuyen la eficiencia de bioconversión del biodiesel.

Otro grupo de fuentes potenciales para la producción de biodiesel son las grasas de origen animal. Las principales grasas animales empleadas son sebo, grasa blanca o manteca, grasa de pollo y grasa amarilla (Balat y Balat, 2010). Estas grasas, comparadas con los cultivos de plantas, ofrecen una gran ventaja económica; ya que presentan una conversión favorable en biodiesel debido al alto número de cetano, nula corrosión y bajas concentraciones de ácidos grasos libres y agua, (Robles-Medina *et al.*, 2009) pero existe una cantidad disponible muy limitada, lo que significa que esta fuente nunca será capaz de cubrir las necesidades energéticas del mundo (Sheedlo, 2008).

A pesar de las ventajas con el medio ambiente que ofrece la producción de biodiesel a base de aceites de cultivos vegetales, su escalamiento a grandes cantidades tiende a no ser sustentable, ya que cerca del 13.5% de los humanos en el mundo tienen desnutrición (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2011), lo que indica una alarmante necesidad de granos y otros cultivos alimentarios básicos con potencial para la generación de biodiesel, además de competir por tierras cultivables (Balat y Balat.,2010; Demirbas, 2009).

Ante esta problemática se ha enfatizado el interés por parte de investigadores, emprendedores y el público en general en el uso de microalgas como fuente para producir biocombustibles (Chisti, 2011; Scott *et al.*, 2010), esto por su alto contenido lipídico en su estructura celular, ventajas ambientales y su rápida generación de biomasa a comparación de las plantas (Chisti, 2007).

Producción de biodiesel a partir de microalgas

Los cultivos de microalgas pueden realizarse en áreas sumergidas, tierras infértiles e incluso con agua de mar (Singh *et al.*, 2011). Aunado a eso, el cultivo de biomasa algal aparte de proveer materia prima de biocombustibles, tiene un impacto ambiental favorable al reducir la concentración de gases de efecto invernadero, debido a que utiliza grandes cantidades de CO₂ durante su cultivo (Demirbas, 2010).

Microalgas

Existen tres principales clases de microorganismos que utilizan la energía de la luz: a) Las cianobacterias, que presentan fotosíntesis isoxigénica, en la cual se produce O₂ y presentan fotosistemas I y II y fijan el CO₂, b) Eubacterias fotosintéticas, que realizan fotosíntesis anaerobia, no producen O₂ y solo presentan el fotosistema I. y c) Halobacterias, no presentan clorofila ni transporte fotosintético de electrones. Poseen una bomba de protones dependiente de la luz, la cual produce energía pero no poder reductor. Requiere de una fuente orgánica de carbono.

Las microalgas son organismos unicelulares microscópicos (2-200 μm), polifiléticos, su metabolismo puede ser autótrofo o heterótrofo y suelen ser eucariontes, aunque las cianobacterias procariontes son frecuentemente incluidas como microalgas (Greenwell *et al.*, 2009).

Diversas especies crecen con fuentes orgánicas de carbono y en ausencia de una fuente lumínica, estas condiciones son propias de cultivos heterótrofos (Huang *et al.*, 2010). A pesar de que se han reportado altas productividades de biomasa y contenido lipídico en la estructura celular, los sistemas heterótrofos son susceptibles a contaminación (Amaro *et al.*, 2011), promueven la insaturación de los ácidos grasos sintetizados (Pérez-García *et al.*, 2011) y los costos de las fuentes orgánicas de carbono tienden a complicar la factibilidad de escalamiento del proceso a nivel industrial.

Por otro lado, existen microalgas con metabolismo autótrofo, las cuales requieren únicamente compuestos inorgánicos como CO₂, sales, agua y una fuente de energía lumínica para su crecimiento (Brennan y Owende, 2010).

La historia evolutiva de las microalgas se puede categorizar por la pigmentación, ciclo de vida y estructura celular (Brennan y Owende., 2010). Así, las microalgas procariontes se clasifican en dos divisiones: *Cyanophyta* y *Prochlorophyta* y las eucariontes en nueve: *Glaucophyta*, *Rhodophyta*, *Heterokontophyta*, *Haptophyta*, *Cryptophyta*, *Dinophyta*, *Euglenophyta*, *Chlorarachniophyta* y *Chlorophyta* (Mutanda *et al.*, 2010).

Sin embargo, según Khanet *al.*, (2009) la clasificación de microalgas se realiza en cuatro grupos debido a su abundancia: diatomeas, algas verdes, algas verde-azules y algas doradas (Cuadro 2). Esta diversidad muestra un gran potencial de explotación de éstos microorganismos para la producción de productos de alto valor agregado y biocombustibles (Chisti, 2007).

Cuadro2. Grupos más importantes de microalgas en términos de abundancia.

Microalga	Especies conocidas (aprox.)	Material almacenado	Hábitat
Diatomeas (<i>Bacillariophyceae</i>)	100 000	Quirsolaminarin (polímero de carbohidratos) y TAGs	Océanos, agua dulce y salobre
Algas verdes (<i>Chlorophyceae</i>)	8 000	Almidón y TAGs	Agua dulce
Algas verde-azules (<i>Cyanophyceae</i>)	2 000	Almidón y TAGs	Diferentes hábitats
Algas doradas (<i>Chrysophyceae</i>)	1 000	TAGs y carbohidratos	Agua dulce

TAGs = Triacilgliceroles. Fuente: (Khan *et al.*, 2009).

