



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Energía Renovable

Obtención de biogasolina vía HDO a partir de microalgas
marinas *Nannochloropsis* sp. y *Nannochloris* sp.

Tesis que presenta

Cristina Isabel Carrillo Yam

En opción al título de:

Maestra en Ciencias en Energía Renovable

Mérida, Yucatán, México

2024

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de: Materiales y Métodos, Resultados y Discusión de este documento, proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que, a razón de lo anterior, y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y se registrarán, en todo caso, por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: _____

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'CI' or similar initials, written over a horizontal line.

Nombre: Cristina Isabel Carrillo Yam

*CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A.
C.POSGRADO EN POSGRADO EN ENERGÍA RENOVABLE*



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de Cristina Isabel Carrillo Yam titulado **Obtención de biogasolina vía HDO a partir de microalgas marinas *Nannochloropsis* sp. y *Nannochloris* sp.** fue realizado en la Unidad de Energía Renovable, en la línea de investigación de bioenergía, en los laboratorios de biocombustibles y síntesis del Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C.bajo la dirección de la Dra. Ruby Alejandra Valdez Ojeda y la codirección del Dr. Juan Carlos Chavarría Hernández, perteneciente al Programa de Posgrado en Energía Renovable de este Centro.

Atentamente



Dr. José Luis Hernández Stefanoni
Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 25 de septiembre de 2024.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por la beca N°1200659 otorgada para la realización de esta investigación.

Al CICY, a la Unidad de Energía Renovable y por los espacios otorgados en los laboratorios ERU-20 y ERU-18 para la realización de experimentos y por los materiales e instrumentos utilizados.

A toda la comunidad del CICY perteneciente a la Unidad de Energía Renovable, a todos los investigadores y técnicos que formaron parte de la formación de una servidora. Mil gracias!

A la directora de este trabajo la Dra. Ruby Alejandra Valdéz Ojeda por compartirme su experiencia, consejo y guía en el cultivo y procesamiento de microalgas para producir biocombustibles. Por siempre estar al pendiente de las necesidades de una servidora. De igual manera por realizar la revisión y corrección de este documento. Mil gracias.

Al codirector de este trabajo el Dr. Juan Carlos Chavarría Hernández por compartirme su experiencia, consejo y guía en la síntesis de catalizadores y las reacciones para la producción del biocombustible. De igual manera por ser un gran apoyo para la revisión y corrección de este documento. Mil gracias.

Al miembro de mi comité tutorial el Dr. Carlos Rosas Vazquez por sus observaciones y comentarios en pro de la investigación y por todo el apoyo brindado.

Al miembro de mi comité tutorial el Dr. Jesús Alvarado Flores por sus observaciones, correcciones y recomendaciones durante esta investigación que fueron de enorme valor.

A la técnica I.Q Tanit Toledano Thompson por su apoyo y sesoramiento durante toda la parte experimental del procesamiento de la biomasa microalgal en el laboratorio ERU-20, por compartir su conocimiento en las técnicas cromatográficas y por todos los procedimientos realizados en el área de microalgas.

A la M. en C. Iveth Gabriela Palomino Albarrán por brindarme su apoyo y asesoría en el cultivo de microalgas y por la realización de los escalamientos de las cepas.

Al Dr. Gilver Rosero Chasoy por su apoyo y asesoría durante la técnica de Difracción de Rayos X (DRX), cromatografía de gases-masas (CG-EM), operación del reactor por lotes y por su apoyo

en las técnicas realizadas en el laboratorio de catálisis ERU-18, así como sus consejos y motivación.

Al M. en C. Martín Baas López por su apoyo en el análisis de Fisisorción de N_2 del catalizador sintetizado y por el apoyo en los métodos de análisis de tamaño de poro, volúmen de poro y área superficial del catalizador, por su calidez humana y sencillez.

A la M. en C. Michelle Villafán Cáceres por su apoyo en algunas etapas de la síntesis del catalizador, así como su apoyo en las condiciones de reacción para la activación del catalizador en el reactor de lecho fijo.

Al Ing. Miguel y la Ing. Noemí por su apoyo en la operación de equipos del laboratorio ERU-18 y por sus consejos en el uso de materiales del laboratorio ERU-18.

A mi Familia por ser ese motor impulsor, por su amor y apoyo incondicional en todo momento y ser piezas fundamentales para cada uno de mis logros, Manuel, Marta, Claudia, Erik, Brayan, Pilar, Elvis, Jimena y Maddy por formar parte importante de mi vida. Mil gracias.

A mis compañeros de laboratorio y colaboradores, por su inquebrantable apoyo y camaradería. Juntos hemos enfrentado desafíos, celebrado éxitos y aprendido de cada fracaso, Isabel, Rodo, Campos, Alhelí, Cindy, Vania, Rosmery, Adrian, Regina, Noemí, Dr. Carlos y todos aquellos que hicieron de este camino el mejor.

A todos mis amigos y conocidos externos al posgrado que han creído en mí y me han alentado a seguir adelante en este emocionante viaje hacia el entendimiento del mundo que nos rodea.

Dedicatoria

Por todos aquellos que sueñan con descifrar los misterios del universo y desean dedicar su vida al avance del conocimiento científico.

A la comunidad científica global, por su continuo esfuerzo en expandir el conocimiento humano y su voluntad de colaborar más allá de fronteras y disciplinas.

Con un gran afecto a todos los que se han adelantado en el camino y que han sido fuente de inspiración en mi vida.

Gracias Dios por darme fé y fortaleza en el camino y ser fuerza impulsora de mi curiosidad y pasión por descubrir la verdad del mundo que nos rodea.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1	3
ANTECEDENTES	3
1.1 Generalidades de las microalgas	3
1.1.1 Descripción de las microalgas	3
1.1.2 Usos de las microalgas	4
1.2 Descripción de géneros en estudio <i>Nannochloropsis</i> y <i>Nannochloris</i>	6
1.2.1 Género <i>Nannochloropsis</i> sp.	6
1.2.2 Género <i>Nannochloris</i> sp.	6
1.2.3. Morfología de los géneros en estudio.....	7
1.3 Producción de lípidos en microalgas	7
1.3.1 Lípidos y productividad lipídica de ambos géneros en estudio	10
1.3.2 Biocombustibles de tercera generación a partir de aceites de microalgas	12
1.4. Procesos tecnológicos para la producción de biocombustibles a partir de aceites vegetales	17
1.4.1 Reacción de hidrodeseoxigenación (HDO) de aceites vegetales.....	17
1.4.1.1 Catalizadores más usados en HDO para aceites vegetales	18
1.4.2 Hidrocraqueo catalítico de aceites vegetales.....	19
1.4.3 Proceso HEFA (hidroprocesamiento de esteres y ácidos grasos).	20
1.5. Biogasolina	21
1.5.1. Especificaciones de la calidad de la gasolina	21
1.5.2 Catalizadores más utilizados para producir biogasolina a partir de aceites vegetales.	23
1.5.3 Procesos tecnológicos en la producción de biogasolina a partir de aceites vegetales.	24
JUSTIFICACIÓN	26

HIPÓTESIS	27
OBJETIVOS	27
OBJETIVO GENERAL.....	27
OBJETIVOS PARTICULARES	27
CAPITULO 2	28
MATERIALES Y MÉTODOS	28
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	28
2.1 Producción de biomasa	28
2.1.1 Cepas utilizadas	28
2.1.2 Cultivo de microalgas y producción de biomasa	29
2.2 Recuperación de biomasa	32
2.2.1 Floculación	32
2.2.2 Eficiencia de la floculación.....	32
2.2.3 Sifonado, centrifugado y liofilizado	33
2.3. Extracto lipídico de microalgas	34
2.3.1 Obtención de extracto lipídicos de microalga.....	34
2.3.2. Procesamiento del extracto por cromatografía en columna (CCG).....	36
2.3.3 Identificación del extracto crudo y purificado por cromatografía en capa fina (CCF)..	37
2.4 Síntesis y caracterización del catalizador heterogéneo NiMo/ZSM5-SBA15	37
2.4.1 Síntesis del catalizador heterogéneo soporte/catalizador	37
2.4.1.1 Síntesis del soporte	37
2.4.1.1.1 Filtración del soporte	39
2.4.1.1.2 Calcinación y saturación del poro del soporte.....	40
2.4.1.2 Síntesis del catalizador: impregnación de metales.....	40
2.4.1.2.1 Impregnación de níquel (Ni).	40
2.4.1.2.2 Impregnación de molibdeno (Mo).	41
2.4.2 Caracterización del catalizador heterogéneo sintetizado	42

2.4.2.1 Caracterización por difracción de rayos X (DRX)	42
2.4.2.2. Caracterización por fisisorción de N ₂	42
2.5. Producción de biogasolina y caracterización del producto obtenido.....	44
2.5.1 Activación de catalizador heterogéneo NiMo/ZSM5-SBA15	44
2.5.2 Producción de biogasolina a partir de una sola reacción de hidrotratamiento.....	45
2.5.3 Caracterización por cromatografía de gases-masas (CG-EM).....	45
2.6 Análisis estadístico y software utilizado.....	46
CAPITULO 3.....	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
3.1 Obtención y producción de biomasa	48
3.1.1 Cultivo de microalgas y producción de biomasa	48
3.1.2 Curva de crecimiento de las cepas.....	50
3.2 Recuperación de biomasa.....	52
3.2.1 Floculación	52
3.2.2 Sifonado, centrifugado y liofilizado	54
3.3 Extracto crudo y purificado de microalga.....	56
3.3.1 Obtención de extracto crudo y purificado de microalga con sistema de solvente cloroformo: metanol.....	56
3.3.2 Identificación por cromatografía en capa fina (CCF) de extractos lipídicos filtrados previamente por CCG.	58
3.4 Síntesis y caracterización del catalizador heterogéneo NiMo/ZSM5-SBA15.....	59
3.4.1 Resultados obtenidos de la caracterización por difracción de rayos X (DRX).....	59
3.4.2 Resultados obtenidos por fisisorción de N ₂	61
3.4.2.1 Isotermas.....	61
3.4.2.1.1 Isoterma antes de impregnación.....	61
3.4.2.1.2 Isoterma después de impregnación.....	62
3.4.2.2 Área superficial y volúmen de poro método BET (Brunauer–Emmett–Teller).	63
3.4.2.3 Tamaño de poro y volúmen de poro por el método DFT.	64

3.4.2.4 Volumen de microporos y área de microporos por el método T-PLOT.....	65
3.5 Producción de biogasolina y caracterización del producto obtenido.....	68
3.5.1 Resultados comparados en los productos de reacción de hdo y biogasolinas de <i>Nannochloropsis</i> sp. y <i>Nannchloris</i> sp.....	68
3.5.1.1. Compuestos químicos y con alto octanaje encontrados en los productos de reacción HDO.	68
3.5.1.2 Hidrocarburos, familias de hidrocarburos y oxígeno en el producto de reacción HDO y en la fracción de la biogasolina.	75
3.5.1.3 Cumplimiento de las normativas establecidas para la gasolina convencional, en composición de hidrocarburos, oxígeno y octanaje.....	79
3.5.1.3.1 Normativa nacional para la biogasolina NSRE-1	79
3.5.1.3.2 Normativa nacional para la biogasolina NRRE-1	80
3.5.1.3.1 Normativa internacional para ambas biogasolinas.....	82
3.5.1.4. la reacción de HDO ONE -POT en condiciones y reactivos similares a este estudio.....	82
CONCLUSIÓN	84
PERSPECTIVAS.....	85
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
ANEXOS.....	100
ANEXO 1. Formulación medio de cultivo cultivo Guillard f/2.....	100
ANEXO 2. Tiempos de floculación de las cepas en estudio.....	101
ANEXO 3. Extracciones por triplicado realizadas para las microalgas estudiadas.....	102
Anexo 3.1. Resultado de las extracciones realizadas para NRRE-1.....	102
Anexo 3. 2. Resultado de las extracciones realizadas para NSRE-1.	103
ANEXO 4. Reportes quantachrome	104
Anexo 4.1. Análisis BET del soporte sintetizado.....	104
Anexo 4.2. Isotherma de adsorción y desorción obtenida del soporte sintetizado	105
Anexo 4.3. Método DFT del soporte sintetizado.	106

Anexo 4.4. Análisis T-plot de estructura microporosa del soporte.....	107
Anexo 4.5. Análisis BET del catalizador sintetizado.....	108
Anexo 4.6. Método DFT del catalizador sintetizado	109
Anexo 4.7. Isotherma de adsorción y desorción del catalizador sintetizado.....	110
Anexo 4.8. Análisis T-plot de estructura microporosa del catalizador.	111
ANEXO 5. Cromatogramas analizados.....	112
Figura anexo 5.1. Cromatograma con el modelo turbosina de NSRE-1.	112
Figura anexo 5.2. Cromatograma con el modelo turbosina de NSRE-1, réplica.....	112
Figura anexo 5.3. Cromatograma con el modelo turbosina de NRRE-1.	113
Figura anexo 5.4. Cromatograma con el modelo turbosina de NRRE-1, réplica.....	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1 Esquema que indica el origen filogenético de la gran mayoría de las especies de microalgas [26].	4
Figura 1. 2. Beneficios ambientales del cultivo de microalgas y sus aplicaciones para producir diversos productos y biocombustibles [11].	5
Figura 1. 3. Micrografía típica de <i>Nannochloropsis oculata</i> extraído de Ma <i>et al.</i> , 2016: (a) morfología; y (b) diferentes organelos: Gota lipídica (LD), núcleo (N), tilacoides apilados (ST) y vacuola (V) [32].	10
Figura 1. 4. Categoría de la biomasa para la producción de biocombustibles, modificado de Chowdhury <i>et al.</i> (2019) [58] y Sadatshojaei <i>et al.</i> (2020) [5].	13
Figura 1. 5. Hidrodesoxigenación de Triacilglicéridos por sus tres vías principales: Hidrodesoxigenación (a,b), Descarboxilación y Descarbonilación (c) [61].	18
Figura 1. 6. Fases del proceso HEFA, para producción de combustible. Figura modificada [72].	20
Figura 2. 1. Escalamientos A) 1 L de cultivo y B) 10 L de cultivo en la UNAM-SISAL29	
Figura 2. 2. A) Balsas de depósito de agua que proviene del sistema marino, B) Cuarto de cultivo, C) Tratamiento con UV de agua marina y D) Depósito de agua con tratamientos de cloración y filtrado que se utiliza en los cultivos.	29
Figura 2. 3. Llenado y traslado de bidones de 50 L a la unidad de Energía Renovable del CICY.	31
Figura 2. 4. Cámara Neubauer, donde se observa el área de conteo celular empleado en este estudio. Se observan en verde los cinco cuadrantes considerados para el conteo celular.	32
Figura 2. 5. Se observa el procedimiento de sifonado de cultivos, posterior a la floculación.	34
Figura 2. 6. A) Centrífuga industrial <i>Thermo Fisher Scientific SL40R</i> , B) Contenedores dentro de centrífuga, C) Contenedores de 500 mL vacíos y D) Contenedores de 500 mL con biomasa líquida.	34
Figura 2. 7. A) Agitador orbital <i>Scorpio</i> y B) Matraces con cultivo dentro del agitador.	35
Figura 2. 8. Embudos de separación en soportes universales, donde se colocaron los extractos.	35
Figura 2. 9. Contenedores donde se depositó el extracto para su evaporación.	35
Figura 2. 10. Empacado de la columna con la adición de hexano y sílica gel. A) Se observa la columna preparada con la cabeza y B) Se observa el procedimiento de empacado en la columna marca ESEVE, 2427.	36

Figura 2. 11. Cromatografía de capa fina: A) Placas de silica gel, B) Capilares y C) solventes.	37
Figura 2. 12. Mufla marca Vulcan 3-500 donde se realizaron las calcinaciones en diversas etapas de la síntesis del catalizador.	38
Figura 2. 13. Soluciones realizadas para la síntesis del soporte a una temperatura de 35 °C a baño maría: A) solución con HCL al 0.4 M, Pluronic 123 y zeolita calcinada, B) solución de HCl y TEOS donde se observa la bureta utilizada para añadir el TEOS gota a gota. C) vaso de teflón donde se unieron las soluciones a baño maría a 35 °C y 300 rpm.	39
Figura 2. 14. Baño de parafina donde se colocó el autoclave que contiene en su interior el vaso de teflón con las soluciones de síntesis.....	39
Figura 2. 15. A) Embudo Buchner de 100mm utilizado para la filtración al vacío del catalizador y B) Sistema de filtración al vacío.	39
Figura 2. 16. Soporte secado a temperatura ambiente posterior a su hidratación con H ₂ O destilada para la prueba de saturación del poro.	40
Figura 2. 17. Impregnación Ni y secado a temperatura ambiente durante 24 h.	41
Figura 2. 18. Impregnación del molibdeno Mo y secado a temperatura ambiente durante 24 h.	41
Figura 2. 19. Catalizador finalmente obtenido posterior a su calcinación durante 5h de NiMo-ZSM5-SBA15 (etiquetado como NM-Z5-B15).....	41
Figura 2. 20. Equipo Bruker D8-Advance utilizado para el análisis de DRX del catalizador sintetizado.	42
Figura 2. 21. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en calibración de celdas vacías y B) Celda de 9 mm con catalizador.	43
Figura 2. 22. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en desgasificación. B) Celdas dentro de la mantilla térmica a 100 °C.	43
Figura 2. 23. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en medición y B) Celdas después de ser medidas dentro del Dewar con nitrógeno líquido.	43
Figura 2. 24. Reactor de lecho fijo Microactivity-Reference marca PID Eng & Tech. donde se realizó la activación del catalizador sintetizado.	44
Figura 2. 25. Reactor batch marca Parr instrument company modelo 4598 equipado con un controlador 4848 donde se realizó las reacción del grupo control y extracto de microalgas.	45
Figura 2. 26. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG-EM) YL6900, con equipo de inyección EST-Analytical-FLEX.....	46

Figura 3. 1. A) Se observa el escalamiento a 1 L, B) escalamiento a 10 L y C) escalamiento a 200L de NRRE-1 y NSRE-1.	48
Figura 3. 2. Crecimiento de las cepas a 100 mL del día 0 al 7 del conteo celular.	49
Figura 3. 3. Crecimiento de las cepas a 100 mL del día 8 al 15 del conteo celular.	49
Figura 3. 4. Concentración celular a los 15 días de los cultivos a 100 ml de las cepas con el medio Guillard f/2. La prueba estadística de t-Student con la corrección de Welch ($\alpha=0.01$ y un intervalo de confianza del 99 %) no mostró diferencias significativas con P valor > 0.01. Las barras de error en la gráfica representan la desviación estándar, n=3.....	49
Figura 3. 5. Curva de crecimiento en 100 mL de NSRE-1 y NRRE-1 durante 15 días en medio Guillard F/2 en la unidad de energía renovable. La prueba estadística de t-Student con la corrección de Welch ($\alpha=0.01$ y un intervalo de confianza del 99 %) no mostró diferencias significativas con P valor > 0.01. Las barras de error en la curva representan la desviación estándar, n=3.	51
Figura 3. 6. Floculación de: A) NRRE-1 y B) NSRE-1 a los 10 minutos en 1L de cultivo.	52
Figura 3. 7. Efecto del Floculado de los bidones de 40 L de cultivo a los 4 días en resguardo a 4 °C en cuarto frío.	53
Figura 3. 8. Se observa: A) El sifonado y B) La biomasa líquida concentrada: B.1. NRRE-1 y B.2. NSRE-1.....	54
Figura 3. 9. Se observa los contenedores con: A) la biomasa húmeda obtenida del centrifugado y B) la biomasa seca obtenida de la liofilización.	55
Figura 3. 10. Extracción con solventes realizada a la biomasa liofilizada por triplicado.	56
Figura 3. 11. Extractos crudos filtrados por CCG para NRRE-1 y NSRE-1.....	58
Figura 3. 12. CCF comparativa de NRRE-1 Y NSRE-1 de extractos filtrados por CCG. Letra “A” aceite de soya.	59
Figura 3. 13. Se observa el difractograma de ángulo alto antes y después de la impregnación del catalizador NiMo.....	61
Figura 3. 14. Se observa la estructura de la SBA-15 en el bajo ángulo del DRX antes y después de la impregnación del catalizador NiMo.	61
Figura 3. 15. Isoterma de adsorción/desorción del soporte antes de impregnación. Clasificación IUPAC de isoterma IV, con histéresis H2(b).	62
Figura 3. 16. Isoterma de adsorción/desorción después de impregnación de metales (catalizador final sintetizado). Clasificación IUPAC de isoterma IV, con histéresis H5 de materiales parcialmente tapados.....	63

Figura 3. 17. Tamaño de poros por el método DFT modelo equilibrado del catalizador sintetizado (N_2 a 77 K para estructuras de sílice “NLDFIT”) P/P_0 en el rango de $10^{-7} - 1$ antes de la impregnación y después de la impregnación.	65
Figura 3. 18. 250 mg de Catalizador NiMo/ZSM5-SBA15 activado, utilizado para la reacción de producción de biogasolina del grupo control.....	68
Figura 3. 19. Muestras de 1mL del producto de la reacción HDO de las materias primas empleadas de NSRE-1 y NRRE-1.....	69
Figura 3. 20. Porcentaje relativo del volumen de familias de hidrocarburos presentes en la biogasolina de NSRE-1.....	79
Figura 3. 21. Porcentaje relativo del volumen de familias de hidrocarburos presentes en la biogasolina de NRRE-1.....	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. 1. Contenido y productividad de lípidos en la biomasa de algunas microalgas de agua dulce y marinas. Cuadro modificado [6].....	8
Tabla 1. 2. Perfil de ácidos grasos (%) del género <i>Nannochloropsis</i> spp. Cuadro modificado [32].	11
Tabla 1. 3. Algunas microalgas de las que se han extraído aceites o lípidos para producir biocombustibles.....	14
Tabla 1. 4. Especificaciones de la calidad de la gasolina en la Normativa Mexicana [75,76].	21
Tabla 1. 5. Especificaciones Internacionales de la calidad de la gasolina. [76,77]	22
Tabla 1. 6. Producción de biogasolina a partir de aceites vegetales. Cuadro modificado [60]. ...	23
Tabla 1. 7. Biogasolina obtenida a partir de diversas materias primas, procesos tecnológicos y catalizadores.	25
Tabla 3. 1 Concentración de células por mililitro de las cepas en estudio al término de los 15 días de cultivo en diferentes volúmenes.50	
Tabla 3. 2. Resultados del conteo celular y eficiencia de floculación para NSRE-1.....	53
Tabla 3. 3. Resultados del conteo celular y eficiencia de floculación para NRRE-1.	54
Tabla 3. 4. Producción de biomasa seca comparada de las cepas escaladas a 200L.	55
Tabla 3. 5. Resultado comparativo de las extracciones realizadas para NSRE-1 y NRRE-1.....	57
Tabla 3. 6. Propiedades texturales del soporte y del catalizador sintetizado.	67
Tabla 3. 7. Compuestos en nomenclatura IUPAC identificados para NSRE-1 en los cromatogramas analizados por CG-EM del producto de reacción para NSRE-1. Números RON (research octane number), MON (motor octane number) y anti-nock index (AKI) (Demirbas et al. 2015).	70
Tabla 3. 8. Compuestos en nomenclatura IUPAC identificados para NRRE-1 en los cromatogramas analizados por CG-EM del producto de reacción para NRRE-1. N Números RON (research octane number), MON (motor octane number) y anti-nock index (AKI) (Demirbas et al. 2015).	72
Tabla 3. 9. Perfil comparado de hidrocarburos en el producto obtenido por medio de la reacción de HDO one-pot, para las microalgas estudiadas.....	75
Tabla 3. 10. Comparación en porcentajes de hidrocarburos de los productos de reacción HDO one-pot de las microalgas.	78
Tabla 3. 11. Perfil comparado del producto obtenido por medio de la reacción de HDO one-pot de oxigenados y peso en oxígeno.	79
Tabla 3. 12. Estudios en condiciones semejantes en la reacción de HDO one-pot.	83

GLOSARIO

ACC: Aceite de cocina Comercial

Autótrofo: Que produce su propio alimento.

AKI: Anti-Knock Index

BET: Brunauer-Emmett Teller

Biocombustibles: Combustibles derivados de la biomasa.

Biodiésel: Combustible derivado de la biomasa con cadenas de hidrocarburos mayores a C_{16} que es transesterificado para eliminar un buen porcentaje de oxígeno del mismo.

Biogasolina: Biocombustible derivado de la biomasa de cadenas de hidrocarburos C_5 - C_{12} que es semejante en propiedades al combustible de origen fósil y es menos contaminante.

Biomasa: Materia orgánica que deriva de la naturaleza con la que se producen biocombustibles.

BJH: Barrett–Joyner–Halenda.

Catalizador heterogéneo: Sustancia química en una fase distinta, generalmente sólida que es fácilmente recuperada posterior a un proceso químico.

Catalizador: Parte activa compuesta de generalmente de metales de transición como Pt, Pd, Co, Ni, Mo.

Catalizador: Sustancia química que acelera una reacción, convierte la materia prima a un producto.

CCF: Cromatografía de capa Fina

CCG: Cromatografía de columna por gravedad.

CG-EM: Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas.

CO₂: Dióxido de carbono.

CS₂: Disulfuro de carbono.

Descarbonilación: Eliminación de Carbono y oxígeno en forma de CO (Monóxido de carbono) y H₂O (agua).

Descarboxilación: Eliminación de Carbono y oxígeno en forma de CO₂.

DFT: Density Funcional Theory.

DRX: Difracción de rayos X.

Fisisorción: Proceso mediante el cual las moléculas se adhieren a un material.

GEI: Gases de efecto invernadero.

HCL: Ácido clorhídrico

HDO one pot: Hidrodesoxigenación en una sola reacción o paso.

HDO: Hidrodesoxigenación

HDS: Hidrodesulfuración.

HEFA: Hydroprocessed esters and fatty acids

Heterótrofo: Que depende del consumo de otros organismos y otros compuestos orgánicos.

Hidrocraqueo catalítico: Inyección de hidrógeno que involucra la presencia de un catalizador que realiza el rompimiento o craqueo de moléculas.

Liofilización: Método de secado de biomasa a partir de bajas temperaturas extremas y elevada presión.

Lípidos: Compuestos bioquímicos de naturaleza hidrófoba y se distribuyen ampliamente en la naturaleza, incluyen acilgliceroles, ceras, fosfolípidos, glicolípidos, terpenos como carotenoides y esteroides y éteres alquilglicéricos.

Microalgas: Organismos microscópicos eucariontes y procariontes que sobreviven en ambiente acuáticos y húmedos cuyo metabolismo es autótrofo, es decir, son fotosintéticos.

Mixótrofo: Que comparte características autótrofas y heterótrofas.

NRRE-1: Nannochloris sp.

NSRE-1: Nannochloropsis sp.

Octanaje o número de octano: Capacidad antidetonante de las gasolinas que le confiere estabilidad en su uso y almacenamiento, RON: Research Octane Number y MON: Motor Octane Number.

Pirólisis: Conocido como craqueo térmico se lleva a cabo a temperaturas y presiones muy elevadas en ausencia de oxígeno cuyo producto de reacción es un bioaceite.

Soporte de catalizador: Material con estructura porosa donde que se impregnan metales, le da características de resistencia y desempeña un importante papel en la estabilización de los sitios activos.

TAGs: Triacilglicéridos.

RESUMEN

El uso de combustibles fósiles ha elevado la concentración de CO₂ en la atmósfera aumentando las temperaturas globales. Para mitigar este efecto, se ha implementado el uso de biomasa de microalgas que actúan como sumideros de CO₂ y de las cuales a partir de sus aceites y lípidos se pueden obtener biocombustibles para el transporte como la biogasolina. Para su obtención, se empleó hidrodeshidrogenación en un solo paso (HDO one-pot) con el cual se obtuvo una biogasolina de calidad en composición de hidrocarburos y bajo en oxígeno a la luz de la normativa existente para el combustible convencional. *Nannochloris* sp. (NRRE-1) y *Nannochloropsis* sp. (NSRE-1) se cultivaron a 200 litros y se obtuvo biomasa con rendimientos de 0.30 g L⁻¹ (NRRE-1) y 0.33 g L⁻¹ (NSRE-1), con una producción de extractos lipídicos del 24 % en peso (NRRE-1) y 17 % en peso. (NSRE-1). Para poder llevar a cabo la reacción de HDO one-pot se sintetizó un catalizador heterogéneo con estructura microporosa y mesoporosa, estructura cristalina e isoterma tipo IV con histéresis tipo H5, característica de catalizadores semi taponados de nueva generación. Se realizó la activación *in situ* del catalizador y se hicieron reaccionar los extractos lipídicos de las microalgas en un reactor por lotes, obteniéndose 91.12 % en peso de biogasolina para NSRE-1 con 80.96 % en peso de hidrocarburos en el rango C₅-C₁₂ como isoparafinas (44.1 % en peso), n-parafinas (18.57 % en peso) y un bajo porcentaje de compuestos aromáticos (0.16 % en peso). Las cadenas de hidrocarburos con mayor porcentaje en peso fueron de C₆ (61.26 % en peso), C₁₁ (12.11 % en peso) y C₁₀ (4.80 % en peso). Para NRRE-1 se obtuvo 94.19 % en peso de biogasolina e hidrocarburos. De los cuáles se obtuvo isoparafinas (44.30 % en peso), n-parafinas (27.72 % en peso) y un bajo porcentaje de aromáticos (1.89 % en peso). Las cadenas de hidrocarburos con mayor porcentaje fueron de C₆ (63.15 % en peso) y C₈ (12.42 % en peso). Este trabajo aporta información para ampliar el conocimiento de las biogasolinas de tercera generación.

ABSTRACT

The use of fossil fuels has increased the concentration of CO₂ in the atmosphere, raising global temperatures. To mitigate this effect, the use of microalgae biomass has been implemented, as these act as CO₂ sinks and their oils and lipids can be used to produce transportation biofuels such as biogasoline. For this production, a one-step hydrodeoxygenation (HDO one-pot) process was employed, resulting in high-quality biogasoline in terms of hydrocarbon composition and low oxygen content, in accordance with existing regulations for conventional fuel. *Nannochloris* sp. (NRRE-1) and *Nannochloropsis* sp. (NSRE-1) were cultivated in 200 liters, yielding biomass with rates of 0.30 g L⁻¹ (NRRE-1) and 0.33 g L⁻¹ (NSRE-1), with lipid extract productions of 24 % wt (NRRE-1) and 17 % wt (NSRE-1). To carry out the HDO one-pot reaction, a heterogeneous catalyst with a microporous and mesoporous structure, crystalline structure, and a type IV isotherm with type H5 hysteresis (characteristic of new-generation semi-plugged catalysts) was synthesized. The *in situ* activation of the catalyst was carried out, and the lipid extracts from the microalgae were reacted in a batch reactor, obtaining 91.12% by weight of biogasoline for NSRE-1, with 80.96 % by weight of hydrocarbons in the C₅-C₁₂ range. This includes isoparaffins (44.1 % wt), n-paraffins (18.57 % wt), and a low percentage of aromatic compounds (0.16 % wt). The hydrocarbon chains with the highest weight percentages were C₆ (61.26 % wt), C₁₁ (12.11 % wt), and C₁₀ (4.80 % wt). For NRRE-1, 94.19 % wt of biogasoline and hydrocarbons was obtained. This included isoparaffins (44.30 % wt), n-paraffins (27.72 % wt), and a low percentage of aromatics (1.89 % wt). The hydrocarbon chains with the highest percentages were C₆ (63.15 % wt) and C₈ (12.42 % wt). This work contributes to the knowledge of third-generation biogasoline.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático inducido por actividades humanas se ha convertido en uno de los desafíos más críticos del planeta que se atribuye principalmente a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) provenientes principalmente de dos sectores, el energético y el sector transporte que de acuerdo con el Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC) continúan dependiendo de los combustibles fósiles y es el dióxido de carbono (CO₂) el principal GEI emitido [1,2]. Recientemente, la International Energy Agency (IEA) informó que se duplicará la demanda de combustibles líquidos del transporte para el 2050 [2,3] y que la huella de carbono actualmente de 37.4 gigatoneladas, continuará aumentando en los próximos años. Siendo una necesidad la producción de biocombustibles a partir de procesos que actúen como sumideros de CO₂. Uno de estos sumideros naturales es la biomasa de microalgas. Siendo prometedoras para producir biocombustibles a base de hidrocarburos para disminuir la huella de carbono. Han sido muchas las ventajas atribuidas a las microalgas, como mayores rendimientos de biomasa por unidad de área que otras materias primas [4,5]. No compite con la producción de alimentos, tienen alto contenido de aceite. Además, pueden crecer en medios húmedos y acuáticos sin el uso directo de agua dulce [6,7,8]. Sin embargo, el cultivo de microalgas enfrenta desafíos debido a los altos costos de producción. Reducir estos costos mientras se mantiene alta productividad es esencial para su viabilidad, mientras se mantiene una alta concentración de biomasa y una elevada productividad de lípidos [9,10,11]. Los lípidos, principalmente los aceites de las microalgas [12,13,14], forman la base para la producción de biocombustibles para el transporte como el diésel verde, biodiésel, combustible para aviación y biogasolina [15,16,17]. Para la obtención de estos biocombustibles se han utilizado procesos de hidrotreatmento (inyección de hidrógeno) como la hidrodeseoxigenación (HDO) que elimina el oxígeno abundante en la biomasa, evitando malas propiedades de flujo en frío, inestabilidad oxidativa y corrosión en el motor [18].

Se han llevado a cabo algunos estudios con la reacción de HDO para microalgas, un ejemplo, es la biomasa de *Chlorella sorokiniana*, procesada directamente para obtener diésel verde [19] y *Scenedesmus acuminatus* para producir combustible de aviación [20]. La información disponible hasta el momento sobre la reacción HDO en microalgas todavía continúa siendo estudiada para encontrar métodos más sostenibles en la producción de biocombustibles, y los trabajos para la aplicación de la reacción HDO en un solo paso para la obtención y selectividad hacia la biogasolina con propiedades más limpias es prácticamente inexistente. Estas propiedades más limpias se atribuyen a su composición en hidrocarburos y se discute un posible elevado octanaje que podría contribuir a disminuir el CO₂ ambiental.

Para lograr el éxito de la reacción HDO fue importante la síntesis de un catalizador con microporos, mesoporos y metales de transición cuyos sitios activos facilitaran la desoxigenación, el craqueo y formación de compuestos isómeros, alquenos, cíclicos y en menor medida aromáticos. Este estudio representa un avance significativo en la producción de biogasolina de tercera generación, al demostrar la viabilidad de su obtención con la biomasa de microalgas marinas (*Nannochloris* sp. y *Nannochloropsis* sp.) y contrastando su calidad con la normativa existente para la gasolina de origen fósil (gasolina convencional).

CAPITULO 1

ANTECEDENTES

1.1 Generalidades de las microalgas

1.1.1 Descripción de las microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos acuáticos que se encuentran en agua de mar y en agua dulce, los cuales se clasifican como microorganismos eucariotas o cianobacterias procariotas (algas verde-azules) (Figura 1.1). De igual manera, son cosmopolitas por lo que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza [21]. La biodiversidad de las microalgas es enorme, se encuentran en diferentes tamaños, morfologías, ciclos de vida, pigmentos y metabolismos.

Actualmente se han identificado más de 40,000 especies de las 800,000 de las que se tiene conocimiento [22]. Estos microorganismos realizan la fotosíntesis, fijan CO_2 , son de rápido crecimiento, y sintetizan compuestos como carbohidratos, proteínas y lípidos [23].

Existen varios subhábitats donde se les puede encontrar como hábitats sedimentarios (microalgas bentónicas), adheridas a sustratos de algas, raíces de manglares y plantas (microalgas epífitas). Existen también planctónicas, es decir, que se encuentran en la columna de agua [24]. De igual manera las microalgas pueden hacer simbiosis con otros microorganismos.

