



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Revisión de las Técnicas de Producción de Biocombustibles a  
Partir de Microalgas**

TESIS PARA OBTENER TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AMBIENTAL

**AUTOR:**

Chasquibol Calongos, Santos Daniel (ORCID: 0000-0001-5351-3211)

**ASESORA:**

Mg. Cabello Torres Rita Jaqueline (ORCID: 0000-0002-9965-9678)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2021

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres porque fueron el pilar más importante y porque me demostraron siempre su cariño y apoyo incondicional, a pesar de nuestras distancias físicas siento que están siempre conmigo y aun que nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ustedes como para mí, A mi hermana Claribel que es como una madre, por estar siempre dispuesta a escucharme y apoyarme en cualquier momento.

## **Agradecimiento**

A mis padres Luz Benita Calongos Mojalot y Virgilio Chasquibol Mas, por enseñarme que los sueños se logran a base de esfuerzo y dedicación. Gracias

A la Facultad de Ingeniería Ambiental de la UCV por abrirnos sus puertas, a la asesora Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres quien nos permitió ser parte de ella, hoy y siempre. Gracias.

## Índice de contenidos

Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento .....	iii
Índice de contenidos .....	iv
Índice de tablas .....	v
Resumen .....	vii
Abstract .....	viii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO TEÓRICO .....	5
III. METODOLOGÍA.....	32
3.1 Tipos y diseño de investigación. ....	32
3.2. Categorías, Subcategorías y matriz de categorización. ....	32
3.3. Escenario de estudios. ....	34
3.4. Participantes. ....	34
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	34
3.6. Procedimientos. ....	34
3.7. Rigor científico. ....	35
3.8. Método de análisis de datos.....	35
3.9. Aspectos éticos.....	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	36
V. CONCLUSIONES .....	58
VI. RECOMENDACIONES .....	61
REFERENCIAS.....	62
ANEXOS .....	69

## Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades Fisicoquímicas de Bio-etanol.....	28
Tabla 2. Características fisicoquímicas de biodiesel bajo normas internacionales. .....	29
Tabla 3. Matriz de categorización apriorística. Revisión de las técnicas de producción de biocombustibles a partir de algas.....	33
Tabla 4. Cultivo de microalgas en Bioreactores abiertos de Monocultivos. Fuente Costa et al- 2019 .....	39
Tabla 5. Condiciones operativas y Rendimientos. Fuente: Bani et al. 2021.....	40
Tabla 6. Medios de cultivo y producción de micro algas, más usados Fuente: Xiaogang et al 2020. ....	41
Tabla 7. Relación C/N usada en la producción de biogás por co-digestión anaerobia usando a las microalgas como co-sustrato. Fuente. Santo-Ballardo et al 2016. ....	43
Tabla 8. Revisión de potencial de microalgas de distintos tipos de cultivo en la generación de Lípidos y biomasa.....	44
Tabla 9 Composición de la especie Chlamydomonas sp. Y Chlorella sp. Fuente: Mondal et al. 2017.....	45
Tabla 10. Sistemas de cultivo de microalgas .....	46
Tabla 11. Pre-tratamientos aplicados en la disrupción celular de las microalgas. Fuente: Lee et al. 2017 .....	50
Tabla 12. Energía consumida por los métodos experimentales de disrupción celular aplicadas a la microalga Chaetoceros calcitrans. Fuente Zhang et al. 2018. .....	52
Tabla 13. Resultados de la técnica de disrupción celular aplicada por ultrasonido en microalga Spirulina platensis Fuente. Zhang et al 2018.....	52
Tabla 14. Extracción de lípidos de microalgas por microondas como pre- tratamiento para la obtención de biocombustibles. Fuente Kapoore, et al. 2018. .	54
Tabla 15. Resultados de obtenidos en la digestión anaeróbica de C. vulgaris pretratada enzimáticamente.....	56

## Índices de gráficos y figuras

Figura 1. Diagrama que muestra las rutas seguidas por las microalgas para almacenar carbono y energía. Fuente: Martín-Juárez et al. (2017).....	5
Figura 2. Círculos rojos representa el área de cultivo (km <sup>2</sup> ) a nivel mundial para que se pueda satisfacer las necesidades de gasolina y fuel oil en rojo cultivos de primera generación, en verde de microalgas para combustibles (FAO, 2016).....	7
Figura 3. Sistema de estanques abiertos de cultivo de microalgas HRAP de alta velocidad en Israel. Fuente: (Royaux 2018).....	9
Figura 4. Sistema de cascada con capa delgada en el techo a) y b) expuesto a la luz, c) sala de operaciones y d) carga de velocidad de carga a un tanque. ....	10
Figura 5. Sistemas dispuestos en multicapas .....	10
Figura 6. Foto-bioreactores tubulares-sistemas cerrados .....	12
Figura 7. Mapa conceptual de la mejora del proceso fotosintético y el crecimiento de células de microalgas bajo una luz intermitente. Abu-Ghosh, et al. (2016). ....	16
Figura 8. Técnicas utilizadas actualmente para el cultivo de microalgas para la generación de biocombustibles. Fuente: Onumaegbu et al., (2018) .....	19
Figura 9. Proceso para la obtención de biofuel .....	48
Figura 10. Presencia de ácidos grasos (%) en <i>Chaetoceros calcitrans</i> obtenido por distintos pres-tratamientos. Fuente: Nogueira et al 2018. ....	51

## Resumen

Esta investigación de tipo cualitativa, básica, ha tenido como objetivo determinar el estado de las técnicas de producción usadas para producir biocombustibles a partir de microalgas. La metodología empleada ha sido la revisión sistemática de 71 artículos, de la base de datos de Scopus. Como resultado se ha identificado dos tipos de sistemas de cultivos abiertos y cerrados, ambos con distintas variedades, como los reactores abiertos de canalización (raceway) y de capa fina y los fotobiorreactores cerrados (PBR), en realidad son los reactores abiertos más económicos y por ende escalados a nivel comercial en el planeta. El problema de los PBR es su elevado costo lo cual limita su viabilidad económica y comercial. Los parámetros fisicoquímicos afectan el cultivo, tales como el pH, temperatura, nutrientes, CO<sub>2</sub>, oxigenación e intensidad de la luz que dependen del tipo y masa de microalgas, diseño del reactor. Pre-tratamientos en la biorrefinería, para lograr la disrupción celular para extraer analitos, lípidos o carbohidratos destinados ser materiales precursores de los nuevos productos resulta crítico. La tecnología de microondas resulta eficiente por su menor costo, tiempo y desgaste energético, mientras que el ultrasonido, o los pre-tratamientos físicos, químicos, termales, aún deben superarlos sumando costos de mantenimiento y de operación, para producir biodiesel, bioalcoholes, biogás, mejoradores de suelo, alimentos dietéticos entre otros.

Palabras clave: biorrefinería, microalgas, técnicas de producción.

## **Abstract**

This basic qualitative research has aimed to determine the state of the production techniques used to produce biofuels from microalgae. The methodology used has been the bibliographic review of 71 articles from the Scopus database. As a result, two types of open and closed culture systems have been identified, both with different varieties, such as open pipeline (raceway) and thin-film reactors and closed photobioreactors (PBR), in reality they are the most economical open reactors and therefore scaled to a commercial level on the planet. The problem with PBRs is their high cost, which limits their economic and commercial viability. The physicochemical parameters control the culture, such as pH, temperature, nutrients, CO<sub>2</sub>, oxygenation and light intensity that depends on the type and mass of microalgae, reactor design. Pre-treatments in the biorefinery, to achieve cell disruption to extract analytes, lipids or carbohydrates destined to be precursor materials for the new critical resulting products. Microwave technology is efficient due to its lower cost, time and energy waste, while ultrasound, or physical, chemical, thermal pre-treatments, must still exceed them, added maintenance and operation costs, to produce biodiesel, bioalcohols, biogas, soil improvers, dietary foods among others.

**Keywords:** biorefinery, microalgae, production techniques, physicochemical parameters, culture systems



## I. INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles y sus reservas se agotan y es motivo de preocupación, además de que estos han generado preocupaciones por la generación de contaminación en suelos, agua y aire con los gases GEI, ha promovido la investigación en combustibles líquidos para su reemplazo sin embargo ha sido necesario introducir el concepto de sostenibilidad para que resulte atractivo a las inversiones ya sea privadas como públicas, en este contexto, se ha tratado de suplir la gasolina el diésel, entre otros. A este tipo de combustibles denomina “directos” porque buscan el reemplazo de los tradicionales por contar con propiedades físico químicas similares y se producen a partir de biomasa (Dupuis et al 2019, Zupko, 2019).

El reemplazo del petróleo por este tipo de combustibles no genera cambios sustanciales en los diseños de motor, sin embargo, la viabilidad de su desarrollo aun es limitado debido a que no se han logrado enfoques comerciales. Las ofertas técnicas sobre su producción son muy variadas, ya sea la comunidad europea, como Norteamérica y países como Perú se han comprometido en diversificar su matriz energética, pero la biomasa sigue siendo un problema La conversión de biomasa en biocombustibles se puede agrupar en dos caminos distintos, es decir, métodos termoquímicos y bioquímicos.

Las aplicaciones de las microalgas se deben principalmente a la riqueza de su composición, ya que generan glucosa excedente que se transforma en polisacáridos y en lípidos (Martín-Juárez et al., 2017), esto ha sido aprovechado mediante el uso de tecnología para la obtención de biocombustible, por distintos métodos como los termoquímicos para producir gas o líquidos entre otros. Para ello se han aplicado sistemas abiertos como los foto-biorreactores de raceway (HRAP) para optimizar el rendimiento de biomasa (Kumar et al 2015). Aunque todavía se estudian las posibilidades de disminuir los costos a escala comercial (Royaux, 2018) bajo el control de parámetros fisicoquímicos como la luz (Costa et al 2019) los sistemas cerrados suelen ser muy efectivos en la recuperación de los lípidos en la producción de biodiesel (Santos-Ballardo, et al 2016; Lam et al. 2019;

Ooms et al. 2016; Baroukh et al., 2015). De las microalgas además se pueden extraer componentes bio-activos o nutricionales para ser usados como alimentos para animales o suplementos en los alimentos (Papacek, Jablonsky y Petera, 2018).

Los parámetros fisicoquímicos como temperatura, pH, la intensidad de la luz, la disponibilidad de nutrientes, niveles de CO<sub>2</sub> son claves para un buen cultivo (Chia et al., 2018), la intensidad de la luz debe mantener elevadas tasas de crecimiento, (Abu-Ghosh, et al., 2016) y lograr una alta estabilidad energética (Heining y Buchholz, 2015) ya que una mayor irradiación causaría una foto-inhibición y una mayor frecuencia respiratoria para la respiración (Yarnold et al., 2016). Los diversos pre-tratamientos cuentan con aplicaciones mecánicas como el Homogeneizador de alta presión (HPH). El cual es usado en lechos de biomasa súper concentrada (Lee et al. 2017; Günerken et al 2015) otros arreglos logran una mayor extracción (Safi et al 2015; Santoro et al 2019).

De otro lado, el uso de microondas hace que la energía electromagnética se transforma en calorífica mediante: conducción iónica (Nogueira et al. 2018) logrando buenos resultados en corto tiempo sin gasto significativo de energía frente a la de ultrasonido que también genera un buen rendimiento de lípidos (Onumaegbu et al 2018). Otras técnicas como la explosión de vapor resultan atractivas (Lee, et al. 2017) para lograr buenas extracciones (Cheng et al 2015a).

Los tratamientos químicos demoran más tiempo usando enzimas que son costosas y los catalizadores también pueden resultar costosos (Onumaegbu et al 2018; Mahdy et al. 2015; He et al. 2016). Las aplicaciones de conversión termoquímica, como combustión directa, gasificación, pirólisis y licuefacción hidrotermal (HTL) logran la gasificación y bio-combustibles “directos”, a través del pirólisis. En este contexto la búsqueda en la reducción de costos operativos y de mantenimiento además de los ya descritos ha llevado a la investigación en la combinación de métodos y mejorar los procesos de extracción y rendimiento por ejemplo de aceite usando solventes más baratos (Karmakar et al. 2018) derivando el proceso a la obtención de biocombustible sostenible (Ganesan et al 2020).

Respecto a los productos, se tiene en lista la producción de etanol o bio-alcoholes a partir de la fermentación (Qari et al., 2017; De Farias Silva y Bertucco, 2016) cuyo desafío es lograr un menor tiempo para sacarificar y fermentar y lograr un proceso más óptimo (Sirajunnisa y Surendhiran, 2016). El bio-butanol es otro producto valioso (Martín-Juárez et al., 2017) así como el biodiesel producido a partir del aceite y fraccionamiento de lípidos contenidos en las microalgas (Arguelles, Laurena, Monsalud et al., 2018) son una de las formas en que la biorrefinería viene avanzando como un enfoque de uso de materiales renovables. El biochar también es producido como un mejorador de suelos y puede ser aplicado campo bio-adsorbente (Yu et al. 2018). (Hodgson et al. 2016).

Esta investigación busca cubrir el vacío de información actualizada respecto a las nuevas técnicas aplicadas en la producción de biocombustibles de tercera generación con especial énfasis en el enfoque de biorrefinerías que busca explorar a través de un proceso en cascada todas las posibilidades de productos e insumos extraídos de la biomasa algal. La tecnología avanza a paso agigantados, y a pesar de su avance siempre hay un vacío de información, especialmente cuando se trata del rendimiento de la producción y la eficiencia en el uso de los recursos, no está claro las ventajas y desventajas de las tecnologías que se vienen aplicando en la actualidad lo cual representa un desafío que superar para convertirla en sostenible y en una economía circular.

La investigación ofrece información centrada en las técnicas de pre-tratamiento identifica los últimos avances en métodos de extracción y disrupción celular para la obtención de bioactivos, lípidos y azúcares, esto hará posible desarrollar criterios para la selección de nuevas rutas de investigación en el procesamiento de la biomasa algal sobre el desarrollo de nuevos productos o mejorar los actuales.

La justificación teórica radica en la actualización de los enfoques o principios fisicoquímicos y biológicos ligados al desarrollo a optimizar el proceso productivo, mientras que la justificación práctica deriva en el manejo y actualización de las nuevas pruebas de procesamiento de extracción de lípidos y metabolitos dirigidos a la obtención de nuevos productos.

En base a ello, esta investigación ha planteado como problema general ¿Cuál es el estado de las técnicas de producción usadas para la producción de biocombustibles a partir de microalgas?, también se han planteado como problemas específicos ¿Cuáles son los sistemas de cultivos de las microalgas? ¿Qué parámetros fisicoquímicos afectan el desarrollo de la biomasa? ¿Cuáles son los métodos de pre-tratamiento de algas para la producción de biocombustible? ¿Qué métodos se usan para la extracción de aceites a partir de algas? ¿Cuáles son las técnicas de producción de los biocombustibles? ¿Cuáles son los tipos de biocombustibles que se obtienen a partir de las microalgas?

Es sumamente importante contar con información actualizada y técnica que pueda mostrar los estudios relacionados con las técnicas de producción de biocombustibles teniendo como material precursor a las microalgas, es importante contar con información sobre el contenido de carbono como carbohidratos, los pre-tratamientos básicos y combinados que se vienen usando para el rompimiento de la pared celular, tales como la hidrólisis enzimática, pirolisis o procesos de fermentación.

En esta investigación se plantea el siguiente objetivo general: Determinar el estado de las técnicas de producción usadas para la producción de biocombustibles a partir de microalgas y los siguientes objetivos específicos: i. Identificar los sistemas de cultivos de las microalgas, ii. Como afectan los parámetros fisicoquímicos el desarrollo de la biomasa, iii. Evaluar los métodos de pre-tratamiento de algas usados en la producción de biocombustible, iv. Analizar los métodos de extracción de aceites que se usan a partir de algas. v. Evaluar las técnicas de producción de los biocombustibles. vi. Analizar los tipos de biocombustibles que se obtienen a partir de las microalgas.

## II. MARCO TEÓRICO

**Microalgas.** Las microalgas, poseen células ricas en carbohidratos dispuestos en la pared externa tales como la pectina, o el agar, mientras que en el interior de la pared deposita la celulosa y la hemicelulosa, en el interior se almacena el almidón en microalgas (Figura 2). En el proceso fotosintético las microalgas generan glucosa, la cual se usa como fuente de energía y de carbono a partir de dichos componentes puede generar proteínas y también lípidos además de otros carbohidratos. Es importante destacar que cuando la radiación solar es elevada y hay limitada carga de nutrientes inorgánicos y se genera un estrés de nitrógeno, durante el proceso de fotosíntesis la tasa productiva de glucosa puede superar a la velocidad de su consumo alterando el equilibrio de la osmosis celular de tal manera que la glucosa excedente se transforma en polisacáridos y en lípidos para su consumo posterior, generalmente la conversión de glucosa en polisacáridos es más veloz que la conversión en lípidos (Martín-Juárez et al., 2017).

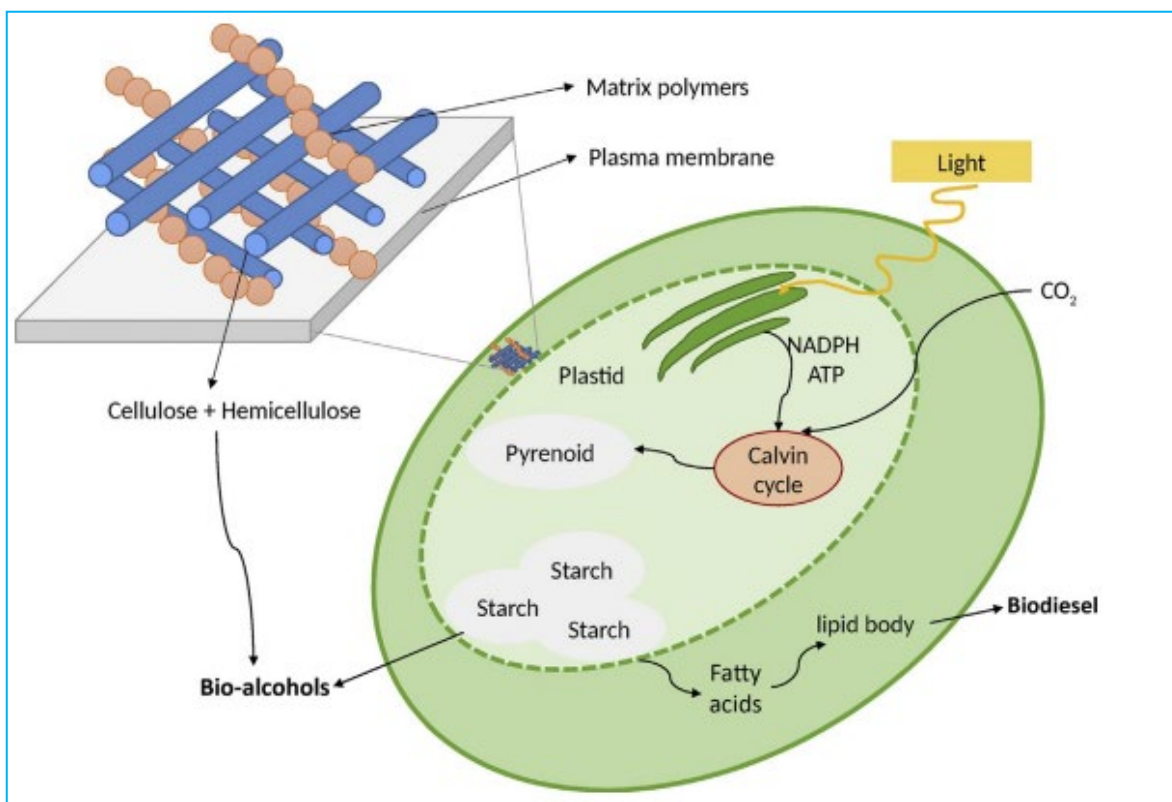


Figura 1. Diagrama que muestra las rutas seguidas por las microalgas para almacenar carbono y energía. Fuente: Martín-Juárez et al. (2017).

