

ESTIMACIÓN CUANTITATIVA PRELIMINAR DE ÍNDICES DE PRODUCCIÓN DE BIOMASA MICROALGAL A PARTIR DE LA REACCIÓN DE FOTOSÍNTESIS

Ing. Yanet Boffill-Rodríguez, yanetb@uclv.edu.cu, Dr. Agustín García-Rodríguez,
Dr. Jesús Castellanos-Estupiñán

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Facultad de Química-Farmacia,
Departamento de Ingeniería Química, Santiago de Cuba

Se presenta una estimación cuantitativa preliminar de índices de producción de biomasa microalgal, para lo cual se calcularon los coeficientes estequiométricos de la reacción de fotosíntesis bajo diferentes consideraciones. Para ello se evalúan nueve alternativas de ecuaciones donde se utiliza como única fuente de carbono el CO_2 ; como fuentes de nitrógeno el amoníaco (NH_3) y el nitrato de amonio (NH_4NO_3), y como fuentes de nitrógeno y fósforo el fosfato de amonio ($(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$), el fosfato monoamónico ($(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$) y el fosfato diamónico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$). Las alternativas que se ajustan al balance de masa para obtener el valor de los coeficientes estequiométricos correspondientes a la fórmula de alga propuesta, fueron cinco. Se calculó el rendimiento máximo de la célula, $Y(B/s)$, arrojando un valor de 0,82 g microalga/g CO_2 , equivalente a 1 mol microalga/mol CO_2 .

Palabras clave: fotosíntesis; dióxido de carbono; biomasa microalgal; balance de masa; coeficientes estequiométricos.

A preliminary quantitative estimation of biomass microalgae index production it is presented in this paper, for which the stoichiometric coefficients of photosynthesis reaction were calculated under different considerations. Nine alternative of equations were evaluated, where the CO_2 is used as sole carbon source; the ammoniac (NH_3) and the ammonia nitrate (NH_4NO_3) as nitrogen sources, and the ammonia phosphate ($(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$), the phosphate monoammonic ($(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$) and phosphate diammonic ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) were used as nitrogen and phosphor sources. Five alternatives fixed the mass balances to obtain the values of the stoichiometric coefficients corresponding to the proposed algae formula. The maximum yield of cell is calculated as $Y(B/s)$, resulting in a value of 0,82 g microalgae/g CO_2 , equivalent to 1 mol microalgae/mol CO_2 .

Key words: photosynthesis; carbon dioxide; microalgae biomass; mass balance; stoichiometric coefficients.

Introducción

En la atmósfera existen concentraciones de gases de efecto invernadero provocadas por las emisiones industriales. El CO_2 es el principal gas de efecto invernadero /19/(Zheng *et al.*, 2011) y sus concentraciones van en aumento a medida que se desarrolle la industria química. Una de las estrategias de investigación para lograr reducir las exposiciones del gas es la fijación de CO_2 mediante la producción de biomasa algal ya que estas cepas utilizan, además de agua y luz para realizar la fotosíntesis, el CO_2 como fuente de carbono. Las algas pueden incorporar dentro de las células CO_2 en forma de polímeros tales como carbohidratos, proteínas, lípidos y otros productos valiosos mediante la fotosíntesis [/11/(Chiu *et al.*, 2008); /14/(Hsueh *et al.*, 2009)].

La producción de biomasa no solamente se basa en la fijación de CO_2 , sino en las potencialidades de la misma. Simultáneamente se consume el gas y se produce biomasa de alto valor agregado. El almidón, por ejemplo, es uno de los principales biopolímeros que acumulan las algas verdes en las células y puede ser convertido en hidrógeno y alcohol (/7/(Burrows *et al.*, 2008), /15/(Mathews and Wang, 2009)). Además, este almidón puede ser convertido en bioetanol mediante la fermentación /13/(Harun *et al.*, 2010). Para seleccionar la cepa ideal en la captura de CO_2 es necesario conocer la cantidad en moles o gramos de fuente de carbono, nitrógeno y fósforo que ella puede asimilar.

