



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
ENERGÍA - FUENTES RENOVABLES

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL A  
PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:  
RAFAEL VÁSQUEZ GÓMEZ

TUTOR PRINCIPAL  
DRA. ADRIANA MARGARITA LONGORIA HERNÁNDEZ  
CICATA UNIDAD MORELOS DEL IPN

TEMIXCO, MORELOS, ENERO 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Villafán Vidales Heidi Isabel  
Secretario: Dr. Gamboa Sánchez Sergio Alberto  
1er. Vocal Dra. Longoria Hernández Adriana M.  
2do. Vocal Dr. Okoye Ugochukwu Patrick  
3er. Vocal Dr. González García Federico

La tesis se realizó en el Instituto de Energías Renovables de la Universidad Nacional Autónoma de México.

TUTOR DE TESIS:

Dra. Adriana Margarita Longoria Hernández  
CICATA Unidad Morelos del IPN

---



*A mi madre, por su invaluable apoyo en todas las etapas de mi vida, por permanecer atenta a cada uno de mis pasos para guiarme con su amor y su experiencia.*

*A mi padre, quien me ha dado el mejor ejemplo de perseverancia en la realización de cada proyecto, lo cual me ha motivado a superarme y alcanzar cada una de mis metas.*

*A mi abuela Esperanza, por regalarme momentos inolvidables en su compañía.*

*A Josselin García por su apoyo, cariño, paciencia y por compartir conmigo muchos momentos de alegría.*

*A mi hermana y cada uno de mis familiares que me han acompañado en cada etapa y que me han brindado su apoyo incondicional cada vez que necesito de ellos.*

# Agradecimientos

---

A la Dra. Adriana Longoria, tutora de mi tesis, por compartir sus conocimientos y por guiarme en esta investigación. Quisiera destacar la buena actitud que la caracteriza.

A mi jurado de examen, Dra. Heidi Villafán y a los Dres. Sergio Gamboa, Patrick Okoye y Federico González, por sus comentarios y observaciones que contribuyeron a mejorar el presente trabajo.

A la M. en I. Dulce María Ruiz González, por su conocimiento y apoyo durante la experimentación.

A Jaquelina Camacho Cáceres, por el apoyo brindado en su laboratorio.

A la Dra. Estefania Sierra Ibarra del instituto de biotecnología de la UNAM, por su apoyo en el uso del cromatógrafo de gases para la culminación de mi tesis.

Al Instituto de Energías Renovables de la UNAM, por darme cobijo en sus instalaciones durante mis estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico, con la beca número 1084326, brindada para cursar mis estudios de maestría.





## Resumen

---

El biodiésel producido durante el desarrollo de esta tesis fue obtenido a partir de biomasa microalgal crecida en diferentes condiciones. Estas provienen de un cultivo mixto de microalgas que fue cultivado en condiciones de laboratorio (BAE) y en condiciones ambientales (TESR). Parte de la biomasa microalgal obtenida en condiciones de laboratorio, fue sometida a un proceso de extracción de carotenoides con fluidos supercríticos en dos condiciones diferentes (BE2 y BE3). La extracción lipídica se realizó con solventes (método Bligh y Dyer), en el cual se usó un sistema cloroformo/metanol/MgCl<sub>2</sub> 0.003 N que garantiza una mayor extracción de lípidos (polares y no polares). La biomasa BAE presentó una mayor proporción de lípidos (12.9 % en peso seco) mientras que BE3 presentó el menor rendimiento de extracción (6.7 % en peso seco). Se llevó a cabo la transformación de los lípidos mediante una reacción de transesterificación usando HCl como catalizador. La composición química del biodiésel resultante se determinó mediante cromatografía de gases. Un porcentaje alto de ácidos grasos saturados (AGS) y bajo porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) determinan un biodiésel de buena calidad. Los resultados obtenidos muestran que el biodiésel producido a partir de BAE presenta un proporción adecuada de AGS (65.30 %) y AGP (17.36 %), por lo cual presentará una mayor calidad como biocombustible que los demás. Mientras que el biodiésel obtenido a partir de TESSR presentó 58.86 % y 30.91 % de AGS y AGP respectivamente, dando como resultado el biodiésel con menor calidad.

# Abstract

---

The biodiesel produced during the development of this thesis was obtained from microalgal biomass grown under different conditions. It comes from a mixed crop of microalgae that grew under laboratory (BAE) and ambient conditions (TESR). Part of the microalgal biomass obtained under laboratory conditions was subjected to a carotenoid extraction process with supercritical fluids under two different conditions (BE2 and BE3). Lipid extraction was performed with solvents (Bligh and Dyer method) in which a chloroform/methanol/MgCl<sub>2</sub> system was used, which guarantees greater lipid extraction (polar and non-polar). BAE biomass had a higher proportion of lipids (12.9% by dry weight) while BE3 had the lowest extraction yield (6.7% by dry weight). The transformation of lipids was carried out by a transesterification reaction using HCl as a catalyst. The chemical composition of the resulting biodiesel was determined by gas chromatography. A high percentage of saturated fatty acids (SFA) and low percentage of polyunsaturated fatty acids (PFA) determine a good quality biodiesel. The results obtained show that the biodiesel produced from BAE presents an adequate proportion of SFA (65.30%) and PFA (17.36%), so it will present a higher quality as a biofuel than the others. While the biodiesel obtained from TERS presented 58.86% and 30.91% of SFA and PFA respectively, resulting in the biodiesel with lower quality

# Índice general

---

<b>Índice de figuras</b>	<b>VIII</b>
<b>Índice de tablas</b>	<b>IX</b>
<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>1</b>
1.1. INTRODUCCIÓN . . . . .	1
1.2. BIOENERGÍA . . . . .	2
1.3. BIOMASA . . . . .	4
1.4. BIOCOMBUSTIBLES . . . . .	5
1.4.1. Biodiésel . . . . .	14
1.5. BIODIÉSEL EN EL MUNDO . . . . .	15
1.5.1. Biodiésel en México . . . . .	17
1.6. BIODIÉSEL A PARTIR DE MICROALGAS . . . . .	19
1.6.1. Microalgas . . . . .	22
1.6.2. Extracción de lípidos de microalgas . . . . .	24
1.6.3. Producción de biodiésel: Reacción de transesterificación . . . . .	29
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>31</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>32</b>
3.1. REACTIVOS . . . . .	32

3.2. EQUIPO Y MATERIALES . . . . .	33
3.3. METODOLOGÍA . . . . .	33
3.3.1. Extracción de lípidos . . . . .	34
3.3.2. Reacción de transesterificación . . . . .	35
3.3.3. Determinación del perfil lipídico por cromatografía de gases	36
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>38</b>
4.1. RESULTADOS . . . . .	38
<b>5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b>	<b>46</b>
5.1. CONCLUSIONES . . . . .	46
5.2. PERSPECTIVAS . . . . .	47
<b>A. ANEXOS</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>64</b>

## Índice de figuras

---

1.1. Producción de biodiésel en el mundo . . . . .	16
1.2. Reacción de transesterificación . . . . .	30
A.1. Cromatograma del estándar FAME (Supelco 37 Component FAME Mix) . . . . .	58
A.2. Cromatograma del biodiésel producido por BAE . . . . .	59
A.3. Cromatograma del biodiésel producido por BE2 . . . . .	60
A.4. Cromatograma del biodiésel producido por BE3 . . . . .	61
A.5. Cromatograma del biodiésel producido por TESR . . . . .	62
A.6. Cromatograma del biodiésel producido por ARSR . . . . .	63

## Índice de tablas

---

1.1. Ventajas y desventajas de las diferentes generaciones de biocombustibles. . . . .	8
1.2. Plantas comerciales de biodiésel en México, no operativas.	18
1.3. Plantas productoras de biodiésel en México. . . . .	18
1.4. FAMEs comúnmente encontrados en el biodiésel. . . . .	21
1.5. Ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de extracción de lípidos. . . . .	27
4.1. Extracción de lípidos de las diferentes biomásas utilizadas.	39
4.2. Perfil lipídico completo del biodiésel producido usando diferentes biomásas . . . . .	41
4.3. Comparación de los FAMEs predominantes en el biodiésel producido a partir de diferentes microalgas . . . . .	42
4.4. Porcentaje de FAMEs presentes en cada biodiésel producido a partir de diferentes biomásas . . . . .	44
A.1. Extracción de lípidos y producción de biodiésel . . . . .	50
A.2. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BAE) . . . . .	52

## ÍNDICE DE TABLAS

---

A.3. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BE2) . . . . .	53
A.4. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BE3) . . . . .	54
A.5. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (TESR) . . . . .	55
A.6. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (ARSR) . . . . .	56

# ANTECEDENTES

---

## 1.1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la humanidad depende en gran parte del hallazgo y la utilización de la energía. El primer logro que se suscitó fue el uso y dominio del fuego. Fue con la revolución industrial cuando se generalizó el uso del carbón mineral y se desarrolló la máquina de vapor, cuyos efectos en el destino del hombre y del medio ambiente han sido determinantes para conseguir grandes avances en la industria minera, la siderúrgica, la textil y en el transporte [1][2].

En 1859 se perforó el primer pozo de petróleo en Estados Unidos de América. A raíz de esto se comenzaron a producir una gran cantidad de inventos que utilizan esta fuente de energía, como lo son, el generador eléctrico, el motor de combustión interna, la luz eléctrica y el automóvil [1].

A inicios del siglo XX se empieza a aumentar vigorosamente el uso de energía. La producción de carbón empezó a decaer y se incrementó la producción del petróleo, que superó al carbón justo después de la Segunda Guerra Mundial, dando origen a la llamada era del petróleo y siguió creciendo hasta la actualidad [1]. El uso del petróleo y el carbón no solo significa el consumo de recursos no



## 1. ANTECEDENTES

---

sustentables y precios en alza, sino que también aumentan las emisiones de gases responsables del calentamiento global y lluvias ácidas. Los gases de efecto invernadero (GEI) más conocidos son los conformados por dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), clorofluorocarbonos (CFC) y ozono ( $\text{O}_3$ ), siendo el  $\text{CO}_2$  el más importante ya que su fuente principal de emisión proviene de la quema de combustibles fósiles como lo son el petróleo, gas natural y carbón [3]. A consecuencia de esto la calidad del aire se vio afectada.

El principal contaminante del aire en México es el proveniente de la combustión en los motores de los automóviles, el cual aporta el 89.6% de  $\text{CO}_2$  en la República Mexicana [4]. Una solución alternativa para disminuir la emisión de contaminantes que afectan el medio ambiente y la salud del ser humano, es la producción de combustibles a partir de aceites o grasas de origen animal o vegetal, denominados, biocombustibles; estos son considerados combustibles limpios, con los cuales es posible reducir las emisiones de  $\text{CO}_2$  y mejorar la calidad del aire.

### 1.2. BIOENERGÍA

El interés en la energía renovable está aumentando a nivel mundial en respuesta a la creciente demanda de energía y protección del medio ambiente. La bioenergía es una energía renovable producida a partir de fuentes naturales (cultivos energéticos, macroalgas, microalgas, algas, plantas acuáticas y residuos) capaz de sustituir a la energía fósil. La bioenergía se define como la energía derivada u obtenida a partir de biomasa, la cual incluye organismos vivos y materia orgánica originada en un proceso biológico [5][6].

La energía producida a partir de biomasa, es una solución prometedora para los desafíos ambientales y un motor de desarrollo económico desde el nivel local hasta el global [7]. Las características más importantes de la bioenergía son [8]:

- **Almacenable:** La bioenergía está almacenada en la materia orgánica y puede ser usada para la generación de calor o electricidad.
- **Permite satisfacer la mayor parte de los usos finales:** Es la energía renovable que puede sustituir a los combustibles fósiles en todas las aplicaciones y finalidades, produciendo calor, fuerza motriz, electricidad y combustibles líquidos.
- **Ubicua:** La biomasa se puede encontrar o cultivar en casi todas las partes, está disponible en forma concentrada como subproducto de procesos agroindustriales, residuos de actividades humanas y como estiércol de animales.
- **Escalable:** Existen sistemas de aprovechamiento de biomasa y producción de bioenergía desde muy bajas ( $< 1$  kW) hasta grandes potencias ( $> 300,000$  kW), permitiendo una amplia versatilidad para el desarrollo de sistemas de suministro energético a escalas locales y mayores.
- **Comercialmente madura:** Muchas de las tecnologías para el uso energético de biomasa son rentables y están ampliamente desarrolladas a nivel comercial.

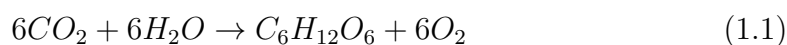
La bioenergía se puede generar a partir de diversas formas de biomasa, incluidos los residuos de madera, agrícolas y ganaderos; plantaciones forestales de rotación corta; los componentes orgánicos de los residuos sólidos urbanos y otros flujos de residuos orgánicos. A través de una variedad de procesos, estos materiales se pueden utilizar directamente para producir electricidad o calor. También

se pueden utilizar para crear combustibles gaseosos, líquidos o sólidos [9].

Los combustibles líquidos, sólidos y gaseosos que se derivan de la biomasa producidos a través de diferentes procesos se denominan biocombustibles. Los biocombustibles gaseosos y líquidos se utilizan principalmente en el transporte [10].

### 1.3. BIOMASA

La biomasa es básicamente energía solar almacenada por las plantas mediante el proceso de fotosíntesis. Durante la fotosíntesis se captura dióxido de carbono y agua que con ayuda de la luz solar se convierte en glucosa, ecuación 1.1 [11].



La glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) es un carbohidrato que se puede convertir en celulosa y almidón en la planta e incluso se puede convertir en proteínas y otros compuestos. El otro producto, el oxígeno ( $O_2$ ), se libera a la atmósfera, donde es utilizado por las plantas y los animales para la respiración. El término biomasa por lo tanto, cubre una amplia gama de materiales orgánicos producidos a partir de plantas y animales [10][11].

En este contexto se pueden mencionar cuatro tipos de materiales de biomasa: aceite vegetal, azúcar y almidón, materiales lignocelulósicos y biomasa húmeda, las cuales se pueden transformar en diferentes tipos de fuentes de energía: biocombustibles, productos químicos, electricidad y calor, mediante el uso de diferentes tecnologías [10].

La biomasa lignocelulósica se puede convertir en (1) etanol a través del proceso de hidrólisis-fermentación, (2) hidrocarburos y biocombustibles a través de pirólisis, (3) gas a través de gasificación y (4) pellets de biomasa a través del proceso de peletización. El gas y los pellets se pueden utilizar para generar electricidad o para fines de calefacción mientras que los productos líquidos se usan principalmente como combustibles [10].

La biomasa húmeda se convierte en biogás a través de la digestión anaeróbica. Se produce de forma natural en vertederos municipales y agrícolas, en plantas de tratamiento de aguas residuales y en plantas de residuos animales. La descomposición produce un gas rico en metano, monóxido de carbono y dióxido de carbono. Este gas combustible artificial tiene un bajo valor calorífico, pero puede mezclarse con otros combustibles para ser utilizado en turbinas de gas o centrales eléctricas [10][12].

Los aceites vegetales y las grasas animales se convierten en biodiésel a través del proceso de transesterificación. La biomasa que contiene azúcar y almidón se convierte en etanol a través de la hidrólisis y la fermentación. El etanol se utiliza como producto químico y biocombustible [10].

## 1.4. BIOCOMBUSTIBLES

Los biocombustibles se refieren a los combustibles líquidos y gaseosos producidos a partir de biomasa, derivada de plantas o desechos animales. Tienen características parecidas a las gasolinas y gasóleos, lo que permite su utilización en motores convencionales sin tener que efectuar modificaciones importantes. Se

## 1. ANTECEDENTES

---

emplean en calderas para la producción de calor y electricidad o en motores de combustión interna [12][13].

La producción de combustibles derivados de biomasa obtenida de plantas terrestres, hierbas/plantas acuáticas, algas, microbios, residuos sólidos y líquidos ricos en carbono son considerados renovables. El uso de materia orgánica en la producción de biocombustibles, limitaría la excesiva dependencia de los combustibles líquidos para el transporte basados en los recursos fósiles [14].

