

XV SIMPOSIO ELECTRONICO INTERNACIONAL

La producción de Biocombustibles con eficiencia, estabilidad y equidad

OCTUBRE 2007

MICROALGAS: POTENCIALES PRODUCTORAS DE BIODIESEL

Isabel Albarracín *

INTRODUCCION

Las microalgas constituyen un grupo muy diverso de organismos unicelulares que comprenden a protistas eucarióticos y a cianofíceas del reino procariótico. Se consideran uno de los grupos de organismos más versátiles en términos de su tamaño, forma y función ecológica (Vonshak, 1990). De la misma manera que las plantas, convierten la energía solar en energía química mediante la fotosíntesis.

Forman la base de la cadena alimenticia para más del 70% de la biomasa mundial, y se consideran maquinarias fotosintéticas generadoras de pigmentos con una adaptación ecofisiológica y plasticidad bioquímica única; lo que les permite la bioconversión directa de la energía solar en compuestos químicos, bajo una variedad de condiciones medioambientales y a una velocidad mayor que cualquier otra fuente vegetal (Paniagua-Michel J, 1994).

Además de ser productoras primarias de los ambientes acuáticos, estos microorganismos fotosintéticos son útiles en aplicaciones de biorremediación (Maestrini y col. 1984; Peña y col. 2004; Joseph y col 2001; Hernández y col.2006), y como biofertilizantes fijadores de nitrógeno (Cano y col. 1993; Prospero y col. 1993, 1994, 1996; Olvera Ramírez y col. 1994; Zaccaro y col. 1999).

Poseen un gran potencial como fuente de varios productos químicos tales como polisacáridos, lípidos y pigmentos que sirven de base a la industria química (Olvera y col. 2000; Tredici, 2002). Y se constituyen en fuente directa de alimento, medicamentos, forraje, fertilizantes y combustible (Borowitzka, 1999; Lebeau y col. 2003; Melis, 2005; Guschina y col. 2006; Spolaore y col., 2006).

Hoy es indiscutible la importancia económica de las microalgas, que a diferencia de las plantas superiores, contienen relativamente pequeñas cantidades de material estructural y muchos de los componentes celulares son de reconocido valor económico. Contienen una gran cantidad de pigmentos esenciales que bajo la acción de la luz solar y de sustancias inorgánicas simples como dióxido de carbono, compuestos nitrogenados y fosforados, a través del proceso fotosintético son transformados en compuestos orgánicos complejos como carbohidratos, lípidos, proteínas, etc., que posteriormente se acumulan en las células y en los tejidos de los organismos simples y superiores. Por el proceso de fotosíntesis también regulan el contenido de oxígeno y dióxido de carbono en la atmósfera, colaborando en el control del efecto invernadero, las lluvias ácidas y el adelgazamiento de la capa de ozono. (Travieso y Benítez, 1998).

PROPIEDADES PARTICULARES DE LAS MICROALGAS

Medianamente la biomasa está constituida por 20-30% de lípidos, de 40-50% de proteínas y de la parte restante subdividida entre los carbohidratos, que en algunas especies pueden llegar hasta el 55% de la biomasa, y otros compuestos de importancia menor (Borowitzka 1988, Benemann y col. 1998; Spolaore y col., 2006). Se constituyen así en el producto del más eficiente estado de producción de biomasa en el ciclo de la naturaleza, siendo reconocidas como un excelente recurso medioambiental y biotecnológico. Constituyen una de las alternativas más atractivas entre los microorganismos por varias razones:

- En contraste a la mayoría de las bacterias y el total de los hongos y levaduras, las microalgas por su capacidad fotosintética pueden alcanzar grandes rendimientos solamente con energía solar adecuada y una fuente de carbono como el CO₂ o bicarbonatos, además de nutrientes de fácil disponibilidad. (Olguín, 1984; Apt y Behrens, 1999).
- Algunas especies están también en condición de crecer sobre sustrato orgánico, en presencia o ausencia de luz (Travieso y Benítez, 1998; Apt y Behrens, 1999; Miao y Wu, 2006). La capacidad de estos microorganismos de poder crecer en ambientes diferentes y adversos a muchos otros organismos vegetales, es debido a la variedad excepcional de lípidos y de otros compuestos inusuales, que están en condiciones de sintetizar (Guschina y Hardwood, 2006).
- Entre los distintos grupos de organismos fotosintéticos, las microalgas resultan ser uno de los más eficientes en utilizar la energía solar. Por lo general, las plantas superiores presentan una

eficiencia fotosintética alrededor del 2% o también menos. Las microalgas, gracias a su simplicidad estructural tienen una eficacia fotosintética claramente superior y según las condiciones ambientales y de cultivo, pueden alcanzar hasta 4-8%. Así por ejemplo, se tienen estimaciones de productividades tan altas como 60-80 ton. de peso seco / ha/ año; en contraste con cultivos convencionales que producen del orden de 10-30 ton/año (Olguín, 1984; Kojima y Lee,2001; Salazar González, 2006). Esta característica las hace extremadamente productivas.

