

# ANÁLISIS DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS OBTENIDO EN UNA CEPA DE *DUNADIELLA TERTIOLECTA* PARA LA OBTENCIÓN DE BIOENERGÉTICOS 3G

*Data de submissão: 26/08/2024*

*Data de aceite: 02/10/2024*

### **Fidel Jouliano Gómez Cordova**

Universidad Tecnológica de Tijuana,  
Unidad Académica Ensenada, Ingeniería  
en Procesos Bioalimentarios  
Ensenada, Baja California, México  
<https://orcid.org/0000-0002-3605-5412>

### **Nildia Yamileth Mejias Brizuela**

Universidad Politécnica de Sinaloa,  
Programa Académico de Ing. en Energía  
Mazatlán, Sinaloa, México  
<https://orcid.org/0000-0003-2973-473X>

### **Irma Yomira Palomares Ruiz**

Universidad Tecnológica de Tijuana,  
Unidad Académica Ensenada, Ingeniería  
en Biotecnología  
Ensenada, Baja California, México

**RESUMEN:** Los bioenergéticos de segunda y tercera generación como el biodiésel y los llamados combustibles avanzados son de interés comercial a nivel mundial por ser sistemas alternos que pueden contribuir a mitigar los problemas ambientales que se enfrentan actualmente, calentamiento global y cambio climático. El biodiésel, en lo particular, es un combustible de biomasa libre de azufre, no tóxico y con una incidencia bastante baja de riesgo de cáncer, que puede perfectamente mezclarse con diesel de

petróleo en baja concentración y cantidad. Es muy común, el aceite de cocina residual para sintetizarlo, pero los microorganismos unicelulares como las microalgas y su excelente rendimiento de contenido lipídico en muchas especies han generado diversas investigación para establecer metodologías que conlleven después de trabajos en laboratorio a experiencias piloto y hacerlo escalable a nivel comercial. Esta investigación muestra como una cepa de la microalga *Dunadiella tertiolecta* puede producir biomasa a partir de la cual se genera aceite algal, cuyo perfil de ácidos grasos saturados e insaturados pueden contribuir a la obtención de biodiésel 3G. Se adaptaron metodologías para el crecimiento celular, recuperación de biomasa y extracción de aceite bajo el esquema de minimizar costos y generar la menor cantidad de residuos. Los resultados arrojan que el aceite algal de la cepa estudiada presenta entre otros, dos de los ácidos grasos esenciales para síntesis de biodiésel con aporte favorable sobre parámetros fundamentales para una alta estabilidad en un motor y el aprovechamiento de los residuos para la generación de otros bioenergéticos, **PALABRAS CLAVE:** *dunadiella tertiolecta*, sonicación, liofilización, medio de Guillard, ácidos grasos, biodiésel, productos de valor.

## INTRODUCCIÓN

Las actividades generadas por el ser humano para su evolución y confort a partir de la primera revolución industrial han forjado consecuencias englobadas en dos ejes preocupantes, el calentamiento global y el cambio climático, producto del impacto ambiental generado por efecto de emisiones y acumulación crónica de un gran número de sustancias químicas en la atmósfera, suelo y cuerpos de agua.

Diferentes publicaciones académicas, discursos gubernamentales o políticos, mencionan que lo descrito corresponde a la explotación y generación de productos que desde el siglo XIX se ha realizado de los recursos energéticos fósiles y los procesos de combustión incompleta que generan tanto las fuentes fijas (industrias) como las fuentes móviles (vehículos de motor).

De igual modo, la población también influye. Naciones Unidas a través del Informe “*World Population Prospects*” publicado en julio 2024, menciona que el crecimiento de la población mundial en las próximas décadas será de 10.300 millones de personas (actualmente 8.200 millones), que el punto máximo será a mediados de 2080 y a partir de allí declinará gradualmente. Esto hace que la demanda energética también se acreciente por ser directamente proporcional a este crecimiento, y provoca que la generación de energía global se considere un desafío si se quiere disminuir la generación y consumo de petrolíferos, plásticos, agroquímicos sintéticos, etc., y por las consecuencias que puedan repercutir en el crecimiento económico local y global.

Estos retos ambientales por lograr sistemas de uso sostenible de los recursos naturales y energéticos que reemplacen los sistemas actuales se han convertido en un tema fundamental en la comunidad científica para la generación de proyectos de laboratorio o escala piloto que demuestren la factibilidad -sobre todo económica- para su implementación. La bioenergía es una alternativa rentable, sostenible y con carácter circular, ya que permite transformar la biomasa para la producción de bioenergéticos como biocombustibles líquidos de primera generación (1G, obtenidos de cultivos agrícolas comestibles como el maíz, palma aceitera) segunda generación (obtenidos a partir de desechos agrícolas y forestales, residuos industriales y municipales), tercera generación (obtenidos a partir de microorganismos) y de cuarta generación (obtenidos de microorganismos genéticamente modificados).