Microalgas oleaginosas

Las microalgas contienen ácidos grasos como componentes de su membrana, productos de almacenamiento, metabolitos y fuente de energía (Demirbas y Demirbas., 2010). Estos microorganismos representan una opción viable como materia prima para producir biodiesel (Cuadro 1), debido a la mayor productividad de biomasa y mayor velocidad de replicación con respecto a plantas cultivables (Chisti, 2007), algunas especies pueden acumular entre 20-80% (peso seco) de triglicéridos (Chisti, 2011), no requieren terrenos cultivables para el crecimiento celular y no compiten por alimento humano (Amaro *et al.*, 2011).

Para la producción exitosa de biodiesel empleando microalgas como sistemas biológicos para la acumulación de biomasa y lípidos, el primer punto crítico es buscar e identificar cepas híper productoras de lípidos (Mutanda *et al.*, 2010). A pesar de que el intervalo de lípidos contenidos en microalgas (Cuadro 3) oscila entre 1-75% (peso seco), algunas especies pueden alcanzar hasta el 90% (peso seco) bajo condiciones específicas de cultivo (Chisti, 2007; Yeesang y Cheirsilp., 2011).

Para elegir una cepa se debe considerar una estrategia de selección en base a diversos criterios que sean prácticos a los siguientes problemas: a) velocidad de crecimiento, cuantificado normalmente por biomasa total acumulada por unidad de tiempo y unidad de volumen; b) cantidad y calidad lipídica; c) respuesta a alteraciones del ambiente, se consideran variaciones de temperatura, entrada de nutrientes y fuente lumínica, así como competencia con otras especies de microalgas o bacterianas; d) velocidad de absorción y afinidad por nutrientes, particularmente CO₂, nitrógeno y fósforo; e) cultivo de biomasa sencillo para su posterior procesamiento (Amaro *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2011; Ugwu *et al.*, 2008).

Biosíntesis de lípidos en microalgas

Los efectos en los cultivos microalgales dependientes de la luz son de gran relevancia, ya que están relacionados directamente con el proceso de fotosíntesis (Harwood y Guschina., 2006). En microalgas verdes, la ruta metabólica para la síntesis de ácidos grasos empieza por la unión del complejo luz-biomasa, el cual está mediado por la clorofila II y carotenoides, los cuales capturan la energía lumínica en forma de fotones (Fig. 2). La energía es empleada por el fotosistema II en la oxidación catalítica del agua, formando protones, electrones y O₂ molecular. Los electrones se transportan mediante la cadena de transporte fotosintética para promover la producción de NADPH mediante la reducción de ferredoxina. Dentro del lumen tilacoidal se genera un gradiente electroquímico, debido a la liberación de protones después de la oxidación de agua; el cual se emplea para la formación de ATP mediante la vía ATP sintasa. Los productos de la fotosíntesis NADPH y ATP son sustratos del ciclo de Calvin (Beer *et al.*, 2009); donde la enzima Rubisco cataliza la conversión de CO₂ y ribulosa-5-fosfato en dos triosas, las cuales son convertidas subsecuentemente en piruvato y acetyl-CoA (Stephanopoulos *et al.*, 2008).

Cuadro3. Contenido lipídico y productividad de diferentes especies de microalgas.

Cultivo	Especie de microalga	Contenido lipídico (% peso seco)	Productividad lipídica ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
Agua dulce	<i>Botryococcus</i> sp.	25.0 – 75.0	-
	<i>Chlorella emersonii</i>	25.0 – 63.0	10.3 – 50.0
	<i>Chlorella vulgaris</i>	5.0 – 58.0	11.2 – 40.0
	<i>Chlorella</i> sp.	10.0 – 48.0	42.1
	<i>Chlorococcus</i> sp.	19.3	53.7
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	11.0 – 55.0	-
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1.9 – 18.4	35.1
	<i>Scenedesmus</i> sp.	19.6 – 21.1	40.8 – 53.9
	<i>Dunaliella salina</i>	6.0 – 25.0	116.0
	<i>Dunaliella</i> sp.	17.5 – 67.0	33.5
Agua Marina	<i>Nannochloris</i> sp.	20.0 – 56.0	60.9 – 76.5
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	22.7 – 29.7	84.0 – 142.0
	<i>Nannochloropsis</i> sp.	12.0 – 53.0	60.9 – 76.5
	<i>Neochloris oleabundans</i>	29.0 – 65.0	90.0 – 134.0
	<i>Pavlova salina</i>	30.9	49.4
	<i>Spirulina platensis</i>	4.0 – 16.6	-

Fuente: Mata *et al.* 2010.

Las moléculas de acetil-CoA son carboxiladas dentro del cloroplasto por acetil-CoA carboxilasa (ACC) para la síntesis de malonil-CoA (Huet *et al.*, 2008), molécula que es transferida a la proteína acarreadora de grupos acil (ACP) del complejo multi-enzimático sintasa de ácidos grasos (SAG); donde la subunidad cetoacil-ACP sintasa (CAS) cataliza la condensación de malonil-ACP mediante tres reacciones cíclicas: reducción, deshidratación y reducción; condensando el producto con otra molécula de malonil-CoA (Harwood y Guschina., 2006). El ciclo se repite hasta formar cadenas saturadas de ácido palmítico (16:0) o esteárico (18:0). La enzima ACP-sintasa abre la cadena acil y libera el ácido graso (Scott *et al.*, 2010).