- Las microalgas son convertidores mucho más eficientes de la energía solar que cualquier planta terrestre conocida, porque crecen en la suspensión donde tienen el acceso ilimitado al agua y acceso más eficiente al CO₂ y a los nutrientes (Salazar González, 2006)
- En general, los cultivos en gran escala son más simples y baratos.
- De importancia particular es que las microalgas pueden ser cultivadas todo el año, y cosechadas continuamente
- Pueden crecer en tierras marginales en las regiones áridas del mundo, en ambientes salinos e hipersalinos de baja calidad o en aguas residuales cargadas de nutrientes, que no son buenas para la irrigación agrícola o el consumo para los seres humanos o los animales (Derner y col. 2006).
- y los cultivos de esa manera no compiten con la agricultura tradicional por cantidad o calidad de suelos. (Thomas, 1983; Ciferri y Tiboni, 1985; Hall, 1986; Richmond, 1986c).
- Los cultivos algales también tienen una consumición del agua, más baja que la requerida por los cultivos tradicionales (Heussler, y col., 1978c; Vieira Costa, 2004). Si uno considera que el agua usada se puede utilizar luego para la irrigación, los cultivos algales son aún más ventajosos
- Las microalgas crecen al igual que las bacterias, es decir, de manera exponencial. Es un crecimiento muy rápido, ningún vegetal terrestre da un crecimiento de ese tipo. Las plantas necesitan un tiempo más prolongado. (Derner y col. 2006).
- Por ser organismos unicelulares, su biomasa entera posee los productos de interés, a diferencia de las plantas superiores en las que los productos recuperables se encuentran en sitios u órganos específicos, lo que dificulta su extracción. Debido a esto, la inducción fisiológica para la producción de compuestos de interés comercial como proteínas, lípidos glicerol, pigmentos, enzimas y biopolímeros es fácilmente realizable (Cohen, 1993; Richmond, 1986; Romero y col. 2001; Romero y Otero, 2004; Derner y col. 2006).

- Se constituye así en un valioso recurso medioambiental y biotecnológico (Ciccarone, 1997, Albarracín y col. 2004, Albarracín y col 2005; Gigena y col., 2004; Salomón y col. 2005).
- Otra ventaja que tienen las microalgas es que su cultivo no requiere el uso de los pesticidas y herbicidas que deben usarse con los vegetales terrestres para alejar plagas (Vieira Costa, 2004)

Reconociendo estas valiosas propiedades, se iniciaron diferentes líneas en el campo de la investigación aplicada de microalgas, desde las década del 40 y que estuvieron influenciadas por factores socioeconómicos de cada época.

-A partir de la escasez de alimento en el mundo, entre 1935-1940, surge el interés de desarrollar sistemas algales tendientes a encontrar nuevas fuentes de proteínas. Entre las diferentes fuentes no convencionales de proteínas, las microalgas probablemente tengan la más larga historia. Durante la II Guerra Mundial científicos alemanes empezaron a cultivar microalgas masivamente para obtener lípidos y proteínas, reconociendo a la biomasa algal como un suplemento alimentario importante. (Venkataraman y col. 1985)

Además, las microalgas juegan desde los años 40 un papel importante en acuicultura (Goldman 1979^a, Soeder, 1986)

Consecuentemente, ya en los años 60, fue notable el éxito obtenido con la producción comercial del Chlorella en Japón y Taiwán como alimento natural (Soong, 1980; Lee, 1997).

-Entre los años 1965-1980, es la calidad del medio ambiente la motivación del cultivo de microalgas. Así es como en los problemas de contaminación ambiental y reciclaje de residuos, se comprueba que las microalgas pueden jugar un papel importante en la transformación de la materia orgánica de las aguas residuales en biomasa y agua tratada que puede utilizarse para riego (Shelef y col, 1978). También en los años 60 el interés creció por desarrollar los sistemas de ayuda de vida extraterrestres. (De La Noue y col 1988)

-En los años 70, la atención fue la producción de la biomasa microalgal para fertilizantes (Metting, 1985, Venkataraman, 1986), y combustibles La crisis del petróleo que elevó los costos de energía direccionó la investigación hacia la producción de combustibles utilizando fuentes alternativas como la aplicación biológica de la energía solar. Dado que constituyen un eficiente sistema de utilización de la energía solar, existe un interés continuo en la tecnología de la producción microalgal (Benemann y col, 1977, 1998).

-En los años 80 la nueva tendencia fue utilizar las microalgas para la obtención de biomoléculas de alto valor agregado (Paniagua-Michel y col, 1995; Spolaore y col., 2006).

POTENCIAL DE LA MICROALGAS PARA BIODIESEL

Actualmente, los altos precios mundiales de los combustibles sumados a los graves perjuicios ambientales por emisión de dióxido de carbono (CO₂) ha

motivado el resurgimiento del interés de los especialistas, por los biocombustibles como alternativas energéticas a los combustibles fósiles.