En la provincia de Cienfuegos se ha propuesto una planta de amoníaco para satisfacer la demanda de Urea, utilizando el gas natural como materia

prima. La urea es el resultado de la reacción del amoníaco y el dióxido de carbono, requiriendo para esto un 70 % del dióxido de carbono obtenido del gas natural. Para la producción antes mencionada se obtienen 96 t/h de dióxido de carbono, de la cual se consumen 70 t/h en la síntesis de urea y por tanto existe un excedente de 26 t/h o 200 000 t/a. La cantidad de CO₂ producido en las plantas modernas a partir del gas natural es de 1,27 t CO₂ / t NH₃, utilizando 70 – 90 % para la producción de urea.

En este sentido, existe un proyecto de investigación /20/ Proyecto PI (2011) con el objetivo de evaluar alternativas para la utilización de un gran excedente de dióxido de carbono con tecnologías técnico- económico y ambientalmente compatible para el uso del gas en la Bahía de Cienfuegos. La creciente preocupación de nuestro país por la salud y el medio ambiente, junto a la influencia que sobre ambos ejercen los gases nocivos producidos por el hombre obliga a una gestión lo más adecuada posible de los mismos para reducir sus efectos negativos. Es así mismo necesario, tanto por razones de seguridad como económicas, que se contemplen las posibilidades de minimización de las emanaciones de CO₂ a la atmósfera, procurando productos cuando sea posible, así como optimizando la gestión.

La captura y el almacenamiento de dióxido de carbono constituyen un proceso consistente en la separación del CO₂ emitido por la industria y fuentes relacionadas con la energía, su transporte a un lugar de almacenamiento y su aislamiento de la atmósfera a largo plazo, este proceso se considera como una de las opciones para mejorar las concentraciones atmosféricas de gases de efecto invernadero. La captación de CO₂ puede aplicarse a grandes fuentes puntuales. El CO₂ sería comprimido y transportado para ser almacenado en formaciones geológicas, en el océano o para ser utilizado en procesos industriales.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo es estimar cuantitativamente la producción de biomasa algal en la captura de CO₂ mediante los balances de masa en diferentes alternativas de la ecuación de fotosíntesis apoyados en el cálculo de los coeficientes estequiométricos.

Fundamentación teórica

Bajo condiciones naturales de crecimiento las microalgas asimilan el CO₂ a partir del aire (con-

tiene 360 ppmv CO₂). Muchas microalgas pueden tolerar y asimilar sustancialmente altos niveles de CO₂, típicamente hasta 150,000 ppmv (/10/ (Chiu *et al.*, 2009); /3/ (Bilanovic *et al.*, 2009)). Por consiguiente, este compuesto es fuente de alimentación para el medio de crecimiento. Las algas utilizadas según (Bu´lock and Kristiansen, 1991), para la producción de biomasa pertenecen mayoritariamente a los géneros *Chlorella*, *Scenedesmus* o *Spirulina*. Estas cepas pueden crecer o fotosintéticamente y autotróficamente (luz y fuentes de carbono inorgánico) o heterotróficamente (con compuestos orgánicos de carbono y de energía).

El método más racional para el cultivo en masa de algas debe ser el primero, y el factor limitante a gran escala es la iluminación así lo reseña (Bu´lock and Kristiansen, 1991). Con respecto al primer método, existen varios investigadores están de acuerdo completamente con la reseña de /5/ (Bu´lock and Kristiansen, 1991) y lo expresan en trabajos investigativos sobre la captura de CO₂ a partir de las microalgas (/17/ (Velea *et al.*, 2009); /4/ (Brennan and Owende, 2009); /1/ (Araújo *et al.*, 2008)). Son aceptables tales opiniones ya que en gran parte del mundo se libera continuamente a la atmósfera considerables emisiones de CO₂ provocadas por el desarrollo industrial. En este sentido, el Protocolo de Kyoto como legislación es un tratado internacional encaminado a reducir las exposiciones de los gases de efecto invernadero, específicamente el dióxido de carbono /17/ (Velea *et al.*, 2009). Las potencialidades de las algas pueden ser utilizadas, por ejemplo, si se desea obtener de ellas, las proteínas.