Las microalgas pueden crecer de tres formas diferentes de acuerdo con su metabolismo: autotrofia, heterotrofia y mixotrofia [7,25]. En el crecimiento autotrófico, las microalgas producen la materia orgánica y la energía necesarias utilizando el CO_2 como fuente de carbono y luz solar como fuente de energía. En el crecimiento heterótrofo, los compuestos orgánicos se utilizan como fuente de energía y de carbono. La fuente de carbono más utilizada es la glucosa y glicerol.

El metabolismo mixotrófico consiste en un régimen de crecimiento de dos etapas, con una primera etapa heterotrófica y una segunda etapa autotrófica. Este método puede ser ventajoso en los ciclos naturales de luz y oscuridad. Algunos nutrientes esenciales para mantener su crecimiento son los compuestos con nitrógeno, fósforo y carbono, además de diversos componentes traza, por lo que los cultivos pueden mejorar añadiendo nutrientes [7,25].

Las microalgas incluyen dos tipos de estructura celular: los eucariotas (*Euglenophyta*, *Dinophyta*, *Rhodophyta*, *Chlorophyta*, *Heterokontophyta*, *Haptophyta*, *Cryptophyta*) y los procariontes que incluyen dos divisiones: Cyanophyta y Prochlorophyta [22].

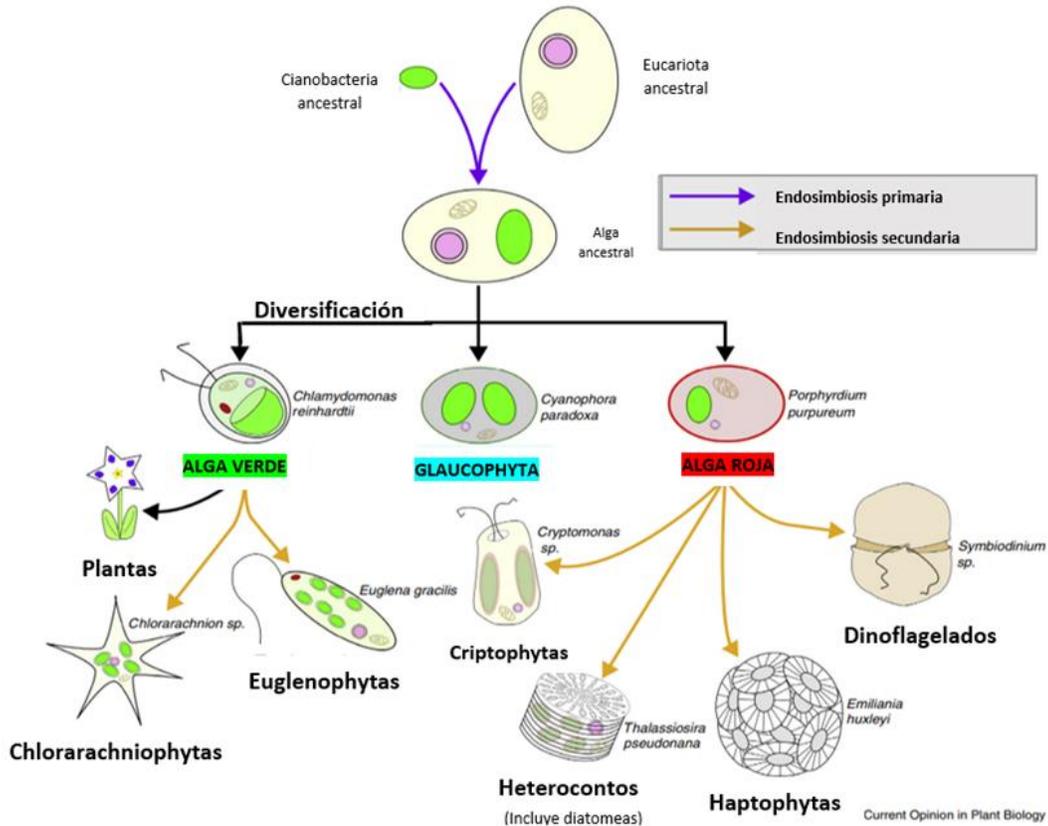


Figura 1. 1 Esquema que indica el origen filogenético de la gran mayoría de las especies de microalgas [26].

1.1.2 Usos de las microalgas

Los cultivos de microalgas se han utilizado para la captura de CO₂ de la atmósfera, remoción de nutrientes de las aguas residuales para producir biomasa con varias aplicaciones (Ver figura 1.2). como producción de bioenergía y productos farmacéuticos como algunos antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianos y anticancerígenos los cuáles se han obtenido principalmente de especies como *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis* (spirulina), *Dunaliella salina*, *Phaeodactylum tricoratum*, *Haematococcus pluvialis*, *Isochrysis galbana*, *Scenedesmus*

obliquus y *Tetraselmis suecica* [27]. Algunas especies de microalgas se utilizan para la nutrición humana por ejemplo de *Nannochloropsis gaditana*, *Chlororella vulgaris*, *Scenedesmus almeriensis*, *S. obliquus*, y *Haematococcus pluvialis* se ha extraído pigmentos aditivos como carotenoides, así como antioxidantes, Omega 3, ficobiliproteínas, polisacáridos, proteínas, Ácido Docosahecanoico (DHA), lípidos, carbohidratos y azúcares. En lo que respecta a la nutrición de animales acuáticos y terrestres se ha utilizado para piensos y como alimento vivo para peces, rotíferos y crustáceos [28,29].

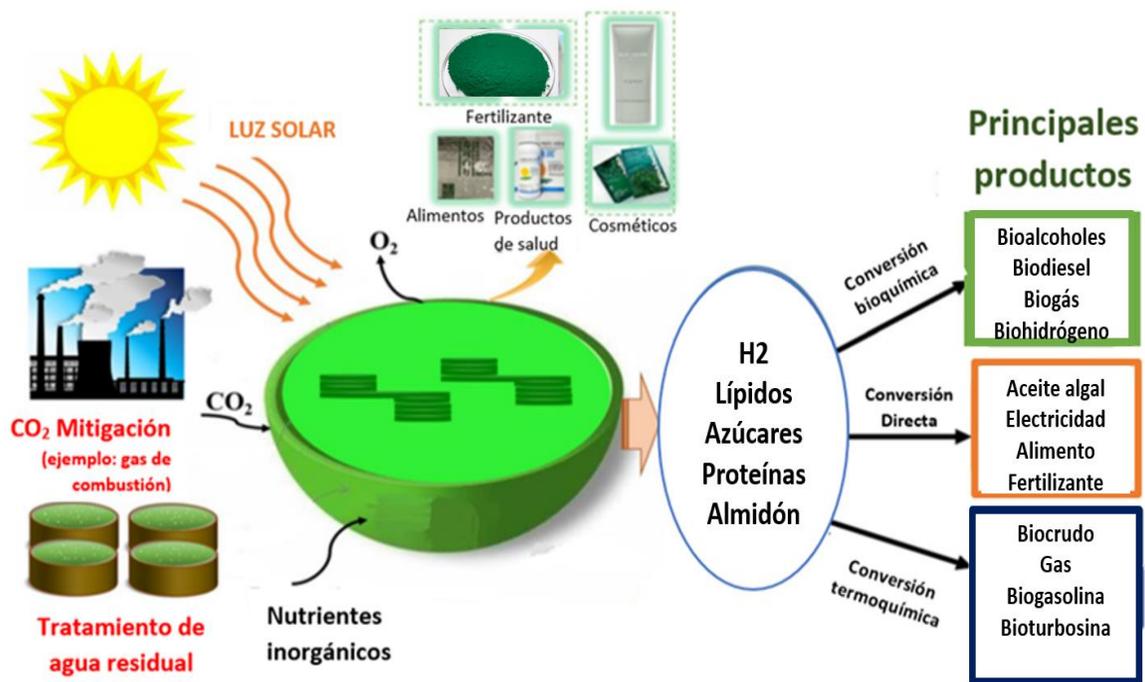


Figura 1. 2. Beneficios ambientales del cultivo de microalgas y sus aplicaciones para producir diversos productos y biocombustibles [11].

Las microalgas poseen vitaminas, aminoácidos, polipéptidos, polímeros y sustancias antibacterianas, que pueden influir en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, su biomasa también puede ser empleada como fertilizante por el contenido de potasio, fósforo y nitrógeno [6]. De igual manera también son organismos con propiedades biorremediadoras de aguas con elevada eutrofización [8]. La composición química promedio de las algas expresada en base a

materia seca (%) varía entre 30-50 % de proteínas, 0-20 % de carbohidratos, 20-40 % de lípidos y 0-5 % de ácidos nucleicos [30].

1.2 Descripción de géneros en estudio *Nannochloropsis* y *Nannochloris*

1.2.1 Género *Nannochloropsis* sp.

El Género *Nannochloropsis* comprende en la actualidad a cinco especies de microalgas verdes oleaginosas y planctónicas, las cuales son: *Nannochloropsis australis*, *N. granulata*, *N. limnética*, *N. oceánica* y *N. oculata* [31]. Otros autores refieren que existen 6 especies en este género: *Nannochloropsis oceánica*, *N. oculata*, *N. salina*, *N. limnética*, *N. granulata* y *N. gaditana* [32, 33]. La razón de esta disyuntiva es que, en 2015, las especies *N. salina* y *N. gaditana* fueron transferidas al género *Microchloropsis*. Estos organismos pueden sobrevivir en elevadas concentraciones salinas y al mismo tiempo en ambientes dulceacuícolas [34]. Su alimentación puede variar de autótrofo a heterótrofo y mixótrofo [32].

No se tienen evidencia de reproducción sexual del género, por lo que su principal medio de reproducción es por la vía asexual [31]. Los pigmentos dominantes en este género perteneciente a la clase Eustigmatophyceae son la violaxantina, vaucherioxantina-éster y la clorofila A. Poseen pigmentos menores que incluyen el β -caroteno, la zeaxantina y sustancias desconocidas [35].

1.2.2 Género *Nannochloris* sp.

Las microalgas pertenecientes al género *Nannochloris* sp. no han sido tan ampliamente estudiadas como la especie anterior y su taxonomía todavía es incierta. Entre sus características se encuentra que albergan organismos pertenecientes a la clase Trebouxiophyceae, pueden tolerar altos niveles de salinidad y en morfología son similares al género *Nannochloropsis* sp. [36,37]. Las algas del género *Nannochloris* spp. se han propuesto como algunos de los organismos eucarióticos más pequeños, con estructuras celulares simples y genomas pequeños, una de las características definitorias para clasificarlas es el modo de división celular por fisión binaria que es comúnmente utilizada por bacterias, y varias microalgas clasificadas como pertenecientes a *Nannochloris* que se dividen por autoesporulación han sido reclasificadas como el género *Picochlorum*, sin embargo se ha observado que dependiendo de las condiciones de cultivo puede variar la reproducción asexual y se encuentra en discusión esta reclasificación, siendo que algunos otros autores como Yamamoto et al (2003) sugieren que se trata de un grupo polifilético que comprende 5 especies: 1) *Nannochloris bacillaris*, 2) *Nannochloris coccoides*, 3)

Nannochloris maculata, 4) *Nannochloris atomus* y 5) *Nannochloris eucaryotum*. Actualmente se incluye una especie descubierta por Sanders *et al.* (2022) *Nannochloris desiccata* [37,38,39].

1.2.3. Morfología de los géneros en estudio

Nannochloropsis sp. son microalgas unicelulares, subesféricas o cilíndricas de 2-4 μm de diámetro, no flageladas con capacidad para almacenar del 20 al 50 % en lípidos [32,34,40,41,42,43]. *Nannochloropsis* sp. se ha estudiado por medio de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y se ha descrito que está conformada por células esféricas u ovaladas con lóbulos redondeados, un cloroplasto parietal sin pirenoides, ocelo en algunas células, ornamentaciones lenticulares en la pared celular, gotas lipídicas y retículo endoplásmico unido al plastidio y membrana celular. El plastidio posee cuatro membranas que son características del género [44]. En la figura 1.3 se observa la morfología típica de *Nannochloropsis oculata*.

Por otro lado, *Nannochloris* sp. son microalgas unicelulares, ovals de 1.5 a 3 μm de diámetro, un solo núcleo y cloroplasto, y con reproducción asexual [37]. El estudio de ultraestructura por microscopía electrónica de transmisión (TEM) de *Nannochloris* sp. ha mostrado células esféricas u ovaladas, con un cloroplasto parietal en forma de copa con pirenoides, pared celular multicapa y plastidio con membranas tilacoides que se insertan en el pirenoide [44].

1.3 Producción de lípidos en microalgas

Los lípidos de las microalgas pueden clasificarse en dos grupos, lípidos de almacenamiento y lípidos estructurales. Las microalgas sintetizan triacilglicéridos (TAG), ácidos grasos libres, ceras, esteroides, hidrocarburos, terpenos, glicolípidos y fosfolípidos, así como ácidos grasos halogenados o hidroxilados y alquenos de cadena larga [6]. Los ácidos grasos comunes que se encuentran en las células de las microalgas son el ácido esteárico, el ácido palmítico, el ácido palmitoleico, el ácido vaccénico y el ácido linoleico [12]. El metabolismo lipídico de las microalgas es similar al de plantas superiores [45], y dependiendo de la especie y las condiciones de cultivo el contenido lipídico puede variar en la biomasa microalgal (Tabla 1.1) e incluso puede superar el 80 % [46].

Tabla 1. 1. Contenido y productividad de lípidos en la biomasa de algunas microalgas de agua dulce y marinas. Cuadro modificado [6].

Especies de microalgas marinas y de agua dulce	Contenido en lípidos (%peso seco)	Productividad lipídica (mg L⁻¹ día⁻¹)
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	24.0–31.0	–
<i>Botryococcus braunii</i>	25.0–75.0	–
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33.6	21.80
<i>C. calcitrans</i>	14.6 - 16.4	17.6
<i>Chlorella emersonii</i>	25.0 - 63.0	10.3 - 50.0
<i>C. protothecoides</i>	14.6 - 57.8	1214
<i>C. sorokiniana</i>	19.0 - 22.0	44.7
<i>C. vulgaris</i>	5.0 - 58.0	11.2 - 40.0
<i>Chlorella</i> sp.	10.0 - 48.0	42.1
<i>C. pyrenoidosa</i>	2.0	–
<i>Chlorella</i> sp.	18.0 - 57.0	18.7
<i>Chlorococcum</i> sp.	19.3	53.7
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20.0–51.1	–
<i>Dunaliella salina</i>	6.0–25.0	116.0
<i>D. primolecta</i>	23.1	–
<i>D. tertiolecta</i>	16.7–71.0	–
<i>Dunaliella</i> sp.	17.5 - 67.0	33.5

<i>Ellipsoidion</i> sp.	27.4	47.3
<i>Euglena gracilis</i>	14.0 - 20.0	–
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25.0 - 0.05	–
<i>Isochrysis galbana</i>	7.0 - 40.0	–
<i>Isochrysis</i> sp.	7.1 - 33	37.8
<i>Monodus subterraneus</i>	16.0	30.4
<i>Monallanthus salina</i>	20.0 - 22.0	–
<i>Nannochloris</i> sp.	20.0 - 56.0	60.9 - 76.5
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22.7 - 29.7	84.0 - 142.0
<i>Nannochloropsis</i> sp.	12.0 - 53.0	37.6 - 90.0
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29.0 - 65.0	90.0 - 134.0
<i>Nitzschia</i> sp.	16.0 - 47.0	8.8
<i>Oocystis pusilla</i>	10.5	–
<i>Pavlova salina</i>	30.9	49.4
<i>P. lutheri</i>	35.5	40.2
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18.0 - 57.0	44.8
<i>Porphyridium cruentum</i>	9.0 - 18.8	34.8
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11.0 - 55.0	–
<i>S. quadricauda</i>	1.9 - 18.4	35.1
<i>Scenedesmus</i> sp.	19.6 - 21.1	40.8 - 53.9

<i>Skeletonema</i> sp.	13.3 - 31.8	27.3
<i>S. costatum</i>	13.5 - 51.3	17.4
<i>Spirulina platensis</i>	4.0 - 16.6	–
<i>S. maxima</i>	4.0 - 9.0	–
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20.6	17.4
<i>Tetraselmis suecica</i>	8.5 - 23.0	27.0 - 36.4

1.3.1 Lípidos y productividad lipídica de ambos géneros en estudio

Las fracciones lipídicas del género *Nannochloropsis* spp. en su mayoría están compuestas por lípidos polares, lípidos no polares o neutros formadas por ácidos grasos de C₁₄, C₁₆, C₁₈ y C₂₀ (Ver tabla 1.2), así como lípidos esenciales tales como omega-3 o ácido eicosapentaenoico conocido por sus siglas en inglés como EPA [12,32,43]. En cuanto a los lípidos no polares o neutros como los TAG estas microalgas suelen almacenarlos en cuerpos lipídicos como se observa en la Figura 1.3.

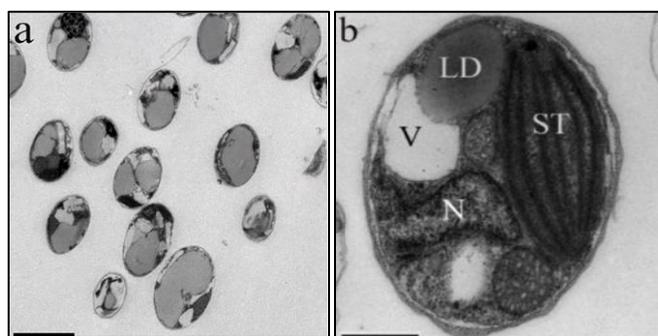


Figura 1. 3. Micrografía típica de *Nannochloropsis oculata* extraído de Ma *et al.*, 2016: (a) morfología; y (b) diferentes organelos: Gota lipídica (LD), núcleo (N), tilacoides apilados (ST) y vacuola (V) [32].

De igual manera se han encontrado hidrocarburos de C₁₅, C₁₇, C₁₈, C₂₄, C₂₀ y C₂₇, así como ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs por sus siglas en inglés) de C₁₇ y C₁₉ [44]. Las fracciones lipídicas de *Nannochloris* sp. presentan contenidos de β-ácidos grasos poliinsaturados y ácido graso omega-3 linolénico [36]. Esta microalga posee hidrocarburos de C₁₄, C₁₇, C₁₉, C₂₀ y C₂₁, así como ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs por sus siglas en inglés) de C₁₇ y C₁₉ [44].

Los estudios han demostrado que la producción de lípidos en *Nannochloropsis* spp. y *Nannochloris* spp., puede mejorarse ajustando los nutrientes, temperatura, pH y considerando someter a las células a diversos factores estresantes relacionados por ejemplo con la salinidad, el déficit de nutrientes especialmente de nitrógeno y alta irradiancia en periodos controlados y prolongados [40,47,48]. En un estudio realizado con *N. gaditana* se seleccionó y caracterizó un mutante, que a la exposición de luz con una elevada irradiancia se vio un aumento de casi el 80 % de la productividad de lípidos comparado con la cepa control, produciendo ácidos grasos C_{16:0} y C_{18:0} [48,49].

Otro parámetro como el pH influye en la producción lipídica, en *N. salina*, por ejemplo, se ha visto mayores tasas de productividad lipídica a pH 8 y 9 que de igual manera ayuda a minimizar a los organismos invasores [40] y en algunas especies *Nannochloropsis* spp. se ha visto que existe una alta producción lipídica antes de llegar a la etapa estacionaria del crecimiento [50]. *N. oceánica* en contraste acumula altas concentraciones de lípidos durante la fase estacionaria con una productividad de 159 mg L⁻¹ día⁻¹ [51], sin embargo, esta productividad puede variar pues algunas especies del género pueden producir de 25.8 a 60.9 mg L⁻¹ d⁻¹ [52].

Tabla 1. 2. Perfil de ácidos grasos (%) del género *Nannochloropsis* spp. Cuadro modificado [32].

Especies	C_{14:0}	C_{16:0}	C_{16:1}	C_{18:0}	C_{18:1}	C_{18:2}	C_{18:3}	C_{20:4}	C_{20:5}
<i>N. oculata</i> CS179	-	26.7	26.6	0.6	5.9	5.3	0.1	7.1	20.2
<i>N. oceanica</i> CCMP531	45	45.9	22.7	0.6	22.2	0.7	0.5	2.5	2.9

<i>N. oculata</i> CCMP529	2.1	29.1	28.3	1.9	22.8	2.6	1.6	6.2	5.4
<i>N. limnetica</i> CCMP505	-	16.6	2.9	4.6	31.5	23.8	17.5	-	-
<i>N. granulata</i> CCMP525	2.4	26.2	24	3.3	28.5	4.7	1.6	4.5	4.8
<i>N. gaditana</i> CCMP527	2.7	39.2	24.1	3.1	14.2	4.7	1.6	4.5	4.7
<i>N. salina</i> CCMP537	3.3	32.2	25.4	2.5	15.5	3	0.6	3.6	10.9
<i>N. salina</i> CCMP1176	2.1	32	30	3.2	9.4	2.6	0.9	7.2	12.7
<i>Promedio</i>	9.6	31	23	2.48	18.8	5.93	3.05	5.09	8.8

En la literatura se describe que las temperaturas idóneas para una mayor productividad lipídica en *Nannochloris* sp. y *Nannochloropsis* sp. se encuentran entre los 20 °C a 25 °C [41]. Un estudio realizado con *N. oceánica* mostró que las temperaturas entre 17 a 29 °C favorecen la acumulación de TAG y por arriba de los 31°C inhiben la producción lipídica de ácido eicosapentaenoico (EPA) y las bajas temperaturas por debajo de 9 °C permiten almacenar ácidos grasos poliinsaturados efecto opuesto al de las altas temperaturas que permiten almacenar ácidos grasos saturados y éstos últimos junto con los MUFAS (ácidos grasos monoinsaturados) son los principales componentes de los hidrocarburos verdes [6,52].

1.3.2 Biocombustibles de tercera generación a partir de aceites de microalgas

Los biocombustibles a partir de aceites de microalgas pertenecen a la tercera y cuarta generación los cuáles aún se encuentran en desarrollo (Ver Figura 1.4.). Además, su contenido rico en aceites y almidones las posiciona como una excelente fuente de biocombustible de primera calidad [5,46,53]. En el ámbito energético a partir de la conversión directa de sus lípidos y aceites

(ver Tabla 1.3) se producen combustibles como bioturbosina, biodiesel y biogasolina [4,12,13,54,55].

El perfil de ácidos grasos ejerce un impacto significativo en las propiedades de los combustibles derivados de los aceites, como su poder calorífico, lubricidad, viscosidad, comportamiento a bajas temperaturas y estabilidad oxidativa [56]. Los perfiles de ácidos grasos para las microalgas se presentan dentro del rango típico de C_{16-18} con una alta proporción de ácidos grasos insaturados, la presencia de compuestos oxigenados en el mismo puede ocasionar corrosión elevada y un bajo valor calorífico, siendo de importancia contrarrestar estos inconvenientes y mejorar las propiedades de los aceites vegetales, por lo que se requiere un proceso adicional denominado hidrodesoxigenación (HDO) [57].

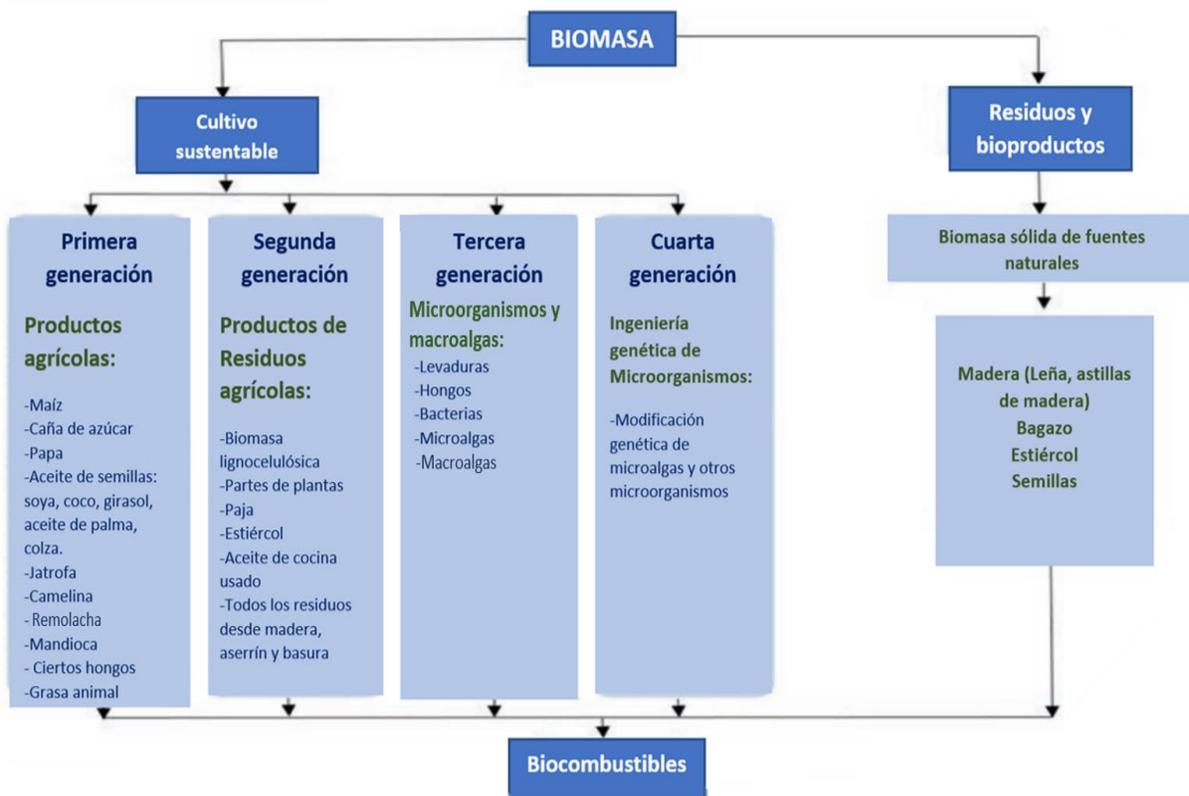


Figura 1. 4. Categoría de la biomasa para la producción de biocombustibles, modificado de Chowdhury et al. [58] y Sadatshojaei et al. [5].

Tabla 1. 3. Algunas microalgas de las que se han extraído aceites o lípidos para producir biocombustibles.

Autor	Microalga	Biocombustible	Medio de cultivo	Técnica	Catalizador	Referencia
Hillen <i>et al.</i> , 1982	<i>Botryococcus Braunii</i>	Combustible de aviación	/	Hidroprocesamiento de aceite	Cobalto molibdato	[16]
Makareviciene <i>et al.</i> 2014	<i>Chlorella protothecoides</i>	Biodiesel	Cultivo heterótrofo	Transesterificación	NaOH	[17]
Veillette <i>et al.</i> , 2017	<i>C. protothecoides</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	Amberlyst-15	[55]
Cooney <i>et al.</i> , 2009	<i>C. protothecoide</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	CH ₃ COCL	[54]
D'Oca <i>et al.</i> , 2011	<i>C. pyrenoidosa</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[54]
Ehimen <i>et al.</i> , 2010a, 2010b	<i>Chlorella</i> sp.	Biodiesel	BG-11	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[54]
De Luna <i>et al.</i> , 2017	<i>Chlorella</i> sp.	Biodiesel	/	Transesterificación	Li OH	[55]
Gómez <i>et al.</i> , 2017	<i>Chlorella</i> sp.	Bio-jet fuel	/	Hidroprocesamiento de aceite	Zeolita mesoporosa	[16]
Cercado <i>et al.</i> , 2018	<i>C. vulgaris</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	K-pumice	[54]

Tran <i>et al.</i> , 2012	<i>C. vulgaris</i>	Biodiesel	Medio Basal modificado	Transesterificación	Lipasa inmovilizada de <i>Burkholderia</i>	[54]
Tangy <i>et al.</i> , 2016	<i>C. vulgaris</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	SrO-C	[54]
Noyala <i>et al.</i> , 2022	<i>Desmodemus</i> sp.	Biogasolina	Medio Bold Basal	Pirólisis del extracto lipídico en n- hexano	Alúmina	[15]
Liu <i>et al.</i> , 2015	<i>Isochrysis</i> <i>zhangjiangensis</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[54]
Carrero <i>et al.</i> , 2011	<i>Nannochloropsis</i> <i>gaditana</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	zeolita jerárquica (h-beta)	[55]
Umdu <i>et al.</i> , 2009	<i>N. oculata</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	CaO/Al ₂ O ₃	[54]
Teo <i>et al.</i> , 2014	<i>N. oculata</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	CaMgO/Al ₂ O ₃	[55]
Teo <i>et al.</i> , 2014	<i>N. oculata</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	Ca(OCH ₃) ₂	[55]
Li <i>et al.</i> , 2011	<i>Nannochloropsis</i> sp.	Biodiesel	Cultivo de agua de mar sintética	Transesterificación	MgO/ZrO ₂	[55]
Poddar <i>et al.</i> , 2018	<i>Nannochloropsis</i> sp.	Biokeroseno	/	Hidroprocesamiento de aceite	CoMoP/Al ₂ O ₃	[16]

Wadood et al., 2019	<i>Parachlorella kessleri</i>	Biodiesel	Medio Bold Basal modificado	Transesterificación	RHS	[55]
Mandotra et al., 2014	<i>Scenedesmus abundant</i>	Biodiesel	BBM, CHU- 13 modificado y BG-11	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[17]
Guldhe et al., 2015	<i>S. obliquus</i>	Biodiesel	/	Transesterificación	Lipasa de <i>P. Fluorescence</i>	[55]
Guldhe et al., 2017	<i>S. obliquus</i>	Biodiesel	Medio Bristol	Transesterificación	Cr-Al	[55]
Johnson and Wen, 2009	<i>Schizochytrium limacinum</i>	Biodiesel	Cultivo heterótrofo con glicerol crudo	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[54]
Sumprasit et al., 2017	<i>Spirulina platensis</i>	Biodiesel	Medio de Zarrouk	Transesterificación	H ₂ SO ₄	[17]

1.4. Procesos tecnológicos para la producción de biocombustibles a partir de aceites vegetales

1.4.1 Reacción de hidrodeshidrogenación (HDO) de aceites vegetales

La reacción de hidrodeshidrogenación (HDO) tiene como principal función saturar los enlaces de carbono-oxígeno con hidrógeno para que de esta forma este gas desplace al oxígeno y se una al carbono formando hidrocarburos saturados. La reacción HDO en hidrocarburos se realiza a 250 °C a 600 °C, lo cual incide en la velocidad de la reacción [57,59].

La HDO se considera un método eficaz para eliminar el oxígeno de los aceites empleados. En este proceso, los compuestos oxigenados presentes en el aceite vegetal reaccionan con la inyección de hidrógeno a alta presión y temperatura en presencia de un “catalizador” el cual es una sustancia química utilizada para acelerar la conversión de una materia prima a un producto y pueden ser de naturaleza heterogénea (en una fase diferente, generalmente sólida) y su elección se realiza según las características específicas de la reacción y los objetivos del proceso industrial [60].

El propósito principal del proceso de hidrodeshidrogenación (HDO) como se observa en la Figura 1.5, es disminuir la relación O-C y, simultáneamente, aumentar la relación H-C, la hidrodeshidrogenación de aceites ocurre por tres vías principales [61]:

- En la vía HDO, los enlaces dobles de las cadenas de ácidos grasos se saturan mediante la adición de hidrógeno molecular sin romper enlaces, esta acción elimina el oxígeno en forma de agua. La hidrodeshidrogenación de los triacilglicéridos puede ocurrir mediante tres vías de descomposición diferentes (migración de hidrógeno, eliminación y desoxigenación directa).
- En la vía de descarboxilación, el grupo carboxilo: COOH se elimina de la cadena de triacilglicéridos mediante una ruptura directa de enlace C-C en presencia de H₂, lo que resulta en la producción de alcanos lineales. Por lo tanto, la desoxigenación de la materia prima se logra mediante la liberación de CO₂ como subproducto del mecanismo de descarboxilación.
- En la vía de descarbonilación, el grupo carbonilo: C=O se elimina de la cadena de triacilglicéridos mediante una ruptura directa de enlace C-C en presencia de H₂, lo que también resulta en la producción de alcanos lineales, se logra mediante la eliminación de O₂ y la liberación de CO y H₂O.

continúa trabajando en la propuesta de catalizadores más económicos y con mejor actividad catalítica en los procesos de reacción de HDO [59,63].

De igual manera la impregnación de metales juega un papel importante en la reacción de HDO, se ha visto por ejemplo que los catalizadores NiMo utilizados en la industria del petróleo para hidrodesulfuración (HDS), tienen además una alta actividad de hidrodesoxigenación, sin embargo, una mala dispersión de las fases metálicas al momento de la impregnación puede causar un efecto negativo dando lugar a una baja actividad catalítica [64]. De igual manera el porcentaje de impregnación para una sinergia adecuada de los metales NiMo es del 3.5 % a 4.5 % de níquel y 11.5 % a 12 % de molibdeno, estos porcentajes propician un adecuado balance de partículas clave como el MoO_3 , NiS y NiO que son las formas activas y llevan a cabo la HDO [64,65].

1.4.2 Hidrocraqueo catalítico de aceites vegetales

El hidrocraqueo es un proceso que involucra dos fases que combinan el craqueo catalítico y la inyección de hidrógeno a través de catalizadores que dan lugar a los combustibles [66]. El hidrocraqueo se desarrolló por primera vez en Alemania durante el período de los conflictos bélicos de la primera y segunda guerra mundial. Este importante avance en el hidrocraqueo estaba directamente relacionado con el desarrollo de catalizadores a base de zeolita. Este procedimiento era utilizado en el refinado del petróleo y en la actualidad es utilizado tanto para la refinación del petróleo como para la producción de biocombustibles [67].

El hidrocraqueo o hidrodesintegración de aceites vegetales se realiza típicamente utilizando un catalizador bifuncional en el que la función de craqueo es proporcionada por el soporte ácido y la función de hidrogenación-deshidrogenación es proporcionada por el metal. Los soportes amorfos como la sílice-alúmina, así como las zeolitas convencionales y jerárquicas o combinaciones de ambas, son soportes ácidos potenciales para metales como Pt, Pd, Co, Ni, Mo, W, etc.[68].

En lo que respecta a los aceites vegetales para obtención de gasolina, se demostró que pueden obtenerse varios alcanos de la gama C_8 - C_{15} a la que pertenece el diésel renovable y la gasolina cuando se ajusta el grado de hidrodesoxigenación e hidrocraqueo en particular usando los catalizadores de zeolita-alúmina soportados por NiMo, los cuales han sido eficaces mostrando selectividad por estas cadenas de hidrocarburos, siendo el NiMo/USY- Al_2O_3 selectivo para el diésel y el catalizador NiMo/Beta- Al_2O_3 para la gasolina [67,69]. Hoy en día se da importancia a la utilización de metodologías para la obtención de combustibles en una menores etapas de

reacción, ya que reduce significativamente los costos de producción. Uno de estos procesos tecnológicos que se lleva a cabo en dos etapas es el conocido como HEFA (Hydroprocessed Esters and Fatty Acids) por sus siglas en inglés, el cuál describiré a continuación.

1.4.3 Proceso HEFA (hidroprocesamiento de esteres y ácidos grasos).

El proceso de hidrotreatmento de ésteres y ácidos grasos (HEFA, por sus siglas en inglés) es una tecnología bien establecida por la American Society for Testing and Materials (ASTM) para la eliminación de oxígeno, así como para la saturación de olefinas y aromáticos que daría lugar a biocombustibles como el biodiesel y el combustible de aviación e involucra procesos como la hidrogenación, isomerización y craqueo del producto. En caso de requerirse se realiza una separación del producto deseado para purificarlo de otros productos obtenidos.