Los biocombustibles se pueden clasificar en dos categorías: biocombustibles primarios y secundarios. Los biocombustibles primarios se producen directamente a partir de la quema de material vegetal leñoso o celulósico y desechos animales secos [15]. Los secundarios se pueden clasificar en cuatro generaciones. Los biocombustibles de primera generación utilizan materias primas obtenidas de cultivos alimentarios (caña de azúcar, maíz, soya, girasol). Los de segunda generación se obtienen de materias sin valor nutricional ricas en aceite (jatropha, palma africana) y desechos (grasas animales, aceites residuales de cocina). La tercera generación son los biocombustibles generados a partir de cianobacterias, microalgas y otros microbios, que es el enfoque más prometedor para satisfacer las demandas energéticas mundiales [15][16]. La cuarta generación de biocombustibles emplea algas modificadas genéticamente que acumulan un alto contenido de lípidos y carbohidratos [17].

La producción de biocombustibles de primera generación a partir de biomasa producida en plantaciones ya es una realidad en países como Brasil y Estados Unidos, donde Brasil utiliza la producción de caña de azúcar para la obtención de bioetanol mientras que Estados Unidos produce el mismo biocombustible a

partir del maíz [18].

Desafortunadamente, las proyecciones actuales de los biocombustibles se basan en materias primas que también son productos alimenticios y recursos adecuados para la agricultura convencional. En este sentido, las microalgas han atraído mucha atención mundial en los últimos años por los valiosos productos naturales que generan, su capacidad para remediar los efluentes y su potencial como cultivos energéticos [16]. A continuación se presentan algunas de las ventajas y desventajas de las diferentes generaciones de biocombustibles (Ver Tabla 1.1) [17].

Tabla 1.1: Ventajas y desventajas de las diferentes generaciones de biocombustibles.

<b>Tema</b>	<b>Biocombustibles de primera generación</b>	<b>Biocombustibles de segunda generación</b>	<b>Biocombustibles de tercera generación</b>	<b>Biocombustibles de cuarta generación</b>
<b>Competencia con los cultivos alimentarios</b>	Se requiere de cultivos destinados a la alimentación	Se utilizan plantas sin valor nutricional	No hay conflicto con los alimentos	No hay conflicto con los alimentos
<b>Huella terrestre</b>	Requiere tierra cultivable	Requiere tierra cultivable o bosque	No requiere de tierras fértiles	No requiere de tierras fértiles
<b>Conversión a biocarburantes</b>	Fácil conversión, tecnologías ampliamente estudiadas	Necesita tecnologías sofisticadas de procesamiento	Fácil conversión	Fácil conversión
<b>Huella hídrica</b>	Se requiere agua potable para el cultivo	Se requiere agua potable para el cultivo	Se puede utilizar agua residual y agua salina	Se puede utilizar agua residual y agua salina

**Tabla 1.1 Continuación**

<b>Respeto al medio ambiente</b>	El uso de pesticidas es una de las principales preocupaciones	La deforestación es una preocupación	Ayuda en el tratamiento de agua residual. La eutrofización marina es una preocupación ecológica	Ayuda en el tratamiento de agua residual pero la liberación de organismos transgénicos es la principal preocupación
<b>Comercialización</b>	Producido comercialmente	Producido comercialmente	Producción insuficiente de biomasa para la comercialización	Producción insuficiente de biomasa para la comercialización
<b>Sostenibilidad</b>	No es conservador en el uso de recursos naturales	No preserva la ecología debido a la deforestación	No tiene una economía favorable	Preocupación por la fuga de organismos genéticamente modificados
<b>Requerimientos de nutrientes</b>	Los cultivos requieren de fertilizantes	No hay necesidad de fertilizantes	Se requieren grandes fuentes de carbono y nitrógeno	Se requieren grandes fuentes de carbono y nitrógeno



**Tabla 1.1 Continuación**

<b>Cosecha</b>	La cosecha se realiza a mano o a máquina	La cosecha se realiza a mano o a máquina	La cosecha es costosa y complicada	La cosecha es costosa y complicada
<b>Regulación</b>	La normativa es bastante clara	La normativa es bastante clara	No hay regulación disponible para el cultivo marino	La regulación para la liberación de algas modificadas genéticamente es muy estricta
<b>Aportes financieros</b>	El costo de capital es bastante bajo	El costo de capital es bastante bajo	El costo inicial para el cultivo a gran escala es muy alto	El costo inicial para el cultivo a gran escala es muy alto
<b>Condición ambiental</b>	Parámetros como la temperatura y la humedad deben estar dentro de un rango adecuado	Parámetros como la temperatura y la humedad deben estar dentro de un rango adecuado	Se puede cultivar en condiciones ambientales adversas, como, pH alto	Se puede cultivar en condiciones ambientales adversas, como, pH alto

Basado en Abdullah et al., 2019 [17]

Los biocombustibles más utilizados en la actualidad son el bioetanol y el biodiésel, ambos derivados de materias primas de naturaleza comestible. Son usados parcial o totalmente como sustitutos de combustibles derivados del petróleo como el diésel y la gasolina, respectivamente.

## **Bioetanol**

El bioetanol también se conoce como alcohol etílico, su estructura química comprende dos átomos de carbono unidos con seis átomos de hidrógeno y un átomo de oxígeno ( $C_2H_5OH$ ). Se utiliza principalmente en aplicaciones alimentarias, farmacéuticas y como biocombustible [19].

En general, el bioetanol (biocombustible) se clasifica en tres tipos según la materia prima que se use para su producción. La utilización de materiales a base de almidón o azúcar para la producción de bioetanol, se denomina, bioetanol de primera generación [20]. El bioetanol de segunda generación se produce a partir de cultivos no alimentarios como la biomasa lignocelulósica y los agrorresiduos [21]. Por último, el bioetanol de tercera generación se deriva de la biomasa de algas [20].

## **Biogás**

El biogás que también se conoce como biometano cuando se purifica, se produce principalmente a partir de la digestión anaeróbica o la fermentación biológica de sustancias orgánicas, por ejemplo, estiércol líquido y otras materias primas de biomasa digeribles. El biogás está compuesto por varios gases, por ejemplo, metano, dióxido de carbono, nitrógeno e hidrógeno. Al igual que el gas natural, el biogás se puede comprimir y utilizar en vehículos de motor y en muchos otros lugares como el gas natural fósil [22][23]. El método más común para obtener

biogás es la digestión anaeróbica, que se utiliza con frecuencia en el procesamiento de aguas residuales municipales para la degradación y estabilización de lodos, la descomposición de residuos de alimentos y otros compuestos en presas [24].

### **Biohidrógeno**

El gas hidrógeno ( $H_2$ ) es un atractivo portador de energía futura debido a su eficiencia potencialmente mayor de conversión a energía utilizable, generación baja a inexistente de contaminantes y alta densidad de energía. Por lo tanto, se considera una fuente prometedora de energía alternativa limpia y renovable en el ámbito del agotamiento de los combustibles fósiles y la contaminación ambiental [25].

### **Bioqueroseno**

El biocombustible para aviones o bioqueroseno, es una fuente de energía renovable que se puede producir a partir de biomasa. Se considera la estrategia con más potencial en la reducción de emisiones de  $CO_2$  en el sector de la aviación. En general, para la producción de bioqueroseno se transforma la biomasa a través de diferentes rutas de procesamiento (mecánicas, bioquímicas, termoquímicas y químicas); las biomásas que se pueden utilizar para producir bioqueroseno incluyen triglicéridos, biomasa lignocelulósica, azúcar y materia prima con almidón [26]. Dependiendo de la materia prima renovable, se identifican las siguientes vías de transformación: vía de hidropocesamiento y el proceso DSHC (Direct sugar to hydrocarbon, en español, proceso directo de azúcar a hidrocarburos) [27][28].

## Gas de síntesis

Syngas es el nombre corto de un producto de gasificación, principalmente de biomasa residual, conocido como “gas de síntesis”, que consiste en una mezcla de  $H_2$ ,  $CO$  y  $CO_2$  [29]. Además, puede contener otros gases como nitrógeno y metano. Se produce a través de un proceso termoquímico llamado gasificación, que convierte materiales carbonosos como biomasa, desechos municipales, carbón, petróleo y neumáticos en una cantidad controlada de oxidante como oxígeno, aire y  $CO_2$ , dentro de un gasificador para su obtención [30]. El uso principal del gas de síntesis es en la producción de otros combustibles, metanol y diésel. En algunos entornos industriales (molienda de acero, refinación de petróleo, etc.), se producen grandes cantidades de gas residual con estas características [29].

## Biobutanol

El biobutanol es un combustible renovable prometedor con grandes ventajas para su uso en motores de combustión interna, aunque todavía es menos conocido que el bioetanol y el biodiésel. El biobutanol se puede producir por fermentación de biomasa y por sus características no solo se puede mezclar fácilmente con gasolina, sino que también podría ser una opción futura para mezclar con diésel porque contiene más oxígeno que este, lo que podría conducir a la reducción de emisiones de gases contaminantes de estos motores [29]. Potencialmente se puede utilizar como disolvente en otras muchas industrias; química, pintura, agentes de limpieza, líquido de freno hidráulico, ingrediente de tinta, plásticos y cosméticos [31].

### 1.4.1. Biodiésel

El biodiésel se refiere al combustible procesado y extraído de fuentes biológicas. Este combustible es una combinación de ácidos grasos monoinsaturados (ésteres monoalquilo de ácidos grasos de cadena larga) producidos a través de una reacción química [32][33].

Para la síntesis de biodiésel se ha utilizado una amplia gama de materias primas, que van desde aceites vegetales, grasas animales, aceites de cocina usados, aceites de microalgas hasta aceites de otros microorganismos. El biodiésel producido a partir de aceites comestibles resulta en la controversia de “alimentos vs combustible”. El biodiésel proveniente de este tipo de materias primas se le conoce como biocombustible de primera generación [34][35]. El uso de residuos agrícolas para extraer aceites, etc., para la producción de biodiésel evita la competencia directa con el cultivo alimentario y reduce su precio. Éste se conoce como biodiésel de segunda generación. El biodiésel de tercera y cuarta generación utiliza aceite extraído de microalgas y microalgas modificadas genéticamente respectivamente. El biodiésel generalmente se produce mediante el uso de diferentes técnicas como; microemulsión, pirólisis y transesterificación [34].

El uso de biodiésel producido a partir de la microemulsión en los motores diésel se asocia a varios problemas prácticos, como la fuerte deposición de residuos de carbono, la combustión inferior, el pegado irregular de la aguja del inyector y el espesamiento del aceite lubricante. El proceso de pirólisis de los aceites vegetales y las grasas animales requiere equipos complejos de alto costo. Todos los retos mencionados anteriormente pueden resolverse adecuadamente mediante el proceso de transesterificación, en el que los aceites vegetales y las grasas animales se convierten en un combustible similar al diésel [36].

## 1.5. BIODIÉSEL EN EL MUNDO

Los combustibles fósiles se están agotando rápidamente, éstos contribuyen con el 88 % a la demanda total de energía del mundo, en la que alrededor del 25 % se utiliza en el sector del transporte, lo que resulta en casi el 20 % de emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera causando graves problemas ambientales como el calentamiento global [37]. Por lo que existe una tendencia internacional hacia la búsqueda de combustibles más limpios y nuevas fuentes de energía de baja emisión de carbono, como los biocombustibles. En este escenario, se espera que el biocombustible líquido biodiésel pueda sustituir al combustible diésel derivado del petróleo.

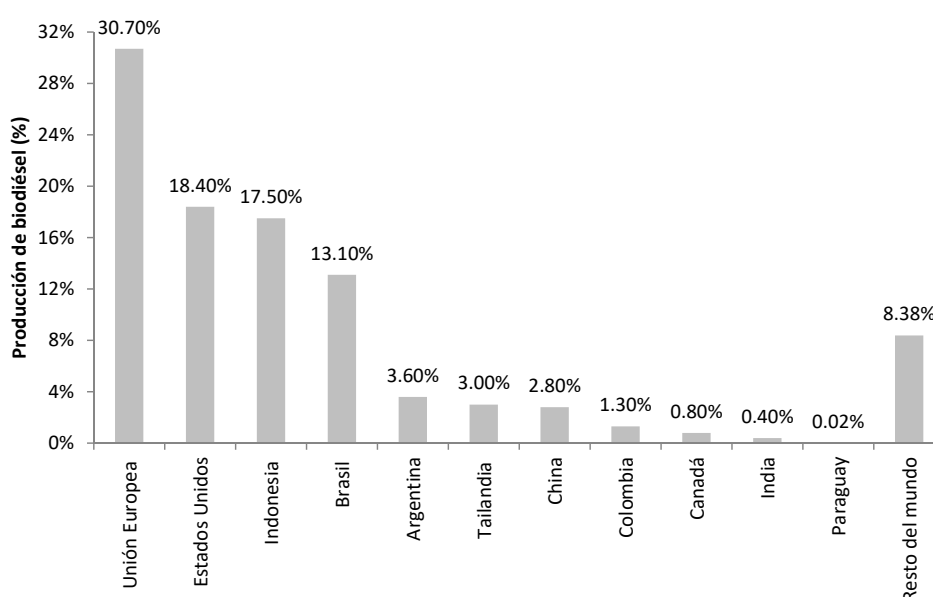
En la actualidad, más de 350 cultivos productores de aceite han sido considerados globalmente como una fuente potencial de triglicéridos para producir biodiésel. La materia prima utilizada para la síntesis de biodiésel debe seleccionarse con mucho cuidado, ya que una gran proporción del costo operativo depende de ella. Una materia prima adecuada debe satisfacer dos demandas que son, la producción a escala industrial con el mínimo costo asociado [38].

Actualmente, la síntesis de biodiésel es un proceso muy caro, de modo que su producción no genera un mercado rentable. En Estados Unidos, Brasil y Argentina, el aceite de soya es la principal materia prima para la síntesis de biodiésel, cuyo rendimiento en aceite es muy bajo (18 %). Argentina y Brasil utilizan la harina de soya sobrante como producto de exportación para equilibrar los costos, mientras que Estados Unidos emplea la ingeniería genética para aumentar el contenido de aceite de la soya. En Europa, la principal materia prima para la producción del biodiésel es la colza, cuyo rendimiento en aceite es más bajo que el de la soya, lo que encarece aún más el proceso que en los países menciona-

## 1. ANTECEDENTES

---

dos. A pesar de los elevados costos de producción, Europa sigue siendo el mayor productor mundial de biodiésel (Ver Figura 1.1 [39]). Este análisis de los países productores de biodiésel reitera el punto de que un alto costo asociado a la síntesis del biodiésel es el principal impedimento que se debe superar para ampliar su producción y uso [40].



**Figura 1.1: Producción de biodiésel en el mundo**

Basado en P. agrícolas OECD-FAO 2022 [39]

Las medidas de confinamiento y el declive económico resultante de la pandemia COVID-19 disminuyeron la demanda mundial de combustible en 2020. COVID-19 redujo el uso mundial de combustibles de origen fósil empleados en el transporte, sin embargo, el uso industrial de combustibles fósiles se vio menos afectado. Indonesia y Tailandia aumentaron el uso de biodiésel debido a las tasas de mezcla más altas, mientras que disminuyeron el uso del diésel. En el resto del mundo la producción de biocombustibles se vio afectada por el aumento de los precios del maíz y del aceite vegetal que combinado con la disminución de los pre-

cios de los combustibles fósiles, creó un escenario inestable. El aumento del uso de etanol en la industria, impulsado por su uso como desinfectante en respuesta a la pandemia de COVID-19, ayudó a mantener la producción de biocombustibles [41].

Se espera que los países adopten políticas para avanzar en la aplicación de nuevas tecnologías a fin de reducir las emisiones de GEI. Un factor determinante de la demanda futura de biocombustibles está relacionado con la respuesta del sector privado a estas medidas. La industria automotriz y otras industrias están invirtiendo actualmente en vehículos eléctricos que dependiendo de la adopción de esta tecnología, podría contribuir a una posible disminución en el uso de biocombustibles en la próxima década y más allá [42][41].

### 1.5.1. Biodiésel en México

La mayor producción de energía en México de 1473.77 TWh proviene de combustibles fósiles (75.49 %): 62.28 % corresponde al petróleo y 13.21 % al gas natural. Por otro lado, el consumo de energía renovable se sitúa en torno al 5.66 %, en el que menos del 0.5 % corresponde al biodiésel. El mayor consumo de energía en México lo realiza el sector transporte (45.4 %), seguido por el industrial (30.7 %), doméstico (13.8 %), y los sectores agropecuario, comercial y público (cada uno con más de 3.0 %) [43].