El biodiésel, combustible líquido de biomasa, se considera una alternativa prometedora en la energía global por su alto contenido energético en comparativa con diesel de petróleo. Se refiere al éster metílico de ácido graso (FAME en inglés) sintetizado por transesterificación. Es considerado una alternativa sostenible para mitigar el impacto ambiental porque en su forma pura es altamente biodegradable, libre de compuestos aromáticos, no tóxico, con bajo contenido de azufre ( $2.0 \times 10^{-3} \%$ ) (PINZI *ET AL.*, 2009) muy similar al DUBA (diesel ultra bajo en azufre) y emisiones de bajo riesgo de cáncer en la

población respecto al diésel fósil (MANUALE, 2011). El biodiésel 1G ya no es comerciable por la competencia alimenticia generada, el 2G se obtiene por aceites no comestibles procedentes de residuos y el 3G por aceite unicelulares extraído de microalgas. Desde 2022, se impulsa desde España el término de biocombustibles avanzados, en los que se combinan 2G y 3G, porque han demostrado un ahorro significativo de emisiones de GEI y por los beneficios económicos que brinda a los operadores al momento de mezclarlos con petrolíferos como diesel y gasolina.

Bajo lo descrito, las microalgas representan una alternativa ingenieril para obtener biomasa con alto valor que conlleve a la producción de bioenergéticos 3G y una amplia gama de coproductos con valor agregado. Especies de microalgas del género *Chlorella* presentan un contenido porcentual en peso de lípidos entre 5 % a 57 %, las del género *Nannochloropsis*, poseen un contenido en peso de lípidos de 24 % a 60% y las del género de *Dunaliella*, un contenido de 16 % a 71% de lípidos, por lo que al igual que otras, se han convertido en las nuevas materias primas para investigaciones que conlleven a producción de biodiésel y productos de valor agregado bajo el concepto de biorrefinerías, buscando en lo posible que la factibilidad tecno-económica pueda ser escalable a lo comercial y el balance masa-energía sea favorable.

El objetivo del proyecto de investigación fue determinar el perfil de ácidos grasos presentes en el aceite algal de una cepa de *Dunaliella tertiolecta*, bajo un esquema de minimizar costos para la cosecha y extracción de la biomasa, así como generar la menor cantidad de residuos y finalmente, bajo el concepto de biorrefinería, realizar un análisis del perfil para la producción de bioenergéticos 3G y sus subproductos que se generen.

## METODOLOGÍA

La metodología establecida se basó en la obtención de biomasa de una cepa de la microalga *Dunaliella tertiolecta* bajo condiciones de laboratorio (SÁNCHEZ-BAYO 2019). En primer lugar, se llevó a cabo el crecimiento de la microalga para la obtención de la biomasa, luego se realizó la recuperación de la biomasa, empleado agentes químicos floculantes. Todos los ensayos se realizaron por triplicado Finalmente, se aplicó la metodología de enfoque escalonado para determinar el proceso experimental que mejor rendimiento en función del tiempo se obtuviera y a partir de allí la obtención y caracterización de ácidos grasos presentes en el combustible obtenido.

### Crecimiento de la microalga

Para llevar a cabo los ensayos en el laboratorio se empleó un inóculo de una cepa de la microalga *Dunaliella tertiolecta* proporcionada por el Laboratorio de Alimento Vivo del Acuario Mazatlán ubicado en Mazatlán, Sinaloa, México.

El medio de cultivo para el crecimiento algal, es el conocido como *medio de cultivo Guillard*, preparado sobre una disolución concentrada de cloruro de sodio (agua salobre) a la que se le añadieron macronutrientes comunes como nitrógeno, fósforo, silicato y micronutrientes como la cianocobalamina o vitamina B12, biotina o vitamina H y tiamina o vitamina B1, además de elementos trazas. La Tabla 1 muestra los componentes presentes en el medio de cultivo preparado (CANADIAN PHYCOLOGICAL CULTURE CENTRE AND UNIVERSITY OF TEXAS). Los nutrientes inorgánicos nitrogenados son fundamentales para el crecimiento y mantenimiento celular, los silicatos contribuyen a funciones de la estructura celular de la microalga, mientras que, los micronutrientes orgánicos como las vitaminas contribuyen ampliamente al crecimiento microalgal y a la biosíntesis de ácidos grasos (LÓPEZ-ELÍAS Y COLABORADORES, 2013).

En primer lugar, se prepararon las disoluciones de macronutrientes, las de los metales trazas y las de cianocobalamina y biotina, denominadas disolución stock en la Tabla. Seguido se preparó una disolución sub stock a la que se agregaron cantidades ajustadas de la disolución stock de cada uno de los metales trazas; la siguiente disolución sub stock que se preparó fue la compuesta por la mezcla de cantidades ajustadas de la disolución stock de cada una de las vitaminas. Finalmente, el medio de cultivo se preparó sobre una base de 950 mL de agua salobre, agregando 1.0 mL de la disolución stock de cada uno de los macronutrientes, 1.0 mL de la disolución sub stock de los metales trazas y 1.0 mL de la disolución sub stock de vitaminas, se ajustó el pH a 8.0 y se aforó a 1.0 L de disolución final.