Y entre las opciones más prometedoras se encuentran las microalgas como fuente de energía.

Se ha demostrado que la biomasa de las microalgas puede proporcionar diversos productos ricos en energía. Éstos incluyen metano producido por la digestión anaeróbica de la biomasa, biodiesel derivado de aceite microalgal, y biohidrógeno producido fotobiológicamente (Benemann y col. 1977, 1986, 1998; Cohen, 1986, Melis 2002)

Las materias primas utilizadas habitualmente en la producción de biodiesel provienen principalmente de plantas oleaginosas como maíz, girasol, soja, coco, palma, jatropha, colza o canola; de grasas animales, aceites de fritura, (Vieira Costa, J.A. 2004)

Pero como lo señala Chisti (2007), para reemplazar todo el combustible de transporte consumido en los Estados Unidos con biodiesel son necesarios 0.53 mil millones m³ de biodiesel anual; por lo que ni los cultivos de oleaginosas convencionales, ni aceite de fritura, ni grasa animal, alcanzan para satisfacer esta demanda.

Reunir solo la mitad de biodiesel que necesita el transporte existente en EE.UU, requiere de grandes áreas de cultivo para producir mayor cantidad de oleaginosas.

Por ejemplo en el caso del aceite de palma, y jatropha, plantas de buen rendimiento, necesitarían que el 24 % y 45 % del total de tierra respectivamente, esté dedicado a su cultivo para cubrir solamente 50 % de la necesidad de combustible de transporte.

Es evidente que en un futuro inmediato la contribución de los cultivos de oleaginosas no alcanzará para reemplazar los combustibles líquidos.

Por lo que algunas compañías están intentando comercializar biodiesel a partir de la biomasa algal obtenida en cultivos (Knothe y col., 1997; Lee, 1997).

Si se logra implementar más el uso microalgas para producir biodiesel, entre 1 y 3 % del total de área de cultivo de los EE.UU. serían suficientes para producir la biomasa que satisfaga el 50 % del combustible que necesita el transporte (Sheehan y col. 1998). Y su cultivo no comprometería la producción de alimento, forraje y otros productos.

Lípidos en las microalgas

Dependiendo de las especies, las microalgas producen diferentes tipos de lípidos, hidrocarburos y otros aceites complejos (Álvarez Cobelas y Zarco Lechado, 1989; Guschina y Harwood, 2006), de los cuales no todos son adecuados para hacer biodiesel.

El contenido de aceite en microalgas puede exceder el 80 % de peso de biomasa seca (Kyle, 1991; Brown y col., 1993; Spolaore y col. 2006), y los niveles del 20 al 50 % son bastante comunes como puede observarse en la tabla (Chisti, 2007).

Contenido de aceite de algunas especies de microalgas

Especies	Contenido de aceite (% peso biomasa seca)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptothecodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	20
<i>Nannochloris</i> sp	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia</i> sp	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp	50–77
<i>Tetraselmis suecica</i>	15-23

Los lípidos de las microalgas son principalmente ésteres de glicerol formados por ácidos grasos con cadenas constituidas de 14-20 átomos de carbono. Estos ácidos grasos pueden ser saturados o insaturados, y es justamente la presencia de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) como: ácido eicosapentaenoico (20:5 ω -3), ácido arachidónico (20:4 ω -3), ácido linoleico (18:2 ω -6) y ácido linolénico (18:3 ω -3) que hacen extremadamente interesante el cultivo de estos microorganismos. En relación a los principales efectos, estos ácidos tienen importantes aplicaciones terapéuticas: reducción del colesterol en sangre, protección frente a las enfermedades coronarias y cardiovasculares, disminución de procesos inflamatorios crónicos, mejoría de la visión, favorecimiento del desarrollo neurológico infantil. Aumentar su contenido dentro de la célula resulta por lo tanto, interesante para algunos empleos comerciales. Los triglicéridos son los lípidos de reserva por excelencia, pudiendo llegar a constituir hasta el 80% del total de la fracción lipídica total (Borowitzka, 1988) Y se acumulan principalmente en forma de gotitas de aceite en el interior del citoplasma. Las otras clases de lípidos están representadas principalmente por lípidos polares que son componentes importantes de la membrana citoplásmica y la membrana tilacoidal que constituyen los cloroplastos. Entre los lípidos polares encontramos los fosfolípidos y galactolípidos en porcentaje variable según las especie.

La cantidad total de lípidos, así como la tipología de los ácidos grasos presentes, además de ser específica para cada especie, está ligada a factores ambientales como la intensidad luminosa, pH, salinidad, temperatura, concentración de nitrógeno y otros nutrientes en el medio de cultivo (Alvarez Cobelas, 1989).