Debido a la necesidad de reducir las emisiones de GEI y la dependencia de los combustibles fósiles y promover el desarrollo rural, el gobierno mexicano comenzó la producción de biocombustibles en 2007 [44].

A diferencia de Indonesia, Brasil y Estados Unidos, los biocombustibles mexicanos no son competitivos en el mercado internacional. Además, se cerraron



## 1. ANTECEDENTES

---

varias plantas comerciales de biodiésel, perdiendo una capacidad instalada de 37 mil m<sup>3</sup>/año [43]. La tabla 1.2 muestra las plantas productoras de biodiésel cerradas en México [45].

**Tabla 1.2: Plantas comerciales de biodiésel en México, no operativas.**

Ubicación	Capacidad (m <sup>3</sup> /año)	Inaugurada	Cerrada
Cadereyta, Nuevo León	18000	2005	2011
Lázaro Cárdenas, Michoacán	9000	2007	2008
Puerto Chiapas, Chiapas	10000	2010	2011

Basado en Riegelhaupt et al., 2016 [45]

En general, las plantas de biodiésel en el país operan en la escala demostrativa, registrando una capacidad instalada de 4182 m<sup>3</sup>/año [43]. La tabla 1.3 muestra las plantas productoras de biodiésel operativas en México [45].

**Tabla 1.3: Plantas productoras de biodiésel en México.**

Ubicación	Capacidad (m <sup>3</sup> /año)	Inaugurada	Materia prima utilizada
Puebla	90	2010	Aceite usado
Puebla	950	2011	Grasa animal
Baja California	74	2014	Higuerilla
Durango	1440	2015	Grasa animal
Ciudad de México	628	2015	Grasa animal
Oaxaca	1000	2015	Higuerilla

Basado en Riegelhaupt et al., 2016 [45]

Recientemente, la capacidad de producción de este combustible se ha ampliado en la Ciudad de México, con la construcción en 2020 de una planta para la

producción de biodiésel cuya capacidad es de 1500 litros/día, generados a partir de aceite usado [43].

## 1.6. BIODIÉSEL A PARTIR DE MICROALGAS

La selección de materia prima para la síntesis de biodiésel es un criterio significativo ya que de esta dependerá la calidad del biocombustible. Las fuentes comestibles no son una opción viable ya que afectan la cadena alimentaria y la materia prima de aceite no comestible compite por el uso de la tierra y el agua. Para superar este contratiempo, las investigaciones se están moviendo lentamente hacia la tercera generación de biocombustibles, que se producen principalmente a partir de biomasa marina o microorganismos. El biodiésel producido a partir de microalgas reduce la emisión de monóxido de carbono e hidrocarburos de un motor diesel debido a la presencia de un mayor contenido de oxígeno en el combustible [46].

Este biocombustible está tomando impulso en el mundo debido al interés despertado por el cambio climático, el alza generalizada de los precios de los combustibles, la disminución de las reservas de petróleo, entre otros [47]. Como resultado, el biodiésel se ha convertido en un combustible viable para el futuro, particularmente como reemplazo de los combustibles fósiles en la industria del transporte [48].

Algunas de las ventajas y desventajas del uso del biodiésel son las siguientes [49]:

- El biodiésel tiene mayor lubricidad (es más “resbaladizo”) que el diésel de

## 1. ANTECEDENTES

---

petróleo. Esto es algo bueno porque se puede esperar que reduzca el desgaste del motor.

- El biodiésel prácticamente no contiene azufre. Esto también es algo bueno porque se puede esperar que resulte en una reducción de la contaminación de los motores que usan biodiésel.
- El biodiésel tiene un mayor contenido de oxígeno (generalmente 10 % – 12 %) que el diésel de petróleo. Esto resulta en menores emisiones de contaminantes. Sin embargo, en relación con el diésel de petróleo, causa una potencia máxima del motor ligeramente reducida ( $\sim 4\%$ ).
- El biodiésel tiende a espesarse a bajas temperaturas más fácilmente que el diésel de petróleo, debido a la alta concentración de ácidos grasos saturados. Esto es una preocupación, especialmente para el uso en invierno.
- Es más probable que el biodiésel se oxide (reaccione con el oxígeno) para formar una masa semisólida similar a un gel, esto sucede porque el biodiésel presenta una concentración alta de ácidos grasos insaturados. Esto es una preocupación, especialmente para el almacenamiento prolongado del biocombustible y cuando se utiliza en motores que solo funcionan ocasionalmente (como los generadores de energía de reserva). Un buen método para el almacenamiento es usar un recipiente seco, semisellado, fresco y liviano.
- El biodiésel es químicamente más activo como disolvente que el diésel de petróleo. Como resultado, puede ser más agresivo para algunos materiales que normalmente se consideran seguros para el combustible diésel.
- El biodiésel es mucho menos tóxico que el diésel de petróleo. Esto puede ser un beneficio real para la limpieza de derrames.

Algunas de las propiedades del combustible biodiésel no son ideales desde el punto de vista del rendimiento del motor. Afortunadamente, los aditivos se pueden utilizar para contrarrestar estos problemas y mejorar la calidad general del biocombustible [49].

La ASTM (American Society for Testing and Materials) define el biodiésel como ésteres monoalquílicos de ácidos grasos de cadena larga [50]. El biodiésel es una combinación de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) y es un combustible oxigenado, siendo su peso 11 % de oxígeno [51]. La presencia y concentración de los FAMEs en el biodiésel difiere considerablemente de una materia prima a otra. En la Tabla 1.4 [52], se enumeran los FAMEs más frecuentes presentes en el biodiésel. Estos FAMEs son compuestos de cadena recta de 8-24 carbonos y consisten principalmente en tres tipos: saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un enlace doble) y poliinsaturados (dos o más enlaces dobles). Dos cifras identifican la estructura de los ácidos grasos. En primer lugar, la cantidad total de átomos de carbono en los ácidos grasos y en segundo lugar, la cantidad de dobles enlaces. Por ejemplo, C14:1 significa que el ácido miristoleico, consta de catorce átomos de carbono y un doble enlace [53].

**Tabla 1.4: FAMEs comúnmente encontrados en el biodiésel.**

FAME	C:N	FAME	C:N
Caprílico	C8:0	Oleico	C18:1
Cáprico	C10:0	Linoleico	C18:2
Láurico	C12:0	Linolénico	C18:3
Mirístico	C14:0	Araquídico	C20:0
Palmítico	C16:0	Gadoleico	C20:1

**Tabla 1.4 Continuación**

Palmitoleico	C16:1	Erúxico	C22:1
Esteárico	C18:0	Nervónico	C24:0

Basado en Alviso et al., 2020 [52]

Los ácidos grasos predominantes en el biodiésel son; el ácido graso monoinsaturado, ácido oleico (C18:1); el ácido graso saturado, ácido palmítico (C16:0); y el ácido graso poliinsaturado, ácido linoleico (C18:2) [54].

### 1.6.1. Microalgas

Las microalgas en algún punto fueron descritas como talófitas, es decir, plantas que carecen de raíces, tallos y hojas. Su pigmento fotosintético primario es la clorofila [55]. Son organismos acuáticos fotosintéticos simples que se descubrieron en dos formas diferentes, unicelulares o multicelulares. Las microalgas se encuentran abundantemente en el medio natural debido a su alta tasa de supervivencia y crecimiento [56].

A través del proceso de fotosíntesis, las microalgas convierten el CO<sub>2</sub>, agua y luz solar en energía química para generar lípidos, carbohidratos y proteínas. Se consideran como las responsables de la producción del 50 % del oxígeno y de la fijación del 50 % del carbono en el planeta. Su eficiencia de fijación de CO<sub>2</sub> es de 10 a 50 veces mayor que la de cualquier otra planta. Un kg de biomasa microalgal fija alrededor de 1.8 kg de CO<sub>2</sub> [56][57].

Por estas razones las microalgas se han estudiado como materia prima para diferentes fines, como la producción de bioenergía, biofertilizantes y como fuente de una amplia gama de metabolitos celulares (lípidos, carbohidratos, vitaminas, colorantes, carotenoides y proteínas de alta calidad) que se pueden utilizar en las

industrias alimentaria y cosmética [55]. El omega-3, ácidos grasos, clorofila, entre otros se utilizan en productos cosméticos como compuestos anti-envejecimiento y anti-irritantes. Se encuentran en lociones de protección solar y productos para el cabello. Otra aplicación es la de biofertilizantes, las microalgas verdes-azuladas o cianobacterias son altamente utilizadas en este sector gracias a su capacidad de fijar nitrógeno, provocando un aumento en la fertilidad de los suelos. Además algunas técnicas de conversión, especialmente la pirólisis, producen un carbón vegetal, llamado Biochar, que tiene un alto potencial para su uso en la agricultura como fertilizante [58].

El cultivo de microalgas es respetuoso con el medio ambiente porque no requiere pesticidas y la biomasa residual resultante se utiliza como fertilizante [56]. Además, las microalgas pueden proliferar en áreas no cultivables mediante el uso de agua de mar y efluentes urbanos e industriales y su crecimiento se puede estimular con fitohormonas [59]. Las fitohormonas son sustancias químicas naturales o sintéticas que influyen en los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas. Se ha informado que mejoran el crecimiento y la producción de metabolitos en microalgas incluso en condiciones desfavorables [60].

El cultivo de microalgas es un factor importante en la producción de biocombustibles. La eficiencia de crecimiento de las microalgas depende del tipo de sistema de cultivo empleado, la disponibilidad de luz, los niveles de CO<sub>2</sub> y oxígeno, temperatura, disponibilidad de nutrientes como nitrógeno y fósforo, la salinidad y el pH [61].

Algunas especies de microalgas cultivadas en condiciones óptimas pueden acumular del 20 % hasta el 80 % de aceite en peso seco en comparación con el cultivo

## 1. ANTECEDENTES

---

de semillas oleaginosas como la soya (31 %), la colza (24 %) y la palma aceitera (18 %) [62].

### **Producción de microalgas en el mundo**

Actualmente existe un creciente interés mundial por los cultivos de microalgas. Este factor se manifiesta en varias áreas, entre ellas la bioenergía, donde las microalgas se utilizan en la producción de biocombustibles (biodiésel, combustible para aviones, biogás, entre otros) [63].

La ubicación geográfica, los sistemas de cultivo, la selección de especies de microalgas y las condiciones ambientales de crecimiento son factores cruciales que deben considerarse al cultivar microalgas [64]. La ubicación geográfica estratégica es crucial para reducir el costo de inversión, ya que los invernaderos y la iluminación artificial representan el 45.36 % del costo total de los equipos principales [65]. Varias partes del mundo han sido identificadas como excelentes lugares para el cultivo de microalgas, como el sur de Asia, África central, el sudeste de Australia y América del Norte y del Sur [64].

A nivel mundial, los continentes que muestran una mayor evolución en esta materia son América y Europa. Donde Brasil y Estados Unidos utilizan las microalgas para elaborar productos como cosméticos, bioplásticos y biocombustibles. Dinamarca, Portugal, España y Países Bajos utilizan biomasa microalgal para la producción de biocombustibles (biodiésel) y otros productos [63].

### **1.6.2. Extracción de lípidos de microalgas**

El contenido de aceite es considerable en muchas especies de microalgas. La biomasa producida por el cultivo de microalgas es alta en algunos componen-

tes únicos, como los lípidos. Utilizando procedimientos químicos cuidadosamente elegidos los lípidos son transformados en biodiésel. La biomasa de microalgas también contiene otros componentes importantes, como las proteínas. Como resultado, la biomasa sobrante después de la extracción de lípidos se puede fermentar para producir otros bioproductos como el bioetanol. También se puede utilizar como fertilizante o alimento [57].

Los ácidos grasos son los lípidos más simples y se definen químicamente como: una cadena de hidrocarburos lineal (no contienen anillos), no ramificada (tiene solo dos extremos), insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos, que puede ser saturada o insaturada, con un solo grupo carboxilo en un extremo [66].

Las microalgas contienen lípidos polares como fosfolípidos y glicolípidos, así como lípidos no polares como triglicéridos, pigmentos y vitaminas. Los triglicéridos (TAG), también conocidos como triacilgliceroles, son componentes lipídicos clave en la fabricación de biodiésel. Los lípidos polares se encuentran principalmente en las membranas celulares y los orgánulos, mientras que los no polares se utilizan para el almacenamiento de energía [57][67].

Las microalgas tienen paredes celulares gruesas y la liberación de sus compuestos bioactivos está limitada por la rigidez de la matriz de las microalgas [67]. La extracción de lípidos es una técnica de transferencia de masa en la que los lípidos se separan o liberan de las paredes celulares. Por lo tanto, la extracción de lípidos de la biomasa microalgal es un paso crítico en la producción de un biodiésel eficaz [57]. La extracción convencional de lípidos se basa en el uso de disolventes orgánicos que interactúan con las moléculas lipídicas y la estructura proteica celular, este método es conocido como extracción por solvente. Algunos



## 1. ANTECEDENTES

---

enfoques clásicos, como la extracción Soxhlet, la extracción Folch y la extracción Bligh-Dyer utilizan esta técnica de extracción [68].

Los métodos de extracción por solvente se basan en el uso de disolventes orgánicos, típicamente hexano, acetona, benceno, cloroformo, cloruro de metileno, ciclohexano, entre otros. Estos disolventes actúan disolviendo los componentes hidrofóbicos de la membrana celular y posteriormente extraen los lípidos de almacenamiento [69]. También se puede utilizar una mezcla de disolventes cuando se considera la extracción de todas las clases de lípidos [68]. La racionalidad detrás del uso de un sistema de disolventes bifásico es que el disolvente orgánico polar (como el metanol o el isopropanol) presente en la mezcla rompe las fuerzas electrostáticas entre el lípido y la proteína asociada en la membrana celular, mientras que el disolvente orgánico no polar (como el hexano o el cloroformo) rompe las fuerzas de van der Waals entre los lípidos no polares presentes en el citoplasma [70].

Cuando se utiliza una mezcla de disolventes orgánicos no polares/polares (como hexano/isopropanol o cloroformo/metanol), ambos disolventes se añaden simultáneamente a la biomasa de microalgas. Una vez que los restos celulares se eliminan utilizando un método de separación sólido-líquido (como la filtración), la separación bifásica de la mezcla de disolventes orgánicos inicialmente monofásica se induce mediante la adición del disolvente orgánico no polar y agua. Tras la separación bifásica completa, los lípidos no polares y polares se dividirán principalmente en la fase orgánica (una mezcla de disolvente orgánico no polar y disolvente orgánico polar), mientras que la fase acuosa (una mezcla de agua y disolvente orgánico polar) contendrá principalmente contaminantes no lipídicos (proteínas y carbohidratos). La fase orgánica se decanta y se evapora para pro-

ducir lípidos crudos secos, que luego se fraccionan y transesterifican [70].

En los últimos años, se han explorado muchos enfoques innovadores para la extracción de lípidos, como la extracción con fluidos supercríticos, la extracción asistida por ultrasonidos, la extracción asistida por microondas y otros [67].

Algunas de las ventajas y desventajas más importantes de las diferentes técnicas de extracción de lípidos se muestran en la tabla 1.5 [68].

**Tabla 1.5: Ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de extracción de lípidos.**

Método	Ventajas	Desventajas
Soxhlet	Bajo costo, operación simple, alta tasa de extracción.	Periodos prolongados de extracción, consumo alto de reactivos y energía.
Folch	Rápido, fácil de manejar un gran número de muestras.	Se utilizan reactivos tóxicos perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente.
Bligh-Dyer	La extracción y separación de lípidos se puede lograr al mismo tiempo.	Periodos prolongados de extracción, los reactivos son tóxicos.
Extracción con fluidos supercríticos /subcríticos	Alta eficiencia de extracción, protege los compuestos bioactivos, menor uso de reactivos tóxicos y mayor facilidad en la separación de los lípidos.	Tiene selectividad a lípidos de diferente polaridad y el equipo es más caro.