Reactores utilizados en la producción de biomasa algal

Uno de los sistemas empleados con mayor frecuencia en la producción de biomasa microalgal son los de tipo abierto, que se destacan en simular el entorno natural de las algas. Los cultivos abiertos comprenden sistemas naturales (lagunas, estanques), artificiales; las producciones y productividades máxicas en estos sistemas son bajas, próximas a 1 g/L y a 10-25 g/m²/d, respectiva-

mente. Sus ventajas inherentes radican en su sencillez y bajo costo de inversión en contraste con los sistemas cerrados, a causa de la diversidad de materiales útiles para su construcción (concreto, tierra, plástico, etcétera) y la facilidad de su operación y mantenimiento. Sin embargo, según /18/ (Wijffels, 2008) un factor determinante del costo de producción de biomasa de algas en sistemas abiertos es la cosecha de biomasa, debido a su baja concentración. De este modo al considerar la operación de cosecha y la tecnología actualmente disponible, los costos de producción de los sistemas abiertos no son tan bajos e incluso son del mismo orden de magnitud que los correspondientes a los sistemas cerrados /16/ (Norsker *et al.*, 2011). Los sistemas abiertos presentan diversos inconvenientes tales como pérdidas de agua por evaporación, transferencia limitada de CO₂ al cultivo por su baja concentración en el aire (0,035 % v/v) y su difusión hacia la atmósfera, control limitado de las condiciones del cultivo. Alta susceptibilidad de contaminación, altos periodos de producción (6 a 8 semanas), producciones reducidas de biomasa y penetración limitada de la luz /18/ (Wijffels, 2008)]. Los sistemas cerrados, en contraste con los abiertos, ofrecen numerosas ventajas tales como pérdidas mínimas de CO₂, riesgo reducido de contaminación, control y reproducibilidad de las condiciones de cultivo, ahorro de agua y nutrientes, menores requerimientos de superficie, flexibilidad de diseño, cortos periodos de producción (2 a 4 semanas) y productividades considerablemente superiores (5 a 13 veces). La consideración de factores tales como la luz, la razón CO₂/O₂, la temperatura, el pH, los nutrientes, la salinidad resulta esencial para el diseño de sistemas cerrados, los cuales tienen como principal desventaja sus elevados costos /16/ (Norsker *et al.*, 2011).

Estequiometría del crecimiento de la célula y formación de productos

El crecimiento de las células, además de ser un proceso exquisito y complejo, obedece a las leyes de conservación de la masa. Átomos de C, H, O, N y otros elementos de vida son arreglados en el proceso metabólico de la célula, pero las cantidades de cada uno de estos elementos incorporadas

al material celular son iguales a las cantidades de los mismos removidas del entorno. Además, las cantidades de algunos productos metabólicos formados, o las cantidades de calor evolucionadas por el crecimiento celular, son de hecho proporcionales a la cantidad de sustrato consumida o a la formación de otros productos, tales como el CO₂. Las técnicas del balance material se apoyan tanto en relaciones estequiométricas rigurosas, como en relaciones empíricas aproximadas, basadas en consideraciones propias de los bioprocesos. El Factor de Rendimiento del crecimiento celular se define como:

