

## Producción de biodiesel a partir de microalgas cultivadas en aguas residuales

CONDE, Carolina\*†, LÓPEZ, Antioco, AGUILAR, Karina y DÍAZ, Luis

Recibido 21 de Enero, 2015; Aceptado 12 de Marzo, 2015

### Resumen

Actualmente, se están buscando nuevas fuentes de materias primas para la generación de biocombustibles; las cuales deben caracterizarse por ser económicas, no competir directa o indirectamente con la alimentación y no generar impactos negativos en el ambiente. Una de las propuestas que está teniendo mayor interés es el uso de microalgas para generar biomasa, que pueda transformarse en biocombustibles. Por otro lado, estos microorganismos también se caracterizan por funcionar como un medio para la remediación de aguas residuales. Por esta razón, el presente trabajo tuvo por objetivo demostrar factibilidad de producir biodiesel a partir de biomasa generada en el tratamiento de agua con microalgas. Se realizó la generación de biomasa en un sistema cerrado, expuesto a luz solar. La biomasa se separó del medio en periodos de 2, 3 y 4 semanas. Se realizó el análisis de los porcentajes de aceites y proteínas de la biomasa. La masa de aceite se utilizó en la reacción de transesterificación para la obtención de biodiesel, observando satisfactoriamente la generación del biocombustible.

### Microalgas, biodiesel, biomasa y transesterificación

### Abstract

Nowday, people around of word are looking for new sources for biocombustibles production; which should be economic, envairomental and social friendly. The interes on biocombustibles production from microalgae biomass is increasing. On the other hand, microalgae can be used in wastewater trament. For this reason, the objective of this work was to show factibility of biodiesel production using biomass generated from migroalgae wastewater trament. A close system with solar light was used. The biomass was separated from the water in periods of 2, 3 and 4 weeks. The oils and proteins composition into biomass was analized. The extracted oil was used in transesterification reaction for biodiesel production, observing a success biodiesel generation.

### Microalgae, biodiesel, biomass and transesterification

**Citación:** CONDE, Carolina, LÓPEZ, Antioco, AGUILAR, Karina y DÍAZ, Luis. Producción de biodiesel a partir de microalgas cultivadas en aguas residuales. Revista de Sistemas Experimentales 2015, 2-2: 82-87

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: cconde@upfim.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Actualmente la humanidad afronta una grave problemática debido al aumento de la demanda energética mundial, el agotamiento de los combustibles fósiles, el incremento en el precio del petróleo y las dificultades ambientales causadas por los gases de efecto invernadero. La sociedad debe ocuparse para que las futuras generaciones no enfrenten el desabasto de energía. Esta situación demanda fuentes alternas de energía basadas en procesos renovables y sustentables. El uso de biomasa derivada de microalgas puede ser una de las alternativas para la generación de energía en forma de biocombustibles. Principalmente, la producción de biodiesel puede ser una tecnología ventajosa debido al elevado contenido de lípidos que algunas especies de microalgas pueden acumular. Generalmente, la obtención de este biocombustible se ha implementado a partir de plantas oleaginosas (comestibles y no comestibles). Este tipo de materiales están limitados por varios factores tales como, largos periodos de cultivo, rendimiento lipídico restringido, las condiciones climáticas, la ubicación geográfica, la fertilidad de los suelos, la superficie de cultivo requerida y el volumen de agua necesario para el riego (Endalew, Kiros, & Zanzi, 2011; Schenk et al., 2008). En el caso de la producción de biodiesel basada en microalgas, los factores mencionados no son limitantes para la generación de la biomasa. Sin embargo, para la implementación de procesos de producción basados en microalgas se requiere afrontar otros retos como la adecuada separación de la biomasa en sus tres principales componentes, lípidos, carbohidratos y proteínas. Por otro lado, las microalgas pueden emplearse en la remediación de aguas residuales, por lo que el uso de las mismas como medio de cultivo puede contribuir a la solución de dos importantes problemas, la disminución efluentes contaminados y la generación de biomasa.

Debido al interés en el desarrollo de tecnologías basadas en microalgas en el presente trabajo se ha planteado por objetivo demostrar el potencial aprovechamiento de la biomasa derivada de microalgas cultivadas en aguas residuales para la producción biodiesel. Para lograr este fin se ha implementado una metodología experimental que consta de tres principales etapas, producción de biomasa, extracción de aceite y proceso de transesterificación.

