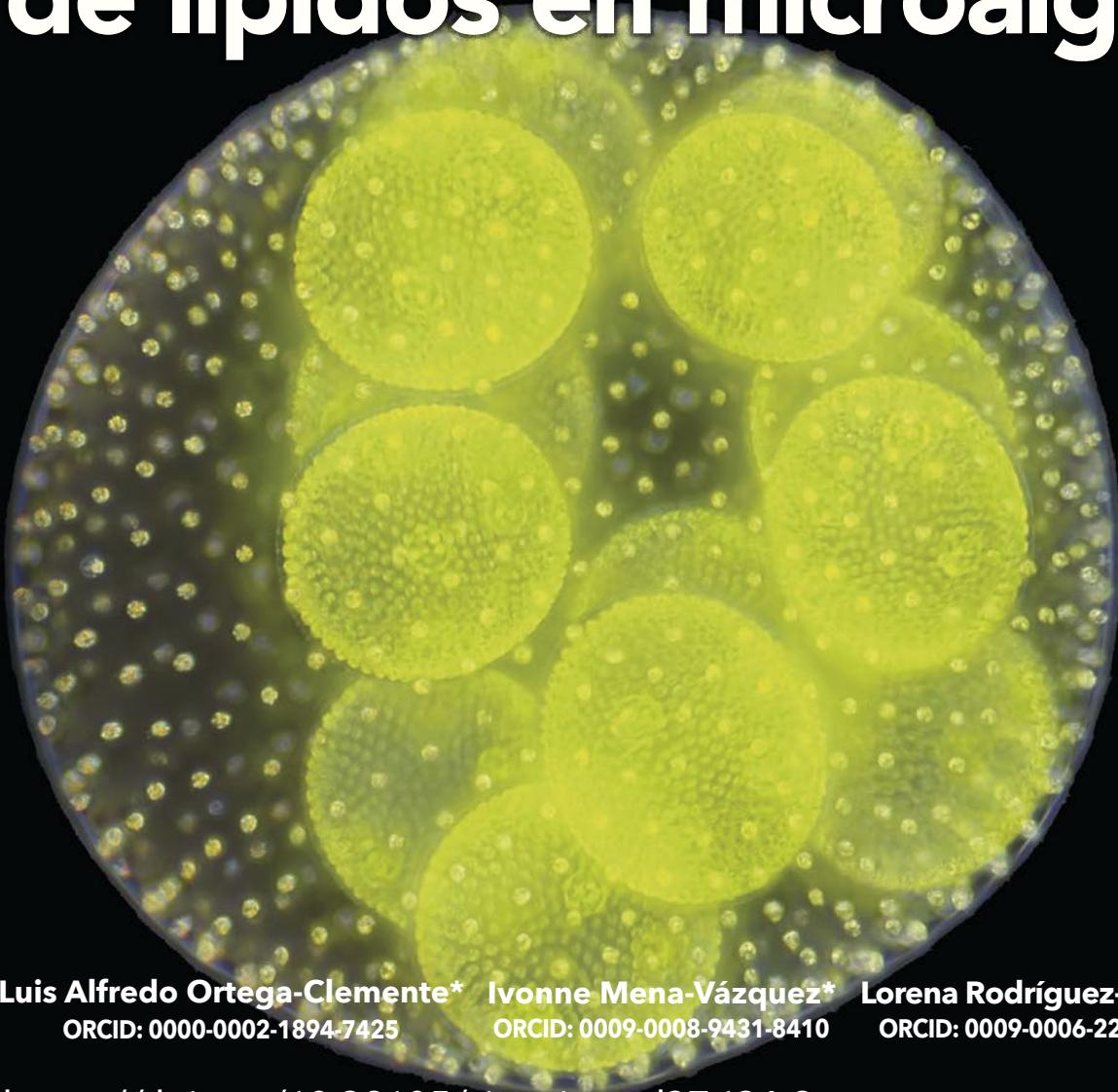




Rompiendo barreras celulares: métodos aplicados en la extracción de lípidos en microalgas



Luis Alfredo Ortega-Clemente* **Ivonne Mena-Vázquez*** **Lorena Rodríguez-Ramírez***
ORCID: 0000-0002-1894-7425 ORCID: 0009-0008-9431-8410 ORCID: 0009-0006-2258-8628