El proceso HEFA está bien descrito a partir de materias primas como los aceites. La primera etapa consiste en una hidrogenación catalítica, un proceso que añade hidrógeno para saturar los enlaces dobles presentes en grasas y aceites. La segunda etapa es la hidroisomerización y craqueo que convierte los hidrocarburos lineales en estructuras ramificadas, mientras que el hidrocrqueo rompe y satura estos hidrocarburos para obtener diversos hidrocarburos parafínicos [70].

El hidrotreatmento de ésteres y ácidos grasos (HEFA) (Figura 1.6), actualmente se emplea para la obtención de combustible sintéticos de aviación y diésel verde proveniente de aceites vegetales, reciclados de cocina y bioaceites [71], pero podría modularse para generar biogasolina y transformarla en gasolina sintética (gasolina muy parecida a la de origen fósil).

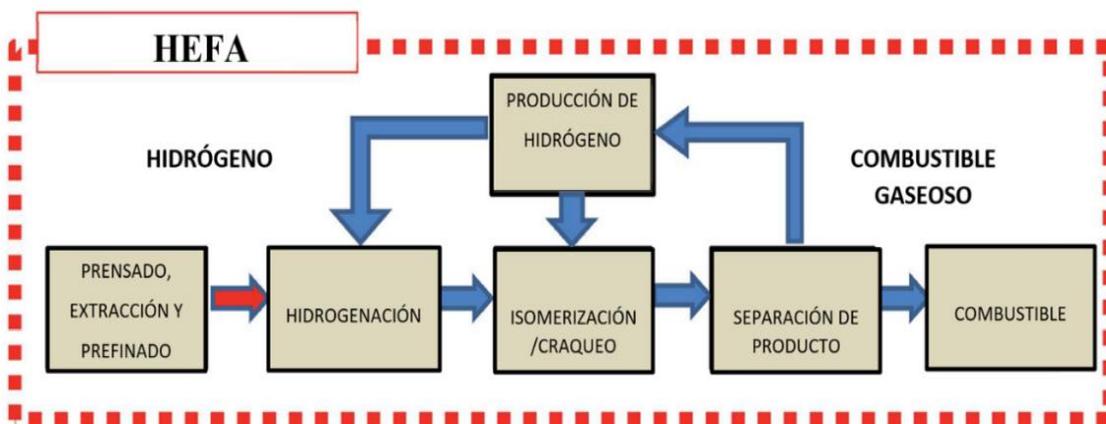


Figura 1. 6. Fases del proceso HEFA, para producción de combustible. Figura modificada [72].

1.5. Biogasolina

El origen de la biogasolina (hidrocarburo de C_5-C_{12} que es un combustible líquido para motores de combustión interna) a partir de biomasa se remonta a 1920, cuando los alemanes Franz Fischer and Hans Tropsch desarrollaron un catalizador y un reactor capaz de transformar carbón en combustible líquido mediante un proceso de gasificación al que adjudicaron el nombre de síntesis Fischer-Tropsch [73].

Una de las propiedades clave de la gasolina es su valor antidetonante o número de octano, que le confiere estabilidad en su uso y almacenamiento (Bakhtyari et al. 2017; Macías, and González Marrero 2019) . Su estructura química es similar a la gasolina convencional derivada del petróleo, compuesta por parafinas (4-8 %v/v), isoparafinas (25-40 %v/v), cicloparafinas o naftenos (3-7 %v/v), olefinas (2-5%v/v) y aromáticos (20-50 %v/v). Entre estos componentes, las isoparafinas (parafinas ramificadas) y los compuestos aromáticos son especialmente valoradas debido a que su presencia indica un mayor octanaje [57,63].

1.5.1. Especificaciones de la calidad de la gasolina

La biogasolina debe ser capaz de cumplir la normativa nacional mexicana NOM-016-CRE-2016 [75], para un combustible de motor de combustión interna (Tabla 1.4) y la normativa internacional de organizaciones como la “D 4814” de la ASTM (American Society for Testing and Materials) en Estados Unidos y la organización ISO (International Organization for Standardization) [76,77].

Tabla 1. 4. Especificaciones de la calidad de la gasolina en la Normativa Mexicana [75,76].

Propiedad	Unidad	Premium	regular	Prueba ASTM D-4814
#Octano (RON ¹)	Adimensional	94 mínimo	-	D2699
#Octano (MON ²)	Adimensional	-	82 mínimo	D2700
Índice de Octano	Adimensional	91 mínimo	87 mínimo	D2699 Y D 2700
Olefinas	% vol.	12.5 máximo	-	D1319

Aromáticos	% vol.	32 máximo	-	D1319, D5580 Y D6277
Benceno	% vol.	2 .0 máximo	2 .0 máximo	D3606, D5580 Y D6277
Azufre total	mg/kg	30-80 máximo	30-80 máximo	D5453, D2622, D7039 Y D7220
Oxígeno	% masa	2.7 máximo	3.7 máximo	D4815 Y D5845

1. Octanaje medido en laboratorio (RON) y 2. Octanaje probado en un motor estático (MON).

Tabla 1. 5. Especificaciones Internacionales de la calidad de la gasolina. [76,77].

NORMAS PARA GASOLINA		ISO			ASTM D4814		
Propiedad	Unidades	Min.	Max.	Prueba	Min.	Max.	Prueba
Número de Octano (RON)	Adimensional	98	/	EN 5164	94	/	D2699
Número de Octano (MON)	Adimensional	88	/	EN5163	82	/	D2700
Azufre	mg/kg	/	10	20846	/	20	D2622
Oxígeno	% m/m	/	2.7	EN 22854	/	2.7	D4815 y D5599
Olefinas	% v/v	/	10	3837	/	12	D1319
Aromáticos	% v/v	/	32	3837	/	32	D1319
Benceno	% v/v	/	1.0	EN 22854	/	1.0	D5580
Presión de vapor	kPa	45	105	EN 13016	54	103	D5191

Goma no lavada	mg/ 100 mL	/	0.3	6246	/	0.7	D381
Goma lavada	mg/ 100 mL	/	0.05	6246	/	0.05	D381
Densidad	Kg/m ³	720	775	3675	715	770	D4052

1.5.2 Catalizadores más utilizados para producir biogasolina a partir de aceites vegetales.

La producción de biogasolina se ha realizado de tres fuentes principales de biomasa: La biomasa de almidón/ azúcar, la biomasa lignocelulósica (Compuesta de Lignina, hemicelulosa y celulosa) y los triacilglicéridos [57]. En su mayoría se ha realizado la obtención de biogasolina a partir de diversos aceites vegetales (Tabla 1.6) y utilizando diferentes catalizadores [60].

Tabla 1. 6. Producción de biogasolina a partir de aceites vegetales. Tomado de [60] y modificado.

Catalizador	Materia prima	% Rendimiento
HZSM-5	Aceite de palma	48.5
HZSM-5/Al ₂ O ₃	Aceite de palma	47
E-cat	Aceite de algodón	33.7
Nano-ZSM-5	Aceite de palma reciclado	37.05
H-AIMCM-41	Aceite de palma	29.4
HZSM-5	Aceite de palma	28.87
USY/ZSM-5	Aceite de girasol	43.5
HZSM-5	Aceite de Jatropha	50
H ₂ SO ₄	Aceite de semilla de caucho	48.3
V2O5	Aceite de girasol	29.2

FeZnCuZSM-5	Aceite de palma	59
ZSM-5	Aceite de Soya	32.21
USY	Aceite de Jatropha	38.61
ZSM-5	Aceite de semilla de caucho	34.86
E-cat	Aceite de girasol	≈ 40
HZSM-5	Aceite de cocina reciclado	35.0
HY	Aceite de palma	34.25
ZSM-5	Aceite de palma	42.6

En la literatura se han reportado pocos estudios con microalgas para obtener biogasolina [78,79] con porcentajes de rendimiento del biocombustible menores al 40 % y con cantidades considerables de compuestos sulfurados, los cuáles han sido eliminados con catalizadores NiMo [60,80–82].

1.5.3 Procesos tecnológicos en la producción de biogasolina a partir de aceites vegetales.

La biogasolina se ha obtenido a partir de diversos procesos tecnológicos (Tabla 1.7) cuyo interés se centra en el desarrollo de combustibles sintéticos, es decir, que imite las propiedades del combustible derivado del petróleo. Además, se requiere que los materiales crudos utilizados puedan integrarse sin cambios significativos en la infraestructura existente, lo que se conoce como biocombustibles sintéticos "drop-in" [73]. Uno de estos procesos a partir de aceite vegetal es el craqueo catalítico que ocurre a una temperatura óptima de 250 a 550 °C durante un período de 2 a 6 horas a partir de un catalizador que juega un papel crucial en el proceso de conversión pues se ha observado que la alta acidez del catalizador juega un papel importante en la producción de biogasolina con un alto número de octano [73,83]. Otro proceso tecnológico utilizado para producir biogasolina es la pirólisis (craqueo térmico), donde se lleva a cabo un proceso de descomposición a elevadas temperaturas por encima de los 550 °C en ausencia de oxígeno para convertir el producto utilizado en combustible líquido denominado bioaceite y

posteriormente se lleva a cabo un reformado del producto, donde de igual manera se utilizan catalizadores para acelerar el proceso [15,73].

Tabla 1. 7. Biogasolina obtenida a partir de diversas materias primas, procesos tecnológicos y catalizadores.

Materia Prima	Técnica utilizada	Catalizador	% de biogasolina	Ref.
Aceite derivado de biomasa lignocelulósica	Craqueo catalítico y síntesis de olefinas a presión atmosférica	Dos catalizadores La/HZSM-5 y LTG-0	19.3	[84]
Residuo saponificado de aceite de palma	Craqueo catalítico	Na ₂ CO ₃	12.7	[85]
Bioaceite de microalga <i>Desmodesmus</i> sp.	Pirólisis usando directamente las microalgas secas y su extracto en n-Hexano	Catalizador de alúmina	33.5 -40	[15]
Aceite compuesto de ácido linoleico	Craqueo catalítico	Cu/ZSM-5 y Ni/ZSM-5	-----	[60]
Aceite de cocina usado	Craqueo catalítico	CaCO ₃ producido de cáscara de huevo	30	[81]

JUSTIFICACIÓN

El uso intensivo de combustibles fósiles ha incrementado las emisiones de gases de efecto invernadero, con el dióxido de carbono (CO_2) como el principal responsable a nivel mundial del cambio climático.

A pesar de los esfuerzos internacionales para disminuir la huella de carbono, dos sectores en específico son los principales contribuyentes: el energético y el transporte. Esto destaca la necesidad urgente de alternativas sostenibles a los combustibles fósiles.

Dentro de las alternativas propuestas se encuentran la biomasa de microalgas, debido a la capacidad de estos microorganismos para capturar el CO_2 e incorporarlo en sus procesos metabólicos de crecimiento, ofreciendo una neutralidad de emisiones. No obstante, la producción de biocombustibles a partir de esta biomasa enfrenta varios desafíos, como el alto costo y la baja productividad en la extracción de aceite que es materia prima para la generación de combustibles para el transporte como la biogasolina.

Un problema significativo, es la eliminación del exceso de oxígeno y otros contaminantes en los combustibles obtenidos para mejorar su calidad. Los métodos actuales para lograrlo son complejos y costosos, involucrando múltiples etapas. La hidrodeshidrogenación (HDO) es un proceso que ha sido poco explorado en el contexto de la biomasa de microalgas.

Por tal motivo esta tesis propone obtener biogasolina a partir de microalgas con mayor calidad y más limpia que el combustible convencional, mediante la optimización del proceso de HDO utilizando un enfoque "one-pot", que combina la hidrodeshidrogenación, el craqueo y reformado del producto.

Este estudio busca ampliar el conocimiento de las biogasolinas, principalmente las de tercera generación a partir de biomasa de microalgas comparando su composición de hidrocarburos y oxígeno con base a la normativa existente para la gasolina convencional.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la hidrodeseoxigenación one-pot sobre la biogasolina producida a partir de extractos lipídicos de microalgas?

¿Las biogasolinas cumplen con las normativas existentes para el combustible convencional?

HIPÓTESIS

La biogasolina obtenida mediante hidrodeseoxigenación one-pot a partir de lípidos de microalgas marinas tendrá una composición de hidrocarburos y oxígeno similar a la gasolina convencional.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener biogasolina mediante la reacción HDO one-pot de extractos lipídicos de microalgas marinas (*Nannochloropsis* sp. y *Nannochloris* sp.) y comparar su calidad con la normativa existente para el combustible convencional a partir de los compuestos obtenidos, hidrocarburos y peso en oxígeno.

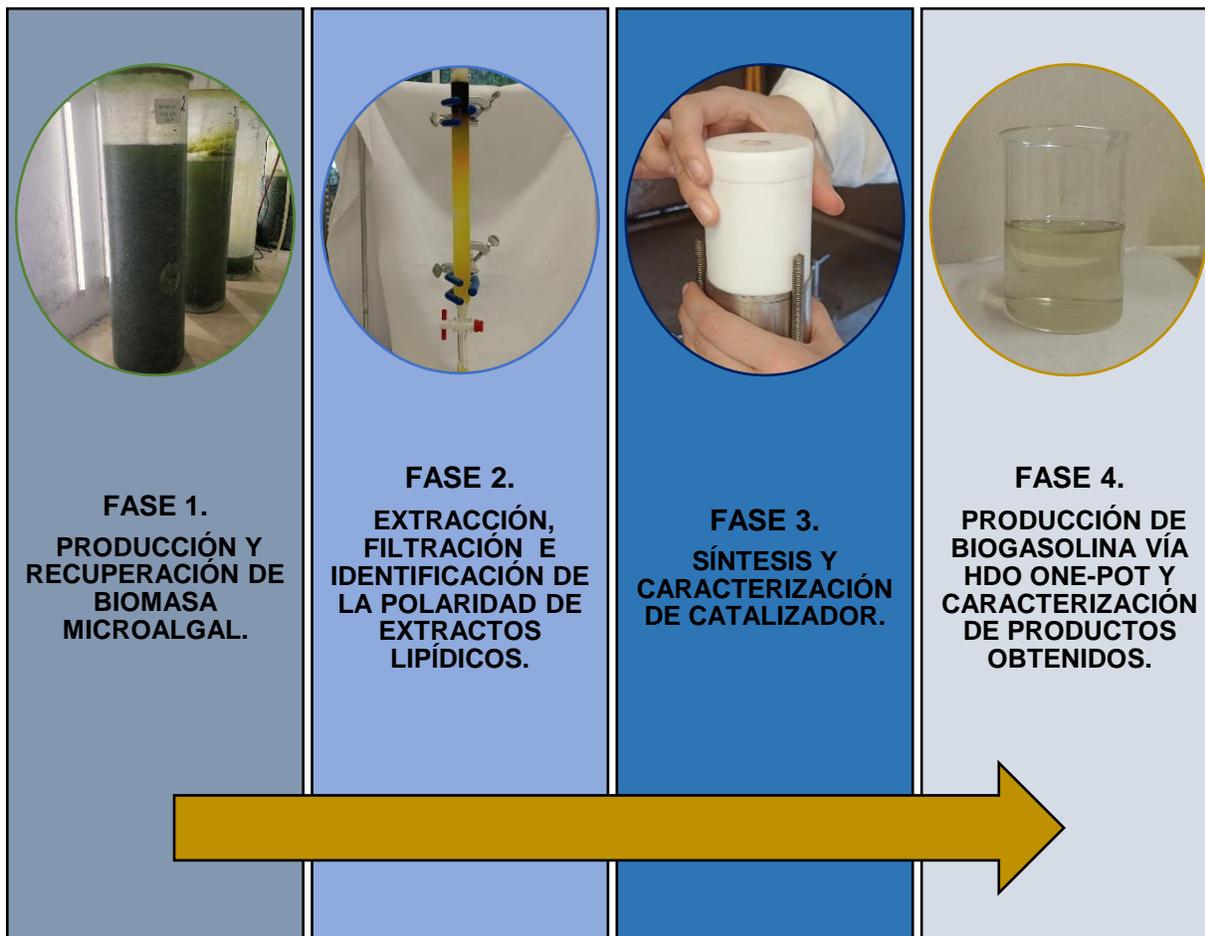
OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener biomasa y extractos lipídicos de *Nannochloris* sp. y *Nannochloropsis* sp. (cepas NSRE-1 y NRRE-1) a partir de su escalamiento a 200L.
- Sintetizar y caracterizar por fisisorción de N₂ y difracción de rayos X (DRX) un catalizador heterogéneo con características microporosas y mesoporosas.
- Obtener biogasolina vía HDO one-pot a partir de los extractos lipídicos de *Nannochloropsis* sp. y *Nannochloris* sp.
- Caracterizar los productos de reacción HDO por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)
- Comparar las biogasolinas obtenidas con la composición en hidrocarburos y oxígeno de las normativas nacionales e internacionales para gasolina convencional.

CAPITULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



2.1 Producción de biomasa

2.1.1 Cepas utilizadas

Las especies microalgales fueron: *Nannochloropsis* sp. (NSRE-1) y *Nannochloris* sp. (NRRE-1) pertenecientes al cepario de la Unidad de Energía Renovable del Centro de Investigación Científica de Yucatán.

2.1.2 Cultivo de microalgas y producción de biomasa

Se realizó una resiembra en matraces Erlenmeyer de 100 mL a los cuáles se les adicionó 90 mL de medio de cultivo Guillard f/2 (Anexo 1), y se procedió a inocular con 10 mL (10 % de inóculo) de cultivo proveniente de las cepas madre NSRE-1 y NRRE-1. En total se realizó una réplica para cada cepa y se sometieron a las siguientes condiciones de cultivo en laboratorio: pH 7-8, 25 °C de temperatura, $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$, fotoperíodo Luz: oscuridad 12:12 y 30 UPS de salinidad durante 15 días. Posteriormente se trasladaron en tubos Falcon de 50 mL a las instalaciones de UNAM-SISAL donde se realizó el escalamiento de las cepas en aerobiosis para obtener cultivos en etapa exponencial. Las cepas de microalgas NSRE-1 y NRRE-1 se escalaron a 1 L, 10 L y 200 L (Figura 2.1) con un inóculo del 10 %, en las mismas condiciones de pH, temperatura, salinidad y fotoperíodo. En la Figura 2.2 se observan las instalaciones en donde se realizaron los cultivos.

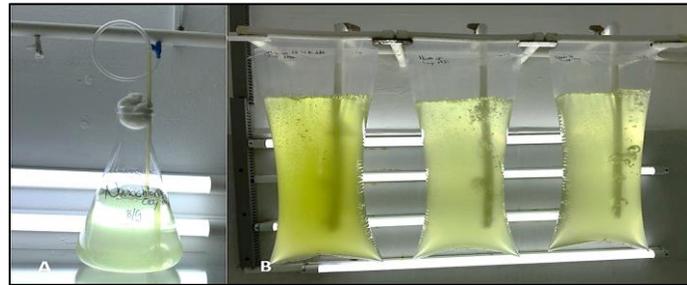


Figura 2. 1. Escalamientos A) 1 L de cultivo y B) 10 L de cultivo en la UNAM-SISAL



Figura 2. 2. A) Balsas de depósito de agua que proviene del sistema marino, B) Cuarto de cultivo, C) Tratamiento con UV de agua marina y D) Depósito de agua con tratamientos de cloración y filtrado que se utiliza en los cultivos.

Durante el cultivo de las cepas a 1L, 10L y 200L de NSRE-1 y NRRE-1 se monitorearon los siguientes parámetros: pH (7- 8), 25 °C de temperatura, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de luz, fotoperíodo luz: oscuridad 12:12 horas, 30 UPS de salinidad. El cultivo se mantuvo en aireación constante. Los pasos que se siguieron para escalar el cultivo a 200 L fueron los siguientes:

I. Para realizar el cultivo de las especies de microalgas marinas, se utilizó agua marina proveniente del sistema costero que previamente se pasó por un sistema de filtración y finalmente por un filtro calcetín de 1-5 μm . El agua se pasó a través de una tubería conectada a Luz UV para eliminar bacterias y evitar su reproducción. Finalmente se desinfectó con una solución de cloro al 6 % (0.3 mL de la solución de cloro por litro de cultivo).

II. La neutralización del agua clorada se realizó de la siguiente manera: 1) Se comprobó la presencia de cloro en el agua marina tratada con anterioridad utilizando un kit medidor de cloro u ortolidina; 2) Se realizó una solución madre con 250 g por litro de tiosulfato de sodio y se neutralizó añadiendo 0.15 mL de la solución madre de tiosulfato por litro de agua marina tratada.

III. Se midió la concentración de sal del agua proveniente del sistema y se ajustó a 30 UPS.

Nota. Es importante mencionar que el agua al almacenarse a la intemperie sufre evaporación por lo que aumenta la salinidad, por tal motivo es necesario ajustarla.

IV. Finalmente se añadieron los nutrientes de medio Guillard f/2 al agua marina tratada y se utilizó aire filtrado para distribuir los nutrientes y oxígeno. Se monitoreó pH, luz, temperatura, oxígeno y salinidad para el crecimiento adecuado de las microalgas durante el cultivo.

V. En total para los cultivos a 200 L se trató un volumen de 180 L de agua marina, a los cuáles se añadió 20 L de microalgas cultivadas (10 % de inóculo) para llevarlo a 200 L.

Posterior a su crecimiento a 200 L en las instalaciones de la UNAM-Sisal, los cultivos fueron trasladados en bidones de 50 L (Figura 2.3), hasta las instalaciones del CICY en la Unidad de Energía Renovable ubicada en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán. Donde se resguardaron en un cuarto frío a 4 °C para su posterior procesamiento.



Figura 2. 3. Llenado y traslado de bidones de 50 L a la unidad de Energía Renovable del CICY.

2.1.3 Cuento celular en cámara Neubauer

Se realizó el conteo celular de las cepas de NSRE-1 Y NRRE-1 con un microscopio óptico y un hematocitómetro Neubauer y se emplearon las fórmulas (1) y (2) para calcular la concentración celular [44,86]:

$$\text{Cel}/\mu\text{L} = \frac{\text{No.de células contadas}}{\text{superficie de conteo (mm}^2\text{)} * \text{profundidad de la cámara (mm)} * \text{dilución}} \quad (1)$$

O bien:

$$\text{Cel}/\mu\text{L} = \frac{\text{No.de células contadas} \times 50\,000}{1\text{mL} * \text{factor de dilución}} \quad (2)$$

El conteo se realizó en cinco cuadros ubicados dentro del cuadrante central de la cámara Neubauer, tomando 10 μL de cultivo para su observación (Figura 2.4).

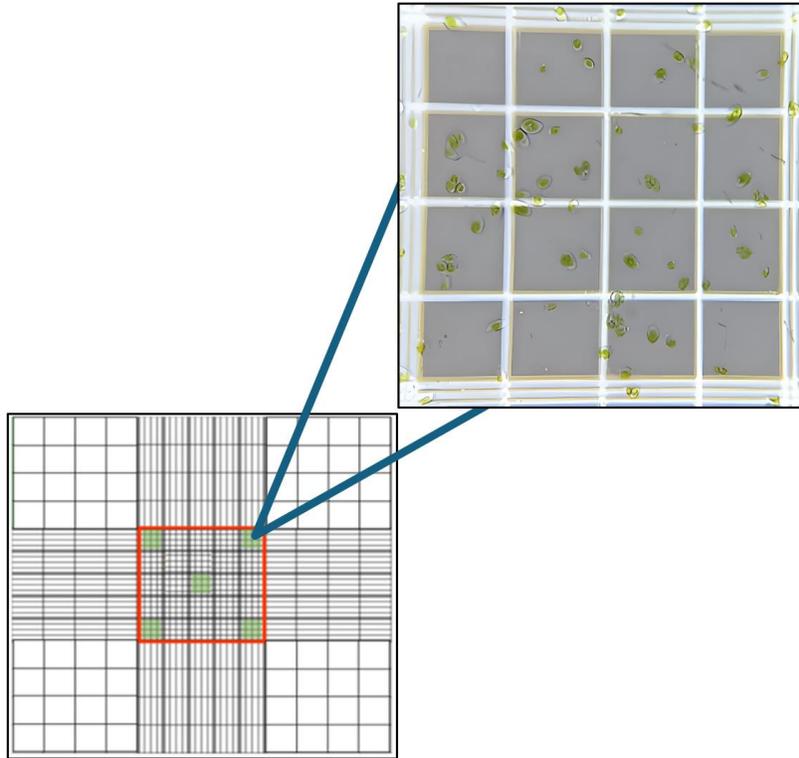


Figura 2. 4. Cámara Neubauer, donde se observa el área de conteo celular empleado en este estudio. Se observan en verde los cinco cuadrantes considerados para el conteo celular.

2.2 Recuperación de biomasa

2.2.1 Floculación

Los cultivos se trasladaron a bidones de 50 L que se llenaron a 40 L de capacidad, en total se procesaron 5 bidones. Posteriormente se floculó la biomasa con 17 mL de NaOH al 0.5 N por litro de cultivo, con agitación vigorosa por 5 min y agitación leve durante 5 min. Se monitoreó el pH cada 10 min (ver Anexo 2) hasta finalizar el proceso de floculación de 30 minutos [28].

2.2.2 Eficiencia de la floculación

Se realizó el cálculo del porcentaje (%) de eficiencia de la floculación, para lo cual se tomaron alícuotas de 500 μ L a los diferentes tiempos de floculación (0, 10, 20 y 30 min), para su conteo celular [28]. El conteo se realizó por triplicado en la cámara Neubauer y se promedió el número de células obtenido. Finalmente se determinó el porcentaje de eficiencia de floculación [28], por lo que se empleó la fórmula (3):

Donde:

EF= % de eficiencia de floculación

$$C_i = \text{Concentración inicial de célula} \qquad EF = \left[\frac{C_i - C_f}{C_i} \right] \times 100 \qquad (3)$$

C_f= Concentración final de células

2.2.3 Sifonado, centrifugado y liofilizado

Se retiró el sobrenadante por sifón (Figura 2.5) y el precipitado se centrifugó en el equipo industrial Thermo Fisher Scientific SL40R (Figura 2.6) a 4,500 rpm, durante 10 minutos a 4 °C. Al término se recuperó la biomasa húmeda, se pesó, se sometió a congelación crítica y se liofilizó por 72 h en el equipo Labconco; Modelo 77530 a 0.100 mBar y -56 °C. Finalmente, la biomasa liofilizada se resguardó en un desecador.

El rendimiento de biomasa (g. L⁻¹) se calculó con base al peso seco total por volumen de cultivo utilizando la fórmula (4).

Donde:

R= Rendimiento de biomasa

X_i= Concentración inicial

$$X_f = \text{Concentración final} \qquad R = [(X_i - X_f) / (T_1 - T_2)] \qquad (4)$$

T₁= Tiempo inicial

T₂= Tiempo final

La productividad de la biomasa (g L⁻¹ d⁻¹) se determinó de acuerdo con la biomasa seca de las microalgas utilizando la fórmula (5) [87].

$$\text{Productividad de biomasa seca} = \frac{\text{biomasa seca}}{\text{volumen de cultivo (L) x días de cultivo}} \qquad (5)$$



Figura 2. 5. Se observa el procedimiento de sifonado de cultivos, posterior a la floculación.



Figura 2. 6. A) Centrífuga industrial *Thermo Fisher Scientific SL40R*, B) Contenedores dentro de centrífuga, C) Contenedores de 500 mL vacíos y D) Contenedores de 500 mL con biomasa líquida.

2.3. Extracto lipídico de microalgas

2.3.1 Obtención de extracto lipídicos de microalga

Para la extracción de lípidos totales la biomasa liofilizada se sometió a un sistema de solvente 1:2 (v/v) cloroformo y metanol [88,89,90] durante 3 h a 40 °C y 150 rpm (Figura 2.7). Seguidamente se utilizaron embudos de separación de 500 m L (Figura 2.8) para obtener la fase líquida (extracto con solventes) y la fracción sólida (biomasa de microalgas). Las extracciones se realizaron por triplicado y la fracción líquida que contenía los lípidos de las microalgas se recuperó en viales y se dejó evaporar (Figura 2.9) en una campana de extracción.

Posteriormente los extractos se sometieron a una segunda evaporación por rotavapor a 40 °C y 80 rpm para eliminar humedad y se transfirieron en viales a peso constante. Finalmente se realizó la cromatografía en capa fina (CCF) para la identificación de fracciones, principalmente de las fracciones correspondientes a los TAG.

El contenido de lípidos en porcentaje (%) se cuantificó mediante la fórmula (6) [91].

$$\% \text{ Lípidos} = \left(\frac{\text{g de lípidos recuperados}}{\text{g de biomasa seca}} \right) \times 100 \quad (6)$$

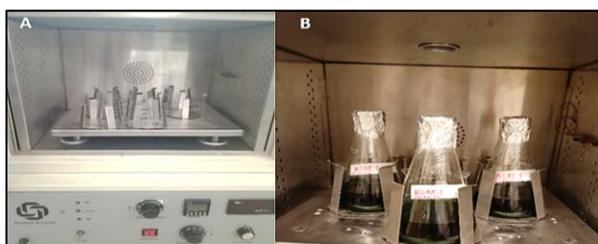


Figura 2. 7. A) Agitador orbital Scorpio y B) Matracas con cultivo dentro del agitador.



Figura 2. 8. Embudos de separación en soportes universales, donde se colocaron los extractos.



Figura 2. 9. Contenedores donde se depositó el extracto para su evaporación.

2.3.2. Procesamiento del extracto por cromatografía en columna (CCG).

De los extractos lipídicos obtenidos se filtraron 0.978 g de la cepa NSRE-1 y 0.946 g de NRRE-1 por una columna cromatográfica empacada en sílice (10 cm de altura y 14 g del absorbente) con metanol como único solvente con tamaño de partícula de 0.007 μm que fungió como fase estacionaria. El empacado de las columnas (2 en total) se realizó con el volumen de gel de sílice calculado y hexano en una relación 1:2 sílice/hexano. Posteriormente se prepararon las cabezas de las columnas (extracto de microalga impregnado en sílice), las cuales se adicionaron al finalizar el empacado (Figura 2.10).

La recolección del filtrado se realizó en tubos de ensayo marca PIREX N° 9800 y 9801. Posteriormente se realizó el procedimiento de peso constante a los viales donde se depositó el extracto filtrado y finalmente se realizó el procedimiento de cromatografía de capa fina para identificar la polaridad de los compuestos que lo conforman.



Figura 2. 10. Empacado de la columna con la adición de hexano y sílica gel. A) Se observa la columna preparada con la cabeza y B) Se observa el procedimiento de empacado en la columna *marca ESEVE, 2427*.

2.3.3 Identificación del extracto crudo y purificado por cromatografía en capa fina (CCF).

Se emplearon placas de gel de sílice (cromatofolios Merck, silicagel 60) como fase estacionaria y se realizó un lavado previo de capilares con metanol, cloroformo y acetona. Una vez lavados los capilares fueron utilizados para colocar las muestras en las placas de gel de sílice, seguidamente se realizó una solución que fungió como fase móvil con hexano, acetato de etilo y ácido acético en una proporción 9:1:0.1 (v/v).

Finalmente, el revelado de las placas se realizó empleando una solución de ácido fosfomolibdico al 10 % en ácido sulfúrico y aplicando calor. Se utilizó aceite de soya, que permitió identificar la presencia de TAG y se comparó con la polaridad de los compuestos presentes en los extractos lipídicos de las microalgas (Figura 2.11).

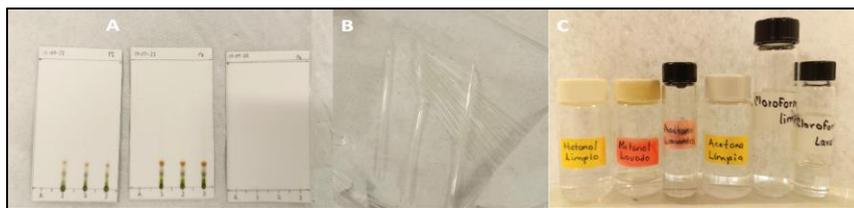


Figura 2. 11. Cromatografía de capa fina: A) Placas de silica gel, B) Capilares y C) solventes.

2.4 Síntesis y caracterización del catalizador heterogéneo NIMO/ZSM5-SBA15

2.4.1 Síntesis del catalizador heterogéneo soporte/catalizador

La síntesis del catalizador se realizó de acuerdo con metodología modificada por Zhang *et al.*, (2018), Morales *et al.* (2015) y Villafán (2023) [92,93,94]. Se adecuó la metodología para obtener un catalizador con sitios activos más estables, utilizando una Zeolita ZSM-5 con relación Si/Al de 80. El porcentaje que se sintetizó de SBA-15 fue de 30 % y de ZSM-5 del 70 % del peso del soporte. Para el catalizador finalmente obtenido al impregnar los metales Ni y Mo se obtuvieron los siguientes porcentajes en peso: 24 % de SBA-15, 56 % de ZSM-5, 9% de sal de Molibdeno (12 % de contenido de molibdeno), 11 % de Sal de Níquel hexahidratada (4 % de contenido de níquel).

2.4.1.1 Síntesis del soporte

La síntesis del soporte se realizó a partir de ZSM-5 (Compañía Zeolyst) y SBA-15. Primeramente, se pesaron 5 g de Zeolita en una balanza analítica y se pasó a su forma protonada mediante

calcinación en una mufla (Figura 2.12) utilizando una rampa de calentamiento de 1 °C/min hasta 550 °C durante 3 h. Seguidamente se procedió a realizar la síntesis de la SBA-15 a partir de una mezcla de Pluronic 123, HCl (ácido clorhídrico), TEOS y se integró la Zeolita previamente calcinada.



Figura 2. 12. Mufla marca Vulcan 3-500 donde se realizaron las calcinaciones en diversas etapas de la síntesis del catalizador.

Se realizó la solución A: Por cada 1.75 g de Zeolita calcinada se adicionaron 81.25 mL de HCl al 0.4 M y 0.75 g de Pluronic 123. Se colocó la solución a baño María a 35 °C y 300-600 rpm.

Se realizó la solución B: Se añadió 8.75 mL de HCl y 3.75 mL de TEOS gota a gota y se colocó la solución B en un baño María a 35 °C y 100-150 rpm.

Posteriormente se unieron la solución A y B en un vaso de teflón añadiendo la solución B gota a gota y se colocó el vaso de teflón a baño maría a 35 °C y 300 rpm durante 20 h (Figura 2.13). El vaso de teflón se colocó dentro de una autoclave a baño con glicerol y se agitó a 300 rpm durante 24 h (Figura 2.14).

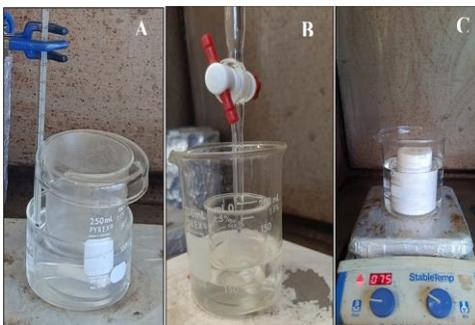


Figura 2. 13. Soluciones realizadas para la síntesis del soporte a una temperatura de 35 °C a baño maría: A) solución con HCL al 0.4 M, Pluronic 123 y zeolita calcinada, B) solución de HCl y TEOS donde se observa la bureta utilizada para añadir el TEOS gota a gota. C) vaso de teflón donde se unieron las soluciones a baño maría a 35 °C y 300 rpm.



Figura 2. 14. Baño de parafina donde se colocó el autoclave que contiene en su interior el vaso de teflón con las soluciones de síntesis.

2.4.1.1.1 Filtración del soporte

Se procedió a vaciar el soporte sintetizado en papel filtro dentro de un embudo buchner (Figura 2.15.a) y se filtró en un sistema al vacío realizando lavados al soporte y adicionando 350 mL de H₂O destilada (Figura 2.15.b). Seguidamente se recuperó el contenido en el papel filtro y secó a temperatura ambiente durante 12 h.