Tecnología para la obtención de Biocombustible. Por lo general han existido dos métodos de producción el método termoquímico que produce gas (gasificación) y líquidos (pirólisis y HTL), pero necesitan una mayor conversión a combustibles líquidos (combustibles de "gota a gota") y otros productos químicos valiosos.

Hay otro grupo de producción bioquímica como la producción del etanol, biogás, que pueden transformarse en combustibles "directos". Sin embargo, presenta costos muy altos en sus procedimientos y mucho conocimiento científico y técnicos para producirlos, estos limitan su comercialización, se ha tratado de suplir técnicas, pero solo se ha logrado contaminar más el ambiente buscando la producción del combustible "directo".

**Materia prima de biomasa.** Las materias primas para la generación de biocombustible en general se agrupan bajo tres categorías, denominadas de primera, segunda y tercera generación, de acuerdo a la normativa y facilidades de uso de espacio o tierras y de la sostenibilidad en su producción.

**Primera Generación.** A este grupo corresponden los recursos agrícolas (trigo, caña de azúcar, maíz, nueces y aceites vegetales) los cuales son ampliamente usados para producir bioetanol y biodiesel, por esta razón se les denomina biocombustibles de Primera generación, porque usan los cultivos de manera directa. Aunque esta práctica ha disminuido las emisiones de los gases de efecto invernadero (GEI), también ha sufrido muchas críticas ya que ha generado conflictos con los alimentarios, y ha sido requerido subvenciones estatales para su continuidad y a la vez lo más grave es que contribuiría a la deforestación, degradación de suelos y con ello de nuevo se contribuye al efecto invernadero y pérdida del recurso hídrico, es sabido que los sistemas de cultivo de microalgas usan menos espacio o terreno que los cultivos de primera generación, como se muestra en la figura 1 (Correa et al. 2017).

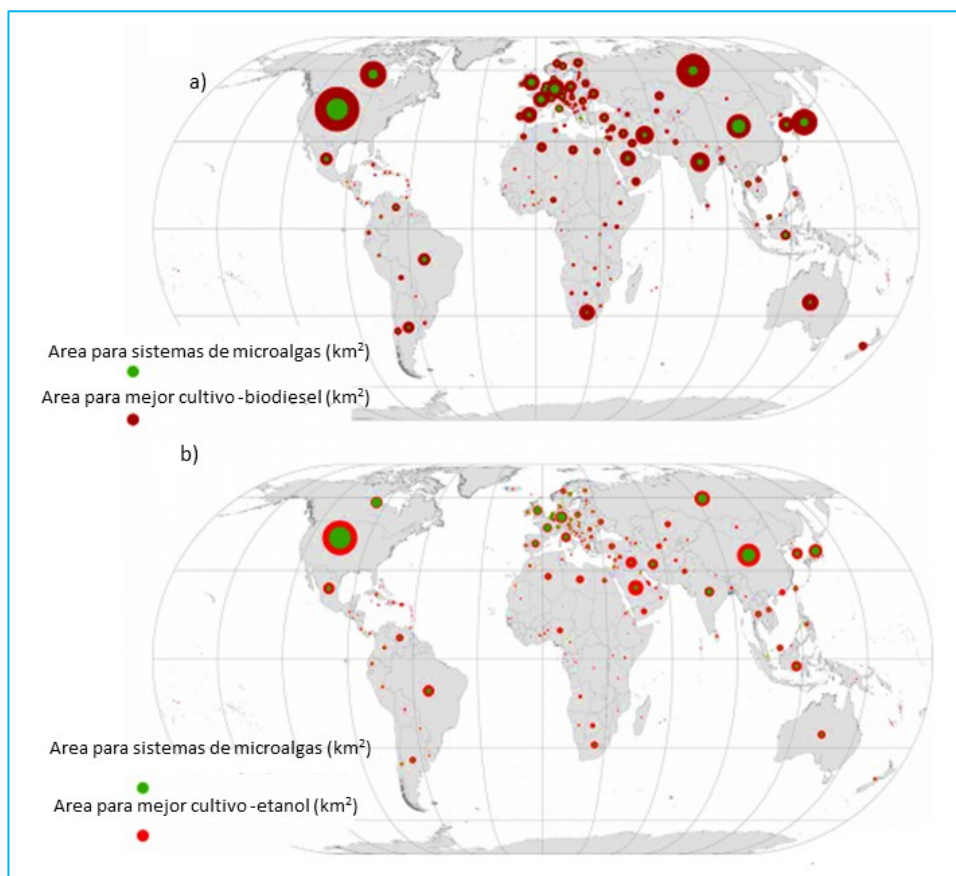


Figura 2. Círculos rojos representa el área de cultivo (km<sup>2</sup>) a nivel mundial para que se pueda satisfacer las necesidades de gasolina y fuel oil en rojo cultivos de primera generación, en verde de microalgas para combustibles (FAO, 2016).

**Segunda Generación.** Sin embargo, esta problemática podría resolverse a partir de cultivo no alimentarios y biomasa residual como biocombustibles de segunda generación. Aquí se reusa los desechos agrícolas o agroindustriales, como bagazos, cascaras y desechos industriales (por ejemplo, aserrín) en lugar de que sean más dispuestos en botaderos inclusive incinerados (Morh y Raman, 2017)

Al parecer esta metodología resulta más atractiva ya que depende de residuos y los costos disminuyen, el avance tecnológico que se viene dando podría ayudar significativamente a diversificar la energía con la biomasa residual amigables con el medio ambiente (Morh A, Raman et al., 2017)

También la producción de biocombustibles de segunda generación presenta ciertos desafíos relacionados a la variedad y complejidad de la biomasa además la

logística para su levantamiento y provisión a los centros operacionales de transformación dificulta su desarrollo, problemas asociados con su producción, transporte, recolección y pre tratamiento antes de la producción de biocombustible.

**Tercera generación.** Las algas hoy en día han resultado muy convenientes para su transformación en biocombustible denominado de tercera generación. Estas a diferencia de las plantas terrestres crecen exponencialmente eso significa obtención de biomasa, y no se usan mucho en la tierra, no requieren de adición de fertilizantes y se alimentan de desechos nutrientes y poseen poca variación estacional.

Existe un problema cuando se separa el agua de la biomasa (> 99% de humedad) debido al tamaño de las células microalgales tan pequeñas (entre 2 y 10  $\mu\text{m}$  de longitud y entre 2 y 8  $\mu\text{m}$  de ancho). En su tratamiento se debe romper la pared celular para lograr la separación de los glicéridos, carbohidratos y otras materias primas valiosas, siendo difícil su proceso ya que poseen una pared muy estable por lo que algas más sensibles perderían sustancias potenciales y más recalcitrantes se hace más difícil de separar.

**Sistemas abiertos de cultivo de microalgas.** Uno de los sistemas más usados son los fotobiorreactores de raceway (HRAP) abiertos estos presentan un circuito de canaletas dispuestas en paralelo con una serie de paletas que favorecen la circulación microalgal, las profundidades más aplicada se mantienen entre 15 y 30 cm con velocidades dentro 15 y 30 cm  $\text{seg}^{-1}$  esto dispone un menor consumo de energía las mejoras a este diseño busca mejorar la eficiencia de mezcla, el coeficiente de transferencia de masa y luz disponible para optimizar el rendimiento de biomasa (Kumar et al 2015). Este tipo de reactor se introduce el agua residual para ser tratada generalmente es dispuesta en movimiento usando unas paletas de aireación con un flujo ideal de 10-30 cm/seg para evitar la sedimentación de la microalga, muchos parámetros influyen la eficiencia de este reactor HRAP tales como la profundidad, la naturaleza del fluido si es laminar o turbulento, el diseño etc., todavía se estudian las posibilidades de disminuir los costos a escala

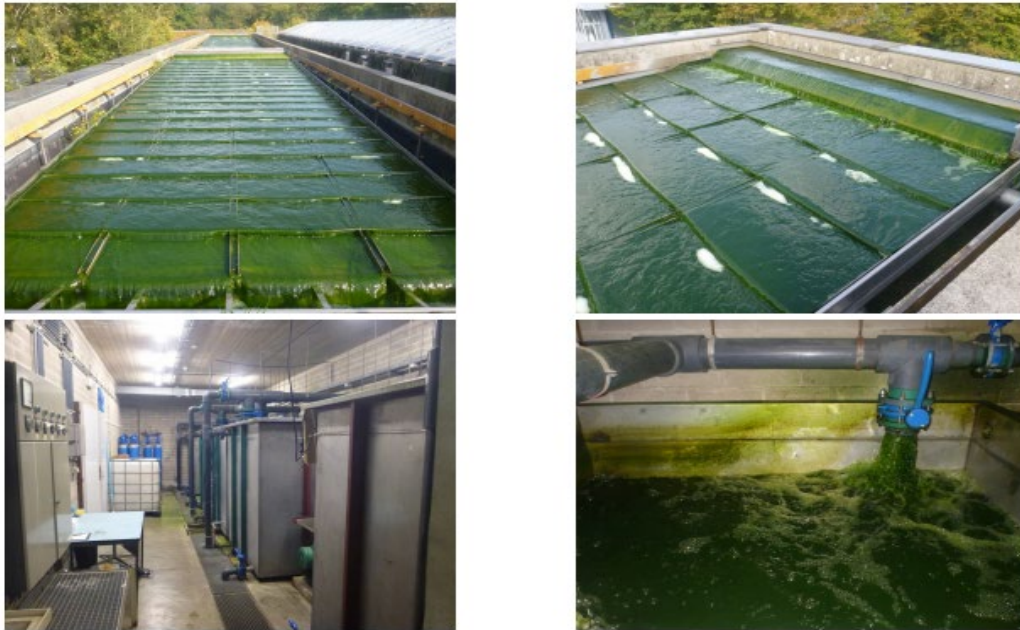


comercial este tipo de reactor cubre el 96% del mercado comercial en la producción mundial de la biomasa (Royaux, 2018).



**Figura 3.** Sistema de estanques abiertos de cultivo de microalgas HRAP de alta velocidad en Israel. Fuente: (Royaux 2018)

Existe otra configuración denominada en **cascadas de capa fina**, estos fluyen de arriba hacia abajo en una superficie inclinada pero se recoge en otro tanque de retención, a partir de este , la mezcla es bombeada hacia arriba, por lo que se asegura una alta turbulencia, la pendiente suele ser del 1% al 3% con profundidades cercanas a los 2 cm, lo bueno que la aplicación de la luz es mucho más eficiente en esta configuración frente a otras en consecuencia se logra una mayor producción de biomasa, en el caso de la *Chlorella spp.* se han empleado profundidades de 6 mm con diferentes volúmenes (170 a 2200L) aunque el menor volumen resultó mejor ya que la relación Superficie/Volumen fue alto ( $133 \text{ m}^{-1}$ ) generando una mayor productividad ( $19 \text{ gm}^{-2}\text{d}^{-1}$ ) (Costa et al 2019).



**Figura 4.** Sistema de cascada con capa delgada en el techo a) y b) expuesto a la luz, c) sala de operaciones y d) carga de velocidad de carga a un tanque.

Otros tipos de reactores abiertos resultan los de **multicapa**, conformados por qué consisten en una serie de tanques abiertos colocados a diferentes alturas, lo cual fluye desde un tanque a mayor altura a otro por gravedad y luego termina bombeándose para retornar al primer tanque a dispuesto en la parte de arriba, es conveniente ya que se requiere un menor espacio (Costa et al 2019).



**Figura 5.** Sistemas dispuestos en multicapas

**Sistemas cerrados de cultivo de microalgas. Fotobiorreactores.** Las limitaciones de los sistemas de cultivo abiertos han generado el desarrollo de bioreactores cerrados para este cultivo lo cual ha permitido un mejor control de los parámetros de operación, en este contexto se logran una elevada biomasa en cultivos mixtos o de un solo tipo de algas esto significa generar una elevada densidad celular los foto-bioreactores ( PBR por si sigla en inglés) incluyen el uso de energía solar lo cual abarata los costos de producción y operación , existen en la actualidad compañías que producen a gran escala con terrenos dispuestos para el cultivo destaca los diseños de reactores planos o en placas, turbulentos por aireación , los de tipo tubulares , verticales y también horizontales, existen además reactores anulares, y una diversidad de formas y tamaños con fuentes de luz interna , en formas de domos, o dispuestos en bolsas plásticas, colgantes o en mallas Sin embargo hoy día se requiere combustible renovable de alta calidad y económico, las microalgas producen cantidades elevadas de lípidos entre el 15 y 80% en peso seco, se han desarrollado esfuerzos a diseñar sistemas económicos pero eficientes y los sistemas cerrados ha permitido proteger los cultivos de microalgas de especies invasoras con un mejor control operativo para su cosecha. Es posible lograr mejores rendimientos en la productividad, elevados lípidos para la producción de biodiesel; pero contrariamente los costos de construcción y operación son altos (Santos-Ballardo, et al 2016).

En este tipo de reactores se cuenta con reactores en columnas, cerrados, con burbujeo en material transparente, las columnas son de forma cilíndrica para distribuir la luz, se retira el O<sub>2</sub> pero se aporta CO<sub>2</sub> , este se mezcla en el burbujeo, también se puede incluir una recirculación para mejorar y extender el contacto de los gases así se mejora el coeficiente de transferencia de masa aunque su principal problema es el escalamiento porque aumenta el volumen de oscuridad y entonces disminuye la productividad y el burbujeo en la columna no permite una mejor captación de luz. En cambio, los reactores planos, intentan reunir la agitación y la transferencia e intercambio de materia en el mismo volumen donde se captura la luz mediante un delgado paso de luz, con esto se puede escalar incluyendo una forma inclinada. De otro lado los reactores tubulares son más



caros, este se divide en dos partes: el lazo y el desgacificador. El primero sirve para capturar la luz solar y requiere codos y curvas mientras que el desgacificador es la parte donde se produce un intercambio de materia por la desorción del O<sub>2</sub>. Según Lam et al (2019) el diseño de un fotobiorreactor de considerar un i. área de luz efectiva, ii. Una velocidad eficiente de transferencia gas-líquido, iii. Operación simple iv. Bajo riesgo a la contaminación, v. económico vi. Mínimos requisitos despacio físico.



**Figura 6.** Foto-bioreactores tubulares-sistemas cerrados

La intención de muchos inversionistas para desarrollar biocombustibles de primera generación mediante los cultivos de maíz y de la soja, trajo como consecuencia un fracaso de tales proyectos debido a la escasez de alimentos que trajo consigo dicha actividad especialmente en el tercer mundo, de tal forma de que los científicos se detuvieron a pensar en una mejor opción de usar organismos fotosintéticos simples, como las cianobacterias y microalgas (Papacek, Jablonsky, Petera, 2018). Debido a que las cianobacterias y microalgas desarrollan una

elevada eficiencia fotosintética, relacionada con el crecimiento de la biomasa y gran contenido de lípidos resultaron muy versátiles para su aplicación en los últimos años (Ooms et al 2016). Estos organismos son unicelulares y absorben energía en forma de fotones a ciertas longitudes de onda muy específicas fijando el carbono inorgánico (CO<sub>2</sub>). Además de darles un uso en la producción de biocombustibles también se cultivan para darles otras aplicaciones, como la farmacéutica con metabolitos bio-activos o también usos nutricionales como alimentos para animales o suplementos en los alimentos para humanos, aunque no tan valiosos como las empresas de energías renovables, para ello es importante lograr el cultivo masivo de tales organismos fotosintéticos. (Papacek, Jablonsky, Petera, 2018).

Además de los diseños de foto-bioreactores (PBR) en base a cálculos específicos se vienen haciendo simulaciones que permiten predecir la producción de biomasa incluye el desarrollo microbiano (Park, Li. 2015), de tal forma que la imprecisión de los modelos de crecimiento de microalgas se mejora mediante la consideración de la dinámica de flujo entre las fases líquida, gas y el sólido, así como la distribución de la energía en forma de irradiancia y procesos relacionados a las funciones celulares. (Papacek, Jablonsky, Petera, 2018).

**PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS. Factores que afectan la producción de biomasa de algas y la calidad de la materia prima.** Las microalgas requieren energía en forma de luz a través de un proceso fotosintético, además de nutrientes tales cantidades que les permitan producir hidratos de carbono, lípidos, así como proteínas. El problema es el estrés que causa una sobre producción y de acumulación de los carbohidratos además de los lípidos afectando el crecimiento como el desarrollo de la biomasa; se requieren siempre el control y las mejoras en las técnicas de cultivo que aseguren la calidad y cantidad de microalgas suficientes , porque de ello depende la composición bioquímica de la biomasa las cuales son significativa entre influenciadas por los parámetros fisicoquímicos de operación como temperatura, pH, la intensidad de la luz, la disponibilidad de nutrientes, niveles de CO<sub>2</sub> (Chia et al., 2018).

**Temperatura.** Es importante la temperatura del ambiente en donde se cultivan las microalgas porque influye en su crecimiento y composición bioquímica, generalmente los valores oscilan entre 4 y 35 ° C, y se ha evaluado el efecto de este parámetro sobre la composición y el crecimiento, aunque hay especies que pueden crecer a 15°C e inclusive a 40°C pero la cinética es de mayor tiempo, por eso las variaciones climáticas que afectan la temperatura también afectan a los cultivos en condiciones ambientales, por ejemplo *Scenedesmus obliquus* puede cultivarse en un rango de temperaturas de acuerdo a las variaciones estacionales en Taiwán (18–33 °C), lo cual señala que dependen de la cepa de algas que se cultive (Chia et al., 2018). Se considera que los 15°C es la temperatura media óptima, en realidad la temperatura afecta el equilibrio químico de las especies ya que tiene una influencia en la transferencia de los gases debido a un decremento de la solubilidad con el aumento de la temperatura a través del coeficiente de transferencia  $k_a$ . (Royaux, 2018).

**pH.** Uno de los factores más importantes es el pH porque no solo está relacionado con la composición de la microalga sino en la vida útil y varias funciones de las células dependen de este parámetro tales como la captura de CO<sub>2</sub> porque dependerá del pH su disponibilidad en el medio y la solubilidad del gas, también está relacionado con la captura o asimilación de otros iones, minerales y nutrientes, otro aspecto es la función enzimática intracelular la cual está íntimamente relacionada a la pared celular y su acción ante la fotosíntesis; esta es afectada por los cambios de pH extracelular inclusive el pH del medio líquido, está claro entonces que el pH altera la capacidad de absorción de nutrientes y que puede interferir ante las actividades celulares. (Chia et al., 2018). Por ejemplo, un pH alcalino no ayuda a asimilar el CO<sub>2</sub> retrasando culminar el ciclo celular mientras que el mejor valor de pH está alrededor de 6 y 10 aunque dependerá de manera específica de la cepa de microalgas aislada, en otros casos diatomeas cianobacterias se desarrollan bien a pH neutro hacia valores alcalinos, pero también puede considerarse que en algunos casos pueden tener un medio algo ácido etc. (Rai et al 2015). No necesariamente las especies de un mismo género desarrollan idénticos requerimientos de pH, existen diferencias en el contenido de

lípidos, carbohidratos, por ejemplo las cianobacterias o algas verde-azules no se desarrollan valores ácidos de pH (5.5-6.0) debido a la solubilidad de CO<sub>2</sub> produciendo la muerte celular ello señala la necesidad de aplicar un pH ácido para evitar su proliferación cuando sea necesario, de otro lado debe quedar claro que la función del pH trata de incrementar la productividad de las algas e inhibir organismos invasores. (Chia et al., 2018).

**Luz.** Las microalgas pueden ser fotoautótrofas y mixotróficas esto significa que requieren CO<sub>2</sub> además de una fuente de luz para desarrollar la fotosíntesis, ya que la luz solar representa la fuente energética prioritaria en la producción de este bio-material, aunque el uso de la luz solar tiene sus limitaciones debido a cambios meteorológicos, clima, la división entre el día y la noche además de las variaciones de cada estación del año que en conjunto afectan a la intensidad de la luz y de su espectro (Chia et al., 2018).