## 1. ANTECEDENTES

---

**Table 1.5 Continuación**

Campos eléctricos pulsantes	La operación es simple y libre de contaminación, procesamiento de un gran número de muestras.	Es necesario un adecuado control de la intensidad del campo eléctrico. Un campo eléctrico demasiado alto puede afectar negativamente a la extracción.
Extracción asistida por ultrasonido	La temperatura en el proceso y la energía requerida es baja. Se puede lograr una alta tasa de extracción en poco tiempo.	Es necesario controlar la intensidad y el tiempo de los ultrasonidos para evitar efectos negativos.
Extracción asistida por microondas	Reducción del tiempo de extracción y del consumo de energía, mejora de la eficacia de la extracción.	La polaridad del disolvente influye en la extracción y no es adecuada para el tratamiento de sustancias sensibles al calor.
Líquidos iónicos	Baja toxicidad y alta estabilidad, con propiedades físicas y químicas ajustables.	Posibilidad de contaminación durante la síntesis.
Extracción asistida por enzimas	Selectivo con el sustrato, el pretratamiento puede realizarse a temperatura y presión ambiente para reducir el consumo de energía.	El costo de la preparación de las enzimas es alto, por lo que es necesario optimizar las condiciones para obtener la mayor tasa de extracción.

Basado en Russell et al., 2022 [68]

### 1.6.3. Producción de biodiésel: Reacción de transesterificación

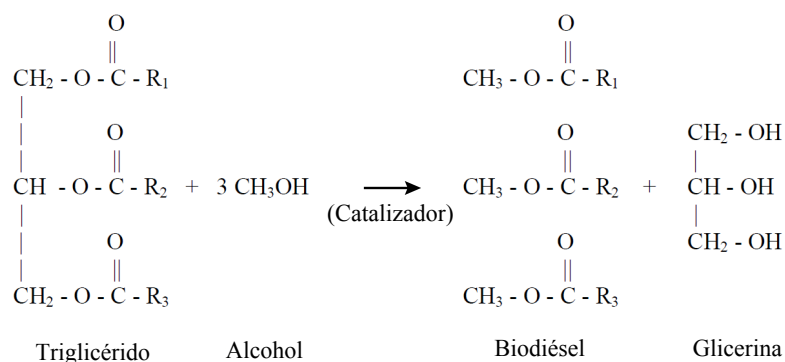
El método más usado para la obtención de biodiésel, es la reacción de transesterificación de aceites vegetales, aceites refinados y grasas animales, que contienen triglicéridos (TG) y ácidos grasos libres (AGL) con alcoholes de bajo peso molecular en presencia de un catalizador adecuado [71].

En el caso de la producción de biodiésel, tres moles de TG de las grasas animales o del aceite vegetal reaccionan con alcohol (metanol o etanol) para producir un mol de glicerol y tres moles de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME por sus siglas en inglés) o ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEE por sus siglas en inglés). Si se utiliza metanol como alcohol en la producción de biodiésel, los productos son ésteres metílicos (ME); del mismo modo, si se utiliza etanol como alcohol, los productos de la reacción serán ésteres etílicos (EE). Pero, en ambos casos, la glicerina es el coproducto de la transesterificación, la cual contiene muchas impurezas como sales, metales pesados y sustancias orgánicas. La glicerina a menudo se descarta como residuo [72][73]. La figura 1.2 ilustra la producción de biodiésel a partir de triglicéridos mediante transesterificación.

La reacción de transesterificación puede producirse sin la presencia de un catalizador. En la técnica no catalítica, los aceites de base biológica (TG) se convierten en biodiésel utilizando alcohol en condiciones supercríticas. La transesterificación no catalítica requiere alta temperatura y presión para proceder, por lo que no es económicamente factible utilizar esta técnica para la producción de biodiésel [74][75].

## 1. ANTECEDENTES

---



**Figura 1.2: Reacción de transesterificación**

La transesterificación catalítica se clasifica como heterogénea y homogénea. El catalizador puede ser una enzima, ácido o base. El catalizador base es preferido en el proceso de transesterificación ya que es rápido y se puede utilizar a bajas temperaturas y presión; por lo tanto, es una técnica que se utiliza ampliamente con fines comerciales. Sin embargo, utilizar un catalizador alcalino cuando el porcentaje de ácidos grasos libres es alto, se producirán reacciones de saponificación en lugar de la reacción de transesterificación [74]. Para eliminar este inconveniente se utiliza un catalizador ácido. El uso de ácido sulfúrico ha completado la reacción de transesterificación en un solo paso, con una alta concentración de ácidos grasos libres [75].

Recientemente, se propusieron nuevos métodos de transesterificación lipídica con potencial para la producción de biocombustibles a gran escala. Por ejemplo, la reacción Fenton asistida térmicamente vinculada a reacciones rápidas no catalíticas para la extracción y transesterificación de lípidos de microalgas ha presentado una gran promesa para la producción en masa [76].

## OBJETIVOS

---

### OBJETIVO GENERAL

Analizar la producción de biodiésel a partir de biomasa microalgal y llevar a cabo su extracción y caracterización.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la extracción de lípidos y la producción de biodiésel usando biomasa microalgal obtenida de diferentes medios de cultivo.
- Realizar la caracterización del biodiésel producido.
- Determinar si el biodiésel obtenido puede ser empleado como combustible.

# MATERIALES Y MÉTODOS

---

## 3.1. REACTIVOS

Se utilizó cloruro de sodio (NaCl) J.T.Baker®, cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>) J.T.Baker®, cloruro de potasio (KCl) J.T.Baker®, cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) J.T.Baker®, cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) Sigma-Aldrich, metanol (CH<sub>3</sub>OH) ENSURE®, butilhidroxitolueno (BHT) Supelco, hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) para uso en cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) Meyer, ácido clorhídrico (HCl) Fermont.

La biomasa microalgal utilizada en este trabajo de tesis fue donada por la estudiante de doctorado M. en I. Dulce María Ruiz González y la M. en I. Ana Laura Sarracino Ortiz. La biomasa proviene de un cultivo microalgal mixto donde predominan las especies *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp. de la colección de cultivos del Laboratorio de Ficología Aplicada de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) Unidad Iztapalapa.

## 3.2. EQUIPO Y MATERIALES

Para el proceso de extracción de lípidos se utilizó una centrífugadora Eppendorf 5702 con un rotor con capacidad para 8 tubos de 15 ml, agitador de vórtice (Scientific Industries G560, Vortex-Genie 2), baño de ultrasonido (Cole Palmer). Jeringas Hamilton® de vidrio graduadas con capacidad de 1000  $\mu\text{l}$  y un termobloque Thermolyne Type 17600, para llevar a cabo la reacción de transesterificación.

Para la determinación de los lípidos presentes en la biomasa se utilizó un cromatógrafo de gases (CG, Agilent 6850, detector de ionización de flama) con una columna HP-INNOWax (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ).

## 3.3. METODOLOGÍA

### Descripción de la biomasa utilizada

La biomasa microalgal utilizada en el presente trabajo fue donada por la M. en I. Dulce María Ruiz González (biomasa A) y por la M. en I. Ana Laura Sarracino Ortiz (biomasa B). La biomasa A, fue extraída de microalgas cultivadas en una cabina de cultivo con ambiente de iluminación de 340  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  proveniente de luz de tiras LED, a temperatura de  $30 \pm 1$  °C, usando como medio de cultivo fertilizante agrícola Bayfolan® Forte. Parte de esa biomasa fue sometida a un proceso de extracción de carotenoides con fluidos supercríticos, a presiones de 200 y 300 bar y temperaturas de 40, 50, 60 °C usando etanol como cosolvente [58]. La biomasa B, fue obtenida de un cultivo de microalgas producidas en un ambiente de iluminación natural (luz solar) durante 15 días en el periodo de primavera, a temperatura ambiente. Un lote de la biomasa microalgal se creció en Bayfolan® Forte y el otro en agua residual proveniente de la planta de tratamiento de aguas



residuales del IER-UNAM [77].

#### 3.3.1. Extracción de lípidos

La extracción de aceite se llevó a cabo tomando como base el método de Bligh y Dyer (1959) adaptado para la extracción de lípidos de microalgas [78] con algunas modificaciones.

Se pesaron 50 mg de biomasa microalgal seca en un tubo de vidrio tipo HACH (tubo 1) y con una pipeta graduada de 5 ml se agregaron 3 ml de una mezcla de solventes cloroformo:metanol (1:2, v/v). Se adicionaron 100  $\mu$ l de BHT a la biomasa a utilizar y se mezcló usando un agitador de vórtice. Se realizaron 3 ciclos de sonicación en frío durante 15 minutos. Para enfriar el agua del baño ultrasónico se colocó hielo por un periodo de 10 a 15 minutos, obteniendo una temperatura de 13 °C aproximadamente. Se incubaron los tubos por un periodo de 48 horas a 4 °C protegidos de la luz, de esa manera se favoreció la extracción completa de los lípidos.

Una vez terminado el periodo de incubación, los tubos con la mezcla se llevaron a baño ultrasónico durante 15 minutos (3 ciclos) en frío. La mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 20 minutos para separar la fase con lípidos de la biomasa residual. Ya separadas las fases se recuperó el extracto con una pipeta Pasteur y se pasó a un tubo de vidrio tipo HACH (tubo 2). Usando una pipeta graduada de 2 ml se le agregaron 1.5 ml de la mezcla  $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$  (1:2, v/v) a la biomasa residual (se mezcló con un agitador de vórtice) y se centrifugó nuevamente a 4000 rpm durante 20 minutos recuperando el extracto. Esto se repitió una vez más para extraer la mayor cantidad de lípidos presentes en la biomasa. Al tubo 2 que contiene la fase con lípidos se le agregan 2 ml (usando una pipeta

graduada de 2 ml) de una solución  $\text{MgCl}_2$  0.003 N (Ver Anexo 1) y se mezcló usando un agitador de vórtice. Se incubaron los tubos por un periodo de 17 horas a 4 °C protegidos de la luz.

Terminado el tiempo de incubación, la mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos obteniendo una mezcla bifásica; en la parte inferior se encuentra la fase formada por cloroformo y lípidos mientras que en la superior las moléculas no lipídicas y restos de lípidos.

Con una pipeta Pasteur se recuperó la fase inferior y se colocó en un tubo de vidrio tipo HACH (tubo 3, previamente pesado en seco y a peso constante). Se lavó la fase acuosa contenida en el tubo 2 agregando 1 ml de  $\text{CHCl}_3$  (usando una pipeta graduada de 1 ml) y se mezcló con un agitador de vórtice, posteriormente se centrifugó a 4000 rpm por 15 minutos recuperando la fase inferior. Se realizó un lavado más a la fase acuosa con las mismas condiciones.

Para llevar a cabo el secado de la fase  $\text{CHCl}_3$ :lípidos, se colocó el tubo que contiene la mezcla (tubo 3) en un horno con extractor de aire a una temperatura de 35 °C. El secado en el horno se llevó a cabo por un periodo de 3 días. Terminado el secado se procedió a cuantificar los lípidos totales extraídos. La cuantificación se llevó a cabo mediante método gravimétrico, diferencia de pesos del tubo 3 antes y después del proceso de secado.

#### **3.3.2. Reacción de transesterificación**

Para realizar la reacción de transesterificación se tomó como base el procedimiento descrito por van Wychen y Laurens [79] donde se realizó una modificación, se llevó por separado la reacción de transesterificación de la determinación del

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

perfil lipídico por cromatografía de gases. Se menciona que para una muestra que tiene entre 5 a 10 mg de muestra lipídica, se agregarán 200  $\mu\text{l}$   $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1, v/v) y 300  $\mu\text{l}$   $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$  0.6 M.

Se inició precalentando el termobloque hasta alcanzar una temperatura de  $85\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ . Mientras el termobloque se precalentaba, utilizando una jeringa de vidrio se agregaron 200  $\mu\text{l}$   $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1, v/v) y con una micropipeta 300  $\mu\text{l}$   $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$  0.6 M a la muestra (tubo 3). Usando un agitador de vórtice la mezcla se agitó y una vez que la temperatura fue constante en el termobloque se introdujo el vial (tubo 3) por 1 hora.

Terminado el tiempo de reacción, se dejó enfriar el vial a temperatura ambiente por un tiempo de 15 minutos. Después del enfriamiento, se agregó un 1 ml de hexano grado HPLC mezclando con vortex y se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 hora.

Terminado el reposo, se obtuvo una mezcla bifásica; en la parte superior se encuentra el biodiésel y en la inferior la glicerina. Con una pipeta Pasteur se recuperó el biodiésel almacenándolo en un tubo de vidrio (tubo 4, previamente pesado en seco y a peso constante). Se dejó secar la muestra por 3 días dentro de un horno con extractor de aire a  $35\text{ }^\circ\text{C}$  y por diferencia de peso se cuantificó la cantidad total de biodiésel producido.

#### **3.3.3. Determinación del perfil lipídico por cromatografía de gases**

Los FAMES se analizaron mediante cromatografía de gases (Agilent 6850, detector de ionización de flama) con una columna HP-INNOWax (30 m  $\times$  0.25

mm  $\times$  0.25  $\mu$ m). La inyección (1  $\mu$ l) se realizó con una temperatura inicial del horno de 100 °C, sostenida durante 1 min y posteriormente aumentada a una velocidad de 5 °C/min hasta 180 °C; esta temperatura se mantuvo durante 2 min y se aumentó a una velocidad de 1 °C/min hasta 220 °C. Se utilizó helio como gas acarreador a un caudal constante de 1.0 ml/min. Los ácidos grasos presentes en las muestras de microalgas se identificaron comparando sus tiempos de retención con los de los estándares FAME (Supelco 37 Component FAME Mix).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

## 4.1. RESULTADOS

La producción de biodiésel se analizó a partir de 5 biomásas con características de cultivo diferentes (descritas en el capítulo 3), 3 pertenecen a la biomasa A y 2 a la biomasa B. Para la biomasa A tenemos, biomasa sin extracción de carotenoides (BAE), biomasa remanente después de extracción de carotenoides a 200 bar (BE2) y 300 bar (BE3). La extracción de carotenoides se realizó debido al interés de uso como productos de alto valor de dichos compuestos. Al realizar su extracción, queda una gran porción de biomasa que puede ser utilizada para otros procesos como la extracción de lípidos para producir biodiésel en este trabajo. La biomasa B se divide en dos, biomasa cultivada en fertilizante foliar Bayfolan® Forte como testigo (TESR) y agua residual (ARSR).

Se realizó la extracción de lípidos con un sistema cloroformo/metanol a una relación (1:2, v/v) al cual se adicionó una solución  $\text{MgCl}_2$  0.003 N para mejorar la extracción (Ver anexo 1).

En la Tabla 4.1 se muestran los rendimientos obtenidos durante el proceso de extracción de lípidos de microalgas.

**Tabla 4.1: Extracción de lípidos de las diferentes biomásas utilizadas.**

Biomasa	Muestra	Peso (mg)	Lípidos (mg)	Promedio	Promedio % lípidos
BAE	1	50	6.4	6.45	12.9
	2	50	6.5		
BE2	1	50	3.9	3.85	7.7
	2	50	3.8		
BE3	1	50	3.4	3.35	6.7
	2	50	3.3		
TESR	1	50	4.7	4.75	9.5
	2	50	4.8		
ARSR	1	50	4.9	4.9	9.8
	2	50	4.9		

La biomasa BAE presentó mayor proporción de lípidos (12.9% en peso seco) en comparación de BE2 (7.7% en peso seco) y BE3 (6.7% en peso seco). La presencia de una menor cantidad de lípidos en las biomásas BE2 y BE3 es resultado de la extracción de carotenoides a la cual fueron sometidas. También se puede observar que la biomasa sometida a una extracción de carotenoides a 300 bar presenta un menor porcentaje de lípidos (6.7%) en comparación de la biomasa con extracción de carotenoides a 200 bar (7.7%). Estos resultados muestran que la cantidad de lípidos presentes en la biomasa disminuirá significativamente al realizar la extracción de algún otro metabolito. Sin embargo, todavía sería posible utilizar los lípidos remanentes luego de los procesos de extracción, para la producción de biodiésel.

Las biomásas TESR y ARSR presentan un porcentaje de lípidos de 9.5% y

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

9.8% en peso seco respectivamente. A pesar de que TESR y ARSR no fueron sometidas a algún otro tipo de extracción de bioactivos anteriormente, presentan una menor proporción de lípidos en comparación a BAE. Los porcentajes distintos de lípidos entre BAE, TESR y ARSR, se deben principalmente a las condiciones (temperatura, intensidad de luz; natural o artificial, pH, medio de cultivo; agua residual o fertilizante) en que fueron cultivadas las microalgas [80].