Modificando uno o más de estos parámetros, el alga reacciona modificando su perfil químico. Por ejemplo la deficiencia de elementos nutritivos como el nitrógeno limita la capacidad de crecimiento de las microalgas imposibilitando la síntesis de proteínas; pero en el caso de algunas especies como *Nannochloropsis sp* la carencia de nitrógeno es una condición imprescindible para obtener en tiempos relativamente breves, un aumento importante del contenido lipídico celular, que no se da igual en todas las clases de lípidos. Generalmente se tiene un aumento más substancial de los triglicéridos con respecto a los lípidos de membrana (Guckert y Cooksey, 1990; Schneider y Roessler, 1994).

La senescencia también ha demostrado ser un elemento importante en la determinación porcentual del contenido de lípidos en la célula (Borowitzka, 1988).

Producción de biomasa microalgal

El incremento de los triglicéridos respecto a todas las otras fracciones lipídicas es a lo que se apunta cuando las microalgas se usan como biomasa para la producción del biodiesel. El producto de partida de la transesterificación son los triglicéridos.

Si bien el cultivo de microalgas a nivel industrial estaba bien desarrollado ya en los años 40, es en la dos últimas décadas que se han intensificado las investigaciones tendientes a mejorar los sistemas de producción (Borowitzka, 1999; Lee, 1997,2001;Tredici, 2004).

Hay dos diseños básicos para la producción a gran escala de estos microorganismos: sistemas abiertos tipo carrusel, en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y los sistemas cerrados denominados fotobiorreactores (Acién Fernández y col.1998; Tredici y col. 1998; Chini Zittelli y col.1999; García Camacho y col 1999; Molina Grima y col. 2000; Tredici, 2001, 2004; Sánchez Mirón y col. 2002, 2003; Contreras Flores y col. 2003).

Los sistemas abiertos tipo carrusel pueden ser construidos de diferentes materiales (concreto, plásticos, arcillas revestidas) y están constituidos por canales poco profundos con un nivel de agua que no supera 15-20cm, en forma de circuito cerrado. Las piletas están divididas en dos o más pasillos por tabiques de concreto El medio de cultivo es impulsado mediante paletas rotatorias que permiten alcanzar densidades celulares de hasta 0,7g de células (base seca) por litro. Generalmente ocupan grandes áreas de terreno (500-5000m²) (Borowitzka, 1999; Contreras Flores y col. 2003; Tredici, 2004).

Si bien los carruseles cuestan menos para construir y operar, la baja densidad celular origina varios inconvenientes, incluyendo baja productividad, fácil contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura (Chisti, 2007).

Estos inconvenientes estimularon el desarrollo de fotobiorreactores construidos con materiales transparentes como vidrio y policarbonato, entre otros. Y a diferencia de los carruseles abiertos, los fotobiorreactores permiten esencialmente cultivos unialgales por períodos prolongados. (Molina Grima y col., 1999; Tredici, 1999).

Los primeros fotobiorreactores fueron propuestos por Pirt y col., (1983), y Torzillo y col., (1986). Y permitieron establecer cultivos de alta densidad celular, 3 o más veces en comparación con los sistemas convencionales de carrusel.

Esto tiene ventajas como 1) facilidad para cosechar la biomasa, 2) mantenimiento del cultivo sin contaminación, 3) mejor control de las condiciones de cultivo y 4) menor inversión de capital en el fotobiorreactor. Este último factor es un elemento importante en el costo de producción de productos derivados de microalgas (Contreras Flores y col. 2003). Además los fotobiorreactores proveen mucho más rendimiento de aceite por hectárea comparado con los carruseles. (Chisti, 2007)

Ambos métodos de producción son técnicamente factibles; y las instalaciones para la producción usando unidades de fotobiorreactores y carruseles de dimensiones similares han sido efectivamente usadas en operaciones comerciales (Spolaore y col., 2006; Chisti, 2007).

También para los fotobiorreactores, hay una variada gama de modelos que en el curso de los años han sido desarrollados y testeados (Borowitzka, 1999; Contreras-Flores 2003; Spolaore y col., 2006).

Para la recuperación de la biomasa algal del cultivo se han planteado diferentes métodos: centrifugación, floculación y sedimentación, filtración, microfiltración y ultrafiltración. (Molina Grima y col. 2004; Chisti, 2007).

La tecnología elegida depende de la especie con la cual se está trabajando.

Requisitos de aceptación del biodiesel de microalgas

El biodiesel obtenido a partir de microalgas necesita cumplir con estándares existentes según el país. En los Estados Unidos el estándar relevante es el ASTM Biodiesel D estándar 6751 .Y en la Unión Europea, existen estándares separados para el biodiesel destinado al uso del vehículo (EN estándar 14214) y para el uso como aceite de calefacción (EN estándar 14213) (Knothe, 2006).

Por su composición, varios aceites microalgales tendrían dificultad para cumplir con los estándares europeos del biodiesel. Se diferencian de la mayoría de los aceites vegetales en ser bastante ricos en ácidos grasos poliinsaturados con cuatro ó más dobles enlaces (Belarbi y col. 2000). Pero este grado de insaturación y su contenido de ácidos grasos con más de 4 dobles enlaces se puede reducir por la hidrogenación catalítica parcial del aceite (Jang y col., 2005), la misma tecnología que se usa comúnmente en la fabricación de margarina a partir de aceites vegetales.

