



BIOPROSPECCIÓN DE MICROALGAS POTENCIALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL EN LA HACIENDA MAJAVITA

Avance del proyecto "Bioprospección de microalgas potenciales para la producción de Biodiesel en la Hacienda Majavita"

Faiber Hernando Cocunubo Correa, Jorge Andrés Cogollos Jiménez¹
y Juan Ernesto Almeira Ospina²

¹Estudiantes Investigadores, Ingeniería Ambiental. faibercocu@hotmail.com, jorgecogollos7@outlook.es

²PhD Ingeniería Ambiental, Docente Investigador, Universidad Libre – Seccional Socorro, juan.almeida@mail.unilibresoc.edu.co

Recepción artículo Julio 8 de 2014. Aceptación artículo Noviembre 15 de 2014

EL CENTAURO. ISSN: 2027-1212

RESUMEN

Figura 1. Recolección de muestras de microalgas.



La creciente demanda de petróleo se ha encontrado, en definitiva, con dos grandes problemas. Por un lado el esperado "pico" global del petróleo -el momento en el que en su conjunto los yacimientos de crudo alcancen su máximo posible de producción diaria- hecho que acontecería según todos los pronósticos, más tarde o más temprano, pero dentro de la presente década. El segundo gran problema es la amenaza del cambio climático, una de sus causas principales es la combustión de petróleo, gas natural y carbón.

El objetivo del presente proyecto es identificar y caracterizar morfológicamente las especies de microalgas que sean potencialmente productoras de biodiésel en la Hacienda Majavita.

En el análisis de las muestras la técnica de investigación utilizada fue explorativa, y fueron tomadas en puntos de agua lénticos elegidos al azar además se hizo una inspección visual por el método de Didymoy encontrando especies de microalgas que se caracterizaron por su morfología.

Como resultados, se identificaron 21 especies de microalgas; y 5 de estas pueden ser cultivadas. Concluyendo que las microalgas no se encuentran solas o aisladas en el medio natural, sino que viven en comunidad con otras especies de microalgas. A través del microscopio se observaron algunas especies como *Scenedesmus* y diatomeas en mayor número que otras, lo cual indica que es una especie abundante y predominante.

Palabras clave

Aislamiento, Biocombustibles, biomasa, fotosintéticos, transesterificación.

ABSTRACT

The increasing demand for oil has been found, in short, with two major problems. On the one hand the expected global "peak" oil-the moment when the whole oilfields reach their peak production diaria- fact that befall all

forecasts, later or earlier, but within the this decade. The second major problem is the threat of climate change, one of the main causes is the burning of oil, natural gas and coal. The objective of this project is to identify and characterize morphologically microalgal species that are potentially producing biodiesel at Hacienda Majavita.

In the sample analysis technique used was explorative investigation, and were taken at points randomly selected lentic water plus a visual inspection by the method of finding Didymoy microalgal species that were characterized by their morphology was made. As a result, 21 species of microalgae are identified; and 5 of these can be grown. Concluding that microalgae are not alone or isolated in the wild, but live in community with other species of microalgae. Through the microscope some species such as Scenedesmus and diatoms were observed in greater numbers than others, which indicates that it is an abundant and predominant species.

Keywords

Isolation, biofuels, biomass, photosynthetic, transesterification.

1. INTRODUCCIÓN

Según Torres & Carrera (2010), "La producción de biocombustibles en el mundo ha crecido exponencialmente en los últimos años". El agotamiento de los combustibles fósiles y la necesidad de frenar el cambio climático acelerado ha conducido a la búsqueda de alternativas energéticas renovables, sostenibles y rentables.

La teoría del pico de Hubbert, también conocida como cenit del petróleo, petróleo pico o agotamiento del petróleo, es una influyente teoría acerca de la tasa de agotamiento a largo plazo del petróleo, así como de otros combustibles fósiles. Actualmente se ha dedicado gran atención a la producción de combustibles alternativos, el biodiésel es uno de los más importantes.

En primera instancia surgieron los biocombustibles de primera generación, y son aquellos provenientes de la biomasa, especialmente de cultivos agrícolas destinados a la alimentación humana tales como el maíz, la soya, girasol y la remolacha para su producción. Posteriormente se desarrollaron procesos industriales de esterificación y transesterificación que permiten aprovechar no solamente una parte de la planta para la producción de biocombustibles sino su totalidad, tales como la madera o el bagazo de la caña de azúcar.