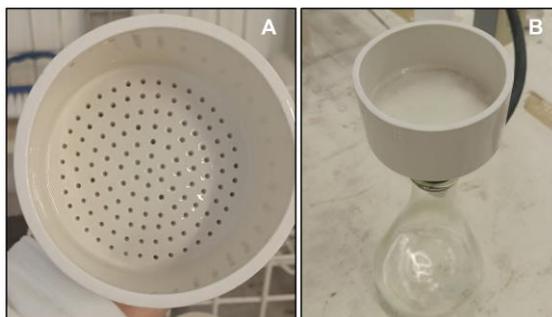


Figura 2. 15. A) Embudo Buchner de 100mm utilizado para la filtración al vacío del catalizador y B) Sistema de filtración al vacío.

2.4.1.1.2 Calcinación y saturación del poro del soporte

Se procedió a realizar la calcinación del soporte previamente filtrado en una mufla (Figura 2.12) bajo las siguientes condiciones:

Rampa # 1: 1 °C/min hasta llegar a 300 °C durante 30 minutos.

Rampa # 2: 1 °C/min hasta llegar a 600 °C durante 6 h.

La primera rampa tuvo una duración de 7 h y la segunda rampa tuvo una duración de 19 h.

Posterior a la calcinación en mufla se realizó la saturación del poro del soporte. La saturación del poro consistió en añadir H₂O destilada hasta hidratar al soporte sintetizado. En total se utilizó 2.5 mL de agua destilada para impregnar 1g de soporte sintetizado. Finalmente se dejó secar durante 1 h en la estufa a 80 °C (Figura 2.16) y por 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente se procedió a impregnar los metales.



Figura 2. 16. Soporte secado a temperatura ambiente posterior a su hidratación con H₂O destilada para la prueba de saturación del poro.

2.4.1.2 Síntesis del catalizador: impregnación de metales

2.4.1.2.1 Impregnación de Níquel (Ni).

El porcentaje utilizado para impregnar el níquel (Ni) fue del 4%. El reactivo utilizado como precursor de níquel fue el níquel hexahidratado o (Ni (NO₃)₂·6H₂O) con pureza del 97 % y se realizó una comprobación de masa teórica del reactivo para preparar una solución de 4 mL esto con el fin de obtener la concentración del níquel al 100%. Se dejó secar el catalizador impregnado con níquel en la estufa por 30 min a 80 °C y durante 24 h a temperatura ambiente. Finalmente se calcinó en una mufla a 5 °C/min hasta 550 °C y manteniéndose durante 5 h (Figura 2.17).



Figura 2. 17. Impregnación Ni y secado a temperatura ambiente durante 24 h.

2.4.1.2.2 Impregnación de Molibdeno (Mo).

El porcentaje utilizado para impregnar el Molibdeno (Mo) fue del 12 %. El reactivo utilizado como precursor del molibdeno fue el óxido de molibdeno (MoO_3) con pureza del 82 % y se realizó una comprobación de masa teórica del reactivo para preparar una solución de 4 mL esto con el fin de obtener la concentración del molibdeno al 100 %. Se dejó secar el catalizador impregnado con molibdeno en la estufa por 30 min a 80 °C y durante 24 h a temperatura ambiente. Finalmente se calcinó en una mufla a 5 °C/min hasta 550 °C y manteniéndose durante 5 h a los 150 °C se retiró de la mufla y se dejó enfriar a temperatura ambiente (Figura 2.18). Una vez finalizado el procedimiento se procedió a pesar en una balanza analítica y se procedió a realizar su caracterización (Figura 2.19).



Figura 2. 18. Impregnación del molibdeno Mo y secado a temperatura ambiente durante 24 h.



Figura 2. 19. Catalizador finalmente obtenido posterior a su calcinación durante 5h de NiMo-ZSM5-SBA15 (etiquetado como NM-Z5-B15).

2.4.2 Caracterización del catalizador heterogéneo sintetizado

2.4.2.1 Caracterización por difracción de rayos X (DRX).

Se realizó el análisis de difracción de rayos X (DRX) con el equipo Bruker D8-Advance (Figura 2.20) para conocer la cristalinidad del catalizador e identificar en los difractogramas los picos característicos que indican la presencia de los compuestos utilizados en la síntesis del catalizador. Para realizar el análisis se colocó 1g de catalizador en un portamuestras y se compactó. Debido a los materiales que componen el catalizador se realizó la caracterización en el ángulo bajo y alto. La difracción en el ángulo bajo (SAXS) se realizó entre los valores 2θ de 0.5° a 10° con un tiempo de paso de 0.1 segundos y un tamaño de paso de 0.02° . El ángulo alto se realizó entre los valores 2θ de 10° a 70° con un tiempo de paso de 0.3 segundos y un tamaño de paso de 0.02° utilizando un ánodo de Cobre con radiación CuK α a una longitud de onda conocida de 1.54060 Å.



Figura 2. 20. Equipo Bruker D8-Advance utilizado para el análisis de DRX del catalizador sintetizado.

2.4.2.2. Caracterización por fisisorción de N₂.

Las propiedades texturales del catalizador se analizaron por medio de las isotermas de absorción/desorción de N₂ registradas en el equipo Quantachrome instruments NOVA 2200e (Figura 2.21.A) utilizando celdas de 9 mm (Figura 2.21.B). El procedimiento se realizó en tres pasos: 1) Calibración la cual se realizó por 6 horas (ver figura 2.21 a y b), 2) Desgasificación por vacío donde se colocaron 100 mg de catalizador dentro de una celda que se introdujo dentro de una mantilla manteniéndose a 100 °C por 5 horas (Ver figura 2.22.A y Figura 2.22.B) y 3) Medición donde se colocaron 100 mg de catalizador dentro de las celdas de 9 mm con sus respectivas varillas durante 18 horas (ver figura 2.23.A) y se analizaron utilizando nitrógeno (figura 2.23.B).

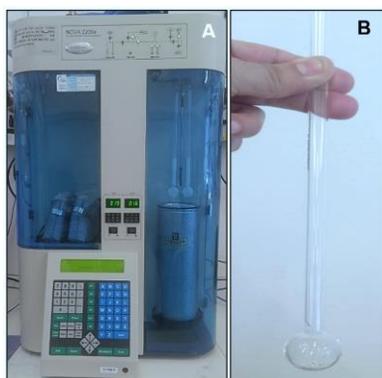


Figura 2. 21. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en calibración de celdas vacías y B) Celda de 9 mm con catalizador.



Figura 2. 22. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en degasificación. B) Celdas dentro de la mantilla térmica a 100 °C.



Figura 2. 23. A) Equipo Quantachrome NOVA2200E en medición y B) Celdas después de ser medidas dentro del Dewar con nitrógeno líquido.

La distribución del tamaño de los mesoporos y la cantidad total de microporos se calcularon a partir de la rama de adsorción y desorción de la isoterma. Se determinó el área superficial por el método BET (Brunauer-Emmett-Teller) con un intervalo BET en el rango de 0.25 nm a 0.99 nm y se determinó el área superficial, tamaño promedio de poros y volumen por el método NLDFT (Non-Local Density Functional Theory) o método DFT utilizando el modelo N₂-Silica a 77 K en el rango P/P₀ 1.8 nm -100 nm. Finalmente se utilizó el análisis T-Plot para determinar el volumen de los microporos en la isoterma de adsorción.

2.5. Producción de biogasolina y caracterización del producto obtenido

2.5.1 Activación de catalizador heterogéneo NiMo/ZSM5-SBA15

La activación *in situ* del catalizador se llevó a cabo en el reactor de lecho fijo Microactivity-Reference marca PID Eng &Tech (Ver Figura 2.24) a 100 mL/min de flujo de H₂ a 5 bar y con un flujo de alimentación de la solución CS₂/dodecano de 1 mL/min con duración de 10 min a partir de los 390 °C y 0.1 mL/min de flujo de alimentación de la misma solución en el tiempo restante de activación, en total se prepararon 60 mL de esta solución para toda la activación, el flujo de alimentación fue proporcionado por una bomba TELEDYNE ISCO 500D. La activación del catalizador se llevó a cabo con una rampa de 5 °C/min hasta alcanzar los 400 °C manteniéndose en esta temperatura y presión constante durante 4 horas.



Figura 2. 24. Reactor de lecho fijo Microactivity-Reference marca PID Eng & Tech.

2.5.2 Producción de biogasolina a partir de una sola reacción de hidrotratamiento.

La reacción se llevó a cabo para las diferentes materias primas bajo las mismas condiciones en un reactor batch marca *Parr instrument company* modelo 4598 equipado con un controlador 4848 (Figura 2.25). Para llevar a cabo la reacción se emplearon 250 mg del catalizador sintetizado y previamente activado basado en zeolita. La solución consistió en 100 mL de dodecano y aproximadamente 500 mg de ACC y extractos de NSRE-1 y NRRE-1 que se diluyeron previamente en dodecano, eliminando la parte polar del extracto. El azufre se añadió a 1000 ppm en la solución para mantener activo al catalizador. La reacción se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 335-340 °C de temperatura a 500 rpm y 58 bar de presión de H₂ durante 3 horas de reacción. Finalmente, el producto obtenido se filtró al vacío.



Figura 2. 25. Reactor batch marca Parr instrument company modelo 4598
equipado con un controlador 4848

2.5.3 Caracterización por cromatografía de gases-masas (CG-EM)

Los productos de reacción se analizaron por cromatografía de gases-masas (series 7890B y 5977A GC/MSD) utilizando una columna MEGA 5-HT (30 m 250 m ID 0.25 mm de diámetro interno y 1.5 m de película interna) bajo las siguientes condiciones: 3 mL/min de flujo de H₂ como gas portador. Las temperaturas del detector y del inyector se ajustaron a 300 °C. El programa de

temperatura de la GC inició a 50 °C con una rampa de 10 °C/min hasta 120 °C durante 10 min y una segunda rampa de calentamiento de 10 °C/min hasta alcanzar 290 °C, que se mantuvo durante 10 min. El volumen de inyección fue de 1 µL (Figura 2.26). Finalmente se identificaron los picos principales de los compuestos obtenidos con la biblioteca NIST 14.

Para el cálculo del índice de octano de los compuestos caracterizados se utilizó la siguiente fórmula (7) para el AKI (*anti-knock index*):

$$AKI = \frac{RON+MON}{2} \quad (7)$$

Donde RON (research octane number) es el octanaje de investigación y el MON (motor octane number) es el octanaje en pruebas en motor.



Figura 2. 26. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG-EM) YL6900, con equipo de inyección EST-Analytical-FLEX

2.6 Análisis estadístico y software utilizado

En el procesamiento de los datos se realizó el cálculo de las desviaciones estándar a los triplicados de cada procedimiento y se realizó la comparación de las medias utilizando la prueba estadística de t de Student para dos muestras independientes suponiendo varianzas iguales y desiguales y aplicando la corrección de Welch considerando un nivel de significancia de $\alpha=0.01$ con un nivel de confianza del 99 % y $n=3$ en el software Origin Pro2024. Este procedimiento estadístico se realizó para la concentración celular y extractos lipídicos obtenidos.

En los resultados de la caracterización del catalizador por fisisorción de N_2 se utilizó el software NovaWin.Ink y los modelos teóricos BET ((Brunauer-Emmett-Teller), Modelo de DFT (Density Functional Theory) para catalizadores con estructura compleja y modelo T-plot para volumen y área superficial de microporos.

Para la caracterización del producto de reacción el procedimiento se realizó en duplicado identificándose los principales picos utilizando los software Clarity versión 8.1 y la biblioteca NIST 14 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Finalmente, los resultados obtenidos del área de los picos se promediaron, y se realizó el cálculo del porcentaje relativo.

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Obtención y producción de biomasa

3.1.1 Cultivo de microalgas y producción de biomasa

Se obtuvieron cultivos a escala de NRRE-1 y NSRE-1. En la siguiente Figura 3.1 se observan los escalamientos en las instalaciones de la UNAM-SISAL los cuales se realizaron durante 15 días en cada volumen. En las Figuras 3.2 y 3.3 se observa el aumento de la concentración con el cambio de coloración del día 1 al día 15 donde se llevaron a cabo las resiembras de las cepas.

Los resultados obtenidos en la concentración se encuentran en la Figura 3.4 donde se observa una concentración de células mas elevada al día 0 para NSRE-1 debido a que el cultivo madre tenía una mayor concentración celular que el de NRRE-1. De igual manera observamos que no existe diferencias significativas en el crecimiento de ambas cepas, dado por las concentraciones diarias alcanzadas durante los 15 días de cultivo.

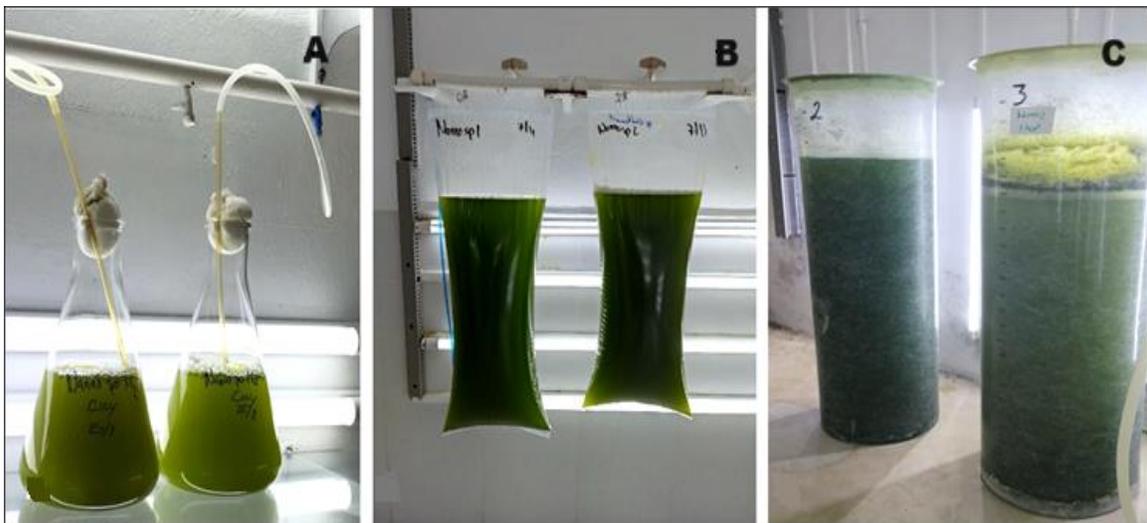


Figura 3. 1. A) Se observa el escalamiento a 1 L, B) escalamiento a 10 L y C) escalamiento a 200L de NRRE-1 y NSRE-1.

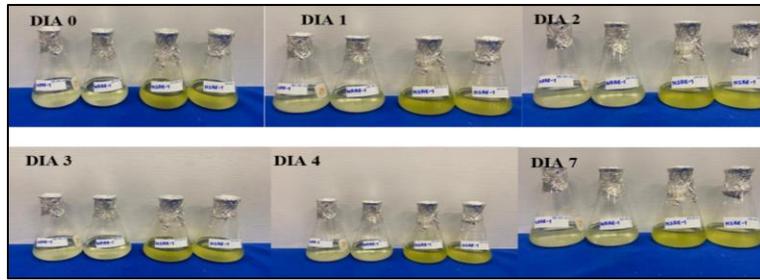


Figura 3. 2. Crecimiento de las cepas a 100 mL del día 0 al 7 del conteo celular.

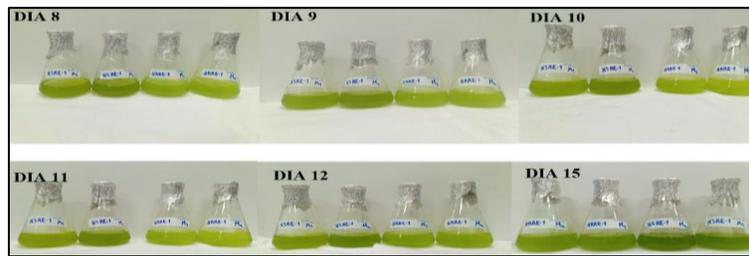


Figura 3. 3. Crecimiento de las cepas a 100 mL del día 8 al 15 del conteo celular.

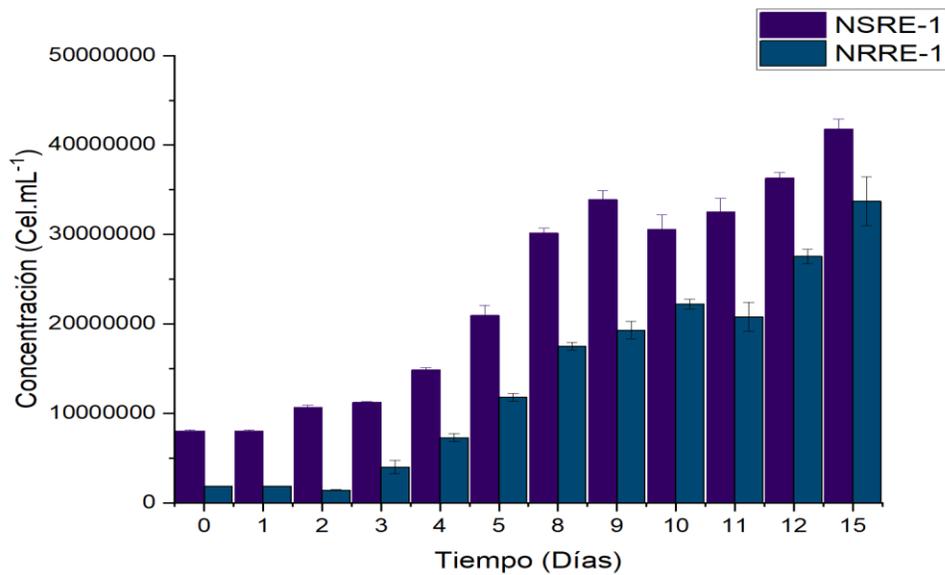


Figura 3. 4. Concentración celular a los 15 días de los cultivos a 100 ml de las cepas con el medio Guillard f/2. La prueba estadística de t-Student con la corrección de Welch ($\alpha=0.01$ y un intervalo de confianza del 99 %) no mostró diferencias significativas con P valor > 0.01. Las barras de error en la gráfica representan la desviación estándar, n=3.

En los demás volúmenes de cultivo (1 L , 10 L y 200 L) no se realizó el monitoreo diario de los cultivos solo se obtuvo la concentración final al día 15 (Tabla 3.1). Podemos observar en los resultados que a 100 mL, se obtuvo mayor concentración celular, y a mayores volúmenes se obtuvo menos concentración celular. Lo cual puede deberse al fenómeno de auto ensombrecimiento causado por la profundidad del cultivo y el posicionamiento de las células microalgales por capas que impiden la entrada de luz a las microalgas de capas inferiores. Se ha observado que a profundidades menores de aproximadamente 30 cm se obtienen una mayor concentración celular y por ende una mayor productividad de biomasa, como el realizado a escala a 2000 L para *Nannochloropsis* sp. cuya productividad fue de $46 \text{ g L}^{-1} \text{ m}^{-2}$ durante 14 días de cultivo con $150 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, pH 7.5 ± 0.2 y $25 \text{ }^\circ\text{C}$ [95].

Tabla 3. 1 Concentración de células por mililitro de las cepas en estudio al término de los 15 días de cultivo en diferentes volúmenes.

Cantidad de cultivo	N° de células/mL ⁻¹	Tiempo/ días	Cepa
100 mL	35,000,000	15	NRRE-1
100 mL	45,000,000	15	NSRE-1
1 L	53,000,000	15	NRRE-1
1L	76,000,000	15	NSRE-1
10 L	69,000,000	15	NRRE-1
10 L	91,000,000	15	NSRE-1
200 L	21,000,000	15	NRRE-1
200 L	21,000,000	15	NSRE-1

3.1.2 Curva de crecimiento de las cepas

La curva de crecimiento de los cultivos de 100 mL para NSRE-1 y NRRE-1 durante 15 días se observa en la Figura 3.5. En trabajos anteriores se han realizado los cultivos de esta microalgas durante períodos no mayores a 15 días, debido a que se ha visto que en la fase exponencial

algunas especies de este género acumulan más lípidos [95,96,97], por lo que se procedió a tomar en consideración la literatura y de igual manera se partió del tiempo utilizado para la producción de biomasa a la mayor escala, el cual también fue de 15 días. Por lo que la curva de crecimiento se consideró dentro de este tiempo.

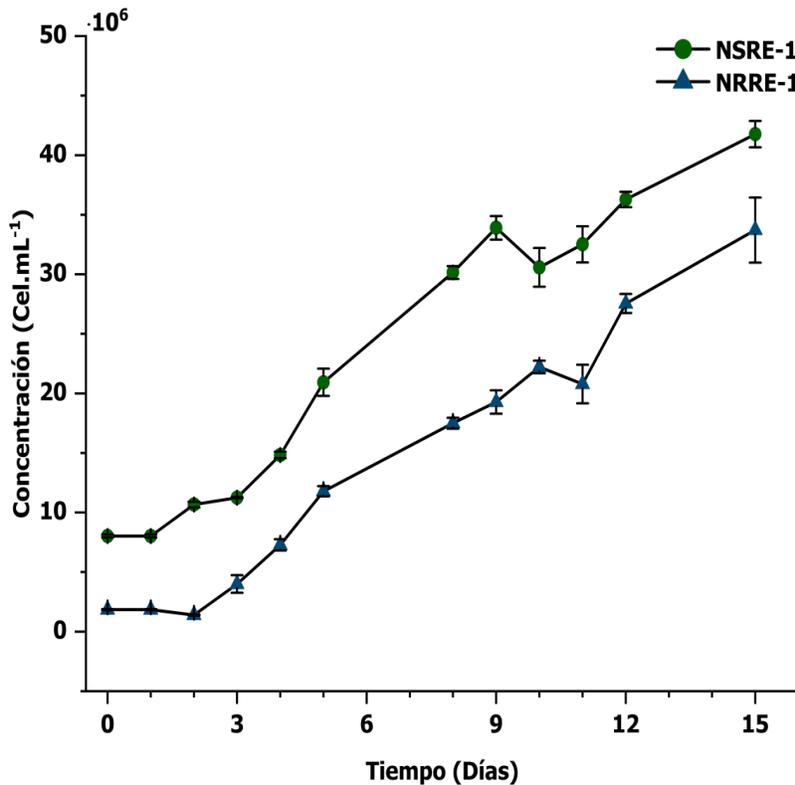


Figura 3. 5. Curva de crecimiento en 100 mL de NSRE-1 y NRRE-1 durante 15 días en medio Guillard f/2 en la unidad de energía renovable. La prueba estadística de t-Student con la corrección de Welch ($\alpha=0.01$ y un intervalo de confianza del 99 %) no mostró diferencias significativas con P valor > 0.01. Las barras de error en la curva representan la desviación estándar, n=3.

Podemos observar en la figura 3.5 que ambas microalgas tuvieron un tiempo de latencia de 2 a 3 días, seguido de una fase de crecimiento exponencial de 5 días, con una ligera caída del cultivo en el día 11 a consecuencia de un corte del suministro de luz, esto podría haber afectado el crecimiento de las microalgas y podría indicar que ambas estaban creciendo en condiciones fotoautótrofas principalmente. Posteriormente continuaron su crecimiento hasta el día 15 sin

presentar una fase estacionaria. Así mismo, es posible determinar que ambas cepas mostraron un comportamiento similar.

Se han obtenido resultados similares en un estudio realizado anterior a este en el mismo grupo de trabajo, donde ambas microalgas, mostraron una fase de latencia corta (2–4 días), seguida de una fase de crecimiento exponencial de 6 a 7 días. La fase estacionaria temprana comenzó el día 18 del cultivo y disminuyó la concentración celular en el día 20 del cultivo [44]. Otros autores de igual manera mencionaron que observaron una fase exponencial de 5 a 9 días en medio Guillard f/2 a 25 °C para *Nannochloropsis* sp. y posteriormente inició la fase estacionaria [91].

En *Nannochloris* sp. se ha reportado que crece de manera exponencial hasta el día 10 o 15 de cultivo obteniendo un aproximado de 250×10^6 cel·mL⁻¹ en un volumen de 750 mL. Posterior inicia la fase estacionaria hasta el día 35 [98].

3.2 Recuperación de biomasa

3.2.1 Floculación

Los resultados de la floculación se observan en la Figura 3.6. Durante el procedimiento de floculación se observó un aumento de pH 7 a 9. En un estudio se ha observado que este aumento del pH neutraliza la superficie con carga negativa de las células de las microalgas y este efecto es el responsable de que se lleve a cabo la floculación por este método químico [99]. Cabe señalar que, al resguardar el cultivo en floculación a 4°C en cuarto frío durante 72 horas ya no se observaron células en el sobrenadante (Figura 3.7).

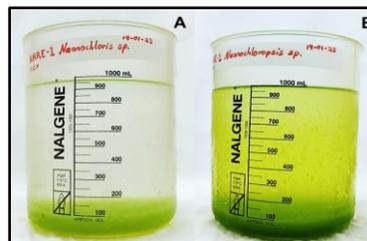


Figura 3. 6. Floculación de: A) NRRE-1 y B) NSRE-1 a los 10 minutos en 1L de cultivo.



Figura 3. 7. Efecto del Floculado de los bidones de 40 L de cultivo a los 4 días en resguardo a 4 °C en cuarto frío.

Para la eficiencia en la floculación al tiempo 0, se observó un promedio de 370 células por cuadrante en la cámara Neubauer en NSRE-1 y de 215 células en promedio para NRRE-1, por lo que se realizaron diluciones 1:10 para NSRE-1 y 1:5 para NRRE-1.

Los resultados obtenidos en las diferentes cepas se muestran en la Tabla 3.2 y 3.3. La eficiencia de floculación de los cultivos de ambas cepas fue similar. NRRE-1, floculó en los primeros 10 min en 99 % y NSRE-1 alcanzó el 92 % en eficiencia de floculación. Al término del procedimiento NRRE-1 floculó al 100 % mientras que NSRE-1 al 97 %.

Pasadas 24 horas, se obtuvo 100 % de floculación en ambas cepas. Este resultado en la eficiencia de floculación mayor al 90 % ya ha sido reportado en otro estudio con *Nannochloropsis* sp. [28]. Las diferencias en la eficiencia de floculación se pueden deber a las diferencias en la concentración celular, siendo mayor la concentración celular para NSRE-1 que tuvo la menor eficiencia de floculación. En otros estudios se ha observado que el efecto del floculante está en función de la densidad celular [100].

Tabla 3. 2. Resultados del conteo celular y eficiencia de floculación para NSRE-1.

NSRE-1 (Dilución 1:10)		
Tiempo	Cel·mL⁻¹	%Eficiencia de floculación
0 minutos	1.48 X 10 ⁸	0
10 minutos	1.15 X 10 ⁷	92.2
20 minutos	8.50 X 10 ⁶	94.2

30 minutos	4.50×10^6	96.9
------------	--------------------	------

Tabla 3. 3. Resultados del conteo celular y eficiencia de floculación para NRRE-1.

NRRE-1 (Dilución 1:5)		
Tiempo	Cel·mL ⁻¹	%Eficiencia de floculación
0 minutos	4.72×10^7	0
10 minutos	8.25×10^4	99.8
20 minutos	0	100
30 minutos	0	100

3.2.2 Sifonado, centrifugado y liofilizado

Se realizó el sifonado de 200L contenido en 10 bidones de 40L de ambas cepas para la obtención de la biomasa líquida concentrada. En total se obtuvo 7.2 L de biomasa fresca de NRRE-1 y 7.5 L de concentrado de NSRE-1 (Figura 3.8). En la figura 3.12 se observa el sifonado de los bidones y la biomasa concentrada. El concentrado se resguardó posteriormente en el cuarto frío a 4 °C y se procesó por centrifugación y liofilización (Figura 3.9).

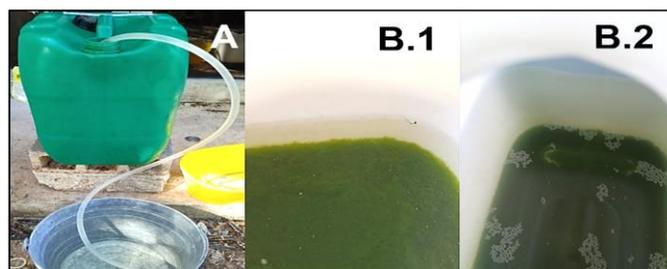


Figura 3. 8. Se observa: A) El sifonado y B) La biomasa líquida concentrada: B.1. NRRE-1 y B.2. NSRE-1.

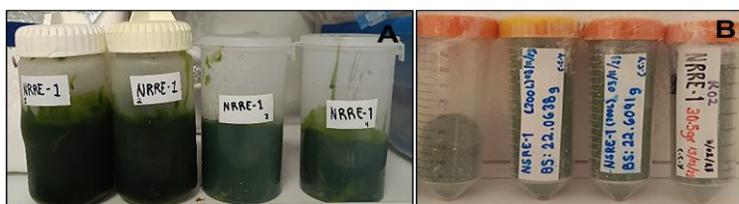


Figura 3. 9. Se observa los contenedores con: A) la biomasa húmeda obtenida del centrifugado y B) la biomasa seca obtenida de la liofilización.

En la Tabla 3.4 se muestra la cantidad de biomasa seca obtenida por litro de cultivo, por lo que el rendimiento de 200 L de NRRE-1 y NSRE-1, fue de 0.30 g L^{-1} y 0.33 g L^{-1} , respectivamente. Este rendimiento es menor a otro estudio donde se obtuvo 0.40 g L^{-1} a partir de *Nannochloropsis gaditana* en medio Guillard f/2 [101]. De acuerdo con una revisión exhaustiva no se encontraron estudios sobre el rendimiento g L^{-1} para *Nannochloris* sp.

La productividad de biomasa obtenida para *Nannochloropsis* sp. en diversos estudios va de $0.027 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ a $0.295 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ [97] y en cultivos a escalas de 200 L se ha obtenido una productividad de $0.09 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ [96], mayor a la obtenida en este estudio que fue de $0.022 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ para *Nannochloropsis* sp.

Para NRRE-1 (*Nannochloris* sp.) se obtuvo una productividad de $0.020 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ menor a la reportada para *Nannochloris* sp. que es de $0.17 - 0.51 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ [102]. No se encontraron cultivos escalados al volumen de 200 L para esta microalga. El bajo rendimiento y productividad en la biomasa de ambas cepas se debe al mismo efecto encontrado en la concentración celular, así mismo se ha observado que un incremento en el suministro de CO_2 tiene gran influencia en la productividad de biomasa [103].

Tabla 3. 4. Producción de biomasa seca comparada de las cepas escaladas a 200L.

Biomasa seca	NSRE-1	NRRE-1
Peso (g)	66.554 g	61.010 g
Rendimiento (g L^{-1})	0.332 g L^{-1}	0.305 g L^{-1}
Productividad de biomasa seca ($\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$)	$0.022 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$	$0.020 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$

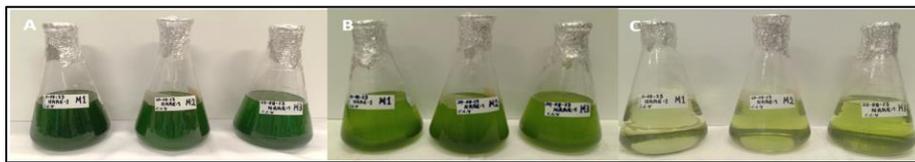
3.3 Extracto crudo y purificado de microalga

3.3.1 Obtención de extracto crudo y purificado de microalga con sistema de solvente cloroformo: metanol

El cambio en la coloración fue evidente, con la primera, segunda y tercera extracción de lípidos (Figura 3.10). El extracto de NSRE-1 mostró coloración más oscura que el extracto de NRRE-1 (Figura 3.10. B y C). En total se procesaron 20.29 g de NRRE-1 (Anexo 3.1) y 20.29 g de NSRE-1 (Anexo 3.2).



A) Extracción por triplicado en embudos de separación: A)primera, B) segunda, c) tercera.



B) Extracción en matraces de 500mL de NRRE-1: : A)primera, B) segunda, c) tercera.



C) Extracción en matraces de 500 mL de NSRE-1: A)primera, B) segunda, c) tercera.

Figura 3. 10. Extracción con solventes realizada a la biomasa liofilizada por triplicado.

Los solventes se colocaron en orden de polaridad creciente, debido a que se ha demostrado que la eficacia de la extracción se ve afectada por la secuencia del proceso. Lewis *et al.* (2000) incrementaron en 30 % la recuperación total de ácidos grasos, a partir de dos microalgas posterior

a la adición en orden secuencial con polaridad creciente de los solventes (cloroformo < metanol < agua) como se realizó en este trabajo [104].

Del mismo modo, Cooney *et al.* (2009) indicaron que el rendimiento de la extracción de lípidos de *Nannochloropsis* sp. incrementó de 18.5 a 21%, debido a la adición secuencial de solventes de polaridad creciente en comparación con el orden inverso (es decir, agua-metanol-cloroformo) [105]. Esto, se puede deber a que el agua impide la acción de los solventes no polares sobre los lípidos, lo que dificulta su extracción. Este mismo principio, explica la obtención de mayor eficiencia lipídica en la extracción con disolventes orgánicos empleando biomasa seca en comparación con biomasa húmeda.

La cantidad de extracto crudo obtenido fue de 1.515 y 2.809 g a partir NRRE-1 y NSRE-1 (Tabla 3.5). Los extractos se evaporaron con dificultad, debido a la presencia de humedad (agua) en el aire, lo que implicó realizar de nuevo la separación del extracto por rotavapor. Es por esto, que se pesó la biomasa residual para conocer la cantidad de extracto lipídico que no se pudo recuperar. Este dato se presenta como “extracto lipídico calculado” en la Tabla 3.5.

El porcentaje de extracto crudo calculado fue de 24 y 17 % a partir de NRRE-1 y NSRE-1. Sin embargo, el porcentaje de extracto crudo recuperado fue de 14 y 7 % a partir de biomasa seca de NSRE-1 y NRRE-1 (Tabla 3.5).

Tabla 3. 5. Resultado comparativo de las extracciones realizadas para NSRE-1 y NRRE-1.

Cepa	Peso Biomasa seca (g)	Extracto calculado (g)	Extracto recuperado (g)	Extracto calculado (%w/w biomasa seca)	Extracto recuperado (%w/w biomasa seca)
NSRE-1	20±4.54	3.54±0.009	2.80±0.019	17.73±0.04	14.04±0.05
NRRE-1	20±4.54	4.83±0.03	1.51±0.08	24.18±0.06	7.57±0.07

La prueba estadística de t-student con la corrección de Welch para varianzas desiguales $\alpha=0.01$ y un intervalo de confianza del 99 % mostró diferencias significativas con P valor < 0.01 para los extractos de las microalgas. Desviación estándar, n=3.

Estudios anteriores en medio Guillard f/2 se reportan porcentajes (%) de lípidos en un rango de 7-53 % [95,106] y mencionan que en condiciones óptimas de crecimiento se ha observado que las microalgas sintetizan del 5%-20 % del peso seco en su biomasa y bajo condiciones desfavorables o de estrés como la limitación de nitrato llegan a alcanzar de 37-68 % en su biomasa [107]. El porcentaje de lípidos para *Nannochloropsis* sp. en este estudio está dentro del rango de los estudios consultados bajo condiciones óptimas de crecimiento, debido a que las microalgas no fueron sometidas a estrés.

3.3.2 Identificación por cromatografía en capa fina (CCF) de extractos lipídicos filtrados previamente por CCG.

Con respecto al extracto crudo filtrado por cromatografía de columna por gravedad (CCG) se obtuvo un peso de 582.2 mg (0.58 g) para NRRE-1 y de 522.9 mg (0.52 g) para NSRE-1 (Figura 3.11).