Aspectos económicos de la producción de biomasa algal

Según Chisti (2007), en la comparación de fotobiorreactores y carruseles para la producción de biodiesel de microalgas, el costo de producir la biomasa es el factor relevante. Se estima que el costo de producción de un kilogramo de biomasa microalgal es \$2.95 para los fotobiorreactores y \$3.80 para los carruseles respectivamente. Estas estimaciones asumen que el dióxido de carbono está disponible sin ningún costo. (Molina Grima y col., 2003). Si la capacidad de producción anual de biomasa se aumenta a 10.000 t, el costo de producción por kilogramo se reduce a aproximadamente \$0.47 y a \$0.60 para fotobiorreactores y carruseles.

Suponiendo que la biomasa contiene 30% de aceite en peso, el costo de biomasa para proporcionar un litro de aceite sería algo así como \$1.40 y \$1.81 para los fotobiorreactores y los carruseles, respectivamente.

En comparación con esto, durante 2006, el aceite de palma crudo, que es probablemente el aceite vegetal más barato, se vendió a un precio promedio de \$ 0.52/L.

Mientras que en los Estados Unidos durante 2006, el precio promedio del petrodiesel excluyendo los impuestos y la distribución era de \$ 0.49/L. El biodiesel del aceite de palma cuesta aproximadamente \$0.66/L, o 35% más que el petrodiesel. Esto sugiere que el proceso de conversión del aceite de palma en biodiesel agrega alrededor de \$0.14/L al precio del aceite. Para que el biodiesel proveniente del aceite de palma sea competitivo con el petrodiesel, no debería exceder \$0.48/L, asumiendo una ausencia de impuesto sobre el biodiesel.

De la misma manera, un precio razonable para el aceite de microalga debería ser \$0.48/L para que el diesel algal sea competitivo con el petrodiesel. El objetivo estratégico es por cierto reducir el costo de producción del aceite algal desde alrededor de \$2.80/L a \$0.48/L.

Los aceites de microalgas se presentan como potenciales sustitutos para reemplazar el petrodiesel. Pero necesita aproximar su costo al precio del crudo. Para ello se plantea una estrategia productiva basada en la optimización de las microalgas a través de la ingeniería genética, avances en ingeniería de fotobiorreactores y en la biorefinería (Chisti,2007)

Una biorefinería microalgal puede simultáneamente producir biodiesel, forraje, fertilizantes, biogás y energía eléctrica. La extracción de otros productos de alto valor relacionados con la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia, podría ser factible, dependiendo de las especies de microalgas usadas (Sánchez Mirón y col. 2003).

Conclusión

El agotamiento de los recursos y el incremento en el precio de los combustibles fósiles hacen de los recursos renovables una alternativa interesante.

En el caso de la producción de biodiesel, se emplean especies vegetales como materias primas; sin embargo, las microalgas han demostrado sus potencialidades y varias ventajas en relación a los vegetales superiores.

Por sus características particulares de crecimiento, brindan la oportunidad de utilizar fuentes de tierra y agua que hoy en día son inadecuados para realizar los cultivos alimenticios convencionales, siendo capaces de producir más de 25 veces la cantidad de aceite (por año por unidad de área de tierra) cuando se la compara contra las mejores fuentes terrestres productoras de aceite.

Es así que se presentan como un complemento antes que como competencia para otras tecnologías de combustibles basadas en biomasa

La economía de producir biodiesel de microalga tiene que mejorar considerablemente para hacerlo competitivo con el petrodiesel.

El reto es encontrar las especies de microalgas capaces de producir la mayor cantidad de aceites para obtener el biocombustible.

Para ello, se deben intensificar los estudios tendientes al mejoramiento de las especies productoras de aceites a través de la biología molecular, la ingeniería genética, y la posibilidad de una estrategia productiva basada en el concepto de biorefinería, que permita obtener biodiesel, y utilizar la biomasa residual para subproductos.

Desde el punto de vista ambiental la tecnología basada en el cultivo de microalgas, contribuye a la disminución del calentamiento global generando un eficiente sistema de depuración de CO₂.

* Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB, Trelew, Chubut, Argentina.
Estación de Fotobiología. Playa Unión. CONICET.

BIBLIOGRAFÍA

Ación Fernández, F. G.; Garcia Camacho, J. A.; Sánchez Perez, J. M.; Fernández Sevilla; Molina grima, E. 1998. Modelling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures. Effects of dilution rate, tube diameter and solar irradiance. *Biotechnology and Bioengineering*. 58 : 605-616.

Albarracín, I.; Prospero, C.; Malerba, M. 2004. Bioensayos con *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda* como indicadoras de eutrofización: Respuesta de ambas especies en condiciones controladas de cultivo. *Revista cubana de Investigaciones Pesqueras*. ISSN Cuba 0138-8452. Número Especial.