Según Bermúdez & Restrepo (2011). Pág.35, estos son llamados biocombustibles de segunda generación o celulósicos, producidos de materias primas como residuos agroindustriales y gramíneas forrajeras (plantas herbáceas) de alta producción.

En los últimos años, los estudios para obtener biocombustibles se han enfocado hacia nuevas tecnologías, que no compitan con la producción de los alimentos y que no se requiera de grandes extensiones de tierra para su producción.

Los biocombustibles de tercera generación, utilizan insumos vegetales no alimenticios de crecimiento rápido y con una alta densidad energética almacenada en sus componentes químicos, por lo que se les denomina cultivos energéticos.

Entre estos vegetales están los pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido, y las algas verdes azules. Según Álvarez (2009). Pág. 63, las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares que pueden vivir en cadenas coloniales o formando cenobios, estos microorganismos pueden habitar en agua dulce, salada, en tierra o incluso soportando altas temperaturas como las algas que habitan en aguas termales volcánicas. Ver Figura 2.

De acuerdo con Donaldson (1991) Pág.229-236, la producción de las microalgas en E. U. tiene un costo equivalente al 18 % de su precio; por lo cual, actualmente uno de los objetivos principales de las investigaciones sobre el cultivo de microalgas es intentar aumentar los beneficios de los cultivos, bajando los costos de operación.

1.1. Descripción del problema

La creciente demanda de petróleo se ha encontrado, en definitiva, con dos grandes problemas. Por un lado el esperado "pico" global del petróleo, el momento en el que en su conjunto los yacimientos de crudo alcancen su máximo posible de producción diaria- hecho que acontecería según todos los pronósticos, más tarde o más temprano, pero dentro de la presente década.

El segundo gran problema es la amenaza del cambio climático, una de sus causas principales es la combustión de petróleo, gas natural y carbón. Aún si existieran mayores reservas de crudo éstas no podrían ser utilizadas, al menos si se quiere mantener el equilibrio climático dentro de ciertos límites a los que la humanidad pueda adaptarse. (Honty G, Raffaele A y Pedace R 2009. Pág.11).

Según EIA (2008) "Aproximadamente un 27 % de la energía consumida en el mundo es usada para transporte, siendo el sector que más contribuye para la contaminación ambiental".

Según Palomino, Estrada y López (2010) Pág.49, se proyecta que el crecimiento en producción y consumo de biocombustibles líquidos continuará, pero sus impactos en el cumplimiento de las demandas de energía global en el sector del transporte seguirá siendo limitada. Y se debe a que influyen en el precio de los alimentos y el uso de suelos.

Figura 2. Investigador observando muestras de Microalgas



1.2. Antecedentes

Según Colorado, Moreno y Pérez (2013). Pág.113-126 "Las microalgas son fuentes de biomoléculas y metabolitos de importancia económica y constituyen una fuente directa de alimento, medicamentos y biocombustible, entre otras aplicaciones".

Según Sánchez (2012), recientemente se viene estudiando en diferentes países el cultivo de microalgas como una opción de gran potencial para producción de combustibles líquidos para el transporte, ya que mediante su uso se reducen las emisiones de gases de efecto invernadero y tiene mayores índices de productividad por hectárea.

De acuerdo con Chisti (2011) el uso de microalgas para la producción de biodiésel ha surgido como una opción promisorio, debido a que presentan mayor eficiencia fotosintética, son más eficaces en la asimilación de CO₂ y otros nutrientes con respecto a las plantas, acumulan entre 20 y 80 % de triglicéridos.

El biodiésel ha ido ganando popularidad mundial como fuente de energía renovable debido a sus ventajas económicas, ambientales y sociales. Los cinco principales productores de biodiésel en el

mundo son Estados Unidos, Alemania, Francia, Argentina y Brasil.

Se espera que con los incentivos de los gobiernos para aumentar la producción y consumo de combustibles renovables, la producción mundial de biodiésel se incremente de 21,4 billones de litros en el 2011 a 45,3 billones de litros en el 2020 según (Arias y Martínez. 2012. Pág.16). Las microalgas son fábricas celulares conducidas por la luz solar, que convierten dióxido de carbono en biocombustibles potenciales, alimento o compuestos bioactivos de alto valor.