### **Composición química del biodiésel**

El perfil FAME (ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) identificado del biodiésel producido B-BAE, B-BE2, B-BE3, B-TESR y B-ARSR se presenta en la Tabla 4.2. En todos los casos el FAME dominante fue el palmitato de metilo (C16:0). Otros FAMES en mayor concentración también presentes en los 5 casos fueron, palmitoleato de metilo (C16:1), estearato de metilo (C18:0), linoleato de metilo (C18:2) y gama-linolenato de metilo (C18:3). Estos resultados son semejantes a los obtenidos en otros trabajos [81][82][83] donde se produjo biodiésel a partir de un monocultivo de microalgas. En la Tabla 4.3 se muestra la comparación de los FAMES en mayor proporción obtenidos a partir de diferentes microalgas.

Tabla 4.2: Perfil lipídico completo del biodiésel producido usando diferentes biomásas

Éster Metílico Nombre	C:N	Concentración (µg/ml)				
		B-BAE	B-BE2	B-BE3	B-TESR	B-ARSR
Laurato de metilo	C12:0	19.72			19.68	11.49
Miristato de metilo	C14:0	9.20	4.59	3.76		4.24
Miristoleato de metilo	C14:1	7.95				
Pentadecanoato de metilo	C15:0	9.15			3.87	3.77
Palmitato de metilo	C16:0	558.15	114.85	155.68	471.06	313.97
Palmitoleato de metilo	C16:1	25.54	5.42	7.27	17.07	34.49
Heptadecanoato de metilo	C17:0	10.42		2.99	9.93	6.17
cis-10 heptadecenoato de metilo	C17:1	5.50				
Estearato de metilo	C18:0	20.18	7.93	7.88	14.68	15.18
trans-9 elaidato de metilo y cis-9 oleato de metilo	C18:1	130.08			74.11	50.40
Linoleato de metilo	C18:2	117.54	32.76	39.66	155.65	61.49
Gamma-linolenato de metilo	C18:3	51.67	23.33	27.63	119.73	42.19
Heneicosanoato de metilo	C21:0	9.67			5.23	



Tabla 4.3: Comparación de los FAMES predominantes en el biodiésel producido a partir de diferentes microalgas

Microalga	FAMES (%)						Referencia
	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
Cultivo mixto, predominan							
<i>Scenedesmus</i> sp.	57.26	2.62	2.07	13.34	12.06	5.30	
<i>Chlorella</i> sp.							
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CCAP 11/32C	24	1.9	5.2	23.5	15.4	21.6	[81]
<i>Chlorella vulgaris</i>	35	2.5	5		30	8	[82]
<i>Chlorella vulgaris</i>	33.71		24.33	18.34	12.35	7.9	[83]

La calidad del biodiésel se caracteriza por una mezcla de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en su composición, así como una concentración limitante de ácidos grasos poliinsaturados que deben estar compuestos preferiblemente de ácidos grasos de cadena larga (C14 a C20) [82][84].

El biodiésel obtenido en los 5 casos consiste principalmente de ácidos grasos saturados (AGS), (65.30 %) B-BAE, (67.43 %) B-BE2, (69.55 %) B-BE3, (58.86 %) B-TESR y (65.30 %) B-ARSR (ver Tabla 4.4). Según Ramos et al., 2009 [85] la presencia de un mayor porcentaje de AGS representa un índice de cetano alto. Cuanto mayor es el índice de cetano, mejores son sus propiedades de ignición. También se menciona que la presencia de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) representa un aumento del índice de cetano, los resultados obtenidos muestran: (16.78 %) B-BAE, (2.87 %) B-BE2, (2.97 %) B-BE3, (10.23 %) B-ARSR y (15.62 %) ARSR. La presencia de altos porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) en el biodiésel no son deseables ya que representan una disminución de la calidad del biocombustible (índice de cetano bajo, susceptible a la oxidación)[85][86]. El porcentaje de AGP presentes en el biodiésel (5 casos) es menor en comparación de AGS, teniendo, (17.36 %) B-BAE, (29.70 %) B-BE2, (27.48 %) B-BE3, (30.91 %) B-TESR y (19.08 %) B-ARSR. Cabe mencionar que la presencia de AGP es importante ya que ayuda mejorar las propiedades de flujo en frío del biodiésel [87].

Los porcentajes obtenidos de AGS, AGM y AGP (ver Tabla 4.4) proporcionan cierta información del biocombustible obtenido, con la cual se puede determinar si el biodiésel producido tendrá una buena calidad. De modo que un biodiésel que contiene una alta cantidad de AGS y pocos AGP posee un índice de cetano alto, poder calorífico alto y mayor estabilidad oxidativa, que son deseables, lo que

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

significa una buena calidad del biocombustible.

Los porcentajes de AGS, AGM y AGP entre B-BAE y B-ARSR son muy similares, donde ambos tienen un porcentaje alto de AGS, 65.30 % para ambos casos, lo que implica que ambos biocombustibles tendrán una buena calidad. Mientras que para B-TESR la cantidad de AGP (30.91 %) es mayor en comparación de B-BAE (17.36 %) y B-ARSR (19.08 %), este biocombustible sera más susceptible a la oxidación por lo que tendrá una calidad baja en comparación a B-BAE y B-ARSR, lo mismo sucede para B-BE2 y B-BE3 los cuales presentan cantidades altas de AGP, 29.70 % y 27.48 %, respectivamente.

**Tabla 4.4: Porcentaje de FAMEs presentes en cada biodiésel producido a partir de diferentes biomásas**

Éster Metílico	% de FAME				
	B-BAE	B-BE2	B-BE3	B-TESR	B-ARSR
C12:0	2.02			2.21	2.11
C14:0	0.94	2.43	1.53		0.78
C14:1	0.82				
C15:0	0.94			0.43	0.69
C16:0	57.26	60.80	63.57	52.87	57.78
C16:1	2.62	2.87	2.97	1.92	6.35
C17:0	1.07		1.22	1.11	1.14
C17:1	0.56				
C18:0	2.07	4.20	3.22	1.65	2.79
C18:1	13.34			8.32	9.27
C18:2	12.06	17.35	16.20	17.47	11.32

Table 4.4 Continuación

<b>C18:3</b>	5.30	12.35	11.28	13.44	7.77
<b>C21:0</b>	0.99			0.59	
<b>AGS</b>	65.30	67.43	69.55	58.86	65.30
<b>AGM</b>	16.78	2.87	2.97	10.23	15.62
<b>AGP</b>	17.36	29.70	27.48	30.91	19.08

El perfil de FAMES para cada biodiésel producido es dependiente del sistema de cultivo y las variaciones en las condiciones de crecimiento [81][83][86]. La presencia de los AGM, miristoleato de metilo (C14:1) y cis-10 heptadecenoato de metilo (C17:1) en B-BAE los cuales no se presentan en B-TESR y B-ARSR determinan que existen diferencias en el cultivo de cada una de las microalgas, las cuales influirán en la calidad del biodiésel producido.

Ahora, la variación del perfil lipídico entre B-BAE, B-BE2 y B-BE3 no depende de las condiciones de crecimiento, ya que la biomasa proviene de un mismo cultivo de microalgas. La variación del perfil de FAMES corresponde a la extracción de carotenoides a las que fueron sometidas. La diferencia más significativa se observa con la presencia de los AGS (C12:0, C17:0, C21:0) y AGM (C14:1, C17:1, C18:1) presentes en B-BAE, los cuales se considera fueron extraídos en el proceso de extracción de carotenoides de las biomásas BE2 y BE3.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede suponer que el biodiésel que presentará una calidad adecuada para ser utilizado como combustible, fue el obtenido a partir de BAE y ARSR ya que presentara un índice de cetano alto, lo que indica una ignición y combustión adecuada, en comparación al biodiésel producido por TESR, B-AE2 y B-AE3.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

---

### 5.1. CONCLUSIONES

En este trabajo se cuantificó la extracción de lípidos para la producción de biodiésel utilizando biomasa microalgal obtenida a partir de un cultivo mixto de microalgas producidas en diferentes condiciones, la mayor cantidad de lípidos se presentó cuando las microalgas fueron cultivadas en un entorno controlado en comparación de las cultivadas en condiciones ambientales. Se demostró que al extraer lípidos de una biomasa sometida previamente a extracción de carotenoides el porcentaje de estos disminuirá significativamente. La producción de biodiésel se comportó de la misma forma, presentando un mayor rendimiento al usar biomasa producida en condiciones controladas y sin extracción de carotenoides.

Al realizar la caracterización del biodiésel producido, se determinó que las microalgas crecidas usando como medio de cultivo fertilizante agrícola Bayfolan® Forte y en condiciones controladas, presenta la mayor proporción de AGS y AGM, lo mismo sucede para las microalgas crecidas en aguas residuales y condiciones ambientales, por lo que el biodiésel producido presentará un índice de cetano alto. Por otro lado, las microalgas crecidas en un medio de cultivo fertilizante agrícola Bayfolan® Forte en condiciones ambientales produjeron un biodiésel con un alto

porcentaje de AGP por lo que el biocombustible tendrá un índice de cetano bajo. La extracción de carotenoides también es un factor importante en la calidad de la biomasa microalgal para la producción de biodiésel ya que los resultados obtenidos demuestran que el biodiésel producido por esta biomasa (sin carotenoides) presenta un alto contenido de AGP y un muy bajo porcentaje de AGM, por lo que el biodiésel presentara un índice de cetano bajo.

El biodiésel producido por BAE y ARSR presenta un buen perfil para ser usado como biocombustible, mientras que el biodiésel producido por BE2, BE3 y TESR presentaría problemas al ser usado como biocombustible, ya que es más susceptible a la oxidación debido a su alto porcentaje de AGP.

## **5.2. PERSPECTIVAS**

Las condiciones de cultivo de las microalgas son muy importantes para obtener una biomasa de buena calidad que permita obtener biocombustibles con características similares a los combustibles fósiles, por lo que es importante controlar todos los factores posibles en su crecimiento, además de utilizar las especies correctas de microalgas que presenten un mayor contenido de aceite ya que al usar un cultivo mixto es complicado obtener un rendimiento alto en la extracción de lípidos y producción de biodiésel.

## Anexo 1

Según la técnica de Folch et al. (1956) se agregan sales de  $\text{CaCl}_2$  y/o  $\text{MgCl}_2$  0.003 N;  $\text{NaCl}$  y/o  $\text{KCl}$  0.05 N al agua, para hacer la fase superior más polar. Al agregar alguna de estas sales se espera que la parte superior contenga la mayor cantidad de moléculas no lipídicas posibles. En el presente trabajo se realizó la extracción usando una solución  $\text{MgCl}_2$  0.003 N y una  $\text{KCl}$  0.05 N. Se realizaron experimentos por cuadruplicado. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla [A.1](#).

El coeficiente de variación en cada uno de los experimentos se encuentra por debajo de 10, lo que indica que la repetibilidad del experimento es adecuada. Al usar  $\text{MgCl}_2$  durante el proceso de extracción, se observa que la transformación de lípidos a biodiésel es ligeramente más eficiente que al usar  $\text{KCl}$  (ver Tabla [A.1](#)). Para determinar si entre los resultados obtenidos existe una diferencia significativa, demostrando que al usar  $\text{MgCl}_2$  se obtiene un mayor rendimiento en la producción de biodiésel, se realizó una prueba estadística con ayuda de la herramienta, prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales. Los valores que se tomaron para el análisis estadístico fueron los resultados obtenidos al producir

---

biodiésel, en específico, el porcentaje de lípidos que se transformaron en biodiésel (% biodiesel, ver Tabla [A.1](#)).

Al examinar los resultados obtenidos del análisis estadístico, Tabla [A.2](#), Tabla [A.3](#), correspondientes a la biomasa BAE y BE2 respectivamente, se obtiene que si existe una eficiencia más alta en la transformación de lípidos a biodiésel al usar una solución  $\text{MgCl}_2$  0.003 N durante la extracción. En la Tabla [A.4](#), Tabla [A.5](#) y Tabla [A.6](#), resultados obtenidos de las biomásas BE3, TESR, ARSR respectivamente, determinan que no hay una diferencia significativa entre usar  $\text{MgCl}_2$  o KCl durante la producción de biodiésel.

Considerando los resultados obtenidos, se estableció un sistema cloroformo/metanol/ $\text{MgCl}_2$  0.003 N para la extracción de lípidos y producción de biodiésel.



Tabla A.1: Extracción de lípidos y producción de biodiésel

Biomasa	Muestra	Peso (mg)	Sal	Lípidos (mg)	% lípidos	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Biodiésel (mg)	Promedio	% biodiésel	% Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación
BAE	1	50.1		7.1	14.2				4.1		57.7			
	2	50	KCl	6.9	13.8	7.2	0.31	4.3	3.9	4.1	56.5	56.6	0.19	4.7
	3	50	0.05 N	7	14.0				3.9		55.7			
	4	50		7.6	15.2				4.3		56.6			
	1	50.1		6.6	13.2				4.4		66.7			
	2	50	MgCl <sub>2</sub>	6.5	13.0	6.6	0.08	1.2	4.4	4.3	67.7	65.2	0.14	3.3
	3	50	0.003 N	6.6	13.2				4.1		62.1			
	4	50		6.7	13.4				4.3		64.2			
BE2	1	50		3.9	7.8				1.9		48.7			
	2	50	KCl	4.1	8.2	4.1	0.24	5.8	2	2.0	48.8	49.1	0.14	7.1
	3	50	0.05 N	3.9	7.8				1.9		48.7			
	4	50		4.4	8.8				2.2		50.0			
	1	50		3.9	7.8				2		51.3			
	2	50	MgCl <sub>2</sub>	3.9	7.8	4.0	0.06	1.5	2	2.1	51.3	51.9	0.10	4.9
	3	50	0.003 N	4	8.0				2.2		55.0			
	4	50.1		4	8.0				2		50.0			
BE3	1	50		3.1	6.2				2.3		74.2			
	2	50	KCl	3.3	6.6	3.3	0.16	4.9	2.6	2.4	78.8	72.8	0.18	7.6
	3	50	0.05 N	3.5	7.0				2.5		71.4			
	4	50		3.3	6.6				2.2		66.7			

Tabla A.1 Continuación

<b>BE3</b>	1	50		3.1	6.2				2.1		67.7			
	2	50	MgCl <sub>2</sub>	3.1	6.2	3.3	0.19	5.9	2.4	2.3	77.4	70.9	0.14	6.1
	3	50	0.003 N	3.5	7.0				2.3		65.7			
	4	50.1		3.3	6.6				2.4		72.7			
<b>TESR</b>	1	50		4.8	9.6				3.1		64.6			
	2	50	KCl	4.7	9.4	4.8	0.14	2.9	3	3.1	63.8	63.6	0.13	4.2
	3	50	0.05 N	4.7	9.4				3.2		68.1			
	4	50.1		5	10.0				2.9		58.0			
<b>ARSR</b>	1	50		4.6	9.2				3.6		78.3			
	2	50	MgCl <sub>2</sub>	4.9	9.8	4.8	0.17	3.6	3.1	3.3	63.3	68.6	0.26	8.1
	3	50.1	0.003 N	4.6	9.2				3.3		71.7			
	4	50		4.9	9.8				3		61.2			
<b>ARSR</b>	1	50		4.9	9.8				3		61.2			
	2	50	KCl	4.7	9.4	4.9	0.10	2.1	2.9	3.1	61.7	62.9	0.13	4.2
	3	50	0.05 N	4.9	9.8				3.2		65.3			
	4	49.9		4.9	9.8				3.1		63.3			
<b>ARSR</b>	1	50		5	10				3.3		66.0			
	2	50	MgCl <sub>2</sub>	5	10.0	5.1	0.22	4.4	2.9	3.2	58.0	63.7	0.25	7.8
	3	50	0.003 N	5.4	10.8				3.2		59.3			
	4	50		4.9	9.8				3.5		71.4			

Tabla A.2: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BAE)

Análisis estadístico	KCl	MgCl <sub>2</sub>
Media	56.6	65.2
Varianza	0.7	6.3
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	3.5	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-6.44728305	
P(T<=t) una cola	0.000329641	
Valor crítico de t (una cola)	1.943180281	
P(T<=t) dos colas	0.000659281	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446911851	

**Tabla A.3: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BE2)**

Análisis estadístico	KCl	MgCl <sub>2</sub>
Media	49.1	51.9
Varianza	0.4	4.7
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	2.5	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-2.52242218	
P(T<=t) una cola	0.022569588	
Valor crítico de t (una cola)	1.943180281	
P(T<=t) dos colas	0.045139176	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446911851	

Tabla A.4: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (BE3)