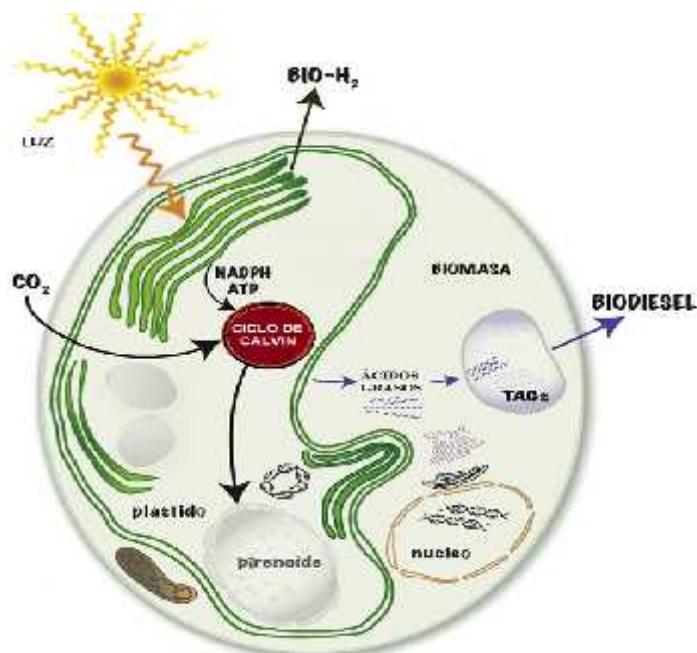


Figura 1. Esquema de la biosíntesis de lípidos en microalgas (Beer *et al.* 2009).

La formación de triacilglicéridos se lleva a cabo en el retículo endoplasmático, en organelos especializados llamados plástidos, donde se producen lípidos neutros con la finalidad de almacenar energía y liberar espacio dentro de la célula (Rajakumari *et al.*, 2008).

La primera reacción para la síntesis de triacilgliceroles (TAG) es la condensación (acilación) de glicerol-3-fosfato (G3P) con acil-CoA para formar lisofosfátido (LPA), el cual es catalizado por acil-CoA: glicerol-*sn*-3-fosfato acil-transferasa (GPAT) y otra molécula de acil-CoA para producir fosfatidato (PA) (Beer *et al.*, 2009; Scott *et al.*, 2010). Posteriormente, PA puede ser desfosforilado por la enzima ácido fosfatídico fosfatasa (PAP) para formar diacilglicerol. Finalmente, la síntesis de TAG es catalizada por acil-CoA: diacilglicerolacil-transferasa (DGAT), la cual incorpora un tercer grupo acil-CoA a la molécula diacilglicerol, los TAGs resultantes son almacenados en cuerpos de aceites (Murphy, 2001), los cuales son la materia prima para obtener biodiesel.

Mejoramiento de la producción de lípidos en microalgas

La producción de lípidos depende de la especie de microalga y de parámetros ambientales tales como la intensidad y el tipo de luz, la composición del medio de cultivo, temperatura, pH y la asociación con otros microorganismos (Beer *et al.*, 2009).

Los cultivos de microalgas presentan la ventaja de que el contenido lipídico puede ser controlado en función de las condiciones de cultivo, principalmente mediante la limitación de nutrientes (Chisti, 2007). Numerosos estudios reportan que las algas verdes triplican su contenido lipídico durante los primeros 4 a 9 días de ausencia de nitrógeno en el medio, ésta condición también modifica el perfil lipídico, ya que se han documentado situaciones en las cuales esta insuficiencia incrementa la proporción de triglicéridos y reduce los lípidos polares (Hu *et al.*, 2008).

El alto contenido de lípidos está asociado a la síntesis de triacilgliceroles (TAG), lípidos con alto porcentaje de ácidos grasos y ausencia de fosfato, que son ideales para la producción de biodiesel por su baja sensibilidad a la oxidación (Pruvost *et al.*, 2009). Hasta el momento la estrategia de limitación de macronutrientes ha sido el método más empleado para direccionar el flujo metabólico de lípidos (Courchesne *et al.*, 2009). Se han reportado estudios donde la deficiencia de nutrientes como hierro y fósforo induce la producción de lípidos y cesa el crecimiento celular; sin embargo la limitación de nitrógeno es el factor nutricional más documentado debido a que no solo promueve la producción de lípidos en microalgas, sino también su acumulación en cuerpos de aceites (Li *et al.*, 2008).

Se han estudiado diferentes especies de microalgas con elevado contenido lipídico, principalmente con la capacidad de acumular TGA en su estructura celular. Entre las especies de mayor interés se encuentra *Neochloris oleoabundans* cuyo porcentaje lipídico alcanza hasta el 65% de peso seco y tiene la capacidad de acumular TGA en condiciones de limitación de nitrógeno, los grupos de investigación de Pruvost *et al.* (2009) y Li *et al.*, (2008) observaron que la fuente de nitrógeno más favorable para el crecimiento celular y producción de lípidos en *N. oleoabundans* es nitrato de sodio, mostrando mejores rendimientos que urea y bicarbonato de amonio; también observaron un aumento en la concentración lipídica conforme disminuía la concentración de nitrato de sodio en el intervalo de concentración 3-20 mM.