Estas algas comprenden un vasto grupo de organismos fotosintéticos, heterótrofos, los cuales tienen un excelente potencial como cultivos energéticos.

Según Estrada y López (2010) el biodiésel de microalgas obtenidos en sistemas cerrados tiene grandes ventajas comparativas frente a otros biodiésel obtenido con otros aceites, básicamente hay que tener en cuenta la mayor producción por hectárea de aceite. Mientras que la palma produce casi 6 toneladas año teniendo en cuenta que alcanza esa producción a partir del séptimo año la misma hectárea de microalgas produce 100 a 180 toneladas en ese mismo periodo y desde el primer año.

Como el aceite de algas no es un aceite comestible y su producción no requiere terrenos fértiles, no se estaría vulnerando la seguridad alimentaria y tampoco se talarían bosques para utilizar la tierra fértil, esto abriría mercados en algunos países europeos que critican el aceite de palma por estos motivos.

1.3. Pregunta problema

¿Cuáles especies de microalgas hay presentes en la Hacienda Majavita que puedan ser potenciales productores de biodiésel?

1.4. Justificación

La identificación y caracterización de especies de microalgas en la Hacienda Majavita puede ser una nueva alternativa de investigación de la comunidad universitaria para el desarrollo de energías que no dependan de los combustibles fósiles, responsables en gran parte de los gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono (CO₂), óxidos de Azufre (SO_x) y óxidos de Nitrógeno (NO_x).

Las algas, presentan además ciertas ventajas; al ser un grupo de organismos netamente acuáticos no requieren de tierra para su cultivo, y por tanto no compiten con ningún otro cultivo.

Aún si fuera necesario su cultivo sobre la tierra, este podría hacerse en zonas marginales, de ningún o escaso uso alternativo; el agua utilizada en los cultivos de algas puede ser dulce o salada, y si es de este segundo tipo, la concentración de sales puede ser dos veces la del agua marina.

Esto significa que tampoco competirían por el recurso, también limitado, del agua dulce. Las Algas tienen una mucha mayor capacidad de absorber CO₂ con respecto a las Plantas Verdes, sin sufrir la inhibición del proceso fotosintético bajo condiciones de intensa incidencia lumínica Según Jaramillo, H. (2011).

Los resultados obtenidos abren un nuevo campo en la investigación en la comunidad universitaria y una opción de combustible para los pequeños productores de la zona comunera.

1.5. Objetivo general

Identificar y caracterizar morfológicamente las especies de microalgas que sean potencialmente productoras de biodiésel en la Hacienda Majavita.

1.6. Objetivos específicos

- Recolectar y analizar muestras de agua que contengan microalgas nativas en la Hacienda Majavita.
- Reproducir un cultivo homogéneo de microalgas en un sistema abierto para cada muestra recolectada.
- Identificar morfológicamente las especies de microalgas que sean potenciales productoras de aceite para obtención de biodiésel en la Hacienda Majavita.

1.7. Localización

El proyecto de investigación se realizó en la Hacienda Majavita propiedad de la Universidad Libre localizada en el Socorro Santander, a una elevación de 1350 m sobre el nivel medio del mar, a una latitud de 7 °N y una longitud de 73 °W. Con una temperatura promedio de 24 °C, precipitaciones 1250 mm por año y una evaporación potencial de 1200 mm.

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

Es una Investigación exploratoria porque se buscará que tipo de microalgas se encuentran presente en la hacienda Majavita. Es de tipo Cualitativa porque en esta se identificaran morfológicamente especies de microalgas.

2.2. Definición de variables e indicadores

Las variables establecidas a partir de los objetivos son las descritas en la tabla 1, mediante estas se determinara el tipo de microalga presente en cada medio de cultivo.