La radiación solar está relacionada con la absorbancia de la luz establecida por la ley de Lambert-Beer, que describe la intensidad de la luz a una profundidad h en un medio algal (Royaux 2018):

$$I = I_0 e^{-K_e h}$$

Donde

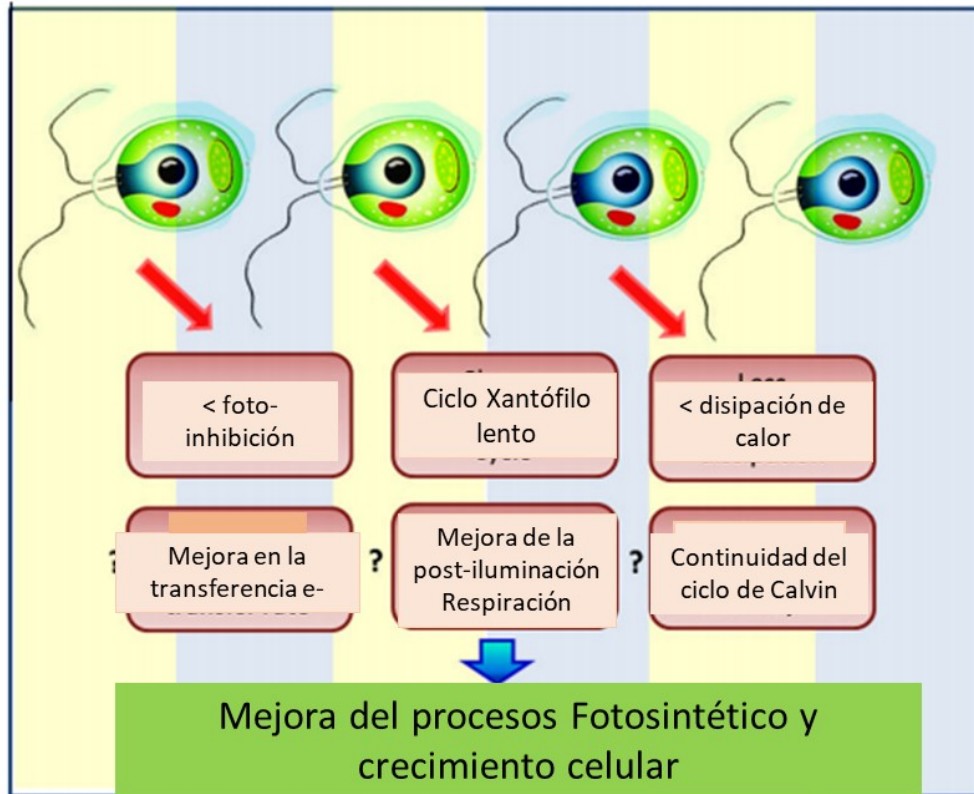
I = la irradiación a profundidad h

I<sub>0</sub> = Irradiación superficial

K<sub>e</sub> = coeficiente de extinción

h = profundidad

Esta energía provoca el incremento de la actividad fotosintética con el incremento de la radiación hasta cierto punto cuando empieza a descender la fotosíntesis como una función de la radiación.



**Figura 7.** Mapa conceptual de la mejora del proceso fotosintético y el crecimiento de células de microalgas bajo una luz intermitente. Abu-Ghosh, et al. (2016).

De acuerdo a la figura 7, la luz intermitente mejora el proceso de fotosíntesis porque la célula aumenta sus productos por ello una mezcla de luz y de oscuridad en equilibrio logra mantener elevadas tasas de crecimiento, aunque cada cepa microalgal es diferente según la pigmentación ganada o perdida en el crecimiento (Abu-Ghosh, et al., 2016).

La luz artificial es muy útil cuando es empleada para suplir a la noche y puede generarse a partir de fuentes energéticas renovables con menos costos a la electricidad, existen casos en que la luz artificial genera una mejor producción de biomasa con una composición valiosa, debido a una mayor estabilidad energética expresada en una regulación muy estable de la densidad en el flujo fotónico (Heining y Buchholz, 2015), es así que los foto-reactores usando luz artificial simplifican las limitaciones y complejidades del uso de la luz solar y dependerá más bien del diseño del biorreactor (Chia et al., 2018).



Así las condiciones de cultivo están íntimamente relacionadas con las propiedades de una luz intermitente; a su vez estos parámetros se definen por su fuente e intensidad, su distribución del espectro y de la geometría y propagación del rayo, también se incluyen la densidad de la biomasa, el diseño del reactor, y profundidad del fotorreactor o estanque, así como de la hidrodinámica de la mezcla (Baroukh et al., 2015). Es necesario que en las primeras etapas de crecimiento dentro de un foro-bioreactor se requieren sombras de enfriamiento cuidando las microalgas por el exceso de energía solar durante el día y no causar una inhibición por la recepción continua de fotones para lograr una buena adaptación por la velocidad de ingreso de fotones para el desarrollo de la fotosíntesis, es decir, una mejor adaptación de la tasa de entrada de fotones a los pasos limitantes de la fotosíntesis. Se ha demostrado que dos son los mecanismos que controlan el desarrollo microbiano, la foto-protección y foto-inhibición de tal forma que el primer caso ocurre cuando las células se exponen a mucha luz entonces hay que lograr un equilibrio con la foto-inhibición, la aclimatación ante una luz intermitente genera menor pérdida energética por la disipación del calor las células antes aclimatadas a una luz continua (Abu-Ghosh et al., 2016).

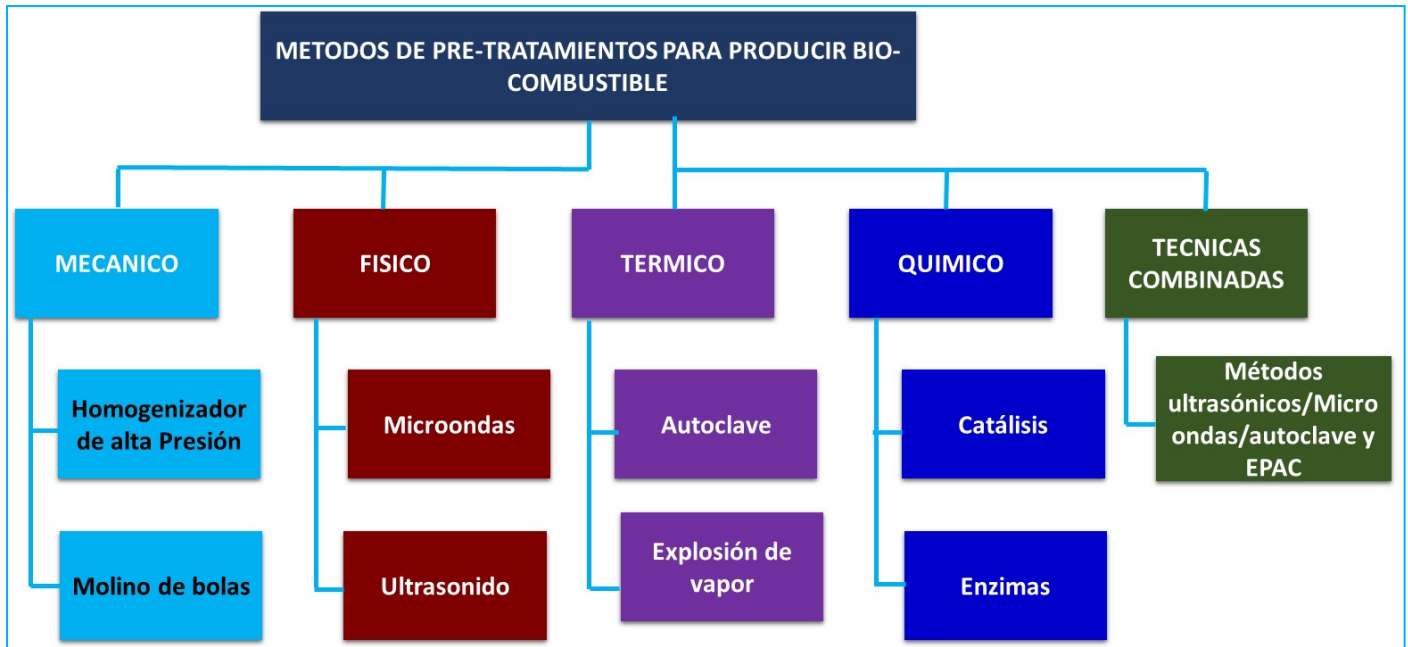
Esto quiere decir que para lograr una alta productividad de biomasa la luz intermitente debe lograr un equilibrio entre las dos variables claves: fotosíntesis y la fotoprotección, cuando se aplica este concepto al aire libre debe calcularse la relación entre biomasa y la luz, por ejemplo para la especie *Chlamydomonas reinhardtii* logro crecer en densos cultivos en 54 segundos con 50% de ciclo de trabajo con poca luz; eso quiere decir que una luz intensa intermitente, logra mayor absorción con menos pérdida de calor, lo cual genera mayor foto-inhibición con mayor respiración para su reparación celular, esto sugiere que bajo una luz intensa intermitente, se produce una mayor absorción de luz con menos disipación de calor, lo que conduce a una mayor foto-inhibición y una mayor frecuencia respiratoria para la reparación (Yarnold et al., 2016).

**Estrés.** Uno de los factores relevantes es el estrés por los nutrientes sobre la acumulación de lípidos y carbohidratos empleados para la producción de biocombustibles, depende del modo de cultivo empleado para determinar la cantidad y variedad de nutrientes incluyendo los básicos un cultivo fotoautotrófico necesita luz como fuente energética y CO<sub>2</sub> proveedora de carbono. Respecto al cultivo heterotrófico es necesario mantener el carbono orgánico como fuente energética por lo que la luz ya no es necesaria, asimismo el de tipo mixotrófico requiere no solo luz, también necesita carbono orgánico y CO<sub>2</sub> y finalmente cuando se trata de un cultivo fotoheterotrófico entonces si es importante contar con una fuente de carbono y de luz, en todos los casos es necesario contar con distintos macronutrientes especialmente nitrógeno, azufre y fósforo, en menor proporción se requiere sales minerales como hierro, magnesio, calcio, sodio, potasio y cloruro, incluyendo boro, cobre, manganeso, zinc, molibdeno, cobalto, vanadio y selenio así como vitaminas básicas, si hay defecto de nitrógeno y azufre, entonces se acumulan carbohidratos o lípidos (Chia et al 2018, Royaux 2018).

**CO<sub>2</sub>.** Este compuesto es una de las principales fuentes de carbono que consume las microalgas en la fotosíntesis para producir materia orgánica y oxígeno, la limitación de este componente en una de las mayores condicionantes para el cultivo de microalgas. Su presencia produce una disminución y genera una mayor absorción de luz superando 128% y un incremento del transporte electrónico y fotosíntesis arriba del 250%; además de un incremento entre 61-85% de la biomasa. Una manera de detectar la limitación de CO<sub>2</sub> es medir el pH el cual se incrementa en el caso de que haya una limitación de CO<sub>2</sub>, los valores típicos del pH límite de carbón es sobre 10 debido a la fotosíntesis del CO<sub>2</sub> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Royaux, 2018).

**Técnicas de pre tratamiento.** En la actualidad el pre-tratamiento de microalgas es aplicado para producir una gama de biocombustibles, técnicas mecánicas de tipo físicas, térmicas, químicas y combinadas son usadas para desintegrar la

pared celular y lograr un mayor rendimiento del biocombustible, la figura 1 muestra un esquema de las técnicas para lograr la rotura celular (Onumaegbu et al., 2018).



**Figura 8.** Técnicas utilizadas actualmente para el cultivo de microalgas para la generación de biocombustibles. Fuente: Onumaegbu et al., (2018)

Con el objetivo de reducir el tamaño de las partículas cristalinas producidas en los cultivos de *Laminaria spp.* para su desintegración celular de la biomasa como una técnica de interrupción se ha desarrollado ciertas técnicas mecánicas como el molino de perlas o el homogeneizador de alta presión, en estas circunstancias se ha logrado proteger las células de las microalgas especialmente contra la contaminación y su funcionalidad, es importante considerar múltiples opciones, como la característica propia de cada especie celular lo cual mejorara la eficiencia de la desintegración celular, sin embargo el proceso podría ser inhibido por material particulado como piedras y piezas de metal del molino (Onumaegbu et al. 2018).

**Pre-Tratamientos mecánicos. Homogeneizador de alta presión (HPH).** Debido a que ciertas microalgas poseen una pared celular rígida, es importante seleccionar un método adecuado para mejorar los procesos de interrupción celular,

la homogeneización a alta presión hace posible el escalamiento, su utilidad en lechos de biomasa súper concentrada (Lee et al 2017). Generalmente se ha usado presiones de hasta 100-150 MPa, eso significa mantener un cuidado especial al cubrir múltiples veces de homogeneización de la mezcla celular rígida (Günerken et al 2015), aunque es posible inyectar ultra presiones (hasta 300 MPa), denominadas homogeneización de ultra alta presión (UHPH), el cual alcanza una mayor eficiencia en la extractabilidad de las proteínas (Safi et al 2015, Montalescot et al 2015). Las cuestiones que la disrupción celular es un proceso continuo, que se inicia con el daño celular o ruptura de la célula con posterior liberación de metabolitos intracelulares, alcanzando la fragmentación celular por completo. Para saber si el proceso es óptimo es necesario efectuar una evaluación cuantitativa de la alteración celular, asilos métodos normalmente usados con el recuento celular, tamaño de partículas y cuantificación de los metabolitos liberados, de estos el recuento de células es el más confiable aunque de mayor tiempo sin que brinde información sobre la integridad de la membrana celular, adema podría producirse una agregación de células o de sus fragmentos y respecto a la identificación o cuantificación de metabolitos en la forma de proteínas este se hace leyendo la absorbancia que debe tomarse como relativa dado que no siempre relejan el contenido real celular (Onumaegbu et al 2018).

**Pretratamiento físico. Microondas.** Los métodos de microondas y ultrasonidos se consideran emergentes la extracción de lípidos es sencilla y rápida y permanece la calidad de los extractos, se gasta menor cantidad de solvente, energía y tiempo de extracción, se utilizan ondas electromagnéticas no ionizantes con frecuencias relativas entre 300 MHz y 300 GHz, lo bueno es que la energía electromagnética se transforma en calorífica mediante: conducción iónica (Nogueira et al. 2018).

En este tratamiento se circula la energía de manera uniforme en el material de tal manera que el calentamiento producido es dieléctrico y absorbe agua y esta propiedad depende la temperatura la frecuencia del catalizador y del tiempo en que termina la prueba, hay casos en los que se aplicó energía de 2450 MHz, con

una potencia de 1000 W a 65 °C para romper las células del girasol logrando un rendimiento del 5.96% de lípidos entonces se produjeron micro grietas en las células, inclusive se han alcanzado temperaturas de hasta 95°C bajo las mismas condiciones logrando un mayor rendimiento (38.31%) de lípidos para extraer a partir del aceite de cocina (Onumaegbu et al 2018).

**Ultrasonido.** El efecto logrado mediante este método es una cavitación originada por el ultrasonido al repercutir sobre un líquido logrando mejorar la disrupción celular de las microalgas a través de unas micro burbujas las cuales se forman por el movimiento de las ondas acústicas en el medio líquido, eso genera una micro-turbulencia, presión por las ondas de choque esto hace que aumente la velocidad de desintegración celular efectivizando la extracción de los lípidos, la ultracavitación es más intensa a una frecuencia baja entre 18 y 40 kHz este pretratamiento incrementa la desintegración celular por la emulsificación y la cavitación en dos sistemas inmiscibles L-L, pueden ocurrir procesos de baño por 1.5 h a 50 °C y frecuencia de 800 kHz para lograr 8.14% como rendimiento de lípidos (Onumaegbu et al 2018). También algunas pruebas han demostrado que esta práctica provoca la oxidación de radicales libres con efectos de corte por micro-chorro (Park et al 2017), en realidad se destruye las vacuolas de gas, la ficobiliproteína inhibiendo la división y el ciclo celular (Peng et al 2020), pero Nogueira et al. (2018) y Zhang et al. (2018), demostraron eficiencias de hasta 38% en la disrupción celular de microalgas usando ultrasonido y microondas.

**Técnica de pretratamiento térmico. Explosión de vapor.** Este proceso involucra una elevada presión para liberar los metabolitos ya que el material se expone a un vapor calentado entre 180 y 240 °C por varios minutos para luego despresurizar en condiciones de temperatura ambiental esto produce una grave alteración de la pared celular de manera repentina (Lee, et al 2017). Se han hecho pruebas con la especie *Nannochloropsis oceánica* mediante una explosión de vapor de catapulta instantánea (ICSE) con valores entre 1.0 a 2.1 MPa logrando aumentar el tamaño de poro superficial celular de las microalgas con el incremento de presión, la inclusión de una relación de solventes hexano/isopropanol incrementó

notablemente la extracción con un rendimiento de recuperación lipídica del 76,5% al usar hexano/isopropanol (1: 1, v/v) como disolvente a 60 °C (Cheng et al 2015a).

**Autoclave.** Como se sabe una autoclave suele funcionar 121 °C bajo una presión 1 atm de tal forma que el estrés térmico sobre las micro algas genere el rompimiento liberando lípidos intracelulares incrementado la generación inclusive se han usado valores de temperatura de 120 ° C 1atm por tiempos entre 10 -30 minutos logrando rendimientos lipídicos de 29,34% (Onumaegbu et al 2018).

**Pre-tratamiento Químico. Catalítico.** El uso de un catalizador mejora el proceso de disrupción de las células para producir los lípidos a partir de la biomasa de microalgas y la generación de bio-combustibles. Esta técnica incluye una serie de catálisis homogéneas y heterogéneas , en el caso del catalizador homogéneo se ha demostrado que presenta altos rendimientos para producir biodiesel sin embargo el catalizador heterogéneo los supera porque permite su cómo recuperación mediante procedimientos simples, con mejor gasto energético y agua, entre otros, Las investigaciones muestran el uso de los siguientes catalizadores homogéneos 1% de NaO, KO, NaOH, KOH, CH3ONa y CH3OK sobre aceite de girasol para producir biodiesel en un reactor discontinuo a 60°C por 3 h logrando un importante rendimiento de (3,24%), combinaciones como KOH/bentonita (1:4% y1:9%) en peso de catalizador sobre aceite de palma y las mismas condiciones de temperatura y tiempo lograron el 91,22% de bio-combustible (Onumaegbu et al 2018).

**Uso de enzimas.** Dado que la estructura y a la composición rígida celular, pero las enzimas extracelulares que se liberan por parte de los microorganismos heterótrofas no llegan a bio-degradar la capa externa microalgal totalmente debido a ello la materia lipídica disponible es muy limitada, por lo tanto, el rendimiento de biogás es limitado, es necesario lograr la rotura de la pared celular mediante la hidrólisis parcial de aquellos polímeros rígidos en la pared celular para solubilizar la materia orgánica. Por eso el método de la permeabilidad selectiva en las

paredes celulares propios de las microalgas con la consiguiente liberación de sus compuestos solubles destaca la baja energía, necesaria, también es posible que enzimas purificadas sean cambiadas por otras enzimas producidas por distintos microorganismos cuya expresión digiere las células microalgales, además de la producción de enzimas hidrolíticas a través de bacterias u hongos vivos, se realizan investigaciones respecto a la liberación de carbohidratos solubles mezclados en operaciones suaves, sin corrosión pero con menor producción de metabolitos secundarios, así son la dosis o concentración enzima-sustrato, así como el pH y temperatura, como el costo de la extracción y purificación. Estos incrementos en la solubilización también generan incrementos de biogás entre 36,6 a 243% y de 7,6 a 672%, con valores de rendimiento de CH<sub>4</sub> entre 203 y 1545 ml por gramo de sólidos volátiles (Mahdy et al. 2015, He et al. 2016).