Albarracín I., Cravero M., Romero T. 2005 Observaciones preliminares sobre crecimiento de *Chlorella vulgaris* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut. Argentina.)*Revista AGUA- Tecnología y Tratamiento- Saneamiento Ambiental*. ISSN 0325-6235. 30 (155): 63-70.

Apt, K. E.; Behrens, P. 1999. Commercial developments in microalgal biotechnology. *J. Phycol.* 35: 215-226.

Alvarez Cobelas, M.; Zarco Lechado, J. 1989. Lipids in Microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas y Aceites*. Vol.40, fasc. 2: 118-145

Alvarez Cobelas, M. 1989. Lipids in Microalgae. A review II. *Environment. Grasas y Aceites*. Vol.40, fasc. 3: 213-223

Belarbi, E. H.; Molina, E.; Chisti, Y. 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Enzyme Microb. Technol.*, 26, 516-529

Benemann J.R.; Weissman, J.C.; Koopman, B.L.; Oswald, W.J. 1977. Energy production by microbial photosynthesis. *Nature*, 268: 19-23.

Benemann, J.R.; Weissman, J.C.; Goebel, R.P.; Augenstein, D.C. 1986. Microalgae fuel economics. In *Algal Biomass Technologies*. Barclay and McIntosh (Eds). Nova hedwigia Beih, 83, J. Cramer. Berlín. p. 176-191.

Benemann J.R., Dunahay T., Roessler P., Sheehan J., 1998. A look back at the U.S Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from Algae. *National Renewable Energy Laboratory*, Golden, Colorado, U.S.

Borowitzka M.A., 1988. Fats, Oils and Hydrocarbons. Micro-Algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge,UK.p.257-287

Borowitzka M.A. ; Borowitzka, L.J. 1990. Algal biotechnology. In Biology of marine plants. Ed. by M. Clayton and R.J. King. p.386-98.

Borowitzka M.A. 1999. Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. In: Cohen Z, editor. Chemicals from microalgae. Taylor & Francis. p. 313-52

Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds,tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology 70: 313-321

Brown, L.M., Sprague, S., Jarvis, E.E., Dunahay, T.G., Roessler, P.G., Zeiler, K.G. (1993). *Biodiesel From Aquatic Species Project Report: FY 1993*, [Online]. Available: <http://www.nrel.gov/docs/legosti/old/5726.pdf> .

Cano, M.; Zaccaro de Mulé, M. C.; Caire, G.; Halperin, D.1993. Biofertilization of rice plants with the cyanobacterium *Tolypothrix tenuis* (40d). Int. J. Exp. Bot. (Phyton) 54 (2): 149-155.

Chini Zittelli, G.; Lavista, F.; Bastianini, A.; Rodolfi, L.; Vincenzini, M.; Tredici, M. R. 1999. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. *J. Biotechnol.* 70: 299-317.

Chisti,Y. 2007. Biodiesel from microalgae *Biotechnology Advances* 25 : 294–306

Ciccarone P. 1997. Uso de microalgas para depuración de efluentes de plantas pesqueras en Rawson, Chubut. Argentina. Seminario de Licenciatura. Directora: Isabel Kreibohm de Paternoster, I.; Codirectora: Isabel Albarracín.

Ciferri, O. ; Tiboni, O. 1985. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*, *Ann. Rev. Microbiol.*, 39, 503-526 .

Cohen, Z.M 1986. Products from microalgae. En: Richmond, A (Ed) Handbook of microalgal mass culture. CRC Press Boca Raton Florida p.. 421-54

Cohen,Z.,M. Reungjitchachawali, W. Siangdung & M.Tanticharoen 1993 Production and partial purification of gamma-linolenic acid and some pigments from *Spirulina platensis* *J.appl.Phycol.* 5: 109-115.

Cohen Z.,M. 1999. Chemicals from Microalgae. ed. Cohen Z.

De La Noue, J. ; De Pauw, N. 1988. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotech. Adv.* Vol. 6, pp. 725-770.

Derner, B. R.; Ohse, S.; Villela, M.; Matos de Carvalho, S. ;Fett, R. 2006. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciencia Rural*, Santa María. vol36, N°6: 1959-1967