<https://doi.org/10.29105/cienciauanl27.126.3>

* TecNM/Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz.
Contacto: luisortega@bodelrio.tecnm.mx; ivonne18429@gmail.com; 218n0002@itstb.edu.mx



En la actualidad, diversos métodos han sido desarrollados al extraer lípidos de microalgas con la finalidad de aprovechar el perfil único de ácidos grasos que incluyen saturados e insaturados, los cuales poseen un potencial como materia prima para una variedad de productos, aplicaciones alimentarias, cosméticas y fuente de energía: biometano, biodiesel e incluso combustibles de aviación. Sin embargo, la elección del sistema es crucial, ya que la composición y cantidad depende de la especie de microalga y de la técnica de extracción (Shamuganathan *et al.*, 2023), puesto que se deben considerar algunos factores: tiempo de procesamiento, eficiencia, seguridad, viabilidad económica, preservación de las características y la naturaleza de los residuos generados (Straessner *et al.*, 2023).

Estos procedimientos se clasifican en dos categorías principales: mecánicos y no mecánicos, los segundos incluyen la extracción con solventes, fluidos supercríticos y líquidos iónicos, mientras que los primeros implican técnicas como la extracción asistida por microondas y ultrasonidos. El conocimiento de estos métodos es esencial si se quiere aprovechar al máximo el potencial de los lípidos de las microalgas como una fuente valiosa de energía y de productos sostenibles.

MÉTODOS QUÍMICOS DE EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS EN MICROALGAS



El principio aplicado en la extracción de lípidos de microalgas con solventes se basa en el concepto de "lo semejante disuelve a lo semejante", el mecanismo y la interacción se observa en la figura 1A (Khoo *et al.*, 2023), difusión del solvente a la superficie de la microalga, adsorción del solvente a través de la pared celular hacia el citoplasma, interacción entre los lípidos neutros y el solvente para formar complejos de lípidos orgánicos por fuerzas de van der Waals, desorción del complejo hacia el exterior a través de la pared celular por un gradiente de concentración, difusión del complejo hacia la fase fluida.



El mecanismo de extracción de lípidos neutros involucra la disolución del solvente, sin embargo, algunos forman complejos con lípidos polares, los cuales están fuertemente unidos a las proteínas de la pared celular por puentes de hidrógeno y fuerzas electrostáticas. Si se desea romper estas asociaciones y extraer eficientemente los lípidos neutros se necesita emplear un solvente polar (metanol, etanol o isopropanol), la combinación de un solvente orgánico polar y otro no polar facilita la extracción de los lípidos neutros (Russell y Rodríguez, 2023).



Entre las técnicas más relevantes se encuentra el método Folch, que consiste en la adición de una mezcla de cloroformo y metanol (Folch *et al.*, 1957). Por otra parte, se menciona la de hexano-alcohol (metanol, etanol o isopropanol), proceso desarrollado por Bligh y Dyer (1959), que implica la maceración de las microalgas en mezcla de cloroformo, metanol y agua en proporciones específicas (Wetterwald *et al.*, 2023).



La figura 1B muestra el principio de extracción de las técnicas mencionadas, destacan por la obtención de triglicéridos y los fosfolípidos, pero requieren precauciones debido al uso de cloroformo, metanol y hexano, productos tóxicos e inflamables. En la extracción Soxhlet, la muestra es colocada en el aparato de Soxhlet, comúnmente es utilizado hexano como solvente (figura 1C) en el que se emplea un baño caliente repetitivo con el solvente haciendo más eficiente la extracción. La importancia de este sistema radica en su habilidad para extraer una amplia variedad de lípidos y manejar grandes volúmenes de muestra, siendo esencial al momento de entender las características lipídicas de diversas cepas de microalgas, sin embargo, requiere un volumen mayor de solventes generando mayor cantidad de residuo (Mat-chim-Kamdem y Lai, 2023).