**Procesos de conversión termoquímica.** Estos métodos consideran la transformación a través de distintas técnicas tales como: combustión directa, gasificación, pirólisis y licuefacción hidrotermal (HTL). En la actualidad se han desarrollado distintas rutas de producción de bio-combustibles "directos", a través de la pirólisis, gasificación, HTL y pretratamiento-hidrólisis (fermentación).

La gasificación se realiza en un medio de estricto control de aire para convertir la materia prima lignocelulósica en gas de síntesis (una mezcla de CO y H<sub>2</sub>) en medio oxígeno (aire / oxígeno y / o vapor, etc.), que luego se utiliza para la producción de combustible "directo" a través de la síntesis de Fischer-Tropsch. Hay otra ruta denominada la síntesis de dimetiléter (DME), metanol, amoníaco, etc. Esta ruta de conversión se denomina normalmente transformación de biomasa en líquido (BTL). La pirólisis es la descomposición térmica de la biomasa en un ambiente inerte (es decir, nitrógeno) para producir líquido (bioaceite), gas y sólido (char).

**Pretratamiento combinado.** Hoy en día se combinan los distintos tratamientos para lograr un mayor rendimiento de bio-combustible, en esa lista se incluye el uso de microondas con choques de alta frecuencia, ultrasonido por cavitación, aplicación de golpes de cuentas con perlas de rotación elevada, uso de autoclave

a 121 °C y 1 atm por 5 minutos con batido de perlas a 350 rpm, ultrasonido con frecuencia de 50 Hz por 15 min de choque osmótico en una solución líquida de NaCl (10%), entre otros (Onumaegbu et al., 2018).

**Extracción.** La extracción del aceite de las microalgas consiste en la separación de componentes lípidos de la masa seca, la pared que poseen tiene multicapas de carbohidratos y celulosa generados a partir de ácido silícico (Ganesan et al., 2020). Generalmente la extracción se ha realizado usando solventes orgánicos polares como metanol y cloroformo a diferencia de los métodos mecánicos con el uso de microondas, batido de perlas, ultrasonidos entre otros, sin embargo la técnica de fluidos supercríticos (SCF) si es muy satisfactoria porque se logra una excelente calidad, por ejemplo la extracción por Soxhlet usando n-heptano resulta inferior al tipo SCF, similarmente una extracción Soxhlet tradicional con ciclopentil metil éter y etanol (32.8%) resulta inferior a cuando se les aplica SCF (39,4%) (Santoro et al 2019). Asimismo, extracciones de microalgas como Simlapuri Nahar, Ludhiana, Punjab tuvieron incrementos en sus rendimientos (8% aceite) usando solventes más baratos (Karmakar et al. 2018).

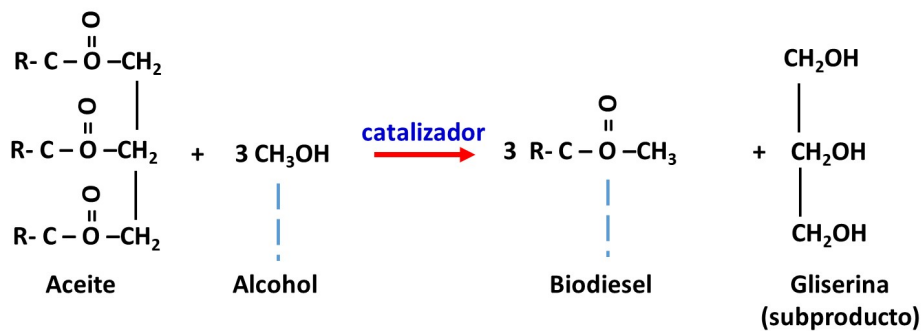
**Producción de bio-combustible. Técnicas para procesar el aceite de microalgas y transformarlas en biocombustibles.** Hay investigaciones de uso del aceite vegetal sin otro tratamiento adicional, pero, está en motores no es efectivo porque genera problemas a largo plazo ya que resulta con alta viscosidad, tiene bajo valor de cetano y también bajo punto de inflamación, taponea y pega los filtros, y golpea el motor finalmente genera residuos de carbón en el pistón, por tanto es necesario transformar el aceite en un biocombustible sostenible como una alternativa a los combustibles fósiles (Ganesan et al 2020).

**Fermentación.** Las microalgas representan una fuente de etanol, las paredes contienen pectina y alginato y su núcleo tienen hemicelulosa o poliosa ricas en polisacáridos conformados por alrededor de  $15 \times 10^3$  moléculas de azúcar, la disrupción de las microalgas las convierten en agentes potenciales de bio etanol, en los estados unidos se ha llegado a producir  $36 \times 10^9$  galones de etanol (Qari et al., 2017, Fivga et al., 2019), es importante producir monómeros como paso



previo a la fermentación, luego se aplican levaduras para el desarrollo de la fermentación a una temperatura aproximada de 38°C (Khan et al., 2017). Por otro lado, se sabe que este proceso toma mayor tiempo que puede prolongarse a días, aun que el producto es limpio, porque no produce tanto monóxido de carbono, hidrocarburos y NOx, pero si contienen oxígeno lo cual tiene a producir aldehídos precursores del smog fotoquímico (Ganesan et al., 2020)

**Transesterificación.** Además, es sabido que el contenido de lípidos en microalgas fluctúa de 20 al 50%, esto facilita su conversión a combustibles de C18 mediante la transesterificación, que es una reacción estequiometria para producir biodiesel representada por:



Casi siempre se aplican catalizadores ácidos tales como el ácido sulfónico, los ácidos son corrosivos especialmente ya que liberan iones hidronio al medio líquido especialmente al grupo carbonilo y esto genera un electrófilo más fuerte, mientras que el catalizador alcalino cede su catión del alcohol transformándose en un poderoso nucleófilo, el biodiesel no es más que la mezcla de componentes ésteres metílicos y etílicos producidos por el uso de alcoholes como metanol y etanol, sin embargo se suele usar catalizadores homogéneos o heterogéneos, para acelerar el proceso, así las zeolitas teniendo sílice y alúmina con gran porosidad, óxidos metálicos (óxido de circonio, óxido de wolframio, óxido de calcio, óxido de cinc, carbonato de estroncio) son característicos para la conversión a biodiésel (Ganesan et al., 2020)

Actualmente se vienen usando una diversidad de catalizadores óxidos metálicos y de metaloides como oxido de níquel y de molibdeno en forma de nanopartículas que alcanzan el 10% de producción de biocombustibles, también la aplicación de enzimas como las lipasas auxilian muy bien el proceso, es decir la aplicación de enzimas en concentraciones bajas (1 -3.5) y de estos óxidos como nanopartículas generan un rendimiento de biodiesel del 90%. A todo esto se observa claramente el uso de gran cantidad de alcohol para la conversión, la proporción general es de 1:3 a 1:9 un ligero exceso de alcohol favorece la formación de biodiesel bajo la forma de ésteres alquílicos de ácidos grasos, pero cantidades mayores de alcohol reactivaran al glicerol, esto significa que habrá que seleccionar apropiadamente los insumos, el método de sodio ha resultado muy eficiente es muy activo y logra un rendimiento del 98% en 30 min, en cambio el uso de ácidos como el ácido sulfúrico aunque también posee un alto rendimiento el proceso se hace más lento y requiere una mayor aporte de alcoholes, y eso encarece el proceso (Ganesan et al., 2020)

**Licuación hidrotermal de biomasa de microalgas (HTL).** Esta técnica produce un bio-crudo espeso, viscoso con una riqueza de su densidad energética comparada con un proceso de combustión ya que convierte las proteínas, lípidos y carbohidratos, ya no es necesario incrementar los lípidos pero resulta costoso y seguro lo sacara del medio, en realidad procesa a las microalgas con elevada humedad (90%) sin tratamiento alguno, además sino se incluye algún catalizador su velocidad de transformación será baja, pero de incluir un catalizador exagera la velocidad de conversión, al usar catalizador se corre el riesgo de generar gases de combustión , así en un proceso de combustión completa se libera NOx hacia la atmósfera por la presencia de N<sub>2</sub> en las microalgas (5-8% p/p) (Wang et al., 2018), mantiene una baja viscosidad y cantidades considerables de hidrocarburos inferiores (Obeid et al.,2019).

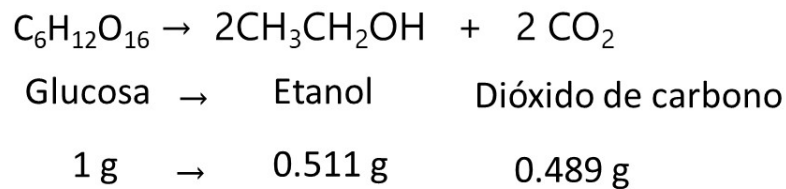
**Pirólisis.** Este proceso descompone la biomasa térmicamente de manera directa (400°C – 1000°C) sin uso de catalizador, oxígeno transformándola en aceite a partir de sólidos (carbón y coque), de líquidos propiamente como bioaceite o de

gases metano e hidrocarburos gaseosos de cadena superior, se describen dos tipos de pirólisis: pirólisis lenta basada en la aplicación de temperaturas bajas con largos tiempos y pirólisis rápida donde se incrementan las temperaturas creando menores tiempos de reacción. El resultado de la pirolisis ofrece 2 fases distinguibles, la fase acuosa conformada por alcohol primario, ácido y cetona, la fase orgánica con hidrocarburos alifáticos, alcoholes, ácidos entre otros) moléculas oxigenadas y con hidrocarburos aromáticos (Araujo et al., 2017).

La pirolisis de biomasa de microalgas genera una relación de dióxido de carbono/microalgas de 1.83 lo cual induce a reparar en la capacidad de captura de este gas de efecto invernadero por las microalgas (Mathimani et al., 2018, Pourkarimi et al., 2019). Esta actividad genera un rango de cadenas de hidrocarburos más bajo comparado con los líquidos, gases, bio-aceite en un 44% y biocarbón, también se ha informado que una temperatura pirolítica de 500 °C genero una producción de 59% con 21 MJ/kg de poder calorífico (Li et al., 2019).

En esta línea existe otro método como el hidro-craqueo catalítico aquí las moléculas más pesadas de la biomasa se descomponen para forman moléculas de peso molecular mucho más bajo a través de catalizadores e hidrogeno a presiones entre 1 y 10 MPa con temperaturas entre 200°C y 450oC (Hidalgo et al., 2018). En este caso es necesario completar el craqueo que forma olefinas por absorción o ganancia de calor con la hidrogenación que brinda energía para el craqueo. Es importante destacar que este bio-combustible a menudo se usa mezclado con los tradicionales para disminuir la contaminación, así que la combinación de biocombustible derivado de la licuación hidrotermal en combinación el gasóleo de camiones disminuye la tasa de conversión, pero aumentó la coquización del catalizador lo que no ayuda a su aplicabilidad (Santillan-Jimenez et al., 2019).

**Tipos de Biocombustibles. Bio-alcoholes.** De Farias Silva y Bertucco, 2016, señalan la máxima producción de **etanol** a partir de la glucosa liberada por la biomasa microalgal:



Para producir **etanol** se usan 2 técnicas, a) hidrolisis y fermentación separadas (SHF) y b) hidrolisis y fermentación simultánea (SSF) (Lam y Lee, 2015), la primera fórmula resulta más costosa porque requiere aplicar dosis altas enzimáticas y menor carga de biomasa para lograr un rendimiento de etanol aceptable. Además, los largos tiempos requeridos podrían causar la contaminación del sustrato por microbios. La segunda fórmula es menos costosa y requiere un menor tiempo para el procesamiento, aunque es difícil recuperar las enzimas por lo que sacarificar y fermentar dificulta un proceso más óptimo (Sirajunnisa y Surendhiran, 2016).

Tabla 1. Propiedades Físicoquímicas de Bio-etanol

Propiedades de combustible	Unidad	Bioetanol
Densidad a 15°C	Kg m <sup>-3</sup>	790
Viscosidad cinemática a 40°C	mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	1.13
Número de Cetano	-	5, 8
Oxígeno	masa %	34.7
Número de octano	-	110
Calor latente de vaporización	Kj g <sup>-1</sup>	921.1
Valor calorífico	Mj kg <sup>-1</sup>	25.22, 26.7
Punto de inflamabilidad	oC	13
Temperatura de auto-ignición	oC	332.8, 366, 420
Contenido de agua	mg Kg <sup>-1</sup>	2024
Razón estequiométrica combustible/aire	-	1/9.01

Fuente: Khuong et al. (2016)

En cambio, para **el biobutanol** es necesario convertir los azúcares mezclados con acetona-butanol-etanol los que guardan una relación promedio de (3:6:1) sin embargo para lograr el butanol es importante controlar las condiciones operativas para evitar la formación de furáneos, fenoles en el pre-tratamiento o fase de hidrólisis enzimática, se podría dañar el ADN o celular o modificar la permeabilidad de la capa porosa y podría perderse los componentes internos (Martín-Juárez et al., 2017).

**Biodiesel.** Es sabido que el biodiesel se produce a partir del aceite y fraccionamiento de lípidos contenidos en las microalgas que alcanzan un 80% (p/p) se ha tratado el proceso de conversión en biodiesel mediante métodos de conversión bioquímica, termoquímica, reacciones químicas como la transesterificación y por combustión directa. Es importante destacar que el biodiésel de microalgas carece de compuestos sulfurados o hidrocarburos aromáticos limitando las emisiones GEI por formación del CO o material particulado (Bharamurugan et al., 2018). A continuación, se muestra las propiedades fisicoquímicas del biodiesel obtenido a partir de la cepa de microalga *Desmodesmus sp.* (I-AUI) (Arguelles, Laurena, Monsalud et al., 2018)

Tabla 2. Características fisicoquímicas de biodiesel bajo normas internacionales.

Propiedades del Biodiesel	Biodiesel Estandar	
	EN 14214	ASTM D6751
Punto de obturación del filtro frío (CFPP)	$\leq 5 \leq -20$	-
Índice de yodo (g I <sub>2</sub> (100 g) -1 grasa)	$\leq 120$	-
Valor de saponificación (SV) (mg de KOH g - 1)		-
Número de cetano (CN)	$\geq 51$	$\geq 47$
Ácidos grasos saturados (AGS) (%)		
Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) (%)		
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (%)		
Viscosidad cinemática ( $\nu$ ) (mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	3.5 -5	1.9 -6
Densidad ( $\rho$ ) g cm <sup>-3</sup>	0.86 -0.9	
Poder calorífico superior (HHV) (MJ kg <sup>-1</sup> )		
C18: 3 (% en peso)	$\leq 12$	
Enlaces dobles (DB) $\geq 4$ (% en peso)	$\leq 1$	
Estabilidad a la oxidación (h)	$\geq 8$	$\geq 3$

Fuente: (Arguelles, Laurena, Monsalud, et al., 2018)

Las propiedades físicas y químicas se obtienen a partir de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) producidos del aceite transesterificado, el análisis reporta el grupo de ésteres metílicos de ácidos grasos saturados (SAFA), ácidos grasos mono-insaturados biodiesel como se observa clasifica punto de saturación del filtro frío con valor de 5 a 20 e índice de yodo inferior a 120 y baja viscosidad pero discreta estabilidad a la oxidación y viscosidad relativa (Arguelles, Laurena, Monsalud et al., 2018). Este biocombustible se usa en los distintos motores para generar locomoción y energía, incluyendo en aviones en un avión comercial con bimotor de 50/50 cargada con biocombustible, es apropiado porque posee bajo punto de inflamación y de congelación. En el caso del biodiesel se busca microalgas con gran capacidad de lípidos 158.78 mg/Ld, índice de cetano de 54.61 al parecer tiene las mismas propiedades de los que se producen a partir de semillas oleaginosas y del petróleo, su comercialización reemplaza el uso de combustibles de transporte tradicional (Bhalamurugan et al., 2018).

**Producto gaseoso. SYNGAS.** La biomasa de microalgas, además de generar productos pirolíticos de alta densidad energética: bioaceite, biocarbón y bio-syngas, la pirólisis genera contenidos energéticos promedios de <34 MJ / kg. Existe diferencias entre el pirólisis convencional, flash y de nivel intermedia, en este contexto el pirólisis catalítico logra reducir componentes nitrogenados y con oxígenos en los biocombustibles. La combinación de un pirólisis de microalgas asistida por microondas disminuye el tiempo de proceso debido al calentamiento avanzado para formar el bio-syngas con un rendimiento de 84% p/p. (Lee et al 2020)

Este producto a partir de la pirólisis de microalgas se reconoce como gas de síntesis o bio-gas de síntesis, la composición presenta hidrogeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono, nitrógeno, vapor de agua, metano, etano y propano, además de hidrocarburos pesados con cadenas de C2 a C3 entre otros y otros (Ly et al., 2015. Las singas producidas por microalgas generan entre 1.2 y 5.1 MJ/kg (Lee et al., 2020).

**Biochar.** El cultivo de microalgas y su conversión en biocarbón es una alternativa para el secuestro de carbono como parte de los procesos de la biorrefinería de microalgas. El dióxido de carbono gaseoso (CO<sub>2</sub>) excesivo se utiliza en el cultivo de microalgas para producir biocarbón una de sus características es el poder calorífico por ejemplo *C. vulgaris* presentó un valor discreto de 23,42 MJ kg<sup>-1</sup> con una morfología superficial aplicable a usarlo como bio-adsorbente (Yu et al. 2018). Las condiciones pirólicas pueden presentar rampas de 10 ° C min<sup>-1</sup> para lograr temperaturas de 500 °C, por 30 min en reactores pirolítico usando un gas inerte como el N<sub>2</sub> a 100 ml min<sup>-1</sup> también se han usado rampas de 15 ° C min<sup>-1</sup> a 925 °C. El rendimiento en la producción de biochar depende de la temperatura, la rampa de calentamiento y tiempo de residencia (Hodgson et al. 2016), los procesos pueden ser rápidos o de calentamiento lento (Chang et al. 2015), además se puede producir biochar aplicando carbonización hidrotermal, torrefacción (Wilk y Magdziarz 2017; Yu et al. 2017a).

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1 Tipos y diseño de investigación.**

Esta investigación es de tipo descriptivo, cualitativo no experimental y básica (Espinoza E. y toscano D. 2015, p.30). Se trata de una revisión de bibliografía actualizada de los últimos 5 años en el uso de biomasa como algas para su transformación en biocombustible líquido para reducir la emisión de los gases de efectos invernadero. Se aporta conocimientos científicos, que constituyen información fidedigna evaluada y ayuda a mejorar el conocimiento teórico y práctico cuando se materialice.

#### **3.2. Categorías, Subcategorías y matriz de categorización.**

En la tabla 3 se detalla la matriz de categorización apriorística donde señala los objetivos específicos, problemas específicos, las categorías y sub categorías.