Nombre de componente	Disolución stock (g/L)	Cantidad agregada para preparar 1.0 L de disolución sub stock
Agua salobre	34	-----
<b>Macronutrientes</b>		
NaNO <sub>3</sub>	75	-----
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	5.0	-----
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	30	-----
<b>Metales Trazas</b>		
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	-----	4.36 g
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	-----	3.15 g
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180	1.0 mL
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	22	1.0 mL
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	10	1.0 mL
CUSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	9.8	1.0 mL
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6.3	1.0 mL
<b>Vitaminas</b>		
Cianocobalamina	1.0	1.0 mL
Biotina	1.0	1.0 mL
Tiamina	-----	200 mg

Tabla 1: Componentes presentes en el medio de cultivo Guillard para crecimiento celular de la microalga *Dunaliella tertiolecta* sp.

Fuente: Elaboración propia.

El crecimiento celular de la microalga se hizo por espacio de 21 días en diferentes reactores, con una intensidad lumínica entre  $6 \times 10^3$  a  $7 \times 10^3$  lux suministrada por lámparas fluorescentes (30 W cada una) dispuestas durante 24 h frente a los fotorreactores, pH ajustado a 7.8 y suministro de  $\text{CO}_2$  atmosférico a través de una bomba de aireación que permitió también agitación continua y que se incorporó al alcanzar los 800 mL de cultivo.

La propagación del cultivo celular fue tipo Batch, es decir, se realizaron diluciones a través de transferencia volumétrica con el fin de alcanzar una alta concentración de biomasa (COUTTEAU, 2013). Los cultivos iniciaron en tubos de ensayo con 30 mL del medio de nutriente y al alcanzar una densidad celular promedio de  $1.5 \times 10^6$  cel/mL se escaló a un volumen de 120 mL en matraces Erlenmeyer y así sucesivamente hasta un volumen máximo de 19 L en contenedores estériles de plástico color azul. La Figura 1 muestra la propagación del cultivo en los distintos reactores descritos.



Figura 1: Propagación del cultivo tipo Batch de la microalga *Dunaliella tertiolecta* sp.

La densidad celular se determinó por conteo directo con hemocitómetro (cámara de Neubauer) y espectrofotometría en función de la absorbancia de la clorofila *a* como indicador de crecimiento. Dicho recuento se realizó por triplicado cada 24 h fijando con 50 µL de solución Lugol al 10 % (10 g de KI diluidos en 85 mL de agua destilada y 5 g de I<sub>2</sub>)

La tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) permitió cuantificar la eficiencia de propagación celular de la microalga, determinándose al aplicar la ecuación 1, donde  $X_i$  y  $X_f$  representan la concentración inicial y la concentración final de la biomasa respecto al tiempo. Al conocerla, se pudo determinar el tiempo de duplicación promedio de crecimiento celular, parámetro fundamental en una investigación microbiana (GODOY-HERNÁNDEZ, VÁZQUEZ-FLOTA, 2006).

$$\mu = \frac{\ln X_f - \ln X_i}{t}$$

## Biomasa

La biomasa dispersa en el volumen final (los 19 L) se dejó sedimentar para luego ser extraída mediante floculación, en cuyo caso se emplearon tres agentes químicos, el NaOH, el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> con el objetivo de promover la auto floculación de la biomasa en un tiempo considerable corto. En todos los casos, la concentración química fue de 1 M y el tiempo de reposo de 24 h (UMMALYMA, MATHEW, PANDEY, SUKUMARAN, 2016, LIU Y COLABORADORES, 2014, ANDÍA-CÁRDENAS, 2000). La eficiencia de floculación se determinó mediante la ecuación descrita por HARITH Y COLABORADORES, 2009, previamente determinando la densidad celular inicial y final, es decir, antes y después de agregar el agente floculante.

Se aplicó liofilización para alcanzar la mayor deshidratación de la biomasa centrifugada, empleando en la primera y segunda etapa temperaturas de -50 °C y 39 °C y presiones de vacío de 53 Kpa y 39 Kpa, respectivamente. La biomasa seca se dejó en condiciones ambientales por 1 h, se pesó y se resguardó en un congelador en bolsas estériles identificadas.

## Ácidos grasos

La extracción de las biomoléculas de ácidos grasos presentes en la biomasa proveniente de *Dunaliella tertiolecta* sp. se realizó empleando ultrasonido (sonicación) debido a que es un método físico eficiente porque el tiempo de extracción es corto, da muy buen rendimiento de extracción y produce la menor cantidad de residuos, en comparativa con métodos químicos como la extracción por solventes mediante soxhlet (SUARSINI, 2011; KING, 2014). Se estableció la metodología modificada de Bligh & Dyer en la que se utiliza en una primera etapa cloroformo-metanol y en una segunda etapa, la adición de cloroformo-metanol-agua, en un tiempo total de 20 min entre las dos etapas. La remoción de los solventes se realizó mediante evaporación al vacío a 60 rpm y 10 min. Las muestras se resguardaron en frascos ámbar refrigerados a 5 °C.