$$Y_{x/s} = (\Delta X)/(\Delta S)$$

Este factor es por lo general un grupo adimensional, ya que las unidades de X y S suelen ser las mismas (masa o mol), aunque es muy común diferenciar a quién corresponden y entonces sería un grupo con dimensiones, por ejemplo: gramos de células por gramo de sustrato /2/ (Bailey and Ollis, 1986). Para describir el crecimiento celular y la actividad metabólica se puede utilizar la vía clásica de una simple reacción química a partir de la fórmula elemental del material celular seco. Para la célula puede utilizarse una fórmula del tipo: C θ H α O β N δ , aunque es conveniente escribir la fórmula para un átomo de carbono ($\theta = 1$), lo que implica un valor fijo de los demás subíndices de acuerdo con su composición en la estructura celular específica. Gran variedad de productos metabólicos son obtenidos en el medio de crecimiento o se acumulan dentro de las células. La estequiometría de formación de productos puede ser clasificada en cuatro grupos, donde los tres primeros corresponden a los procesos de fermentación: ((/2/ Bailey and Ollis, 1986); /5/ (Bucklock and Kristiansen, 1991))

Grupo 1. El producto principal aparece como resultado de energía primaria del metabolismo, por ejemplo la producción de etanol durante el crecimiento anaerobio de levaduras.

Grupo 2. El producto principal se alcanza indirectamente a partir de la energía del metabolismo, por ejemplo, la formación de ácido cítrico durante el cultivo aeróbico de mohos.

Grupo 3. El producto es un metabolito secundario: como la producción de penicilina en un cultivo aireado de mohos.

Grupo 4. Biotransformación: El producto es obtenido a partir del sustrato a través de una o más reacciones catalizadas por enzimas en la célula.

Métodos

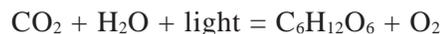
wiki.answers.com/Q/Chemical_formula_of_algae reporta la fórmula química general de las algas, la cual es utilizada en el presente estudio ($C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$). A partir de ella, se sigue el procedimiento utilizado por /8/ (Castellanos *et al.*, 2001), pero ajustado en este caso, para determinar los coeficientes estequiométricos en la reacción de fotosíntesis de las algas. Para ello se presentan las cinco alternativas que se ajustan al balance de masa para obtener el valor de los coeficientes estequiométricos correspondientes a la fórmula de alga propuesta.

Balance de masa elemental para el crecimiento

Para describir el crecimiento celular y la actividad metabólica se puede utilizar la vía clásica de una simple reacción química a partir de la fórmula elemental del material celular seco. Para la célula puede utilizarse una fórmula del tipo: $C\theta H\alpha O\beta N\delta$, aunque es conveniente escribir la fórmula para un átomogrammo de carbono ($\theta = 1$), lo que implica un valor fijo de los demás subíndices de acuerdo con su composición en la estructura celular específica. En el caso de la producción de biomasa microalgal la ecuación se invierte ya que los reactantes ahora serían dióxido de carbono y agua, además de NH_3 , (NH_4NO_3) , $((NH_4)H_2PO_4)$ y $((NH_4)_2HPO_4)$. La fórmula de la microalga es

$C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$ pero, para realizar el cálculo de los coeficientes estequiométricos se emplea la fórmula $CH_{2.48}O_{1.04}N_{0.15}P_{0.009}$.

La ecuación general de la fotosíntesis puede escribirse de la forma siguiente:



El balance de los elementos para todas las variantes suministra cinco ecuaciones para un sistema donde hay cinco incógnitas (a, b, c, d y e). Por este motivo no se necesita del factor de rendimiento máximo celular para el cálculo de los coeficientes estequiométricos, pero si para comparar éste con otros trabajos sobre la temática.

Cálculo del rendimiento máximo celular

Fórmula química de la microalga: $CH_{2.48}O_{1.04}N_{0.15}P_{0.009}$. Se define el Grado de Reducción como el número de equivalentes de oxígeno requeridos para la oxidación completa de todo el compuesto orgánico que contiene en su estructura un átomo de carbono. Según /12/ (Erickson *et al.*, 1978); /5/ (Bu'lock and Kristiansen, 1991) puede concluirse que el Grado de reducción (γ) está estrechamente ligado al número equivalente de electrones disponibles del compuesto que posee un átomo gramo de carbono. Por tanto, los coeficientes relacionados con el valor del Grado de Reducción de los diferentes componentes, son los siguientes:

$$C = 4, H = 1, N = -3, O = -2 \text{ y } P = 5$$

Se necesita calcular la fracción peso de carbono en célula y sustrato.