Sin embargo, una gran desventaja de la estrategia de flujo metabólico inducido es que la limitación de nutrientes o el estrés fisiológico requerido para la acumulación de lípidos en la célula está asociado con la reducción del proceso de división celular y la baja velocidad de crecimiento (Ratledge, 2002). Las productividades lipídicas elevadas y los altos contenidos de biomasa son mutuamente excluyentes, es decir, la presencia de nitrógeno promueve altas velocidades de crecimiento y un contenido lipídico bajo, mientras que la deficiencia de nitrógeno reduce la velocidad de crecimiento y resulta en un contenido de lípidos elevado (Cheng *et al.*, 2010). Y debido a que los lípidos microalgales son productos intracelulares, la productividad lipídica global es proporcional al contenido lipídico celular multiplicado por la productividad de biomasa, obteniendo bajas cantidades de producción lipídica debido a la baja producción de biomasa (Courchesne *et al.*, 2009).

Por ello, se han considerado diferentes especies de *Chorella* y *Scenedesmus* como candidatos para la producción comercial de lípidos debido a su rápido crecimiento y fácil cultivo (Pruvost *et al.*,

2009). Se han reportado en *C. emersonni*, *C. minutissima*, *C. vulgaris* y *C. pyrenoisa* rendimientos de 63%, 57%, 40% y 23% de peso seco de acumulación lipídica en medio limitado de nitrógeno, respectivamente (Chenget *al.*, 2010). Mientras que *S. rubescens*, *S. obliquus* y *S. dimorphus* son capaces de acumular altas concentraciones de biomasa en condiciones normales de cultivo e incrementar la concentración de ácidos grasos de metil ésteres (AGME) en periodos cortos de limitación de nitrógeno, con productividades de hasta 0.133 g/L/d de AGME, considerándose cepas potenciales para la producción de biodiesel por el método de flujo metabólico inducido (Lin y Lin., 2011).

Una estrategia sugerida es el cultivo por dos etapas, la primera etapa enfocada al crecimiento celular empleando medio de cultivo con concentraciones suficientes de macronutrientes, y la segunda etapa direccionada a la acumulación de lípidos mediante el uso de otro medio de cultivo con limitación de nutrientes u otro estrés fisiológico (Courchesne *et al.*, 2009).

Modificación genética

Recientemente se ha visto que diferentes tipos de microorganismos, incluyendo microalgas, bacterias, levaduras y hongos pueden producir aceites (Li *et al.*, 2008). Para el caso de los últimos tres, al ser heterótrofos, el costo de los medios de cultivo podría incrementarse haciendo que la producción de lípidos para producir biodiesel no resulte rentable. Las microalgas eucariotas tienen la ventaja de que son fotosintéticas y por ello solo requieren de algunas sales, luz y CO₂ para crecer. Sin embargo, se ha visto que la acumulación de grandes cantidades de lípidos, en forma de materiales de reserva, ocurre bajo condiciones de estrés, lo cual resulta en un crecimiento celular lento. Las cianobacterias, representan una alternativa atractiva ya que además de hacer fotosíntesis, crecen rápido y pueden acumular altos niveles de lípidos. En contraste con las microalgas eucariotas, las cianobacterias acumulan lípidos en las membranas tilacoidales, las cuales están directamente asociadas con altos niveles de fotosíntesis y una tasa alta de crecimiento. El alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*, que es uno de los organismos modelo en el estudio de la síntesis de lípidos por algas verdes, tiene su genoma totalmente secuenciado y puede ser transformado mediante diferentes métodos, entre ellos la biobalística. Sin embargo, no se cuenta con herramientas para la manipulación genética de las algas eucarióticas reportadas como altamente productoras de lípidos como *Botryococcus braunii* (Brown *et al.*, 1969; Banerjee *et al.*, 2002; Metzger y Largeau, 2005), *Nannochloropsis* sp, *Neochloris oleoabundans*, *Nitzschia* sp. (Chisti, 2007). La manipulación genética de las cianobacterias resulta más fácil ya que algunas cianobacterias son naturalmente transformables mientras que otras han podido ser transformadas por conjugación o electroporación. Existen vectores y herramientas de mutagénesis para numerosas cianobacterias unicelulares y filamentosas, además de que numerosas cianobacterias tienen su genoma secuenciado y anotado (Koksharova y Wolk, 2002). *Synechocystis* la cianobacteria modelo para la producción de biodiesel, su genoma ha sido secuenciado y su manipulación genética es posible (Rittman, 2008), pero ha sido poco explotada.

Sistemas de cultivo

La biotecnología de microorganismos fotosintéticos ha progresado a un ritmo relativamente lento, no obstante a su utilidad como fuente de compuestos de alto valor agregado (Barbosa *et al.*, 2003). Un factor limitante en dicho progreso ha sido la poca eficiencia de técnicas de cultivo a gran escala. Sus requerimientos han llevado a poner énfasis en el desarrollo de fotobiorreactores, en los que aún existen muchos problemas de ingeniería que necesitan ser resueltos para poder desarrollar sistemas eficientes, a gran escala y de bajo costo (Tredici y Materassi, 1992, Barbosa *et al.*, 2003, Janssen *et al.*, 2003). Los sistemas de producción de microorganismos fotosintéticos se dividen principalmente en dos tipos: sistemas abiertos (lagunas de estabilización, contenedores.) y sistemas cerrados (tanques tipo fermentador, fotobiorreactores tubulares y laminares). En los sistemas abiertos es importante determinar el material de construcción, controlar la turbulencia, la dirección de flujo y tener la mayor superficie de contacto posible con la luz solar, ya que el cultivo está en contacto directo con el ambiente; mientras que en los sistemas cerrados debe considerarse el diseño del sistema, control de temperatura, tipo y duración de iluminación, así como la carga inicial al sistema.