## Antecedentes

Bajo el término de microalga se incluyen aquellos microorganismos unicelulares capaces de llevar a cabo la fotosíntesis. En esta categoría quedan agrupadas las cianobacterias y las algas eucariotas. En general organismos fotoautótrofos, es decir, obtienen la energía de la luz proveniente del sol y se desarrollan a partir de materia inorgánica. Los elementos inorgánicos requeridos para el crecimiento de las microalgas son: C, O, N, P, S, Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, B, Br, Si, Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al y vitaminas. La mayoría de la especies de microalgas toleran temperaturas entre 16 y 27°C, aunque esto puede variar de acuerdo a la composición del medio de cultivo o la especie cultivada. Un valor intermedio de 18-20°C es frecuentemente empleado. La luz es la fuente de energía que promueve las reacciones fotosintéticas en las microalgas. Las microalgas crecen de manera exponencial (Zeng et al., 2015). Se inicia con la inoculación del medio, después de la inoculación las células crecen y se dividen cada vez más deprisa conforme se van aclimatando a las condiciones de cultivo. Esta fase de aclimatación, que dura de 2 a 3 días, se llama fase de inducción. Una vez que se adaptan a las condiciones, la velocidad de división celular se acelera y el crecimiento del número de células en el cultivo se hace exponencial.

Este período dura de 4 a 6 días y se denomina fase de crecimiento exponencial. La velocidad de división celular se va haciendo lenta conforme se va limitando la penetración de la luz a través del cultivo o los nutrientes. Es entonces cuando el cultivo entra en la fase estacionaria, que puede durar muchos días (Chiu et al., 2015).

El metabolismo lipídico de las algas es similar al de plantas superiores, particularmente en la biosíntesis de ácidos grasos y triglicéridos por la similitud de características bioquímicas entre ciertos genes y enzimas, de origen vegetal y algal. La composición de ácidos grasos en las microalgas incluye moléculas lineales de 12 a 22 átomos de carbono en número par, saturadas e insaturadas. En las microalgas dulceacuícolas generalmente prevalecen ácidos grasos saturados y mono-insaturados, observándose en menor proporción compuestos poli-insaturados. La mayoría de los lípidos microalgales son lípidos polares que son componentes de membrana; mientras que los triglicéridos son una reserva de ácidos grasos para la división celular, energía metabólica, mantenimiento de la membrana, síntesis y una amplia variedad de funciones fisiológicas. Los triglicéridos pueden llegar a constituir hasta el 80% del total de lípidos en microalgas eucariotas. La Tabla 1 muestra los porcentajes de lípidos contenidos en algunas especies de microalgas.

Especie	% de lípidos
Chlorella sp	57
Chlorella vulgaris	40
Chlorella vulgaris	56.6
Dunaliella sp	67
Naochioris oleoabundans	34
Botryococcus braunii	25-75
Chlorella sp	28-32
Cryptocodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp	16-37
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp	25-33
Monallanthus salina	20

**Tabla 1** Porcentaje de lípidos presentes en algunas especies de microalgas. Fuente Mata y col. (2010)

La producción de bioenergía a partir de microalgas fue contemplada desde los años cincuenta; sin embargo, a partir de la crisis energética de 1975, el potencial económico de esta tecnología fue reconocido por varios países como EUA, Japón y Australia (Huntley & Redalje, 2007; Vazquez-Duhalt & Arredondo-Vega, 1991). La producción de biodiesel a partir de microalgas es un proceso conformado principalmente por las etapas de producción de biomasa rica en lípidos, recuperación o cosecha de la biomasa, extracción de lípidos y transesterificación. Entre estas etapas la recuperación o cosecha de la biomasa es el paso limitante debido a que actualmente no se cuenta con un método eficiente a gran escala para separar la biomasa del medio de cultivo.

La transesterificación o alcoholólisis es la reacción química ocurrida entre los aceites y un alcohol (comúnmente metanol o etanol) para producir glicerol y alquil ésteres de ácidos grasos, los cuales son conocidos como biodiesel. Los principales factores que influyen en el proceso son la relación molar alcohol: triglicéridos, el tipo de catalizador (álcali, ácido, lipasas), la temperatura, el tiempo de reacción y el contenido de agua y ácidos grasos libres en la materia prima. En la actualidad, la mayoría del biodiesel es producido mediante transesterificación alcalina, a causa de su rapidez y condiciones moderadas de operación (Liu & Zhao, 2007; Sharma, Singh, & Upadhyay, 2008; Vasudevan & Briggs, 2008).