Existen más metodologías que mencionan Santos-Sánchez *et al.* (2016), quienes concluyen que, de los anteriores, el paso más importante es la disruptión celular, que se puede lograr utilizando el disolvente apropiado combinado con sonicación o microondas. Sin embargo, coinciden en

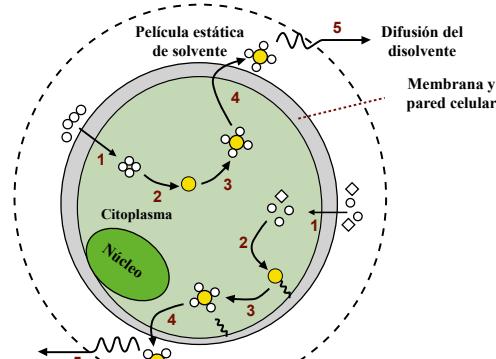
el empleo del disolvente que genera residuos tóxicos, lo que dificulta las aplicaciones industriales (Santos-Sánchez *et al.*, 2016).

Los fluidos supercríticos implican el uso de dióxido de carbono (CO_2) en estado intermedio, entre gas y líquido, al aplicarle condiciones específicas de temperatura y presión superiores a su punto crítico (Mienis *et al.*, 2023) disuelve los lípidos permitiendo su extracción. Además, los fluidos supercríticos son amigables con el medio ambiente. Las ventajas de éste incluyen la alta selectividad, la ausencia de residuos químicos y la posibilidad de ajustar y optimizar las condiciones y extraer específicamente ciertos tipos de lípidos de excelente calidad, reduciendo los tiempos.

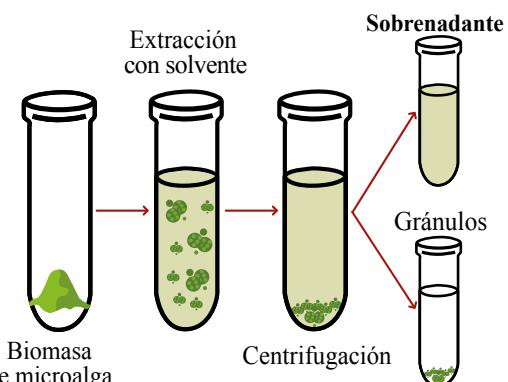
De igual forma, los líquidos iónicos tienen un catión orgánico y un anión inorgánico a temperatura ambiente. Durante el procesamiento, las microalgas se mezclan con un líquido iónico que interactúa con los lípidos y los disuelve de manera eficiente y selectiva, separándolos de las células y extrayéndolos de la biomasa. Las ventajas incluyen la capacidad para manipular las propiedades físicas y químicas del líquido iónico, bajo impacto ambiental, biodegradables, lo que hace que sea económico, viable y ecológico en la generación de biocombustibles y otros productos de interés industrial (Xie *et al.*, 2023).

MÉTODOS MECÁNICOS

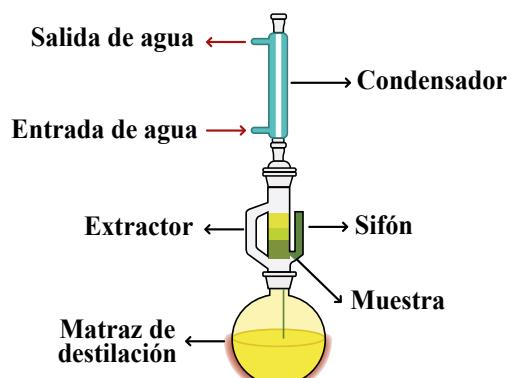
Los métodos mecánicos implican el uso de fuerza física para romper las paredes celulares de las microalgas mediante presión, cizallamiento o vibración y permitir la liberación de los lípidos. Tienen amplias ventajas: no contaminan la biomasa, garantizan la pureza de los productos finales, reducen la degradación, no requieren temperaturas elevadas y se promueve la preservación de los lípidos, evitan el uso de solventes químicos y reducen el impacto ambiental, son versátiles a la hora de aplicarlos en la investigación biotecnológica, en la industria de biocombustibles y otros



A) Con disolventes orgánicos.



B) con solventes.



C) Soxhlet.

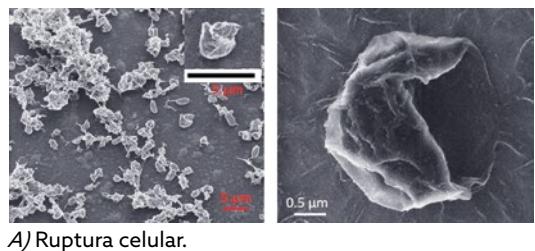
Figura 1. Métodos mecánicos de extracción de lípidos en microalgas.

géneros relacionados con la energía. Sin embargo, presentan la desventaja de que algunos de los procesos son lentos y se necesitan grandes cantidades de biomasa.