- García Camacho, F. ; A. Contreras Gómez; F. G. Acién Fernández; J. Fernández Sevilla; E. Molina Grima. 1999. Use of concentric-tube airlift photobioreactors for microalgal outdoor mass cultures. *Enzyme and Microbial Technology* 24:164–172.
- Gigena, M. 2003. Detección de la capacidad bioestimulante de extractos de *Chlorella vulgaris* en la germinación de semillas de *Avena sativa*. Seminario de Tecnicatura. Directora: Isabel Albarracín; Codirector: Ing. Jorge Salomone.
- Goldman, J. 1979b. Outdoor algal mass cultures. II. Photosynthetic yield limitations, *Water Res.*, L3, 119-136
- Guschina I.A., Harwood L.J., 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Progress in Lipid Research*, 45:160-186.
- Hall, D.O. 1986. The production of biomass: a challenge to our society. In *Handbook of Microbial mass culture*, Richmond (Ed). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida. p. 1-24 .
- Jang, E.S; Jung, M.Y, Min, D.B. 2005. Hydrogenation for low trans and high conjugated fatty acids. *Comp Rev Food Sci Saf*; 4: 22–30.
- Joseph, V.; Joseph, A. 2001. Microalgae in Petrochemical Effluent: Growth and Biosorption of Total Dissolved Solids. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 66: 522–527
- Kyle, D. J. 1991, Specialty oils from Microalgae: new perspectives. In: *Biotechnology of Plant Fats and Oils*. J. Rattray (ed) American Oil Chemists Society. Champaign, Illinois. Cap.8: 130-143
- Knothe G, Dunn RO, Bagby MO. 1997. Biodiesel: the use of vegetable oils and their derivatives as alternative diesel fuels. *ACS Symp Ser* .666:172–208.
- Knothe G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. 2006. *J Am Oil Chem Soc.* 83: 823–33.
- Kojima, H.; Lee Y- K. 2001. *Photosynthetic microorganisms in Environmental Biotechnology*. Springer-Verlag. Hong-Kong. 310p
- Lebeau, T. ; Robert, J. M. 2003. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part I: Cultivation at various scales. *Appl Microbiol Biotechnol* 60 : 612–623.
- Lee, Y-K. 1997. Commercial production of microalgae en the Asia-Pacific rim. *Journal of Applied Phycology* 9: 403-411
- Lee, Y-K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology* 13: 307-315

Maestrini, S. Y.; Bonin, D. J.; Droop, M. R. .1984. Phytoplankton as indicators of seawater quality: bioassay approach and protocols. In Shubert Elliot (ed.). *Algae as Ecological Indicators*. Academic Pres. Inc.(London) LTD: 71 –132

Melis, A. 2002. Green algae hydrogen production: progress, challenges and prospects. *Int J. Hydrogen Energy*. 27: 1217-28

Melis, T. 2005. Integrated Biological Hydrogen Production Proceedings International Hydrogen Energy Congress and Exhibition IHEC .Istanbul, Turkey, 13-15 July 2005

Metting,B. 1985. Agronomic uses of algae, *Appl. Phycol. Forum*, 2: 11.

Miao, X. ; Wu, Q.2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*, Volume 97, Issue 6.pp 841-846

Molina, E.; Ación Fernández, F.G.; García Camacho, F.; Camacho Rubio, F.; Chisti, Y. 2000. Scale up of tubular photobioreactors. *Journal of applied Phycology*. 12: 355-368

Molina Grima E, Belarbi E-H, Ación Fernández FG, Robles Medina A, Chisti Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol Adv*; 20:491–515.

Molina Grima E., Acien Fernandez F.G., Robles Medina A. 2004. Downstream processing of cell-mass and products. In: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Richmond A. ed. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. pp. 215-251.

Olguin E. 1984. Microalgae biomass as source of chemicals, fuels, and proteins. In sixth Australian Biotechnology Conference. University or Queensland, St. Lucia Brisbane.

Olvera-Ramírez, R.; García C. M. T. 1994. Aislamiento y Caracterización de cianobacterias fijadoras de nitrógeno y su uso como biofertilizante. *Memorias del Ciclo de Conferencias México-Cuba*.

Olvera-Ramírez, R.; Cañizares-Villanueva, R. O.; Ríos-Leal, E. 2000. Extracción de pigmentos naturales a partir de microalgas y cianobacterias y su posible aplicación industrial. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*. 46 (1).

Paniagua-Michel, J. 1994. Biotecnología microalgal y obtención de productos químicos y alimenticios. *Serie científica, U.A.B.C.S. N° Especial 2(1)*. pp. 109-117.

Paniagua-Michel, J.; Sasson, A. 1995. Moléculas de microalgas de importancia económica. En *Manual de métodos ficológicos*. K.Alveal y otros (eds). Universidad de Concepción. Concepción. Chile. Pp 297-310.