### Metodología Experimental

En este trabajo se desarrolló una metodología experimental para demostrar el potencial de producción de biodiesel a partir de aceite derivado de microalgas. Esta metodología constó de cuatro principales etapas, la generación de biomasa usando como medio de cultivo aguas residuales, la separación de biomasa del medio de cultivo, extracción de aceite y proceso de transesterificación (Fig. 1).

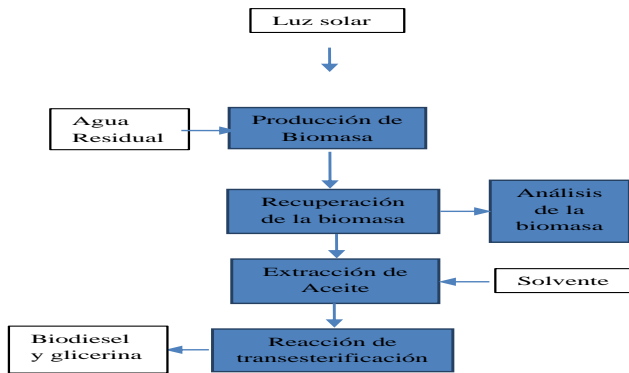


Figura 1 Metodología General

Se estimó el porcentaje de humedad que acompaña a la biomasa después de la separación del medio; para la separación se usó filtración. Así como, la estimación de los porcentajes de aceite y proteína presentes en la biomasa.

**Materiales y reactivos**

En la Tabla 2 se enlistan los materiales y reactivos utilizados en el desarrollo experimental.

**Determinación del porcentaje de humedad**

Para medir el porcentaje de humedad se tomaron dos muestras de biomasa, separadas del medio de cultivo usando filtración. Se determinaron las pesadas necesarias para el cálculo de la humedad, como se muestra en la Tabla 3. El secado de las muestras se realizó dentro de una estufa durante una hora a 75°C. El cálculo del porcentaje de humedad se realizó con la ecuación (1). Donde P<sub>mh</sub> es peso de la muestra húmeda y P<sub>ms</sub> es peso de la muestra seca.

Equipo	Reactivos
Soxhlet	Hexano
Kjendahl	Metanol
Estufa	Hidróxido de sodio
Material de cristalería	Sulfato cúprico pentahidratado
	Sulfato de potasio
	Dióxido de selenio
	Ácido bórico
	Ácido sulfúrico

Tabla 2 Lista de materiales y reactivos

Número de muestra	Peso del crisol con muestra húmeda	Peso del crisol con muestra seca	Peso de la muestra húmeda
1	66.52	62.60	4.0295
2	66.53	62.30	4.3642

Tabla 3 Datos de pesos para la determinación de humedad

$$\%Humd = \frac{P_{mh} - P_{ms}}{P_{mh}} \times 100 \quad (1)$$

**Determinación del porcentaje de proteína por el método Kjendahl**

Para la realización de este análisis se prepararon cuatro muestras de microalga seca y molida, con los pesos mostrados en la Tabla 4. Se realizó la preparación de los reactivos para la mezcla digestora en los siguientes porcentajes en peso 88.88% de sulfato cúprico pentahidratado, 8.88% de sulfato de potasio y 2.22% de dióxido de selenio. A cada muestra se añadieron 5 gr de mezcla digestora y 15 ml de ácido bórico concentrado y se dejaron en digestión durante aproximadamente 90 min hasta obtener un color verde claro, se dejaron enfriar. Después se añadieron 75 ml de agua a cada muestra para ser tratadas en el equipo Kjendahl, donde se utilizó una solución de hidróxido de sodio 1 N. Finalmente, se realizó la titulación de las muestras usando una solución de ácido sulfúrico 0.1N y rojo de metilo como indicador.

Para la estimación del porcentaje de nitrógeno se usó la ecuación (2) y para la estimación del porcentaje de proteína la ecuación (3).