Tabla 3. Matriz de categorización apriorística. Revisión de las técnicas de producción de biocombustibles a partir de algas

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Problemas específicos</b>	<b>Categorías</b>	<b>Sub categorías</b>	<b>Unidad de análisis</b>
Identificar los sistemas de cultivos de las microalgas	¿Cuáles son los sistemas de cultivos de las microalgas?	Sistemas de cultivo	Sistemas abiertos Sistemas cerrados	Pugazhendhi et al. 2020; Xiaogang et al. 2020; Lam et al (2019, Papacek, Jablonsky, Petera, 2018; Ooms et al 2016,
Analizar los parámetros físicoquímicos que afectan el desarrollo de la biomasa	¿Que parámetros físicoquímicos afectan el desarrollo de la biomasa?	Parametrans físico-químicos	Luz Temperatura pH Salinidad, CO2	Banerjee et al. 2020, Zhan, Rong, Wang, 2017; Lin, Wu, 2015; Mondal et al. 2016; Baldisserotto et al., 2016; Feng, et al 2021; Park et al 2015; Rai et al 2015; Alemu et al 2018; Apel et al 2017; Santos-Ballardo et al 2016
Analizar los métodos de pre-tratamiento de algas que se emplean en la biorrefinería para la producción de biocombustible	¿Cuáles son los métodos de pre-tratamiento de algas que se emplean en la biorrefinería para la producción de biocombustible	Biorrefinería	Pretratamiento mecánico Pretratamiento físico Pretratamiento térmico Pretratamiento previo químico Pretratamiento combinado Ultrasonidos Microondas Extracción de Soxhlet	Onumaegbu et al 2018, Nogueira et al (2018), Lee et al 2017, Zhang et al. 2018., Kapoore, et al. 2018, (Cheng et al. 2015, 2015). Chiamonti, Mahdy et al (2016), Ganesan et al., 2020, Santoro et al 2019, Karmakar et al. 2018, He et al (2016), Onumaegbu et al 2018, Mahdy et al. 2015, He et al. 2016), Balina, Romagnoli, y Blumberga, 2017), , Wall, McDonagh, y Murphy, (2017
Analizar los tipos de conversión de algas que se logran mediante las técnicas de producción actuales	¿Qué tipos de conversión de algas se logran mediante las técnicas de producción actuales?	Conversión de algas en nuevos productos	Bio-alcoholes Bio-diesel Singas biochar Bio-aceites de petróleo, insumos cosméticos, alimentos de animales	Medipally, et al 2015., Khan, Shin y Kim, 2018), Balina, Romagnoli, y Blumberga, 2017, Wall, McDonagh, y Murphy, (2017

### **3.3. Escenario de estudios.**

Este tipo de investigación se basa en una revisión bibliográfica por lo que no cuenta con un escenario físico experimental. La revisión, análisis y conceptualización responde a una serie de interrogantes a ser cubiertas respecto a las técnicas que actualmente se vienen aplicando para cultivar la biomasa algal y producción bio combustibles

### **3.4. Participantes.**

Se ha efectuado la búsqueda de artículos científicos en Scopus y Google académico, se ha encontrado 328 artículos en total de los cuales se ha efectuado una revisión y filtración de informes que se repiten o no satisfacen los requerimientos de análisis.

### **3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

El aprovechamiento de la búsqueda requirió un estudio de la misma, para organizarla adecuadamente en sus diferentes categorías, que permitió la planificación de la investigación (Cegarra, 2011, p. 102). De acuerdo con la investigación, se definirán las técnicas de recolección de datos: que pueden ser documentales y observación (Domínguez, 2016, p. 55).

En ese contexto se hizo una base de datos en Excel mostrado en el anexo la cual incluye información de: título, autor (es), tipo de documento, indexación, objetivo, método, resultado y conclusiones.

### **3.6. Procedimientos.**

La recolección de artículos se hizo usando las siguientes palabras clave TITLE-ABS-KEY (biofuel production techniques from algae) AND (LIMIT-TO (PUBYEAR,2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2016) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2015)) AND (LIMIT-TO (DOCTYPE,"ar") OR LIMIT-TO (DOCTYPE,"re") OR LIMIT-TO (DOCTYPE,"cp")). Luego se hizo un filtro revisando cada artículo y eliminando al no cubrir los requerimientos como los últimos 5 años de publicación y artículos repetidos o que

no respondían al tema central. En el Anexo 1 se presentan los resultados obtenidos.

### **3.7. Rigor científico.**

Para Aria y Giraldo (2011) “los estudiosos de la metodología de investigación los asuntos de rigor relacionados con la calidad de investigación son un asunto central” Estos están relacionados con “el instrumento, el trabajo de campo, el análisis, el muestreo teórico, la saturación teórica y la integridad del investigador”. Otros aspectos mencionados son la “validez, confiabilidad, objetividad versus subjetividad, credibilidad, confirmabilidad y transferabilidad, así como la guía de evaluación, elementos necesarios para todos aquellos que se relacionan con la investigación desde diferentes perspectivas e intereses”.

### **3.8. Método de análisis de datos.**

La información se agrupó en función de las categorías y sub categorías, Sistemas de cultivo, parámetros fisicoquímicos, métodos de tratamiento, métodos de extracción de aceites, técnicas de producción y tipos de biocombustibles la cual, se detallará en la parte de resultados.

### **3.9. Aspectos éticos.**

Esta investigación es una revisión sistemática que se ha desarrollado siguiendo los rigores científicos y las normas de respeto a los derechos de autor la cual se ha citado convenientemente. Las referencias bibliográficas siguiendo el manual ISO 690 de la Universidad César Vallejo.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### SISTEMAS DE CULTIVO

De acuerdo a Costa et al. 2019, los sistemas de cultivo abierto solo se hacen para un grupo de microalgas que toleran ciertas condiciones extremas como una alta alcalinidad (*Spirulina*) o con altas concentraciones de nutrientes (*Chlorella*) y alta salinidad (*Dunaliella*), por lo tanto, no pueden cultivarse mezcladas con otros microalgas sino en tipos de monocultivos en bioreactores abiertos y a una gran escala. Su principal inconveniente son los problemas de contaminación. Sin embargo, de acuerdo a Bani et al (2021) esta es una forma de cultivo de varias microalgas o entre microalgas y bacterias, resulta ser una práctica muy robusta, en este caso hay una variedad de nutrientes y distintas condiciones ambientales del bioreactor, entre estos cultivos de tipo mixto destacan *Clorococcum sp.-Scenedesmus sp.-Chlorella sp.-Phaeodactylum tricornutum*, otros de *Chlorella sp.-Scenedesmus sp.* Esta práctica logra conseguir un mayor rendimiento de biomasa y de bio-componentes, carbohidratos y también lípidos, una de las prácticas que se viene usando es el tratamiento de aguas residuales de composición variada pero no extrema son de las microalgas y otros microorganismos se desarrollan y son capaces de eliminar la materia orgánica expresada como DQO entre otros (Costa et al. 2019). La Tabla muestra la aplicación de reactores abiertos en el cultivo microalgal.

Para Beni et al 2021, la productividad o dinámica de inóculo microalgal mucho depende de la configuración de los reactores y de los medios de cultivo, es aquí que surgen las posibilidades del uso de reactores abiertos o cerrados con distintos medios de cultivo es decir nutrientes de distintas composiciones ya que las comunidades algales influyen en la composición bacteriana por lo tanto en la productividad, en la tabla se muestra un análisis comparativo entre distintos medios de cultivo, microalgas y reactores. La productividad depende de todo el sistema, pero los costos son los que generalmente deciden el sistema a emplear frente a la rentabilidad esperada.

Otro aspecto presente en el medio de cultivo, el tratamiento de aguas residuales cuando se aplican microalgas se usa de manera simultánea, ya que el agua residual rica en nutrientes sirve de sustrato a las microalgas produciendo la biomasa algal. En este sentido no solo se usan sistemas abiertos sino también cerrados (PBR). La tecnología del tratamiento de aguas en reactores aplicando estas como sustratos para el cultivo de microalgas ha resultado una excelente combinación (Xiaogang et al. 2020). En la actualidad se ha realizado la explotación comercial a gran escala el uso de los reactores cerrados (PBR) presenta grandes obstáculos por su costo para hacer esta actividad más factible. Xiaogang et al. 2020 investigó los distintos tipos de reactores usando distintas composiciones de aguas residuales para el cultivo de algas, el resultado se presenta en la tabla. En la cual se observa, que es posible reducir la carga orgánica expresada como demanda química de oxígeno o demanda biológica de oxígeno, como fosfatos y nitratos, además de una productividad algal estándar.

Anteriormente Santos-Ballardo et al 2016 demostró las posibilidades de cultivo en los bioreactores anaerobios para el cultivo y producción simultánea de biogás, donde la principal preocupación es lograr la mejor relación en la proporción C/N, por lo que diversos autores investigan la co-digestión de sustratos donde la biomasa algal ha sido tratada combinada con otro sustrato como otros flujos de desechos como papel desechado, hierbas, etc. y mejorara el rendimiento. La tabla muestra los resultados obtenidos.

Esta condición implica el ajuste de los parámetros fisicoquímicos de cultivo para mejorar la productividad de las microalgas si se quiere aplicarlas en procesos posteriores, la luz necesaria y las componentes termodinámicas enlazadas para el desarrollo de las reacciones bioquímicas resultan críticas en ocasiones (Lam et al (2019), es por ello que muchas veces consideran microorganismos mucho más simples y tolerantes entre las microalgas e inclusive las cianobacterias (Papacek, Jablonsky, Petera, 2018), su elevada actividad fotosintética intrínseca a su crecimiento (Ooms et al 2016) debe ser cuidadosamente monitoreada para una óptima fijación del carbono inorgánico (CO<sub>2</sub>). Una forma de calcular las

provisiones justas en los fotobiorreactores (PBR) es aplicando simulaciones ya que es una forma menos costosa y de ahorro de tiempo para predecir y optimizar los procesos termodinámicos y cinéticos que determinan la productividad microalgal (Park, Li. 2015).

**Tabla 4.** Cultivo de microalgas en Bioreactores abiertos de Monocultivos. Fuente Costa et al- 2019

Microalga	Tipo	Habitats	Requerimientos	Bondades	Países
<i>Espirulina</i>	cianobacteria filamentosas	Crece en suelos, en lagos alcalinos y en agua salobre, salina y dulce.	agua y fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, hierro y otros oligoelementos	Elevado contenido de proteínas (60-70 g/100 g) Excelente fuente de vitaminas, minerales, ácido $\gamma$ -linolénico ficocianina y fenoles	Earthrise Nutritionals (California, EE. UU.) Cyanotech Co. (Hawái, EE. UU.) Hainan DIC Microalgae (Hainan, China ) Olson, (Camaquã-Brasil)
<i>Chlorella</i>	-	-	No necesita tierras cultivables, potencial para uso directo de nutrientes desde las aguas residuales	carbohidratos, lípidos y proteínas $\beta$ -1,3 - glucano (inmunoestimulante ), elimina radicales libres y reduce lípidos en sangre Ingestión de Chlorella para tratar úlceras pépticas y para la prevención contra la arterosclerosis y la hipercolesterolemia	Taiwán
<i>Dunaliella</i>	Clase Chlorophyceae y del orden Volvocales	-	Condiciones de crecimiento estresantes, como alta salinidad o temperatura	Actividad antioxidante y altas concentraciones de $\beta$ -caroteno proteínas, lípidos y glicerol	Australia e Israel

**Tabla 5.** Condiciones operativas y Rendimientos. Fuente: Bani et al. 2021

Código	Tipo de Reactor	de Microalga	Condiciones de operación	de Medio cultivo	de Nutriente	Concentración de fertilizantes	pH	Concentración de biomasa (g/L)	Productividad diaria (g/Ld)
T	Reactor tubular	<i>S. almeriensis</i>	20% de su volumen Modo discontinuo x 7d modo continuo x 5 semanas Tasa de dilución: 0,3 días-1 20% de su volumen	fertilizantes y agua limpia como medio de cultivo	NaNO <sub>3</sub> , MgSO <sub>4</sub> y KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200 mg/L N 50 mg/ L P	8	2.1	0.63
RW	Reactor abierto de canalización	<i>S. almeriensis</i>	20% de su volumen Modo discontinuo x 7d modo continuo x 5 semanas Tasa de dilución: 0,3 días-2 20% de su volumen	fertilizantes y agua limpia como medio de cultivo	NaNO <sub>3</sub> , MgSO <sub>4</sub> y KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200 mg/ L N 50 mg/ LP	8	0.7	0.21
RH (raceway )	Reactor abierto de canalización	<i>S. almeriensis</i>	20% de su volumen Modo discontinuo x 7d modo continuo x 5 semanas Tasa de dilución: 0,3 días-3 20% de su volumen	aguas residuales	N como NH <sub>3</sub> y P igual a 60 mg- 1 y 10 mg/L		8	3.2	0.96
RI	Reactor abierto de capa fina	<i>S. almeriensis</i>	20% de su volumen Modo discontinuo x 7d modo continuo x 5 semanas Tasa de dilución: 0,3 días-4	agua limpia más estiércol (10%) para proporcionar nutrientes	NH <sub>4</sub> y P	NH <sub>4</sub> y P de 100 y 20 mg L- 1	8	0.6	0.18



**Tabla 6.** Medios de cultivo y producción de micro algas, más usados. Fuente: Xiaogang et al 2020.

Sistema de Cultivo	Medio usado	Especies de microalgas	Volumen de Reactor abierto	Lugar	Estación/ (ToC)	Productividad (Biomasa)	Composición	Contaminante removido
A=20m2 D=0.115	Medio Zarrouk	<i>C. variabilis</i>	-	India	Otoño (35oC)	7.2 gm-2d-1	Lípido (10-12%)	-
L=4.2 m W=1.2 m H=0.2 m	Agua residual municipal	<i>Synechocystis PCC6803</i>	3.5L	India	25°C	0.21 gL-1d-1	Lípido (28%) Carbohidrato (24.1%)	-
A=1.5 m D=0.1 m V=25 cm-1	Medio Zarrouk	<i>Laporte M132</i> <i>C. variabilis</i>	-	India	Primavera 22oC	4.9 gm-2d-1	Lípido (12%)	-
L=1.5 m W=0.6 m D=0.4m	Aguas residuales domesticas	<i>C. pyrenidea</i>	165L	Algeria	Invierno día (18-31oC), noche (6-15oC)	1.71 gL-1	-	NH4+-N(95%), COD(78%) TP(81%)
A=1.5 m2 D=0.1 m V= 25 cm-1	Medio Zarrouk	<i>C variabilis</i>	-	India	Verano 36°C	8.1gm-2d	Lípido =10%	-
T=25 cm ID=4.26 m W=1.8m	medio CFTRI	<i>C. turgidus</i>	1-L	India	24°C	-	proteína=182 mgg-1 carbohidrato(519 mgg-1) Lípido =28 mgg-1	-
A=6.03 m2 A=1.5m2 D=0.1 m V=25 m L=1 m W=1 m D= 20 cm D=10 cm	Medio Zarrouk	<i>C: variabilis</i>	-	India	Rainy 33°C	6 gm-2d-1	Lípido =11%	-

A=1.5 m2 D=0.1 m V=25 m	Medio Zarrouk	<i>C. variabilis</i>	-	India	invierno: 14oC	2.74 gm-2d-1	Lípido (15%)	-
D=0.1 m V=25 m L=1 m W=1 m D=20 cm	Agua residual Municipal	Comunidad nativa del agua residual	-	India	25-30oC	0.214 gL-1	-	-
D=10cm	Aguas residuales secundarias de efluente tratado de aguas residuales municipales	<i>C. luteoviridis</i> y <i>P. hussii</i>	150 L	Reino Unido	Verano:15- 26oC Invierno:6-3oC	<i>C. luteoviridis</i> (0.84 g/L) y <i>P. hussii</i> (0.97 gL-1d)	Lípido ( <i>C. luteoviridis</i> (0.39 gL- 1d-1) <i>P. hussii</i> (0.42 gL-1d-1))	NH4+ -N(70%) PO43- (70%)
L=7 m W=1.5 m D=0.26 m	Medio Modificado CFTR1 ABRR1	<i>T. striata</i>	2000 L	India	24-30oC	0.063-0.08 gL- 1dia-1	Proteína=19%, Carbohidrato=17%,Lípido=15%	-
L=70 cm W=40 cm H=15cm	Agua residual sintética	<i>S. obliquus</i> FACHB-416 <i>C. vulgaris</i> FACHB-32 y <i>O. tenuis</i> FACHB-1052	30 L	China	28oC	6.95 - 8.11 gm-2 dia-1	Lípido =19.86%	DQO=86.61%, TN=73.68%, TP=89.55%
A=0.3 m2	Agua residual municipal	<i>C. pyrinoidea</i> y <i>Phormidium</i>	100 L	India	4-25 oC	3.48gm-2dia-1	Lípido =35.2%	DQO=53%, NH3-N=81%
L= 1 m W=1.5 m	Agua residual papel	<i>Scenedesmus</i> sp.	30 L	India	23 oC	Lípido	Lípido	DQO=75%, DBO5=82%, PO4- P=71.29%

**Tabla 7.** Relación C/N usada en la producción de biogás por co-digestión anaerobia usando a las microalgas como co-sustrato. Fuente. Santo-Ballardo et al 2016.

<i>Especies microalgales</i>	<i>C:N</i>	<i>Producción metano</i>	<i>Referencias</i>
SMBR <i>Tetraselmis suecica</i>	3.1	0.175 <sup>a</sup>	Santos-Ballardo et al. (2015)
<i>Chlorella vulgaris</i> UTEX 395	6.8	3.37 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
SMBR <i>Chlorella vulgaris</i> UTEX 395	5.51	3.14 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	7.55	3.57 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
SMBR <i>Nannochloropsis</i> sp.	6.36	3.99 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
<i>Nannochloropsis salina</i>	14.87	5.57 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
SMBR <i>Nannochloropsis salina</i>	8.46	3.83 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
<i>Nanofrustulum</i> sp.	9.47	5.07 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
SMBR <i>Nanofrustulum</i> sp.	6.89	3.04 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> CCMP632	6.86	3.37 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)
SMBR <i>Phaeodactylum tricornutum</i> CCMP632	5.68	3.39 <sup>b</sup>	Zhao et al. (2014)

## PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

Una de las principales preocupaciones de los investigadores para producir biocombustibles es asegurar el contenido de lípidos y una buena calidad de la biomasa la cual es usada como material precursor de este tipo de producción, como se observa, las microalgas de mixotrofos muestran un mayor contenido de lípidos en su estructura lo cual va asociado con la productividad de la biomasa. En el caso de las microalgas mixotróficas asimilan el dióxido de carbono y liberan oxígeno a través de la fotosíntesis y pueden crecer en medio de carbono orgánico, genera un menor costo frente al cultivo heterotrófico y autótrofo, lo cual es muy prometedora para la producción de biocombustible. (Zhan, Rong, Wang, 2017).

Tabla 8. Revisión de potencial de microalgas de distintos tipos de cultivo en la generación de Lípidos y biomasa.

Microalgas	Autótrofos		Heterótrofos		Mixotrofos		Fuente
	Lípido (%)	Biomasa (g/L)	Lípido (%)	Biomasa (g/L)	Lípido (%)	Biomasa (g/L)	
Chlorella sp. Y8-1	16.5	0.22	5.9	0.17	35.5	0.45	Lin, Wu, 2015.
Chlamydomonas sp. BTA 9032	15.12	0.95	NA	NA	38.6	1.15	Mondal et al. 2016
Chlorella sp. BTA 9031	14.0	0.93	NA	NA	30	1.55	Mondal et al. 2016
Chlorella vulgaris	NA	NA	2	3	0.8	4	Mondal M, et al. 2016
N. oleoabundans UTEX 1185	20.3	0.25	NA	NA	27.1	1.8	Baldisserotto et al., 2016

Las fuentes de carbono resultan cruciales para el desarrollo de la biomasa, sin embargo, esto dependerá de la especie de microalgas, así como de la en función de los monosacárido-H + que favorecen el movimiento de los carbohidratos en la célula (Mondal et al. 2017).

Tabla 9 Composición de la especie *Chlamydomonas* sp. Y *Chlorella* sp.

Especie	Fuentes de carbono	Concentración final de biomasa (Xmax)	Productividad de Biomasa (Pmax)	Tasa de crecimiento específico (Imax)
<i>Chlamydomonas</i> sp.	Fructuosa	1.06	0.03	0.54
	Acetato de Sodio	0.98	0.03	0.44
	Quezo whey	1.15	0.04	0.66
	Melasa	0.84	0.02	0.36
	Dioxido de carbono	0.82	0.02	0.34
	Bicarbonato de sodio	0.93	0.02	0.4
	Aire	0.7	0.01	0.29
<i>Chlorella</i> sp.	Fructuosa	1.24	0.05	1.2
	Acetato de Sodio	1.45	0.06	1.21
	Quezo whey	1.62	0.07	1.8
	Melasa	1.55	0.07	1.47
	Dióxido de carbono	0.95	0.03	0.44
	Bicarbonato de sodio	0.71	0.01	0.27
	Aire	0.69	0.02	0.36

Fuente: Mondal et a. 2017.