Análisis estadístico	KCl	MgCl <sub>2</sub>
Media	72.8	70.9
Varianza	25.8	27.6
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	26.7	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	0.511701432	
P(T<=t) una cola	0.313570528	
Valor crítico de t (una cola)	1.943180281	
P(T<=t) dos colas	0.627141057	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446911851	

**Tabla A.5: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (TESR)**

Análisis estadístico	KCl	MgCl <sub>2</sub>
Media	63.6	68.6
Varianza	17.5	62.0
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	39.8	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-1.12098892	
P(T≤t) una cola	0.15257205	
Valor crítico de t (una cola)	1.943180281	
P(T≤t) dos colas	0.3051441	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446911851	

Tabla A.6: Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (ARSR)

Análisis estadístico	KCl	MgCl <sub>2</sub>
Media	62.9	63.7
Varianza	3.4	39.1
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	21.2	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-0.24475057	
P(T<=t) una cola	0.407402513	
Valor crítico de t (una cola)	1.943180281	
P(T<=t) dos colas	0.814805025	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446911851	

---

## Anexo 2

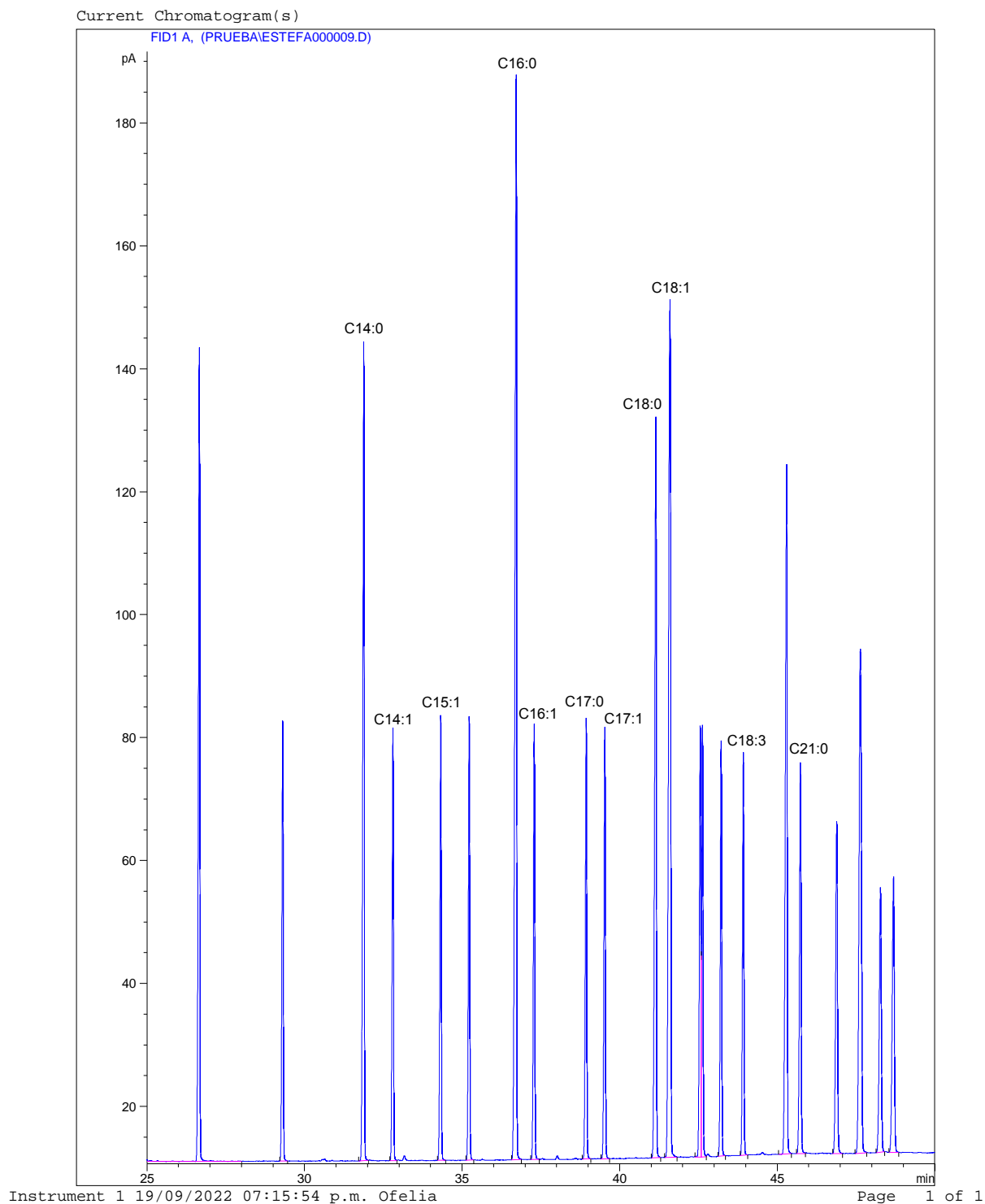
### Cromatogramas

Los estándares FAME (Supelco 37 Component FAME Mix) identifican un total de 37 tipos diferentes de ácidos grasos. De las muestras analizadas BAE presentó la mayor cantidad de ácidos grasos, 13 en total. A continuación se muestran los cromatogramas correspondientes de cada biodiésel analizado por cromatografía de gases (Agilent 6850, detector de ionización de flama) con una columna HP-INNOWax (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm).



# A. ANEXOS

Print of window 38: Current Chromatogram(s)



**Figura A.1: Cromatograma del estándar FAME (Supelco 37 Component FAME Mix)**

Print of window 38: Current Chromatogram(s)

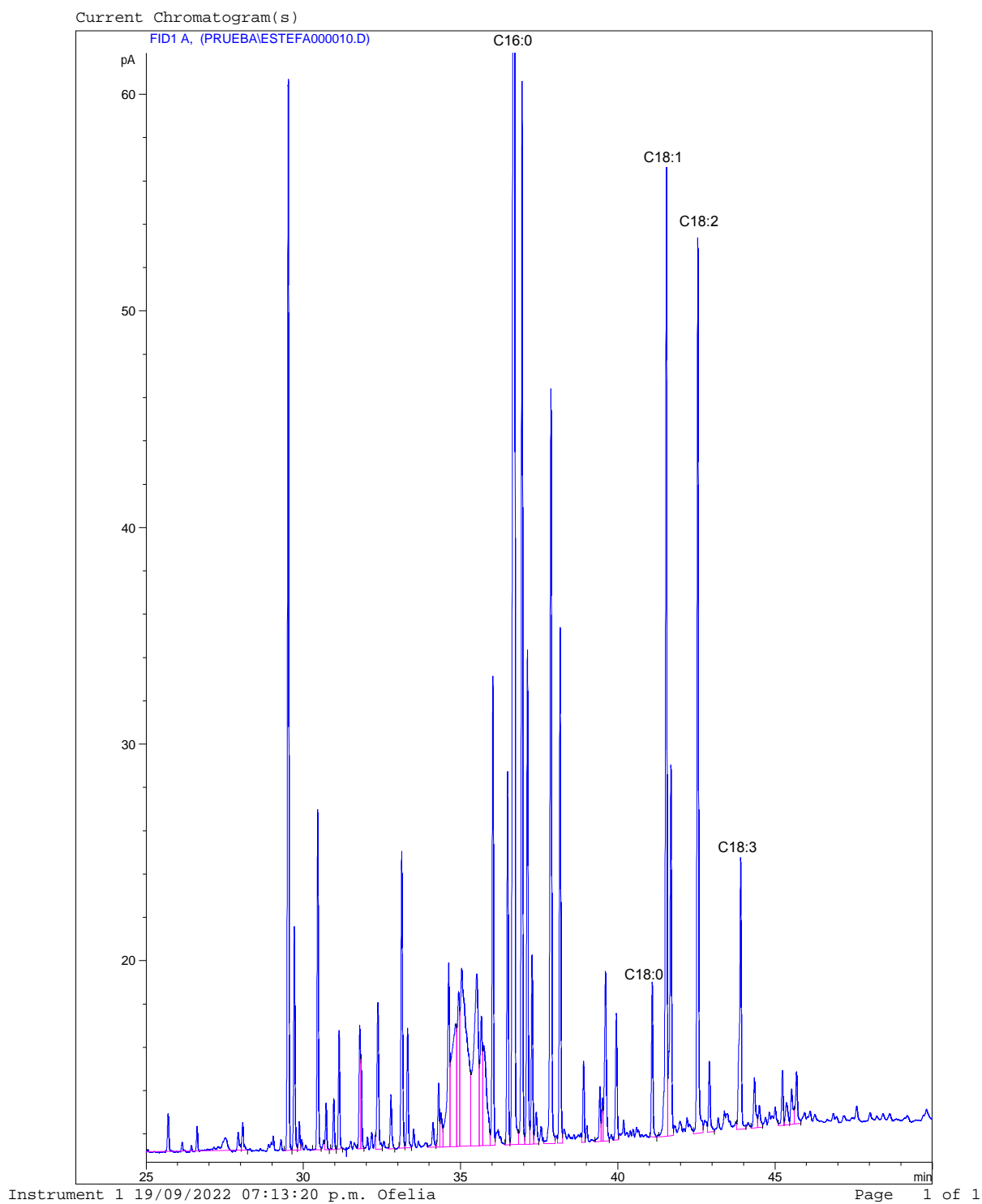
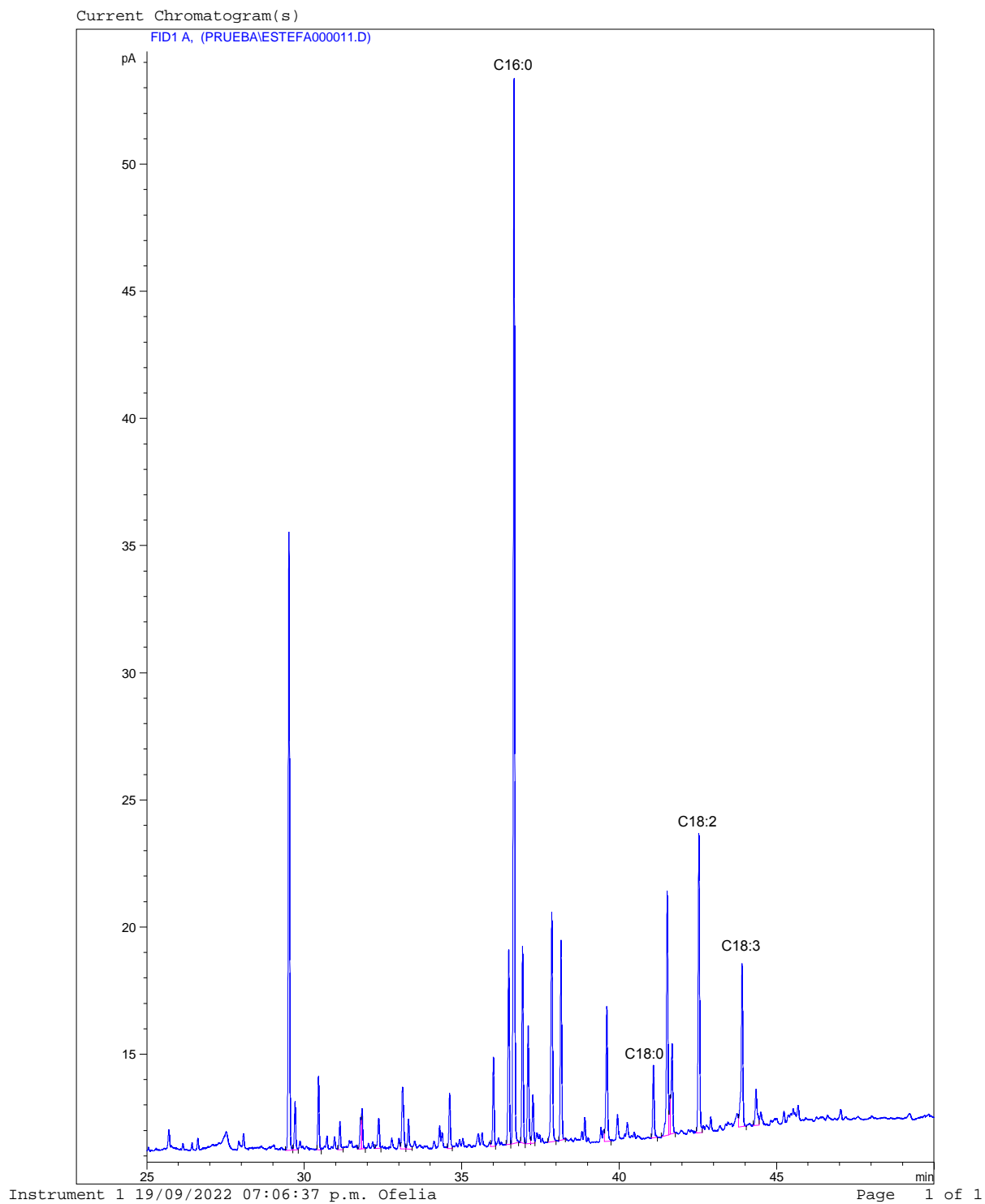


Figura A.2: Cromatograma del biodiésel producido por BAE

## A. ANEXOS

---

Print of window 38: Current Chromatogram(s)



**Figura A.3: Cromatograma del biodiésel producido por BE2**

Print of window 38: Current Chromatogram(s)