El porcentaje de extracción lipídica se determinó tomando en cuenta la cantidad de biomasa antes y después de la extracción de acuerdo con la ecuación matemática proporcionada por SHUPING Y COLABORADORES, 2010. Posterior a ello, es posible determinar también la producción volumétrica lipídica diaria ( $P_v$ ) ya que es directamente proporcional a la concentración de la biomasa y al contenido de lípidos extraídos, tomando en cuenta la expresión matemática dada en publicaciones de TALEBI Y COLABORADORES, 2013.

Los ésteres metílicos de ácidos grasos o FAME (sigla en inglés, Fatty Acids Methyl Ester) se determinaron en un cromatógrafo de gases por comparativa de sus tiempos de retención usando como referencia el *estándar de ácidos grasos 37 FAME compounds, Supelco™ Mix C<sub>4</sub>-C<sub>24</sub>; trophic markers*. La cuantificación se realizó empleando el software CHROMQUEST 4.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis cinético de la cepa de estudio, *Dunaliella tertiolecta* sp con crecimiento en el medio de cultivo Guillard, estableció un intervalo máximo 18 días para alcanzar una densidad celular de  $2.10 \pm 0.12 \times 10^6$  cel mL<sup>-1</sup> y una absorbancia máxima de 0.19 u.a. ( $\lambda = 680$ ) de acuerdo con la Figura 2, la cual muestra el promedio diario del conteo celular realizado en las réplicas de trabajo, y cuyo comportamiento representa la curva característica de las fases del crecimiento microbiano. La densidad celular que se obtuvo es más alta que la reportada por LÓPEZ-ELÍAS Y COLABORADORES en 2013, cuyo valor fue de  $1.28 \times 10^6$  cel mL<sup>-1</sup> en un tiempo de 9 días de crecimiento en laboratorio, pero es menor que la obtenida por CALDERÓN Y SERPA en 2003, que en condiciones de laboratorio reportaron una densidad celular de  $3.0 \times 10^6$  cel mL<sup>-1</sup> en un tiempo máximo de 11 días de crecimiento. Mientras que, con NETO Y COLABORADORES, 2012, se coincide en el tiempo de 18 días para alcanzar la máxima densidad celular de una cepa de *Dunaliella tertiolecta*.



Figura 2: Crecimiento microbiano de *Dunaliella tertiolecta* sp. en cultivo de Guillard y en forma discontinua.

En la fase exponencial del crecimiento se midió de acuerdo con la ecuación 1 la tasa específica de crecimiento, es decir, el aumento constante de la biomasa por unidad de concentración de la misma biomasa, obteniéndose un valor de  $0.21 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ , lo que conllevó a un tiempo de duplicación ( $t_d$ ) lento, de  $3.34 \pm 0.29 \text{ d}$ , más de 72 h, es decir, el tiempo para el grupo de células multiplicarse y duplicar su tamaño fue muy lento, lo que hace que la producción de biomasa sea influenciada. Se esperaba  $t_d$  estuviera alrededor de las 30 h. Lo ocurrido puede atribuirse a la concentración de nutrientes en un medio de cultivo líquido salobre como el preparado, ya que es un medio muy enriquecido y concentrado, que si bien es cierto tanto los macro como los micronutrientes contribuyen al resultado esperado (biosíntesis de ácidos grasos), también es cierto que el grupo celular requería de un proceso de adaptación por ser un medio salino elaborado y no natural, así como también, requerían adaptación a los parámetros físicos que complementaron el proceso, tales como intensidad lumínica, agitación, etc. (FÉLIX, 2017, CHEN, ET AL., 2011).

De los tres agentes químicos floculantes utilizados para la recuperación de la biomasa dispersa en el volumen final de los reactores, el de mayor eficiencia de auto floculación fue el NaOH 1M, con un  $98.8 \pm 0.3 \%$  en un tiempo de 24 h, lo que indica que es una metodología sencilla, asequible y eficaz, ya que actúa como un excelente desestabilizador de las cargas electrostáticas y fuerzas de atracción de Van der Waals presentes en la célula y a partir del cambio de acidez por aumento en el pH del medio de cultivo, logra que las células se aglomeren y formen grandes flóculos sedimentándose al término de 24 h. ROJO-CEBREROS y COLABORADORES reportaron una eficiencia de 95 % de recuperación de biomasa pero en una cepa de *Nannochloropsis sp* para fines acuícolas empleando NaOH 0.5 M en menos de 1 h, mientras que, UNMALYMA Y COLABORADORES (2016) para extracción de biomasa en *Chlorococcum sp* determino que NaOH era más eficaz que  $\text{Al}_2\text{SO}_4$  para la floculación.