Tabla 1. Variables y su clasificación

Tipo de variable	Variable	Unidad
Dependiente	Biomasa	Kg
Independiente	Sistema de Cultivo	Tipo
	pH	Unidades de pH
Intervinientes	Intensidad Lumínica	Lux

2.3. Técnicas de investigación

En el análisis de las muestras la técnica de investigación utilizada fue explorativa, las muestras fueron tomadas en puntos de agua lénticos elegidos al azar; consiste en realizar la identificación taxonómica en la muestra teniendo en cuenta claves regionales y mundiales ya que no todas las algas son cosmopolitas y existen especies propias para los Andes y la Amazonia.

2.4. Materiales

Se utilizaron botellas de plástico PET, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio, para evitar la presencia de otros microorganismos que alteraran las muestras, 4 peceras de 25 litros de capacidad, frascos de vidrio de 200 ml.

2.5. Equipos de medición

- Microscopio compuesto equipado con oculares de 10 o 12.5, y objetivos de 10x, 40x y 100x.
- Cámara Samsung de 8 megapíxeles
- Micro pipetas de 1000 um
- Centrifugadora Compact II 3500 0.7A
- Calculadora básica
- Balanza digital
- Luxómetro Yu Fung yf-172
- Medidor de pH WTW PH3150I

2.6. Procedimiento

Las muestras se recolectaron en Botellas PET que fueron previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio para evitar contaminación por otro tipo de microorganismos. Las muestras captadas de la superficie de los pozos, se depositaron previamente en acuarios con capacidad de 25 litros, para obtener un cultivo de cada una estas.

Según Colorado, Moreno, y Pérez (2012) las microalgas representan un sistema muy eficiente para la bioconversión de la energía luminosa, aunado a la utilización de los elementos nutritivos (nitrógeno, potasio y fósforo), el aporte de oxígeno y una producción de biomasa que puede ser utilizable en diferentes áreas en la industria.

Las microalgas dependen para su crecimiento de un suministro de carbono y de una fuente de luz para realizar la fotosíntesis, es importante definir cuantitativamente la influencia de factores que intervienen en su crecimiento y que favorecen la producción de lípidos, así como su interrelación para poder manipularlos en la obtención de biomasa con determinadas características.

Está demostrado que tanto el contenido de lípidos como el perfil de ácidos grasos de las microalgas varía no solo entre especies sino también en función de las condiciones del cultivo. Según Arias, Martínez y Cañizares (2013) entre las condiciones de cultivo afectan factores abióticos como la concentración de nutrientes, la calidad y cantidad de luz, la temperatura, el O₂, el CO₂, el pH, la salinidad y factores operacionales como mezclado y la edad del cultivo. El nitrógeno ha sido demostrado como el principal regulador en el crecimiento y acumulación de lípidos.

Se alimentaron diariamente en las mañanas aplicando 1 ml de una solución elaborada a partir de 1 litro de agua destilada, 100 gr de fertilizante NPK (triple 15, nitrógeno, Potasio, fósforo) y 20 gr de vitaminas (complejo B), avistando que los cultivos crecían, basándonos en el color verdoso que tomaba el medio. Para identificar las microalgas, con base en el método de Sedgwick-Rafter se tomaron las muestras con una pipeta para cada una de las peceras, respectivamente se depositaron en el frasco estándar de la centrifugadora durante 15 min, teniendo en cuenta que la velocidad a centrifugar no fuese a dañar los organismos frágiles, pero en si separando la muestra y obteniendo mayor biomasa.

Ya centrifugada se hizo el montaje individual de la muestra en la lámina-laminilla (portaobjetos y cubreobjetos) para su posterior análisis cualitativo. Se llevó al microscopio y se analizó detenidamente la muestra tomando unas fotografías de la microalga avistada y con la bibliografía consultada se comparaba cada individuo observado, repitiendo este proceso varias veces hasta confirmar que la clasificación morfológica fuera confiable.

2.6.1. Procedimiento de identificación

Asépticamente se tomaron muestras del cultivo de microalgas y se colocaron en la centrifugadora, luego de separar la mezcla se realizó el montaje en láminas portaobjetos estériles y cubriéndolos con laminillas cubreobjetos estériles. Observando el microscopio equipado con iluminación de contraste de fase; Usando el mayor aumento posible: 20X/10X /40X, buscando la presencia de microorganismos en la muestra.

Por medio de una cámara fotográfica digital ubicada en el lente del microscopio, se tomaron fotografías para su respectivo análisis; estos retratos se comparaban con las bases de datos, información bibliográfica e iconografías de microalgas, observando color, forma y algunas características propias de cada microalga.