El diseño adecuado de fotobiorreactores es una de las herramientas más importantes para el desarrollo de tecnología fototrófica. Algunas consideraciones en el diseño de fotobiorreactores son: 1) Eficiencia en el aprovechamiento de la energía luminosa, 2) Facilidad de escalamiento, 3) Mezclado eficiente y 4) Control de reacciones laterales. Bajo estrés hidrodinámico en las células fotosintéticas (Borowitzka, 1999; Lee y Lee., 2003; Pulz, 2001; Tredici, 1999).

Los fotobiorreactores se caracterizan por su facilidad de control sobre prácticamente todas las variables biotecnológicas de interés, además de presentar beneficios fundamentales como un bajo riesgo de contaminación, condiciones reproducibles de operación, y flexibilidad en el diseño. Las configuraciones más empleadas de fotobiorreactores son: 1) Sistemas tubulares, 2) Sistemas tipo flat-plate, y 3) Sistemas de células inmovilizadas ultradelgados (Pulz, 2001). Su aplicación depende del tipo de cultivo, disponibilidad de luz y objetivo final del sistema.

Las investigaciones sobre cultivos de micro-algas se ha centrado en algunos de los siguientes puntos: 1) Selección de cultivos e ingeniería genética para incrementar la cantidad de lípidos en las microalgas, 2) Manipulación genética del mecanismo por el cual las microalgas cambian de su estado normal crecimiento a la producción de lípidos, a fin de mantener mejor producción de ambos (crecimiento y producción de lípidos), 3) Optimizar las características de los lípidos producidos por micro-algas para convertirlos en combustibles mediante hidro-procesos, 4) Trabajar en conjunto con personal de refinerías de petróleo para mejorar el hidropceso, a fin de convertir el aceite de micro-algas en diesel ó gasavión y 5) Diseño e innovación de fotobiorreactores.

Existen dos principales sistemas de cultivo de microalgas: fotobiorreactores abiertos y cerrados o Raceway, estos sistemas pueden ser iluminados por luz artificial, solar o ambas (Ugwuet *et al.*, 2008). Diversos fotobiorreactores cerrados han sido estudiados debido a que permiten tener mayor control sobre las condiciones de cultivo que los sistemas abiertos, y se han obtenido mayores productividades de biomasa al mismo tiempo que se previenen agentes contaminantes (Huet *et al.*, 2008). Sin embargo, son pocos los fotobiorreactores cerrados que pueden emplear la energía solar eficientemente para la producción de biomasa, por ello es importante entender algunos aspectos hidrodinámicos y de transferencia de masa requeridos por fotobiorreactores para mejorar la productividad de biomasa algal (Singh *et al.*, 2011). Los principales sistemas de cultivo cerrados son: columnas de burbujas columnas airlift, tanques agitados, fotobiorreactores cónicos y tubulares helicoidales (Ugwu *et al.*, 2008). Generalmente, los fotobiorreactores operados a nivel laboratorio son iluminados artificialmente de manera interna o externa por lámparas fluorescentes o distribuidores de luz (Degen *et al.*, 2001).

Entre los fotobiorreactores enunciados anteriormente, el fotobiorreactor tubular es uno de los sistemas más adecuados para cultivos al aire libre (Ugwu *et al.*, 2008). La mayoría de estos sistemas son construidos de borosilicato o tubos de plástico transparentes, donde el líquido con medio de cultivo y biomasa algal son recirculados por una bomba (Degen *et al.*, 2001). Las principales ventajas que presentan estos sistemas son un buen mezclado con bajo esfuerzo de corte, es fácil de esterilizar, aclimatación sencilla, es adecuado para inmovilización algal y reduce la foto-oxidación (Brennany Owende., 2010; Ugwu *et al.*, 2008). Sin embargo, sus limitantes son que requiere superficies amplias de terreno, llega a presentar crecimiento algal en las paredes, existen gradientes citotóxicos de pH, O₂ y CO₂, su construcción requiere materiales sofisticados y sobre todo, disminuye el área de iluminación y presentan un pobre coeficiente de transferencia de masa, estos últimos dos aspectos ocurren con el escalamiento ascendente (Chisti, 2007; Singh *et al.*, 2011).

Los sistemas abiertos (Racewayponds) se ha experimentado desde 1950 y existe una extensa experiencia en su ingeniería. Las mayores instalaciones de producción de biomasa basadas en este método, ocupan áreas de unos 440.000 m² (Spolaore *et al.*, 2006). Los sistemas raceway constan de un circuito de bucles y canales por donde circula el cultivo y mezclado mediante una rueda de paletas (*paddlewheel*) que homogeniza los nutrientes y los microorganismos. El flujo es guiado

alrededor del sistema de bucles por deflectores (baffles) dispuestos en los canales. El material del que son construidos suele ser hormigón o tierra compactada y recubiertos con plástico blanco que mejora la captación luminosa por parte del alga. Durante el día, el cultivo es alimentado de manera continua por la parte inicial, donde la rueda de paletas comienza a generar el flujo. La retirada de desechos y rueda. El sistema de rueda que genera el movimiento posee un tiempo de operación de 24h, para evitar de esta manera la sedimentación del cultivo. La productividad se ve afectada por la contaminación de otras especies de algas no deseadas o de microorganismos que se desarrollan con nuestra alga en cuestión. De forma general, la concentración de biomasa en sistemas abiertos permanecen a niveles bajos debido a que el cultivo está pobremente mezclado y los haces luminosos no pueden acceder a la "zona ópticamente oscura".