La liofilización realizada permitió obtener una biomasa seca en forma de sólido tal como se muestra en la Figura 3.



Figura 3: Biomasa de *Dunaliella tertiolecta* sp. obtenida por procesos de liofilización

La disrupción de la pared celular para la obtención de las biomoléculas de ácidos grasos empleando sonicación y la metodología modificada de Bligh & Dyer, permitió cuantificar el contenido de lípidos base seca, siendo de  $33.5 \pm 1.1$  %. A partir de este dato, también se pudo determinar la cantidad de biomasa generada por volumen de cultivo, que fue de  $7.813 \text{ mgL}^{-1}\text{d}^{-1}$ . Los resultados son acordes al rango reportado en diferentes bibliografías para esta especie de microalga (de 16.7 % a 71 %) (TAKAGI, *ET AL.*, 2006; SYDNEY *ET AL.*, 2010 Y EL ARROUSSI, *ET AL.*, 2015) y para un gran número de microalgas marinas (MATA, *ET AL.*, 2010). En 2012, NOWOTARSKI Y COLABORADORES emplearon solo sonicación para la disrupción celular de *Dunaliella salina* en un tiempo de 16 min (similar a lo obtenido en este trabajo). ARAUJO Y COLABORADORES en 2013, determinaron de 6 métodos aplicados para la extracción de lípidos en *Chlorella vulgaris* que sonicación con Bligh & Dyer era el de mayor eficiencia (52,5 %).

El análisis cromatográfico de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) presentes en la biomasa tratada arrojó 46 % (porcentaje en peso por cada gramo de aceite colectado) de ácidos grasos saturados (SFAs por su sigla en inglés, con composición química de C12 a C18) y 54 % de ácidos grasos insaturados (compuestos por monoinsaturados o MUFAs con composición química de C17:1 y C18:1, y poliinsaturados o PUFAs con composición química de C18:2, C18:3).

En el caso de los SFA (como se aprecia en la Figura 4), se obtuvo  $1.6 \pm 0.2$  % de ácido láurico (ácido mono carboxílico saturado de cadena lineal con 12 átomos de carbono,  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$ ), ácido mirístico con un rendimiento de  $2.9 \pm 0.9$  % (ácido tetradecanoico,  $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$ ), el ácido palmítico con un  $21.2 \pm 0.3$  % (ácido hexadecanoico,  $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ ), ácido margárico (ácido heptadecanoico,  $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ) con un porcentaje de  $8.9 \pm 1.7$  % y finalmente, el ácido esteárico (ácido octadecanoico,  $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ ) con un  $11.2 \pm 0.1$  %.

Mientras que, para los MUFA, se obtuvo el ácido-cis-10-heptadecenoico (ácido carboxílico monoinsaturado con 17 átomos de carbono, C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) con un porcentaje de 2.4 %, seguido del ácido oleico (ácido cis-9-octadecenoico, C<sub>18</sub>:1<sup>9</sup>, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CHO<sub>2</sub>,) con un 6.6 ± 0.1 %. En el caso de los PUFA, se obtuvo ácido linoleico (C<sub>18</sub>:2<sup>9,12</sup>, ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CHO<sub>2</sub>) con un rendimiento de 8.0 ± 0.1 % y el contenido final de ácidos grasos presentes en la biomasa microalgal corresponde al ácido α-Linolénico (C<sub>18</sub>:3<sup>9,12,15</sup>, ácido cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienoico) con 37.2 ± 1.1%.

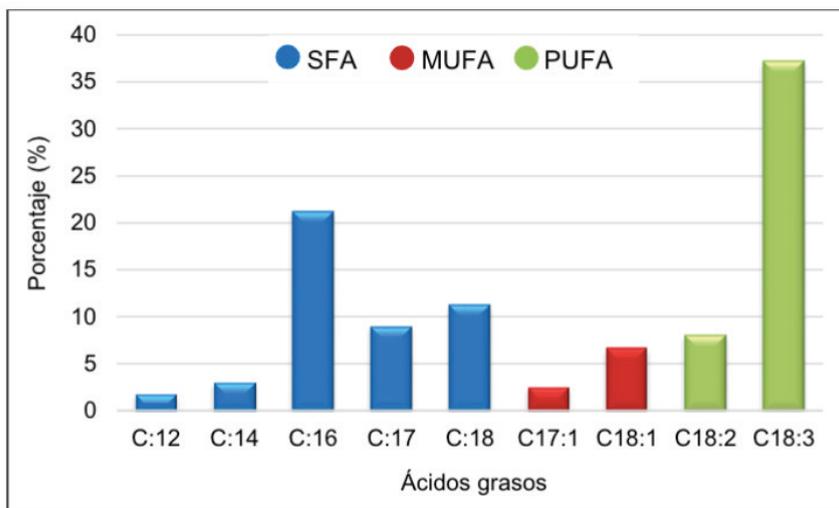


Figura 4: Perfil de ácidos grasos tipo SFA, MUFA y PUFA presentes en la biomasa algal de una cepa de *Dunaliella tertiolecta*.