2.7. Población y muestra

Se establecieron 4 puntos para la recolección de las muestras de microalgas de los cuales se captó una muestra sobre la superficie. Para la identificación de las especies se tomaron muestras de los medios de cultivo de la siguiente forma: Con base en la técnica de análisis semicuantitativo y de Sedgwick-Rafter, utilizando una pipeta se tomaron muestras de las microalgas en el acuario; llevando la muestra al microscopio para la observación. Se utilizaron bases de datos como la Diatom Identificación Guide & Ecological Resource, Diatomeas (Bacillariophyceae) del marjal Oliva-Pego (Comunidad Valenciana, España) para tener certeza de que la microalga identificada fuera la correcta.

3. RESULTADOS

3.1. Puntos de recolección de muestras

Los puntos de recolección se seleccionaron al azar en la Hacienda Majavita.

Tabla 2. Puntos de recolección de muestras.

Coordenadas	Fotografía	Coordenadas	Imagen
<p>Muestra 1</p> <p>E01091445</p> <p>N01207568</p> <p>Altura:</p> <p>1346</p>		<p>Muestra 3</p> <p>E01091677</p> <p>N01207491</p> <p>Altura:</p> <p>1402</p>	
<p>Muestra 2</p> <p>E011091677</p> <p>N01207491</p> <p>Altura:</p> <p>1345</p>		<p>Muestra 4</p> <p>E01091575</p> <p>N01207473</p> <p>Altura:</p> <p>1389</p>	

Las muestras recolectadas se analizaron en el microscopio, las cuales contenían diversidad de microalgas, así como algas filamentosas.

Muestra 1. (M1), Predominan las algas filamentosas verdes correspondientes a la división *Chlorophita* tales como *Spirogyra*, y *Rhizoclonium*. Además de varias especies de diatomeas en las cuales predominaban las *gomphonemas*.

Muestra 2. (M2), Microalgas del tipo *Chlorophita* en las que se observan especies como *cosmarium*,

closterium y *bacillariophyta* (diatomeas) como *gomphonemas*, y *cimbellas*.

Muestra 3. (M3), Algunas especies de la división *Cyanophyta* como *chorococus* y algas filamentosas de las anteriormente especificadas.

Muestra 4. (M4), *Chlorophitas* con diversidad de *Scenedesmus*, también diatomeas y filamentosas del tipo *Oedogonium*.

Figura 3. Localización de la zona de estudio.



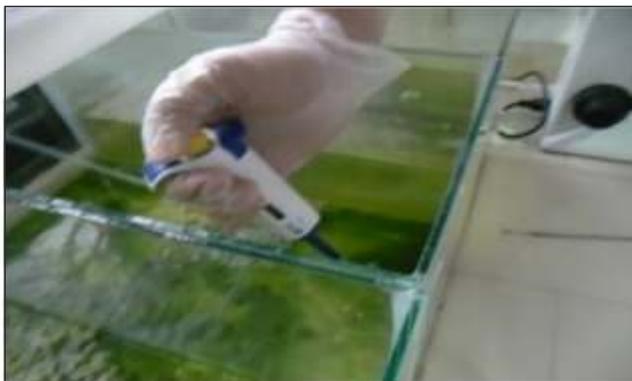
3.2. Cultivos de las microalgas recolectadas

Cuando un cultivo es expuesto a una intensidad luminosa adecuada, pero con limitación de nutrientes, se disminuye la tasa de división celular (aunque se sigue convirtiendo energía solar en energía química), pero a menor velocidad y como mecanismo de supervivencia; entonces se desvía el flujo de carbono fijado por la fotosíntesis a síntesis de lípidos o carbohidratos.

Según Arias, Martínez y Cañizares (2013) la disminución de nutrientes limita el crecimiento celular, al momento de seleccionar las condiciones de cultivo que favorezcan la acumulación de lípidos, siendo necesario maximizar su productividad volumétrica para cada cepa.

Las muestras recolectadas se depositaron en acuarios para su posterior análisis. Se alimentaron con una solución de Nitrógeno, Fósforo, Potasio, (NPK Triple 15), y vitaminas como complejo B, dando un mayor crecimiento a las microalgas.