La generación de biomasa a partir de microalgas y la extracción de aceite para la producción de biodiesel ha sido estudiado y evaluado de manera muy extensa en los sistemas abiertos raceway ponds. Los Raceways son sistemas menos caros que los fotobiorreactores debido a su menor coste de construcción y operación, aunque la producción de biomasa también es menor.

Los sistemas de producción a gran escala más usados son conocidos como fotobiorreactores tipo Raceway. Son sistemas abiertos de poca profundidad con una paleta mecánica que proporciona la circulación de biomasa algal y nutrientes (Sims y Christenson, 2011). Su construcción y operación son relativamente económicas. No obstante, con frecuencia se presentan los problemas de baja productividad debido a agentes contaminantes, mezclado pobre, zonas muertas y uso ineficiente de CO₂ (Chisti, 2007; Mata *et al.*, 2010). En teoría se pueden alcanzar productividades de 50-60 gm⁻²día⁻¹ de biomasa, sin embargo en la práctica difícilmente se alcanzan rendimientos de 10-20 g m⁻² día⁻¹ (Shen *et al.*, 2009).

Los fotobiorreactores cerrados tienen varias ventajas sobre los fotobiorreactores Raceway; como mayor control sobre las condiciones de cultivo (pH, temperatura, agitación, CO₂ y O₂), previenen el fenómeno de evaporación, reduce pérdidas de CO₂, permite obtener altas concentración de biomasa algal y minimiza el riesgo de contaminación de los cultivos (Mata *et al.*, 2010). A pesar de las ventajas que ofrecen los fotobiorreactores cerrados, no se espera que tengan el mismo impacto en bioprocesos a gran escala que el atribuido a Raceways (Scott *et al.*, 2010). El costo de producción de biomasa en fotobiorreactores cerrados es de un orden de magnitud más alto que en sistemas abiertos; donde a pesar de obtener mayor concentración celular y productividad en fotobiorreactores cerrados no se compensa el costo del producto final por los altos costos de construcción y de operación (Mata *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las algas como materia prima para la producción de biocombustibles, se perfilan como la fuente más adecuada debido a su rápido crecimiento, alto contenido de aceite o alta productividad (mayor que las plantas), una importante reducción de emisiones reguladas como TPH, CO, NOx y material particulado, capacidad de fijar CO₂, menores requerimientos de condiciones de cultivo y nutrientes, no compite por suelos ni con alimentos. Así mismo, los análisis de ciclo de vida previos desarrollados en algas indican una obtención mayor de energía con unos requerimientos materiales menores y por tanto unos impactos ambientales muy por debajo de las otras materias primas.

Para lograr el desarrollo de un proceso sustentable de producción de biodiesel a partir de algas, que por ende sea técnica y económicamente viable, se deben superar varios factores, el principal es el costo de producción de la biomasa, que involucra la optimización de medios, selección y manipulación de cepas y el diseño de fotobiorreactores. Sin embargo, también se debe considerar el proceso de separación de biomasa, extracción de aceites y subproductos, tecnología de transesterificación, purificación y uso de subproductos. Debido al estado del arte actual de producción de biomasa y metabolitos para biocombustibles a partir de algas, se hace necesario el desarrollo de un proceso propio de producción de algas a gran escala y de los metabolitos de interés, con especies de algas y sistemas de producción adaptados a las necesidades y condiciones

de cada región; punto que es cuello de botella del proceso, para posteriormente con los aceites establecer la obtención de los biocombustibles por procesos que están mejor desarrollados, lo que implicaría solo realizar una innovación o aplicación de las mismas.

En México la producción de biocombustibles está considerada en el plan sectorial de la Secretaría de energía (SENER, 2007-2012). La producción tradicional de bioetanol involucra el uso de azúcar de caña o remolacha y levaduras; actualmente se consideran otras fuentes de carbohidratos, como el maíz, o los materiales celulósicos, tales como residuos agroindustriales forestales e incluso los residuos sólidos municipales. Todas estas alternativas pueden ser complementarias; sin embargo el uso de granos y de caña hacen competir a los energéticos con el alimento para la población humana o por tierras de cultivo, haciéndolos no sustentables, y más aún en un país como México, que no cuenta con un sector agrario bien establecido, ni con autosuficiencia alimentaria. Problemas similares se presentan con la producción de Biodiesel, cuya fuente puede provenir desde residuos de la industria (grasas), cultivo de algas y principalmente cultivos vegetales, presentando el problema ya mencionado.

El desarrollo de tecnologías nacionales para la obtención de biodiesel y bioetanol a partir de microalgas en México es de gran importancia. Este tipo de desarrollos evitará la dependencia tecnológica y energética en un futuro y dará respuesta de una forma ecológica y potencialmente sustentable al requerimiento de combustibles líquidos.