Asimismo, se presenta la tabla que muestra los lípidos y carbohidratos logrados por cada tipo de sistema de cultivo y en función de los parámetros fisicoquímicos aplicados sobre el cultivo.

A continuación, se muestra los resultados de la actualización de las técnicas y alcances logrados por la comunidad científica respecto a la investigación de uso de microalgas para la producción de bio combustibles. Como se observa en la tabla, se ha ensayado con la especie *Chlorella* sp en mayor proporción comparada con las demás, se observan además los tipos de sistema empleados, como taques de sistemas abiertos (HRAP) y las condiciones fisicoquímicas desarrolladas en los medios de cultivo. Además la salinidad no supera los valores de la vida marina (35 mg/L) y sobre todo se muestra la variedad de las unidades de expresión para mostrar el contenido lípido y de carbohidratos logrados en cada prueba.

Tabla 10. Sistemas de cultivo de microalgas

Especie Microalgas	Tipo de reactor	Tasa de crecimiento de biomasa	Temperatura oC	Luz	pH	Salinidad	CO2	Concentración de biomasa	Lípidos	Crabohidratos	Referencia
Chlorella sp	Fotobiorreactor de membrana de algas (A-MBR)desacopla el tiempo de retención de sólidos (SRT) y el tiempo de retención hidráulica (HRT)	La tasa de crecimiento específico promedio general fue de (408 mg DQO L <sup>-1</sup> )	23 ± 2 ° C	Intensidad de luz fluorescente de 80 ± 10 μmol • m <sup>-2</sup> • s <sup>-1</sup> (área de exposición 0.045 m <sup>2</sup> , cada una) en la superficie durante 12 h por día	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Feng, et al 2021
Nannochloropsis salina	estanque de raceway a escala industrial (estanque de algas de alta tasa)	ND	20 ° C	Usando lámparas fluorescentes	7,5 y 8,5	f 25 g kg <sup>-1</sup>	0,0006 a 0,150 g L <sup>-1</sup>	0.42 g L <sup>-1</sup>	ND	ND	Park et al 2015
Chlorella sp	Cerrado	ND	28±1°C	2700 lux.	8	NaCl 0,2 M -0.5M	ND	0,822 g L <sup>-1</sup> y 1,021 g L <sup>-1</sup>	0,1842 g L <sup>-1</sup> (26,84%)	40.06 %	Rai et al 2015
Chlorella sp,	estanques de algas de alta tasa (HRAP)	ND	23-31oC	7,46 y 8,35 kW / m <sup>2</sup> / día	9.02 y 8.97	ND	ND	> 1 g / l	ND	ND	Alemu et al 2018
Chlamydomonas sp.	estanques de algas de alta tasa (HRAP)	ND	23-31oC	7,46 y 8,35 kW / m <sup>2</sup> / día	9.02 y 8.97	ND	ND	> 1 g / l	ND	ND	Alemu et al 20118
Scenedesmus sp.	estanques de algas de alta tasa (HRAP)	ND	23-31oC	7,46 y 8,35 kW / m <sup>2</sup> / día	9.02 y 8.97	ND	ND	> 1 g / l	ND	ND	Alemu et al 20118
Nannochloropsis salina	fotobiorreactores abiertos en cascada de capa delgada	1,6–1,9 d <sup>-1</sup>	26 ° C	ND	8,5	27 g L <sup>-1</sup> de NaCl	ND	3 g L <sup>-1</sup>	ND	ND	Apel et al 2017
Phaeodactylum tricornutum	aire libre		22.15 C	(1915 IE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) - 3278 IE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	7.3–7.45	34–35 g L <sup>-1</sup> ,		3.90 9 10 <sup>6</sup> -16.66 9 10 <sup>6</sup> ml <sup>-1</sup>	120-350 ug mg OM	75,8 ± 11,5 y 85,6 ± 11,2 μC mg <sup>-1</sup>	Santos-Ballardo et al 2016

Las demandas energéticas actuales nos llevan continuamente a la búsqueda de desarrollar fuentes de energía alternativas para competir con las reservas de combustibles fósiles que se agotan. En los últimos años, las algas han atraído la atención como biocombustible de tercera generación. Sin embargo, la baja concentración de biomasa y la acumulación de metabolitos dan como resultado un bajo rendimiento de biocombustible, limitando así su aplicación. El presente estudio revisa tres posibles enfoques para mejorar la producción de biocombustible a partir de algas: ingeniería bioquímica, ingeniería genética y aplicación de ómicos/flujo metabólico. La ingeniería bioquímica depende de cambiar diferentes condiciones fisiológicas, como aumentar la temperatura de cultivo o aplicar estrés de nitrógeno para encaminar el flujo de carbono hacia la acumulación de metabolitos. La ingeniería genética aprovecha el conocimiento de las moléculas principales para la acumulación de metabolitos para crear recombinantes; cepas de microalgas, que sobre expresan enzimas específicas o bloquean ciertas vías para mejorar el metabolismo de biomoléculas específicas. El análisis ómico y de flujo ayuda a analizar matemáticamente estas manipulaciones e interpretar diferentes respuestas posibles in silico, en función de qué experimentos se pueden realizar in vivo.

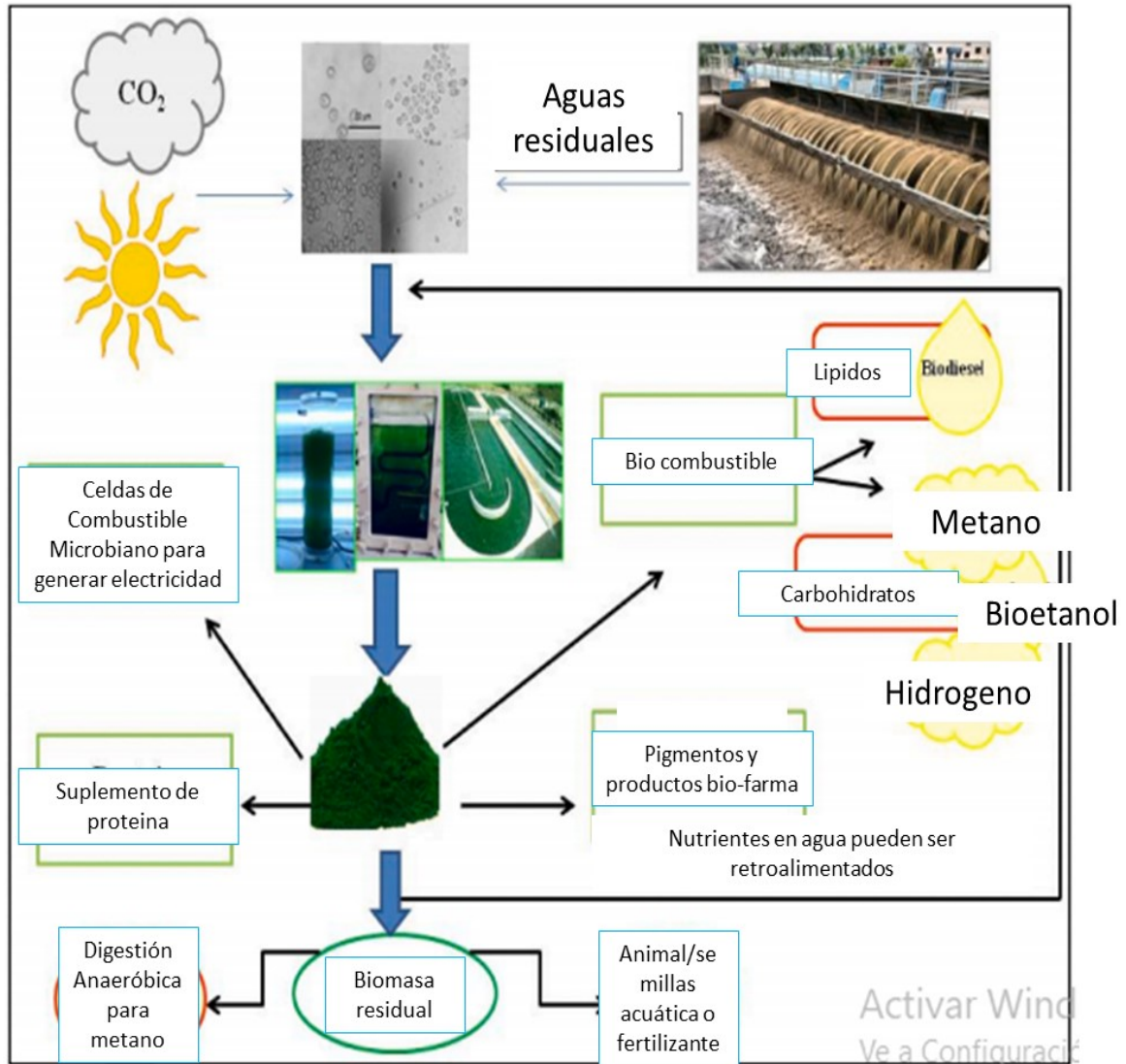


Figura 9. Proceso para la obtención de biofuel



## **BIOREFINERIA**

**Pre-tratamiento mecánicos.** Lee et al. 2017 informó que los pre tratamientos mecánicos emplean un corte en la energía ya sea mediante impulsos eléctricos que producen fuerza cortantes, o calor, por lo que pueden ser muy intensos con un gran desgaste de energía, pero son muy rendidores La interrupción mecánica requiere entradas de energía en forma de fuerzas de corte, pulsos eléctricos, ondas o calor, esto permite lograr un buen rendimiento y recuperación de componentes lipídicos de las algas, de todas formas el consumo de energía siempre resulta como un problema de costo. En la tabla 11, se presenta una lista de tratamientos en general incluido el mecánico. En este tipo de tratamiento el fresado de perlas, consiste en la aplicación de fuerzas de cizallamiento creando una compresión súbita que tensionan las células a gran velocidad, el rompimiento celular libera los componentes lipídicos que son extraídos por solventes diversos, se han informado de aplicaciones de una presión de 1750 bar, generando un 98% de ruptura celular.

Tabla 11. Pre-tratamientos aplicados en la disrupción celular de las microalgas. Fuente: Lee et al. 2017

Cell-disruption method	Species	Scale (conc., phase) *	Cell-disruption condition	Input energy (kJ/kg) <sup>b</sup>	Production efficiency (mg/g cell) <sup>c</sup>	Extraction method
<b>Shear force</b>						
Bead milling	<i>Nannochloropsis oculata</i>	1 L (wet)	bead milling under high pressure (1,750 bar)	N/A	(L) 2.8	chloroform, methanol
High-pressure homogenization	<i>Chlorella saccharophila</i>	2 g (dcw)	homogenization at 200 to 1,000 bar	N/A	(L) 400	T-butanol ammonium sulfate
	<i>Chlorella sp.</i>	3.6 g (dcw)	homogenization at 840 bar after acidic (pH 1.5) and thermal (123°C) pretreatment	N/A	(L) 4.5	Chloroform, methanol
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	1.25 g (dcw)	homogenization at 125 MPa (pH 6.0)	N/A	(L) 200	petroleum ether
Hydrodynamic cavitation	<i>Nannochloropsis salina</i>	20 g (dcw)	hydrocavitation (1.27 kW), autoclave (5 kW), ultrasonication (0.75 kW)	500 to 10,000	(L) 191.5	hexane
<b>Wave energy</b>						
Ultrasonication	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	14.1 g (dcw)	ultrasonication at amplitudes of 10 to 160 $\mu\text{m}_{p-p}$	2	(P) 1.3	ethanol
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	1 g (dcw)	ultrasonication in solvent (acetone)	N/A	(L) 19.8, (P) 10	hexane, isopropanol
	<i>Chlorella sp.</i>	2 g (dcw)	(20 kHz, 0.8 kW-hr/L cells)	12.6	(L) 200	methanol, chloroform, sulfuric acid
	<i>Nannochloropsis sp.</i>	0.3 g (dcw)	(24 kHz, 400 W (5 min, 18 to 60°C))	0.066-0.6	(L) 14.9	ethanol, dimethyl sulfoxide

**Pre-tratamientos físicos.** Nogueira et al (2018) experimento la técnica de ultrasonido y de microondas para la disrupción celular de la biomasa algal de *Chaetoceros calcitrans* aplicando 5 min de ultrasonido y 40 seg en microondas (40 s) logrando liberar un contenido lipídico muy cercano entre sí (24.6% para ultrasonido y 24.2% para microondas) base seca (figura), aunque estas no se diferenciaron de la disrupción química (24.2%) logrado no obstante el ahorro de tiempo fue sustancial y el ahorro de uso de reactivos químicos, así como altos valores de ácido grasos liberados, pero entre ambas técnicas físicas, fue el ultrasonido que logro mejor tiempo y menor uso de la energía que resulto más recomendable para la extracción de lípidos del especie tratada, la gráfica presenta los resultados de los acido grasos separados. En la tabla 12, se aprecia el consumo de energía en la disrupción celular.

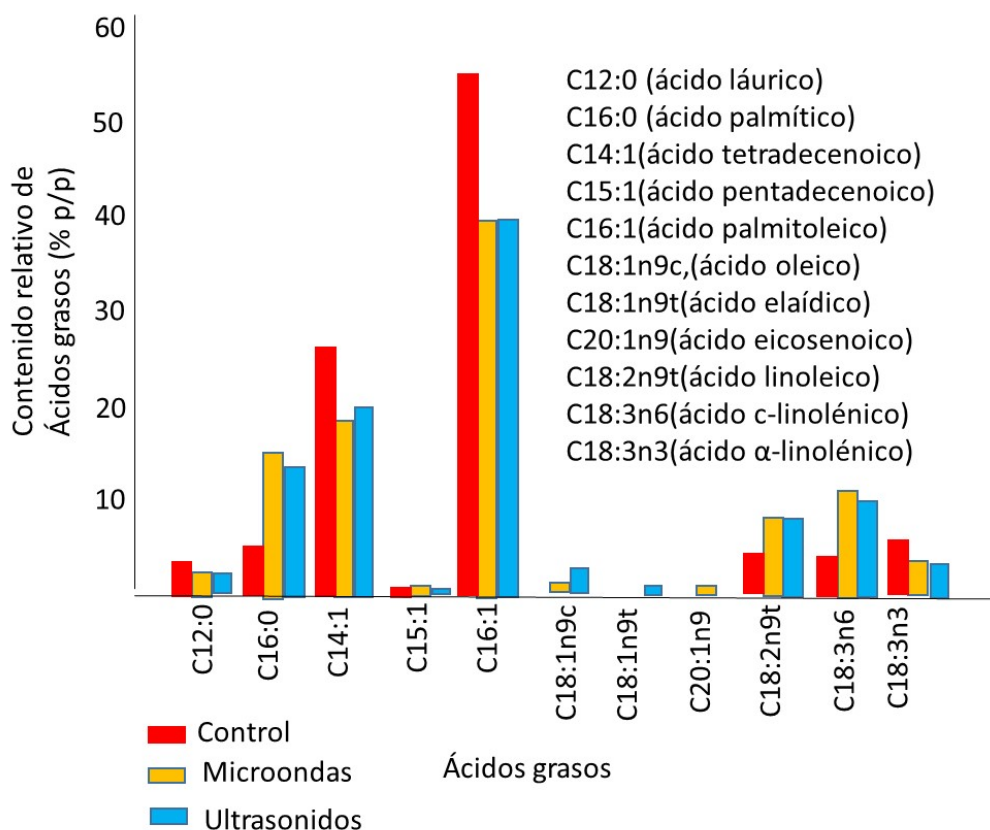


Figura 10. Presencia de ácidos grasos (%) en *Chaetoceros calcitrans* obtenido por distintos pre-tratamientos. Fuente: Nogueira et al 2018.

Tabla 12. Energía consumida por los métodos experimentales de disrupción celular aplicadas a la microalga *Chaetoceros calcitrans*. Fuente Zhang et al. 2018.

Método	Volumen en suspensión (mL)	Concentración de la células en suspensión (kgm-3)	Energía de Equipo (W)	Tiempo	Energía consumidas por las células suspendidas (Gjm-3)	Energía Específica(Gjkg <sup>-1</sup> )
Microonadas	20	0.15	1.3x10 <sup>-3</sup>	40s	2.8	18.7
Ultrasonidos	20	0.15	130	5 min	1.95	13

Zhang et al 2018, demostró que la técnica del ultrasonido responde bien a un proceso de licuefacción hidrotérmal (HTL) a las microalgas *Spirulina platensis* para producir bio-combustible líquido, de tal forma que la disrupción celular se mejoró con el aumento de la potencia ultrasónica.

Tabla 13. Resultados de la técnica de disrupción celular aplicada por ultrasonido en microalga *Spirulina platensis* Fuente. Zhang et al 2018

Tamaño de filtro (um)	Porcentaje de ruptura (peso%) Energía ultrasonido (W)					
	0	100 (2 min)	200 (2 min)	300 (2 min)	300 (5 min)	300 (10 min)
> 11	85	84.7	83.9	82.8	76	70
3-11	0.37	0.41	0.43	0.41	0.53	0.76
0.45-3	1.13	1.19	1.47	1.89	6.27	11.14
Total	86.5	86.3	85.8	85.1	82.8	81.9
Pérdida	13.5	13.7	14.2	14.9	17.2	18.1

El poder del uso del ultrasonido mediante el tamaño de los fragmentos de las células microalgales que oscilaron entre 3 y 11 µm, 0.45 y 3 µm y > 11 µm (Tabla 13) para evaluar la eficiencia del pre-tratamiento. Aunque en un inicio no se observaron diferencia significativas entre los pesos de cada fracción ni después de aplicar 100 W y 2 min de pretratamiento ultrasónico, sin embargo para 300 W, se produjo menos porcentaje de fracciones mayores a 11um (de 84.7 % a 82.8%) lo cual demostró que el tiempo de procesamiento es un factor clave que afecta la

extensión del pre-tratamiento, lo que significó que era necesario considerar el tiempo como un variable que asegure el mayor rompimiento de la pared celular.

Contrariamente Kapoore, et al. 2018 informo de la aplicación de microondas en la disrupción celular de la microalgas *C. vulgaris* y *Nannochloropsis sp*, pero no reparó en el tiempo, sino en las elevadas potencias aplicadas (> 1000 W) y en las temperaturas (> 65 °C); que produjeron una liberación de lípidos de 31% y 38% en base seca. De acuerdo a la tabla 14, la productividad y eficiencia y del pre tratamiento depende del tipo de microalga tratar, además de las condiciones mencionadas, como se observa en la tabla.

**Las técnicas termales.** La técnica de explosión de vapor es una práctica en la que la célula es sometida a vapor con temperaturas que pueden oscilar entre 180 y 240 °C que proporciona presiones entre 1.03 y 3.45 MPa por varios minutos y posteriormente se despresuriza hasta alcanzar condiciones ambientales. Hay una técnica dentro de esta, denominada explosión de vapor de catapulta instantánea (ICSE que genera presiones de 1 a 2 MPa que es muy efectiva porque aumenta la porosidad celular eficientemente, pruebas experimentales han demostrado que extracciones específicas con mezclas de solventes logran aumentar un 40% los lípidos sin esta técnica, pero su costo por el consumo energético pone en riesgo su viabilidad (Cheng et al. 2015).

Chiaramonti et al., (2017) usaron la técnica de licuefacción hidrotermal (HTL) para convertir biomasa de microalgas en aceite de manera directa, para ello usaron temperaturas entre 280-370 °C y también presiones de 10 a 25 MPa, ocurrió y hidrolisis muy agresivo que polimerizó las moléculas hasta que alcanzaron composiciones de aceite biocrudo.