Figura 4. Deposición de muestras en los acuarios



Después de 8 días de alimentarlos con la solución preparada para este propósito, se evidenció el cambio de color a un verde intenso, además de aumentar la biomasa como se observa en las siguientes imágenes.

Figura 5. Aumento de la biomasa y el color 8 días después de ser depositados en los acuarios.



El cultivo creció en biomasa gracias a un suministro de carbono, y de una fuente de luz para realizar la fotosíntesis. De esta manera, se logró identificar el tipo de microalgas que habitaban y predominaba en el medio.

3.3. Crecimiento de la biomasa en los sistemas evaluados

Las especies de microalgas que se lograron identificar morfológicamente por medio de las guías fueron las siguientes:

Tabla 3. Datos iniciales de la recolección de las muestras.

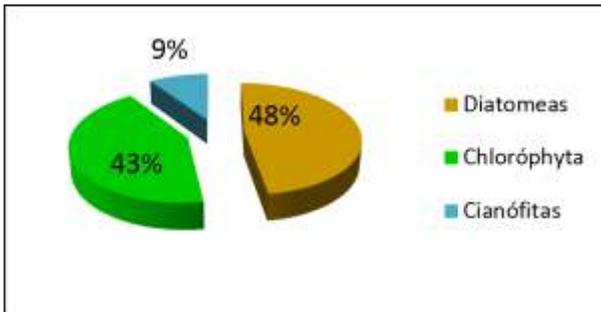
Especies de microalgas encontradas en la hacienda Majavita		
División	Orden	Genero
Bacillariophyceae	Diatomeas	Coelastrum
		Chaetoceros
		Cyclotella
		Prorocentrum
		Thalassiosira
		Amphioxys
		Micromonas
		Distansella
		Thalassiosira
		Thalassiosira
Chlorophyta	Chlorophyta	Chlorella
		Chlorella
Charophyta	Charophyta	Chara
		Chara

Las especies se clasificaron según la división mayor de las microalgas. Identificándose un total de 10 especies de diatomeas, 9 especies de clorófitas y 2 especies de cianófitas. Igualmente se encontraron algunas especies que se encuentran en proceso de identificación.

Se logró identificar un mayor número de especies de la división diatomea (Ver Figura 6):

Figura 6. Porcentaje de microalgas por especies identificado

Especie	Cantidad
Chlorophyta	9
Bacillariophyta	10
Cyanophyta	2



3.4. Identificación de especies de microalgas

Especie Encontrada Hacienda Majavita

Figura 7. Spirogyra

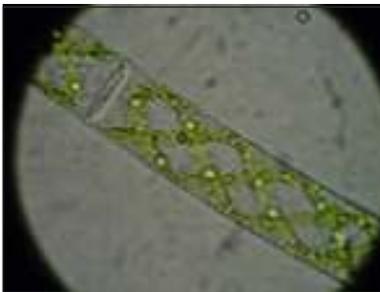


Figura 8. Cosmarium

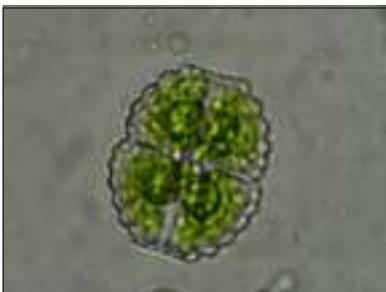


Figura 9. Ankistrodesmus

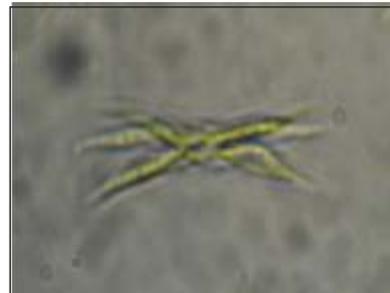


Figura 10. ScenedesmusObliquus

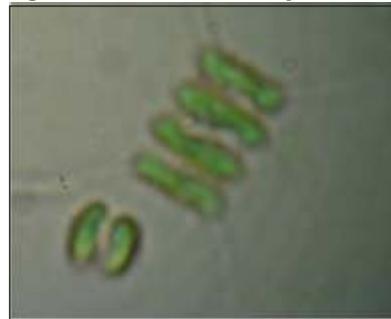


Figura 11. ScenedesmusDimorphus



De las microalgas encontradas, ya se han realizado estudios de producción de lípidos con las siguientes especies:

Tabla 4. Clasificación de especies de microalgas en % de contenido lipídico en peso seco.