LITERATURA CITADA

- Abdullah, A. Z., Razali, N., Mootabadi, H. y Salamatinia, B. 2007. **Critical technical areas for future improvement in biodiesel technologies**. Environmental Research Letters. 2:1-6.
- AIE. 2006. **Bioenergy Annual Report (2006)**. IEA Headquarters, Paris France. 124 pp
- Amaro, H. M., Guedes, A. C. y Malcata, F. X. 2011. **Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel**. Applied Energy 88(10): 3402-3410.
- Balat Mustafa, HavvaBalat y Cahide Oz, 2007, **Progress in bioethanol processing, Progress in energy and combustion science**, Turquía. 23 pp.
- Balat, M. 2011. **Potential alternatives to edible oils for biodiesel production: A review**. Energy Conversion and Management. 52(2): 1479-1492.
- Balat, M. y Balat, H. 2010. **Progress in biodiesel processing**. Applied Energy. 87(6): 1815-1835.
- Banerjee, A., Sharma, R; Chisty, Y and Banerjee, U.C. 2002. **Botryococcus braunii: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals**. Critical Reviews in Biotechnology. 22(3): 245-279.
- Barbosa, M. J., Hadiyanto, R. y Wijffels, H. 2003. **Overcoming shear stress of microalgae cultures in sparged photobioreactors**. Biotechnol. Bioeng. 85, 78-85.
- Beer, L. L., Boyd, E. S., Peters, J. W. y Posewitz, M. C. 2009. **Engineering algae for biohydrogen and biofuel production**. Energy Biotechnol. 20(3): 264-271.
- Behzadi, S. y Farid, M. M. 2007. **Review: examining the use of different feedstock for the production of biodiesel**. Journal of Chemical Engineering. 2(5): 480-486.
- Borowitzka, M. A. 1999. **Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters**. J. Biotechnol. 70, 313-321.
- Boyle, G. (2004). **Renewable energy, power for a sustainable future**. Oxford University Press, Oxford.
- Brennan, L. y Owende, P. 2010. **Biofuels from microalgae: a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products**. Renew. Sust. Energ. 14(2): 557-577.
- Brown A. C., Knights B. A., Conway E. 1969. **Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga Eotryococcusbraunii**. Phytochemistry, 8, 543-547.
- Cheng, L. H., Lv, J. M., Xu, X. H., Zhang, L. y Chen, H. L. 2010. **Enhanced lipid production of Chlorella vulgaris by adjustment of cultivation conditions**. Bioresource Technology. 101(17): 6797-6804.
- Chisti, Y. 2007. **Biodiesel from microalgae**. Biotechnology Advances. 25(3): 294-306.
- Chisti, Y. 2011. **Biodiesel from microalgae beats bioethanol**. Trends in Biotechnology. 26(3): 126-131.
- Chisti, Y. y Yan, J. 2011. **Energy from algae: Current status and future trends**. Applied Energy. 88(10): 3277-3279.
- Courchesne, N. M., Parisien, A., Wang, B. y Lan, C. Q. 2009. **Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches**. Journal of Biotechnology. 141(1-2): 31-41.

- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmidt-Staigar, U. y Trosch, W. A. 2001. **A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through flashing light effect.** *Journal of Biotechnology.* 92(2): 89-94.
- Demirbas, A. 2010. **Energy Sources Part A. Recovery Utilization en Environmental Effects.** 32 (10): 909-910.
- Demirbas A. 2009. **Political, economic and environmental impacts of biofuels. A review.** 86(2009) S 108-S 117.
- Demirbas A. y Demirbas M. F., 2010. **Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel.** Springer London Dordrecht Heidelberg New York. e-ISBN 978-1-84996-050-2
- Departamento de Energía de los Estados Unidos. 2011. **International energy outlook 2011.** Washington: AIE.
- Departamento de Energía de los Estados Unidos. 2011. **World crude oil prices.** Washington. AIE.
- EBD. 2012. **European Biodiesel Board.** (En línea). Disponible en: <http://www.ebb-eu.org/stats.php>.
- Garibay-Hernández, A., Vázquez-Duhalt, R., Sánchez-Saavedra, M. y Martínez-Jiménez, A. 2009. **Biodiesel a partir de Microalgas.** *Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería.* 13: 38-61.
- Greenwell, H. C., Laurens, M. L., Shields, R. J., Lovitt, R. W. y Flynn, K. J. 2009. **Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges.** *J. Roy. Soc.* 10: 703-726
- Harwood, J. L. y Guschina, I. A. 2006. **Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae.** *Progress in Lipid Research.* 45(2): 160–186.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. y Darzins, A. 2008. **Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances.** *Plant Journal.* 54: 621-639.
- Huang, G. H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X. W. y Chen, G. 2010. **Biodiesel production by microalgal biotechnology.** *Applied Energy.* 87(1): 38-46.
- IPCC. 2009. **Intergovernmental panel of climate change.** (En línea). Disponible en: <http://www.ipcc.ch/>
- Janssen M, Tramper J, Mur L. R, Wijffels R. H. 2003. **Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects.** *Biotechnol. Bioeng.* 81:193–210.
- Khan, S. A., Hussain, M. Z., Prasad, S. y Banerjee, U. C. 2009. **Prospects of biodiesel production from microalgae in India.** *Renew. Sust. Energ.* 13 (9): 2361–2372.
- Koksharova, O. A. y Wolk, C. P. 2002. **A novel gene that bears a DnaJ motif influences cyanobacterial cell division.** *J. Bacteriol.* 184, 5524-5528
- Lee, J. S. y Lee J. P. 2003. **Review of advances in biological CO₂ mitigation technology.** *Biotechnol. Bioproc. E* 8 (2003). pp. 259–354.
- Li, Q., Du, W. y Liu, D. 2008. **Perspectives of microbial oils for biodiesel production.** *Applied Microbiology Biotechnology.* 80: 749-756.
- Lin Q., Lin J. 2011. **Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga.** *Bioresource Technology.* 102(2): 1615–1621
- Mata, T. M., Caetano, N. S. y Martins, A. A. 2010. **Microalgae for biodiesel production and other applications: A review.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 14(1): 217-232.
- Metzger P. y Largeau. 2005. **C. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66: 486-961.
- Murphy D.J. (2001). **The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms.** *Progress in Lipid Research.* 40: 325–438.
- Mutanda, T., Bux, F., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S. y Anandraj, A. 2010. **Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production.** *Bioresource Technol.* 102(1): 57–70.
- NBB. 2012. **US National Biodiesel Board.** (En línea). Disponible en: <http://www.biodiesel.org/production/production-statistics>
- Pérez-García, O., Escalante, F. M., De Bashan, L. E. y Bashan, Y. 2011. **Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products.** *Water Research.* 45(1): 11-36.
- Pruvost, J., Van Vooren, G., Cogne, G. y Legrand, J. 2009. **Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor.** *Bioresource Technology.* 100(23): 598Bf8–5995.
- Pulz, O. 2001. **Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 287–293.
- Ratledge, C. 2002. **Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms.** *Biochemical Society Transactions.* 30(6): 1047–1050.
- Rajakumari, S., Grillitsch, K. y Daum, G. 2008. **Synthesis and turnover of non-polar lipids in yeast.** *Progress in Lipid Research.* 47(3): 157–171.