Figura 3. 11. Extractos crudos filtrados por CCG para NRRE-1 y NSRE-1.

El análisis de cromatografía de capa fina (CCF) muestra la presencia de compuestos de diversa polaridad en los extractos lipídicos de las microalgas. En la Figura.3.12, se pueden apreciar similitudes en intensidad y patrones de separación entre los compuestos presentes en las microalgas. De igual manera se puede observar mayor número de fracciones polares en NSRE-1, respecto a NRRE-1 y mayor intensidad en sus fracciones no polares.

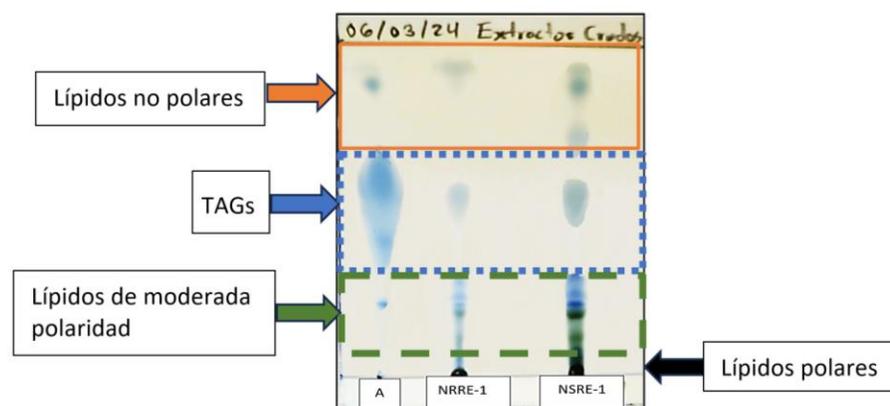


Figura 3. 12. CCF comparativa de NRRE-1 Y NSRE-1 de extractos filtrados por CCG. Letra “A” aceite de soya.

Las fracciones en los lípidos de microalgas se han caracterizado en estudios anteriores y se ha visto que las fracciones no polares que se observan en el cuadro naranja corresponde a compuestos tipo alcanos, las fracciones dentro del cuadro azul corresponden a las fracciones neutras que corresponde a triacilglicéridos debido a que coincide con la referencia utilizada de aceite comercial de soya, las fracciones dentro del cuadro verde corresponden en su mayoría a compuestos tipo esteroides, alcoholes grasos y terpenos. Finalmente, las fracciones más polares por debajo del recuadro verde corresponden a los fosfolípidos [108,109].

3.4 Síntesis y caracterización del catalizador heterogéneo NiMo/ZSM5-SBA15

Se sintetizó un total de 5.2524 g de catalizador NiMo/ZSM5-SBA15 etiquetado como NM-ZS-B15- con 30 % de SAB-15 (mesoporosa) y 70 % de ZSM-5 (microporosa). Los resultados de caracterización se muestran a continuación.

3.4.1 Resultados obtenidos de la caracterización por difracción de rayos X (DRX).

El difractograma de ángulo alto del soporte y catalizador sintetizado muestra picos característicos de los materiales utilizados antes y después de la impregnación del níquel (Ni) y molibdeno (Mo). Se puede observar en la figura 3.13 las reflexiones en el ángulo alto de un material cristalino, en este caso se trata de la zeolita ZSM-5 cuyos picos característicos y con mayor altura se encuentran en el ángulo 2θ 23° , 2θ 24° y el ángulo 2θ 24.5° , de acuerdo con Li et al. (2020) estos ángulos para la ZSM-5 se encuentran en los planos de reflexión 501, 151 y 303 [110].

Observamos que estos picos característicos de la zeolita ZSM-5 se encuentran antes y después de la impregnación de los metales Ni y Mo, pero posterior a su impregnación la altura de los picos disminuyó lo que indica que se produjo una disminución de la cristalinidad de la zeolita.

De igual manera se identificaron los picos característicos de NiO y MoO₃ en el catalizador finalmente sintetizado que son producidos por la descomposición térmica de los precursores impregnados en el soporte del catalizador, para el NiO observamos picos que se encuentran en los ángulos 2θ 37°, 43° y 62° que de acuerdo con Wei et al. (2009) corresponden a los planos 111, 200 y 220 [111]. Para el MoO₃ se observan picos que corresponden a los ángulos 2θ 13°, 26° y 39° y de acuerdo con Jafarian et al. (2019) y Rahmani et al. (2010) se encuentran en los planos de reflexión 020, 040 y 060 [112,113] (Figura 3.13).

En lo que respecta al difractograma de ángulo bajo (SAXS) observamos la presencia de algunos picos de la SBA-15 (Figura 3.14). Antes de la adición del Níquel (Ni) y Molibdeno (Mo) observamos una mayor señal de la presencia de algunos picos característicos del material mesoporoso SBA-15 que corresponde de acuerdo con Li et al. (2020) al ángulo de reflexión 100 y 110[110], observamos estos planos en los ángulos 2θ 0.92° y 1.73° (Figura 3.14). Posterior a la impregnación de los metales Ni y Mo observamos que se pierden estos picos de la SBA-15 lo que indica que los metales probablemente se encuentran en los mesoporos de la SBA-15 dificultando la caracterización por difracción de rayos X en el ángulo bajo del material sintetizado.

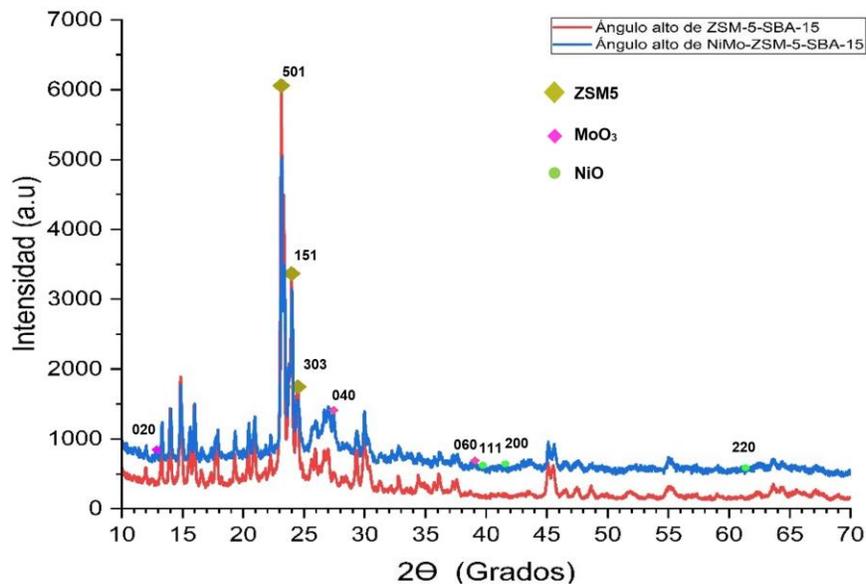


Figura 3. 13. Se observa el difractograma de ángulo alto antes y después de la impregnación del catalizador NiMo.

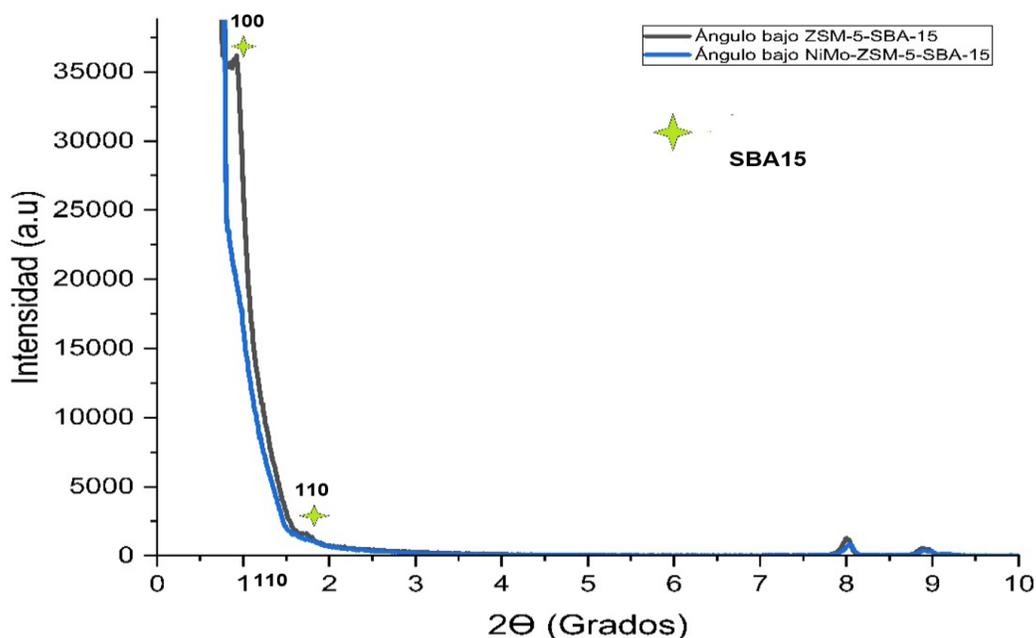


Figura 3. 14. Se observa la estructura de la SBA-15 en el bajo ángulo del DRX antes y después de la impregnación del catalizador NiMo.

3.4.2 Resultados obtenidos por fisorción de N₂

3.4.2.1 Isotermas

3.4.2.1.1 Isotherma antes de impregnación

La fisorción de nitrógeno (N₂) por el método BET (Anexo 4), nos muestra las isoterma de adsorción y desorción para el soporte (Figura 3.15) donde se observa de acuerdo con la nomenclatura de la IUPAC una isoterma de adsorción del tipo IV (a) cuya histéresis se encuentra en una alta presión relativa P/P₀ de 0.5 - 0.9 característica del soporte SBA-15 que corresponde a una estructura adsorbente mesoporosa [110] . Con respecto a la histéresis es de tipo H2 (b) característico de estructuras de poros más complejos que pueden estar en forma de botella o se puede asociar a un bloqueo de poros [114]. La histéresis H2 (b) se han observado en ciertas sílicas ordenadas mesoporosas después de tratamiento hidrotérmico y por los componentes del soporte podemos deducir que se trata de una histéresis característica de SBA-15 tapada con zeolita [110].

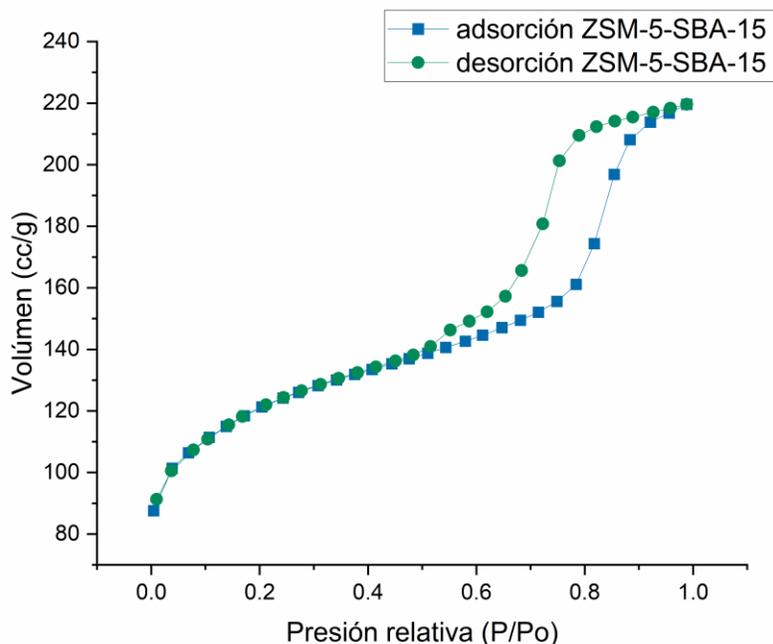


Figura 3. 15. Isotherma de adsorción/desorción del soporte antes de impregnación. Clasificación IUPAC de isoterma IV, con histéresis H2(b).

3.4.2.1.2 Isotherma después de impregnación

Posterior a la impregnación de los metales Ni y Mo observamos una Isotherma de adsorción que de acuerdo con la nomenclatura de la IUPAC es del tipo IV(a) con histéresis del tipo H5 (Figura 3.16) que corresponde a los materiales de nueva generación de SBA-15 y de acuerdo con la nueva clasificación de la IUPAC en 2015 posee un bucle de histéresis único y raro que contienen una combinación de mesoporos abiertos y tapados [114,115]. El SBA-15 parcialmente tapado se ha utilizado para soportar diversos tipos de catalizadores, incluidos complejos metálicos, nanocatalizadores metálicos y metales activos, mediante su incorporación en su estructura, demostrando una excelente estabilidad contra la formación de coque y estabilidad térmica [110,115]. De igual manera en dicha isoterma de adsorción/desorción observamos la isoterma de tipo I en el rango de presión relativa P/P_0 de 0.2 a 0.5 característico de la zeolita, posterior a ese rango se observa la isoterma de la SBA-15 parcialmente tapada a presión relativa P/P_0 de 0.5 a 0.9 (Figura 3.16).

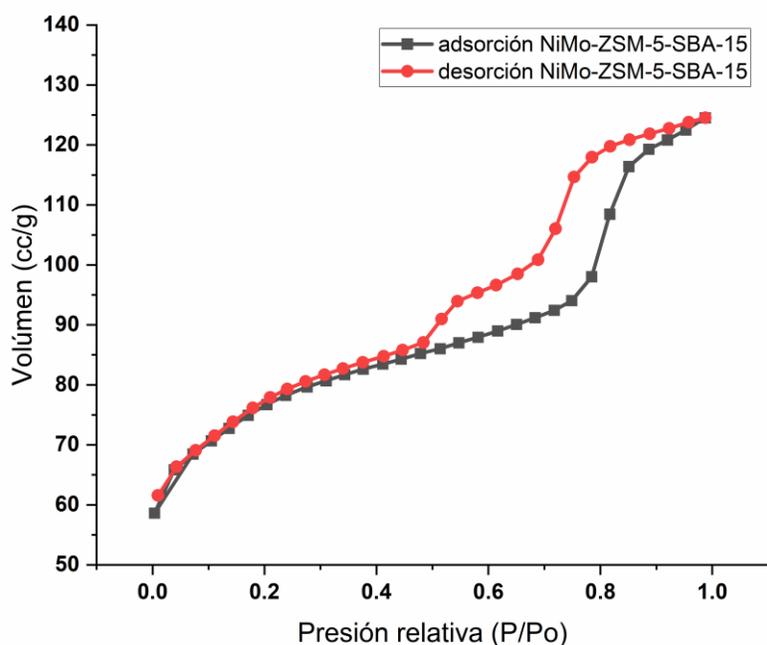


Figura 3. 16. Isoterma de adsorción/desorción después de impregnación de metales (catalizador final sintetizado). Clasificación IUPAC de isoterma IV, con histéresis H5 de materiales parcialmente tapados.

3.4.2.2 Área superficial y volúmen de poro método BET (Brunauer–Emmett–Teller).

En la Tabla 3.8 observamos el área superficial BET para el soporte ZSM5-SBA15 que fue de 436.04 m²/g y para el catalizador finalmente sintetizado de 276.21 m²/g. Con respecto al área superficial BET del SBA-15 podemos mencionar que se ha reportado en la literatura que va de 600 a 700 m²/g [94,115,116,117]. El área superficial BET para la ZSM-5 relación Si/Al de 80 es de 448 m²/g y al impregnar níquel al 4 % esta área superficial disminuye a 392 m²/g [118]. En otro estudio se reportó que el área superficial BET para la ZSM-5 es de 418 m²/g, para el SBA-15 864 m²/g y para el soporte que combina ambos materiales, el área superficial BET fue de 764 a 794 m²/g [110].

En lo que respecta al volúmen total de poros dado por el método BET (Tabla 3.6), observamos un mayor volúmen total en el soporte con 4.72 cc/g. En otro estudio se reporta un volúmen total de 0.33 a 1.22 cc/g [110]. La disminución del área superficial BET y volúmen total de poros del catalizador sintetizado, se asocia a la posterior impregnación de metales.

La disminución del área superficial y el volumen de poro se puede deber a que durante la impregnación de los metales durante la síntesis, estos taponan parcialmente la entrada de los poros y en la superficie forman algunos agregados que disminuyendo el área efectiva para que se lleven a cabo las reacciones. Considerar soportes con un gran área superficial como la del SBA-15 y ZSM-5 es crucial, para que durante la impregnación al perder el catalizador parte de área superficial, todavía quede suficiente área para llevar a cabo la reacción catalítica [119].

Para procesos de producción de gasolina, una área superficial en el rango de 230 a 450 m²/g suele ser efectiva [120]. Un área superficial alta es beneficiosa para la eliminación eficiente de compuestos indeseados como el azufre y para llevar a cabo las reacciones deseadas, en este caso de hidrotratamiento.

3.4.2.3 Tamaño de poro y volumen de poro por el método DFT.

En lo que respecta al análisis del tamaño de poro dado por el método DFT que estima la presencia de microporos y mesoporos en estructuras complejas observamos tres tamaños de poro (Figura 3.15) para el soporte sintetizado de 2.58, 5.68 y 9.77 y tres tamaños de poro para el catalizador de 2.9 nm, 5.48 nm y 9.77 nm lo que indica la presencia de mesoporos antes y después de la impregnación de metales. En la producción de biocombustibles a base de aceites es de importancia los catalizadores mesoporosos con tamaños de 2 nm a 50 nm debido a que permiten que los reactivos de gran tamaño, superior a los 2 nm como el caso de los lípidos y aceites accedan a las superficies internas de los poros donde pueden entrar en contacto con los sitios activos, mejorando así la actividad catalítica [121].

Es igualmente observable con el método DFT la disminución del volumen de los poros posterior a la impregnación de los metales (Figura 3.17), así como la disminución del área superficial que como se discutió en el apartado anterior se debe a que estos taponan parcialmente la entrada de los poros (Tabla 3.6).

El método DFT (Density Funcional Theory) fue utilizado debido a que es un análisis más preciso para estructuras microporosas y mesoporosas estrechas como los catalizadores parcialmente tapados. Los métodos basados en la ecuación de Kelvin como el método BJH está vinculado a los fenómenos de condensación de poros, es decir, es aplicable para el análisis de tamaño de mesoporos, pero no pueden describir de manera correcta el llenado de microporos y mesoporos estrechos como los encontrados en este trabajo [122].

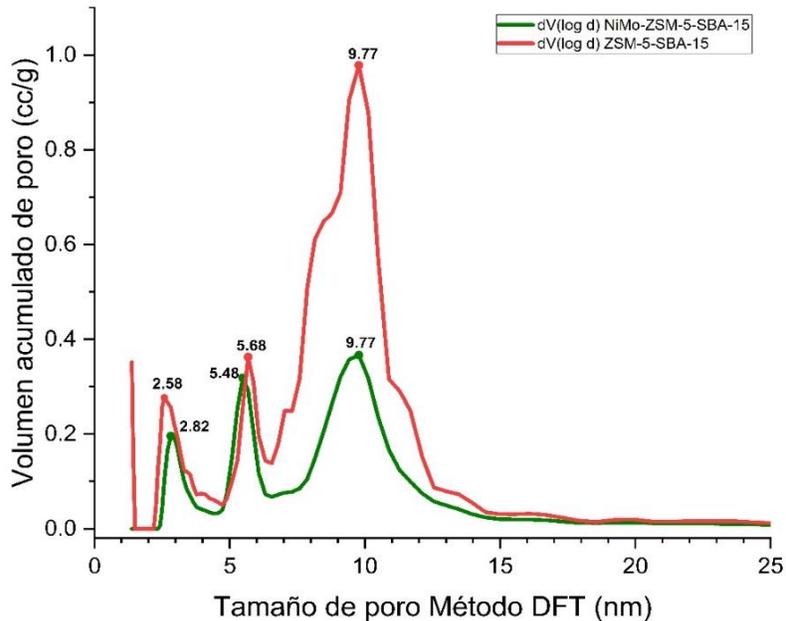


Figura 3. 17. Tamaño de poros por el método DFT modelo equilibrado del catalizador sintetizado (N_2 a 77 K para estructuras de sílice “NLDFIT”) P/P₀ en el rango de 10^{-7} – 1 antes de la impregnación y después de la impregnación.

No se reportaron tamaños de microporos en la estructura del catalizador con este método, sin embargo, no se descartó que existan en la estructura sintetizada debido a señales de su presencia en la isoterma por lo que se realizó el cálculo de su volumen y área superficial por el método T-plot cuyos resultados se discutirá en la siguiente sección.

3.4.2.4 Volumen de microporos y área de microporos por el método T-PLOT.

En lo que respecta a los microporos se realizó un análisis por el método T-plot al catalizador sintetizado y se obtuvo un volumen de microporos de 0.088 cc/g (Tabla 3.6). La microporosidad del catalizador está dada por el soporte de zeolita ZSM-5 que se utilizó. En otros estudios se ha analizado el microporo de la zeolita ZSM-5 y se ha obtenido un volumen de 0.06 cc/g por el método T-plot [118]. Lo cual es semejante a lo obtenido en este estudio donde se utilizó una zeolita ZSM-5 con la misma relación de Si/Al de 80%. Finalmente, se obtuvo para el catalizador sintetizado un área de microporos de 210.343 m²/g por el método T-plot.

El análisis T-plot es una técnica utilizada en la caracterización de materiales porosos, particularmente para la evaluación de microporos (tamaño menor a 2 nanómetros), para conocer su área superficial y volumen a partir de una isoterma de adsorción, es un análisis que permite

separar los datos obtenidos de los microporos de los demás tamaños de poros analizados, lo que lo hace una herramienta valiosa y complementaria.

La ZSM-5 cuentan con abundantes sitios ácidos dentro de los microporos que permiten el reformado de combustibles especialmente, proporciona una buena selectividad para hidrocarburos en el rango de gasolina aumentando el craqueo del producto, así como de las familias de compuestos aromáticos y alquenos [123].

Tabla 3. 6. Propiedades texturales del soporte y del catalizador sintetizado.

Material sintetizado	$S_{BET} \left(\frac{m^2}{g} \right)$	$V_{Total} \left(\frac{CC}{g} \right)$	Área superficial método DFT m²/g	Tamaño de poro método DFT (nm)	Volúmen de poros método DFT (cc/g)	Volúmen de microporos método T- plot (cc/g)
Soporte (ZSM5-SBA15)	436.04	4.72	665.22	9.77	0.330	0.127
Catalizador NiMo/ZSM5-SBA15	276.21	1.92	437.60	9.77	0.188	0.088

3.5 Producción de biogasolina y caracterización del producto obtenido

Previo a la reacción, se realizó la activación del catalizador NiMo/ZSM5-SBA15 (Figura 3.18) y se realizaron inyecciones del producto de reacción en el espectrómetro de masas (CG-EM), para los diferentes tipos de materia prima, obteniéndose cromatogramas con sus respectivas réplicas (Ver Anexo 5). La selección del catalizador se basó en el enfoque de hidrotratamiento basado en catalizadores de sulfuro debido a que esta técnica ya se ha establecido en las refinerías de petróleo para la eliminación de S, N y O, el proceso de hidrotratamiento con azufre puede utilizar la infraestructura existente y requiere una baja inversión para producir hidrocarburos verdes [30].

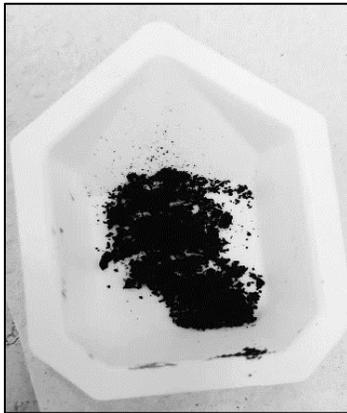


Figura 3. 18. 250 mg de Catalizador NiMo/ZSM5-SBA15 activado, utilizado para la reacción de producción de biogasolina del grupo control.

3.5.1 Resultados comparados en los productos de reacción de HDO y biogasolinas de *Nannochloropsis* sp. y *Nannochloris* sp.

3.5.1.1. Compuestos químicos y con alto octanaje encontrados en los productos de reacción HDO.

Para el análisis de los resultados de los productos de reacción se excluyó al dodecano, debido a se utilizó como solvente, en la Figura 3.19 se observan los productos de reacción de HDO, que se inyectaron en el cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (CG-EM).

En total para el producto de reacción de NSRE-1 (*Nannochloropsis* sp.) se identificaron y caracterizaron 17 compuestos (Tabla 3.7). Los cromatogramas de CG-EM se observan en el anexo 5.1 y 5.2. Los compuestos que se encontraron en mayor porcentaje fueron el 3-

metilpentano con 42.74 % en peso, metilciclopentano con 17.25 % en peso y *undecano* 12.11 % en peso. El promedio con el mayor número de índice AKI (Anti-Knock Index) fue de 79.42.

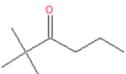
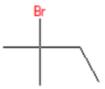
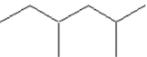
En total para el producto de reacción de NRRE-1 (*Nannochloris* sp.) se identificaron y caracterizaron 19 compuestos (Tabla 3.8). Los cromatogramas de CG-EM se observan en el anexo 5.3 y 5.4. Los compuestos que se encontraron en mayor porcentaje fueron el 3-*metilpentano* con 43.10 % en peso, metilciclopentano con 18.51 % en peso y *octano* con 10.22 % en peso. El promedio con el mayor número de índice AKI (Anti-Knock Index) fue de 103.17.

En total en los productos de reacción se obtuvo 91.12 % en peso de biogasolina para NSRE-1 y se obtuvo 94.19 % en peso de biogasolina para NRRE-1. En términos generales de compuestos encontrados, la biogasolina proveniente de NRRE-1 fue la que obtuvo el promedio con el mayor número de índice AKI (Anti-Knock Index) de 103.7 (Tabla 3.7) y la biogasolina de NSRE-1 un promedio de 75.42 de AKI (Tabla 3.8).



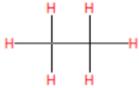
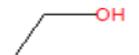
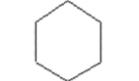
Figura 3. 19. Muestras de 1mL del producto de la reacción HDO de las materias primas empleadas de NSRE-1 y NRRE-1.

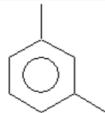
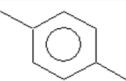
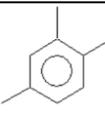
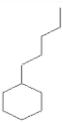
Tabla 3. 7. Compuestos en nomenclatura IUPAC identificados para NSRE-1 en los cromatogramas analizados por CG-EM del producto de reacción para NSRE-1. Números RON (research octane number), MON (motor octane number) y anti-nock index (AKI) (Demirbas et al. 2015).

	#	T. R. (min)	Compuesto	Familia	Fórmula	Estructura	% Relativo (peso)	RON	MON	AKI
C₂ – C₄	1	0.88	etano	n-parafina	C ₂ H ₆		0.17	-	-	-
	2	0.92	butano	n-parafina	C ₄ H ₁₀		0.18	-	-	-
	3	0.98	etanol	alcohol	C ₂ H ₆ O		3.70	109	90	99.5
BIOGASOLINA (C₅ – C₁₂)	4	1.07	2,2-dimetilhexan-3-ona	cetona	C ₈ H ₁₆ O		0.26	-	-	-
	5	1.12	2-bromo-2-metilbutano	halógeno	C ₅ H ₁₁ BR		9.74	-	-	-
	6	1.21	3-metilpentano	isoparafina	C ₆ H ₁₄		42.74	74.5	73.3	73.9
	7	1.20	2,4-dimetilhexano	isoparafina	C ₈ H ₁₈		1.36	76.3	81.7	79
	8	1.29	hexano	n-parafina	C ₆ H ₁₄		0.39	24.8	26.0	25.4

	9	1.36	1-metilciclopentano	cicloparafina	C ₆ H ₁₂		17.25	-	-	
	10	1.56	ciclohexano	cicloparafina	C ₆ H ₁₂		0.87	84.0	77.6	80.8
	11	1.76	octano	n-parafina	C ₈ H ₁₈		1.27	0	0	0
	12	2.29	metilbenceno (tolueno)	aromático	C ₇ H ₈		0.16	112	124	118
	13	2.97	hexan-1-ol	alcohol	C ₆ H ₁₄ O		0.16	-	-	-
	14	10.98	decano	n-parafina	C ₁₀ H ₂₂		4.80	-	-	-
	15	16.81	undecano	n-parafina	C ₁₁ H ₂₄		12.11	-	-	-
SAF (C₈-C₁₆)	16	20.98	tridecano	n-parafina	C ₁₃ H ₂₈		2.12	-	-	-
	17	29.30	pentadecano	n-parafina	C ₁₅ H ₃₂		2.71	-	-	-
TOTAL							100	Promedio		79.42

Tabla 3. 8. Compuestos en nomenclatura IUPAC identificados para NRRE-1 en los cromatogramas analizados por CG-EM del producto de reacción para NRRE-1. N Números RON (research octane number), MON (motor octane number) y anti-nock index (AKI) (Demirbas et al. 2015).

	#	T. R. (min)	Compuesto	Familia	Fórmula	Estructura	% Relativo (peso)	RON	MON	AKI
C₂-C₄	1	0.88	etano	n-parafina	C ₂ H ₆		0.35	-	-	-
	2	0.92	butano	n-parafina	C ₄ H ₁₀		1.46	-	-	-
	3	0.98	etanol	alcohol	C ₂ H ₆ O		1.46	109	90	99.5
BIOGASOLINA (C₅ – C₁₂)	4	1.12	octano	n-parafina	C ₈ H ₁₈		10.22	0	0	0
	5	1.21	3-metilpentano	isoparafina	C ₆ H ₁₄		43.10	74.5	73.3	73.9
	6	1.29	2,4-dimetilhexano	isoparafina	C ₈ H ₁₈		1.20	76.3	81.7	79
	7	1.36	1-metilciclopentano	cicloparafina	C ₆ H ₁₂		18.51	-	-	-
	8	1.56	ciclohexano	cicloparafina	C ₆ H ₁₂		1.55	84.0	77.6	80.8

	9	2.78	Metilbenceno (tolueno)	aromático	C ₇ H ₈		0.41	112	124	118
	10	5.30	1,3-dimetilbenceno	aromático	C ₈ H ₁₀		0.60	124	145	134.5
	11	5.87	nonane	n-parafina	C ₉ H ₂₀		0.62	-	-	-
	12	6.12	1,4-dimetilbenceno (p-xileno)	aromático	C ₈ H ₁₀		0.40	127	146	136.5
	13	10.63	decano	n-parafina	C ₁₀ H ₂₂		9.07	-	-	-
	14	10.91	1,2,4-trimetilbenceno	aromático	C ₉ H ₁₂		0.48	-	-	-
	15	16.78	undecane	n-parafina	C ₁₁ H ₂₄		7.81	-	-	-
	16	26.42	pentilciclohexano	cicloparafina	C ₁₁ H ₂₂		0.23	-	-	-
SAF (C₈ – C₁₆)	17	26.56	(E)-9-tetradecen-1-ol	alcohol	C ₁₄ H ₂₈ O		0.34	-	-	-
	18	27.86	2-metilpentadecano	isoparafina	C ₁₆ H ₃₄		0.15	-	-	-
	19	30.27	tridecano	n-parafina	C ₁₃ H ₂₈		2.05	-	-	-
	TOTAL						100	Promedio		103.17

Los principales compuestos que se han identificado en las gasolinas suelen ser hidrocarburos que fueron los más abundantes en las biogasolinas de ambas microalgas, sin embargo, también se encuentran éteres, ésteres, cetonas, furano, carbonatos y familias químicas de aditivos como alcoholes, aminas, piridinas, quinolinas y compuestos de yodo por nombrar algunos ejemplos [125]. De estos compuestos mencionados adicional a los hidrocarburos, también se encontraron cetonas y alcoholes en las biogasolinas.

Los compuestos encontrados en las biogasolinas de ambas microalgas sugieren que se tratan de productos con un buen octanaje 75.42 (biogasolina de NSRE-1) y 103.7 (biogasolina de NRRE.1) (Tablas 3.7 y 3.8). Este octanaje que se calculó en las biogasolinas viene dado por su composición. Sin embargo, hace falta realizar más estudios para determinar de manera precisa el índice de su octanaje. Actualmente se desea la obtención de gasolinas con un alto octanaje por encima de 95 a 98 octanos. Debido a que puede ahorrar 3 Mt/año de emisiones de CO₂ al año [125].

En la biogasolina de ambas microalgas principalmente se encontró el *3-metilpentano*, el cual fue abundante cuyo índice de octano (AKI) es de 74. Otros compuestos con elevado octanaje que se han identificado en las gasolinas es el benceno, etilbenceno, propilbenceno, 1,3,5-trimetilbenceno, metilbenceno (tolueno), 1,3-dimetilbenceno (m-xileno) y 1,4-dimetilbenceno (p-xileno) [124,126]. De los compuestos mencionados, en las biogasolinas de ambas microalgas se encontró el metilbenceno hasta en un 0.41 % en peso. En la biogasolina de NRRE-1 se encontró el 1,3-dimetilbenceno (m-xileno) en 0.60 % en peso y el 1,4-dimetilbenceno (p-xileno) en 0.40 % en peso cuyos octanajes se observan en las Tablas 3.9 y 3.10.

Alcoholes como el metanol, etanol, propan-1-ol (1-propanol), propan-2-ol (2-propanol), butan-1-ol (1-butanol), 2-metilpropan-2-ol (alcohol tertbutil) e 2-metilpropan-1-ol (isobutanol) se han utilizado como aditivos para aumentar el octanaje de las gasolinas [127,128]. Y en este estudio el *etanol* se encontró en los productos de reacción de ambas microalgas siendo mayor su contenido en NSRE-1 con 3.70 % en peso con AKI de 99.5.

Las cetonas como el propan-2-ona (acetona), butan-2-ona (2-butanona), pentan-2-ona (2-pentanona) y ciclopentanona también son compuestos con alto octanaje [129,130]. Sin embargo, no se encontraron cetonas de alto octanaje en las biogasolinas estudiadas, la biogasolina de NSRE-1 tuvo un compuesto de esta clasificación el 2,2-dimetilhexan-3-ona.

Los compuestos cíclicos como el 1-metilciclopentano y ciclohexano también se encontraron en las biogasolinas siendo el 1-metilciclopentano el más abundante. Estos compuestos son comúnmente encontrados en el reformado de las gasolinas convencionales y muy valorados por su elevado octanaje [131].

La biogasolina proveniente de NSRE-1 posee un compuesto desconocido butano, 2-bromo-2-metil que podría no ser un compuesto que proporcione buenas características a la biogasolina y se encuentra en un 9.74 %. Se requieren mayores estudios sobre este compuesto.

De igual manera no solo ciertos compuestos determinan el octanaje de las biogasolinas sino también las familias de hidrocarburos que se encuentran presentes, las cuales se analizarán en el siguiente apartado.

3.5.1.2 Hidrocarburos, familias de hidrocarburos y oxígeno en el producto de reacción HDO y en la fracción de la biogasolina.

En la tabla 3.9 observamos los resultados de los hidrocarburos totales encontrados en los productos de reacción HDO de ambas microalgas. En el producto de reacción de NSRE-1 se encontraron hidrocarburos en el rango C₂-C₁₅ y en el producto de reacción de NRRE-1 se encontraron hidrocarburos en el rango C₂-C₁₆. Los hidrocarburos totales para NSRE-1 fueron de 86.14 % en peso y en NRRE-1 de 98.20 % en peso. De los cuáles se obtuvo mayor porcentaje para NRRE-1 de parafinas (31.58 %), cicloparafinas (20.28 %) y aromáticos (1.89 %) que NSRE-1. En ambas productos de HDO se obtuvo porcentajes similares de isoparafinas (44 %).

Tabla 3. 9. Perfil comparado de hidrocarburos en el producto obtenido por medio de la reacción de HDO one-pot, para las microalgas estudiadas.