Muestra	Peso de la muestra colocada
M1	0.1002
M2	0.1001
M3	0.1043 g
M4	0.1055 g
Blanco	0 g

Tabla 4 Peso de las muestras para análisis de proteína

$$\%N = \frac{(V_{\text{promedio}} - V_{\text{blanco}})Neq(N_{\text{ácido}})}{P_{\text{promedio}}} \quad (2)$$

$$\%proteína = (\%N)6.25 \quad (3)$$

### Determinación de grasa con el equipo Soxhlet

Para determinar el porcentaje de aceites presentes en las microalgas se empleó el equipo soxhlet, usando como solvente hexano y ocho ciclos de recirculación. Se ingresaron 19.5645 gramos de microalga seca, esta muestra se reunió con la separación de microalga del medio en diferentes tiempos (2, 3 y 4 semanas). Después de la extracción se usó un rota-vapor para separar el solvente. El residuo sólido generado después de la extracción se secó y pesó, obteniendo aproximadamente 11 gramos de sólidos. El porcentaje de aceite se determinó usando la siguiente relación.

$$\%aceite = \frac{P_{\text{muestra}} - P_{\text{sólidos}}}{P_{\text{muestra}}} \times 100\% \quad (4)$$

### Resultados y discusión

El crecimiento de las microalgas se observó de forma satisfactoria. La etapa de cosechado de la biomasa se vio limitada al uso de filtración convencional, dejando parte de la biomasa en el medio, debido al tamaño de la microalga (5µm). Los resultados del análisis de porcentajes de humedad, proteína y aceite se resumen en la Tabla 5. Es importante resaltar que dentro de la composición de las muestras obtenidas se encuentra un porcentaje importante de aceite, lo cual demuestra que la producción de biodiesel a partir de este tipo de microalgas tiene potencial. Con la masa de aceite obtenida se realizó la reacción de transesterificación exitosamente; en esta etapa se observó la formación de las fases de la glicerina y los alquil esteres

Componente	Porcentaje
*Humedad	97.1037
**Proteína	12.1921
**Aceite	43.7757

**Tabla 5** Resultados del análisis bromatológico de la microalga. \*Base húmeda, \*\*Base Seca

### Conclusiones y recomendaciones

Por medio de este trabajo experimental se ha demostrado que las microalgas son una alternativa interesante para obtener materia prima para biodiesel. Es posible el cultivo de microalgas ricas en aceite, usando como medio agua residual. Este tipo de microalgas pueden ser usadas en la producción de biodiesel.

Como principales recomendaciones de este trabajo se sugiere evaluar la composición de aceite en la microalga durante el periodo de cultivo para determinar el tiempo óptimo para la separación. Se requiere de la comparación y selección de métodos de separación que permitan un mejor aprovechamiento de la biomasa. Por otro lado, es necesario realizar un análisis experimental para determinar las mejores condiciones de reacción que permitan obtener el mejor rendimiento de biodiesel. Además, puede evaluarse la eficiencia de varios solventes para el proceso de extracción de aceites.

### Referencias

- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, T.-Y., Chang, Y.-B., Kuo, C.-M., & Lin, C.-S. (2015). Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource. *Bioresource Technology*, 184, 179-189.
- Endalew, A. K., Kiros, Y., & Zanzi, R. (2011). Heterogeneous catalysis for biodiesel production from *Jatropha curcas* oil (JCO). *Energy*, 36(5), 2693-2700.
- Huntley, M. E., & Redalje, D. G. (2007). CO<sub>2</sub> mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. *Mitigation and adaptation strategies for global change*, 12(4), 573-608.

Liu, B., & Zhao, Z. K. (2007). Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82(8), 775-780.

Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 217-232.

Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Hankamer, B. (2008). Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy research*, 1(1), 20-43.

Sharma, Y., Singh, B., & Upadhyay, S. (2008). Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. *Fuel*, 87(12), 2355-2373.

Vasudevan, P. T., & Briggs, M. (2008). Biodiesel production—current state of the art and challenges. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(5), 421-430.

Vazquez-Duhalt, R., & Arredondo-Vega, B. O. (1991). Haloadaptation of the green alga *Botryococcus braunii* (race A). *Phytochemistry*, 30(9), 2919-2925.

Zeng, X., Guo, X., Su, G., Danquah, M. K., Zhang, S., Lu, Y., Lin, L. (2015). Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 1385-1392.