- Rittman, B. 2008. **Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms**. *Biotechnology and bioengineering*.100(2):203-12.
- Robles-Medina, A., González-Moreno, P. A., Esteban-Cerdán, L. y Molina-Grima, E. 2009. **Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production**. *Biotechnology Advances*. 27(4): 398–408.
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussnug, J. H., Posten, C., y otros. 2008. **Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production**. *Bioenergy Resource*. 1: 20-43.
- Scott, S. A., Davey, M. P., Dennis, J. S. y Horst, I. 2010. **Biodiesel from algae: challenges and prospects**. *Current Opinion in Biotechnology*. 21(3): 277-286.
- Sheedlo, M. 2008. **A review of the processes of biodiesel production**. *Basic Biotechnology*. 4: 61-65.
- Shen, Y., Yuan, W., Pei, Z. J., Wu, Q. y Mao, E. 2009. **Microalgae mass production methods**. *Transactions of the ASABE*. 52(4): 1275–1287.
- Sims, R. y Christenson, L. 2011. **Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels and subproducts**. *Biotechnology Advances*. 29(6): 686–702.
- Singh, A., Singh-Nigam, P. y Murphy, J. D. 2011. **Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels**. *Bioresource Technology*. 102(1): 26-34.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert, A. 2006. **Commercial applications of microalgae**. *J. Biosci. Bioeng.*101: 87–96.
- Srivastava, A. y Prasad, R. 2000. **Triglycerides-based diesel fuels**. *Renewable & Sustainable Energy*. 4(2): 111-133.
- Stephanopoulos, G., Fischer, C. R. y Klein-Marcuschamer, D. 2008. **Selection and optimization of microbial hosts for biofuels production**. *Metabolic Engineering*. 10(6): 295–304.
- Timilsina G.R. y Mevel S. 2010. **Biofuels and Climate Change mitigation: A CGE Analysis Incorporating Land-use change**. Policy Research Working Paper 5672. World Bank, Washington D.C.
- Timilsina, G. R., y Shrestha, A. 2011. **How much hope should we have for biofuels?**. *Energy*. 36(4): 2055-2069.
- Tredici, M.R. y Materassi, R. 1992. **From open ponds to alveolar panels: the Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototropic microorganisms**. *J. Appl. Phycol* 4, 221-231
- Tredici, M. R. 1999. **Bioreactors, photo**. In: Flickinger MC, Drew SW (eds.) *Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation*. Vol 1. Wiley, New York. pp. 395–419.
- Ugwu, C. U., Aoyagi, H. y Uchiyama, H. 2008. **Photobioreactors for mass cultivation of algae**. *Bioresource Technology*. 99(10): 4021-4028.
- Yeesang, C. y Cheirsilp, B. 2011. **Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand**. *Bioresource Technology*: 102(3): 3034–3040.

Luis Carlos Fernández-Linares

Doctor en Ciencias de la Universidad de Aix-Marseille-II, Francia. 1991-1995. DEA (Diploma de estudios a profundidad) de la Universidad de Aix-Marseille-II, Francia. 1990-1991. Ingeniero Bioquímico Industrial de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I), 1983-1987. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I.

Jorge Montiel Montoya

Doctor en Ingeniería Bioquímica Alimentaria por la Université de Paris XI, Francia. DEA (Diploma de estudios a profundidad) en Métodos de Bioquímica Aplicada por la Universidad de Dijon Francia. Especialización en Tecnología de Alimentos por Hyogo International Center de Kobe Japón e Ingeniero Bioquímico por el ITESM Campus Guaymas. Actualmente Director del CIIDIR IPN Unidad Sinaloa.

Aarón Millán Oropeza

Ingeniero Biotecnólogo del Instituto Politécnico Nacional, 2007-2011. Actualmente estudiante de Maestría en Bioprosesos del Instituto Politécnico Nacional.

Jesús Agustín Badillo Corona

Doctor en Biología Molecular por Cambridge University, Reino Unido e Ingeniero Biotecnólogo por la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biología (UPIBI) del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Perteneció al Sistema Nacional de Investigadores y actualmente es profesor de Biología Molecular en la UPIBI-IPN, donde desarrolla investigación en la modificación genética de cloroplastos de plantas y algas.