El perfil lipídico que se obtuvo está acorde con el perfil reportado en otras investigaciones relacionadas con el mismo género al que pertenece la microalga en estudio u otro género, bien empleando el mismo medio de cultivo o la misma técnica de disrupción celular. La similitud radica en la obtención de un mayor porcentaje en peso de ácidos grasos del tipo MUFA (poliinsaturados) y en algunos del tipo SFA (insaturados) (HOEKMAN ET AL., 2012; TANG ET AL., 2011; CHEN, ET AL., 2011; ELARROUSSI, 2015; TAZI ET AL., 2013; TADEO-SÁNCHEZ, ET AL., 2014).

## PRODUCTOS BIOENERGÉTICOS 3G

El contenido de lípidos y aceite obtenido a partir de la biomasa de *Dunaliella tertiolecta* sp. es el primer bioproducto con valor agregado que se obtuvo bajo las condiciones de investigación. En la búsqueda de un equilibrio ambiental y económico y en una producción escalable piloto bajo el concepto de la biorrefinería, los residuos que se generaron en la extracción poseen nitrógeno y fósforo, por lo que pueden reutilizarse como sustrato en un cultivo de la misma cepa o en cultivos de otras cepas en investigación en el laboratorio de trabajo y estudiar la viabilidad para obtener biogás. De igual manera, durante el pretratamiento de la biomasa se pierde una cantidad aceptable para ser analizada y establecer su aprovechamiento para la generación de biofertilizantes.

Bajo el mismo contexto de aprovechamiento de la biomasa, los ácidos grasos descritos como perfil del aceite algal es otro excelente producto de valor que se ha obtenido, esto por la presencia de SFAs y MUFAs que son de mucho interés para la industria de la bioenergía por los procesos químicos de transesterificación que se aplican para obtener biodiésel. En este sentido, la caracterización ajustada a normatividad mexicana o internacional requiere prioritariamente la presencia de parámetros fisicoquímicos como estabilidad oxidativa, viscosidad, número de cetanos, propiedades de flujo a bajas temperaturas indistintamente se obtenga de microalga, cultivo o residuo oleaginoso.

Lo ideal para calidad en el biodiésel es ácidos grasos de cadena larga, preferentemente la presencia del ácido palmítico (C16) dado que es el ácido graso saturado que otorga un mayor número de cetanos y por consecuencia mayor estabilidad a la oxidación. En segundo lugar, la presencia del ácido oleico (C18:1) porque es el principal éster metílico en el biodiésel que otorga alta lubricidad e ignición, baja viscosidad y toxicidad (PINZI, ET AL., 2009; TADEO-SÁNCHEZ, ET AL., 2014, MOREIRA, 2012). Los ácidos grasos poliinsaturados como ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico pueden favorecer la operatividad del biodiésel a bajas temperaturas, porque el bajo punto de fusión brinda mayor fluidez en el motor automotriz, el problema radica en que son susceptibles a oxidación lo que afectaría el almacenamiento del biodiésel por periodos prolongados, aunque puede corregirse adicionando compuestos oxidantes o, resguardando el biodiésel en ambientes poco iluminados y con buenas corrientes de aire (MOREIRA, 2012, TEJEDA, ET AL. 2015).

ARIAS, ET AL., (2013) concluyen en su trabajo de investigación con varias especies de microalgas y producción de biodiésel, que para garantizar biodiésel de calidad lo conveniente sería una mezcla de ácidos grasos obtenida de diferentes géneros de microalgas, con el fin de poder desarrollar un proceso sostenible, viable y factible en lo económico y energético para que el combustible presente un buen desempeño en un motor diesel, sea competitivo frente al diesel fósil y otros biocombustibles líquidos. MOREIRA, 2012, indica en su investigación que un perfil de ácidos grasos de una microalga con alto contenido de uno u otro tipo de ácidos grasos comprometerá las propiedades de flujo del

biodiésel, la mezcla de varios de ellos puede contribuir a aumentar el contenido porcentual en peso de los ácidos grasos esenciales para un biodiésel de calidad.

En el mismo argumento de la biorrefinería, al término de la obtención de biodiésel, el glicerol que queda como subproducto de transesterificación puede emplearse para codigestión de biomasa de residuos agrícolas vegetales o animales, o industriales como los lodos y producir biogás, producto con un alto valor en zonas rurales para aprovechamiento del biol como abono orgánico una vez caracterizado, para cocción de alimentos, para calefacción de animales recién nacidos o la generación de electricidad.