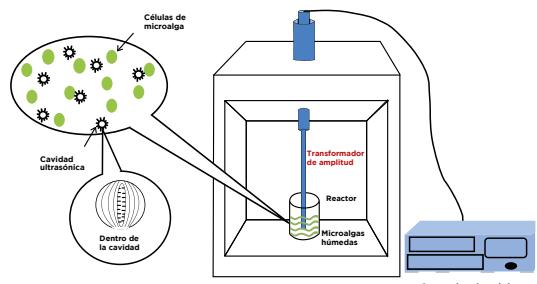
El molino de cuencas implica la trituración y molienda en cuencas especializadas, utilizando la fuerza mecánica para romper las células (figura 2A). La importancia de éste radica en su capacidad de garantizar una extracción de hasta 75% de lípidos. Algunas ventajas son: selectividad y posibilidad de procesar grandes volúmenes de muestra de manera continua y eficaz (Russell y Rodríguez, 2023). Otra estrategia es la homogeneización a alta presión, que implica someter la muestra a presión a través de una válvula o boquilla, lo que resulta en una ruptura mecánica de las células y una liberación de los lípidos. La importancia de esta técnica radica en garantizar una extracción completa, es eficaz en microalgas con paredes celulares rígidas, presenta eficiencia y potencial de preservar los lípidos extraídos, reduce el impacto ambiental y tiempo de proceso.

La ultrasonicación es otra tecnología innovadora basada en lisis celular (figura 2B) en la propagación de ondas ultrasónicas de alta frecuencia que provocan microcavitación y cambios de presión, rompen las paredes celulares y liberan los lípidos intracelulares. Las ventajas son: eficiencia energética, velocidad y selectividad, es útil para microalgas delicadas, es suave, no requiere temperaturas elevadas y permite su aplicación en una amplia gama de cepas.

El microondas utiliza radiación electromagnética no ionizante de alta frecuencia, ésta penetra las células de las microalgas y estimula las moléculas de agua, generando calentamiento y presión interna que facilita la ruptura de la pared celular y permite la liberación eficaz de los lípidos. Las ventajas de este método

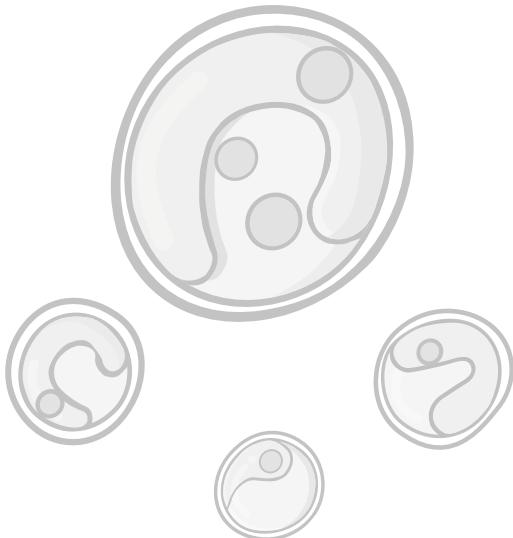


A) Ruptura celular.



B) Ultrasonicación.

Figura 2. Métodos químicos de extracción de lípidos en microalgas (Yao *et al.*, 2018).



incluyen extracción rápida, eficiencia, menor consumo de energía y puede realizarse a temperaturas más bajas en comparación con las tradicionales.

Finalmente, el campo eléctrico pulsado implica el empleo de pulsos eléctricos intensos y de corta duración a las células, los cuales crean perforaciones en la membrana celular, facilitando la liberación de los lípidos almacenados. Ofrece la ventaja de ser una técnica no térmica, se puede ajustar a diferentes especies y se pueden procesar volúmenes variables de muestra, lo que facilita su aplicación en la investigación científica (Santos-Sánchez *et al.*, 2016, Niu *et al.*, 2023).