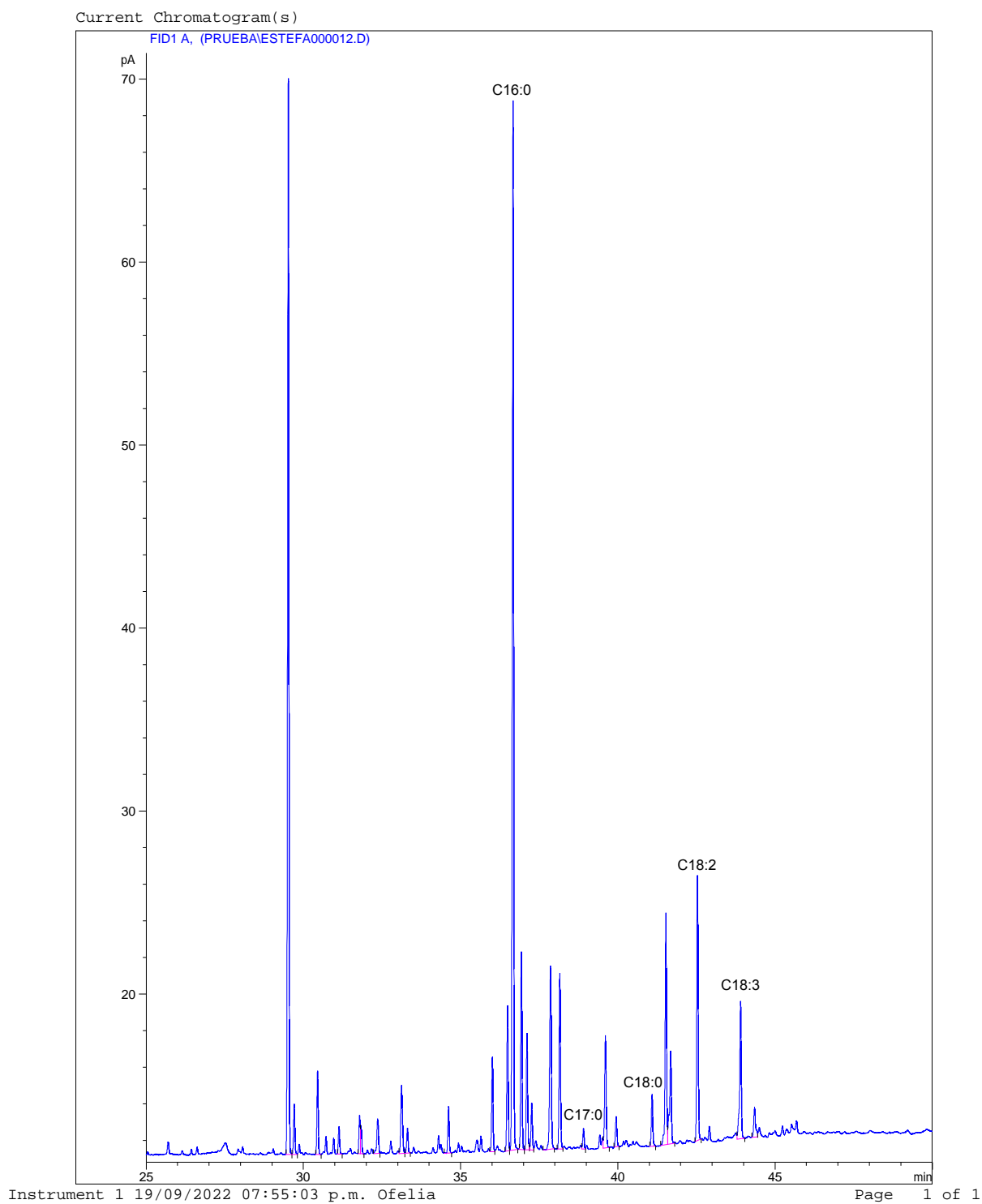
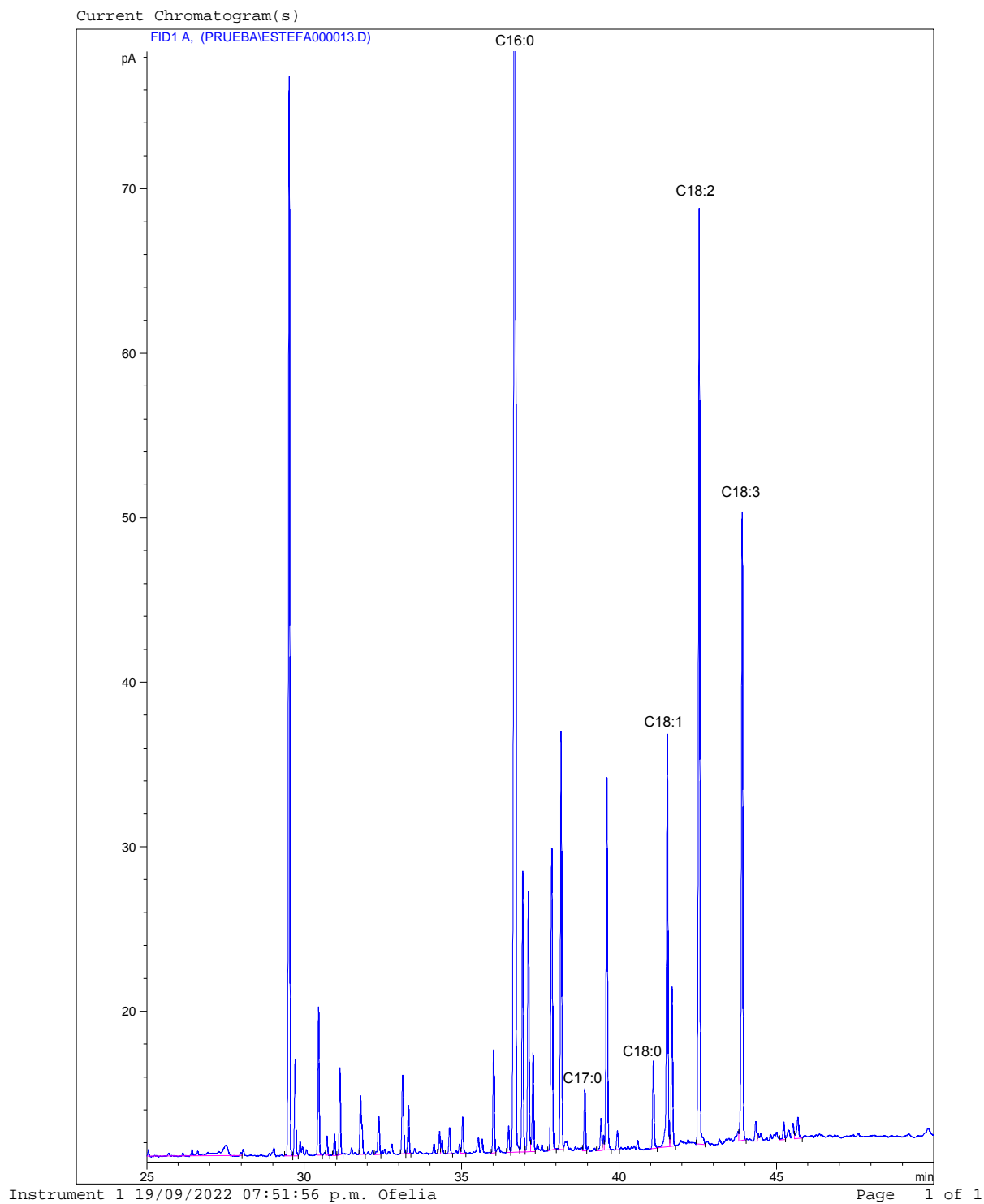


Figura A.4: Cromatograma del biodiésel producido por BE3

# A. ANEXOS

---

Print of window 38: Current Chromatogram(s)



**Figura A.5: Cromatograma del biodiésel producido por TESR**

Print of window 38: Current Chromatogram(s)

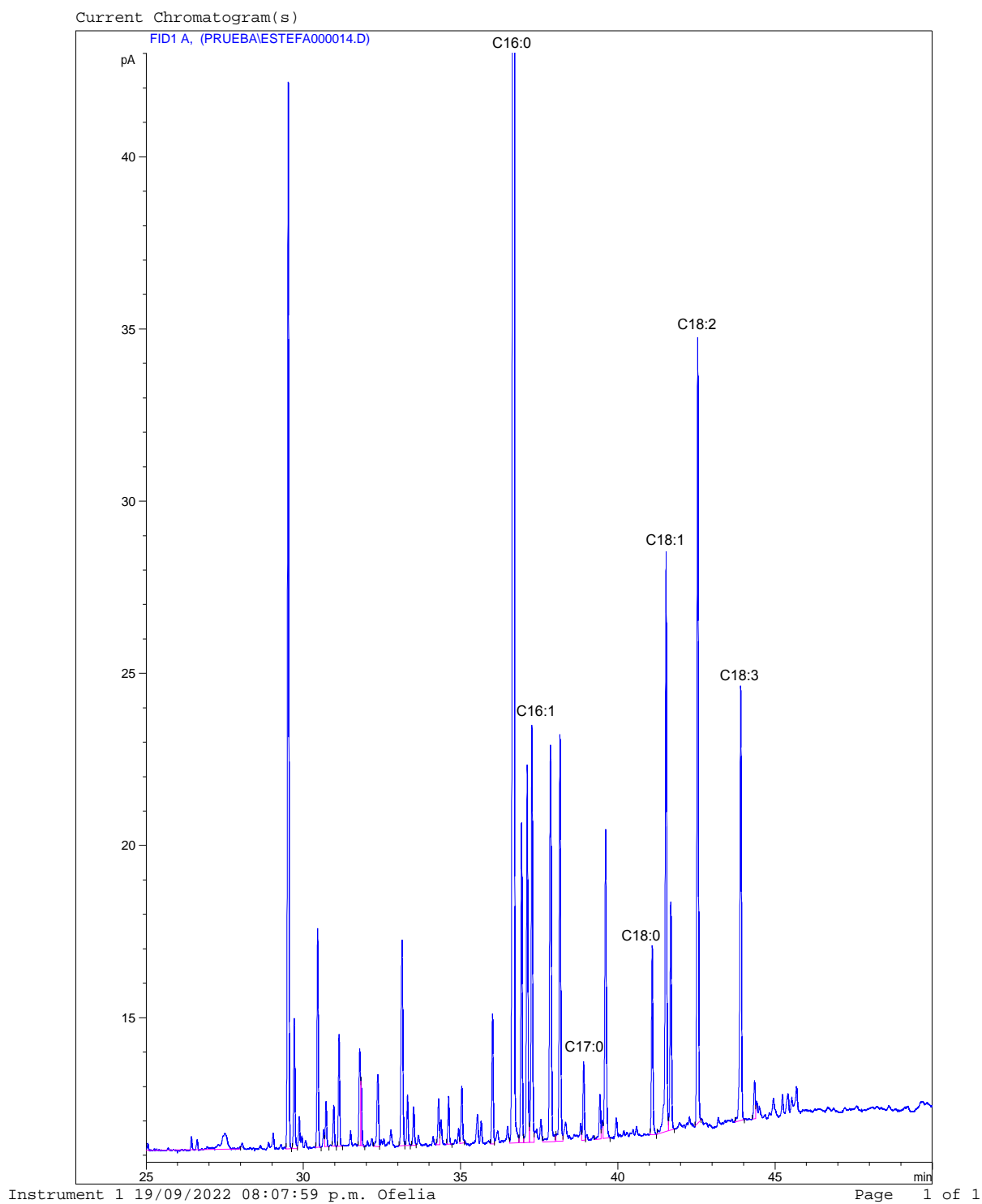


Figura A.6: Cromatograma del biodiésel producido por ARSR

## REFERENCIAS

---

- [1] J. Oviedo-Salazar, M. Badii, A. Guillen, and O. L. Serrato, “Historia y uso de energías renovables history and use of renewable energies,” *Daena Int. J. Good Conscience*, vol. 10, no. 1, pp. 1–18, 2015. [1](#)
- [2] F. A. Avellaneda Vargas *et al.*, *Producción y caracterización de biodiesel de palma y de aceite reciclado mediante un proceso batch y un proceso continuo con un reactor helicoidal*. PhD thesis, Universitat Rovira i Virgili, 2010. [1](#)
- [3] H. Sati, K. Chokshi, R. Soundarya, A. Ghosh, and S. Mishra, “Seaweed-based biostimulant improves photosynthesis and effectively enhances growth and biofuel potential of a green microalga *Chlorella variabilis*,” *Aquaculture International*, vol. 29, no. 3, pp. 963–975, 2021. [2](#)
- [4] INECC, “Instituto nacional de ecología y cambio climático. México: Inventario nacional de emisiones de gases y compuestos de efecto invernadero, 1990-2019,” 2022. [2](#)
- [5] C. Lago, I. Herrera, N. Caldés, and Y. Lechón, “Nexus bio-energy–bioeconomy,” in *The Role of Bioenergy in the Bioeconomy* (C. Lago, N. Caldés, and Y. Lechón, eds.), pp. 3–24, Academic Press, 2019. [2](#)
- [6] N. Ayala-Mendivil and G. Sandoval, “Bioenergía a partir de residuos forestales y de madera,” *Madera y bosques*, vol. 24, no. SPE, 2018. [2](#)

- 
- [7] C. L. Williams, A. Dahiya, and P. Porter, “Introduction to bioenergy,” in *Bioenergy* (A. Dahiya, ed.), pp. 5–36, Academic Press, 2015. [3](#)
- [8] J. F. ARMENDÁRIZ GALVÁN *et al.*, *Producción de biodiesel por microalgas, como una estrategia de fuentes alternas de energía*. PhD thesis, 2011. [3](#)
- [9] M. Lange, “Renewable energy and water resources,” in *Climate Vulnerability* (R. A. Pielke, ed.), pp. 149–166, Academic Press, 2013. [4](#)
- [10] M. Kamran, “Bioenergy,” in *Renewable Energy Conversion Systems* (M. Kamran and M. R. Fazal, eds.), pp. 243–264, Academic Press, 2021. [4](#), [5](#)
- [11] J. M. R. Martínez, E. E. S. Lora, and L. N. L. González, *Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad*. José María Rincón Martínez, Electo Eduardo Silva Lora, 2015. [4](#)
- [12] E. E. (Stathis) Michaelides, “Biomass,” in *Alternative Energy Sources* (E. E. (Stathis) Michaelides, ed.), pp. 287–311, Springer Berlin Heidelberg, 2012. [5](#), [6](#)
- [13] P. Benjumea, J. Agudelo, and A. Agudelo, “Basic properties of palm oil biodiesel–diesel blends,” *Fuel*, vol. 87, no. 10, pp. 2069–2075, 2008. [6](#)
- [14] D. Sahoo, A. Awasthi, V. Dhyan, B. Biswas, J. Kumar, Y. S. Reddy, V. Adarsh, A. Puthiyamadam, K. K. Mallapureddy, R. K. Sukumaran, S. B. Ummalyama, and T. Bhaskar, “Value-addition of water hyacinth and para grass through pyrolysis and hydrothermal liquefaction,” *Carbon Resources Conversion*, vol. 2, no. 3, pp. 233–241, 2019. [6](#)



## REFERENCIAS

---

- [15] M. Rodionova, R. Poudyal, I. Tiwari, R. Voloshin, S. Zharmukhamedov, H. Nam, B. Zayadan, B. Bruce, H. Hou, and S. Allakhverdiev, “Biofuel production: Challenges and opportunities,” *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 42, no. 12, pp. 8450–8461, 2017. [6](#)
- [16] E. S. Shuba and D. Kifle, “Microalgae to biofuels: ‘promising’ alternative and renewable energy, review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 81, pp. 743–755, 2018. [6](#), [7](#)
- [17] B. Abdullah, S. A. F. Syed Muhammad, Z. Shokravi, S. Ismail, K. A. Kassim, A. N. Mahmood, and M. M. A. Aziz, “Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 107, pp. 37–50, 2019. [6](#), [7](#), [10](#)
- [18] A. González Merino and Y. Castañeda Zavala, “Biocombustibles, biotecnología y alimentos: Impactos sociales para México,” *Argumentos (México, DF)*, vol. 21, no. 57, pp. 55–83, 2008. [7](#)
- [19] R. Yukesh Kannah, P. Sivashanmugham, S. Kavitha, and J. Rajesh Banu, “Valorization of food waste for bioethanol and biobutanol production,” in *Food Waste to Valuable Resources* (J. R. Banu, G. Kumar, M. Gunasekaran, and S. Kavitha, eds.), pp. 39–73, Academic Press, 2020. [11](#)
- [20] Z. Qiao and X. Lü, “Industrial bioethanol production: status and bottlenecks,” in *Advances in 2nd Generation of Bioethanol Production* (X. Lü, ed.), Woodhead Publishing Series in Energy, pp. 213–227, Woodhead Publishing, 2021. [11](#)
- [21] K. Karimi and Y. Chisti, “Bioethanol production and technologies,” in *Encyclopedia of Sustainable Technologies* (M. A. Abraham, ed.), pp. 273–284, Oxford: Elsevier, 2017. [11](#)

- 
- [22] R. Ruan, Y. Zhang, P. Chen, S. Liu, L. Fan, N. Zhou, K. Ding, P. Peng, M. Addy, Y. Cheng, E. Anderson, Y. Wang, Y. Liu, H. Lei, and B. Li, “Biofuels: Introduction,” in *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels (Second Edition)* (A. Pandey, C. Larroche, C.-G. Dussap, E. Gnansounou, S. K. Khanal, and S. Ricke, eds.), Biomass, Biofuels, Biochemicals, pp. 3–43, Academic Press, second edition ed., 2019. [11](#)
- [23] P. Morone and L. Cottoni, “Biofuels: Technology, economics, and policy issues,” in *Handbook of Biofuels Production (Second Edition)* (R. Luque, C. S. K. Lin, K. Wilson, and J. Clark, eds.), pp. 61–83, Woodhead Publishing, second edition ed., 2016. [11](#)
- [24] E. Aparicio, R. M. Rodríguez-Jasso, A. Lara, A. Loredó-Treviño, C. N. Aguilar, E. T. Kostas, and H. A. Ruiz, “Biofuels production of third generation biorefinery from macroalgal biomass in the mexican context: An overview,” in *Sustainable Seaweed Technologies* (M. D. Torres, S. Kraan, and H. Dominguez, eds.), Advances in Green and Sustainable Chemistry, pp. 393–446, Elsevier, 2020. [12](#)
- [25] S. V. Mohan and A. Pandey, “Biohydrogen production: An introduction,” in *Biohydrogen* (A. Pandey, J.-S. Chang, P. C. Hallenbecka, and C. Larroche, eds.), pp. 1–24, Amsterdam: Elsevier, 2013. [12](#)
- [26] C. Gutiérrez-Antonio, F. Gómez-Castro, J. de Lira-Flores, and S. Hernández, “A review on the production processes of renewable jet fuel,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 79, pp. 709–729, 2017. [12](#)
- [27] S. Achinas, S. Margry, and G. J. W. Euverink, “A technological outlook of