## CONCLUSIONES

La metodología empleada por comparativa para el pretratamiento de la biomasa permitió una alta sedimentación, de igual manera la metodología empleada para la extracción del aceite algal. En ambos casos, el objetivo primordial fue obtener estos productos en el menor tiempo posible y generar la menor cantidad de residuos para propiciar un balance energético lo más favorable posible.

El perfil de ácidos grasos de las microalgas de forma universal no se ha podido estandarizar ya que depende directamente de cada especie y de los factores de crecimiento que se establezcan. En ese sentido, de *Dunaliella tertiolecta* es muy escasa la literatura que referencie producción de bioenergéticos, en especial biodiésel y su respectiva caracterización, por lo que en el laboratorio de bioenergía UPSIN se han logrado avances al respecto, al estudiar diferentes medios de cultivo para crecimiento celular, metodologías para la recuperación de la biomasa y extracción de aceite y transesterificación de los ácidos grasos.

Basado en lo anterior, este trabajo mostró que el perfil de ácidos grasos de la cepa estudiada cuenta con dos de los ácidos de cadenas largas de interés para la obtención de biodiésel, el ácido palmítico y el ácido oleico, que de acuerdo a lo discutido, favorecen parámetros fisicoquímicos para la comercialización del biodiésel. Sin embargo, y resaltando nuevamente los hallazgo de investigaciones en la producción 3G, lo ideal es la mezcla de ácidos grasos de diferentes cepas de microalgas.

El siguiente paso en la investigación es producir y caracterizar el biodiésel, ya que se cuenta con una normativa mexicana que indica los parámetros requeridos para un biodiésel de calidad y las metodologías que pueden emplearse.

La calidad de estabilidad a la oxidación del biodiésel es el parámetro de mayor cuidado. La biomasa residual (después de la extracción de ácidos grasos) tiene potencial para generar oxidantes. Se trabaja en la adaptación de una metodología para la extracción de componentes antioxidantes y su influencia sobre biodiésel producido.

Se pretende de igual forma la puesta en marcha de metodologías para la obtención de biocombustibles avanzados, mezclando aceite obtenido de residuos oleaginosos de la localidad y aceite algal y analizar la calidad del biodiésel.

Lo anterior puede explicarse porque para 2G, la problemática no es la disponibilidad de biomasa sino la poca cantidad de producto que se alcanza a partir de la conversión que se aplica a la biomasa, generando que el balance masa-energía aun sea no competitivo frente a los combustibles fósiles. En el caso de las tecnologías para 3G, estas aún están en fase de desarrollo por los altos costos de cosecha de microalgas, lo que hace que la barrera técnico-económica sea desfavorable para la implementación a escala comercial.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por otorgar beca para estudios de maestría a dos de los autores del trabajo. Al Programa para el Desarrollo Profesional Docente para el tipo superior (PRODEP) por otorgar recurso económico de 2018 a 2019 al Proyecto de Cuerpo Académico (UPSIN-CA-07) del Programa Académico de Ingeniería en Energía de la Universidad Politécnica de Sinaloa. A los laboratorios de investigación del Programa Académico de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Politécnica de Sinaloa.

## REFERENCIAS

ANDÍA-CÁRDENAS, Y. (2000). Tratamiento de agua. Coagulación y floculación. SEDAPAL S.A. Lima, Perú. Recuperado de: <http://www.sedapal.com.pe>.

ARIAS, M. T., MARTÍNEZ, A.J., CAÑIZARES, R. O. (2013). Producción de biodiesel a partir de microalgas: Parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta Biol. Colomb*, 18(1), 43-68. ISSN: 1900-1649.

CALDERÓN, A., SERPA, F. (2003). Efectos del paraquat sobre el crecimiento y la morfología de la microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Ecol. Apl.*, 2(1), 99-102. ISSN: 1726-2216.

COUTTEAU, P. (2013). *Algal production in Micro-Algae*. Food and Agriculture Organization.

EL ARROUSSI, H., BENHIMA, R., BENNIS, I., EL MERNISSI, N., WAHBY, I. (2015). Improvement of the potential of *Dunaliella tertiolecta* as a source of biodiesel by auxin treatment coupled to salt stress. *Renewable energy*. 77, 15-19. DOI: 10.1016/j.renene.2014.12.010.

GODOY-HERNÁNDEZ, G., VÁZQUEZ-FLOTA, F.A. (2006). Growth measurements. En Loyola-Vargas V.M., Vázquez-Flota F. (Eds) *Plant Cell Culture Protocols. Methods Mol Biol*. 318. Pp. 51-58. Humana Press. ISBN: 978-1-59259-959-2.

HARITH, Z.T., YUSOFF, F.M., MOHAMED, M. S., SHARIFF, M., DIN, M., ARIFF, A. B. (2009). Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. *African J. of Biotechnology*, 8 (21), 5971-5978. DOI: 10.5897/AJB09.1396.