Especies de microalgas potenciales productoras de biodiesel	% contenido lipídico (g lípidos/ g peso seco) * 100
<i>Spirogyra</i>	11 - 21
<i>Cosmarium</i>	16 - 33
<i>Ankistrodesmus</i>	24.5 - 33.5
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	6 - 40
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11 - 55

Fuente: Chisti, L. (2007) y Arredondo & Vázquez-Duhalt, (1991). Pág.10

4. CONCLUSIONES

Las microalgas no se encuentran solas o aisladas en el medio natural. Se evidenció que viven en comunidad con otras especies de microalgas, a través del microscopio se observaron algunas especies como *Scenedesmus* y diatomeas en mayor número que otras, lo cual indica que es una especie abundante y predominante.

La microalga se reproduce satisfactoriamente al tener un medio de cultivo óptimo y condiciones controladas tales como nutrientes, luz, CO₂, hasta llegar a su clímax máximo; dando un mayor índice de biomasa de la especie predominante en el cultivo. Ya que estos microorganismos se reproducen exponencialmente.

En los muestreos de microalgas realizados y su posterior análisis, se encontró que la especie de microalga, que se encuentra presente en todos los cultivos es *Scenedesmus dimorphus*, Esto quiere decir que la división más abundante en los puntos de muestreo son las clorófitas seguidas por las diatomeas y las cianofitas. Un mayor porcentaje de microalgas diatomeas (48 %), seguido por las

clorófitas (43 %). Las especies de cianofitas solo ocupan un nueve (9 %) de las especies encontradas.

4.1. Recomendaciones

La identificación y obtención de biomasa de microalgas puede ser mayor si se controla totalmente los medios de cultivo, aplicando una tecnología actualizada.

4.2. Planes para el trabajo futuro

- Obtener más muestras de microalgas en otros puntos para realizar un reconocimiento más amplio de especies.
- Realizar aislamientos hasta obtener cepas de una sola microalga.
- Realizar monocultivos y evaluar el crecimiento de biomasa por cada especie.
- Diseñar un fotobiorreactor para acelerar el crecimiento de biomasa de microalgas.
- con las fotografías de las microalgas obtenidas, hacer un atlas de microalgas de la Hacienda Majavita.

5. REFERENCIAS

Albarracín, I. (2007). "Microalgas: Potenciales Productoras De Biodiesel, producción de Biocombustibles con eficiencia, estabilidad y equidad". XV simposio electrónico internacional. Disponible en: <http://www.ceid.edu.ar/biblioteca/biocombustibles/pdf>.

Álvarez, C. (2009). "Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio Internacional". UNAM. Pág. 63-65. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IQ_biocombustibles.pdf

Aguilar, L. & Vásquez, L. (2007). "Biodiesel y microalgas". Disponible en: <http://www.revistavirtualpro.com/revista/biocombustibles-de-cuarta-generacion/6>

Arias, M., Martínez, A & Cañizares, R. (2012). "Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos". Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Ciudad de México, D.F., Disponible en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/rt/prinFRIENDLY>

Barajas, L., Garzón, A. & González, A. (2011). "Bioprospección de microalgas Colombianas para la producción de biodiesel". Centro de Investigaciones para el Desarrollo Sostenible en Industria y Energía, UIS; PDF. Pág. 18-26

Bermúdez, A. & Restrepo, L. (2011). "Tecnologías para una movilidad en beneficio del medio ambiente Biodiesel de segunda y tercera generación", Boletín tecnológico 03-2011. Bogotá (Colombia). Disponible en: <http://www.ibepi.org/wp-content/uploads/2014/12/Biosegundatercerageneracion.pdf>

Cobos, M. "Bioprospección de microalgas con potencial aplicación para la Producción sustentable de biodiesel en la Amazonía peruana". Universidad Científica del Perú/Ciencias e Ingeniería. Disponible en: <http://www.concytec.gob.pe/portalsinacyt/bioprospeccion-de-microalgas.pdf>

Colorado, M. Moreno, D. & Pérez, J. (2013). "Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas". Guajira, Colombia. Ambiente y Desarrollo, 17(32), Pág.113-126.