- Peña Castro, J.M.; Martínez Jerónimo, F.; Esparza García, F.; Cañizares Villanueva R.O. 2004. Heavy metals removal by the microalga *Scenedesmus incrassatulus* in continuous cultures. *Bioresource Technology* 94 : 219–222
- Pirt S.L; Lee Y.K; Walach M.R; Pirt M.W; Balyuzi H.H; Bazin M. J. 1983. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 33B: 35-38.
- Prosperi, C. H.; Fernández - Valiente, E. 1993. Influence of pH, light intensity and oxygen on the short-term effect of ammonium on nitrogenase activity of cyanobacteria from rice fields. *Environmental and Experimental Botany.* 33 (4) : 545 –552.
- Prosperi, C. H.; Fernández - Valiente, E. 1994. Environmental factors regulating the effect of ammonium on nitrogenase activity in cyanobacteria from rice fields. In Hegazi et al. *Biological Nitrogen Fixation with lagunes*. The American University in Cairo Press. Cairo. Egypt : 111 – 116.
- Prosperi, C.; Pons, S. and Maggi, M. 1996 Ecological aspects of Cyanobacteria from the rice fields of Corrientes (Argentina). En: Rahmann et al.: *Biological nitrogen fixation associated with rice production*. Kluwer Press (Dordrecht, Holanda)
- Richmond, A. 1986c. Microalgae of economic potential. In *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*, Richmond (Ed), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 199-243
- Richmond, A. 1996. Microalgaculture. *CRC Critical Reviews in Biotechnology.* 4:369-438.
- Romero, T. y Suárez, G. 2001. Resultados orientados al uso de *Chlorella* sp. cultivada en aguas residuales de la Industria Pesquera Cubana. Compacto ISSN de II Taller Internacional CONyMA'2001.
- Romero T. y Otero, C. 2004. *Chlorella* spp. desarrollada en los efluentes de la industria pesquera para alimentar *Brachionus plicatilis*. *Revista Electrónica de Veterinaria (REDVET)*. Especial Monográfico Acuicultura. Vol. V (2).
- Salazar González, M. 2006. Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *Contactos* 59: 64-70
- Salomón, R., I. Albarracín y G. Pío 2005 Sensibilidad de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda* a la Cipermetrina. Fase preliminar [En línea] <http://www.sertox.com.ar/retel/n07/n04.pdf>
- Sánchez Mirón, A.; Cerón García, M. del C.; García Camacho, F.; Molina Grima, E.; Chisti, Y. 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors:

studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 1015-11023.

Sánchez Mirón A, Cerón García M-C, Contreras Gómez A, García Camacho F, Molina Grima E, Chisti Y. 2003. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. *Biochem Eng J*;16:287–97

Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. (1998). *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae*, [Online]. Available: <http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf>

Shelef, G.; Moraine, R.; Oron, G. 1978. Photosynthetic biomass production from sewage. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebh. Limnol.*, 11: 3-14.

Schneider, J. C. ; Roessler, P. 1994. Radiolabelling studies of lipids and fatty acids in *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), oleaginous marine algae. *J. Phycol.* 30: 594-598

Soeder, C.J. 1980. Massive cultivation of microalgae: results and prospects, *Hydrobiologia*, 72, 197-209.

Soeder, C. J. 1986. An historical outline of applied algology. In *Handbook of Microalgal Mass Culture*. Richmond (Ed.), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 25-41.

Soong, P. 1980. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan, in *Algae Biomass*, Shelef and Soeder (Eds), Elsevier/North- Holland Biomedical Press, Amsterdam, 97-113.

Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E. isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. of Bioscience and Bioengineering*. Vol 101. : 87-96

Thomas, W. H. ; Seibert, D.N.R.; Alden, M. ; Eldridge, P.; Neori, A. ; Gaines, S. Microalgae from desert saline waters as potential biomass producers, *Prog.in Solar Energy*, 6, 143-145.

Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F, Balloni W, Materassi R, Florenzano G. 1986 Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass 11*: 61-64.

Travieso, L.; Benitez Echegoyen, F. 1998. Cultivo de *Arthrospira* sp: del Laboratorio a Planta Piloto. Curso: Tecnología y aprovechamiento del cultivo heterotrófico de microalgas. Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana. Cuba

Tredici M.R., 1991. A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. *Bioresour. Technol.*, 38: 153-59.

Tredici M.R., Chini Zittelli G., 1998. Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 57: 187-196.

Tredici M. R. May 2002. Chemicals, bioactive molecules and recovery processes. 1st Congress of the Int. Society for Applied Phycology, Aguadulce, Almeria, Spain : 26-30

Tredici M.R., 2004. Mass Production of microalgae: Photobioreactors. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology (ed. Richmond A.), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.. pp. 178-214,

Vieira Costa; J. A. Produção de biodiesel a partir de microalgas. 1er Congreso Latinoamericano sobre Biotecnología Algal. Argentina 2004. ISBN N° 987-1130-32-5

Venkataraman, L.V. ; Becker, E.W. 1985. Biotechnology and utilization of algae. The Indian experience. Ed. Sharada Press. New Delhi, India 257 pp.

Venkataraman, L.V. 1986. Blue-green algae as biofertilizer. In Handbook of Microalgal Mass Culture, Richmond (Ed), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 455-471.

Vonshak, A. 1990 Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotech. Adv.* 8: 709 - 722.

Wikfors, G. H.; M. Ohno.2001. Impact of algal research in aquaculture. *J. Phycol.* 37: 968–974.

Zaccaro de Mulé, M. C.; Caire, G.; Cano, M.; Palma, M.; Colombo ,K.. 1999. Effect of cyanobacterial inoculation and fertilizers on rice seedlings and post harvest soil structure. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 30 (1-2): 97-107.