$$\gamma = (4*1) + (1*2,48) - (2*1,04) - (3*0,15) + (5*0,009) = 3,995$$

$$\text{Fracción peso de carbono en célula} = 12/36,01 = 0,330$$

$$\text{Fracción peso de carbono en sustrato} = 12/44 = 0,270$$

$$\text{El rendimiento máximo de la célula sería } (Y_{x/s}) = 4*0,270/3,995*0,330$$

$$Y(x/s) = 0,820 \text{ g biomasa/gCO}_2$$

$$\text{Coeficiente de biomasa} = YX/S / (sS/sX) = 0,820/(0,270/0,330)=1,000$$

Cálculo de los coeficientes estequiométricos

Alternativa 1



$$\text{C: } 1 = d \quad (1)$$

$$\text{H: } 12a + 3b + 2c = 2,48d \quad (2)$$

$$\text{O: } 2 + 4a + c = 1,04d + 2e \quad (3)$$

$$\text{N: } 3a + b = 0,15d \quad (4)$$

$$\text{P: } a = 0,009d \quad (5)$$

Resolviendo el sistema se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,009 \quad b = 0,123 \quad c = 1,001 \quad d = 1,00 \quad e = 0,998$$

Alternativa 2



$$\text{C: } 1 = c \quad (1)$$

$$\text{H: } 12a + 2b = 2,48c \quad (2)$$

$$\text{O: } 2 + 4a + b = 1,04c + 2d + 5e \quad (3)$$

$$\text{N: } 3a = 0,15c \quad (4)$$

$$\text{P: } a = 0,009c + 2e \quad (5)$$

Resolviendo el sistema se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,050 \quad b = 0,940 \quad c = 1,000 \quad d = 1,030 \quad e = 0,020$$

Alternativa 3



$$\text{C: } 1 = c \quad (1)$$

$$\text{H: } 12a + 2b = 2,48c + 3e \quad (2)$$

$$\text{O: } 2 + 4a + b = 1,04c + 2d + 4e \quad (3)$$

$$\text{N: } 3a = 0,15c \quad (4)$$

$$\text{P: } a = 0,009c + e \quad (5)$$

Resolviendo el sistema se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,050 \quad b = 1,000 \quad c = 1,000 \quad d = 0,998 \quad e = 0,041$$

Alternativa 4



$$\text{C: } 1 = C \quad (1)$$

$$\text{H: } 9a + 2b = 2,48C + 3e \quad (2)$$

$$\text{O: } 2 + 4a + b = 1,04c + 2d + 4e \quad (3)$$

$$\text{N: } 2a = 0,15c \quad (4)$$

$$\text{P: } a = 0,009c + e \quad (5)$$

Resolviendo el sistema se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,075 \quad b = 0,800 \quad c = 1,000 \quad d = 0,898 \quad e = 0,066$$

Alternativa 5



$$\text{C: } 1 = C \quad (1)$$

$$\text{H: } 6a + 2b = 2,48C + 3e \quad (2)$$

$$\text{O: } 2 + 4a + b = 1,04c + 2d + 4e \quad (3)$$

$$\text{N: } a = 0,15c \quad (4)$$

$$\text{P: } a = 0,009c + e \quad (5)$$

Resolviendo el sistema se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,150 \quad b = 1,001 \quad c = 1,000 \quad d = 0,998 \quad e = 0,141$$

Resultados y discusión

De las alternativas analizadas para evaluar la producción de biomasa microalgal en la captura de CO_2 , las alternativas tres, cuatro y cinco son las que más se asemejan fotosintéticamente a la realidad, o sea, existe en ellas una gran correspondencia entre la estequiometría de crecimiento de la microalga

y formación de productos, y unido a ello la disponibilidad de las fuentes de nitrógeno y fósforo.