Materia prima	Rango	Familias de hidrocarburos (% en peso)				Total (% peso)
		<i>parafinas</i>	<i>isoparafinas</i>	<i>cicloparafinas</i>	<i>aromáticos</i>	
NS*	C ₂ -C ₁₅	23.75	44.10	18.13	0.16	86.14
NR**	C ₂ -C ₁₆	31.58	44.45	20.28	1.89	98.20

*NS: Extracto lipídico de NSRE-1, **NR: Extracto lipídico de NRRE-1.

En la tabla 3.10 se observan los resultados de hidrocarburos y números de carbonos más abundantes en las biogasolinas de ambas microalgas. Para NSRE-1 se obtuvo un total de 80.96 % en peso de hidrocarburos en la fracción de la biogasolina (C_5 - C_{12}). De los cuáles se obtuvo isoparafinas (44.1 % en peso) y n-parafinas (18.57 % en peso) con un bajo porcentaje de compuestos aromáticos (0.16 % en peso) mismo obtenido en el producto de HDO. Las cadenas de hidrocarburos con mayor porcentaje en peso fueron de C_6 (61.26 % en peso), C_{11} (12.11 %) y C_{10} (4.80 % en peso) (Tabla 3.10).

Para NRRE-1 se obtuvo un total de 94.19 % en peso de hidrocarburos en la fracción de la biogasolina (C_5 - C_{12}). De los cuáles se obtuvo isoparafinas (44.30 % en peso), n-parafinas (27.72 % en peso) y un bajo porcentaje en peso para los compuestos aromáticos (1.89 % en peso) mismo que se obtuvo en el producto de HDO. Las cadenas de hidrocarburos con mayor porcentaje fueron de C_6 (63.15 % en peso) y C_8 (12.42 % en peso) (Tabla 3.10).

En lo que respecta al número de carbonos con mayor abundancia y promedios en los hidrocarburos de ambas microalgas se obtuvo compuestos con número de carbono de C_6 (62.20 % en promedio) y C_{11} (10.07 % en promedio) dado en su mayoría por compuestos isoparafinas y n-parafinas (Tabla 3.10).

En la Tabla 3.11 se observan los resultados obtenidos con respecto al oxígeno. El producto de reacción HDO que obtuvo el mayor porcentaje de compuestos oxigenados fue NSRE-1 con 4.12 % en peso (1.34 % peso de oxígeno), seguido de NRRE-1 con 1.80 % en peso (0.53 % peso de oxígeno). Tomando la caracterización del perfil lipídico en un estudio anterior del grupo de trabajo como referente [44] , se obtuvo un porcentaje de remoción de oxígeno del 91% para NRRE-1 y una remoción del 93 % en peso para NSRE-1. En la fracción de la biogasolina a partir de NSRE-1 se encontró un peso en oxígeno de 0.05 % y para NRRE-1 no se encontraron compuestos oxigenados.

De acuerdo con los resultados obtenidos con anterioridad con peso de hidrocarburos en el producto de reacción HDO y biogasolina fue mayor en NRRE-1 comparado a NSRE-1. En las familias de hidrocarburos observamos el mismo resultado favorable para NRRE-1. Sin embargo, ambas biogasolinas obtuvieron semejante resultado en composición de isoparafinas siendo los hidrocarburos de cadena C_6 los más abundantes. En ambos productos de reacción la presencia de isoparafinas es favorable, debido a que éstos aumentan el octanaje del producto [60].

De manera general en ambas biogasolinas se observó baja presencia de compuestos aromáticos. Aunque los compuestos aromáticos en las gasolinas son muy apreciados porque que se encuentran entre los compuestos con mayor octanaje, en las últimas décadas se ha limitado su presencia debido a su toxicidad, ya que se ha descubierto que son carcinogénicos, especialmente el benceno que se libera al ambiente desde la evaporación del combustible hasta su emisión en los gases de escape de los vehículos [132], misma situación con el tolueno, que aunque se ha utilizado como sustituto del benceno debido a su menor toxicidad también se ha limitado su presencia siendo actualmente el total de aromáticos aceptado en las mezclas de 1 % v/v en las normativas más avanzadas, sobre todo las europeas [74].

La usencia de olefinas en las biogasolinas analizadas es favorable debido a su inestabilidad térmica que puede reaccionar con el oxígeno ambiental formando productos de oxidación que al acumularse en el motor causan desgastes que pueden tener efectos adversos en su funcionamiento, y al mismo tiempo inducen a la formación de ozono que resulta tóxico [74].

De acuerdo con los resultados obtenidos con respecto al oxígeno de los productos de reacción HDO y biogasolinas se observó que se realizó una adecuada desoxigenación donde se obtuvo un bajo porcentaje en peso de compuestos oxigenados encontrándose alcoholes de cadena corta como etanol y de cadena larga como el 9-Tetradeceno-1-ol, (E).

De manera general podemos mencionar que en todo lo analizado con respecto a hidrocarburos, familias de hidrocarburos y oxígeno la biogasolina de NRRE-1 presentó las mejores características.

Tabla 3. 10. Comparación en porcentajes de hidrocarburos de los productos de reacción HDO one-pot de las microalgas.

Porcentaje (%) en peso de hidrocarburos											
N° carbonos	NS-1*					NR-1**					PROMEDIO TOTAL
	NP ¹	IP ²	CP ³	AR ⁵	SUMA	NP ¹	IP ²	CP ³	AR ⁵	SUMA	
C ₂	0.17	-	-	-	0.17	0.35	-	-	-	0.35	0.26
C ₄	0.18	-	-	-	0.18	1.46	-	-	-	1.46	0.82
C ₆	0.39	42.74	18.13	-	61.26	-	43.10	20.05	-	63.15	62.20
C ₇	-	-	-	0.16	0.16	-	-	-	0.41	0.41	0.28
C ₈	1.27	1.36	-	-	2.63	10.22	1.20	-	1.00	12.42	7.53
C ₉	-	-	-	-	0	0.62	-	-	0.48	1.1	1.1
C ₁₀	4.80	-	-	-	4.80	9.07	-	-	-	9.07	6.93
C ₁₁	12.11	-	-	-	12.11	7.81	-	0.23	-	8.04	10.07
C ₁₃	2.12	-	-	-	2.12	2.05	-	-	-	2.05	2.08
C ₁₅	2.71	-	-	-	2.71	-	-	-	-	0	2.71
C ₁₆	-	-	-	-	0	-	0.15	-	-	0.15	0.15

*NS-1: extracto lipídico de NSRE-1, **NR-1: extracto lipídico de NRRE-1. y familias de hidrocarburos: 1. NP: n-parafinas, 2. IP: isoparafinas, 3. CP: cicloparafinas, 4. OL: olefinas y 5. AR: aromáticos.

Tabla 3. 11. Perfil comparado del producto obtenido por medio de la reacción de HDO one-pot de oxigenados y peso en oxígeno.

<i>Materia prima</i>	<i>Rango</i>	<i>Compuestos oxigenados (% peso)</i>	<i>Oxígeno (% peso)</i>
NS*	C ₂ -C ₁₅	4.12	1.34
NR**	C ₂ -C ₁₆	1.80	0.53

*NS: Extracto lipídico de NSRE-1, **NR: Extracto lipídico de NRRE-1.

3.5.1.3 Cumplimiento de las normativas establecidas para la gasolina convencional, en composición de hidrocarburos, oxígeno y octanaje.

3.5.1.3.1 Normativa nacional para la biogasolina NSRE-1

Los resultados obtenidos para los porcentajes relativos del volumen de familias de hidrocarburos, encontradas en la biogasolina de NSRE-1 se encuentran en la Figura 3.20, donde se observa que se obtuvo un mayor porcentaje de isoparafinas (57.21 % en volumen), seguido de n-parafinas y cicloparafinas en semejante porcentaje volumen y finalmente aromáticos en 0.16 % en volumen.

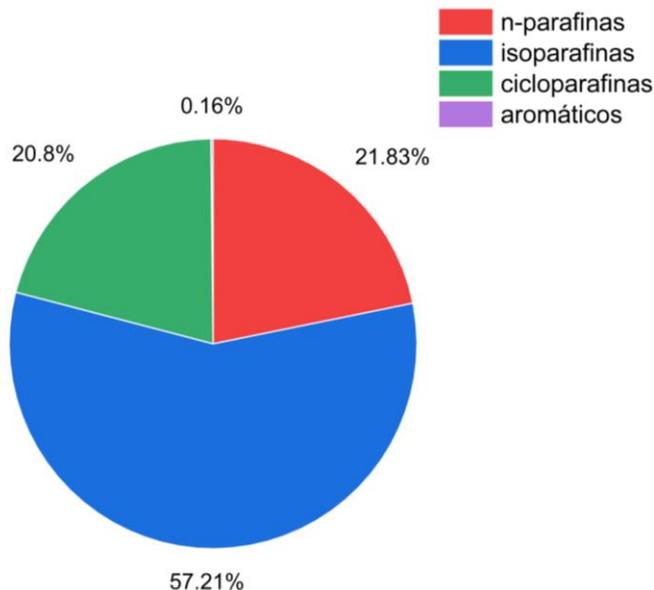


Figura 3. 20. Porcentaje relativo del volumen de familias de hidrocarburos presentes en la biogasolina de NSRE-1.

En la normativa nacional mexicana NOM-016-CRE-2016 [75], se señala que el porcentaje en volumen de olefinas debe contener un máximo de 12.5 % para la gasolina premium y esta familia de hidrocarburos no se presentó en la biogasolina de NSRE-1. Seguidamente se señala que el máximo de porcentaje en volumen de aromáticos es de 32 % en gasolina premium y en la biogasolina de NSRE-1 se obtuvo 0.16 % por lo que se cumple con lo señalado en la normativa nacional e incluso con lo señalado al porcentaje en volumen de benceno que debe ser menor a 2 %.

El octanaje de la biogasolina de NSRE-1 calculado con anterioridad a partir de los compuestos encontrados, nos arrojó un valor AKI (índice de octano) de 79.42, por lo que si consideramos este octanaje como el valor final de la biogasolina de NSRE-1 no se estaría cumpliendo con la normativa nacional que indica un mínimo de 87 como índice de octano. Sin embargo, este no es el valor exacto del octanaje de la biogasolina por lo que se requieren de una mayor precisión para calcularlo.

En la normativa mexicana no se señala el porcentaje máximo de n-parafinas, isoparafinas y cicloparafinas por lo que se deduce que no tienen restricciones en porcentajes de volumen en el combustible convencional [75].

Con respecto al oxígeno en la biogasolina de NSRE-1 se obtuvo un porcentaje en peso de oxígeno fue de 0.05 % por lo que cumple con lo señalado en la normativa nacional.

En términos generales la biogasolina de NSRE-1 cumple las normativas nacionales en porcentaje en volumen de parafinas, isoparafinas, cicloparafinas y aromáticos. De igual manera cumple con el contenido en peso de oxígeno.

3.5.1.3.2 Normativa nacional para la biogasolina NRRE-1

Los resultados obtenidos para los porcentajes relativos del volumen de familias de hidrocarburos encontradas en la biogasolina de NRRE-1 se encuentran en la Figura 3.21. donde se observa que se obtuvo un mayor porcentaje de isoparafinas (49.66 % en volumen), seguido de n-parafinas (28.62 %), cicloparafinas (20.09 %) en semejante porcentaje volumen y finalmente aromáticos en 1.62 % en volumen.

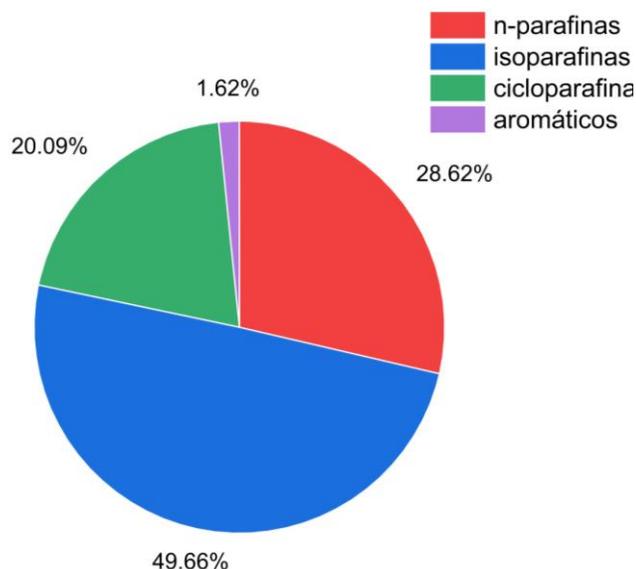


Figura 3. 21. Porcentaje relativo del volumen de familias de hidrocarburos presentes en la biogasolina de NRRE-1.

En la normativa nacional la biogasolina de NRRE-1 cumple con el porcentaje en volumen máximo señalado para las olefinas de 12.5 % volumen y aromáticos 32 % volumen en la gasolina premium [75]. El octanaje de la biogasolina de NRRE-1 calculado con anterioridad a partir de los compuestos encontrados, nos arrojó un valor AKI (índice de octano) de 103.17, por lo que si consideramos este octanaje como el valor final de la biogasolina de NRRE-1 se estaría cumpliendo con la normativa nacional que indica un mínimo de 87 como índice de octano en la gasolina regular [75] y se estaría cumpliendo con el mínimo de octanaje de la gasolina premium el cual es de 91 [75]. Sin embargo, este no es el valor exacto del octanaje de la biogasolina por lo que se requieren de una mayor precisión para calcularlo.

Con respecto al oxígeno en la normativa nacional el porcentaje en peso máximo para gasolina premium es de 2.7 y 3.7 máximo para la gasolina regular. Las biogasolina de NRRE-1 no presentó compuestos oxigenados en su biogasolina por lo que cumple con la normativa nacional.

En términos generales la biogasolina de NRRE-1 cumple las normativas nacionales en porcentaje en volumen de parafinas, isoparafinas, cicloparafinas y aromáticos. De igual manera cumple con el contenido en peso de oxígeno.

3.5.1.3.1 Normativa internacional para ambas biogasolinas

La normativa internacional "D 4814" de la ASTM (American Society for Testing and Materials) y la ISO señalan que el porcentaje de olefinas máximo debe ser de 12 % en volumen en la normativa ASTM y de 10 % en volumen en la Normativa ISO, al no encontrarse este hidrocarburo en las biogasolinas de las microalgas podemos deducir que se cumple con la normativa internacional para esta familia de hidrocarburos.

Con respecto a los aromáticos se señala en las normativa internacional ASTM e ISO que el porcentaje máximo debe ser de 32 % en volumen y en lo que respecta al benceno del 1 % en volumen por lo que los porcentajes total de hidrocarburos en ambas microalgas fueron menores a los señalados para aromáticos, cumpliéndose las normativas internacionales para ambas biogasolinas. Así mismo no se encontró el compuesto benceno en las biogasolinas ni en los productos de reacción HDO obtenidos, sino otros compuestos aromáticos que se mencionaron con anterioridad en la composición de los productos de reacción.

Finalmente, en las normativas internacionales se señala el peso del oxígeno que debe ser de máximo 3.7 % en la normativa ASTM y de 2.7 en la normativa ISO. Ambas biogasolinas cumplen con las normativas en porcentaje en peso de oxígeno siendo para NSRE-1 de 0.05 y NRRE-1 no presentó compuestos oxigenados en su biogasolina. Es común encontrar porcentajes bajos de compuestos oxigenados en los biocombustibles obtenidos por la reacción de HDO ya que los compuestos oxigenados como los alcoholes en los productos de reacción se forman de manera intermediaria para dar lugar a un producto rico en n-parafinas [133].

En términos generales ambas biogasolinas cumplen las normativas internacionales en porcentaje en volumen de parafinas, isoparafinas, cicloparafinas y aromáticos. De igual manera cumplen con el contenido en peso de oxígeno.

3.5.1.4. La reacción de HDO ONE -POT en condiciones y reactivos similares a este estudio

En un estudio utilizando catalizadores Ni/ZSM-5 o NiMo/ZSM-5 (Tabla 3.12) se obtuvo un porcentaje de conversión del 8 % después de 8 horas de HDO, utilizando 1 g de ácido palmítico y empleando 0.25 g de catalizador lo que resultó en n-parafinas e isoparafinas de C₆ y C₁₆ que incluían a los compuestos 4-metiloctano, 2 o 3-metildecano, 5-metilundecano y 3,4,5-trimetildecano [134].

Otro estudio de HDO de lípidos de la microalga *Nannochloropsis* sp. sobre un catalizador sulfidado de CoMoP/Al₂O₃ (Tabla 3.12) mostró un rendimiento de biogasolina del 24 % en peso y se observó que el craqueo del producto se realizó a medida que aumentó la temperatura de reacción alcanzando 46 % de biogasolina a 350 °C. Finalmente, las familias de hidrocarburos obtenidos fueron 35 % de aromáticos y 10 % de compuestos cíclicos [135]. Esta biogasolina obtenida tuvo un alto porcentaje de compuestos aromáticos en comparación con las biogasolinas obtenidas en este trabajo. Esto demuestra que el catalizador puede ser el responsable principal del reformado del producto, lo que hace que difieran las familias de hidrocarburos encontrados.

Tabla 3. 12. Estudios en condiciones semejantes en la reacción de HDO one-pot.

Materia prima	Tipo de reactor	Catalizador	Condiciones	Productos	Ref.
Ácido palmítico	Reactor por lotes	Ni/ZSM-5 o NiMo/ZSM-5	35 bar de hidrógeno, 300 °C, 500 rpm y reacción a 8 horas	Hidrocarburos C ₆ -C ₁₆ (n-parafinas e isoparafinas).	[134]
<i>Nannochloropsis</i> sp.	Reactor por lotes	CoMoP/Al ₂ O ₃	40 bar de hidrógeno, 350 °C, 680 rpm y reacción a 50 bar y 6 h	46% de biogasolina (35 % aromáticos y 10 % cíclicos).	[135]

También se ha observado que al usar n-dodecano (80 mL) como disolvente en una prueba en blanco y duplicando la cantidad de catalizador, se obtuvo una conversión del 1 % de n-dodecano [134]. Esto demostró una baja reactividad de este disolvente en la reacción de HDO el cual también se utilizó (100 mL) como disolvente en este trabajo.

CONCLUSIONES

Del escalamiento de las cepas de microalgas marinas *Nannochloris* sp. (NRRE-1) y *Nannochloropsis* sp. (NSRE-1) a 200 L se obtuvo un rendimiento de biomasa seca de 0.30 g L⁻¹ (NRRE-1) y 0.33 g L⁻¹ (NSRE-1), cuyas productividades fueron 0.022 g L⁻¹d⁻¹ (NSRE-1) y 0.020 g L⁻¹d⁻¹ (NRRE-1) respectivamente. Los porcentajes de lípidos fueron de 17 % en peso para NSRE-1 y 24 % para NRRE-1. Esto indica que se obtuvo mayor cantidad de biomasa de la microalga NSRE-1, sin embargo, las microalgas no mostraron diferencias significativas en las concentraciones celulares durante su crecimiento por lo que ambas pueden alcanzar productividades similares en la cosecha de su biomasa. En lo que respecta a los lípidos y extractos lipídicos obtenidos si se observaron diferencias entre ambas microalgas, obteniéndose mayor cantidad de extracto lipídico para NSRE-1.

La caracterización del catalizador mostró que está compuesto por microporos y mesoporos con un tamaño promedio de 9 nm dado por el método DFT, de igual manera se observaron disminuciones en el área superficial, volumen de poros, y cristalinidad del catalizador antes y después de la impregnación de los metales níquel y molibdeno. El catalizador obtenido pertenece a una nueva generación que de acuerdo con la nomenclatura de la IUPAC en 2015 es del tipo IV(a) con histéresis del tipo H5 posee un bucle de histéresis único y raro que contienen una combinación de mesoporos abiertos y tapados.

La reacción de HDO para los extractos lipídicos se llevó a cabo exitosamente obteniéndose a partir de los extractos lipídicos de las microalgas estudiadas, en una sola reacción identificándose por cromatografía de gases y espectrometría de masas compuestos con elevado octanaje en los productos y en la fracción correspondiente a la biogasolina, obteniéndose un elevado porcentaje de isoparafinas, n-parafinas, cicloparafinas y bajo porcentaje de aromáticos y oxígeno. No se identificaron olefinas en los productos obtenidos.

Entre los productos obtenidos en ambas microalgas se encontraron hidrocarburos en el rango C₂-C₁₆ cuyo volumen de familias de hidrocarburos y peso en oxígeno (alcoholes y cetonas) cumplen con la normativa nacional e internacional establecida para el combustible convencional.

De igual manera se calculó un índice de octanaje o AKI de 79 para NSRE-1 y de 103 para NRRE-1. Sin embargo, hacen falta realizar más estudios sobre el valor real de octanaje de ambas biogasolinas obtenidas. Con ello se comprueba que las biogasolinas obtenidas a partir de las microalgas marinas *Nannochloris* sp. y *Nannochloropsis* sp. cumplen con los indicadores de calidad en composición de hidrocarburos y oxígeno a partir de la reacción HDO one-pot, es decir, en un solo paso de reacción.

PERSPECTIVAS

- Es de importancia continuar los esfuerzos por realizar trabajos con microalgas que hagan más sostenibles los procesos de obtención de biocombustibles, entre los puntos clave se encuentra el realizar los métodos de extracción de lípidos a partir de sustancias menos tóxicas que los solventes orgánicos. De igual manera reducir costos en la obtención de la biomasa y su procesado, principalmente en el consumo de energía.
- Los catalizadores empleados para la obtención de biocombustibles deben favorecer reacciones en un solo paso como en este estudio y al mismo tiempo no ser tan tóxicos en su composición. Por lo que se deben mejorar y continuar con su estudio.
- Se debe continuar los esfuerzos por obtener biogasolina a base de los aceites y lípidos de las microalgas debido a que puede llegar a mezclarse exitosamente con el combustible fósil o de acuerdo con los resultados obtenidos probablemente no requieran del uso de aditivos como el etanol, debido a que se obtiene en el proceso. La producción de biogasolina ayudaría a descontaminar y disminuir las emisiones de CO₂ en el sector transporte.
- Debido a que el petróleo es un recurso no renovable, las biorrefinerías con microalgas son una opción para la producción futura de biocombustibles y otros productos a nivel nacional, pero hace falta más estudios para poder estar al nivel de países como España y Japón en donde ya es una realidad a nivel industrial con empresas como Euglena. C.O y ALGAENERGY que están ayudando a disminuir la huella de carbono en sus respectivos países.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Calvin K, Dasgupta D, Krinner G, Mukherji A, Thorne PW, Trisos C, et al. IPCC (2023): Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland. 2023. <https://doi.org/10.59327/IPCC/AR6-9789291691647>.
- [2] International Energy Agency, I. (2023). *CO 2 Emissions in 2023*. www.iea.org
- [3] Energy Agency, I. (2023). *Net Zero Roadmap: A Global Pathway to Keep the 1.5 °C Goal in Reach - 2023 Update*. www.iea.org/t&c/
- [4] Alam, S. (2022). Algae: An emerging feedstock for biofuels production. *Algal Biotechnology: Integrated Algal Engineering for Bioenergy, Bioremediation, and Biomedical Applications*, 165–185. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90476-6.00003-0>
- [5] Sadatshojaei Erfan, Wood David A., Mowla Dariush. Third Generation of Biofuels Exploiting Microalgae. Sustainable Green Chemical Engineering, Nanotechnology in the Life Sciences Series Editor, Switzerland: 2020, p. 1–581.
- [6] Raut, N., Al-Balushi, T., Panwar, S., Vaidya, R. S., & Shinde, G. B. (2015). Microalgal Biofuel. In *Biofuels - Status and Perspective*. InTech. <https://doi.org/10.5772/59821>
- [7] Vale, M. A., Ferreira, A., Pires, J. C. M., & Gonçalves, G. A. L. (2020). CO2 capture using microalgae. In *Advances in Carbon Capture: Methods, Technologies and Applications* (pp. 381–405). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819657-1.00017-7>
- [8] Laraib, N., Hussain, A., Javid, A., Hafeez-Ur-Rehman, M., Bukhari, S. M., Rashid, M., & Ali, W. (2020). Recent advancements in microalgal-induced remediation of wastewaters. In *Microorganisms for Sustainable Environment and Health* (pp. 205–217). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00010-3>
- [9] Peng, L., Zhang, Z., Lan, C. Q., Basak, A., Bond, N., Ding, X., & Du, J. (2016). Alleviation of oxygen stress on *Neochloris oleoabundans*: effects of bicarbonate and pH. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 143–152. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0931-3>
- [10] Peng, L., Lan, C. Q., Zhang, Z., Sarch, C., & Laporte, M. (2015). Control of protozoa contamination and lipid accumulation in *Neochloris oleoabundans* culture: Effects of pH and dissolved inorganic carbon. *Bioresource Technology*, 197, 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.101>

- [11] Peng, L., Fu, D., Chu, H., Wang, Z., & Qi, H. (2020). Biofuel production from microalgae: a review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 18, Issue 2, pp. 285–297). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00939-0>
- [12] Choo, M. Y., Oi, L. E., Show, P. L., Chang, J. S., Ling, T. C., Ng, E. P., Phang, S. M., & Juan, J. C. (2017). Recent progress in catalytic conversion of microalgae oil to green hydrocarbon: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 79, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.06.028>
- [13] Cruz, Y. R., Díaz, G. Ch., Borges, V. de S., Leonett, A. Z. F., Carliz, R. G., Rossa, V., Silva, V. M. E. S., Viegas, C. V., Aranda, D. A. G., & Oliveira, L. B. (2019). Bio-Oil Extracted of Wet Biomass of the Microalga *Monoraphidium* sp. for Production of Renewable Hydrocarbons. *Journal of Power and Energy Engineering*, 07(01), 80–90. <https://doi.org/10.4236/jpee.2019.71005>
- [14] Ferrer-Ledo, N., Stegemüller, L., Janssen, M., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2023). Growth and fatty acid distribution over lipid classes in *Nannochloropsis oceanica* acclimated to different temperatures. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1078998>
- [15] Fonseca, N., Fréty, R., & Sales, E. A. (2022). Biogasoline Obtained Using Catalytic Pyrolysis of *Desmodesmus* sp. Microalgae: Comparison between Dry Biomass and n-Hexane Extract. *Catalysts*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/catal12121517>
- [16] Lim, J. H. K., Gan, Y. Y., Ong, H. C., Lau, B. F., Chen, W. H., Chong, C. T., Ling, T. C., & Klemeš, J. J. (2021). Utilization of microalgae for bio-jet fuel production in the aviation sector: Challenges and perspective. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 149). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111396>
- [17] Makareviciene, V., & Sendzikiene, E. (2022). Application of Microalgae Biomass for Biodiesel Fuel Production. In *Energies* (Vol. 15, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/en15114178>
- [18] Yıldız, A., Goldfarb, J. L., & Ceylan, S. (2020). Sustainable hydrocarbon fuels via “one-pot” catalytic deoxygenation of waste cooking oil using inexpensive, unsupported metal oxide catalysts. *Fuel*, 263. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116750>
- [19] Marinič, D., Grilc, M., Hočevár, B., Delrue, F., & Likozar, B. (2023). Liquefaction, cracking and hydrogenation of microalgae biomass resources to CO₂ negative advanced biofuels: Mechanisms, reaction microkinetics and modelling. *Renewable Energy*, 203, 382–393. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.12.055>
- [20] Araújo, P. H. M., Santana, J. K. S., Sassi, R., da Costa, D. C., Antoniosi Filho, N. R., Cordeiro, A. M. T. M., Gondim, A. D., & Santos, N. A. (2022). Renewable source hydrocarbons obtaining from

- microalgae by catalytic deoxygenation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(5), 1575–1582. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01353-9>
- [21] Loukil-Baklouti, A., Feki-Sahnoun, W., Hamza, A., Abdennadher, M., Mahfoudhi, M., Bouain, A., & Jarboui, O. (2018). Controlling factors of harmful microalgae distribution in water column, biofilm and sediment in shellfish production area (South of Sfax, Gulf of Gabes) from southern Tunisia. *Continental Shelf Research*, 152, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.11.003>
- [22] Severo, I. A., Deprá, M. C., Zepka, L. Q., & Jacob-Lopes, E. (2019). Carbon dioxide capture and use by microalgae in photobioreactors. In *Bioenergy with Carbon Capture and Storage: Using Natural Resources for Sustainable Development* (pp. 151–171). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816229-3.00008-9>
- [23] Musa, M., Arsad, S., Sari, L. A., Lusiana, E. D., Kasitowati, R. D., Yulinda, E. N., Nadhira, T., & Cahyani, D. (2021). Does Tofu Wastewater Conversions Nutrient Increase the Content of the *Chlorella pyrenoidosa*? *Journal of Ecological Engineering*, 22(2), 70–76. <https://doi.org/10.12911/22998993/130886>
- [24] Al Harbi, S. M. (2017). Epiphytic Microalgal Dynamics and Species Composition on Brown Seaweeds (Phaeophyceae) on the Northern Coast of Jeddah, Saudi Arabia. *Journal of Oceanography and Marine Research*, 05(01). <https://doi.org/10.4172/2572-3103.1000153>
- [25] Adesanya, V. O., Davey, M. P., Scott, S. A., & Smith, A. G. (2014). Kinetic modelling of growth and storage molecule production in microalgae under mixotrophic and autotrophic conditions. *Bioresource Technology*, 157, 293–304. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.01.032>
- [26] Cooper, M. B., & Smith, A. G. (2015). Exploring mutualistic interactions between microalgae and bacteria in the omics age. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 26, pp. 147–153). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.07.003>
- [27] Wong, J. F., Hong, H. J., Foo, S. C., Yap, M. K. K., & Tan, J. W. (2022). A review on current and future advancements for commercialized microalgae species. In *Food Science and Human Wellness* (Vol. 11, Issue 5, pp. 1156–1170). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.04.007>
- [28] Rojo-Cebreros, A. H., Morales-Plascencia, M. E., Ibarra-Castro, L., Martínez-Brown, J. M., & Medina-Jasso, M. A. (2016). Flocculación de *Nannochloropsis* sp. inducida por hidróxido de sodio: Eficiencia de flocculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 662–670. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-1>

- [29] Ferreira de Oliveira, A. P., & Bragotto, A. P. A. (2022). Microalgae-based products: Food and public health. *Future Foods*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100157>
- [30] Zhao, C., Brück, T., & Lercher, J. A. (2013). Catalytic deoxygenation of microalgae oil to green hydrocarbons. In *Green Chemistry* (Vol. 15, Issue 7, pp. 1720–1739). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c3qc40558c>
- [31] Borowitzka, M. A. (2018). Biology of microalgae. In *Microalgae in Health and Disease Prevention* (pp. 23–72). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>
- [32] Ma, X. N., Chen, T. P., Yang, B., Liu, J., & Chen, F. (2016). Lipid production from *Nannochloropsis*. *Marine Drugs*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/md14040061>
- [33] Ashour, M., Elshobary, M. E., El-Shenody, R., Kamil, A. W., & Abomohra, A. E. F. (2019). Evaluation of a native oleaginous marine microalga *Nannochloropsis oceanica* for dual use in biodiesel production and aquaculture feed. *Biomass and Bioenergy*, 120, 439–447. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.12.009>
- [34] Moha-León, J. D., Pérez-Legaspi, I. A., Ortega-Clemente, L. A., Rubio-Franchini, I., & Ríos-Leal, E. (2019). Improving the lipid content of *Nannochloropsis oculata* by a mutation-selection program using UV radiation and quizalofop. *Journal of Applied Phycology*, 31(1), 191–199. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1568-1>
- [35] Suda¹, S., Atsumi¹, M., Miyashita², H., Suda, S., Atsumi, M., & Miyashita, H. (2002). Taxonomic characterization of a marine *Nannochloropsis* species, *N. oceanica* sp. nov. (Eustigmatophyceae). In *Phycologia* (Vol. 41, Issue 3).
- [36] Kim, S. H., Che, C. A., Jeong, G. T., & Kim, S. K. (2021). The effect on single and combined stresses for biomass and lipid production from *Nannochloris atomus* using two phase culture system. *Journal of Biotechnology*, 326, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.12.009>
- [37] Henley William J., Hironaka Janice L., Guillou Laure, Buchheim Mark A., Buchheim Julie A., Fawley Marvin W., & Fawley Karen P. (2004). Phylogenetic analysis of the “*Nannochloris*-like” algae and diagnoses of *Picochlorum oklahomensis* gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Phycologia*, 43(6), 641–652.
- [38] Sanders, C. K., Hanschen, E. R., Biondi, T. C., Hovde, B. T., Kunde, Y. A., Eng, W. L., Kwon, T., & Dale, T. (2022). Phylogenetic analyses and reclassification of the oleaginous marine species *Nannochloris* sp. “desiccata” (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), formerly *Chlorella desiccata*, supported by a high-quality genome assembly. *Journal of Phycology*, 58(3), 436–448. <https://doi.org/10.1111/jpy.13242>

- [39] Yamamoto, M., Nozaki, H., Miyazawa, Y., Koide, T., & Kawano, S. (2003). Relationship between presence of a mother cell wall and speciation in the unicellular microalga *Nannochloris* (chlorophyta) 1. In *J. Phycol* (Vol. 39).
- [40] Bartley, M. L., Boeing, W. J., Dungan, B. N., Holguin, F. O., & Schaub, T. (2014). pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Journal of Applied Phycology*, 26(3), 1431–1437. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0177-2>
- [41] Malakootian, M., Hatami, B., Dowlatshahi, S., & Rajabizadeh, A. (2016). Growth and lipid accumulation in response to different cultivation temperatures in *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production. In *Environmental Health Engineering and Management Journal* (Vol. 3, Issue 1). <https://ssrn.com/abstract=2773186>
- [42] Liu, J., Song, Y., & Qiu, W. (2017). Oleaginous microalgae *Nannochloropsis* as a new model for biofuel production: Review & analysis. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 72, pp. 154–162). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.120>
- [43] Brennan, B., & Regan, F. (2020). In-situ lipid and fatty acid extraction methods to recover viable products from *Nannochloropsis* sp. In *Science of the Total Environment* (Vol. 748). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142464>
- [44] López-Rosales, A. R., Ancona-Canché, K., Chavarria-Hernandez, J. C., Barahona-Pérez, F., Toledano-Thompson, T., Garduño-Solórzano, G., López-Adrian, S., Canto-Canché, B., Polanco-Lugo, E., & Valdez-Ojeda, R. (2019). Fatty acids, hydrocarbons and terpenes of *Nannochloropsis* and *Nannochloris* isolates with potential for biofuel production. *Energies*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/en12010130>
- [45] López-González, D., Fernandez-Lopez, M., Valverde, J. L., & Sanchez-Silva, L. (2014). Comparison of the steam gasification performance of three species of microalgae by thermogravimetric-mass spectrometric analysis. *Fuel*, 134, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.05.051>
- [46] Razzak, S. A., Lucky, R. A., Hossain, M. M., & deLasa, H. (2022). Valorization of Microalgae Biomass to Biofuel Production: A review. In *Energy Nexus* (Vol. 7). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100139>
- [47] Boussiba, S., Vonshak, A., Cohen, Z., Avissar, Y., & Richmond, A. (1987). Lipid and Biomass Production by the Halotolerant Microalga *Nannochloropsis salina*. In *Biomass* (Vol. 12).