CONCLUSIÓN



Los sistemas de extracción de lípidos de microalgas juegan un papel crucial en la generación sostenible de biocombustibles y otros productos energéticos. El uso del método Folch, hexano-alcohol, Bligh y Dyer y Soxhlet sigue presentando desafíos con el uso de solventes tóxicos, pero proporcionan una forma efectiva de extraer lípidos a nivel laboratorio. Por otro lado, los procedimientos mecánicos: molino de cuencas, homogeneización a alta presión, ultrasonido, microondas y campo eléctrico pulsado, aprovechan la fuerza física para romper las células y liberar los lípidos, ofreciendo preservación de lo extraído, reduciendo el impacto ambiental al evitar el uso de químicos y altas temperaturas, usados mayormente a nivel industrial debido a las cantidades de biomasa empleada.

Además, las técnicas emergentes, fluidos supercríticos y los líquidos iónicos, también han ampliado las posibilidades de forma selectiva, ya que permiten una extracción eficiente y específica.



ca de diferentes tipos de lípidos, proporcionando una vía hacia una producción sostenible y de alta calidad en la industria de los biocombustibles y la biotecnología, los cuales pueden ser aplicados a nivel planta piloto o incluso a nivel industrial. A pesar de que se necesita emplear mayor cantidad de biomasa, la variedad de métodos disponibles brinda opciones para adaptarse a diferentes tipos de microalgas.



REFERENCIAS

- Bligh, Eg., y Dyer, Wj. (1995). A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can Biochem Physiol*, 37(8), <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Folch, Jordi, y Sloane, Stanley. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *Journal of Biological Chemistry*, 226, [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Khoo, Kuan, Ahmad, Imran, Chew, Kit, et al. (2023). Enhanced microalgal lipid production for biofuel using different strategies including genetic modification of microalgae: A review, *Progress in Energy and Combustion Science*, 96, <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2023.101071>
- Matchim, Kamdem, y Lai, Nanjun. (2023). Alkyl carbamate ionic liquids for permeabilization of microalgae biomass to enhance lipid recovery for biodiesel production, *Helijon*, 9(1), <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12754>
- Mienis, Esther, Vandamme, Dries, y Foubert, Imogen. (2023). Enzyme-assisted disruption of oleaginous microalgae to increase the extraction of lipids: *Nannochloropsis* as a case study, *Current Opinion in Food Science*, 51, <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101034>
- Niu, Qi, Prins, Wolter, y Ronsse, Frederik. (2023). Microalgae fractionation and pyrolysis of extracted microalgae biopolymers, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 172, <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2023.106000>



Russell, Callum, y Rodríguez, Cristina. (2023). Lipid extraction from *Chlorella vulgaris* y *Haematococcus pluvialis* using the switchable solvent DMCHA for biofuel production, *Energy*, 278, <https://doi.org/10.1016/j.energy.2023.127983>

Santos-Sánchez, N.F., Valadez-Blanco, R., Hernández-Carlos, B., *et al.*, (1916). Lipids rich in ω -3 polyunsaturated fatty acids from microalgae, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7818-8>

Shanmuganathan, Rajasree, Le, Quynh, Hoang, Aloufi, Abeer, *et al.* (2023). High efficiency lipid production, biochar yield and chlorophyll a content of *Chlorella* sp. microalgae exposed on sea water and TiO₂ nanoparticles, *Environmental Research*, 232, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116263>

Straessner, Ralf, Nikolausz, Marcell, Silve, Aude, *et al.* (2023). Holistic exploitation of pulsed electric field-treated and lipid extracted microalgae *Auxenochlorella protothecoides*, utilizing anaerobic digestion (AD), *Algal Research*, 69, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102950>

Wetterwald, Laure, Leybros, Antoine, Fleury, Gatien, *et al.* (2023). Supercritical CO₂ extraction of neutral lipids from dry and wet *Chlorella vulgaris* NIES 227 microalgae for biodiesel production, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(5), <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110628>

Xie, Zhen, Meng, Xianguang, Yu, Siteng, *et al.* (2023). Continuous extraction and application potential of value-added products from a promising microalga *Coelastrella auxenochlorella* SDEC-28 for green microalgae-based industry, *Journal of Cleaner Production*, 13(9364), <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2023.139364>

Yao, Shunyu, Mettu, Srinivas, Law, Sam, *et al.* (2018). The effect of high-intensity ultrasound on cell disruption and lipid extraction from high-solids viscous slurries of *Nannochloropsis* sp. Biomass, *Algal Research*, 35, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.09.004>



Descarga aquí nuestra versión digital.



Recibido: 27/11/2023
Aceptado: 12/04/2024