De acuerdo a /9/ (Chisti, 2007) la biomasa microalgal, en general, contiene 50 % de carbono por peso seco. Un mol de CO_2 tiene una masa de 44 g y 12 de ellos son de carbono. Basado en esta suposición /6/ (Buehner *et al.*, 2009) infieren que la expresión de 1 g de microalga puede fijar 1,83 g de CO_2 se deriva de:

$$\frac{44\text{gCO}_2/\text{mol}}{12\text{gC}/\text{mol}} \frac{0,5\text{gC}}{\text{galgae}} = \frac{11}{6} \frac{\text{gCO}_2}{\text{galgae}} = 1,83 \frac{\text{gCO}_2}{\text{galgae}}$$

Si se utiliza la composición química de la célula $\text{C}_{106}\text{H}_{263}\text{O}_{110}\text{N}_{16}\text{P}$, la fracción peso de carbono en célula = $1272/3550 = 0,36$.

La microalga analizada puede fijar entonces 1,32 g. CO_2 /g. microalga. Este resultado no se encuentra muy lejano del reportado arriba por la literatura, aunque una fórmula química más ajustada de biomasa microalgal pudiera disminuir esta diferencia de 28 %, o reconsiderar la suposición propuesta por /6/ (Buehner *et al.*, 2009), a partir

de los resultados de /9/ (Chisti, 2007), por lo que el margen de incertidumbre que se introduce puede aun ser disminuido apreciablemente con estudio más precisos.

La metodología seguida aquí solamente difiere de la establecida por /8/ (Castellanos *et al.*, 2001) en dos aspectos: (1) en la ecuación planteada por el colectivo de autores citado, el oxígeno es reactante y el dióxido de carbono producto, ocurriendo lo contrario en la ecuaciones de la fotosín-

tesis analizadas en este trabajo y (2) no se necesita del completamiento del sistema de ecuaciones con datos propios del proceso que no constituyen factores relacionados con la estequiometría de la reacción. De todo lo anterior se deduce que en la producción de biomasa microalgal se necesita de una estimación cuantitativa preliminar de índices traducidos a coeficientes estequiométricos y rendimiento que permitan implantar una tecnología económicamente rentable en nuestro país. Dicha tecnología, ya sea a escala de planta piloto o a gran escala, implicaría el diseño y selección de reactores principalmente capaces de producir biomasa microalgal con el potencial que la caracteriza. De aquí se desprende la importancia de la realización del balance de masa en la ecuación de fotosíntesis propuesto en este trabajo, utilizándose la metodología del mismo para una especie determinada.

Conclusiones

1. De las alternativas analizadas para evaluar la producción de biomasa microalgal en la captura de CO₂, las alternativas tres, cuatro y cinco son las que más se asemejan fotosintéticamente a la realidad.
2. El rendimiento máximo celular, para la fórmula CH_{2,48}O_{1,04}N_{0,15}P_{0,009} de la microalga, es Y(x/s) = 0,82 g microalga/g CO₂ equivalente a 1 mol microalga/mol CO₂.
3. La microalga analizada, C₁₀₆H₂₆₃O₁₁₀N₁₆P, puede fijar entonces 1,32 g. CO₂/g. microalga, valor no muy lejano a lo reportado en la literatura, 1,83 g. CO₂/g. microalga. Sin embargo, si se utiliza una fórmula química más ajustada de biomasa microalgal pudiera disminuir la diferencia de 28 %, o reconsiderar la suposición propuesta, por lo que el margen de incertidumbre que se introduce puede aun ser disminuido apreciablemente con estudios más precisos.