Chisti, Y. (2007-2008). "Biodiesel from microalgae beats Bioethanol School of Engineering, Massey University". New Zealand. Disponible en: <http://www.massey.ac.nz/~ychisti/Trends08.pdf>

Chisti, Y. (2011). "Biodiesel from microalgae beats bioethanol". *Biotechnology*. 26(3): Pág.126-131.
Donaldson, J. (1991). "Commercial production of microalgae at Coast Oyster Company". Rotifer and microalgae culture system. Hawaii, USA: Pág. 229-236.

EIA-0383. (2008). "Energy Information Administration Office of Integrated Analysis and Forecasting U.S. Department of Energy Washington", June 2008 Annual Energy. Disponible en: [http://www.eia.gov/oiaf/aeo/pdf/0383\(2008\).pdf](http://www.eia.gov/oiaf/aeo/pdf/0383(2008).pdf)

FAO. (2008). "Efectos de los Biocombustibles en el Medio Ambiente. Biocombustibles: Riesgos y oportunidades". FAO, 2008. Pág. 63-83. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0100s/i0100s05.pdf>

Fimbresolivarriá, D. Mercado, L. Murguía, A. & López, J. (2010). "Crecimiento y Biomasa de *Dunaliellasp. Cultivada en Medios Limitantes en Nitrógeno*". <http://www.biocetnia.uson.mx/revistas/articulos/9-Int.pdf>

González, A. Kafarov, V. & Guzmán, A. (2009). "Producción de biocombustibles de tercera generación: extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel". Pág. 53-60. Centro de Investigaciones para el Desarrollo sostenible en Industria y Energía UIS, Instituto Colombiano del Petróleo ICP-ECOPETROL, Piedecuesta, Colombia.

Honty, G. Raffaele, A. & Pedace, R. (2009). "Tecnología y biocombustibles de segunda generación: Una herramienta para la toma de decisiones". UNESCO 2010. Disponible en: <http://unesdoc.unesco.org/images/pdf>

Jaramillo, J. (2011). "Evaluación Tecno-Económica De La Producción De Biocombustibles A Partir De Microalgas". Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Manizales, Colombia Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/6751/1/8110005.2012.pdf>

Loera, M. & Holguín E. (2010). "Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades". *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algar*. Pág. 91-116.

Melgarejo, L. (2003). "Bioprospección: Plan Nacional Y Aproximación Al Estado actual En Colombia". Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Disponible en: <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/pdf>

Moreno, J. Medina, C. Albarracín, V. (2012). "Aspectos ecológicos y metodológicos del muestreo, identificación y cuantificación de cianobacterias y microalgas eucariotas". Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/Pdf>.

Palomino, A. Estrada, C. López, J. (2010). "Microalgas: potencial para la producción de biodiesel". IV Congreso Brasileiro de Mamona e I Simposio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa, PB – 2010. Pág. 149.

Romo, A. (2002). "Manual Para El Cultivo De Microalgas". Universidad Autónoma California. Área Interdisciplinaria De Ciencias Del Mar. Disponible en: <http://biblio.uabcs.mx/tesis/te1366.pdf>

Sánchez, E. (2012) "Perspectivas del proceso de producción de biodiesel de tercera generación", revista virtual de los programas de ingeniería. Pág. 108-124. Universidad de San Buenaventura Cartagena. Disponible en: <http://letravirtual.usbctg.edu.co/index.php/ingeniator/article/viewFile/193/186>

Samanez, I. Rimarachin & Palma, C. Arana. (2014). "Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macro invertebrados) y necton (peces) en aguas continentales del Perú". Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/pdf>

Torres & Carrera (2010). "Informe Biocombustible 2010". Disponible en: <http://torresycarrera.com/files/Informes/Informe-Biocombustibles-2010.pdf>

Verma, N. Mehrotra, S. & Shukla, A. (2010). "Prospective of Biodiesel Production Utilizing Microalgae as the Cell Factories: A Comprehensive Discussion". *African Journal of Biotechnology*. Pág. 1402-1411. Disponible en: <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/Pdf>