HOEKMAN, K. S., BROCH A., ROBBINS, C., CENICEROS, E., NATARAJAN, M. (2011). Review de biodiesel composition, properties, and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16(1), 143-169. DOI: 10.1016/j.rser.2011.07.143.

KING, P.M. (2014). The use of ultrasound on the extraction of microalgal lipids. Tesis de Coventry University, Coventry: Disponible en: <https://curve.coventry.ac.uk>.

LIU, J., TAO, Y., WU, J., ZHU, Y., GAO, B., TANG, Y., LI, A., ZHANG, C., ZHANG, Y. (2014). Effective flocculation of target microalgae with self-flocculation microalgae induced by pH decrease. *Bioresource Technol*, 167, 367-375. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.036.

MOREIRA, E. (2012). Principales características de las materias primas utilizadas en la producción de biodiesel: la influencia del contenido y la concentración de los ácidos grasos. *Ingenium Rev. Fac. Ing.* 13(25), 53-61- DOI: 10.21500/01247492.1307.

NETO, C.R.L.A.L., SILVA, P.E.C., BEZERRA, R.P., MARQUES, D.A.V., NEVES, A.L.S., NETO, N.S.O., CARVALHO, J.C.M., PORTO, A.L.F. (2012). Effects of different cultures medium on *Dunaliella tertiolecta* Growth. 52 Congreso Brasileiro de Química. Recuperado de: <http://www.abq.org.br>.

NOWOTARSKI, K., KING, P.M., JOYCE E.M., MASON T.J. (2012). Ultrasonic disruption of algae cells. *AP Conference Proceedings*. 1433.

PINZI, S., GARCÍA, I.L., LÓPEZ-GIMENEZ, F. J., LUQUE, M.D., DORADO G., DORADO, M.P. (2009). The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: A review of social, economic and technical implications. *Energy Fuels*, 23(5), 2325-2341. DOI: 10.1021/ef801098a.

ROJO-CEBREROS, A.H., MORALES-PLASCENCIA, M. E., IBARRA-CASTRO, L., MARTÍNEZ-BROWN, J.M, MEDINA-JASSO, M.A. (2016). Floculación de *Nannochloropsis sp.* inducida por hidróxido de sodio: eficiencia de floculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 44(4), 662-670. DOI: 10.3856/vol44-issue4-fulltext-1.

SÁNCHEZ-BAYO, A. (2019). *Biorrefinería de microalgas para la producción de biocombustibles* (Tesis de Doctorado, Universidad Rey Juan Carlos). Repositorio institucional Universidad Rey Juan Carlos. Disponible en: <https://ciencia.urjc.es/handle/10115/16209>.

SHUPING, Z., YULONG, W., MINGDE, Y., KALEEM, I., CHUN, L., TONG, J. (2010). Production and characterization of bio-oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake. *Energy*, 35 (12), 5406-5411. DOI: 10.1016/j.energy.2010.07.013.

SUARSINI, E., SUNBANDI. (2011). Utilization ultrasonic to increase the efficiency of oil extraction for microalgae indigenous isolates from pond Gresik, east java. *Proceedings of the 2011 IEEE Conference on Clean Energy and Technology (CET)*.

TALEBI, A. F., MOHTASHAMI, S. K., TABATABAEI, M., TOHIDFAR, M., BAGHERI, A., ZEINALABEDINI, M., MIRZAEI, H. H., MIRZAJANZADEH, M., SHAFAROUDI S. M., BAKHTIARI, S. (2013). Fatty acids profiling: A selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production. *Algal Research*, 2(3), 258-267. DOI: 0.1016/j.algal.2013.04.003.

TANG, H., ABUNASSER, N., GARCIA, M. E. D., CHEN, M., SIMON NG, K. Y. Y SALLEY, S. O. (2011). Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. *Applied Energy*, 88(10), 3324-3330. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.09.013.

TEJADA, C., TEJEDA-BENÍTEZ, L., VILLANOVA A., MONROY, L. (2013). Obtención de biodiesel a partir de diferentes tipos de grasa residual de origen animal. *Rev. Luna Azul* (36).10-25. ISSN: 1909-2474.

TEJEDA-BENÍTEZ, L. HENAO-ARGUMEDO D., ALVEAR-ALAYÓN M., CASTILLO-SALDARRIAGA C. R. (2015). Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. *Rev. Fac. Ing.* 24(39), 43-54. ISSN 0121-1129.

UMMALYMA S.B., MATTHEW, A. K. PANDEY, A. SUKUMARAN, K. (2016). Harvesting of microalgal biomass: Efficient method flocculation through pH modulation. *Bioresource Technology.* 213, 216-221. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.114.

UNIVERSIDAD DE TEXAS. Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin, USA. Recuperado de: <https://utex.org/product>.

CANADIAN PHYCOLOGICAL CULTURE CENTRE FOR ALGAE, CYANOBACTERIA AND LEMMA. Recuperado de: <https://uwaterloo.ca/canadian-phycological-culture-centre/cultures>.