Bibliografía

1. ARAÚJO, O. Q. F., GOBBI, C. N., CHALOUB, R. M. & COELHO, M. A. Z. Assessment of the Impact of Salinity and Irradiance on the Combined CO₂ Sequestration and Carotenoids Production by

- Dunaliella salina: A Mathematical Model. *Biotechnology and Bioengineering*, 9999, 2008.
2. BAILEY, J. E. & OLLIS, D. F. *Biochemical Engineering Fundamentals*, Mc Graw Hill Book Comp. 1986.
3. BILANOVIC, D., ANDARGATCHEW, A., KROEGER, T. & SHELEF, G. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations-response surfacemethodology analysis. *Energy Conversion and Management*, 50(2), 262-7. 2009.
4. BRENNAN, L. & OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* xxx,xxx-xxx.2009.
5. BU'LOCK, J. D. & KRISTIANSEN, B. *Biología básica*. IN EDITORIAL ACRIBIA, S. A. (Ed.). ZARAGOZA. España. 1991.
6. BUEHNER, M. R., YOUNG, P. M., WILLSON, B., SCHOONOVER, D. R., BABBITT, G. & BUNCH, S. Microalgae Growth Modeling and Control for a Vertical Flat Panel Photobioreactor. *American Control Conference*. Hyatt Regency Riverfront, St. Louis, MO, USA. 2009.
7. BURROWS, E. H., CHAPLEN, F. W. R. & ELY, R. L. Optimization of media nutrient composition for increased photofermentative hydrogen production by *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33, 6092-6099. 2008.
8. CASTELLANOS, J. E., GARCÍA, A., HERRERA, N., RODRÍGUEZ, J. A. & PÉREZ, A. Estimación del calor de reacción en el transcurso de bioprocesos. *Centro Azúcar*, 1, 37-43. 2001.
9. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, vol. 25 (3), 294-306. 2007.
10. CHIU, S.-Y., KAO, C.-Y., TSAI, M.-T., ONG, S.-C., CHEN, C.-H. & LIN, C.-S. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nanochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, 100(2), 833-8. 2009.
11. CHIU, S. Y., KAO, C. Y., CHEN, C. H., KUAN, T. C., ONG, S. C. & LIN, C. S. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresour. Technol.*, 99 3389-3396.2008.
12. ERICKSON, L. E., MINKEVICH, I. G. & EROSHIN, V. K. *Biotechnol. Bioengng.*, 20, 1595. 1978.
13. HARUN, R., DANQUAH, M. K. & FORDE, G. M. Microalgal biomass as fermentation feedstock for bioethanol production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 85, 199-203. 2010.
14. HSUEH, H. T., LI, W. J., CHEN, H. H. & H. CHU Carbon bio-fixation by photosynthesis of *Thermosynechococcus* sp. CL-1 and *Nannochloropsis oculata*. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 95, 33-39. 2009.

-
15. MATHEWS, J. & WANG, G. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy*, 34, 7404-7416. 2009.
 16. NORSKER, N.-H., BARBOSA, M. J., VERMUË, M. H. & WIJFFELS, R. H. Microalgal production — A close look at the economics. *Biotechnology Advances*, 29, 24-27. 2011.
 17. VELEA, S., DRAGOS, N., SERBAN, S., ILIE, L., STALPEANU, D., NICOARA, A. & STEPAN, E. Biological sequestration of carbon dioxide from thermal power plant emissions, by absorption in microalgal culture media. *Romanian Biotechnological Letters*, 14 (4), 4485-4500. 2009.
 18. WIJFFELS, R. H. Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trends Biotechnol.*, 26, 26-31. 2008.
 19. ZHENG, Y., CHEN, Z., LU, H. & ZHANG, W. Optimization of carbon dioxide fixation and starch accumulation by *Tetraselmis subcordiformis* in a rectangular airlift photobioreactor. *African Journal of Biotechnology*, 10(10), 1888-1901. 2011.
 20. Proyecto PI (2011) Reducción de las emisiones industriales de CO₂ mediante cultivo intensivo de algas como fuente de biomasa. Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos (CEAC).
 21. wiki.answers.com/Q/Chemical_formula_of_algae.