## REFERENCIAS

---

- biokerosene production,” in *Sustainable Biofuels* (R. C. Ray, ed.), Applied Biotechnology Reviews, pp. 225–246, Academic Press, 2021. [12](#)
- [28] T. Kandaramath Hari, Z. Yaakob, and N. N. Binitha, “Aviation biofuel from renewable resources: Routes, opportunities and challenges,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 42, pp. 1234–1244, 2015. [12](#)
- [29] A. G. Capodaglio and S. Bolognesi, “Ecofuel feedstocks and their prospects,” in *Advances in Eco-Fuels for a Sustainable Environment* (K. Azad, ed.), Woodhead Publishing Series in Energy, pp. 15–51, Woodhead Publishing, 2019. [13](#)
- [30] H. N. Abubackar, M. C. Veiga, and C. Kennes, “Syngas fermentation for bioethanol and bioproducts,” in *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches* (M. J. Taherzadeh, K. Bolton, J. Wong, and A. Pandey, eds.), pp. 207–221, Elsevier, 2019. [13](#)
- [31] A. Kushwaha, S. Goswami, A. Sultana, N. K. Katiyar, M. Athar, L. Dubey, L. Goswami, C. M. Hussain, and M. A. Kareem, “Waste biomass to biobutanol: recent trends and advancements,” in *Waste-to-Energy Approaches Towards Zero Waste* (C. M. Hussain, S. Singh, and L. Goswami, eds.), pp. 393–423, Elsevier, 2022. [13](#)
- [32] N. S. Ekaab, N. H. Hamza, and M. T. Chaichan, “Performance and emitted pollutants assessment of diesel engine fuelled with biokerosene,” *Case Studies in Thermal Engineering*, vol. 13, p. 100381, 2019. [14](#)
- [33] R. Alrefai, A. M. Alrefai, J. Stokes, and K. Y. Benyounis, “The production of biogas, biodiesel as high-value bio-based product and multiple bio-products through an integration approach of the anaerobic digestion and fermentation

- 
- processes,” in *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials* (S. Hashmi and I. A. Choudhury, eds.), pp. 686–694, Oxford: Elsevier, 2020. [14](#)
- [34] R. Gautam, J. K. Nayak, A. Daverey, and U. K. Ghosh, “Emerging sustainable opportunities for waste to bioenergy: an overview,” in *Waste-to-Energy Approaches Towards Zero Waste* (C. M. Hussain, S. Singh, and L. Goswami, eds.), pp. 1–55, Elsevier, 2022. [14](#)
- [35] S. K. Sharif, B. Nageswara Rao, and D. Jagadish, “Comparative performance and emission studies of the ci engine with nodularia spumigena microalgae biodiesel versus different vegetable oil derived biodiesel,” *SN Applied Sciences*, vol. 2, no. 5, pp. 1–9, 2020. [14](#)
- [36] M. Aghbashlo, W. Peng, M. Tabatabaei, S. A. Kalogirou, S. Soltanian, H. Hosseinzadeh-Bandbafha, O. Mahian, and S. S. Lam, “Machine learning technology in biodiesel research: A review,” *Progress in Energy and Combustion Science*, vol. 85, p. 100904, 2021. [14](#)
- [37] Rozina, M. Ahmad, M. Alruqi, and M. Zafar, “Cleaner production of biodiesel from novel and non-edible seed oil of chamaerops humilis using recyclable cobalt oxide nanoparticles: A contribution to resilient and sustainable world,” *Journal of Cleaner Production*, vol. 369, p. 133378, 2022. [15](#)
- [38] Zulqarnain, M. Ayoub, M. H. M. Yusoff, M. H. Nazir, I. Zahid, M. Ameen, F. Sher, D. Floresyona, and E. Budi Nursanto, “A comprehensive review on oil extraction and biodiesel production technologies,” *Sustainability*, vol. 13, no. 2, 2021. [15](#)
- [39] P. agrícolas OECD-FAO, “Oecd-fao agricultural outlook 2022-2031,” 2022. [16](#)
-

## REFERENCIAS

---

- [40] T. Mizik and G. Gyarmati, “Economic and sustainability of biodiesel production—a systematic literature review,” *Clean Technologies*, vol. 3, no. 1, pp. 19–36, 2021. [16](#)
- [41] P. agrícolas OECD-FAO, “Oecd-fao agricultural outlook 2021-2030,” 2021. [17](#)
- [42] M. Rouhany and H. Montgomery, “Global biodiesel production: the state of the art and impact on climate change,” *Biodiesel*, pp. 1–14, 2019. [17](#)
- [43] F. S. Sosa-Rodríguez and J. Vazquez-Arenas, “The biodiesel market in mexico: Challenges and perspectives to overcome in latin-american countries,” *Energy Conversion and Management: X*, vol. 12, p. 100149, 2021. [17](#), [18](#), [19](#)
- [44] M. Boly and A. Sanou, “Biofuels and food security: evidence from indonesia and mexico,” *Energy Policy*, vol. 163, p. 112834, 2022. [17](#)
- [45] E. Riegelhaupt, J. Odenthal, and L. Janeiro, “Red mexicana de bioenergía: Diagnóstico de la situación actual del biodiésel en méxico y escenarios para su aprovechamiento,” 2016. [18](#)
- [46] S. Thiruvengkatachari, C. Saravanan, V. Raman, M. Vikneswaran, J. F. Josephin, and E. G. Varuvel, “An experimental study of the effects of fuel injection pressure on the characteristics of a diesel engine fueled by the third generation azolla biodiesel,” *Chemosphere*, vol. 308, p. 136049, 2022. [19](#)
- [47] M. Loera-Quezada and E. J. Olguín, “Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades,” *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, vol. 1, no. 1, pp. 91–116, 2010. [19](#)
- [48] B. Dharmalingam, S. Ramalingam, A. Santhoshkumar, M. Paulraj Gundupalli, and M. Sriariyanun, “A review on different additives and advanced

- injection strategy on diesel engine characteristics fuelled with first, second and third generation biodiesel,” *Materials Today: Proceedings*, 2022. [19](#)
- [49] D. Ciolkosz, “What’s so different about biodiesel fuel?,” in *Bioenergy (Second Edition)* (A. Dahiya, ed.), pp. 739–744, Academic Press, second edition ed., 2020. [19](#), [21](#)
- [50] J. Van Gerpen and B. He, “Biodiesel and renewable diesel production methods,” in *Advances in Biorefineries* (K. Waldron, ed.), pp. 441–475, Woodhead Publishing, 2014. [21](#)
- [51] J. Naber and J. Johnson, “Internal combustion engine cycles and concepts,” in *Alternative Fuels and Advanced Vehicle Technologies for Improved Environmental Performance* (R. Folkson, ed.), pp. 197–224, Woodhead Publishing, 2014. [21](#)
- [52] D. Alviso, G. Artana, and T. Duriez, “Prediction of biodiesel physico-chemical properties from its fatty acid composition using genetic programming,” *Fuel*, vol. 264, p. 116844, 2020. [21](#), [22](#)
- [53] M. Jahirul, M. Rasul, R. Brown, W. Senadeera, M. Hosen, R. Haque, S. Saha, and T. Mahlia, “Investigation of correlation between chemical composition and properties of biodiesel using principal component analysis (pca) and artificial neural network (ann),” *Renewable Energy*, vol. 168, pp. 632–646, 2021. [21](#)
- [54] D. Singh, D. Sharma, S. Soni, S. Sharma, and D. Kumari, “Chemical compositions, properties, and standards for different generation biodiesels: A review,” *Fuel*, vol. 253, pp. 60–71, 2019. [22](#)
- [55] M. Rehman, S. Kesharvani, G. Dwivedi, and K. Gidwani Suneja, “Impact of cultivation conditions on microalgae biomass productivity and lipid con-

## REFERENCIAS

---

- tent,” *Materials Today: Proceedings*, vol. 56, pp. 282–290, 2022. International Conference on Materials, Machines and Information Technology-2022. [22](#), [23](#)
- [56] R. Sankaran, P. L. Show, D. Nagarajan, and J.-S. Chang, “Exploitation and biorefinery of microalgae,” in *Waste Biorefinery* (T. Bhaskar, A. Pandey, S. V. Mohan, D.-J. Lee, and S. K. Khanal, eds.), pp. 571–601, Elsevier, 2018. [22](#), [23](#)
- [57] S. A. Razzak, R. A. Lucky, M. M. Hossain, and H. deLasa, “Valorization of microalgae biomass to biofuel production: A review,” *Energy Nexus*, vol. 7, p. 100139, 2022. [22](#), [25](#)
- [58] D. M. R. González, *Cultivo microalgal y análisis de la producción de metabolitos de alto valor bajo el concepto de biorrefinería*. PhD thesis, Instituto de Energías Renovables, UNAM, 2020. [23](#), [33](#)
- [59] F. E. Navarro, M. C. Damiani, P. I. Leonardi, and C. A. Popovich, “Temperature and salinity effect on tolerance and lipid accumulation in *halamphora coffeaeformis*: an approach for outdoor bioenergy cultures,” *BioEnergy Research*, vol. 15, no. 3, pp. 1545–1554, 2022. [23](#)
- [60] S. Himanshu, C. Kaumeel, S. Rajapitamahuni, G. Arup, and M. Sandhya, “Seaweed-based biostimulant improves photosynthesis and effectively enhances growth and biofuel potential of a green microalga *chlorella variabilis*,” *Aquaculture International*, vol. 29, no. 3, pp. 963–975, 2021. [23](#)
- [61] L. Bhatia, R. K. Bachheti, V. K. Garlapati, and A. K. Chandel, “Third-generation biorefineries: a sustainable platform for food, clean energy, and nutraceuticals production,” *Biomass Conversion and Biorefinery*, pp. 1–16, 2020. [23](#)

- [62] M. G. Saad, N. S. Dosoky, M. S. Zoromba, and H. M. Shafik, “Algal biofuels: Current status and key challenges,” *Energies*, vol. 12, no. 10, 2019. [24](#)
- [63] H. Vieira de Mendonça, P. Assemany, M. Abreu, E. Couto, A. M. Maciel, R. L. Duarte, M. G. Barbosa dos Santos, and A. Reis, “Microalgae in a global world: New solutions for old problems?,” *Renewable Energy*, vol. 165, pp. 842–862, 2021. [24](#)
- [64] K. Sudhakar, M. Premalatha, and M. Rajesh, “Large-scale open pond algae biomass yield analysis in india: a case study,” *International Journal of Sustainable Energy*, vol. 33, no. 2, pp. 304–315, 2014. [24](#)
- [65] B. Vázquez-Romero, J. A. Perales, J. H. de Vree, H. Böpplé, P. Steinrücken, M. J. Barbosa, D. M. Kleinegriss, and J. Ruiz, “Techno-economic analysis of microalgae production for aquafeed in norway,” *Algal Research*, vol. 64, p. 102679, 2022. [24](#)
- [66] J. A. Domínguez-Avila and G. A. González-Aguilar, “Lipids,” in *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (E. M. Yahia, ed.), pp. 273–292, Woodhead Publishing, 2019. [25](#)
- [67] J. Zhou, M. Wang, J. A. Saraiva, A. P. Martins, C. A. Pinto, M. A. Prieto, J. Simal-Gandara, H. Cao, J. Xiao, and F. J. Barba, “Extraction of lipids from microalgae using classical and innovative approaches,” *Food Chemistry*, vol. 384, p. 132236, 2022. [25](#), [27](#)
- [68] C. Russell, C. Rodriguez, and M. Yaseen, “Microalgae for lipid production: Cultivation, extraction and detection,” *Algal Research*, vol. 66, p. 102765, 2022. [26](#), [27](#), [28](#)
- [69] S. Nagappan, S. Devendran, P.-C. Tsai, S. Dinakaran, H.-U. Dahms, and V. K. Ponnusamy, “Passive cell disruption lipid extraction methods of mi-



## REFERENCIAS

---

- croalgae for biofuel production – a review,” *Fuel*, vol. 252, pp. 699–709, 2019. [26](#)
- [70] R. Halim, M. K. Danquah, and P. A. Webley, “Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review,” *Biotechnology Advances*, vol. 30, no. 3, pp. 709–732, 2012. [26](#), [27](#)
- [71] R. Ezzati, S. Ranjbar, and A. Soltanabadi, “Kinetics models of transesterification reaction for biodiesel production: A theoretical analysis,” *Renewable Energy*, vol. 168, pp. 280–296, 2021. [29](#)
- [72] C. Muthukumar, G. Sharmila, N. Manojkumar, A. Gnanaprakasam, and V. Sivakumar, “Optimization and kinetic modeling of biodiesel production,” in *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials* (S. Hashmi and I. A. Choudhury, eds.), pp. 193–201, Oxford: Elsevier, 2020. [29](#)
- [73] D. M. Ferreira, J. A. S. Silva, E. F. C. Sérvulo, V. L. A. Frescura, J. Dognini, A. A. de Melo Juste Silva, and F. J. S. Oliveira, “Valorization of solid waste from oil refining and biodiesel industries for the biorecovery of rare earth elements,” *Biomass Conversion and Biorefinery*, pp. 1–10, 2020. [29](#)
- [74] K. S. Eldiehy, P. Bardhan, D. Borah, M. Gohain, M. Ahmad Rather, D. Deka, and M. Mandal, “A comprehensive review on microalgal biomass production and processing for biodiesel production,” *Fuel*, vol. 324, p. 124773, 2022. [29](#), [30](#)
- [75] R. Nayab, M. Imran, M. Ramzan, M. Tariq, M. B. Taj, M. N. Akhtar, and H. M. Iqbal, “Sustainable biodiesel production via catalytic and non-catalytic transesterification of feedstock materials – a review,” *Fuel*, vol. 328, p. 125254, 2022. [29](#), [30](#)

- [76] S. Li, X. Li, and S.-H. Ho, “Microalgae as a solution of third world energy crisis for biofuels production from wastewater toward carbon neutrality: An updated review,” *Chemosphere*, vol. 291, p. 132863, 2022. [30](#)
- [77] A. L. S. Ortiz, *Wastewater microalgal biomass production in outdoor conditions: biofuel feedstock and nutrient removal potential*. PhD thesis, Instituto de Energías Renovables, UNAM, 2020. [34](#)
- [78] J. Del Angel-Rodríguez, L. Carreon-Palau, and M. Arjona-López, *Capítulo 6: Extracción y cuantificación de lípidos*, pp. 47–57. 03 2007. [34](#)
- [79] S. Van Wychen and L. Laurens, “Determination of total lipids as fatty acid methyl esters (fame) by in situ transesterification,” *Contract*, vol. 303, no. December, pp. 275–3000, 2013. [35](#)
- [80] X. Song, B.-F. Liu, F. Kong, N.-Q. Ren, and H.-Y. Ren, “Overview on stress-induced strategies for enhanced microalgae lipid production: Application, mechanisms and challenges,” *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 183, p. 106355, 2022. [40](#)
- [81] G. M. Figueroa-Torres, W. M. A. Wan Mahmood, J. K. Pittman, and C. Theodoropoulos, “Microalgal biomass as a biorefinery platform for biobutanol and biodiesel production,” *Biochemical Engineering Journal*, vol. 153, p. 107396, 2020. [40](#), [42](#), [45](#)
- [82] X. Zou, K. Xu, W. Chang, Y. Qu, and Y. Li, “Rapid extraction of lipid from wet microalgae biomass by a novel buoyant beads and ultrasound assisted solvent extraction method,” *Algal Research*, vol. 58, p. 102431, 2021. [40](#), [42](#), [43](#)
- [83] M. Atta, A. Bukhari, and A. Idris, “Enhanced lipid selective extraction from

## REFERENCIAS

---

- chlorella vulgaris without cell sacrifice,” *Algal Research*, vol. 20, pp. 7–15, 2016. [40](#), [42](#), [45](#)
- [84] S. S. de Jesus, G. F. Ferreira, L. S. Moreira, and R. M. Filho, “Biodiesel production from microalgae by direct transesterification using green solvents,” *Renewable Energy*, vol. 160, pp. 1283–1294, 2020. [43](#)
- [85] M. J. Ramos, C. M. Fernández, A. Casas, L. Rodríguez, and Ángel Pérez, “Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties,” *Bioresource Technology*, vol. 100, no. 1, pp. 261–268, 2009. [43](#)
- [86] R. R. dos Santos, D. M. Moreira, C. N. Kunigami, D. A. G. Aranda, and C. M. L. L. Teixeira, “Comparison between several methods of total lipid extraction from chlorella vulgaris biomass,” *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 22, pp. 95–99, 2015. [43](#), [45](#)
- [87] Z. Shokravi, H. Shokravi, A. Atabani, W. J. Lau, O. H. Chyuan, and A. F. Ismail, “Impacts of the harvesting process on microalgae fatty acid profiles and lipid yields: Implications for biodiesel production,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 161, p. 112410, 2022. [43](#)