- [48] Cecchin, M., Berteotti, S., Paltrinieri, S., Vigliante, I., Iadarola, B., Giovannone, B., Maffei, M. E., Delledonne, M., & Ballottari, M. (2020). Improved lipid productivity in *Nannochloropsis gaditana* in nitrogen-replete conditions by selection of pale green mutants. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01718-8>
- [49] Perin, G., Bellan, A., Segalla, A., Meneghesso, A., Alboresi, A., & Morosinotto, T. (2015). Generation of random mutants to improve light-use efficiency of *Nannochloropsis gaditana* cultures for biofuel production. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0337-5>
- [50] Beacham, T. A., Bradley, C., White, D. A., Bond, P., & Ali, S. T. (2014). Lipid productivity and cell wall ultrastructure of six strains of *Nannochloropsis*: Implications for biofuel production and downstream processing. *Algal Research*, 6(PA), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.09.003>
- [51] Ma, Y., Wang, Z., Yu, C., Yin, Y., & Zhou, G. (2014). Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 167, 503–509. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.047>
- [52] Tamburic, B., Guruprasad, S., Radford, D. T., Szabó, M., Lilley, R. M. C., Larkum, A. W. D., Franklin, J. B., Kramer, D. M., Blackburn, S. I., Raven, J. A., Schliep, M., & Ralph, P. J. (2014). The effect of diel temperature and light cycles on the growth of *Nannochloropsis oculata* in a photobioreactor matrix. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086047>
- [53] Cox, K., Renouf, M., Dargan, A., Turner, C., & Klein-Marcuschamer, D. (2014). Environmental life cycle assessment (LCA) of aviation biofuel from microalgae, *Pongamia pinnata*, and sugarcane molasses. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 579–593. <https://doi.org/10.1002/bbb.1488>
- [54] Chhandama, M. V. L., Satyan, K. B., Changmai, B., Vanlalveni, C., & Rokhum, S. L. (2021). Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review. In *Bioresource Technology Reports* (Vol. 15). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100771>
- [55] Wadood, A., Rana, A., Basheer, C., Razzaq, S. A., & Farooq, W. (2020). In situ Transesterification of Microalgae *Parachlorella kessleri* Biomass Using Sulfonated Rice Husk Solid Catalyst at Room Temperature. *Bioenergy Research*, 13(2), 530–541. <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10060-3>
- [56] Atabani, A. E., El-Sheekh, M. M., Kumar, G., & Shobana, S. (2017). Edible and nonedible biodiesel feedstocks: Microalgae and future of biodiesel. In *Clean Energy for Sustainable Development: Comparisons and Contrasts of New Approaches* (pp. 507–556). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805423-9.00017-X>

- [57] Bakhtyari, A., Makarem, M. A., & Rahimpour, M. R. (2017). Light olefins/bio-gasoline production from biomass. In *Bioenergy Systems for the Future: Prospects for Biofuels and Biohydrogen* (pp. 87–148). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101031-0.00004-1>
- [58] Chowdhury, H., Loganathan, B., Mustary, I., Alam, F., & Mobin, S. M. A. (2019). Algae for biofuels: The third generation of feedstock. In *Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels* (pp. 323–344). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00012-4>
- [59] Cheng, J., Zhang, Z., Zhang, X., Liu, J., Zhou, J., & Cen, K. (2019). Hydrodeoxygenation and hydrocracking of microalgae biodiesel to produce jet biofuel over H₃PW₁₂O₄₀-Ni/hierarchical mesoporous zeolite Y catalyst. *Fuel*, 245, 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.02.062>
- [60] Gurdeep Singh, H. K., Yusup, S., Quitain, A. T., Abdullah, B., Ameen, M., Sasaki, M., Kida, T., & Cheah, K. W. (2020). Biogasoline production from linoleic acid via catalytic cracking over nickel and copper-doped ZSM-5 catalysts. *Environmental Research*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109616>
- [61] Monteiro, R. R. C., Dos Santos, I. A., Arcanjo, M. R. A., Cavalcante, C. L., de Luna, F. M. T., Fernandez-Lafuente, R., & Vieira, R. S. (2022). Production of Jet Biofuels by Catalytic Hydroprocessing of Esters and Fatty Acids: A Review. In *Catalysts* (Vol. 12, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/catal12020237>
- [62] Jin, W., Pastor-Pérez, L., Shen, D. K., Sepúlveda-Escribano, A., Gu, S., & Ramirez Reina, T. (2019). Catalytic Upgrading of Biomass Model Compounds: Novel Approaches and Lessons Learnt from Traditional Hydrodeoxygenation – a Review. In *ChemCatChem* (Vol. 11, Issue 3, pp. 924–960). Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/cctc.201801722>
- [63] Hsu, C. S., & Robinson, P. R. (2019). Gasoline Production. In *Petroleum Science and Technology* (pp. 189–210). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16275-7_10
- [64] Hu, D., Li, Y., Mei, J., Wang, G., Xiao, C., Liu, C., Meng, Q., Li, H., Fu, S., & Duan, A. (2020). High-dispersed Ni-Mo-S active phases within hierarchical pore materials by introducing the cationic protective shell during the impregnation process for hydrodesulfurization. *Fuel*, 263. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116701>
- [65] Eswaramoorthi, I., Sundaramurthy, V., Das, N., Dalai, A. K., & Adjaye, J. (2008). Application of multi-walled carbon nanotubes as efficient support to NiMo hydrotreating catalyst. *Applied Catalysis A: General*, 339(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2008.01.021>
- [66] Pedrero Álvarez Andrés Eduardo. (2017). *Cultivo de microalgas en fotobiorreactor de 20L para la síntesis de Bio-keroseno parafínico sintetizado*. Centro de Investigación Científica de Yucatán.

- [67] Saab, R., Polychronopoulou, K., Zheng, L., Kumar, S., & Schiffer, A. (2020). Synthesis and performance evaluation of hydrocracking catalysts: A review. In *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (Vol. 89, pp. 83–103). Korean Society of Industrial Engineering Chemistry. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.06.022>
- [68] Busca, G. (2017). Acidity and basicity of zeolites: A fundamental approach. *Microporous and Mesoporous Materials*, 254, 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.04.007>
- [69] Mampuru, M. B., Nkazi, D. B., & Mukaya, H. E. (2020). Hydrocracking of waste cooking oil into biogasoline in the presence of a bi-functional Ni-Mo/alumina catalyst. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 42(20), 2564–2575. <https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1610527>
- [70] Pacheco Román Francisco Javier, Claudia Rivera Villa, Gabriela Matzallani Gómez Alvarado, Martha Elena Padilla Reyes, et al., (2018). *Reporte de Inteligencia Tecnológica: BIOTURBOSINA*.
- [71] Starck, L., Pidol, L., Jeuland, N., Chapus, T., Bogers, P., & Bauldreay, J. (2016). Production d’huiles végétales hydrotraitées (hydroprocessed esters and fatty acids, HEFA) – optimisation du rendement. *Oil and Gas Science and Technology*, 71(1). <https://doi.org/10.2516/ogst/2014007>
- [72] Kolosz, B. W., Luo, Y., Xu, B., Maroto-Valer, M. M., & Andresen, J. M. (2020). Life cycle environmental analysis of “drop in” alternative aviation fuels: A review. In *Sustainable Energy and Fuels* (Vol. 4, Issue 7, pp. 3229–3263). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c9se00788a>
- [73] Naimah, K., Mardanie, B. R., Dwi, L. M., Adi, S. N., & Sulistiyanto. (2020). A review of technology assessment of green gasoline processing. *Energy Reports*, 6, 1641–1649. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2019.11.030>
- [74] Boluda, C. J., Macías, M., & González Marrero, J. (2019). La complejidad química de las gasolinas de automoción. *Ciencia, Ingenierías y Aplicaciones*, 2(2), 51–79. <https://doi.org/10.22206/cyap.2019.v2i2.pp51-79>
- [75] SEGOB. (2016, August 29). *NOM-016-CRE-2016. Especificaciones de la calidad de los petrolíferos*. Diario Oficial de La Federación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5450011&fecha=29/08/2016#gsc.tab=0
- [76] ASTM. (2003). *Designation: D 4814-03a Standard Specification for Automotive Spark-Ignition Engine Fuel 1*. www.astm.org,
- [77] Worldwide Fuel Charter “WWFC.” (2019). *Worldwide Fuel Charter – Gasoline and diesel fuel*. https://www.acea.auto/files/WWFC_19_gasoline_diesel.pdf

- [78] Kitazato, H., Asaoka, S., & Iwamoto, H. (1989). Catalytic cracking of hydrocarbons from microalgae. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, 32(1), 28–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1627/jpi1958.32.28>
- [79] Milne, T. A., Evans, R. J., & Nagle, N. (1990). Catalytic Conversion of Microalgae and Vegetable Oils to Premium Gasoline, with Shape-Selective Zeolites. In *Biomass* (Vol. 21).
- [80] Tracy NI, Crunkleton DW, Price GL. Gasoline production from phytol. *Fuel* 2010;89:3493–7. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.06.022>.
- [81] Hassan, S. N., Nurdin, S., Yaakob, Z., & Mahmud, M. S. (2020). Biogasoline synthesis via fluid catalytic cracking of waste cooking oil using treated eggshell. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(2). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/736/2/022069>
- [82] Azimatun Nur, M. M., Setyoningrum, T. M., & Budiaman, I. G. S. (2017). Potency of *Botryococcus braunii* cultivated on palm oil mill effluent wastewater as a source of biofuel. *Environmental Engineering Research*, 22(4), 417–425. <https://doi.org/10.4491/eer.2017.053>
- [83] Vitolo, S., Bresci, B., Seggiani, M., & Gallo, M. G. (2001). *Catalytic upgrading of pyrolytic oils over HZSM-5 zeolite: behaviour of the catalyst when used in repeated upgrading-regenerating cycles*. 80(1), 17–26. www.elsevier.com/locate/fuel
- [84] Zhang, Z., Bi, P., Jiang, P., Fan, M., Deng, S., Zhai, Q., & Li, Q. (2015). Production of gasoline fraction from bio-oil under atmospheric conditions by an integrated catalytic transformation process. *Energy*, 90, 1922–1930. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.07.009>
- [85] Santos, M. C., Lourenço, R. M., de Abreu, D. H., Pereira, A. M., de Castro, D. A. R., Pereira, M. S., Almeida, H. S., Mâncio, A. A., Lhamas, D. E. L., da Mota, S. A. P., da Silva Souza, J. A., Júnior, S. D., Araújo, M. E., Borges, L. E. P., & Machado, N. T. (2017). Gasoline-like hydrocarbons by catalytic cracking of soap phase residue of neutralization process of palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq). *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 71, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2016.11.016>
- [86] Luna Rojo Jimena. (2018). Producción de triacilglicéridos a partir de cepas de microalgas marinas en condiciones nutricionales limitantes. Centro de Investigación Científica de Yucatán.
- [87] Zhu, J., Chen, W., Chen, H., Zhang, X., He, C., Rong, J., & Wang, Q. (2016). Improved productivity of neutral lipids in *Chlorella* sp. A2 by minimal nitrogen supply. *Frontiers in Microbiology*, 7(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00557>

- [88] Iverson Sara J., Lang Shelley L.C., & Cooper Margaret H. (2001). Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. *Lipids*, 36(11), 1283–1287.
- [89] Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)
- [90] Folch J, Lees M, Sloane Stanley G. Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. Department of Biological Chemistry 1956:497–509.
- [91] Martínez Macias, M. del R., Sánchez Duarte, R. G., Meza Escalante, E. R., Ulloa Mercado, R. G., & Saldívar Cabrales, J. (2017). Síntesis de lípidos de la microalga *Nannochloropsis oculata* para su uso potencial en la producción de biodiésel. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 33(Special Issue 1), 85–91. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp02.08>
- [92] Villafán Cáceres Michelle Stephanie. (2023). *Obtención de Combustible sostenible de aviación a partir de aceite de cocina usado y lípidos de Coelastrella sp CORE3*. Centro de Investigación Científica de Yucatán.
- [93] Morales-Ortuño, J. C., Ortega-Domínguez, R. A., Hernández-Hipólito, P., Bokhimi, X., & Klimova, T. E. (2016). HDS performance of NiMo catalysts supported on nanostructured materials containing titania. *Catalysis Today*, 271, 127–139. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2015.07.028>
- [94] Zhang, Z., Wang, Q., Chen, H., & Zhang, X. (2018). Hydroconversion of Waste Cooking Oil into Bio-Jet Fuel over a Hierarchical NiMo/USY α Al-SBA-15 Zeolite. *Chemical Engineering and Technology*, 41(3), 590–597. <https://doi.org/10.1002/ceat.201600601>
- [95] Moazami, N., Ashori, A., Ranjbar, R., Tangestani, M., Eghtesadi, R., & Nejad, A. S. (2012). Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. *Biomass and Bioenergy*, 39, 449–453. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.01.046>
- [96] Mohammady NGE, El-Khatib KM, El-Galad MI, Abo El-Enin SA, Attia NK, El-Araby R, et al. Preliminary study on the economic assessment of culturing *Nannochloropsis* sp. in Egypt for the production of biodiesel and high-value biochemicals. *Biomass Convers Biorefin* 2022;12:3319–31. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00878-9>.
- [97] Park, S. Bin, Yun, J. H., Ryu, A. J., Yun, J., Kim, J. W., Lee, S., Choi, S., Cho, D. H., Choi, D. Y., Lee, Y. J., & Kim, H. S. (2021). Development of a novel *Nannochloropsis* strain with enhanced violaxanthin yield for large-scale production. *Microbial Cell Factories*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01535-0>

- [98] Roncarati A, Meluzzi A, Acciarri S, Tallarico N, Melotti P. (2004). *Fatty acid composition of different microalgae strains (Nannochloropsis sp., Nannochloropsis oculata (Droop) Hibberd, Nannochloris atomus Butcher and Isochrysis sp.) according to the culture phase and the carbon dioxide concentration.* J World Aquac Soc 2004;35:401–11. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00104.x>.
- [99] Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y., & Li, A. (2012). Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. *Bioresource Technology*, 110, 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.101>
- [100]Schlesinger A, Eisenstadt D, Bar-Gil A, Carmely H, Einbinder S, Gressel J. (2012). *Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production.* Biotechnol Adv 30:1023–30. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.011>.
- [101] Riveros, K., Sepulveda, C., Bazaes, J., Marticorena, P., Riquelme, C., & Acién, G. (2018). Overall development of a bioprocess for the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture. *Aquaculture Research*, 49(1), 165–176. <https://doi.org/10.1111/are.13445>
- [102] Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 14, Issue 1, pp. 217–232). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- [103] Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Tsai, M. T., Ong, S. C., Chen, C. H., & Lin, C. S. (2009). Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, 100(2), 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.061>
- [104] Lewis, T., Nichols, P. D., & Mcmeekin, T. A. (2000). Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs. In *Journal of Methods Microbiological Journal of Microbiological Methods* (Vol. 43). www.elsevier.com/locate/jmicmeth
- [105] Cooney, M., Young, G., & Nagle, N. (2009). Extraction of bio-oils from microalgae. *Separation and Purification Reviews*, 38(4), 291–325. <https://doi.org/10.1080/15422110903327919>
- [106] Guerra, I., Pereira, H., Costa, M., Silva, J. T., Santos, T., Varela, J., Mateus, M., & Silva, J. (2021). Operation regimes: A comparison based on *Nannochloropsis oceanica* biomass and lipid productivity. *Energies*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/en14061542>
- [107] Palanisamy, K. M., Bhuyar, P., Rahim, M. A., Vadiveloo, A., Al-Dhabi, N. A., Govindan, N., & Maniam, G. (2023). Lipid Enhancement in Oleaginous *Nannochloropsis* sp. under Nitrate Limitation for Future Bioenergy Production. *International Journal of Energy Research*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/5412660>

- [108] Del Rayo Serrano Vázquez María Guadalupe. (2017). *Análisis del perfil lipídico de la microalga Coelastrum sp. para la producción de biocombustibles* [En opción al título de maestro en ciencias en energía renovable]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
- [109] Falcón-Valdés Jocsan AxeL. (2019). *producción de bioturbosina a partir de lípidos de Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing mediante hidrodeseoxigenación* [en opción al título de maestro en ciencias en energía renovable]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
- [110] Li, R., Xue, T., Li, Z., & Wang, Q. (2020). Hierarchical structure ZSM-5/SBA-15 composite with improved hydrophobicity for adsorption-desorption behavior of toluene. *Chemical Engineering Journal*, 392. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124861>
- [111] Wei, Z., Qiao, H., Yang, H., Zhang, C., & Yan, X. (2009). Characterization of NiO nanoparticles by anodic arc plasma method. *Journal of Alloys and Compounds*, 479(1–2), 855–858. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2009.01.064>
- [112] Jafarian, S., Tavasoli, A., & Nikkiah, H. (2019). Catalytic hydrotreating of pyro-oil derived from green microalgae *spirulina* the (*Arthrospira*) *plantensis* over NiMo catalysts impregnated over a novel hybrid support. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(36), 19855–19867. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.182>
- [113] Rahmani, M. B., Keshmiri, S. H., Yu, J., Sadek, A. Z., Al-Mashat, L., Moafi, A., Latham, K., Li, Y. X., Wlodarski, W., & Kalantar-zadeh, K. (2010). Gas sensing properties of thermally evaporated lamellar MoO₃. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 145(1), 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2009.11.007>
- [114] Thommes, M., Kaneko, K., Neimark, A. V., Olivier, J. P., Rodriguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. W. (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 87(9–10), 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>
- [115] Shakeri, M., Shal, Z. K., & Van Der Voort, P. (2021). An overview of the challenges and progress of synthesis, characterization and applications of plugged SBA-15 materials for heterogeneous catalysis. In *Materials* (Vol. 14, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ma14175082>
- [116] Kokunešoski, M., Gulicovski, J., Matović, B., Logar, M., Milonjić, S. K., & Babić, B. (2010). Synthesis and surface characterization of ordered mesoporous silica SBA-15. *Materials Chemistry and Physics*, 124(2–3), 1248–1252. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.08.066>

- [117] Borjón Adrián, G., Rojas Eduardo, T., Arzaluz Mirella, G., & Beltrán Deyanira, Á. (2022). SBA-15 funcionalizado como un material sostenible útil en la retención de CO₂. *Revista Tendencias En Docencia e Investigación En Química*, 352–358. <http://revistatediq.azc.uam.mxAño8>
- [118] Muñoz Díaz Martha. (2019). *Combustibles sostenible por oligomerización de butenos sobre catalizadores de Zeolita HZSM-5*. THESIS FACULTAD DE CIENCIA.
- [119] Arévalo Rodríguez Paúl Miguel. (2011). *Desarrollo e implementación de técnicas de incorporación de fase activa sobre soportes para catalizadores de hidrodesulfuración* [Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias]. Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.
- [120] Kianfar, E., Hajimirzaee, S., mousavian, S., & Mehr, A. S. (2020). Zeolite-based catalysts for methanol to gasoline process: A review. In *Microchemical Journal* (Vol. 156). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104822>
- [121] Mbaraka Isa K., & Shanks Brent H. (2006). Conversion of Oils and Fats Using Advanced Mesoporous Heterogeneous Catalysts. *JAACS*, 83, 79–91.
- [122] Matthias Thommes. (2001). *POWDER TECH NOTE 31. QUANTACHROME*. www.quantachrome.com
- [123] Fu, T., Zhou, H., & Li, Z. (2016). Effect of Particle Morphology for ZSM-5 Zeolite on the Catalytic Conversion of Methanol to Gasoline-Range Hydrocarbons. *Catalysis Letters*, 146(10), 1973–1983. <https://doi.org/10.1007/s10562-016-1841-3>
- [124] Demirbas, A., Balubaid, M. A., Basahel, A. M., Ahmad, W., & Sheikh, M. H. (2015). Octane Rating of Gasoline and Octane Booster Additives. *Petroleum Science and Technology*, 33(11), 1190–1197. <https://doi.org/10.1080/10916466.2015.1050506>
- [125] Badia, J. H., Ramírez, E., Bringué, R., Cunill, F., & Delgado, J. (2021). New Octane Booster Molecules for Modern Gasoline Composition. In *Energy and Fuels* (Vol. 35, Issue 14, pp. 10949–10997). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c00912>
- [126] Boot, M. D., Tian, M., Hensen, E. J. M., & Mani Sarathy, S. (2017). Impact of fuel molecular structure on auto-ignition behavior – Design rules for future high performance gasolines. In *Progress in Energy and Combustion Science* (Vol. 60, pp. 1–25). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2016.12.001>
- [127] Anderson, J. E., Kramer, U., Mueller, S. A., & Wallington, T. J. (2010). Octane numbers of ethanol- and methanol-gasoline blends estimated from molar concentrations. *Energy and Fuels*, 24(12), 6576–6585. <https://doi.org/10.1021/ef101125c>

- [128] Christensen, E., Williams, A., Paul, S., Burton, S., & McCormick, R. L. (2011). Properties and performance of levulinate esters as diesel blend components. *Energy and Fuels*, 25(11), 5422–5428. <https://doi.org/10.1021/ef201229j>
- [129] Mormille, M. R., Llu, S., & Sufflta', J. M. (1994). Anaerobic Biodegradation of Gasoline Oxygenates: Extrapolation of Information to Multiple Sites and Redox Conditions. In *Environ. Sci. Technol* (Vol. 28).
- [130] Hoppe, F., Burke, U., Thewes, M., Heufer, A., Kremer, F., & Pischinger, S. (2016). Tailor-Made Fuels from Biomass: Potentials of 2-butanone and 2-methylfuran in direct injection spark ignition engines. *Fuel*, 167, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.11.039>
- [131] Ramadhan, O. M., & Al-Hyali, E. A. (1999). New experimental and theoretical relation to determine the research octane number (RON) of authentic aromatic hydrocarbons could be present in the gasoline fraction. *Petroleum Science and Technology*, 17(5), 623–635. <https://doi.org/10.1080/10916469908949737>
- [132] Libalova, H., Zavodna, T., Elzeinova, F., Barosova, H., Cervena, T., Milcova, A., Vankova, J., Paradeisi, F., Vojtisek-Lom, M., Sikorova, J., Topinka, J., & Rossner, P. (2024). The Genotoxicity of Organic Extracts from Particulate Emissions Produced by Neat Gasoline (E0) and a Gasoline–Ethanol Blend (E15) in BEAS-2B Cells. *Journal of Xenobiotics*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/jox14010001>
- [133] Kandel, K., Anderegg, J. W., Nelson, N. C., Chaudhary, U., & Slowing, I. I. (2014). Supported iron nanoparticles for the hydrodeoxygenation of microalgal oil to green diesel. *Journal of Catalysis*, 314, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2014.04.009>
- [134] Lee, C. W., Lin, P. Y., Chen, B. H., Kukushkin, R. G., & Yakovlev, V. A. (2021). Hydrodeoxygenation of palmitic acid over zeolite-supported nickel catalysts. *Catalysis Today*, 379, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.05.013>
- [135] Poddar, M. K., Anand, M., Farooqui, S. A., Martin, G. J. O., Maurya, M. R., & Sinha, A. K. (2018). Hydroprocessing of lipids extracted from marine microalgae *Nannochloropsis* sp. over sulfided CoMoP/Al₂O₃ catalyst. *Biomass and Bioenergy*, 119, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.08.011>

ANEXOS

ANEXO 1. Formulación medio de cultivo Guillard f/2

Componentes:

Macrocomponentes

F/2 + 4 (1L)	
Compuesto	Cantidad añadida (mL)
NaNO ₃	4
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	4
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	1
Metales traza	2
Vitaminas	1

F/2 + 8 (1L)	
Compuesto	Cantidad añadida (mL)
NaNO ₃	8
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	8
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	1
Metales traza	2
Vitaminas	1

Microcomponentes

Metales traza

Compuesto	Stocks (g/L en d H2O)	Cantidad añadida	Concentración (M)
	/		
	/		1.17 x10 ⁻⁵
MnCl₂ · 4H₂O	180	1	9.10 x10 ⁻⁷
ZnSO₄ · 7H₂O	22	1	7.65 x10 ⁻⁸
CoCl₂ · 6H₂O	10	1	4.20 x10 ⁻⁸
CuSO₄ · 5H₂O	9.8	1	3.93 x10 ⁻⁸
Na₂MoO₄ · 2H₂O	6.3	1	2.60 x10 ⁻⁸

Vitaminas

Compuesto	Stocks (g/L en H₂O)	Cantidad en 1L
Tiamina · HCl		200 mg
Biotina	1	1 mL
Cyanocobalanina	1	1 mL

ANEXO 2. TIEMPOS DE FLOCULACIÓN DE LAS CEPAS EN ESTUDIO

CEPA NRRE-1	
TUBOS EPPENDORF (500 µl)	FLOCULADO CON NaOH (0.5N)
Tubo 1 (b.1-a)	Sin flocular
Tubo 2 (b.1 10 min)	10 min
Tubo 3 (b.1 20 min)	20 min
Tubo 4 (b.1 30 min)	30 min

CEPA NSRE-1	
TUBOS EPPENDORF (500 µl)	FLOCULADO CON NaOH (0.5N)
Tubo 1 (b.1-a)	Sin flocular
Tubo 2 (b.1 10 min)	10 min
Tubo 3 (b.1 20 min)	20 min
Tubo 4 (b.1 30 min)	30 min

ANEXO 3. Extracciones por triplicado realizadas para las microalgas estudiadas.

Anexo 3.1. Resultado de las extracciones realizadas para NRRE-1.

Cepa	N°	Triplicado	Peso biomasa seca (g)	Peso biomasa residual (g)	Extracto crudo calculado (g)	Extracto crudo recuperado (g)
NRRE-1	1	M1(X3)	1.353	0.948±0.073	0.404±0.073	0.116±0.008
		M2(X3)	1.353	0.879±0.073	0.473±0.073	0.120±0.008
		M3(X3)	1.353	1.026±0.073	0.326±0.073	0.103±0.008
	2	M1(X3)	1.353	0.876±0.085	0.476±0.085	0.124±0.015
		M2(X3)	1.353	1.011±0.085	0.341±0.085	0.098±0.015
		M3(X3)	1.353	1.034±0.085	0.319±0.085	0.095±0.015
	3	M1(X3)	1.353	1.046±0.013	0.306±0.013	0.091±0.008
		M2(X3)	1.353	1.022±0.013	0.330±0.013	0.106±0.008
		M3(X3)	1.353	1.025±0.013	0.327±0.013	0.105±0.008
	4	M1(X3)	1.353	1.056±0.008	0.296±0.008	0.093±0.002
		M2(X3)	1.353	1.042±0.008	0.311±0.008	0.095±0.002
		M3(X3)	1.353	1.041±0.008	0.311±0.008	0.097±0.002
	5	M1(X3)	1.353	1.141±0.009	0.211±0.009	0.113±0.193
		M2(X3)	1.353	1.147±0.009	0.205±0.009	0.079±0.193
		M1(X3)	1.353	1.159±0.009	0.193±0.009	0.080±0.193
TOTAL			20.295	15.458	4.836	1.515

Anexo 3. 2. Resultado de las extracciones realizadas para NSRE-1.

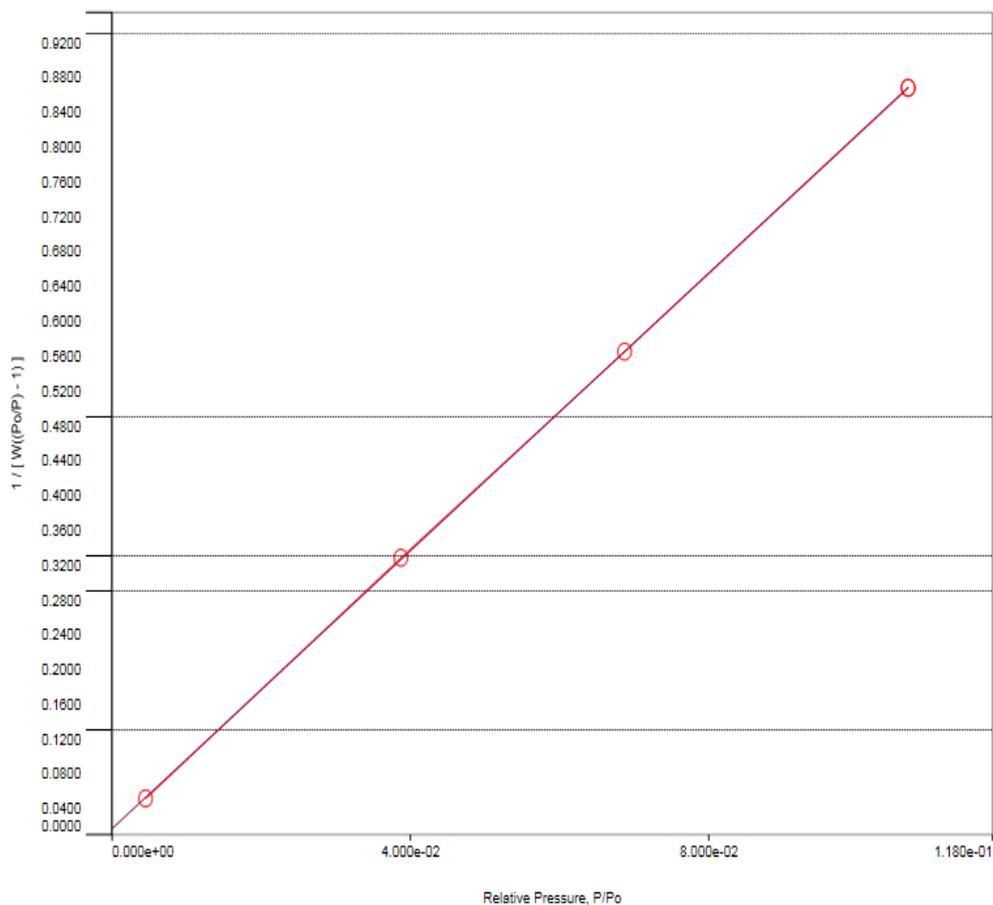
Cepa	N°	Triplicad o	Peso biomasa seca (g)	Peso biomasa residual (g)	Extracto crudo calculado (g)	Extracto crudo recuperado (g)	
NSRE-1	1	M1(X3)	1.353	1.083±0.001	0.270±0.000	0.143±0.003	
		M2(X3)	1.353	1.084±0.001	0.269±0.000	0.142±0.003	
		M3(X3)	1.353	1.084±0.001	0.269±0.000	0.136±0.003	
	2	M1(X3)	1.353	1.102±0.016	0.251±0.016	0.251±0.016	0.318±0.046
		M2(X3)	1.353	1.102±0.016	0.251±0.016	0.251±0.016	0.239±0.046
		M3(X3)	1.353	1.130±0.016	0.223±0.016	0.223±0.016	0.236±0.046
	3	M1(X3)	1.353	1.160±0.147	0.193±0.014	0.193±0.014	0.316±0.045
		M2(X3)	1.353	1.133±0.147	0.220±0.014	0.220±0.014	0.235±0.045
		M3(X3)	1.353	1.157±0.147	0.196±0.014	0.196±0.014	0.238±0.045
4	M1(X3)	1.353	1.103±0.022	0.250±0.022	0.250±0.022	0.105±0.048	
	M2(X3)	1.353	1.147±0.022	0.206±0.022	0.206±0.022	0.189±0.048	
	M3(X3)	1.353	1.133±0.022	0.220±0.022	0.220±0.022	0.104±0.048	
5	M1(X3)	1.353	1.088±0.022	0.265±0.022	0.265±0.022	0.111±0.047	
	M2(X3)	1.353	1.132±0.022	0.221±0.022	0.221±0.022	0.191±0.047	
	M1(X3)	1.353	1.110±0.022	0.243±0.022	0.243±0.022	0.106±0.047	
TOTAL			20.295	16.748	3.547	2.809	

ANEXO 4. Reportes quantachrome

Anexo 4.1. Análisis BET del soporte sintetizado.

Multi-Point BET Plot

Adsorbate		Data Reduction Parameters			
Nitrogen	Molec. Wt.: 28.013	Temperature	77.350K	Liquid Density:	0.808 g/cc
		Cross Section:	16.200 Å²		

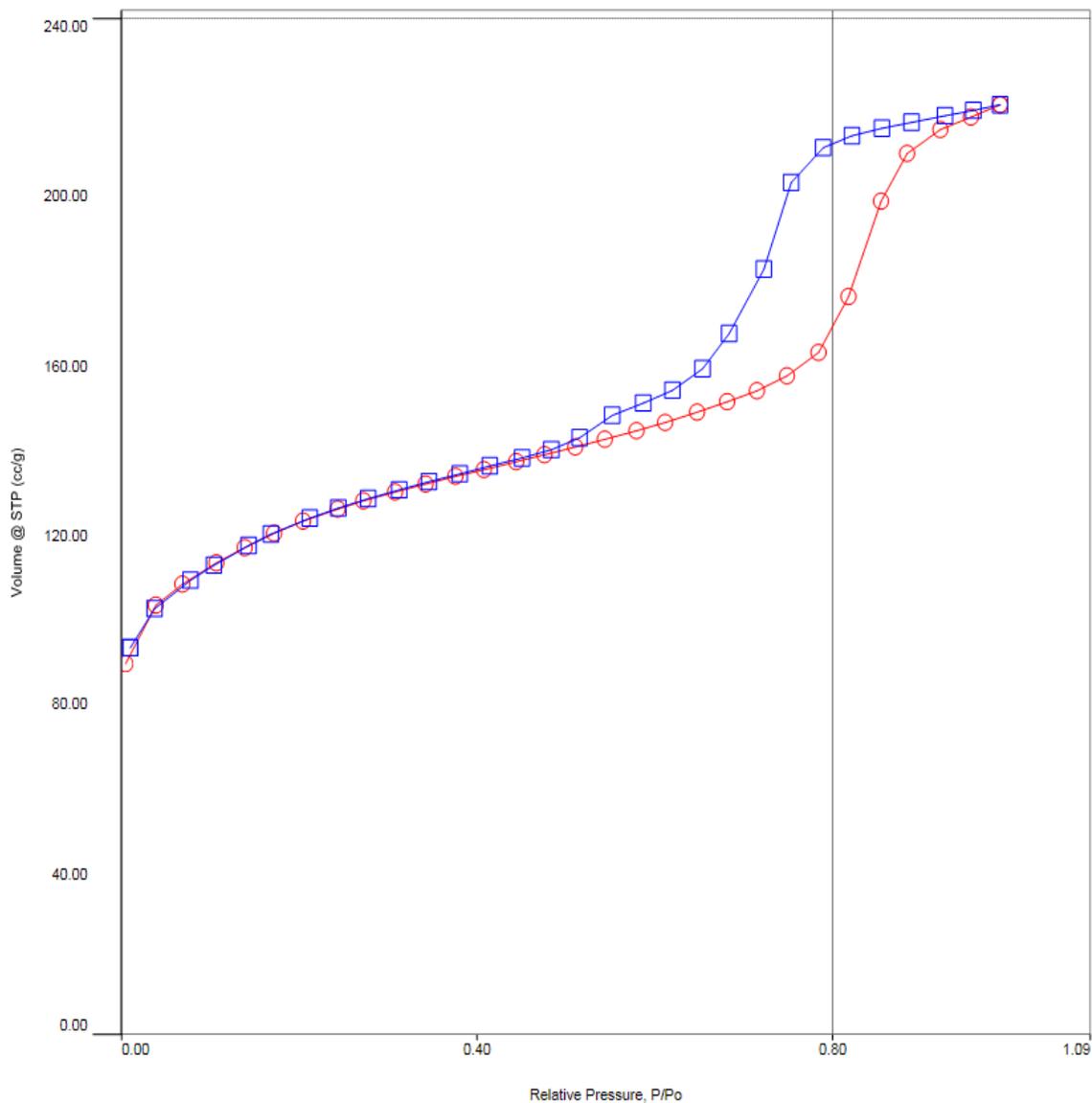
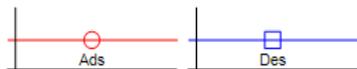


BET summary	
Slope =	7.980
Intercept =	6.765e-03
Correlation coefficient, r =	0.999990
C constant =	1180.606
Surface Area =	436.041 m ² /g

Anexo 4.2. Isotherma de adsorción y desorción obtenida del soporte sintetizado

Isotherm : Linear

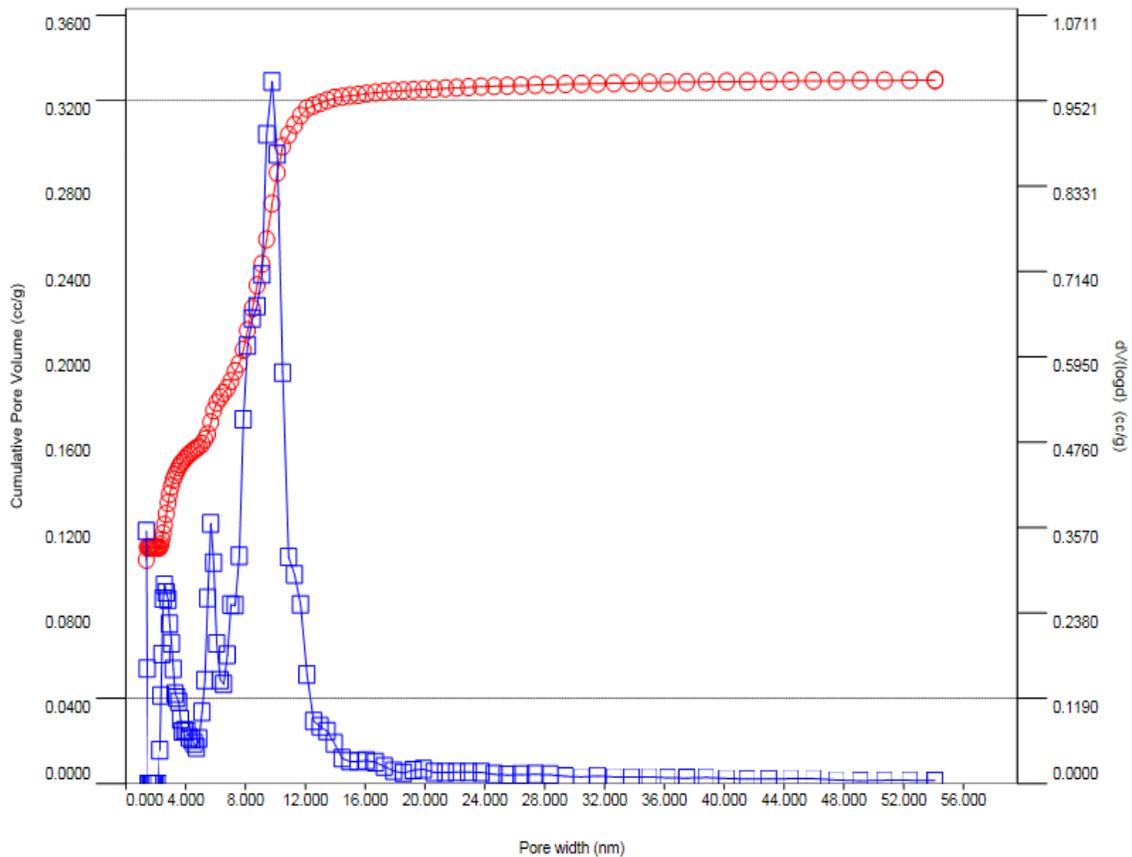
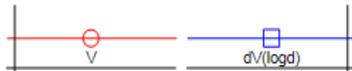
Adsorbate		Data Reduction Parameters		
Nitrogen	Molec. Wt.: 28.013	Temperature	77.350K	Liquid Density: 0.808 g/cc
		Cross Section:	16.200 Å ²	



Anexo 4.3. Método DFT del soporte sintetizado.