Tabla 14. Extracción de lípidos de microalgas por microondas como pre-tratamiento para la obtención de biocombustibles. Fuente Kapoore, et al. 2018.

Microalgal Strain	Dry/Wet Method	Solvents Used	Ratio (Solvent to Sample)	Volumes Added	Microwave Settings	Product
<i>Cryptocodinium colnii</i>	Dry	Hexane	18:1	2 g of milled algal powder, 35 mL hexane	2.45 GHz, 45 °C, 30 min	17.8% (w/w)
<i>Botryococcus sp.</i>	Dry	Chloroform:methanol (1:1)	200:1	0.5 g of algae powder, 100 mL distilled water, 100 mL chloroform:methanol	2.45 GHz, 100 °C, 5 min	28.1% (w/w)
<i>Chlorella vulgaris</i>						10%
<i>Scenedesmus sp.</i>						10.4%
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Wet	Hexane	1:1	Equal volume of hexane to sample after heating	2.45 GHz, 1200 W, 95 °C, 30 min (5 min intervals)	31.38% w/w (77% recover)
<i>Chlorella sp.</i>	Dry	Chloroform:methanol (1:1)	400:1	0.5 g algae, 200 mL chloroform:methanol	2.45 GHz, 100 °C, 5 min	26 mg/g
<i>Nostoc sp.</i>						19 mg/g
<i>Tolythrix sp.</i>						21 mg/g
<i>Chlorella vulgaris</i>	Wet	Chloroform:methanol (1:1)	x	500 mL culture pelleted	2.45 GHz, 100 °C, 5 min	18.14% (w/w)
<i>Chlorella vulgaris</i>	x	Chloroform:methanol (1:1)	100:1	1 g algae, 100 mL chloroform:methanol	300 W, 50 °C, 30 min	31.9% (w/w)
<i>Chlorella vulgaris</i> SAG 211-12	Dry	Chloroform:methanol (1:1)	100:1	0.5 g algae, 50 mL distilled water, 50 mL chloroform:methanol	2.45 GHz, 1000 W, 2.5 min	9.59% (w/w)
<i>Chlorogleopsis fritschii</i>	Dry	Dichloromethane	25:1	1 g algae, 10 mL deionised water, 25 mL dichloromethane	1200 W, 140 °C, 15 min	1.4% (w/w)
<i>Nannochloropsis oculata</i>						11.3% (w/w)
<i>Pseudochoricystis ellipsoidea</i>						37.5% (w/w)
<i>Chlorella</i> PY-ZUI GM	Wet	Chloroform:methanol (1:1)	50:1	50 mL algal culture (1 g DW), 50 mL chloroform:methanol	80 °C, 10 min	18.7% (w/w)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	Wet	Chloroform:ethanol (1:2)	45:1	3.3 g wet algal paste, 50 mL chloroform, 100 mL ethanol, 40 mL deionised water	2.45 GHz, 1200 W, 120 °C, 50 min (5 min ramp, 15 min hold, 30 min cool-down)	53% (w/w)
		40% methyl soyate in ethanol	x	3.3 g wet algal paste, 40% methyl soyate in ethanol		56.6% (w/w)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Wet	Chloroform	x	45 mL culture pelleted, 5 mL distilled water, 3 mL chloroform	2.45 GHz, 1000 W, level 4, 90 °C, 5 min	32% (w/w)
<i>Chlorella vulgaris</i>						21% (w/w)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>						7% (w/w)

**Homogeneización a alta presión**, es otra técnica de las que se desarrollan entre las variantes ocurre a alta presión (HPH), una simple rotura celular se puede escalar ya que es muy adecuada para paredes celulares muy recalcitrantes o ricas en ligninas o en este proceso la biomasa es forzada a fluir por un orificio muy pequeño donde reinan los efectos mecánicos es decir mucha turbulencia sujeta a cavitación haciendo fuerza de corte sobre la biomasa (Lee et al. 2017). Aunque la **cavitación hidrodinámica** (HC) es una técnica que viene siendo bastante aplicada en varios procesos, comprende la creación de cavidades en medios líquidos formando burbujas diminutas (micro burbujas) que hacer colapsarlas unas contra otras produciendo fuerzas de choque lo que genera el impacto al variar las presiones en el líquido (100 - 5.000 atm) alcanzando temperaturas (500 a 15000 K) (Lee et al 2017).

**Pre-tratamiento químico y extracciones.** Mahdy et al (2016) informo que la especie *C. vulgaris* cultivadas en aguas residuales, logro producir con alto rendimiento de CH<sub>4</sub> al hidrolizar enzimáticamente con proteasas en lugar de carbohidrasas. La biomasa así hidrolizada paso por una digestión anaeróbica posterior de 20 días de tiempo de retención hidráulica y 1.5 kg de DQO total/m<sup>3</sup> día<sup>1</sup>), con un rendimiento de CH<sub>4</sub> de 137 mL/g DQO., los resultados se encuentran en la tabla. Esto coincide con Ganesan et al., 2020 quien señala que la biomasa algal es muy rica en lípidos y multicapas de carbohidratos de tal forma que las aplicaciones de distintos solventes abren en la posibilidad de mejorar aun el rendimiento de las extracciones (Santoro et al 2019, Karmakar et al. 2018).

Tabla 15. Resultados de obtenidos en la digestión anaeróbica de *C. vulgaris* pretratada enzimáticamente.

	Promedio	Des Estand	Promedio	Des Estand
Tasa de producción de CH <sub>4</sub> (ml/d)	86.6	20.2	200.8	4.5
Rendimiento de CH <sub>4</sub> (ml/g pulg DQO)	64.9	14.5	136.9	19.2
(%) contenido de CH <sub>4</sub>	64.9	0.8	70.1	1.2
(%) remoción de solidos volátiles	39.7	4.3	53.4	3.6
(%) remoción de DQO total	39.7	2.2	51.9	2.5
(%) remoción de DQO soluble	95.3	1.1	93.9	0.8
(%) mineralización N	39.6	5.5	68.5	14
NH <sub>3</sub> libre (mg/L)	6.3	0.8	28.2	4.6
pH (efluente)	7.1	0	7.5	0.1

**Tratamientos combinados y biológicos.** He et al (2016) practico el tratamiento con bacterias anaeróbicas facultativas *B. licheniformis* en una biomasa algal con la finalidad de acelerar la conversión a gas CH<sub>4</sub>. En principio las bacterias aceleraron la liberación de la demanda química de oxígeno soluble de tal forma que se optimizo la generación ácidos volátiles orgánicos esto aumento un 22.7% el rendimiento de CH<sub>4</sub> comparado con su control. No es de sorprenderse el abanico de posibilidades para liberar los componentes orgánicos desde la biomasa. La aplicación de catalizadores químicos en bajas proporciones de NaO, KO, NaOH, KOH, CH<sub>3</sub>ONa y CH<sub>3</sub>OK sobre los aceites extraídos generalmente han permitido una buena producción de biodiesel (Onumaegbu et al 2018, Mahdy et al. 2015, He et al. 2016).

## CONVERSION DE ALGAS EN NUEVOS PRODUCTOS

La obtención de productos de la biomasa algal encaja dentro de la biorrefinería que produce distintos productos de alto valor añadido incluyendo bioenergía. Esto depende de cada especie de algas, los productos logrados con ácidos grasos, aceites, pigmentos naturales, antioxidantes, componentes biológicos de alto valor y otros componentes que pueden usarse como aditivos en un proceso de producción. Entonces la aplicación de la biomasa algal para obtener distintos insumos y productos involucre distintas áreas de la biotecnología, así es posible conseguir “biocombustibles, cosméticos, alimentos y producción de complementos



alimenticios y tener un impacto en la acuicultura y la eliminación de la contaminación” (Balina, Romagnoli, y Blumberga, 2017), para explotar al máximo la biomasa y extraer todos los productos posibles se suele aplicar la metodología de la cascada.

De acuerdo a Wall, McDonagh, y Murphy, (2017), entre los productos puntuales aparece el metano que ocurre por gasificación como una tecnología aplicable en una escala mayor que la digestión anaerobia, inclusive ya se han combinado procesos de gasificación-metanización para disminuir costos. Esto permitió separar Hidrogeno gaseoso del gas de síntesis generado en el proceso de gasificación y optimización de CH<sub>4</sub>. Además, la digestión anaerobia brinda sub-productos el digestato sólido valido como fuente de material básico para su gasificación mezclado con otros componentes de residuos leñosos, de otro lado, también hay presencia de un residuo liquido es utilizable como bio-fertilizante (Wall, McDonagh y Murphy, 2017)

EL bioetanol es otro producto elaborado a raves de la fermentación polisacáridos extraídos de las algas , en este caso es crucial extraer la mayor cantidad de azúcares o carbohidratos como la glucosa, fructosa, maltosa y ramnosa empleados como sustratos, los que se transforman en bioetanol por acción fermentadora de los microorganismos, factores fisicoquímicos como la temperatura, pH y oxígeno así como la concentración del sustrato y el tipo de organismo que hará la fermentación son fundamentales para obtener los más altos rendimientos. Las microalgas son ricas en proteínas y resultan una importante fuente alimenticia y de bio-productos como antibióticos naturales, mucho se usó la microalga Chlorella con aplicaciones comerciales, pero en la actualidad es más grande el tipo de aplicaciones que se le da, para alimentos, piensos, los bio-combustibles y productos bio-farmacéuticos, producen pigmentos bioactivos, como la clorofila,  $\beta$ -caroteno y otros carotenoides, ficobiliproteína y astaxantina (Khan, Shin y Kim, 2018) así como lípidos en forma de glicerol u de azúcares esterificados.

## V. CONCLUSIONES

OG: Se ha determinado el estado de las técnicas de producción usadas para la producción de biocombustibles a partir de microalgas. El cultivo de microalgas viene siendo aplicada a nivel comercial en el mundo, sin embargo, aún no logra reemplazar en su totalidad a los combustibles fósiles, a pesar de ello la producción de biocombustibles como fuente de energía renovable resulta positivo para el planeta en respuesta a la crisis energética, cambio climático. Se han producido además de los biocombustibles co-productos extrayendo fracciones de algas como parte de la biorrefinería. Su explotación se debe al contenido de pigmentos-proteínas-lípidos-carbohidratos-vitaminas-antioxidantes que se comercializan como insumos o nuevos productos de la industria cosmética, nutricional y farmacéutica además de los combustibles fósiles y de nutrientes o mejoradores de la calidad del suelo. Han sido evidenciados los desafíos actuales para extraer las diversas fracciones productos con alto valor a partir de microalgas y su integración en la biorrefinería.

OE1: Se han Identificado los sistemas de cultivos de las microalgas, de lo cual los sistemas abiertos con sus distintas variedades se desarrollan mucho debido a su menor costo y generalmente se utilizan como monocultivos. Esta situación se debe a la rápida contaminación que se suele producir ante la combinación de distintas condiciones fisicoquímicas y microbiológicas que pueden predominar en el sistema y que pueden convertirá en extremas para cierto grupo lo cual conlleva a una baja producción debido a la inhibición o eliminación de las microalgas de interés. Reactor abierto de canalización (raceway), reactores abiertos de capa fina, destacan entre los distintos arreglos, sin embargo, están sujetos a las condiciones ambientales, aunque han surgido distintos arreglos que hoy mejoran su performance, son los más usados a escala comercial a nivel global. En cambio, los fotobiorreactores cerrados (PBR) aunque altamente eficientes, sea para monocultivos o policultivos, manejan un problema de costos que aún hay que superar para lograr su escalamiento comercial.

OB2: Se han analizado los parámetros fisicoquímicos que afectan el desarrollo de la biomasa algal, la producción de microalgas requiere de condiciones específicas para su crecimiento eso depende del tipo de microalgas, considerando un monocultivo o policultivo, si es un sistema abierto o cerrado, en realidad la gran mayoría necesitan crecer en medio de carbono como sustrato ya que genera un menor costo, por eso la selección de tipo de sistema de cultivo, las condiciones de luz, pH, CO<sub>2</sub>, aereación, temperatura y fertilizantes son los parámetros fundamentales que hay que regular en cualquiera que sea el sistema de cultivo. La aeración homogeniza los nutrientes y evita la sedimentación de las microalgas y la penetración de la luz debe ser suficiente para ingresar de manera muy homogénea a todos los espacio de reactor, a toda la profundidad del tanque o bioreactor sin embargo, una elevada irradiación provoca la inhibición o mortandad de las microalgas, por tanto su graduación debe ser suficiente para provocar el desarrollo vital, el CO<sub>2</sub> también resulta importante ya que pequeñas dosificaciones suelen alcanzar el 0.5% para impulsar el desarrollo de la fotosíntesis a gran escala resulta adecuada. La temperatura posee un rango mesofílico, pero dependerá de cada especie, normalmente se usan valores de 15°C, 20°C si son monocultivos en su mayoría, también podrían alcanzar hasta los 30°C dependiendo de su adaptación y tolerancia. También la dosificación de los nutrientes es importante porque lejos de promover sus actividades un exceso podría causar mortandad o toxicidad.

OB 3: Se han analizado los métodos de pre-tratamiento de algas que se emplean en la biorrefinería para la producción de biocombustible. Las técnicas más prometedoras respecto a la disrupción celular por su bajo costo energético, mantenimiento y tiempo resulta ser la técnica de microondas no es corrosiva, las pruebas de explosión de calor llegan a recuperar de manera eficiente los lípidos y también tiene bajo costo en mantenimiento. Las técnicas químicas, la aplicación de ultrasonido y las pruebas mecánicas, aunque pueden resultar eficientes en la recuperación de metabolitos, o lípidos, aun persiguen inconvenientes como tiempo, costo de manteniendo etc. De manera particular, las técnicas de ultrasonidos aunque rompen con facilidad la pared celular de las microalgas, al ser

costosas se dificulta su escalamiento, las pruebas mecánicas son muy costosas en términos operativos , la autoclave requiere mayor tiempo de tratamiento para desintegrar las células mientras que las técnicas químicas que manejan enzimas además de ser costosas también requieren de un mayor tiempo de contacto para la liberación de los carbohidratos y lípidos contenidos en las microalgas.

OE4: Los combustibles de tercera generación a partir del cultivo de microalgas pueden convertirse en una variedad de formas energéticas como calor, electricidad, biogás, lo cual conforma una fuente de energía renovable y viable, también se ha demostrado que poseen un buen rendimiento de aceite comparado con otras derivadas de distintas materias primas. El biodiésel es el producto bandero, pero además se producen bioalcoholes como el bioetanol, biometano, biohidrógeno. Sin embargo, existen otras aplicaciones ancestrales y nuevas, se usa como alimentos dietéticos para humanos, cosméticos y como biofertilizantes. De otro lado, para su cultivo además de los fertilizantes o nutrientes mas usados, también se viene aplicando en el tratamiento de aguas residuales en simultaneo dado que la carga orgánica rica en nutrientes resulta un sustrato propicio para su crecimiento y conversión energética en metano o hidrogeno. Las microalgas han representado la mejor opción en la producción de diversos productos combustibles, por ejemplo, como biodiésel, no requiere necesariamente ser mezclado con derivado de petróleo y puede ser fácilmente refinado en refinerías convencionales, lo cual generalmente se logra mediante tecnologías foto-autotróficas de lagunas abiertas y en foto-bioreactores cerrados, o en una producción heterotrófica o mixotróficas (policultivos). El bio-jet fuel también es otro producto que se obtiene de las algas y es muy aplicado como combustibles de aviones, otros productos son el diésel marino y gasolinas, bioetanol o bio-alcoholes en distintas mezclas con gasolina.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Las tecnologías revisadas han presentado buen rendimiento, sin embargo no todos son llevadas a nivel comercial indicando la limitaciones para su escalamiento, , pero para convertirlos en tecnologías viables y sostenibles, es necesario reducir de manera significativa los elevados costos de mantenimiento, y producción así como los impactos ambientales que se producen como consecuencia de los procesos productivos, de tal forma que se logre un balance energético y disminución de emisiones CO<sub>2</sub> , es necesario buscar procesos sinérgicos combinados para aumentar la sostenibilidad global de este tipo de producción.

## REFERENCIAS

- Abu-Ghosh, S., Fixler, D., Dubinsky, Z., & Iluz, D. (2016). Flashing light in microalgae biotechnology. *Bioresource Technology*, 203, 357–363. doi: 10.1016/j.biortech.2015.12.057
- Alemu, K., Assefa, B., Kifle, D. et al. Nitrogen and Phosphorous Removal from Municipal Wastewater Using High Rate Algae Ponds. *INAE Lett* 3, 21–32 (2018). <https://doi.org/10.1007/s41403-018-0036-1>
- Apel, A. C., Pfaffinger, C. E., Basedahl, N., Mittwollen, N., Göbel, J., Sauter, J., ... Weuster-Botz, D. (2017). Open thin-layer cascade reactors for saline microalgae production evaluated in a physically simulated Mediterranean summer climate. *Algal Research*, 25, 381–390. doi: 10.1016/j.algal.2017.06.004
- Araújo, A. M. de M., Lima, R. de O., Gondim, A. D., Diniz, J., Souza, L. D., & Araujo, A. S. de. (2017). Thermal and catalytic pyrolysis of sunflower oil using AlMCM-41. *Renewable Energy*, 101, 900–906. doi: 10.1016/j.renene.2016.09.058
- Arguelles, E.D., Laurena, A.C., Monsalud, R.G. et al. 2018. Fatty acid profile and fuel-derived physico-chemical properties of biodiesel obtained from an indigenous green microalga, *Desmodesmus* sp. (I-AU1), as potential source of renewable lipid and high quality biodiesel. *J Appl Phycol* 30, 411–419 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1264-6>
- Arias Valencia, María Mercedes; Giraldo Mora, Clara Victoria El rigor científico en la investigación cualitativa Investigación y Educación en Enfermería, vol. 29, núm. 3, octubre-diciembre, 2011, pp. 500-514 Universidad de Antioquia Medellín, Colombia. <https://www.redalyc.org/pdf/1052/105222406020.pdf>
- Balina, K., Romagnoli, F., & Blumberga, D. (2017). Seaweed biorefinery concept for sustainable use of marine resources. *Energy Procedia*, 128, 504–511. doi: 10.1016/j.egypro.2017.09.067
- Bani, A., Fernández, F. G. A., D'Imporzano, G., Parati, K., & Adani, F. (2021). Influence of photobioreactor set-up on the survival of microalgae inoculum. *Bioresource Technology*, 320, 124408. doi: 10.1016/j.biortech.2020.124408
- Banerjee, S., Banerjee, S., Ghosh, AK y Das, D. (2020). Maniobrar la vía genética y metabólica para mejorar la producción de biocombustible en algas: estado actual y perspectiva futura. *Revisiones de energías renovables y sostenibles*, 133, 110155. doi: 10.1016 / j. rser.2020.110155
- Baroukh, C., Muñoz-Tamayo, R., Bernard, O., & Steyer, J.-P. (2015). Mathematical modeling of unicellular microalgae and cyanobacteria metabolism for biofuel production. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 198–205. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.002