DFT : dV(log d)

Data Reduction Parameters			
DFT method	Calc. Model: N2 at 77 K on silica (cylindr. pore, NLDFT equilibrium model)		Moving pt. avg: off
Adsorbate	Nitrogen	Temperature: 77.350K	
	Molec. Wt.: 28.013	Cross Section: 16.200 Å²	Liquid Density: 0.808 g/cc

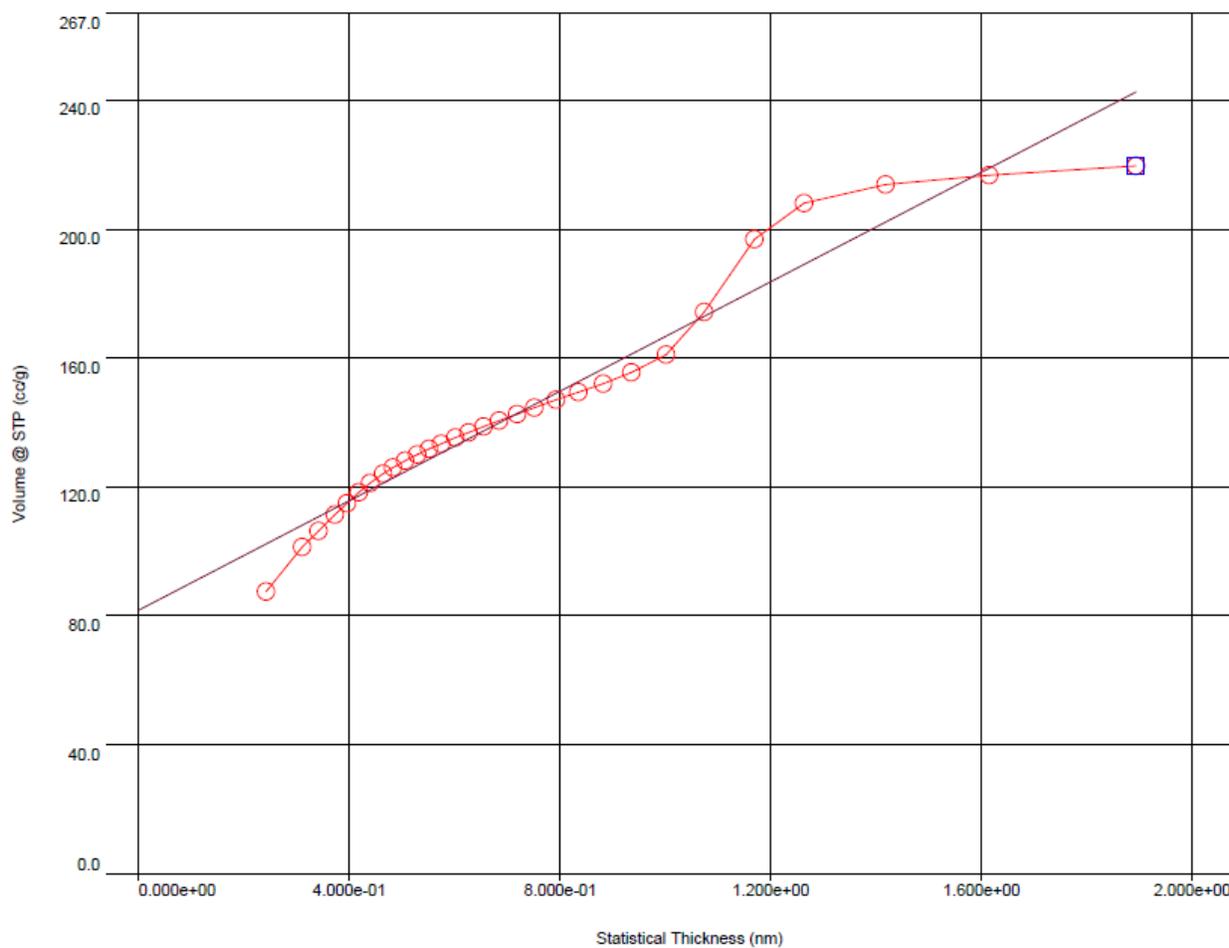
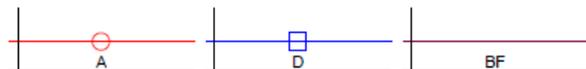


DFT method summary	
Pore volume =	0.330 cc/g
Surface area =	614.668 m²/g
Lower confidence limit =	1.379 nm
Fitting error =	0.269 %
Pore width (Mode(dLog)) =	9.773 nm
Moving point average :	off

Anexo 4.4. Análisis T-plot de estructura microporosa del soporte.

t plot

Data Reduction Parameters				
<u>t-Method</u>	Calc. method: de Boer	Temperature	77.350K	Liquid Density: 0.808 g/cc
<u>Adsorbate</u>	Nitrogen Molec. Wt.: 28.013	Cross Section:	16.200 Å ²	

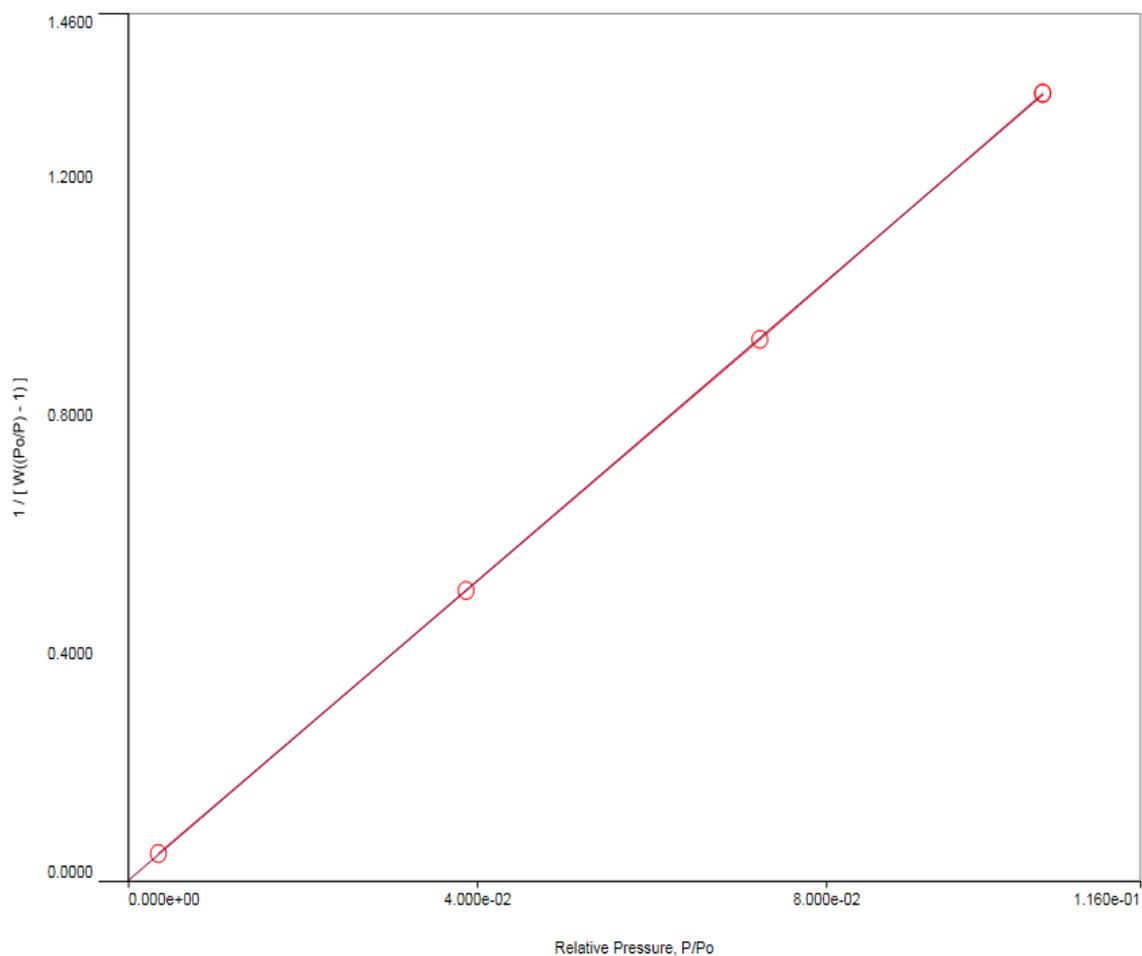


<u>t-Plot method summary</u>	
Thickness method: DeBoer	
Slope =	8.495
Intercept =	81.786
Correlation coefficient, r =	0.974863

Anexo 4.5. Análisis BET del catalizador sintetizado

Multi-Point BET Plot

Adsorbate		Data Reduction Parameters		
Nitrogen	Molec. Wt.: 28.013	Temperature	77.350K	Liquid Density: 0.808 g/cc
		Cross Section:	16.200 Å²	

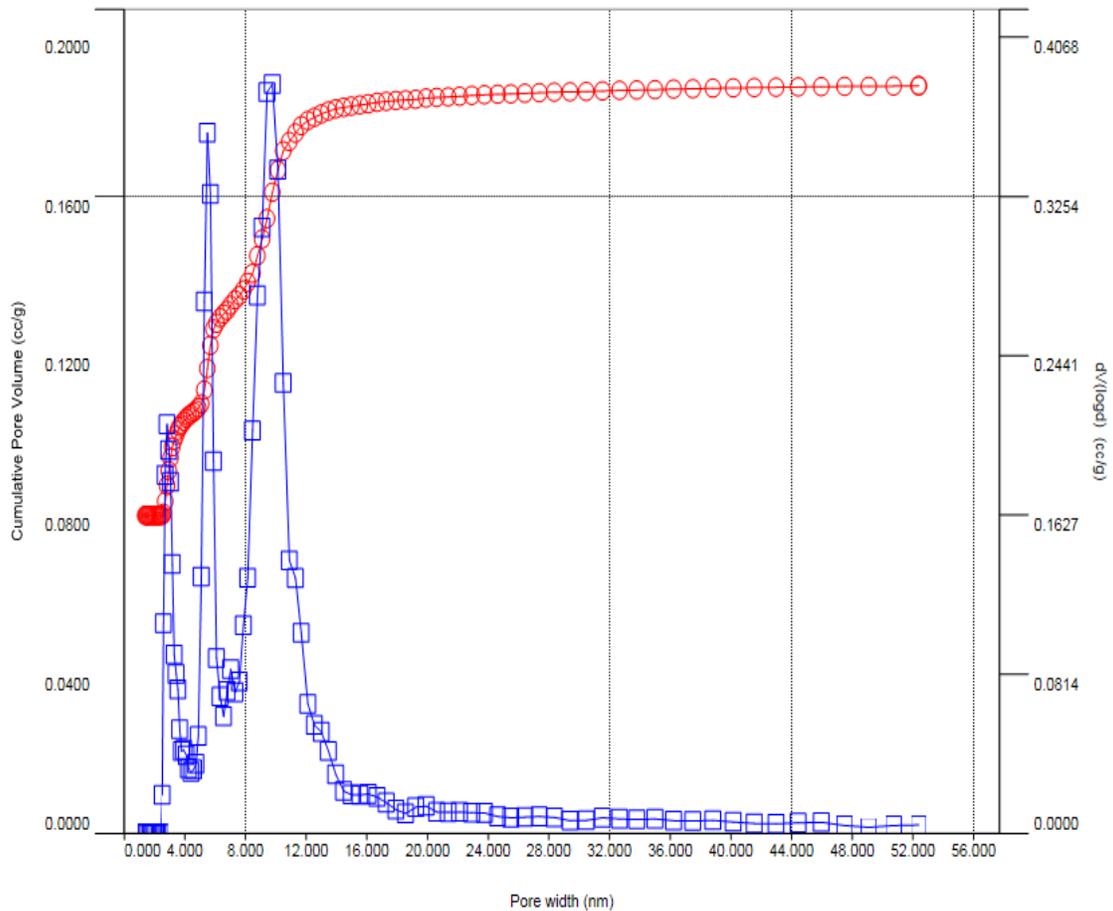
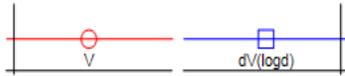


BET summary	
Slope =	12.606
Intercept =	2.167e-03
Correlation coefficient, r =	0.999990
C constant =	5819.382
Surface Area =	276.212 m²/g

Anexo 4.6. Método DFT del catalizador sintetizado

DFT : $dV(\log d)$

Data Reduction Parameters			
DFT method	Calc. Model: N2 at 77 K on silica (cylindr. pore, NLDFT equilibrium model)		
	Rel. press. range: 0.0000 - 1.0000		
Adsorbate	Nitrogen	Temperature	77.350K
	Molec. Wt.: 28.013	Cross Section:	16.200 Å ²
		Moving pt. avg:	off
		Liquid Density:	0.808 g/cc

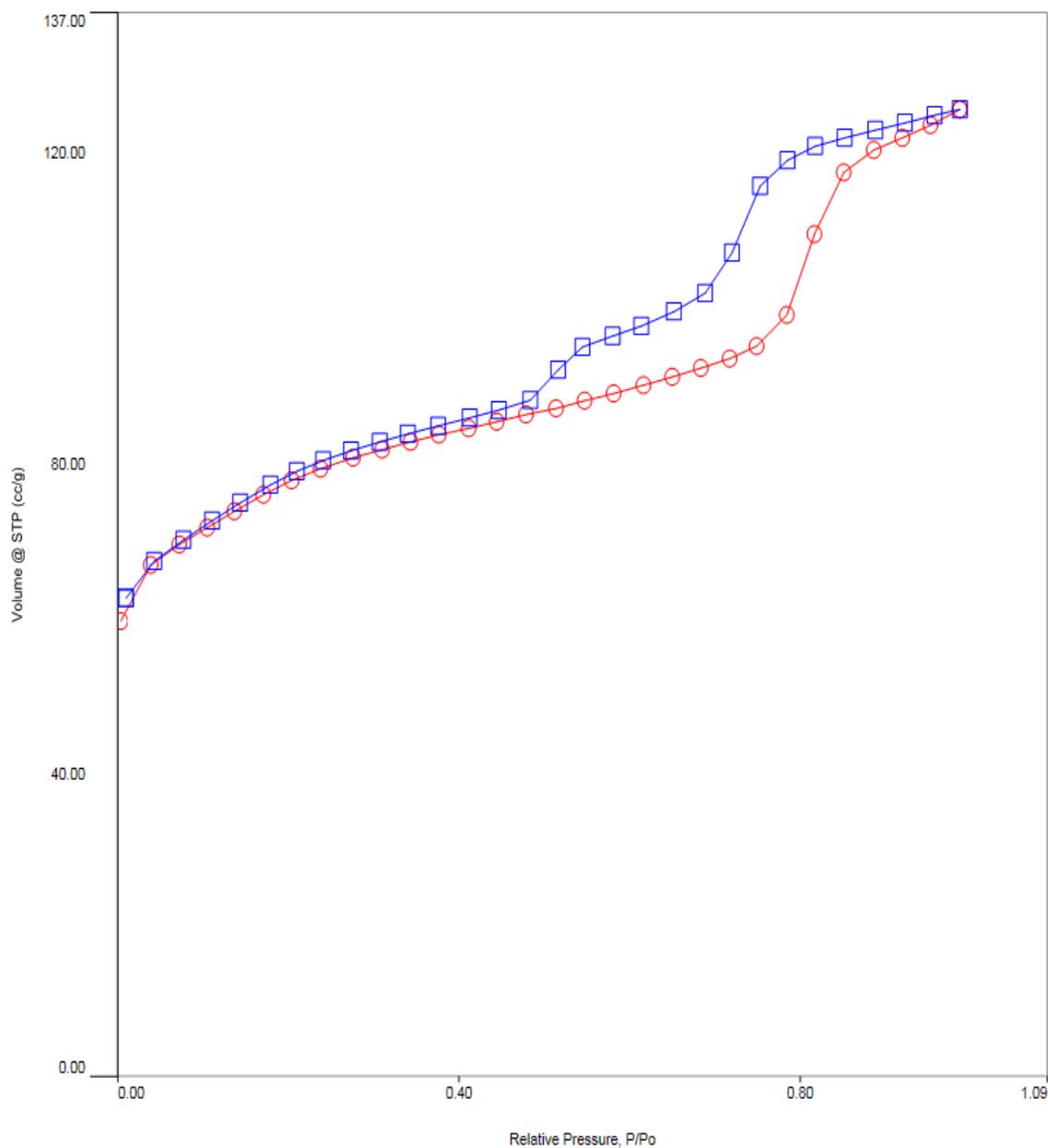


DFT method summary	
Pore volume =	0.188 cc/g
Surface area =	437.607 m ² /g
Lower confidence limit =	1.379 nm
Fitting error =	0.278 %
Pore width (Mode(dLog)) =	9.773 nm
Moving point average :	off

Anexo 4.7. Isotherma de adsorción y desorción del catalizador sintetizado.

Isotherm : Linear

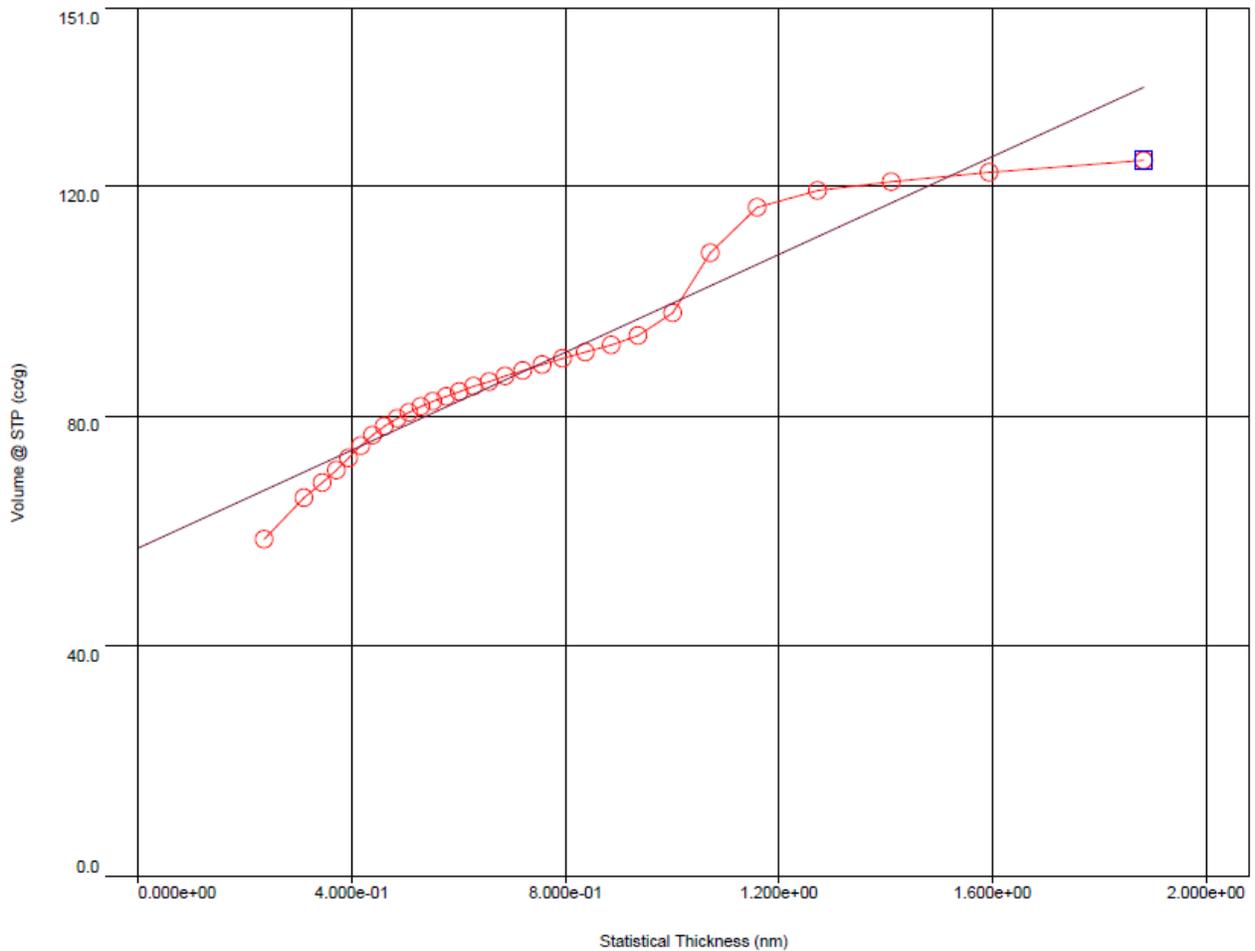
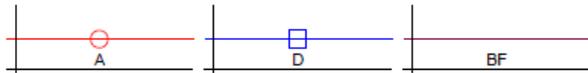
Adsorbate		Data Reduction Parameters		
Nitrogen	Molec. Wt.: 28.013	Temperature	77.350K	Liquid Density: 0.808 g/cc
		Cross Section:	16.200 Å²	



Anexo 4.8. Análisis T-plot de estructura microporosa del catalizador.

t plot

Data Reduction Parameters				
t-Method	Calc. method: de Boer	Temperature	77.350K	Liquid Density: 0.808 g/cc
Adsorbate	Nitrogen Molec. Wt.: 28.013	Cross Section:	16.200 Å ²	



t-Plot method summary	
Thickness method: DeBoer	
Slope =	4.258
Intercept =	57.076
Correlation coefficient, r =	0.969154

ANEXO 5. CROMATOGRAMAS ANALIZADOS.

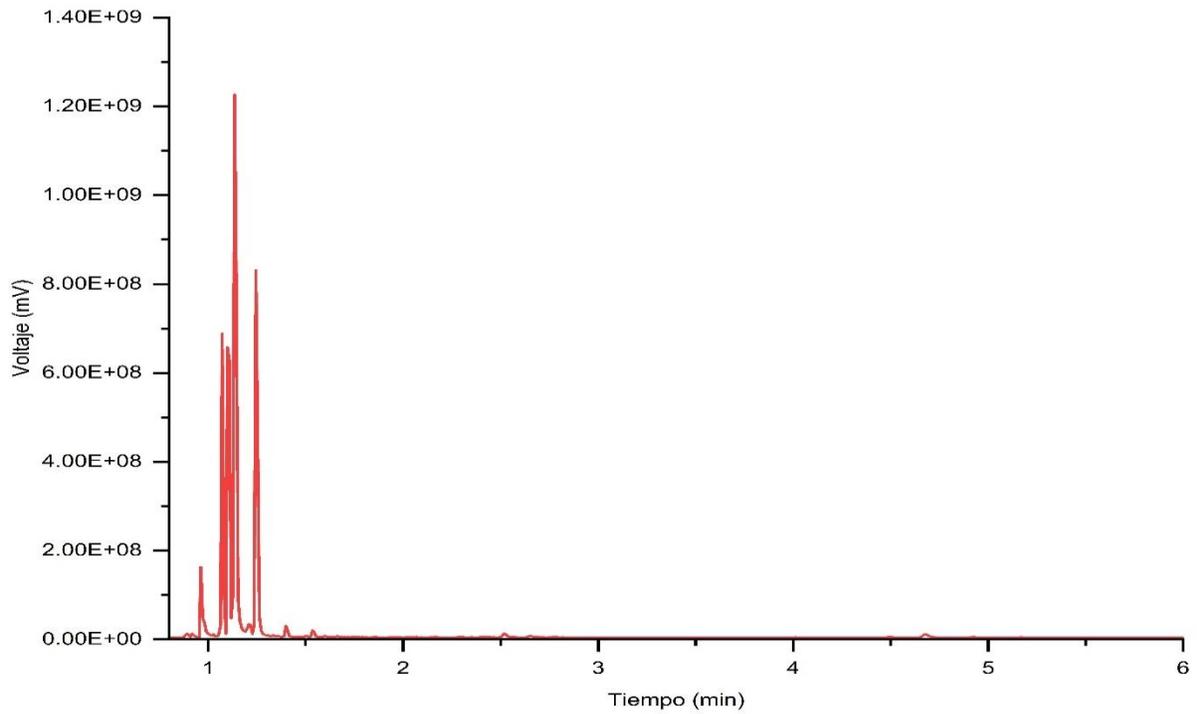


Figura anexo 5.1. Cromatograma con el modelo turbosina de NSRE-1.

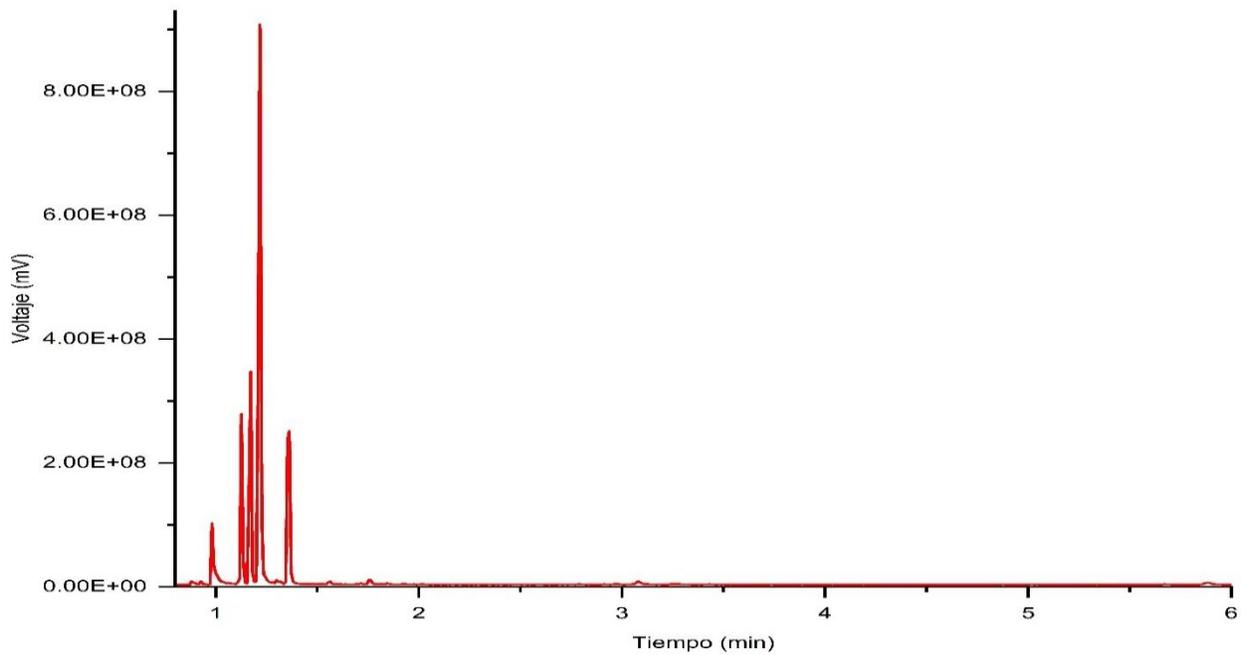


Figura anexo 5.2. Cromatograma con el modelo turbosina de NSRE-1, réplica.

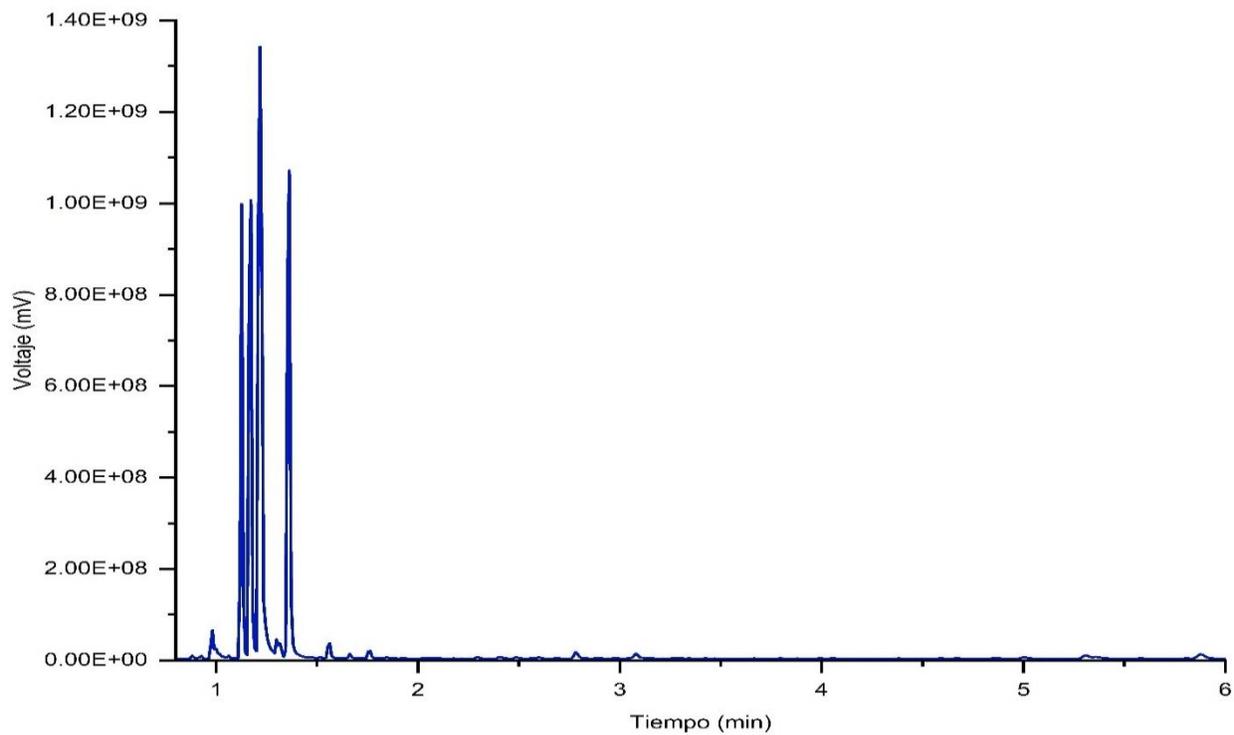


Figura anexo 5.3. Cromatograma con el modelo turbosina de NRRE-1.

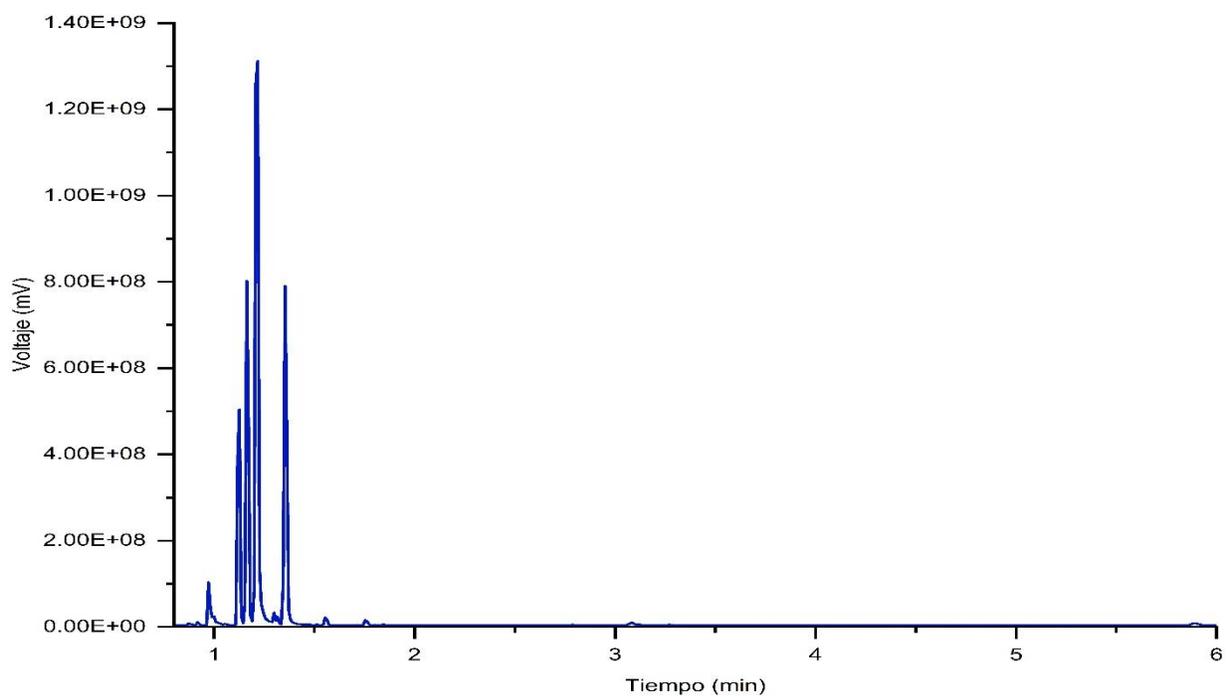


Figura anexo 5.4. Cromatograma con el modelo turbosina de NRRE-1, réplica.