- Bhalamurugan Gatamaneni Loganathan, Orsat Valerie, Lefsrud Mark. 2018. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. *Environ. Eng. Res.* 2018; 23(3): 229-241 ISSN 1226-1025 <https://doi.org/10.4491/eer.2017.220>
- Carvalho Ana P., Luis A. Meireles, and F. Xavier Malcata. Sf. *Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances.* <https://core.ac.uk/download/pdf/70665088.pdf>
- Cegarra Sánchez, José. 2004. *Metodología de la investigación científica y tecnológica.* Ed. Diaz de Santos. ISBN Papel.: 9788479786243. ISBN Ebook: 9788499690278
- Cheng, J., Huang, R., Li, T., Zhou, J., & Cen, K. (2015). Physicochemical characterization of wet microalgal cells disrupted with instant catapult steam explosion for lipid extraction. *Bioresource Technology*, 191, 66–72. doi: 10.1016/j.biortech.2015.05.005
- Chia, S. R., Ong, H. C., Chew, K. W., Show, P. L., Phang, S.-M., Ling, T. C., ... Chang, J.-S. (2018). Sustainable approaches for algae utilisation in bioenergy production. *Renewable Energy*, 129, 838–852. doi: 10.1016/j.renene.2017.04.001
- Chiaromonti, D., Prussi, M., Buffi, M., Rizzo, A. M., & Pari, L. (2017). Review and experimental study on pyrolysis and hydrothermal liquefaction of microalgae for biofuel production. *Applied Energy*, 185, 963–972. doi: 10.1016/j.apenergy.2015.12.001
- Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Santos, T. D., Mitchell, B. G., & Morais, M. G. (2019). Open pond systems for microalgal culture. *Biofuels from Algae*, 199–223. doi:10.1016/b978-0-444-64192-2.00009-3
- De Farias Silva, C. E., & Bertucco, A. (2016). Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological outlook. *Process Biochemistry*, 51(11), 1833–1842. doi: 10.1016/j.procbio.2016.02.016
- Domínguez Granda Julio Benjamín. 2015. *Manual de metodología de la investigación científica.* Universidad católica Los Ángeles Chimbote. 3er edición. [https://evidencia.com/wp-content/uploads/2016/01/Manual\\_metodologia\\_investigacion\\_evidencia.pdf](https://evidencia.com/wp-content/uploads/2016/01/Manual_metodologia_investigacion_evidencia.pdf)
- Dupuis, D. P., Grim, R. G., Nelson, E., Tan, E. C. D., Ruddy, D. A., Hernandez, S., ... Carpenter, D. (2019). High-Octane Gasoline from Biomass: Experimental, Economic, and Environmental Assessment. *Applied Energy*, 241, 25–33. doi: 10.1016/j.apenergy.2019.02.064
- Ellison, CR, Overa, S. y Boldor, D. (2018). Parametrización del diseño compuesto central del pretratamiento de cocultivo de microalgas / cianobacterias para una extracción de lípidos mejorada mediante un transductor ultrasónico externo de sujeción. *Ultrasonidos Sonoquímica.* doi: 10.1016 / j. ultsonch.2018.05.006
- Espinoza Freire, E. E. y Toscano Ruíz, D. F. (2015) *Metodología de investigación educativa y técnica.* Machala, Ecuador: Universidad Técnica de Machala <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6704>

- FAO. 2016. preparación del estado de los recursos genéticos acuáticos para la alimentación y la agricultura en el mundo Octubre de 2016 <http://www.fao.org/3/a-mr407s.pdf>
- Feng Bing, Zhang Meng, Chen Jianfeng, Xu Jun, Xiao Bangding, Zhou Min, Zhang Min. 2021. Reduction in the phytoplankton index of biotic integrity in riverine ecosystems driven by industrial activities, dam construction and mining: A case study in the Ganjiang River, China. *Ecological Indicators*. Volume 120, January 2021, 106907. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106907>
- Fivga A., L.G. Speranza, C.M. Branco, M. Ouadi, A. Hornung, A. review on the current state of the art for the production of advanced liquid biofuels, *Aims Energy* 7 (1) (2019) 46–76. <http://www.aimspress.com/article/10.3934/energy.2019.1.46>
- Ganesan, R., Manigandan, S., Samuel, MS, Shanmuganathan, R., Brindhadevi, K., Lan Chi, NT... Pugazhendhi, A. (2020). Una revisión sobre la producción prospectiva de biocombustible a partir de microalgas. *Informes de biotecnología*, e00509. doi: 10.1016 / j. btre. 2020.e00509
- Günerken E., E. D'Hondt, M.H.M. Eppink, L. Garcia-Gonzalez, K. Elst, R.H. Wijffels, Cell disruption for microalgae biorefineries, *Biotechnol. Adv.* 33 (2015) 243–260, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.008>.
- He, S., Fan, X., Katukuri, N. R., Yuan, X., Wang, F., & Guo, R. B. (2016). Enhanced methane production from microalgal biomass by anaerobic bio-pretreatment. *Bioresource Technology*, 204, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.073>.
- Heining, M., & Buchholz, R. (2015). Photobioreactors with internal illumination - A survey and comparison. *Biotechnology Journal*, 10(8), 1131–1137. doi:10.1002/biot.201400572
- Hernández-Pérez Alexis y José I. Labbé. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* Vol. 49, Nº2: 157-173, agosto 2014 DOI 10.4067/S0718-19572014000200001. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>
- Hodgson, J. Y. S., Barber, K. O., & Hustead, C. J. (2016). An Inquiry-Based Investigation of Freshwater Diatom Ecology. *The American Biology Teacher*, 78(8), 664–668. doi:10.1525/abt.2016.78.8.664
- Kapooore, R., Butler, T., Pandhal, J., & Vaidyanathan, S. (2018). Microwave-Assisted Extraction for Microalgae: From Biofuels to Biorefinery. *Biology*, 7(1), 18. doi:10.3390/biology7010018
- Karmakar, R., Rajor, A., Kundu, K. et al. 2018. Production of biodiesel from unused algal biomass in Punjab, India. *Pet. Sci.* 15, 164–175 (2018). <https://doi.org/10.1007/s12182-017-0203-0>
- Khan, M. I., Lee, M. G., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2017). Pretreatment optimization of the biomass of *Microcystis aeruginosa* for efficient bioethanol production. *AMB Express*, 7(1). doi:10.1186/s13568-016-0320-y



- Khuong, L. S., Zulkifli, N. W. M., Masjuki, H. H., Mohamad, E. N., Arslan, A., Mosarof, M. H., & Azham, A. (2016). A review on the effect of bioethanol dilution on the properties and performance of automotive lubricants in gasoline engines. *RSC Advances*, 6(71), 66847–66869. doi:10.1039/c6ra10003a
- Lam, M. K., Loy, A. C. M., Yusup, S., & Lee, K. T. (2019). Biohydrogen Production from Algae. *Biohydrogen*, 219–245. doi:10.1016/b978-0-444-64203-5.00009-5
- Lee, S. Y., Cho, J. M., Chang, Y. K., & Oh, Y.-K. (2017). Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review. *Bioresource Technology*, 244, 1317–1328. doi:10.1016/j.biortech.2017.06.038
- Lee, X. J., Ong, H. C., Gan, Y. Y., Chen, W.-H., & Mahlia, T. M. I. (2020). State of art review on conventional and advanced pyrolysis of macroalgae and microalgae for biochar, bio-oil and bio-syngas production. *Energy Conversion and Management*, 210, 112707. doi:10.1016/j.enconman.2020.112707
- Li F., S.C. Srivatsa, S. Bhattacharya. 2019. A review on catalytic pyrolysis of microalgae to high-quality bio-oil with low oxygenous and nitrogenous compounds, *Renew. Sustain. Energy* 643Rev. 108 (2019) 481–497. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.026>
- Mahdy, A., Ballesteros, M., & González-Fernández, C. (2016). Enzymatic pretreatment of *Chlorella vulgaris* for biogas production: influence of urban wastewater as a sole nutrient source on macromolecular profile and biocatalyst efficiency. *Bioresource Technology*, 199, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.080>.
- Martín-Juárez, J., Markou, G., Muylaert, K., Lorenzo-Hernando, A., & Bolado, S. (2017). Breakthroughs in bioalcohol production from microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*, 183–207. doi:10.1016/b978-0-08-101023-5.00008-x
- Mathimani, T., Baldinelli, A., Rajendran, K., Prabakar, D., Matheswaran, M., Pieter van Leeuwen, R., & Pugazhendhi, A. (2018). Review on cultivation and thermochemical conversion of microalgae to fuels and chemicals: Process evaluation and knowledge gaps. *Journal of Cleaner Production*. doi:10.1016/j.jclepro.2018.10.096
- Medipally, SR, Yusoff, FM, Banerjee, S. y Shariff, M. (2015). Las microalgas como materia prima de energía renovable sostenible para la producción de biocombustibles. *BioMed Research International*, 2015, 1–13. doi:10.1155/2015/519513
- Mohr, A., & Raman, S. (2013). Lessons from first generation biofuels and implications for the sustainability appraisal of second-generation biofuels. *Energy Policy*, 63, 114–122. doi:10.1016/j.enpol.2013.08.033

- Mondal, M., Goswami, S., Ghosh, A., Oinam, G., Tiwari, O. N., Das, P., ... Halder, G. N. (2017). Production of biodiesel from microalgae through biological carbon capture: a review. *3 Biotech*, 7(2). doi:10.1007/s13205-017-0727-4
- Nogueira, D. A., da Silveira, J. M., Vidal, É. M., Ribeiro, N. T., & Veiga Burkert, C. A. (2018). Cell Disruption of *Chaetoceros calcitrans* by Microwave and Ultrasound in Lipid Extraction. *International Journal of Chemical Engineering*, 2018, 1–6. doi:10.1155/2018/9508723
- Obeid, F., Chu Van, T., Brown, R., & Rainey, T. (2019). Nitrogen and sulphur in algal biocrude: A review of the HTL process, upgrading, engine performance and emissions. *Energy Conversion and Management*, 181, 105–119. doi: 10.1016/j.enconman.2018.11.054
- Onumaegbu, C., Mooney, J., Alaswad, A., & Olabi, A. G. (2018). Pre-treatment methods for production of biofuel from microalgae biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 93, 16–26. doi: 10.1016/j.rser.2018.04.015
- Ooms MD, Dinh CT, Sargent EH, Sinton D. 2016. Photon management for augmented photosynthesis. *Nat Commun*. 2016; 7:12699. [https://doi.org/ 10.1038/ncomms12699](https://doi.org/10.1038/ncomms12699)
- Papacek, S., Jablonsky, J. & Petera, K. 2018. Advanced integration of fluid dynamics and photosynthetic reaction kinetics for microalgae culture systems. *BMC Syst Biol* 12, 93 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12918-018-0611-9>
- Park, K. C., Whitney, C. G. E., Kozera, C., O'Leary, S. J. B., & McGinn, P. J. (2015). Seasonal isolation of microalgae from municipal wastewater for remediation and biofuel applications. *Journal of Applied Microbiology*, 119(1), 76–87. doi:10.1111/jam.12818
- Park, S., & Li, Y. (2015). Integration of biological kinetics and computational fluid dynamics to model the growth of *Nannochloropsis salina* in an open channel raceway. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(5), 923–933. doi:10.1002/bit.25509
- Park J., J. Church, Y. Son, K.T. Kim, W.H. Lee. 2017. Recent advances in ultrasonic treatment: challenges and field applications for controlling harmful algal blooms (HABs), *Ultrason. Sonochem.* 38 (2017) 326–334
- Peng, Y., Zhang, Z., Wang, M., Shi, X., Zhou, Y., Zhou, Y., & Kong, Y. (2020). Inactivation of harmful *Anabaena flos-aquae* by ultrasound irradiation: Cell disruption mechanism and enhanced coagulation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105254. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105254
- Pourkarimi, S., Hallajisani, A., Alizadehdakhel, A., & Nouralishahi, A. (2019). Biofuel production through micro- and macroalgae pyrolysis – A review of pyrolysis methods and process parameters. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. doi: 10.1016/j.jaap.2019.04.015
- Pugazhendhi, A., Nagappan, S., Bhosale, R., Tsai, P.-C., Natarajan, S., Devendran, S., Kumar, G. (2020). Varias técnicas potenciales para reducir la huella hídrica de la producción de biomasa

- de microalgas para biocombustible: una revisión. *Science of The Total Environment*, 142218. doi: 10.1016 / j. scitotenv.2020.142218
- Qari, H., Rehan, M., & Nizami, A.-S. (2017). Key Issues in Microalgae Biofuels: A Short Review. *Energy Procedia*, 142, 898–903. doi: 10.1016/j.egypro.2017.12.144
- Rai, M. P., Gautom, T., & Sharma, N. (2015). Effect of Salinity, pH, Light Intensity on Growth and Lipid Production of Microalgae for Bioenergy Application. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 15(4), 260–267. doi:10.3844/ojbsci.2015.260.267
- Royaux, Damien. 2018. Installation and hydrodynamic characterization of a High Rate Algal Pond pilot for the aquaculture wastewater treatment in Vietnam. *Faculté des Sciences appliquées. Master en ingénieur civil en chimie et science des matériaux, à finalité spécialisée.* <https://matheo.uliege.be/bitstream/2268.2/4534/6/Master%20thesis%20-%20ROYAUX%20Damien.pdf>
- Safi C., C. Frances, A.V. Ursu, C. Laroche, C. Pouzet, C. Vaca-Garcia, P. Pontalier. 2015, Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase, *Algal Res.* 8 (2015) 61–68, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.002>
- Santillan-Jimenez E., P. Robert, M. Tonya, B. Craig, S. Daniel, L. Angelos, C. Mark. 2019. Co-processing of hydrothermal liquefaction algal bio-oil and petroleum feedstock to fuel-like hydrocarbons via fluid catalytic cracking, *Fuel Process. Technol.* 188 (2019) 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.02.018>
- Santoro, I., Nardi, M., Benincasa, C., Costanzo, P., Giordano, G., Procopio, A., & Sindona, G. (2019). Sustainable and Selective Extraction of Lipids and Bioactive Compounds from Microalgae. *Molecules*, 24(23), 4347. doi:10.3390/molecules24234347
- Santos-Ballardo, D. U., Rossi, S., Reyes-Moreno, C., & Valdez-Ortiz, A. (2016). Microalgae potential as a biogas source: status, restraints and future trends. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(2), 243–264. doi:10.1007/s11157-016-9392-z
- Sirajunnisa, A. R., & Surendhiran, D. (2016). Algae – A quintessential and positive resource of bioethanol production: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 248–267. doi: 10.1016/j.rser.2016.07.024
- Wall, D. M., McDonagh, S., & Murphy, J. D. (2017). Cascading biomethane energy systems for sustainable green gas production in a circular economy. *Bioresource Technology*, 243, 1207–1215. doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.115
- Wilk M, Magdziarz A (2017) hydrothermal carbonization, torrefaction and slow pyrolysis of *Miscanthus giganteus*. *Energy* 140:1292–1304. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.03.031>

- Xiaogang, H., Jalalah, M., Jingyuan, W., Zheng, Y., Li, X., & Salama, E.-S. (2020). Microalgal growth coupled with wastewater treatment in open and closed systems for advanced biofuel generation. *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-020-01061-w
- Yarnold, J., Ross, I. L., & Hankamer, B. (2016). Photoacclimation and productivity of *Chlamydomonas reinhardtii* grown in fluctuating light regimes, which simulate outdoor algal culture conditions. *Algal Research*, 13, 182–194. doi: 10.1016/j.algal.2015.11.001
- Yu, K. L., Lau, B. F., Show, P. L., Ong, H. C., Ling, T. C., Chen, W.-H., ... Chang, J.-S. (2017). Recent developments on algal biochar production and characterization. *Bioresource Technology*, 246, 2–11. doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.009
- Yu, K.L., Show, P.L., Ong, H.C. et al. 2018. Biochar production from microalgae cultivation through pyrolysis as a sustainable carbon sequestration and biorefinery approach. *Clean Techn Environ Policy* 20, 2047–2055 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10098-018-1521-7>
- Zhan, J., Rong, J., & Wang, Q. (2017). Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(12), 8505–8517. doi: 10.1016/j.ijhydene.2016.12.021
- Zhang, B., Feng, H., He, Z., Wang, S., & Chen, H. (2018). Bio-oil production from hydrothermal liquefaction of ultrasonic pre-treated *Spirulina platensis*. *Energy Conversion and Management*, 159, 204–212. doi: 10.1016/j.enconman.2017.12.100
- Zupko, R. (2019). Life cycle assessment of the production of gasoline and diesel from forest residues using integrated hydrolysis and hydroconversion. *The International Journal of Life Cycle Assessment*. doi:10.1007/s11367-019-01616-8

## ANEXOS

### Anexo 01. Matriz de Operacionalización de categorías (cualitativo)

CATEGORÍA DE ESTUDIO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	SUBCATEGORÍAS	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Sistema de cultivo	"Un sistema de cultivo es diseñado en base a diversos criterios: la biología de la especie a cultivar; forma del cultivo; requerimientos nutricionales, lumínicos y resistencia al estrés; relación de la superficie iluminada, volumen del reactor; orientación e inclinación; tipo de sistemas de mezcla y dispersión de gases; sistemas de limpieza y de regulación de la temperatura; transparencia y durabilidad del material; capacidad de escalado" (Hernández-Pérez y Labbé, 2014)	Los diseños de sistemas de cultivo obedecen al tipo y cantidad de biomasa microalgal esperado, La producción resulta crucial tratándose de sistemas abierto porque la luz debe penetrar a todos los lugares y propiciar la fotosíntesis, evitando la deposición de la biomasa, tanto en un fotobiorreactor (PBR) también un exceso de irradiación termina inhibiendo a la biomasa algal.	Sistemas Abiertos Sistemas Cerrado	Sistema Race way, inclinados, PBRs	nominal
Condiciones operativas	"Los métodos de conversión de biomasa también difieren ampliamente en sus procesos y condiciones operativas (temperatura, velocidad de calentamiento, presión, etc.). Esto, a su vez, afecta los tipos de material utilizados para la construcción de los reactores" (Carvalho, Meireles, Malcata, sf)	Las condiciones operativas son cruciales para el crecimiento óptimo de la biomasa algal. La dosificación de pH, temperatura, luz nutrientes determina la velocidad de crecimiento algal y de recuperación de los bioactivos, lípidos y azúcares	Luz Temperatura pH Salinidad, CO2	Rangos de valores óptimos para cada especie microalgal	ordinal
Biorrefinería	"la biorrefinería puede hacer una contribución significativa al	La tecnología en cascada aplicada en la biorrefinería	Pretratamiento mecánico	tipo de pre-tratamiento	nominal

	desarrollo sostenible al agregar valor a la materia prima de origen biológico original", (Balina, Romagnoli, y Blumberga (2017)	busca aprovechar cada metabolito extraído de la biomasa algal, pero la eficiencia de la extracción o recuperación depende del costo de mantenimiento y de operación para su escalabilidad.	Pretratamiento físico Pretratamiento térmico Pretratamiento previo químico Pretratamiento combinado Ultrasonidos Microondas Extracción de Soxhlet	específico para la obtención de lípidos, azúcares, bio-activos	
Conversión de algas en nuevos productos	"La conversión de algas en un amplio espectro de productos mediante conversión en cascada debe adaptarse a las condiciones locales. Este concepto permite maximizar la eficiencia de conversión de biomasa y reducir la cantidad de materia prima necesaria dentro de un enfoque de desperdicio casi nulo" (Balina, Romagnoli, y Blumberga (2017)	La producción de bio-combustibles disminuye las emisiones de gases GEI producidos por los combustibles fósiles, pero además los bio-productos de las micro algas representa una nueva de forma de bio-economía y de alimento sano aplicaciones saludables y sostenibles	Bio-alcoholes Biodiesel Singas biochar Bioaceites de petróleo, insumos cosméticos, de alimentos de animales	etanol butanol, diésel, beta alfa carotenos, etc.	Nominal



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

## **Declaratoria de Originalidad del Autor**

Yo, CHASQUIBOL CALONGOS SANTOS DANIEL


estudiante de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA y Escuela Profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan al Trabajo de Investigación / Tesis titulado: "REVISIÓN DE LAS TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES A PARTIR DE MICROALGAS"

es de mi autoría, por lo tanto, declaro que el Tesis:

1. No ha sido plagiado ni total, ni parcialmente.
2. He mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicado ni presentado anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Lima 16 febrero de 2021

<b>Apellidos y Nombres del Autor</b>	<b>Firma</b>
CHASQUIBOL CALONGOS SANTOS DANIEL <b>DNI:</b> 80602793 <b>ORCID:</b> <a href="https://orcid.org/0000-0001-5351-3211">https://orcid.org/0000-0001-5351-3211</a>	

Código documento Trilce: