

Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña (UNPHU)

Facultad de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química

“Obtención de Biodiesel a partir de la microalga Chlorella vulgaris”



**Trabajo de grado presentado por
Ramón Antonio Sánchez Rosario
Emil Tavárez Díaz**

Para la obtención del grado de
Ingeniero Químico

Santo Domingo, D.N. 2015

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| AGRADECIMIENTOS | I |
| DEDICATORIAS..... | II |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| OBJETIVOS | 3 |
| • Objetivos Generales..... | 4 |
| • Objetivos Específicos..... | 4 |
| JUSTIFICACIÓN | 5 |
| PRIMERA PARTE | |
| FUNDAMENTOS TEÓRICOS | 6 |
| CAPÍTULO I: ANTECEDENTES..... | 7 |
| I.1 Petróleo y combustible..... | 7 |
| I.2 Biocombustible..... | 9 |
| CAPÍTULO II: Conceptos..... | 11 |
| II.1 Obtención de los biocombustibles | 11 |
| II.1.1 Bioetanol..... | 12 |
| II.1.2 Biodiesel..... | 14 |
| II.1.3 Biogás..... | 16 |
| II.2 Ventajas del biocombustible..... | 17 |
| II.3 Reacción producción biodiesel..... | 18 |
| II.3.1 Aceite..... | 20 |
| II.3.2 Alcohol..... | 21 |
| II.3.3 Algas..... | 21 |
| II.4 División..... | 22 |
| II.5 Síntesis de lípidos en algas..... | 27 |
| II.6 Proceso de producción de biodiesel a partir de microalgas..... | 29 |
| SEGUNDA PARTE EXPERIMENTOS Y RESULTADOS..... | 33 |

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO III: MÉTODOS E INSTRUMENTOS..... | 34 |
| III.1 Selección de la especie..... | 34 |
| III.2 Diseño del reactor..... | 34 |
| III.3 Preparación y selección del medio de cultivo..... | 36 |
| III.3.1 Allen’s blue-green medium (modified)..... | 37 |
| III.3.2 MBL medium woods-hole..... | 38 |
| III.3.3 Método combinado..... | 39 |
| III.3.4 Medio de comida de peces..... | 39 |
| III.4 Cultivos..... | 40 |
| III.5 Separación y secado de la biomasa..... | 40 |
| III.6 Extracción de los lípidos..... | 41 |
| III.7 Obtención del biodiesel..... | 41 |
| CAPÍTULO IV: PARÁMETROS DE CALIDAD..... | 43 |
| CAPÍTULO V: PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS..... | 45 |
| V.1 Cultivo..... | 45 |
| V.2 Separación de biomasa..... | 46 |
| V.3 Extracción de lípidos..... | 46 |
| V.4 Obtención del biodiesel..... | 47 |
| CAPÍTULO V: CONTROL DE CALIDAD..... | 48 |
| CAPÍTULO VI: ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD..... | 50 |
| VI.1 Cultivo | 50 |
| VI.2 Comparación de distintas cepas de especies | 51 |
| TERCERA PARTE CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 53 |
| CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES..... | 54 |
| CAPITULO VIII: RECOMENDACIONES..... | 55 |
| CUARTA PARTE REFERENCIAS | 56 |

| | |
|---|-----------|
| Libros..... | 57 |
| Artículos y Publicaciones..... | 58 |
| Internet..... | 59 |
| QUINTA PARTE ANEXOS..... | 60 |
| ANEXOS 1:FOTOGRAFIAS..... | 61 |
| Cultivo..... | 61 |
| Reactores..... | 62 |
| Preparación de medios..... | 63 |
| Parte experimental..... | 65 |
| Extracción de biomasa y aceites | 68 |
| Transesterificación del aceite y separación..... | 70 |
| Características del biodiesel..... | 72 |
| ANEXO II: Diagramas..... | 73 |
| Figura 1. Diagrama del proceso de obtención del bioetanol..... | 73 |
| Figura 2. Diagrama del proceso de obtención del biodiesel..... | 74 |
| Figura 3. Proceso obtención biogás..... | 75 |
| Figura 4. Reacción de transesterificación..... | 75 |
| Figura 5. Síntesis de ácidos grasos en célula..... | 76 |
| Figura 6. Síntesis de ácidos grasos en células..... | 77 |
| Figura7. Proceso producción biodiesel..... | 78 |
| Figura8. Proceso producción biodiesel de algas..... | 78 |
| Figura 9. Distribución para birreactor..... | 79 |
| Diagrama de crecimiento Microorganismos | 80 |
| Crecimiento vs Disminución de substrato..... | 81 |
| ANEXOS 3..... | 82 |
| Tabla 1.Composicion en lípidos de algunos tipos de alga..... | 82 |
| Tabla 2. Composición en lípidos de algunos tipos de alga..... | 83 |
| Tabla 3. Método de cultivo Woods-Hole..... | 84 |
| Tabla 4. Requerimiento nutricional de la microalga..... | 85 |
| Tabla 5. Parámetros de calidad de biocombustible según la UE..... | 86 |
| Tabla 6.Resultados de ensayos de calidad..... | 87 |
| Tabla 7. Consumo de utensilios para Reactor..... | 87 |
| Tabla 8. Tarifa SIE para sistemas interconectados..... | 87 |
| ANEXOS IV: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS..... | 88 |
| Viscosidad..... | 88 |
| Gravedad Especifica | 88 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| Valor acido..... | 91 |
| Determinación del índice de yodo..... | 92 |

Agradecimientos

En primer lugar gracias a Dios por concederme los conocimientos para concluir satisfactoriamente esta carrera. Gracias a mis padres (Cándida Rosario y Ramón Sánchez) y a Laura Sánchez por servirme de soporte, darme ánimos y empujarme a dar lo mejor de mí en toda situación; a mis segundos padres (Floencia Rosario y Manuel Grullón) por brindarme su apoyo incondicional y por su dedicación para conmigo. A mis familiares Lourdes Maria, Norma, Miledys, Alexandra Ruíz, Leydy, Isodelys, Zuleyka, Yissel, Marielys y Willy.

A mis amigos Massiel Severino y Michael Feng muchísimas gracias por escuchar mis quejas y al final del día hacerme olvidarlas. A mis amigos Emil Díaz, Josué Peña, Ramón Pérez, Rosaelba Quezada, Luis Winter y Laura Rivera; Gracias por formar parte del equipo de estudios más divertido y por apoyarnos mutuamente!

A mi compañero de tesis Emil Díaz, que en todo este tiempo se ha vuelto más que un amigo, un miembro más de mi familia, Gracias por todo el tiempo que hemos pasado juntos, por los buenos y malos momentos, por las noches sin sueños, en fin, GRACIAS.

Gracias a aquellos profesores que sacaron un poco de su tiempo para atender a nuestras inquietudes: Doña Mayra, Nurys Gómez, María A. Troncoso, Jeanne Mena, Josefina Castillo, Doris Peña, Patricia López y Sandra Miniño.

Por último y no menos importante gracias a nuestros asesores (Josefina Castillo, Maribel Espinosa) y a Doris Peña por su dedicación y esfuerzo en la realización de este trabajo de grado.

Quiero reiterar las gracias a Josefina Castillo, gracias por ser nuestra segunda madre, por preocuparse por nosotros y hacer de esta una experiencia inolvidable.

Ramón Sánchez

Agradecimientos

María Elena Díaz y Warren Herbert

Por su apoyo incondicional que me han brindado en todas estas etapas de mi vida que apenas está comenzando. Por sus consejos y motivación, ya que gracias a ellos soy la persona de bien en la que hoy me he convertido.

Mis familiares

Mi hermano **Carlos Díaz** y abuela **Aura Estela Aristy** que gracias Dios siempre han podido a estar a mi lado en todo el transcurso de mi vida, significan mucho para mí, en especial mi abuela que es mi segunda madre y gracias a ella nunca me faltó nada ni siquiera cuando estuviera fuera de casa.

Josefina Castillo y Mayra Sánchez.

Aquellos profesores que marcaron mi camino en el aprendizaje universitario y experiencias que influyeron para prepararme para los retos que nos ofrecerá la vida.

A mis amigos

Que si en algún momento pensé en darme por vencido ellos estuvieron ahí para hacerme cambiar de opinión en especial:

-Elisa Kidd

-Daniela Soto

-Lynn Lantigua

-Talia Maldonado

Ramón Ant. Sánchez

Finalmente a mi amigo y compañero de tesis que siempre estuvo ahí en los buenos y malos momentos. Ese amigo que se ha convertido en mi hermano aunque no sea de sangre. Le agradezco por su ayuda desinteresada y por echarme una mano siempre que la necesité.

Emil Díaz

Dedicatoria

Dedico este trabajo de grado a mis padres, familiares, amigos, profesores y a todas aquellas personas que de manera indirecta o directa formaron parte en la conclusión de esta etapa.

Ramón Sánchez

Dedicatoria

Dedico de manera especial esta tesis a mis padres por ser el pilar fundamental en toda mi formación académica y de la vida.

Emil Díaz

INTRODUCCION

Introducción

La situación actual con respecto a los combustibles es inquietante, debido a que cada día se agotan más y más las reservas petroleras provocando que los precios de los combustibles sean inestables y a veces dificultando el acceso al mismo. Buscando resolver este problema han surgido posibles soluciones y respuestas tentativas en las últimas décadas, de las cuales podemos mencionar: los vehículos híbridos, paneles solares y más importante aún, biocombustibles

Los biocombustibles son una alternativa viable, que prometen solucionar parte de los efectos negativos de los combustibles fósiles, los cuales se encuentran a veces mezclados con sustancias que al ser oxidadas en el proceso de combustión producen gases tóxicos, aumentando así el efecto invernadero; a diferencia de los biocombustibles que al obtenerse de materia vegetal, rara vez contienen algún otro elemento diferente de C, O, H; y por ende no producen tantas emisiones de gases tóxicos.

Se pueden obtener de aceites vegetales como: colza, girasol, soya, palma. Y los productos terminados pueden variar según deseemos, biometanol, bioetanol, biodiesel, incluso biogasolina. En el presente trabajo de grado se estudiará una de las tantas vertientes de obtención de biodiesel, en esta ocasión utilizando como materia prima la microalga *Chlorella vulgaris*.

La estructura del trabajo la conforman cinco partes, divididas en capítulos, en la primera parte que abarca los capítulos I y II se recogen los antecedentes, los tipos de biocombustible, como surgen y el método de obtención. La segunda parte conformada por los capítulos III, IV, V y VI describe los métodos e instrumentos utilizados para la obtención de los biocombustibles, los parámetros de calidad, la parte experimental y resultados obtenidos y el análisis de factibilidad. La tercera parte; capítulo VII, trata las conclusiones y recomendaciones, la cuarta y quinta parte recogen las referencias y anexos respectivamente.

OBJETIVOS

Objetivos

Objetivo General

- Obtener biodiesel a partir de la microalga *Chlorella vulgaris* como materia prima.

Objetivos Específicos

- Diseñar un biorreactor para el desarrollo de la *Chlorella vulgaris*
- Analizar y comparar distintos medios de cultivos.
- Seleccionar el método de cultivo más apropiado para el desarrollo y crecimiento del alga.
- Extraerlos lípidos de la biomasa.
- Convertir los lípidos en biodiesel.
- Analizar la factibilidad económica de la producción del combustible.

Justificación

Se debe prestar atención al consumo de los combustibles, especialmente en estos decenios donde la tecnología y la automatización han llevado a un aumento exponencial del uso del mismo. Y como consecuencia un aumento en la emisión de gases nocivos (CO_2 , CO , SO_2 , NO , H_2S , entre otros) al medio ambiente.

Estamos viviendo con las consecuencias negativas de estos gases; vemos como el efecto invernadero provoca cambios climáticos, que están afectando los polos y por ende la fauna. De continuar con esta situación nos veríamos expuestos a una disminución del pH del agua (mar, ríos) por influencia de la absorción de estos gases en la misma, lo que conllevaría a la reducción de los crustáceos y de otros artrópodos, provocando un desbalance en la cadena alimenticia.

Debido a las razones anteriormente mencionadas es necesario solucionar este problema, para beneficio de todos.

Primera Parte
Fundamentos Teóricos

Capítulo I: Antecedentes

I.1 Petróleo y combustible

El petróleo se conoce desde la prehistoria. La Biblia lo menciona como betún, o como asfalto. También los indígenas de la época precolombina en América conocían y usaban el petróleo, que les servía de impermeabilizante para embarcaciones.

Los chinos durante varios siglos utilizaban el gas del petróleo para la cocción de alimentos. No es hasta la segunda mitad del siglo XVIII cuando se empieza a explorar las diferentes aplicaciones de este.

En los EEUU, 1859, Edwin L. Drake perforó el primer pozo petrolero del mundo, logrando extraer petróleo de una profundidad de 21 metros. También Drake ayudó a crear un mercado para el petróleo al separar la kerosina del mismo. Este producto sustituyó al aceite de ballena empleado en aquella época como combustible en las lámparas, cuyo consumo estaba provocando la desaparición de estos animales.

Es en 1895, con la aparición de los primeros automóviles, que se necesitó la gasolina, ese nuevo combustible que en los años posteriores se consumiría en grandes cantidades. En vísperas de la primera Guerra Mundial, antes de 1914, ya existían en el mundo más de un millón de vehículos que usaban gasolina.

La verdadera proliferación de automóviles se inició cuando Henry Ford lanzó en 1922 su famoso modelo "T". Ese año había 18 millones de automóviles; para 1938 el número subió a 40 millones, en 1956 a 100 millones, y a más de 170 millones para 1964. Actualmente es muy difícil estimar con exactitud cuántos cientos de millones de vehículos de gasolina existen en el mundo.

En la década de los 40 se desarrollaron los motores de turbina (jets) empleados hoy en los aviones comerciales, civiles y militares; estos motores usan el mismo combustible de las lámparas del siglo pasado, pero con bajo contenido de azufre y baja temperatura de congelación, que se llama turbosina. Desde luego, cuando se introdujeron los aviones de turbina, el uso de la kerosina como combustible de lámparas era casi nulo, debido al descubrimiento de la electricidad, de tal manera que en 1964 cerca del 80% del consumo total de ésta era para hacer turbosina.

Una fracción del petróleo crudo sirve como energético es la de los gasóleos, que antes de 1910 formaba parte de los aceites pesados que constituían los desperdicios de las refinerías. El consumo de los gasóleos como combustible se inició en 1910 cuando el almirante Fisher de la flota británica ordenó que se sustituyera el carbón por el gasóleo en todos sus barcos. El mejor argumento para tomar tal decisión lo constituyó la superioridad calorífica de éste con relación al carbón mineral, ya que el gasóleo genera aproximadamente 10 500 calorías/kg., mientras que un buen carbón sólo proporciona 7 000 calorías/kg.

Más tarde se extendió el uso de este energético en la marina mercante, en los generadores de vapor, en los hornos industriales y en la calefacción casera. El empleo del gasóleo se extendió rápidamente a los motores diesel. A pesar de que Rudolph Diesel inventó el motor que lleva su nombre, poco después de que se desarrolló el motor de combustión interna, su aplicación no tuvo gran éxito pues estaba diseñado originalmente para trabajar con carbón pulverizado.

Cuando al fin se logró separar la fracción ligera de los gasóleos, a la que se le llamó diesel, el motor de Rudolph empezó a encontrar un amplio desarrollo. La principal ventaja de los motores diesel en relación a los motores de combustión interna estriba en el hecho de que son más eficientes, ya que producen más trabajo mecánico por cada litro de combustible. Todos conocemos que nuestros automóviles sólo aprovechan del 22 al 24% de la energía consumida, mientras que en los motores diesel este aprovechamiento es del 35%.

Los motores diesel encontraron rápida aplicación en los barcos de la marina militar y mercante, en las locomotoras de los ferrocarriles, en los camiones pesados, y en los tractores agrícolas. Después de este breve análisis de la historia del desarrollo y uso de los combustibles provenientes del petróleo, vemos claramente que el mayor consumidor de estos energéticos es el automóvil.

I.2 Biocombustible

Hace más de 100 años Rudolf Diésel creó un prototipo de motor que utilizaba aceite de cacahuate o maní que luego derivó en el gasóleo pero como el petróleo era más fácil y económico de obtener se comenzó a utilizar este combustible fósil.

En 1908 Henry Ford en su modelo T usaba etanol en sus principios. Otro proyecto interesante para la época es que la compañía Standard oil en el periodo de 1920 a 1924 vendía una gasolina con un 25% de etanol, pero los altos costos del maíz volvieron inviable económicamente este producto.

En la década del 30, Ford y otras personas trataron de reflotar la fabricación de biocombustibles por eso construyeron una planta de biocombustibles en Kansas que elaboraba alrededor de 38.000 litros diarios de etanol en base al uso del maíz como materia prima. En esta época más de 2000 estaciones de servicio que vendían este producto. En los años 40 se debió cerrar esta planta ya que no podía competir con los precios del petróleo.

En la década del 70 como consecuencia de la crisis del petróleo, EEUU comienza nuevamente a mezclar gasolina y etanol dando un importante auge a los biocombustibles que no ha parado de crecer hasta la actualidad y que abarca otras geografías como la del viejo continente.

Hasta mediados de los 80 se trabajaba y experimentaba en biocombustibles de primera y segunda generación basados en cultivos alimenticios, pero surgieron diversos

sectores que advirtieron del peligro de utilizar alimentos para fabricar combustibles; ante esta situación se comenzó a buscar materias primas alternativas que no afecten la seguridad alimentaria como algas y otras vegetales que no son comestibles dando origen a los biocombustibles de tercera generación.

Capítulo II: Conceptos

Un biocombustible es una mezcla de sustancias orgánicas que se utiliza como combustible en los motores de combustión interna. A diferencia de los combustibles fósiles que provienen de la energía almacenada durante largos períodos en los restos fósiles, los biocombustibles provienen de la biomasa, o materia orgánica que constituye todos los seres vivos del planeta. La biomasa es una fuente de energía renovable, pues su producción es mucho más rápida que la formación de los combustibles fósiles.

Entre los cultivos posibles de utilizar para la elaboración de biocombustibles, están los de alto contenido de carbohidratos (caña de azúcar, maíz, mandioca), las oleaginosas (soja, girasol, palmas) y las esencias forestales (eucalipto, pinos).

II.1 Obtención de los biocombustibles

Según la naturaleza de la biomasa, y el tipo de combustible deseado, se pueden utilizar diferentes métodos para obtener biocombustibles: mecánicos como: astillado, trituración, compactación; termoquímicos tales como: combustión, pirolisis y gasificación; biotecnológicos: fermentación y digestión microbiana anaeróbica y extractivos. La elección del método a aplicar depende de la necesidad a cubrir y de la biomasa disponible.

Los principales tipos de biocombustibles son:

- Bioetanol
- Biodiesel
- Biogás.

II.1.1. Bioetanol

El bioetanol es un alcohol, y se obtiene como la cerveza y otras bebidas alcohólicas. Los carbohidratos son transformados en azúcares simples, los que se convierten por fermentación en etanol, que luego es destilado en su forma final.

Fue promovido desde el año 1908 cuando Henry Ford diseñó el primer automóvil a partir de fuentes renovables. Luego en 1920 se comenzó a incorporar el etanol a la gasolina en Estados Unidos. Pero los altos precios del maíz, además de la cantidad que se requería, y el almacenaje del mismo, provocó que fracasara esta iniciativa.

El bioetanol se produce principalmente a partir de caña de azúcar o maíz (en algunos casos mezclado con otros cereales), cuyos hidratos de carbono son fermentados a etanol por las levaduras del género *Saccharomyces*. La caña de azúcar es la fuente más atractiva para la producción de etanol, ya que los azúcares que contiene son simples y fermentables directamente por las levaduras. El mayor inconveniente es que resulta cara como materia prima. Los cultivos como el maíz son ricos en almidón, un hidrato de carbono complejo que necesita ser primero transformado en azúcares simples. Los principales productores de alcohol como combustible son Brasil, Estados Unidos y Canadá. Brasil lo produce a partir de la caña de azúcar y lo emplea como "hidro-alcohol" (95% etanol) o como aditivo de la gasolina (24% de etanol). Estados Unidos y Canadá lo producen a partir de maíz (con un poco de trigo y cebada) y es el biocombustible más utilizado en diferentes formulaciones que van desde el 5% al 85% de etanol. Más de 1,500 millones de galones (5,670 millones de litros aprox.) se agregan anualmente a la gasolina para mejorar el rendimiento de los vehículos y reducir la contaminación atmosférica.

Para producir bioetanol se puede iniciar de tres maneras, dependiendo de la materia prima disponible. En la figura 1, se muestran las tres vertientes del proceso.

Si se parte de madera o residuos de podas, se realiza una reacción de hidrólisis con las celulosas de la madera, para obtener los azúcares, luego estos azúcares son sometidos a un proceso de fermentación alcohólica que es luego destilado, hasta obtención del etanol.

Partiendo de remolacha, caña de azúcar y/o melaza, se fermentan los azúcares, luego se destilan y se obtiene el etanol. Si se tiene maíz, trigo, cebada o sorgo; el almidón obtenido se hidroliza para separar en azúcares, luego se fermentan y destilan y se obtiene el etanol

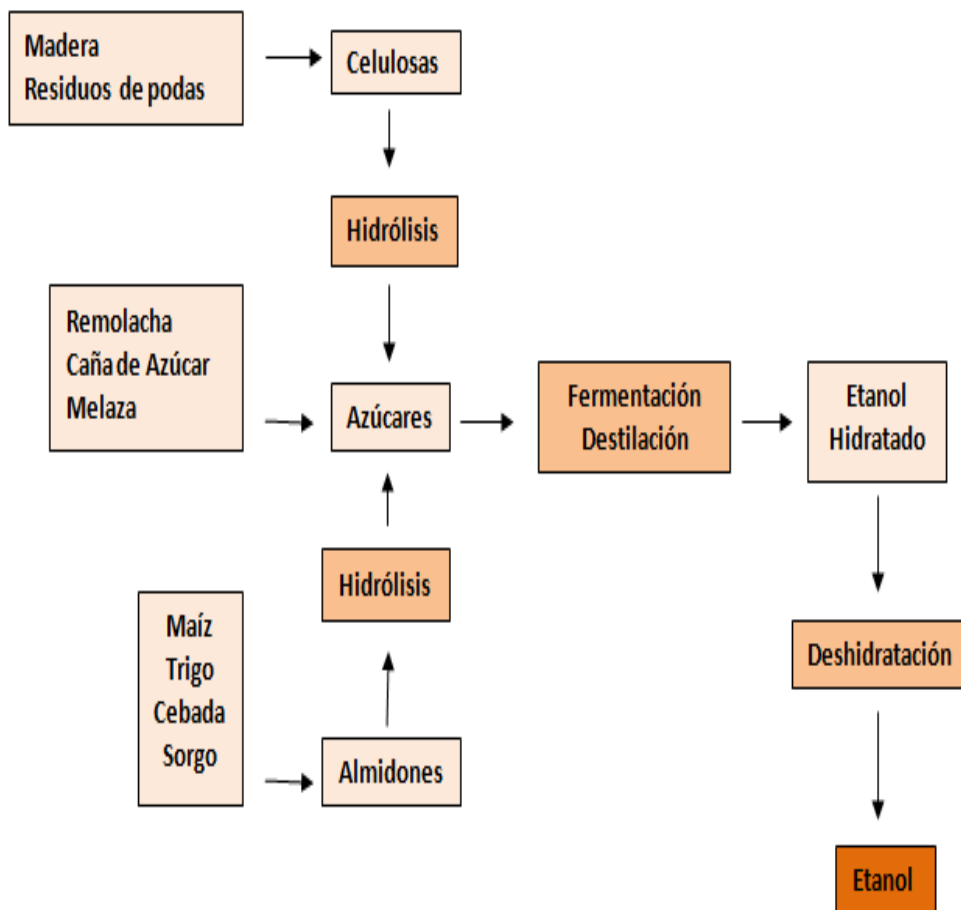


Figura 1. Diagrama del proceso de obtención del bioetanol

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

II.1.2. Biodiesel

Rudolf Diesel hizo funcionar su primer prototipo de motor diesel, cien años atrás, con aceite de maní. Diesel vislumbraba que los motores diesel operarían a base de una variedad de aceites vegetales.

El biodiesel es un éster que puede producirse a partir de aceites vegetales, como el de soja, colza, girasol, y otros, y también a partir de grasas animales. Su elaboración se basa en la reacción de transesterificación de los glicéridos, utilizando catalizadores. Desde el punto de vista químico, los aceites vegetales son triglicéridos, es decir, tienen tres cadenas de ácidos grasos unidas a un alcohol, el glicerol.

En la reacción de transesterificación, una molécula de triglicérido reacciona con tres moléculas de metanol o etanol para dar tres moléculas de monoésteres y una de glicerol. Estos ésteres metílicos o etílicos (biodiesel) se mezclan con el diesel convencional (o gasoil) o se utilizan como combustible puro en cualquier motor diesel. El biodiesel tiene una cantidad de energía similar al diesel de petróleo pero es un combustible más limpio, y puede ser utilizado por cualquier tipo de motor diesel (en vehículos de transporte, embarcaciones, naves turísticas y lanchas) solo o como aditivos para mejorar la lubricidad del motor.

En la figura 2, se encuentra resumido el proceso de obtención del biodiesel. En el cual se toma como materia prima un cultivo de semillas oleaginosas, que pasa por un proceso de extracción mecánico, por un molino. El residuo o biomasa se puede convertir en harina, y el aceite pasa por un proceso de refinamiento previo al de transesterificación, este último da como producto principal biodiesel y secundario glicerina cruda, que puede refinarse para obtener glicerina.

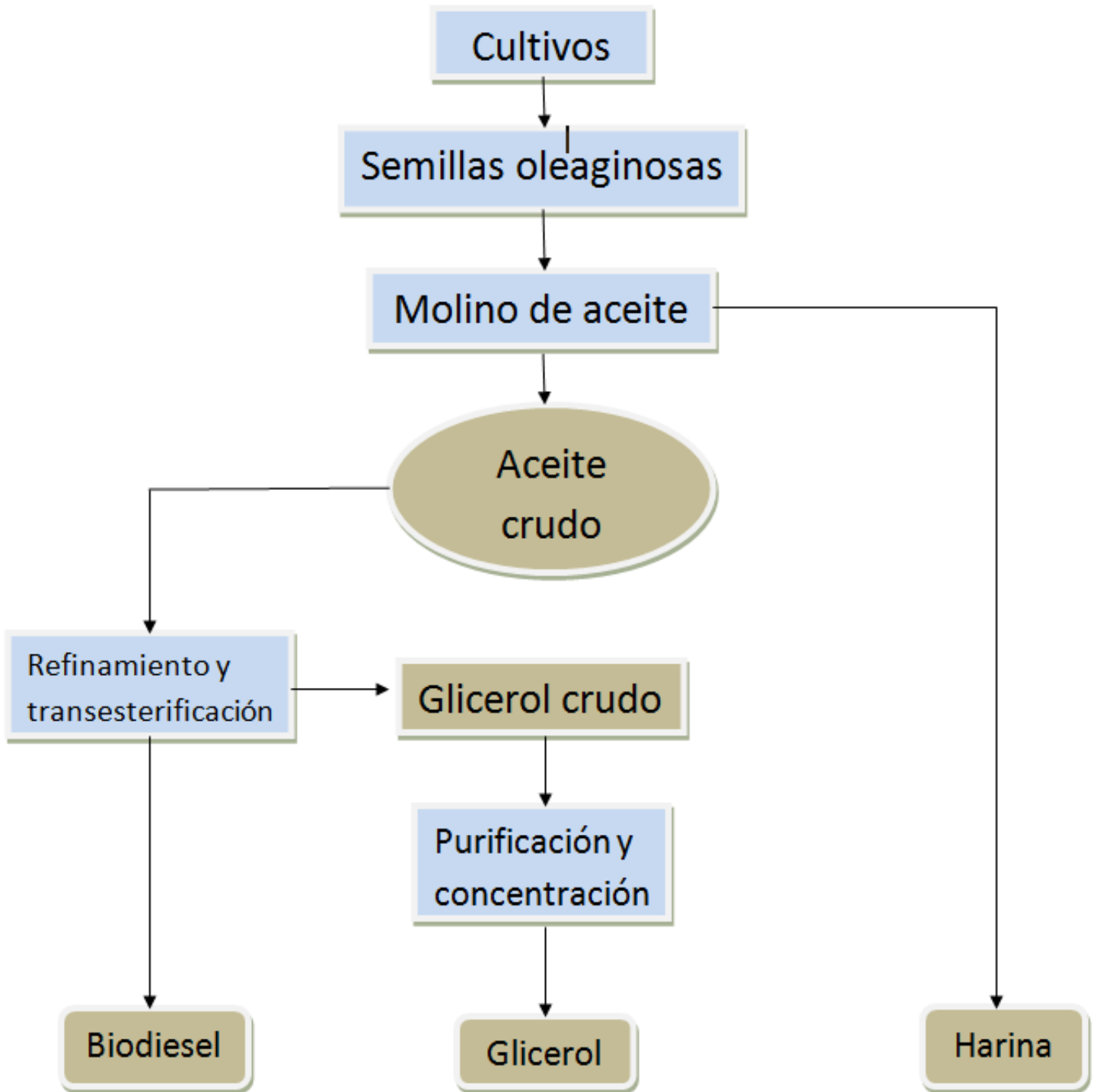


Figura 2. DiagramaProceso de obtención del biodiesel

Fuente: diagrama "obtención de biodiesel" recuperado el 02/jun/2015de www.biodiosol.com

II.1.3. Biogás

Para la obtención de biogás se puede utilizar como materia prima los excrementos animales, la cachaza de la caña de azúcar, los residuales de mataderos, destilerías y fábricas de levadura, la pulpa y la cáscara del café, así como la materia seca vegetal. Esta técnica permite resolver parcialmente la demanda de energía en zonas rurales, reduce la deforestación debida a la tala de árboles para leña, permite reciclar los desechos de la actividad agropecuaria y, es un recurso energético “limpio” y renovable.

El biogás que se desprende de los tanques o digestores es rico en metano que puede ser empleado para generar energía eléctrica o mecánica mediante su combustión, sea en plantas industriales o para uso doméstico.

La primera instalación doméstica para producir biogás se habría construido en la India alrededor del 1900. Actualmente funcionarían en ese país alrededor de 200 mil biodigestores, y en China alrededor de 6 millones.

Las instalaciones industriales de producción de biogás emplean tanques de metal que sirven para almacenar la materia orgánica y el biogás por separado. Debido al gran volumen de materia orgánica que necesitan para garantizar la producción de biogás y la cantidad de biofertilizante que se obtiene, se diseñan con grandes estanques de recolección y almacenamiento contruidos de ladrillo u hormigón.

El biogás se obtiene por descomposición de la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, y a través de la acción de cuatro tipos de bacterias: las hidrolíticas, que producen ácido acético, compuestos monocarbonados, ácidos grasos y otros compuestos policarbonados; las acetogénicas, productoras de hidrógeno. Las homoacetogénicas, que pueden convertir una cantidad considerable de compuestos carbonados en ácido acético; las metanogénicas, productoras del gas metano, principal componente del biogás.

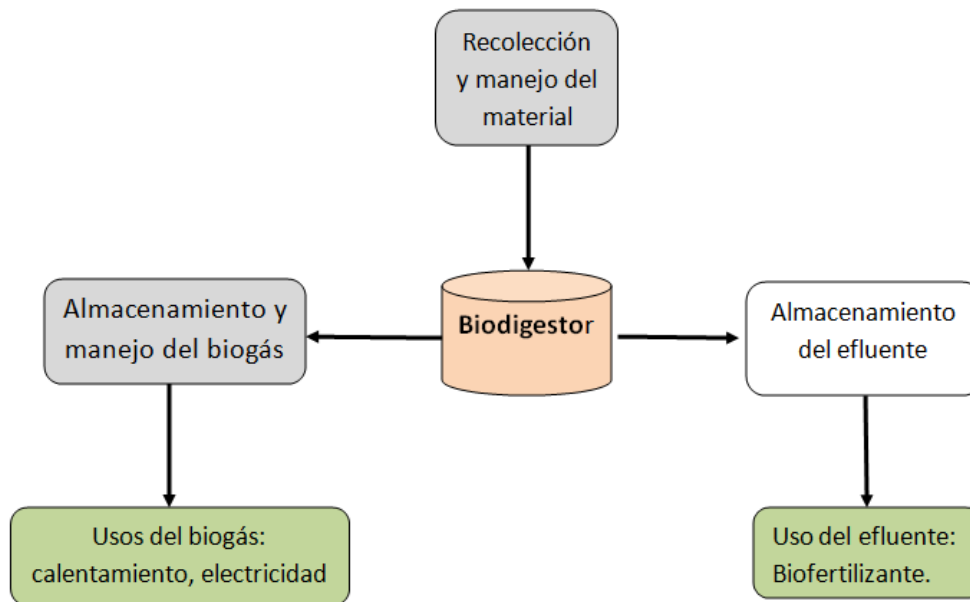


Figura 3. Proceso obtención biogás.

II.2 Ventajas de los biocombustibles

- El uso de biocombustibles como fuente de energía renovable puede contribuir a reducir el consumo de combustibles fósiles, responsables de la generación de emisiones de gases efecto invernadero.
- Son una alternativa viable al agotamiento ya sensible de energías fósiles, como el gas y el petróleo, donde se observa variación en sus precios.
- Se producen a partir de cultivos agrícolas, que son fuentes renovables de energía.

- Pueden obtenerse a partir de cultivos propios de una región, permitiendo la producción local del biocombustible.
- Permiten disponer de combustible independientemente de las políticas de importación y fluctuaciones en el precio del petróleo.
- Producen mucho menos emisiones nocivas para los seres vivos, el agua y el aire.

II.3 Reacción Producción Biodiesel

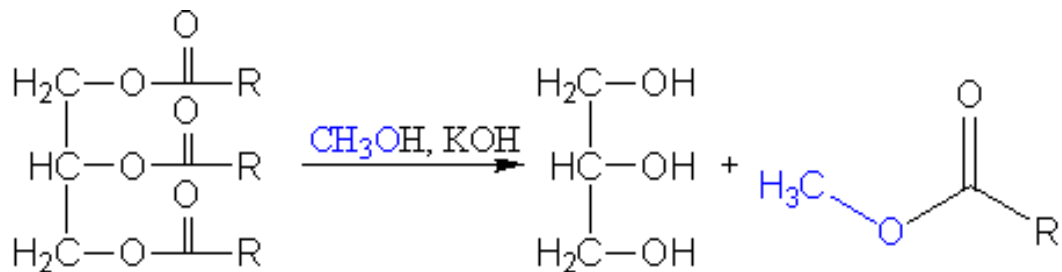


Figura 4. Reacción de transesterificación.

La producción de biodiesel ocurre por medio de una reacción química denominada “transesterificación”. En la cual el grupo glicerol de un lípido es sustituido por un grupo alcohol.

Para que esta reacción se lleve a cabo es necesario la presencia de catalizadores; puede ser en catálisis básica, acida o heterogénea.

Catalizador: Es toda aquella sustancia química que tiene la capacidad de disminuir la energía de activación, que a su vez acelera la velocidad de la reacción.

Catálisis ácida: Es cuando una reacción química esta catalizada por un ácido, generalmente ácido sulfúrico (H_2SO_4).

Catálisis básica: Es cuando una reacción química tiene como catalizador a una base, ejemplos: hidróxido de potasio (KOH) e hidróxido de sodio (NaOH).

Catálisis heterogénea: Es cuando los reactivos y el catalizador se encuentran en distintas fases.

Las distintas reacciones de catálisis son solo algunas varias formas de obtener el biodiesel. Se pueden también destacar:

- ✓ Proceso por lotes
- ✓ Proceso súper crítico
- ✓ Reactor ultrasónico
- ✓ Método de microondas
- ✓ Utilización de enzimas lipasas

El método de **proceso por lotes** consiste en realizar la mezcla del alcohol y el aceite en un contenedor hermético, aumentar la temperatura unos pocos grados por encima del punto de ebullición del alcohol utilizado, para así aumentar la velocidad de reacción. Todo este proceso se lleva a cabo con el contenedor cerrado para evitar pérdidas del alcohol por evaporación. Este proceso tarda de 1 a 8 horas y luego se puede separar los productos por una decantación, debido a las densidades distintas de los productos. Se podría utilizar una centrifuga si se quiere agilizar el proceso. Para el mismo hay que tener cuidado con la cantidad de agua que contenga el aceite, puesto que si es muy alta, podría entonces ocurrir la reacción de saponificación.

El **proceso supercrítico** se basa en llevar el aceite y el alcohol a sus puntos críticos de temperatura y presión, así estos dos reaccionan de manera rápida y espontánea, evitando así el uso de catalizadores. Además, no es necesario que la materia este totalmente libre de agua; como no se precisa catalizador no hay lugar a que ocurra una reacción secundaria. Aunque se trabaja con los fluidos en estados críticos, el consumo de energía no es muy diferente del proceso normal.

En el **reactor ultrasónico**, las ondas causan que la mezcla cree burbujas que choquen entre sí, el movimiento e interacción entre las burbujas provee la temperatura y contacto que requiere la mezcla para reaccionar. El reactor reduce bastante el tiempo, al igual que reduce la energía.

El **método de microondas** es foco de investigación, pues agregar la energía para que la reacción ocurra por medio de microondas, reduciría el costo de la misma hasta un 75%(según estudios realizados). Calentando la mezcla desde el seno hasta el exterior.

La **lipasa** es una enzima que tiene la función en el organismo de disgregar la grasa absorbible de los alimentos. Se puede utilizar esta para hacer una catálisis enzimática.

II.3.1 Aceite

El aceite o grasa a utilizar para el proceso puede ser de origen animal, vegetal, y/o puede ser reciclado. Los aceites vegetales más utilizados son: aceite de colza, aceite de girasol y aceite de soja. En argentina hay industrias y pequeñas compañías que para la transesterificación utilizan aceites reciclados de los restaurantes. Se mide el índice de saponificación de los mismos, el pH, y en base a esto se determina la cantidad de catalizador básico que se requiere para obtener el mayor rendimiento posible. Otra prometedora fuente de aceites son las algas marinas.

II.3.2 Alcohol

El segundo material es el alcohol, los más usados son metanol y el etanol. En metanol generalmente se utiliza para aceites reciclados, cuando se utilizan nuevos entonces se agrega etanol. A medida que aumenta la masa molecular del alcohol aumenta el requerimiento de energía para la reacción y también el impedimento estérico. El metanol y el etanol se deben tratar con cuidado y con los equipos de seguridad adecuados, guantes, gafas, batas y mascarillas para gases.

II.3.3 Algas

Las algas son eucariotas, no plantas terrestres (ni animales ni hongos), con capacidad de realizar fotosíntesis y obtener el carbono orgánico con la energía de la luz del sol. Pueden ser unicelulares o multicelulares, y casi siempre viven en un medio acuático. Según su tamaño las algas se clasifican en micro y macro algas.

Las **macroalgas** son los representantes de mayor tamaño de un grupo de organismos fotosintéticos. Su origen es muy antiguo y se consideran de los primeros organismos eucariontes. La principal característica de este grupo de algas es que son formadas por muchas células, a diferencia de las microalgas, que forman el Fitoplancton, y que son mayoritariamente unicelulares.

Las macroalgas marinas son la base de casi todas las comunidades marinas costeras y representan fuente de alimento, refugio y en algunos casos, hábitat para un sinnúmero de invertebrados y peces marinos. Por su abundancia y tamaño ellas han sido usadas por el hombre desde tiempos muy antiguos y muchas especies de algas son cultivadas para consumo humano directo (principalmente en Asia) o como insumos para productos farmacéuticos y biotecnológicos.

Las **microalgas** son microorganismos microscópicos (2-200 μm) fotosintéticos, también son polifiléticos y eucariotas, que pueden crecer de manera autotrófica o heterotrófica. En general son altamente eficientes en la fijación de CO_2 y utilización de la energía solar para producir biomasa. Están presentes en todos los cuerpos de agua, como lagos, mares y ríos, pero no están supeditados solo al agua. Se encuentran presentes en el suelo y la mayoría de los ambientes terrestres incluso en los más extremos, lo cual permite encontrarlas ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones.

Así como son ubicuos (es decir que están presentes en muchos ambientes también tienen una gran diversidad taxonómica. Para su desarrollo requieren de CO_2 , nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y otros nutrientes menores como metales, los cuales son esenciales porque actúan como cofactor de enzimas esenciales del metabolismo de las microalgas.

II.4 División de microalgas

- **Cryptophyceae**

(Cryptomonas curvata)

Son organismos unicelulares desnudos, con dos flagelos casi iguales que presentan barbulas, en el más corto están organizadas en una fila, pero en el más largo lo están en dos. Las células son ovales y aplanadas con un tamaño de alrededor de 10-50 μm . Pueden aparecer estados palmeloides o cocoides.

- **Dinophyceae**

(Gyrodinium spirale)

Son organismos unicelulares, la mayoría biflagelados, si bien pueden aparecer formas aflageladas: cocoides, filamentosas, palmeloides o ameboides, relacionadas con la gran variedad de formas de nutrición. Generalmente fotosintéticos, aunque también hay formas heterótrofas: saprofitas, parásitas, simbióticas y holozoicas.

- **Chrysophyceae**

(Dinobryon balticum)

Es un grupo extenso de algas que viven principalmente en agua dulce. Presentan una gran variedad en morfología y modos de nutrición; la mayoría son fotoautótrofos, aunque también hay heterótrofos (osmótrofos y fagótrofos). Viven en lagos y lagunas de aguas dulces limpias y frías; algunas especies son marinas.

- **Bacillariophyceae**

(Cyclotella choctawhatcheeana)

Son uno de los más comunes tipos de fitoplancton. Muchas diatomeas son unicelulares, aunque algunas de ellas pueden existir como colonias en forma de filamentos o cintas (e.g. *Fragillaria*), abanicos (e.g. *Meridion*), zigzags (e.g. *Tabellaria*) o colonias estrelladas (e.g. *Asterionella*). Las diatomeas son productores dentro de la cadena alimenticia. Una característica especial de este tipo de algas es que se hallan rodeadas por una pared celular única hecha de sílice opalino (dióxido de silicio hidratado) llamada frústula. Estas frústulas muestran una amplia variedad en su forma, pero generalmente consisten en dos partes asimétricas con una división entre ellas, se debe a esta característica el nombre del grupo.

Chlorophyceae

(Pediastrum tetras)

Son una de las clases de algas verdes, que se distinguen básicamente por su morfología ultra estructural.

Las microalgas son utilizadas en distintos campos debido a sus propiedades; se emplean en la producción de proteínas y de suplementos alimenticios, también para fitorremediación, la absorción de metales pesados (son alteradas genéticamente para esto), y la producción de aceites para biocombustibles.

Las algas que se utilizan para producir aceites son elegidas por su composición. Deben tener un contenido alto en lípidos para poder ser seleccionadas como materia prima.

A continuación unas tablas donde se muestran algunos tipos de microalgas y su composición lipídica:

| Tipo Agua | Microalga | Lípidos (% peso seco) | Referencia (libros y publicaciones) |
|------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|---|
| Agua dulce | <i>Chlorella emersonii</i> | 63 | Illman, et al., 2000 |
| | <i>Chlorella protothecoides</i> | 11-59 | Illman, et al., 2000; Miao y Wu, 2006; Shen et al., 2009 |
| | <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 27 | Tang et al., 2011a |
| | <i>Chlorella sorokiniana</i> | 13-23 | Illman, et al., 2000; Zheng et al., 2012 |
| | <i>Chlorella saccharophila</i> | 18-54 | Isleten et al., 2012; Zheng et al., 2012 |
| | <i>Chlorella</i> sp. | 19-43 | Rodolfi et al., 2009; Praveenkumar et al., 2012 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | 15-58 | Illman et al., 2000; Converti et al., 2009; Widjaja et al., 2009; Yeh, et al., 2012 |
| | <i>Chlorella zofingiensis</i> | 51 | Liu et al., 2011 |
| | <i>Haematococcus pluvialis</i> | 35 | Damiani et al., 2010 |
| | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 26-38 | Li et al., 2008; Pruvost et al., 2009; Popovich et al., 2012 |
| | <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 31 | Shen et al., 2009 |
| | <i>scenedesmus incrassatulus</i> | 8-12 | Hernández et al., 2009; Arias et al. 2011 b |
| | <i>scenedesmus obliquus</i> | 10-43 | Mandal y Mallick, 2009; Ho et al., 2010; Tang et al., 2011 |
| | <i>scenedesmus rubescens</i> | 27-43 | Arias et al. 2011 b |
| <i>scenedesmus</i> sp. | 7-53 | Hernández et al., 2009; Arias et al. | |
| Marina | <i>Chlorella minutissima</i> | 57 | Illman et al., 2000 |
| | <i>Chlorella</i> sp. | 35-52 | Chiu et al., 2008 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | 57 | Liu et al., 2008 |
| | <i>Dubaliella tertiolecta</i> | 24 | Tang et al., 2011b |
| | <i>Nannochloris</i> sp. | 40 | Takagi et al., 2000 |
| | <i>Nannochloropsis oculata</i> | 8-54 | Chiu et al., 2009 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. | 24-60 | Rodolfi et al., 2009; Pal et al., 2011 |
| | <i>Tetraselmis suecica</i> | 20-54 | Rodolfi et al., 2009 |

Tabla1. Composición en lípidos de algunos tipos de alga.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*"; Ramón S. Emil D.

| Especie | %Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco X 100) | Especie | %Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco X 100) |
|---|--|--|--|
| <i>Ankistrodesmus</i> sp. ^{2,4,6} | 24.5 – 40.3 | <i>Hormotilopsis gelatinosa</i> ² | 49.1 |
| <i>Botryococcus braunii</i> var. A ^{2,5} | 43.0 – 63.0 | <i>Isochrysis</i> sp. ^{4,8} | 7.1 – 47.0 |
| <i>Botryococcus braunii</i> var. B ^{2,5} | 53.0 – 86.0 | <i>Monallantus salina</i> ^{1,2} | 20.0 – 72.2 |
| <i>Botryococcus sudeticus</i> ⁷ | 9.39 – 23.09 | <i>Monodus subterraneus</i> ^{2,10} | 39.3 - 40.0 |
| <i>Chaetoceros gracilis</i> ² | 46.0 | <i>Nannochloris</i> sp. ^{1,8} | 20.0 – 47.8 |
| <i>Characium polymorphum</i> ² | 42.0 | <i>Nannochloropsis salina</i> ⁸ | 40.8 – 72.2 |
| <i>Chlamydomonas applanata</i> ² | 32.8 | <i>Nannochloropsis</i> sp. ^{1,9} | 28.7 – 68.0 |
| <i>Chlorella emersonii</i> ^{9,10} | 63.0 | <i>Naviculla pelliculosa</i> ^{2,8} | 22.0 – 44.8 |
| <i>Chlorella minutissima</i> ^{9,10} | 57.0 | <i>Neochloris oleoabundans</i> ^{2,3} | 18.9 – 88.8 |
| <i>Chlorella protothecoides</i> ¹⁰ | 23.0 | <i>Nitzschia laevis</i> ¹⁰ | 69.1 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ^{2,8} | 14.4 – 35.8 | <i>Nitzschia pelea</i> Kutz ^{2,8} | 27.2 – 39.5 |
| <i>Chlorella sorokiana</i> ^{9,10} | 22.0 | <i>Nitzschia</i> sp. ^{1,4} | 22.1 – 47.0 |
| <i>Chlorella</i> sp. ¹ | 28.0 – 32.0 | <i>Ochromonas danica</i> ^{2,8} | 39.0 – 71.0 |
| <i>Chlorella vulgaris</i> ⁹ | 5.1 - 56.0 | <i>Oocystis polymorpha</i> ² | 34.7 |
| <i>Chlorococcum oleofaciens</i> ² | 44.3 | <i>Parietochloris incisa</i> ¹⁰ | 62.0 |
| <i>Chlorosarcinopsis nagevensis</i> ² | 32.2 | <i>Ourococcus</i> sp. ^{2,8} | 27.0 – 49.5 |
| <i>Chroomonas salina</i> ⁸ | 44.0 | <i>Peridinium cinctum</i> fa. Westi ² | 36.0 |
| <i>Chrysochromulina kappa</i> ^{2,8} | 32.6 | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> ² | 31.0 |
| <i>Chrysochromulina polyleptis</i> ^{2,8} | 47.6 | <i>Protosiphon botryoides</i> ^{2,8} | 37.0 |
| <i>Cosmarium laeve</i> ^{2,8} | 15.0 - 33.0 | <i>Prymnesium parvm</i> ^{2,8} | 22.0 - 38.2 |
| <i>Crypthecodinium cohnii</i> ¹ | 20.0 | <i>Radiosphaera nagevensis</i> ^{2,8} | 43.0 |
| <i>Cyclotella cryptica</i> ² | 36.8 | <i>Scenedesmus dimorphus</i> ^{2,8,9} | 6.0 – 40.0 |
| <i>Cyclotella</i> sp. ² | 54.0 | <i>Scenedesmus obliquus</i> ⁹ | 11.0 - 55.0 |
| <i>Cylindrotheca</i> sp. ¹ | 16.0 – 37.0 | <i>Scotiella</i> sp. ^{2,8} | 34.5 – 48.0 |
| <i>Dunaliella primolecta</i> ^{1,2,8} | 23.0 – 53.8 | <i>Schizochytrium</i> sp. ¹ | 50.0 - 77.0 |
| <i>Dunaliella salina</i> ^{2,4,8} | 9.2 – 47.2 | <i>Skeletonema costatum</i> ² | 30.3 |
| <i>Euglena gracilis</i> ² | 55.0 | <i>Stichococcus bacillaris</i> ² | 38.9 |
| <i>Hantzchia</i> sp. ² | 61.0 | <i>Tetraselmis sueica</i> ¹ | 15.0 – 23.0 |

Tabla2. Composición en lípidos de algunos tipos de alga.

II.5 Síntesis de Lípidos en Algas

En la figura 5, se observa el proceso de producción de lípidos en la célula vegetal, todo comienza con la fijación del CO_2 mediante el ciclo de Calvin; en el que, durante la fase luminosa de la fotosíntesis se almacena energía en moléculas orgánicas (ATP), que aportaran energía al proceso. Luego, En este ciclo las moléculas inorgánicas de CO_2 son convertidas en moléculas orgánicas sencillas que luego por reacciones bioquímicas se transformaran en los compuestos esenciales de los seres vivos.

En el ciclo de Calvin; luego de la fijación del CO_2 , se forma un intermediario inestable de 6 carbonos que se rompe de manera espontánea dando lugar al Acido-3-fosfoglicérico (3GPA). El PGA es un intermedio tanto en la glucólisis como en el ciclo de Calvin. Una vez fosforilado produce la Glucosa-6-fosfato y luego pasa al ácido pirúvico, cuyo anión se conoce como piruvato.

La enzima piruvato deshidrogenasa (PDH) actúa como catalizadora de una reacción de descarboxilación del piruvato, dando como resultado el Acetil-CoA; un grupo Carboxilo aportado por el ión bicarbonato se une al Acetil-CoA, formando el Malonil-CoA, esta reacción es catalizada por la enzima Acetil-CoA Carboxilasa (ACCCase).

La enzima metionina adenosiltransferasa (MAT) convierte el malonil-CoA en Malonil-ACP, esta molécula es la principal precursora de la síntesis de ácidos grasos (ver figura 6, anexo II).

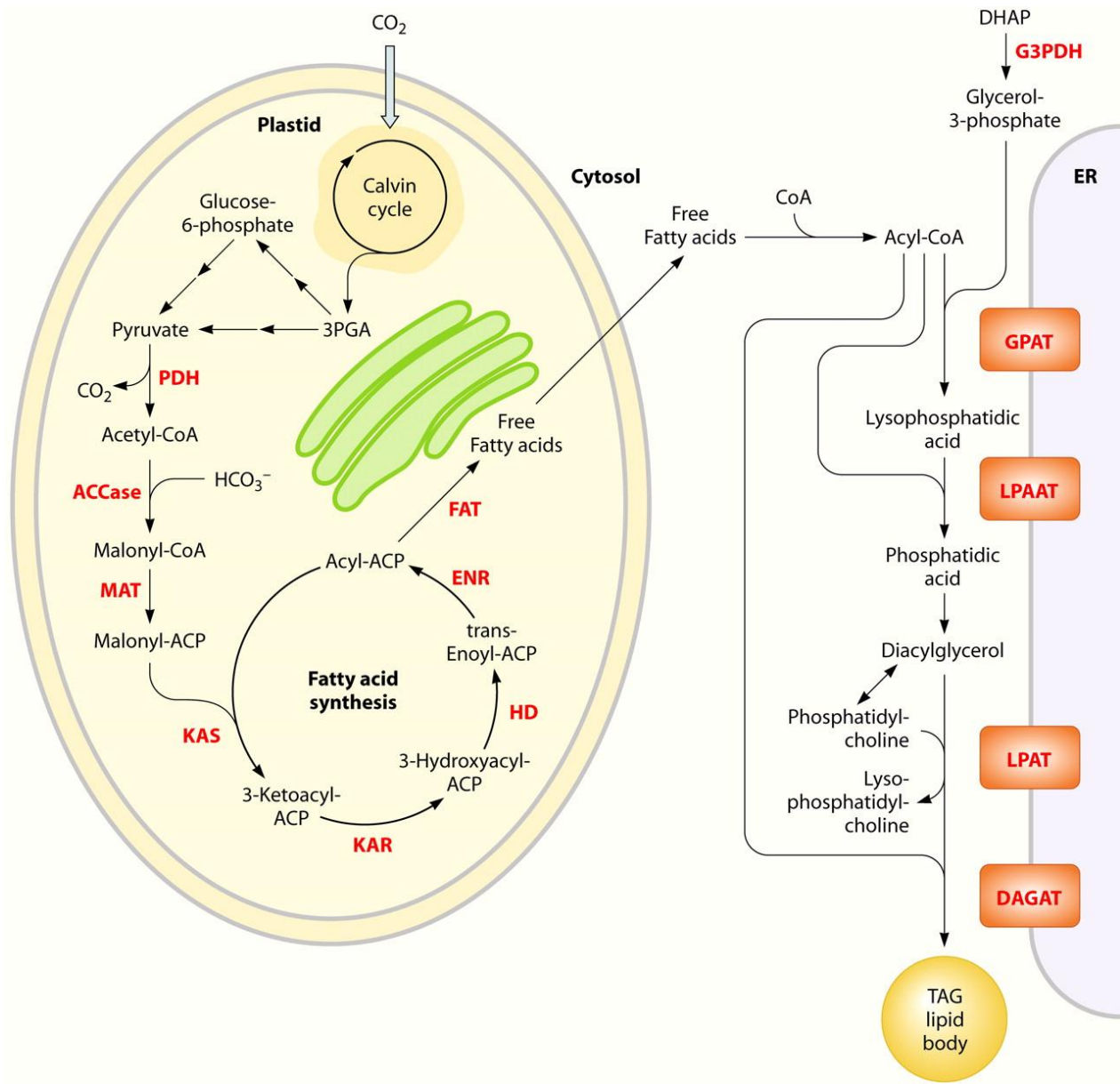


Figura 5. Síntesis de ácidos grasos en célula.

II.6 Proceso de Producción de Biodiesel a partir de microalgas.

Cabe destacar que de utilizar las microalgas como materia prima para esta operación, no solo se obtiene el combustible, sino también, dependiendo de los métodos usados y de la tecnología disponible, se recupera biomasa, bioetanol e incluso biogasolina, Siendo los primeros dos los de más público. La biomasa se utiliza como abono en la agricultura; también se puede conseguir agar rico en nutrientes para los cultivos de microorganismos.

El bioetanol se produce por medio de una fermentación alcohólica de los carbohidratos extraídos de la biomasa.

1. El primer paso para la producción es la determinación de la especie de microalga. Hay que considerar que cada tipo de alga tiene ciertos requerimientos de nutrientes, luz solar, pH, entre otros factores.
2. Después de elegir el alga, se diseña el reactor que va a proporcionar las condiciones necesarias para que el crecimiento del alga se lleve de manera satisfactoria. Un biorreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico (aeróbico o anaerobio) que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos.

Un biorreactor puede ser también un dispositivo o sistema empleado para hacer crecer células o tejidos en operaciones de cultivo celular. En términos generales, busca mantener ciertas condiciones ambientales propicias al organismo o sustancia química que se cultiva, tales como: pH, temperatura, concentración de oxígeno, etcétera. (**Ver Anexo I, reactores**).

3. Se procede a seleccionar el medio de cultivo que proporcione los nutrientes al alga previamente escogida. Luego, se realiza la siembra del alga y se espera que termine la fase de adaptación.
4. Una vez comience el crecimiento celular, se sigue proporcionando los nutrientes. Cuando la densidad celular sea la que esperamos entonces se procede a separar la biomasa (alga).
5. La biomasa pasa por un proceso de secado, para eliminar la mayor cantidad de agua posible.
6. Después de seca; con métodos fisicoquímicos se extraen los lípidos que esta contenga, y luego se puede desechar o reutilizar la biomasa.
7. Se toman los lípidos y nuevamente se calienta para asegurar que no contenga agua. Una vez terminado este proceso, se deja enfriar y se coloca en un recipiente y se hace reaccionar agregándole alcohol (si el proceso lo requiere, se puede adicionar un catalizador).
8. Una vez haya terminado la reacción, se separa por decantación los productos obtenidos. En la capa superior debe estar el biodiesel y en la capa inferior se encontrara el glicerol, pues la densidad de este es mayor.
9. Una vez separado, el biodiesel ya está listo para su uso (si se desea se pueden realizar algunos ensayos para medir la calidad del combustible; densidad, viscosidad, cantidad de azufre, contenido de metanol, contenido de agua, entretros...).

El diagrama siguiente muestra el proceso de consecución de biodiesel, el aceite se coloca en un reactor con alcohol y catalizador, una vez terminada la reacción se separan el combustible de la glicerina. La glicerina se purifica, y se extraen la glicerina, ácidos grasos y sales que podrían estar presentes en ella. El combustible se lava y luego se aísla del agua y alcohol residual, el alcohol y agua se desunen y se puede utilizar ese alcohol para comenzar nuevamente el proceso.

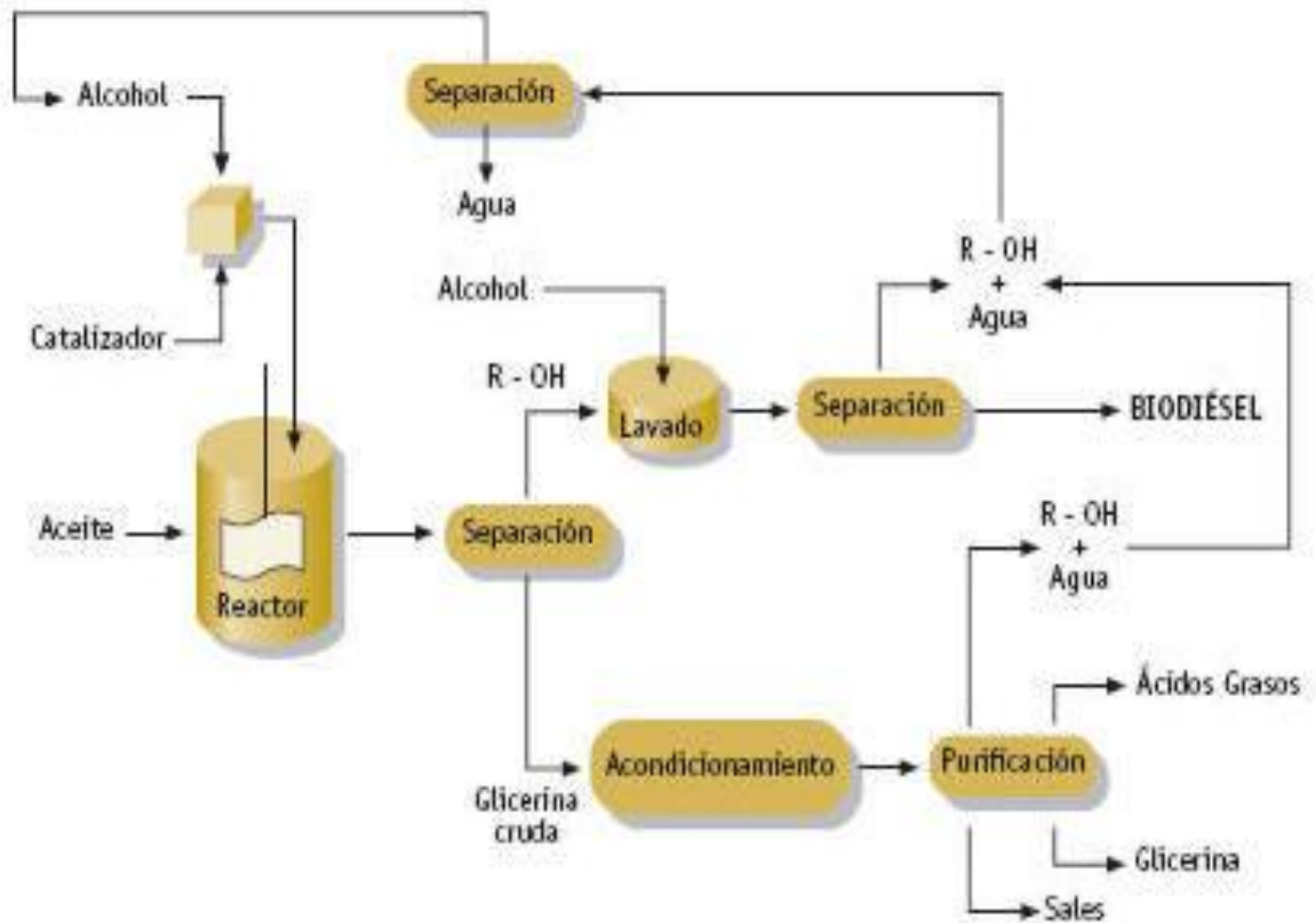


Figura7. Proceso Producción Biodiesel

La adquisición de biodiesel de alga sigue el mismo proceso que el biodiesel tradicional, adicionando antes la parte de extracción de lípidos de la biomasa algal. En la figura 7, se muestra de manera sencilla el ciclo del biodiesel. En el que el alga crea lípidos como consecuencia de la fotosíntesis y gracias a la luz solar y CO_2 , el aceite se extrae y se separa de la biomasa, el aceite pasa por transesterificación dando como producto secundario glicerina. El combustible es utilizado por los equipos de con motores a combustión y producen CO_2 , y comienza el ciclo nuevamente.

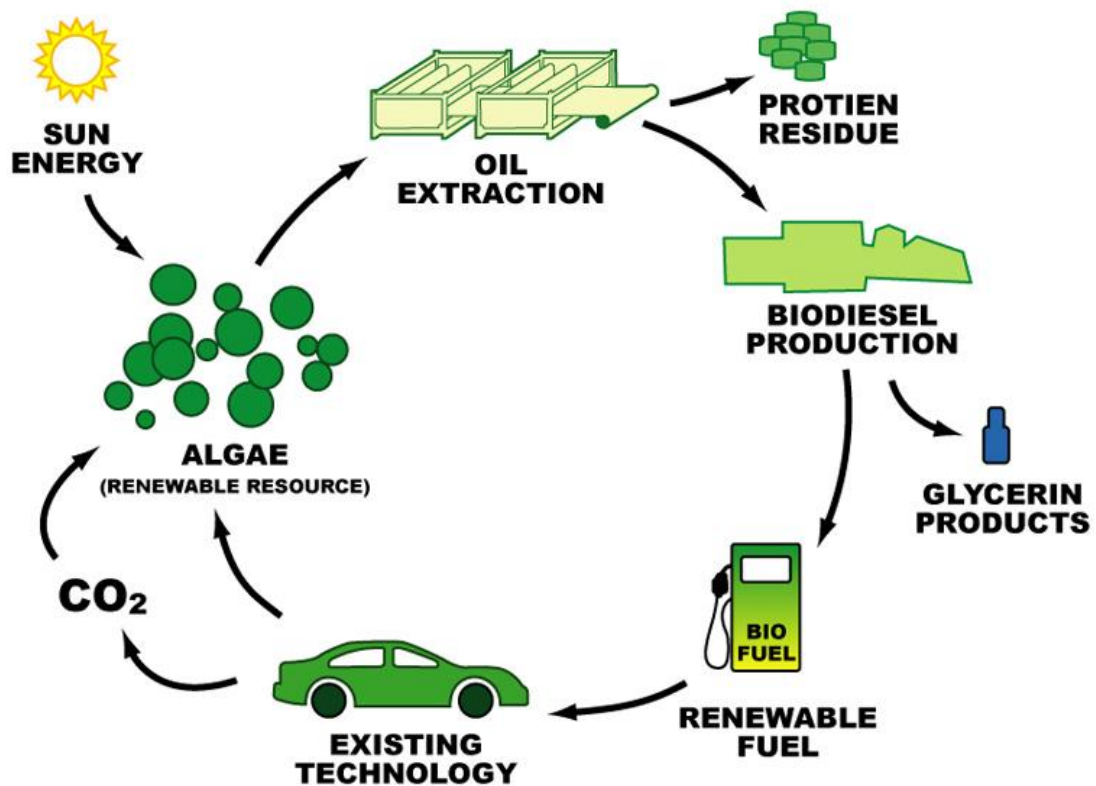


Figura8. Proceso Producción Biodiesel de algas

Segunda Parte

Experimentos y resultados

Capítulo III: Métodos e Instrumentos

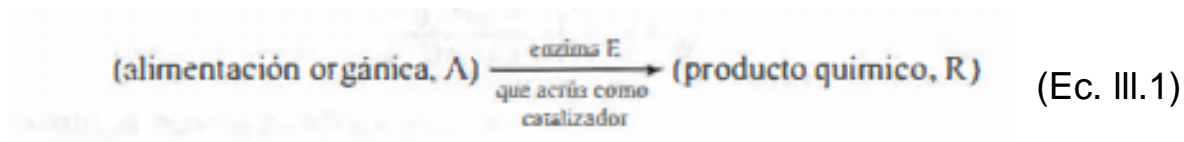
III.1 Selección de la especie

Para tomar esta decisión se evaluaron los requerimientos de los ejemplares a los que teníamos acceso. Se seleccionó la *Chlorella vulgaris*, una especie relativamente fácil de conseguir. Esta es el alga que se ve comúnmente en las piscinas cuando no tienen un adecuado sistema de limpieza. El contenido de lípidos de esta alga puede variar entre 5.1-56 % p/p seco.

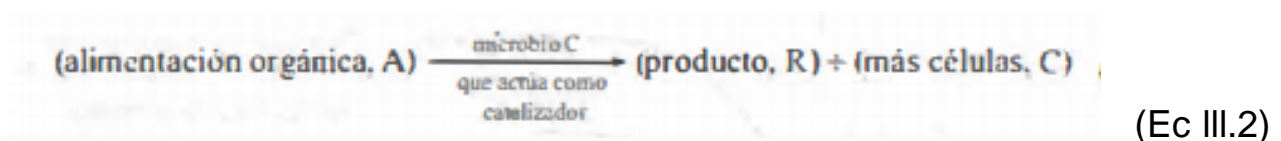
III.2 Diseño del Reactor.

Recordando que un reactor se le puede llamar a cualquier recipiente donde ocurra una reacción química. Para que sea biorreactor deben de intervenir microorganismos, como levaduras, enzimas entre otros. Nuestro objetivo con este reactor es proporcionar todos los factores que requiere el alga para su reproducción y para que esta acumule la mayor cantidad de lípidos posibles.

Observamos las ecuaciones generales:



Y

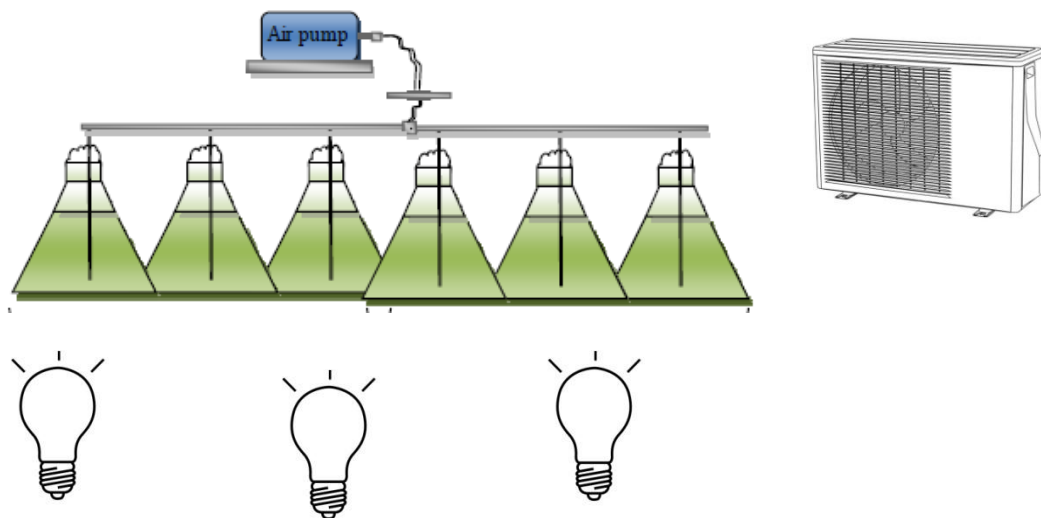


Ecuaciones del capítulo 27 del libro *ingeniería de las reacciones químicas* Leven Spiel (tercera edición).

Estas dos ecuaciones son la base para el diseño del reactor. En la primera vemos que la reacción es enzimática, o catalizada por una enzima, y en la segunda ecuación vemos que el catalizador es un microorganismo. Se diferencian una de otra en el catalizador y en los productos, puesto que en la enzimática solo se obtiene el producto deseado, y en la catalizada por el microorganismo, quedan tanto el producto como un aumento en la población de este.

Tomando en consideración que la luz, la cantidad de oxígeno, los nutrientes, el pH y la temperatura son puntos críticos en el crecimiento del alga, decidimos hacer una prueba con un reactor como se muestra en la siguiente imagen:

Figura 9. Distribución para birreactor



Con este sistema se busca proporcionar la cantidad de luz apropiada para la Cv (*Chlorella vulgaris*) que son 8000 luxes y 16 horas de luz por día (*Arredondo & Vázquez-Duhalt, 1991*). El aire acondicionado busca mantener una temperatura media entre 15-25 grados Celsius, que es la recomendada (*Meng et al., 2009*) y la bomba de aire realizaría dos funciones, introducir oxígeno y agitar el medio. Se bloquearía la entrada a los recipientes con algodón o filtro de vidrio, para evitar que caiga cualquier partícula y ponga en riesgo el cultivo.

El medio de cultivo es rico en nutrientes básico para una serie de microorganismos, y si se deja al descubierto es posible que crezcan otros parásitos no deseados y afecten en el rendimiento de las algas.

Materiales y equipos:

- 4 beakers (distintos tamaños)
- Termómetro
- Manguera de aire
- Bomba de aire
- Pecera
- Difusor de aire
- Algodón
- Cinta adhesiva
- Bombillas 20 W
- Luxómetro

Con los materiales y equipos que fueron mencionados, construimos un sistema como se puede apreciar en el anexo 1.

III.3 Preparación y selección del medio de cultivo.

Siendo esta una de las partes más importantes del proceso, porque depende de la misma que el alga reciba los nutrientes necesarios para su crecimiento, decidimos probar cuatro métodos diferentes. Tres de estos sugeridos por investigaciones y por el laboratorio del cual adquirimos el alga. el último, desarrollado en base al requerimiento de los nutrientes del alga.

Equipos para la preparación de los medios:

- Balanza analítica
- Espátulas
- Vidrios de reloj
- Matraces aforados
- Beakers
- Probeta
- Pipeta
- Pinzas
- Estufa
- Agitadores
- Frascos contenedores
- Erlenmeyers

III.3.1 Allen's blue-green medium (modified):

Es un buen medio para algas verdes y azules. Se debe Ajustar el pH a 7.8 y luego llevar a la autoclave por 15 min y 15 lbs de presión. Si se quiere hacer el medio sólido, se duplica la cantidad de sales y se usa la misma cantidad de agar. Se preparan por separado y luego se mezclan a 48°C.

Reactivos:

(Para un litro de medio, agregar lo siguiente a 999 ml de agua destilada).

| | |
|---|--------|
| NaNO ₃ | 1.59g |
| K ₂ HPO ₄ | 0.039g |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.075g |
| Na ₂ CO ₃ | 0.02g |
| Ca (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O | 0.02g |
| Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O | 0.058g |
| EDTA | 0.001g |
| Acido Cítrico | 0.006g |
| FeCl ₃ | 0.002g |
| Micronutrientes* | 1 ml |

***Micronutrientes**

(Agregar lo siguiente a un litro de agua destilada)

| | |
|---|---------|
| H ₃ BO ₄ | 2.86g |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 1.81g |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 0.222g |
| Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O | 0.391g |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.079g |
| Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O | 0.0494g |

Fuente: Allens blue-green médium (modified) fue el método sugerido por *Carolina biological supply*.

III.3.2 MBL Medium Woods-Hole:

Este método consiste en la preparación de “stocks” que no son más que soluciones de sales. El método cuenta con 11 soluciones, de las cuales para preparar el medio, se toma 1 ml de cada solución y se agregan en un litro de agua destilada.

El pH del medio se ajusta a 7.2 utilizando HCl. Se puede preparar una solución de FeCl₃, que sirve como estresor y ayuda a la acumulación de lípidos en las algas. Para preparar esta solución se disuelven 0.324 g de EDTA y 0.1947 g de FeCl₃ en 200 ml de agua destilada.

| Stock solutions | Concentration per litre of distilled water (g·L ⁻¹) | |
|--|---|--------|
| 1. CaCl ₂ ·2H ₂ O | 36.76 | |
| 2. MgSO ₄ ·7H ₂ O | 36.97 | |
| 3. NaHCO ₃ | 12.60 | |
| 4. K ₂ HPO ₄ | 8.71 | |
| 5. NaNO ₃ | 85.01 | |
| 6. Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O | 28.42 | |
| 7. Na ₂ EDTA | 4.36 | |
| 8. FeCl ₃ ·6H ₂ O | 3.15 | |
| | CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.01 |
| | ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 0.022 |
| 9. Metal Mix | CoCl ₂ ·6H ₂ O | 0.01 |
| | MnCl ₂ ·4H ₂ O | 0.18 |
| | Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O | 0.006 |
| | Cyanocobalamin (Vitamin B12) | 0.0005 |
| 10. Vitamin stock | Thiamine HCl (Vitamin B1) | 0.10 |
| | Biotin | 0.0005 |
| 11. Tris stock | | 250.0 |

Tabla 3. Medio de cultivo Woods-Hole

Fuente: MBL Medium Woods-Hole, método obtenido de *Energies* 2014, 7, 1829-1851

III.3.3 Método Combinado

Este método surgió de los requerimientos de las microalgas de elementos como: C, O, H, N, P, Na, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, B, Si, Cu, Cl y vitaminas. Se tomaron algunas de las sales ya usadas en los medios anteriores y basados en la tabla 4 (**ver tabla 4, anexosII**) siguiente, se formuló el medio.

Reactivos:

| | | | |
|--------------------------------------|-----------|----------------------------------|--------|
| CaCl ₂ | 22 g/L | MnCl ₂ | 2 mg/L |
| NaHPO ₄ | 5.62g/L | H ₃ BO ₃ | 1mg/L |
| EDTA | 3.68 g/L | Na ₂ MoO ₄ | 2 mg/L |
| MgSO ₄ | 21.94 g/L | ZnSO ₄ | 4 mg/L |
| NaHCO ₃ | 12.93 g/L | Vitamina B12 | 2mg/L |
| NH ₄ Cl/NaNO ₃ | 8.50g/L | CuSO ₄ | 2 mg/L |
| FeCl ₃ | 4mg/L | Biotin | 2mg/L |

Las cantidades están dadas para un litro de medio.

III.3.4 Medio de comida para peces

Se toman 10 g de comida para peces y se disuelven en 1 litro de agua destilada.

En la parte de anexos se encuentran imágenes de los medios.

III.4 Cultivo

Al principio se realizarán cuatro siembras, una con cada medio. Se tomará una pequeña cantidad del cultivo y (luego de esterilizar los instrumentos para evitar la proliferación de microorganismos no deseados) se colocaran en cuatro erlenmeyer. A cada erlenmeyer le será monitoreado el pH, Temperatura, cantidad de luxes (luminosidad), y el oxígeno. Teniendo en consideración los requerimientos tanto del alga como de cada medio.

Una vez se conozca cual método es más eficiente, se realizará una última siembra en un contenedor de aproximadamente 10 galones, el cual se tendrá en observación para que produzca la mayor cantidad de biomasa (masa de alga) posible. (Ver *tabla de crecimiento de microorganismos en anexos*) Esta siembra será sometida a estrés, agregándole una pequeña cantidad de hierro¹ (se calcula los ml requeridos para que la concentración de Fe sea de 1×10^{-5} FeCl₃ por cada litro de medio), luego de que la población del alga aumente (ver *tabla de crecimiento microorganismos, anexo 1*).

III.5 Separación y secado de la biomasa

En esta parte del proceso, se utilizará una centrifuga para sedimentar toda la biomasa y extraer el agua con una pipeta. Una vez se extraiga toda el agua posible. Se tomará toda la biomasa y se colocará en el horno por 20 min a 85°C. Una vez transcurra este tiempo se bajara la temperatura a 40°C y se dejará por otros 20 min (esto se hace para evitar que se queme la biomasa seca).

1. Agregarle Fe como estresor para aumentar la cantidad de lípidos acumulados fue un dato obtenido de " *Cellular density and accumulation of lipids in free cultures gives Chlorella vulgaris and Neochloris oleoabundans to different concentrations of nitrogen and carbonate of sodium*", UNACAR TECNOCIENCIA Junio 2011, Nain Elvira Antonio. Y una publicación de *energies* ISSN 1996-1073.

III.6 Extracción de los Lípidos

La técnica a utilizar en esta etapa debe ser eficaz, pues la cantidad de combustible obtenido dependerá del aceite. Se empleará una mezcla de solventes: cloroformo, tetracloruro de carbono y metanol; conocidos disolventes de grasas y de otros compuestos orgánicos. La proporción es 40:40:20 respectivamente, luego se agregará a la biomasa seca y se agitará, permanecerá en reposo a una temperatura de 45°C por cinco horas y se dejará dos o tres días a temperatura ambiente y cubierto (evitando la evaporación de los solventes).

Una vez haya concluido el tiempo, se centrifugará la mezcla y se separará la biomasa de los solventes, luego se procederá a evaporarlos (con los equipos de seguridad adecuados), una vez concluido este proceso, quedará en el recipiente los aceites del alga.

III.7 Obtención del biodiesel

En la última etapa del proceso; se llevará a cabo una transesterificación de Fischer, para convertir los lípidos obtenidos en esteres, que son los componentes del biodiesel. Este proceso se efectúa para disminuir la densidad del aceite y aumentar el poder calorífico. Cabe destacar que el aceite obtenido puede utilizarse como lubricante de motor sin requerir ningún proceso extra.

La relación para la reacción es de 1:3 aceite/alcohol. Es decir, que por cada parte de aceite, se necesitará 3 partes de alcohol; sin embargo, es difícil lograr una eficiencia del 100% en un proceso, por lo que se utilizará una proporción de 1:6 y así existe la certeza de que todos los lípidos habrán reaccionado.

El NaOH (catalizador) se incorporará al metanol (esta reacción es exotérmica), se dejará enfriar un poco; mientras se lleva el aceite a 55°C, una vez el metanol y NaOH se encuentren a la misma temperatura del aceite, se mezclarán (con cuidado), y se mantendrán en constante agitación por aproximadamente 6 horas.

La reacción habrá terminado cuando ocurra un cambio de color en la mezcla final. Una vez concluido todo, se colocará en un embudo separador y se dejará en reposo por 24 horas. Agotado el tiempo, se podrán observar dos capas; la inferior (contendrá glicerol) y la superior (será el biodiesel). Para asegurarse de que no existan restos de metanol y/o agua, se calentará por 10 min a 100°C. Se dejará enfriar y estará listo para su utilización.

*Los ácidos grasos que contiene el alga *Chlorella vulgaris*, se muestran en la tabla 3, en anexos.*

Nota: Antes de hacer reaccionar los compuestos, es recomendable asegurarse de que el aceite no contenga agua. De lo contrario, damos cabida a reacciones secundarias indeseadas, como la saponificación.

*La **saponificación** es la hidrólisis promovida por una base de las uniones éster de las grasas y los aceites.¹*

1. Capítulo 25, pag:1166. Química organica, L.G. Wade Jr.

Capítulo IV: Parámetros de Calidad

La calidad del biodiesel queda establecida por diversos parámetros, y los valores de estos varían dependiendo del método utilizado y de la región. Las principales estipulaciones quedan establecidas en:

- EN590

Describe las propiedades físicas que deben tener todos los combustibles diesel que son utilizados en la unión europea.

- ASTM D6751

Abarca las condiciones que deben tener los combustibles diesel, y los tests que deben realizarse para que puedan ser usados en USA y Canadá.

- CEMITEC

Según el Centro Multidisciplinar de Tecnologías para la Industria (CEMITEC) y basados en el congreso “bio oil” realizado el 23 de Febrero del 2006, los principales parámetros de calidad para el biodiesel son:

- | | |
|------------------------|-----------------------|
| ✓ Contenido de esteres | ✓ Contenido de Cetano |
| ✓ Densidad | ✓ Contenido de agua |
| ✓ Viscosidad | ✓ Entre otros. |
| ✓ Contenido de Azufre | |

- EN14214

Son una serie de estándares europeos que describen los requerimientos y métodos para los tipos más comunes de biodiesels, basados en estos, se obtiene la siguiente tabla que describen los parámetros determinantes y sus límites:

| Ensayo | Unidades | Valor Limite | Norma de Ensayo |
|---|--------------------|--------------|-----------------|
| Contenido en éster | % (m/m) | Min 96.5% | UNE EN 14103 |
| Densidad a 15°C | Kg/m ³ | 860-900 | EN ISO 3675 |
| Viscosidad a 40°C | Mm ² /s | 3.50-5.00 | UNE EN ISO 3104 |
| Flash Point | °C | Min 120 | ISO 3679 |
| Contenido en azufre | mg/kg | 10.0 | ISO 20846 |
| Numero de cetano | | 51.0 | EN ISO 5165 |
| Residuo carbonoso | % (m/m) | 0.30 | ISO 10370 |
| Contenido en cenizas de sulfatos | % (m/m) | 0.02 | ISO 3987 |
| Contenido en agua | mg/kg | 500 | EN ISO 12937 |
| Contaminación total | mg/kg | 24 | EN 12662 |
| Corrosión en lamina de cobre | Clasificación | Clase 1 | EN ISO 2160 |
| Estabilidad a la oxidación | horas | Min 6.0 | UNE EN 14112 |
| Valor ácido | Mg KOH/g muestra | 0.50 | UNE EN 14104 |
| Índice de Yodo | g I /100 g muestra | 120 | UNE EN14111 |
| M. E. Linoleico | % (m/m) | 12.0 | UNE EN 14103 |
| M. E. Poliinsaturados | % (m/m) | 1 | |
| Contenido en metanol | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14110 |
| Contenido en mono glicéridos | % (m/m) | 0.80 | UNE EN 14105 |
| Contenido en di glicéridos | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14105 |
| Contenido en triglicéridos | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14105 |
| Glicerina libre | % (m/m) | 0.02 | UNE EN 14105 |
| Glicerina total | % (m/m) | 0.25 | UNE EN 14105 |
| Metales del grupo I (Na ⁺ ,K ⁺) | mg/kg | 5.0 | UNE EN 14108 |
| Metales del grupo II (Ca ⁺² , Mg ⁺²) | mg/kg | 5.0 | Pr EN 14538 |
| Contenido en fosforo | mg/kg | 10.0 | UNE EN 14107 |
| CFPP | °C | | EN 116 |

Tabla 5. Parámetros de calidad de biocombustibles según la Unión Europea.

Capítulo V: Parte Experimental y Resultados

V.1 Cultivo

De los cuatro métodos utilizados, solo dos tuvieron los resultados deseados; el combinado y el medio Allen Blue. En los demás no se pudo observar ningún crecimiento microbiano significativo luego de siete días de observación y por ende fueron descartados.

En el método combinado se pudo observar crecimiento de la densidad celular desde el segundo día de su aplicación (ver anexo II) y se decidió utilizar este como el medio de cultivo para el experimento. Se observó que el pH de este medio estaba alrededor de los 7.7 y que los 8000 luxes que fueron proporcionados por medio de bombillas fluorescentes eran suficientes para el aumento poblacional.

El medio Allen Blue tuvo la particularidad de que solo aumentó un poco con la utilización de estas bombillas, pero al sustituirlas por lámparas incandescentes, se pudo apreciar un aumento exponencial de la densidad poblacional en unas pocas horas.

El medio de comida para peces fue un fracaso, el pH rondaba los 6.7. El método de Stock tiene un pH de 7.2, que no es factible para la especie *Chlorella vulgaris* (el pH óptimo es de 7.5-8.2) y por ende perecieron los microorganismos en estos medios.

Cabe destacar que uno de los frascos que se utilizó como ensayo para estas pruebas preliminares se echó a perder porque la temperatura aumento a 29°C. Lo que indica que la temperatura al igual que el pH son los factores determinantes para el desarrollo de estos microorganismos.

Una vez agregado el medio combinado al biorreactor, se esperaron 60 días hasta que la producción de lípidos se completase, el día 42 se agregó el estresor Fe, el 50, se dejó de proporcionar nutrientes, y en el 60, se procedió a la separación.

Según los estudios “*Alga, Growth inhibiton test*” realizado por *oecd guideline for testing of chemicals*,y “*densidad celular y acumulación de lípidos en cultivos libres de Chlorella vulgaris y Neochloris oleoabundans a diferentes concentraciones de nitrógeno y carbonato de sodio*” realizado por UNACAR,si se detiene el suministro de Nitrógeno al alga, esta aumentará la acumulación de lípidos, y si a esto se le suma la adición de una pequeña cantidad de Fe, aumenta bastante la acumulación, pues esta combinación provoca un estrés en la microalga.

V.2 Separación de biomasa

El proceso de separación fue lento, se utilizó una centrifuga modelo microcen 20 (con capacidad de 8 tubos), cada ronda se tomó 10 mins a 6000 rpm. Seguido, se separó el agua de la biomasa por decantación. Una vez terminado, se tomó toda la biomasa y se colocó en el horno hasta su secado. Luego se procedió al siguiente paso.

V.3 Extracción de lípidos.

Se preparó una mezcla de solventes: 40% cloroformo, 40% tetracloruro de carbono y 20% de metanol (40:40:20) y se agregó a la biomasa, se agitó durante 30 mins y se dejó en reposo durante 48 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se separó nuevamente la biomasa de los solventes. Se desechó la biomasa, y se colocó la mezcla en una manta en la campana de gases. Se evaporó todo el solvente y al final quedo el aceite, Se llevó a 100°C para eliminar cualquier rastro de agua y/o solvente. Se dejó enfriar y en reposo; se obtuvo una cantidad de 234 ml de aceite.

V.4 Obtención del biodiesel

Se pesaron 3.5 g de NaOH y se colocaron en un beaker que contenía 600 ml de metanol, para que formen metóxido de sodio. Se dejó reaccionar por 10 mins, y luego se esperó a que bajase la temperatura, pues esta reacción es exotérmica.

En otro beaker se colocó el aceite y se calentó hasta 55°C, una vez el metanol alcanzó la temperatura del aceite, se mezclaron y se agitó constantemente durante aproximadamente dos horas a temperatura constante (Ver anexo II).

Se dejó reposar en un embudo separador durante 24 horas. Al finalizar el tiempo, se observó una sola fase, y no dos como se tenía previsto, se tomó en consideración que la cantidad de alcohol fue bastante alta, por lo que se prosiguió a calentar la sustancia a 70°C hasta que el volumen disminuyó en un 50%.

Una vez alcanzado este volumen se comenzó a agitar nuevamente, se notó un cambio de color al cabo de dos horas. Se dejó enfriar y luego se colocó nuevamente en el embudo separador. Veinte y cuatro (24) horas más tarde se observaron dos capas, una de color ámbar que era la inferior, y otra ligeramente amarilla, glicerina y biodiesel respectivamente. Se separó la glicerina y luego se midió el combustible en una probeta graduada. Se recuperaron 204 ml de biodiesel de alga.

Capítulo VI: Control de Calidad

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los análisis realizados al biodiesel obtenido del alga *Chlorella vulgaris*, estos, forman parte de las pruebas ejecutadas en Europa a los biocombustibles, también se incluyen los valores límites de estos.

| Ensayo | Unidades | Valor Limite | Biodiesel de algas |
|--|--------------------|--------------|--------------------|
| Densidad a 15°C | Kg/m ³ | 860-900 | 898 |
| Viscosidad a 40°C | Mm ² /s | 3.50-5.00 | 3.68 |
| Contenido en agua | %(v/v) | Max 0.05 | 0.04 |
| Valor ácido | Mg KOH/g muestra | Max 0.50 | 0.657 |
| Índice de Yodo | g I /100 g muestra | Max 120 | 22.66 |
| Contenido en metanol | %(m/m) | Max 0.20 | 0.1035 |
| Metales del grupo I (Na ⁺ ,K ⁺) | mg/kg | Max 5.0 | < 2.0 |
| Contenido en Azufre | Mg/kg | Max 10.0 | < 2.0 |

Tabla 6. Resultados de ensayos de calidad.

Resultados

La densidad está dentro del margen, cabe destacar que con la esterificación de Fischer se busca disminuir la del aceite original.

El contenido en agua está dentro del límite; un valor muy alto en esta prueba puede traer como consecuencias la corrosión del motor.

El Valor ácido expresa el grado en el que la hidrólisis ha liberado ácidos grasos libres del éster original del glicérido; es una medida de la acidez del biodiesel. Se utiliza este parámetro cuando hay mezclas de ácidos grasos, de lo contrario se puede expresar en porcentaje de cada ácido.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

El índice de yodo es una medida de insaturación, pues mide la cantidad de doble enlaces capaces de reaccionar con halógenos. Este parámetro muestra tanto concentraciones de ácidos grasos insaturados como el grado de insaturación. Que el resultado sea tan pequeño, indica que hay pocos ácidos insaturados en el biodiesel.

El metanol es uno de los reactivos utilizados para la producción del biodiesel, se regula su contenido en el mismo, porque este puede ser incompatible con algunos de los elastómeros y metales que conforman el sistema de combustible diesel.

El contenido de sodio y potasio está en un rango más que aceptable. Este parámetro es importante debido a que altas concentraciones de estos metales conlleva a un “desgaste excesivo de la inyección del combustible, formación de depósitos y contaminación del lubricante del motor” (ASTM standarization news abril 2007).

El contenido en azufre es un factor importante para determinar la contaminación de las emisiones del combustible. El resultado obtenido fue menor de 2 ppm. Cabe destacar que los aceites no contienen Azufre, este puede incorporarse al biodiesel en el proceso de lavado, ya que el primero, debe hacerse con una dilución de ácido sulfúrico, y si no se elimina bien en lavados posteriores puede quedar residuos del sulfúrico.

Capítulo VII: Análisis de Factibilidad

- De la biomasa se obtuvo un total de 234 ml de aceite
- Luego de la transesterificación, se midió un total de 205 ml de biodiesel.

El porcentaje de conversión fue de un 87.6%, mostrando que la reacción tuvo un buen rendimiento. Como producto secundario se consiguió una pequeña porción de Glicerina. Esta glicerina se puede utilizar para fabricación de jabones, cremas, champú, entre otros productos de belleza.

VII.1 Cultivo

Para mantener vivo el cultivo durante 60 días y permitir la producción de ácidos grasos, se necesitaron dos bombillas de 60 watts y una lámpara de 21 watts. Las cuales se mantuvieron encendidas por un total de 960 horas. Se requirió mantener el aire acondicionado a 20°C durante los 60 días; es decir, 1,160 horas. Por último la bomba de aire con un consumo de 2 watt/hora, se mantuvo encendida por 1,160 horas.

| Utensilio | Consumo/h | Horas de Uso | Total Consumo /h (KWh) |
|----------------------|--------------|--------------|-----------------------------------|
| Bombilla 1 | 60 W | 960 | 57,600 W (57.6 kWh) |
| Bombilla 2 | 60 W | 960 | 57,600 W (57.6 kWh) |
| Lámpara Fluorescente | 21W | 960 | 20,160 W (20.16kWh) |
| Aire Acondicionado | 740 W | 1160 | 858,400 W (858.4 kWh) |
| Bomba Aire | 2W | 1160 | 22320 W (2.32 kWh) |
| TOTAL | 883 W | 5200 | 1,1016,080 W (1,016.08kWh) |

Tabla 7. Consumo de utensilios para Reactor.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

El consumo total fue de unos 1,016.8 kWh para los 60 días, si lo separamos en 30 días, tendríamos un consumo mensual de 508.4 kWh. Utilizando la tabla de la Tarifa SIE para sistema interconectado (**tabla 8, anexo III**) podemos calcular el costo.

NOTA: Se realizan los mismos cálculos para los dos meses, y se parte de un consumo base de unos 800 kWh (que es el consumo promedio de la casa en donde se realizó el experimento).

Energía

508.4 kWh x RD\$ 11.10

RD\$ 5,643.24

Este valor se duplica y tenemos un costo en energía de **RD\$ 11,286.48**

Tomando como despreciable el consumo de la estufa que se requirió para completar la reacción, y el costo de los demás reactivos. Tenemos que la cantidad total producida de biodiesel fueron unos 205 ml. Es decir 0.0618 galón de biodiesel.

Se gastó RD\$ 11,286.48 pesos para producir menos de ¼ de galón de biodiesel.

VII.2 Comparación de distintas cepas de especies

A continuación se muestra una tabla en la que se establecen distintos parámetros de tres especies de microalgas: *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* y *Nannochloropsis salina*. La temperatura y pH óptimos para cada especie varía, se puede observar que el rango de temperatura para la *Chlorella* es de 18-24 °C, para la *Neochloris* 25-32°C y la *Nannochloropsis* 20-25°C. Tomando en consideración que el cultivo de la especie se situó en Santo Domingo cuya temperatura promedio es de 27.1°C, la cepa más conveniente para realizar el cultivo es la *Neochloris oleoabundans*, debido a que es la que mejor se adapta a la temperatura de la localidad. Según la amplitud del rango de pH, la especie ideal es la *Nannochloropsis*.

Todas las cepas requieren de CO₂ para la realización de la fotosíntesis y poder llevar a cabo la producción de lípidos (materia prima para obtención de biodiesel), el CO₂ se encuentra disponible en el ambiente, o se puede agregar por medio de sales carbonatadas. Y el requerimiento de Nitrógeno varía debido a que según estudios, la privación de este aumenta una producción en la acumulación de lípidos, y se agrega en forma de sales de nitratos.

Tomando una base de cálculo de 100 g de biomasa se obtendrían 56 g de lípidos si se trabaja con la *Chlorella*, 88 g si se utiliza la *Neochloris* y 72 g si se tiene la *Nannochloropsis*. Llegando a la conclusión de que la cepa más factible al momento de realizar el cultivo es la *Neochloris oleoabundans*

| Especie | Temperatura optima de crecimiento °C | pH | Requerimiento de Nitrogeno | Requerimiento de CO2 | Luz solar | Contenido en lipidos |
|----------------------------|---|--------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| Chorella vulgaris | 18- 24 | 7.5 - 8.2 | variable | si | si | 56% |
| Neochloris oleoabundans | 25-32 | 7.2 - 7.5 | variable | si | si | 88% |
| Nannochloropsis salina | 20-25 | 7.5 - 8.4 | variable | si | si | 72% |

Tercera Parte

Conclusiones y Recomendaciones

Capítulo VIII: Conclusiones

Las conclusiones más importantes obtenidas en este trabajo de grado son las siguientes:

Se puede sintetizar biodiesel a partir de microalgas sin necesitar equipos o instrumentos muy sofisticados y/o teniendo condiciones de clima específicas.

El Método Mixto es el medio de cultivo que reúne las condiciones para el crecimiento del alga. El pH y la temperatura óptima para llevar a cabo el cultivo con la *Chorella vulgaris* son 7.7 y 20°C respectivamente.

Al utilizar la mezcla de solventes en el momento de separar la biomasa del aceite se obtiene un buen resultado porque se extraen los distintos componentes de la misma.

La relación ideal para realizar la transesterificación de Fischer es de 1:3 alcohol-aceite.

No es económicamente factible obtener el biodiesel del alga el costo de producción fue más elevado, de lo que se podría recuperar comercializando el combustible, con las condiciones climáticas de nuestro país y la microalga *Chlorella vulgaris*.

Capítulo IX: Recomendaciones

1. Seleccionar una sepa de microalga que no sea tan estricta en cuanto al cambio de temperatura.
2. Utilizar éter etílico como solvente, o una mezcla de este con metanol y agua.
3. Adicionar una superficie porosa dentro del reactor para estimular el crecimiento de la microalga en la misma.
4. Evitar la utilización de cloroformo y tetracloruro al momento de extracción de lípidos, por la toxicidad de estos.

Cuarta parte

Referencias

Libros

- Arístides A. Concepción, Hafid Cuesta. “*Obtención de un Biocombustible (biodiesel) Para su Utilización en Motores Diesel*”. Santo domingo, D.N. 2004.
- David Harvey. *Química Analítica Moderna*. Mc Graw Hill, Esoaña, 2002.
- Farrington Daniels, Robert A. Alberty, *Fisicoquímica*, México, CIA. Editorial continental 1982.
- Harper. *Bioquímica Ilustrada*. 2013.
- L. G. Wade, JR. *Química Orgánica (Quinta edición)*. Person, Prentice Hall. Madrid, 2004.
- Manuel Viejo Zubicara, Javier Álvarez Fernández. *Bombas: Teoría, Diseño y Aplicaciones (Tercera edición)*. LIMUSA, México, 2004.
- McCabe, Smith. *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química (Sexta edición)*. Mc Graw Hill, Mexico, 2004.
- Ralph L. Shriner, Reynold C. Fuson, David y. Curtis. *Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos*. Editorial Limusa. México. 1979.
- Raymond Chang. *Química (Décima edición)*. Mc Graw Hill. 2010.
- Samuel H. Maron, Carl F. Prutton. *Fundamentos de fisicoquímica*. LIMUSA, México, 2007.
- Octave Levenspiel. *Ingeniería de las reacciones químicas*. Limusa Wiley. México, 2004.

Artículos y publicaciones.

- De la cruz Rodríguez, Eduar Ruber; Huaman Gutiérrez, Juan Orlando. *“formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento”*
- Lic. Silvia Lede. “Los Biocombustibles”. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología.
- Nain Elvira Antonio*, Alejandro Ruíz Marín, Luis Jorge Pérez Reda. *“Densidad celular y acumulación de lípidos en cultivos libres de Chlorella vulgaris y Neochloris oleoabundans a diferentes concentraciones de nitrógeno y carbonato de sodio”*. UNACAR, 10 dic. 2010.
- Robert L. McCormick y Steven R. Westbrook. “Biodiesel y mezclas de biodiesel”. ASTM Standarization News, abril, 2007.
- Scarsella, M., Belotti, G., De Filippis, P., Bravi, M. *“Study on the optimal growing conditions of Chlorella vulgaris in bubble column photobioreactors”*. Dept. of Chemical Engineering Materials Environment, Sapienza University of Roma(Via Eudossiana 18, I-00184 Roma, Italy).
- Stina Mansson, Malin Hultberg. *“Cultivation of Chlorella vulgaris in nutrient solution from greenhouse tomato production”*. Swedish university of agricultural science. 2012.
- Unknown. *“Alga, Growth inhibition test”*. 7 june, 1984.

Internet

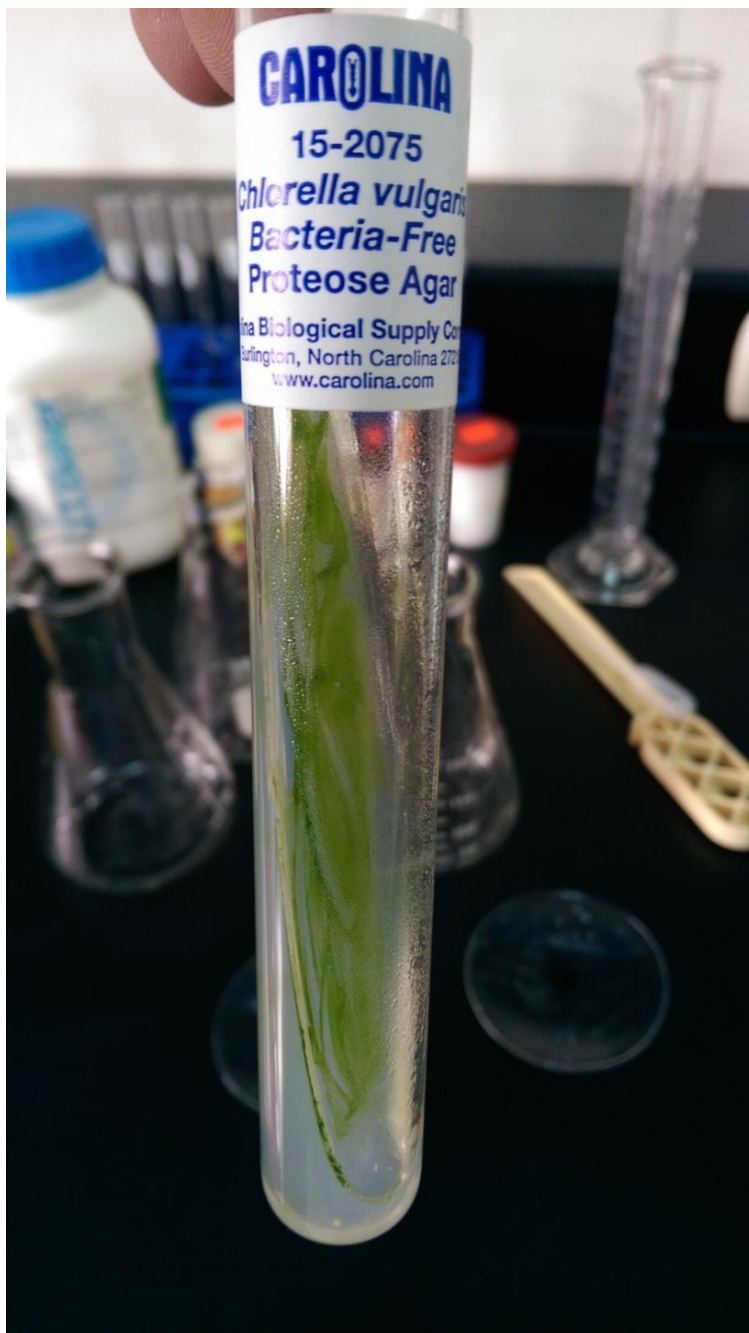
- <http://www.biodisol.com/biodiesel-que-es-el-biodiesel-definicion-de-biodiesel-materias-primas-mas-comunes/la-produccion-de-biodiesel-materias-primas-procesos-calidad/>
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Biodi%C3%A9sel>
- https://www.google.com.do/search?q=proceso+de+produccion+biodiesel&biw=1280&bih=923&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ei=LFBfVcHsMNLasAS0sYD4Bw&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbn=isch&q=transesterificaci%C3%B3n+biodiesel
- <http://ec.asm.org/content/9/4/486/F2.expansion.html>
- http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Biodiesel.pdf

Quinta parte

Anexos

Anexo I: Fotografías

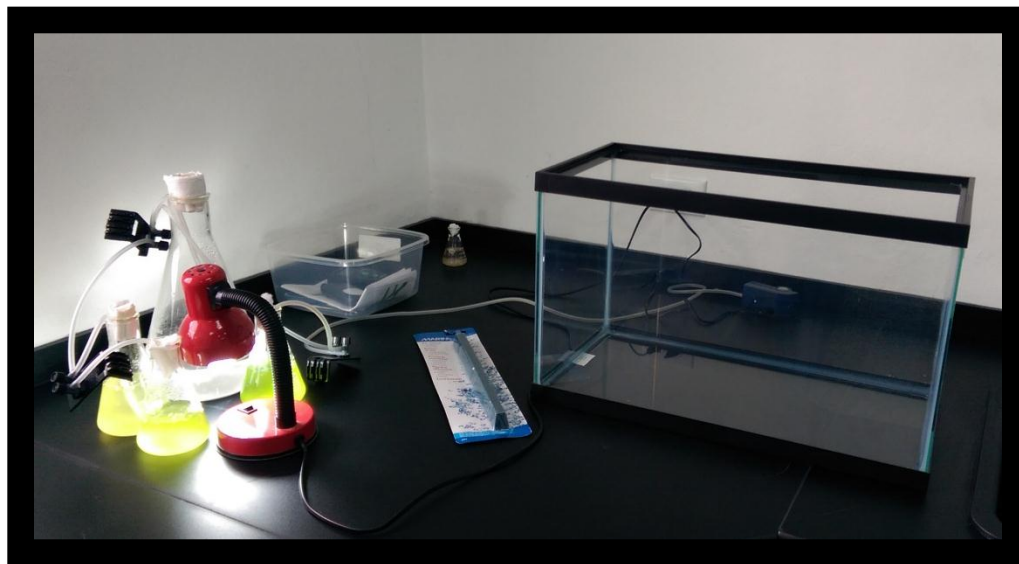
Cultivo



Tubo con sepa del alga Chlorella vulgaris .

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga Chlorella vulgaris" Ramón S., Emil D.

Reactores



Imágenes de las instalaciones del biorreactor.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



Preparación de medios



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



De izquierda a derecha se presentan los distintos medios de cultivo. El aforado del extremo izquierdo, es el método combinado. Los del centro son del método de stock. Y los dos del extremo derecho son los del método allen-blue.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

Parte experimental



Día 1

En esta imagen se observan los distintos ensayos realizados con cada cultivo. En el extremo izquierdo está el método combinado, en la parte trasera el método Allen Blue, en el extremo derecho el método de Stocks y en la parte delantera el de comida de peces.

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



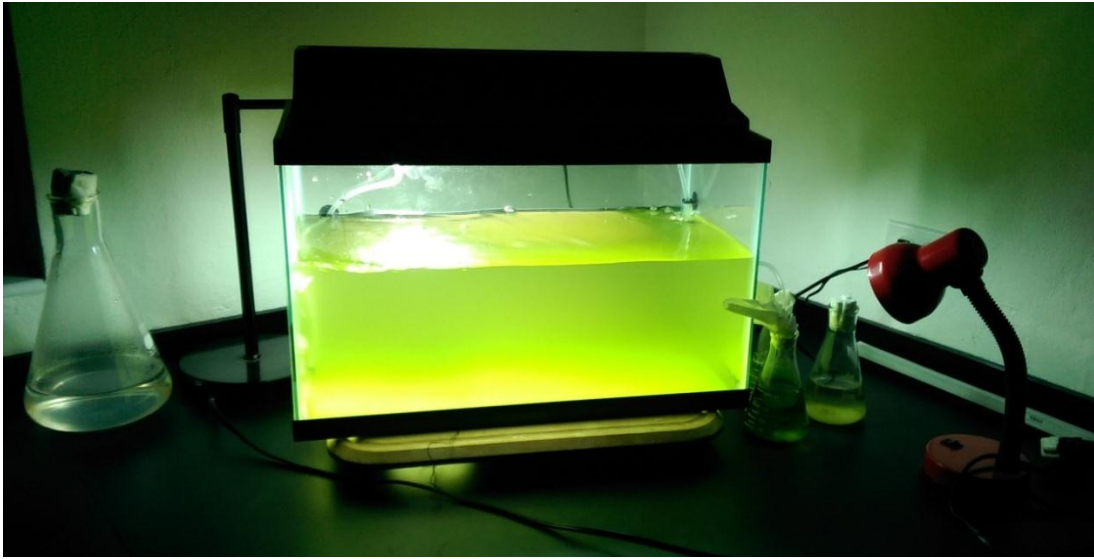
Día 3

Ya se puede observar el crecimiento en los reactores.



Día 5

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



Día 15

Ya en esta fecha se determino que el medio combinado era el que utilizaríamos.



Día 34

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

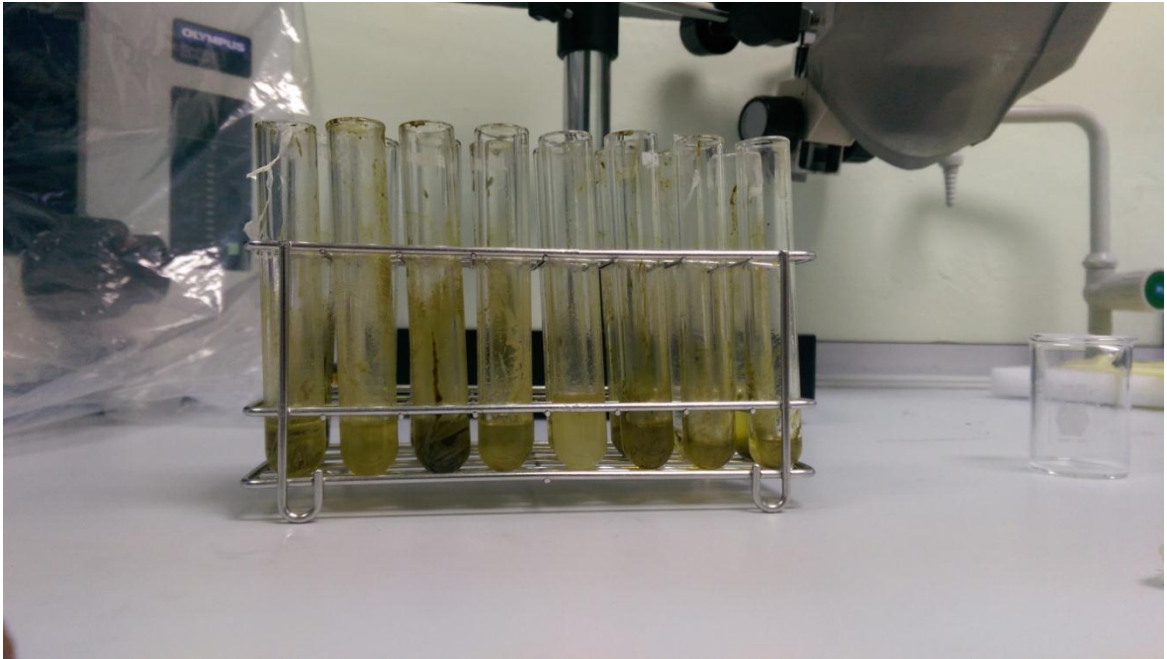


Día 60

Extracción de biomasa y aceite



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

Transesterificación del aceite y separación



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

Caracterización del biodiesel



Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D..

Anexo II: Diagramas

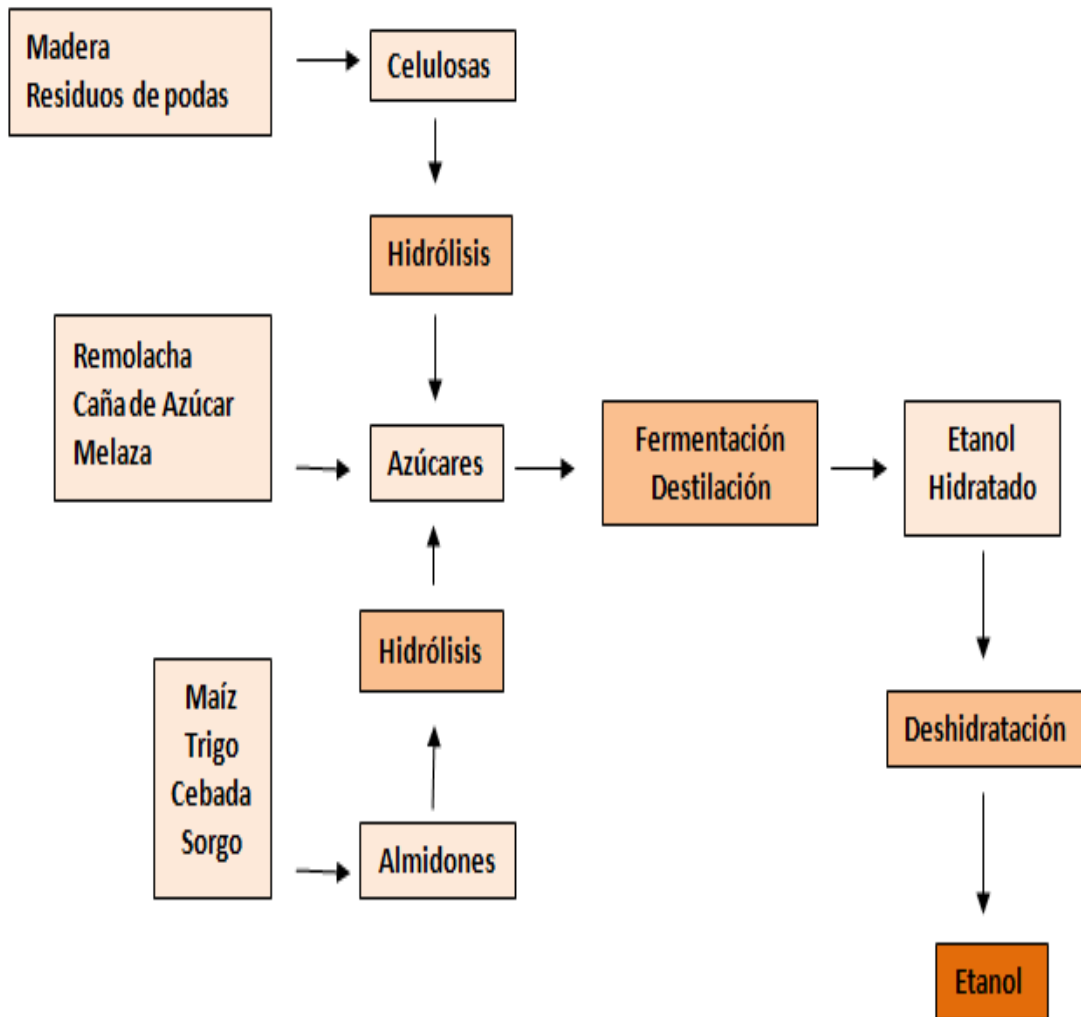


Figura 1. Diagrama del proceso de obtención del bioetanol

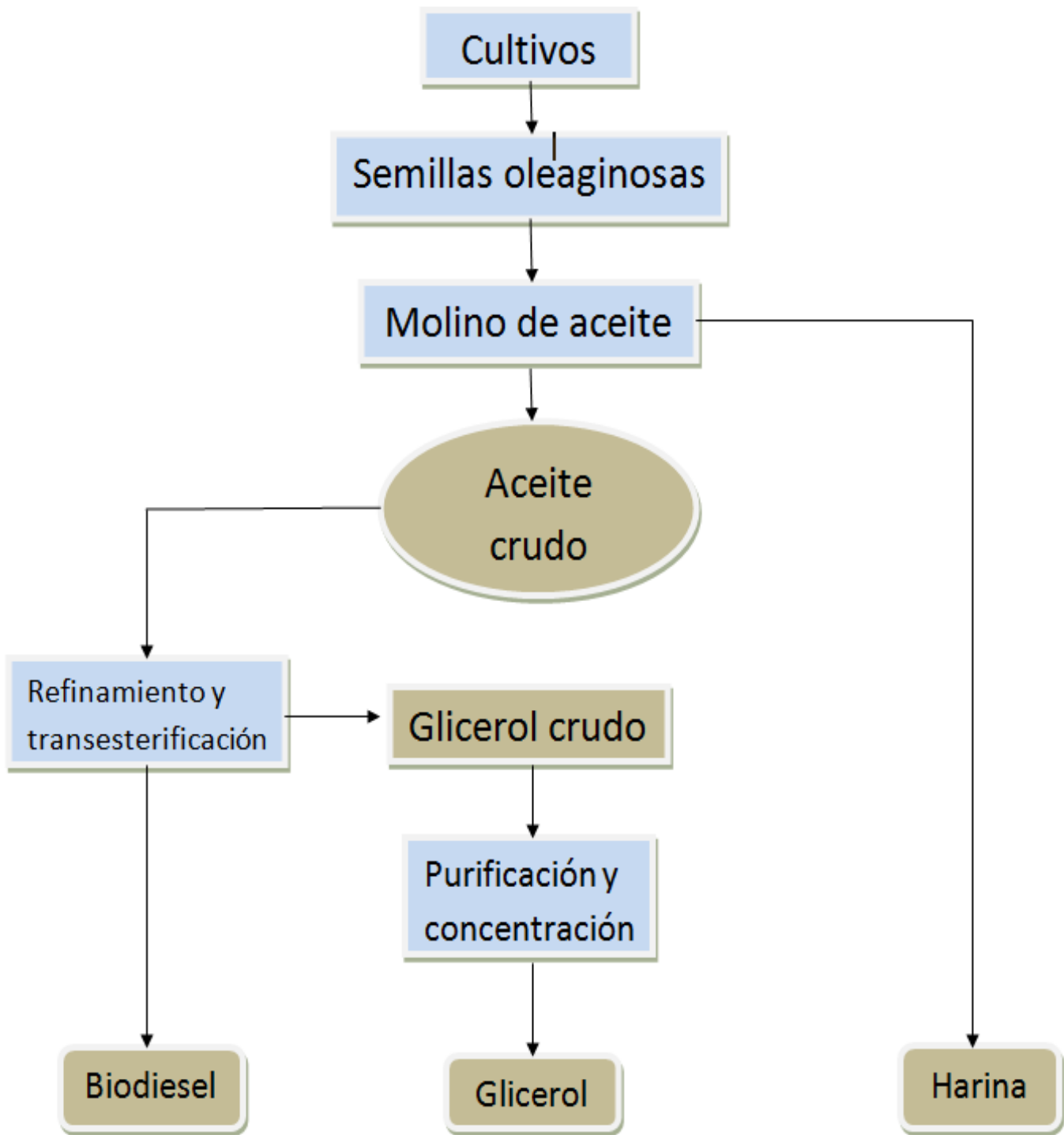


Figura 2. DiagramaProceso de obtención del biodiesel

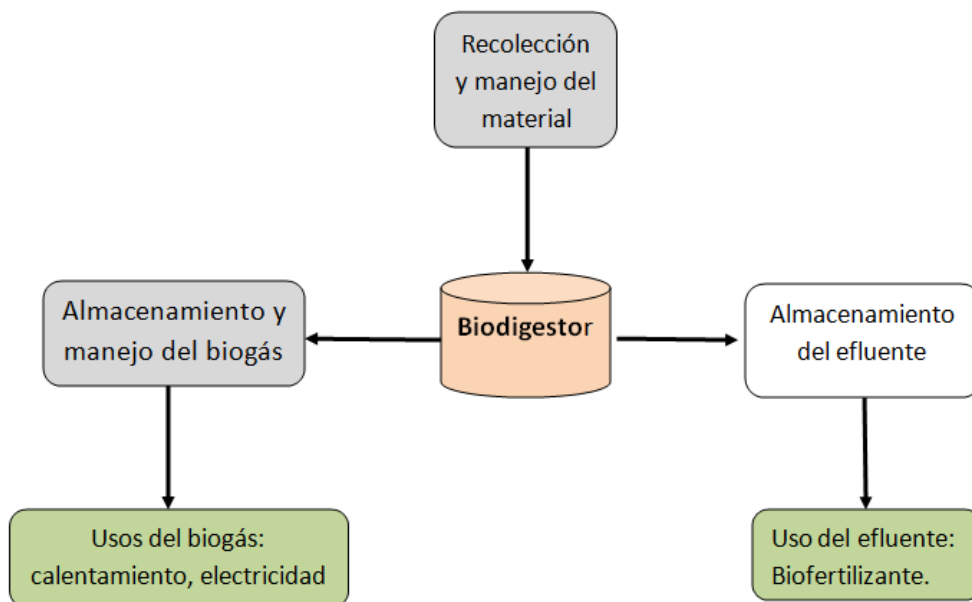


Figura 3. Proceso obtención biogás.

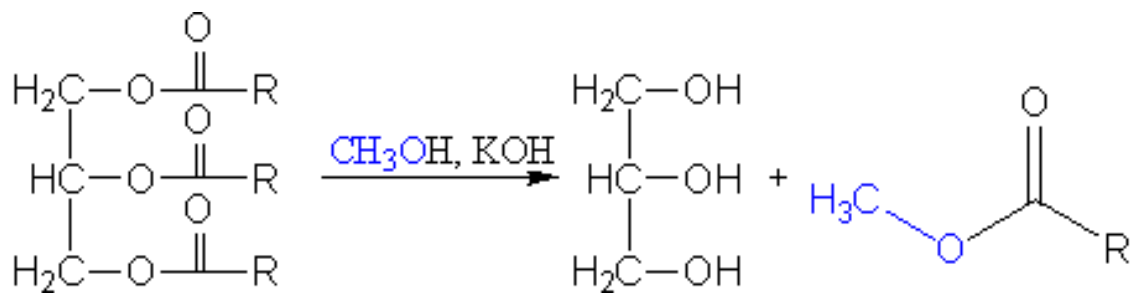


Figura 4. Reacción de transesterificación.

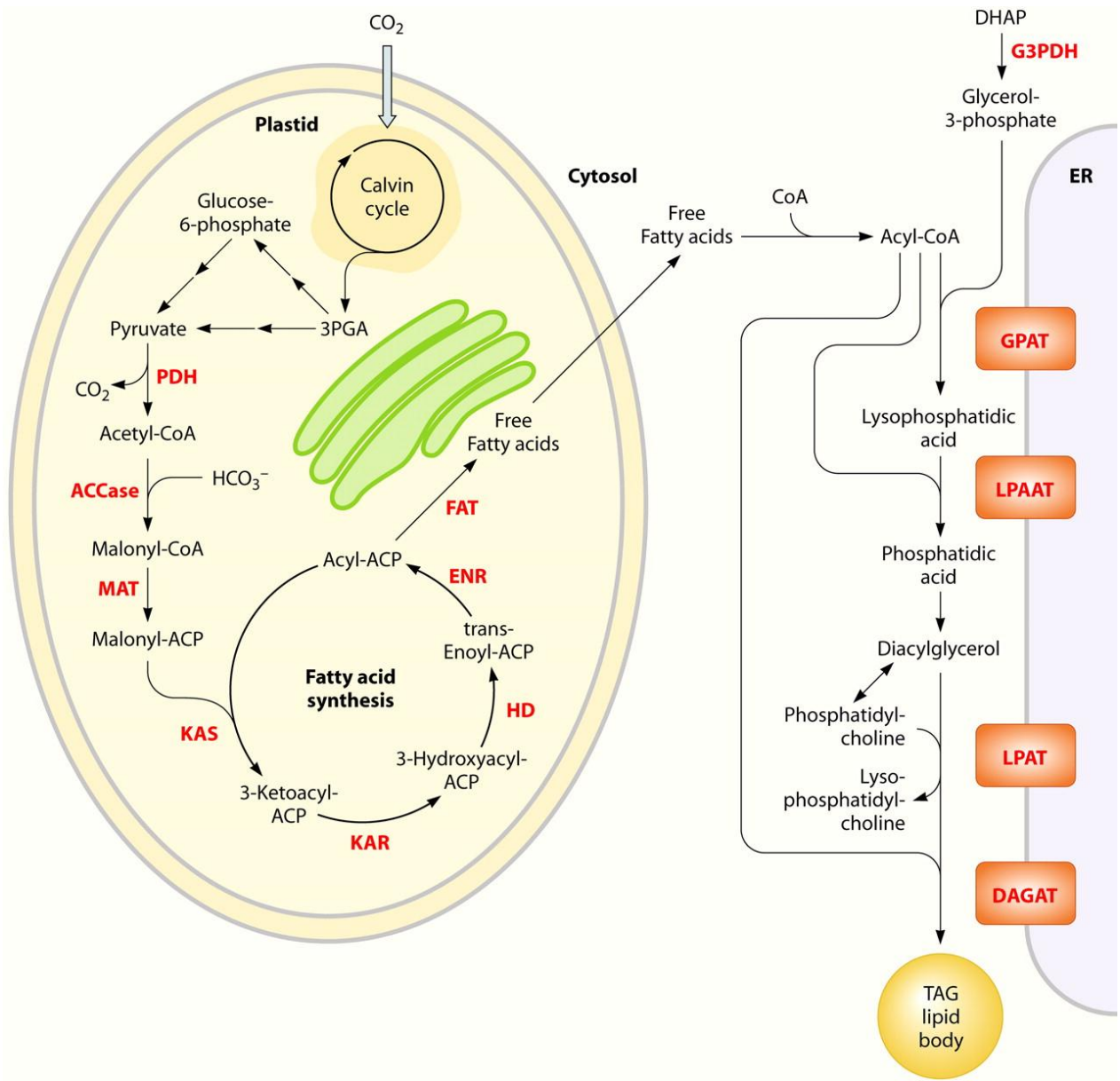


Figura 5. Síntesis de ácidos grasos en célula.

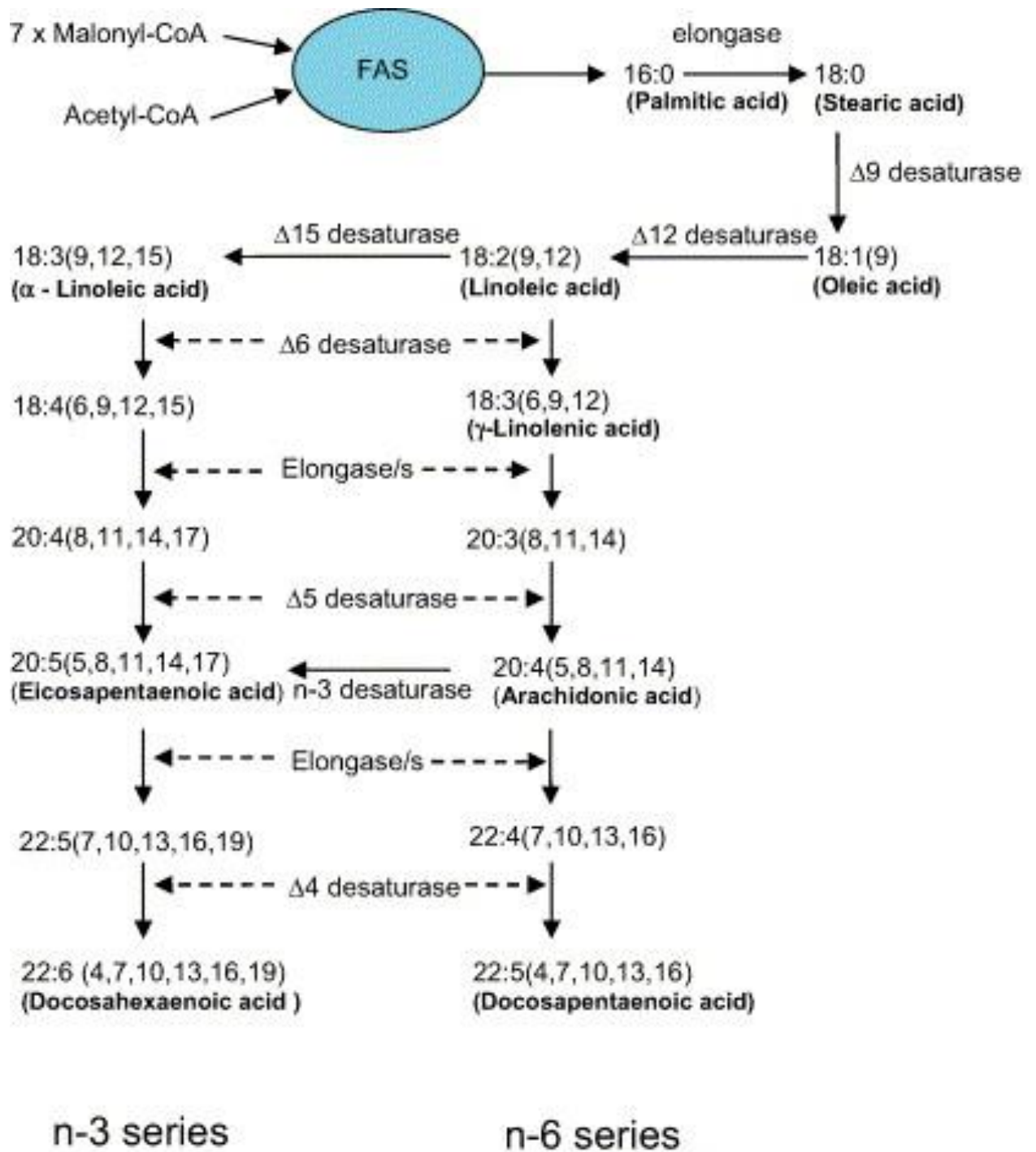


Figura 6. Síntesis de ácidos grasos en células.

Figura: "Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production." *Biochimie* 86, no. 11 (November 2004): 807-815.

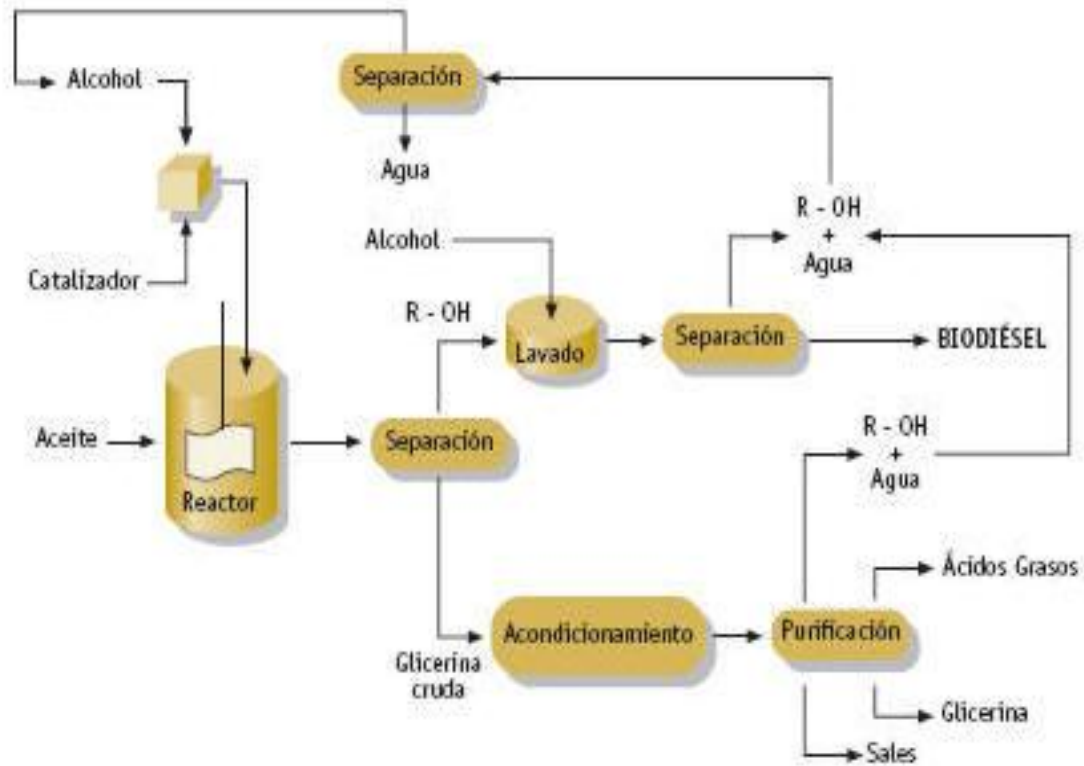


Figura7. Proceso Producción Biodiesel

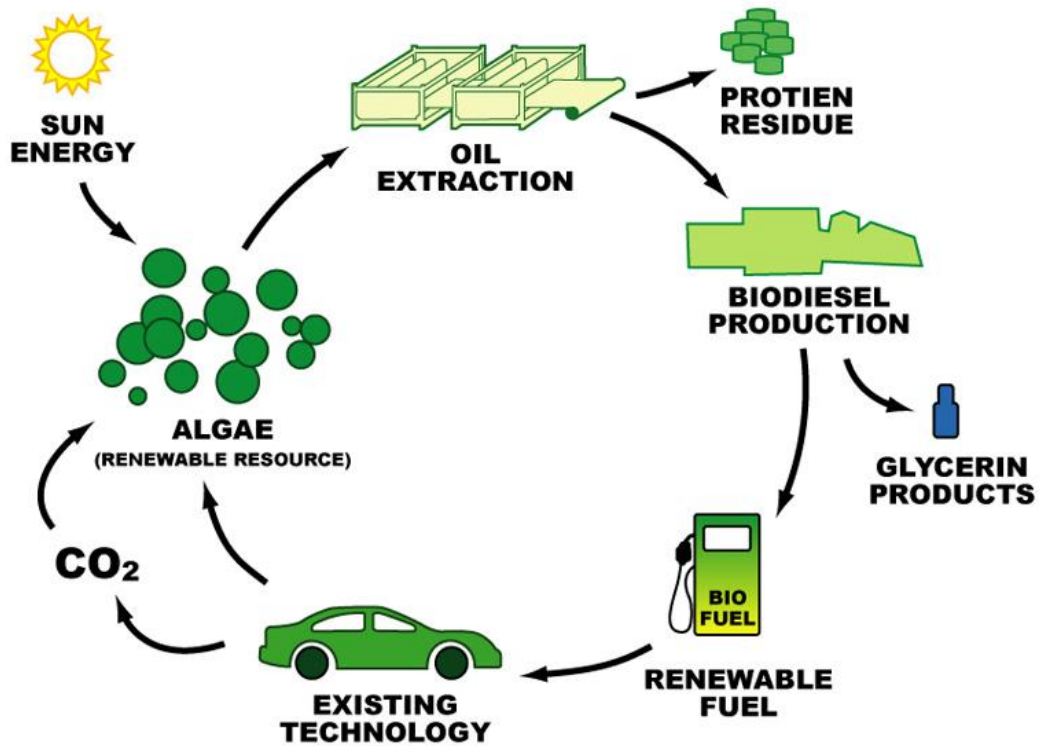


Figura8. Proceso Producción Biodiesel de algas

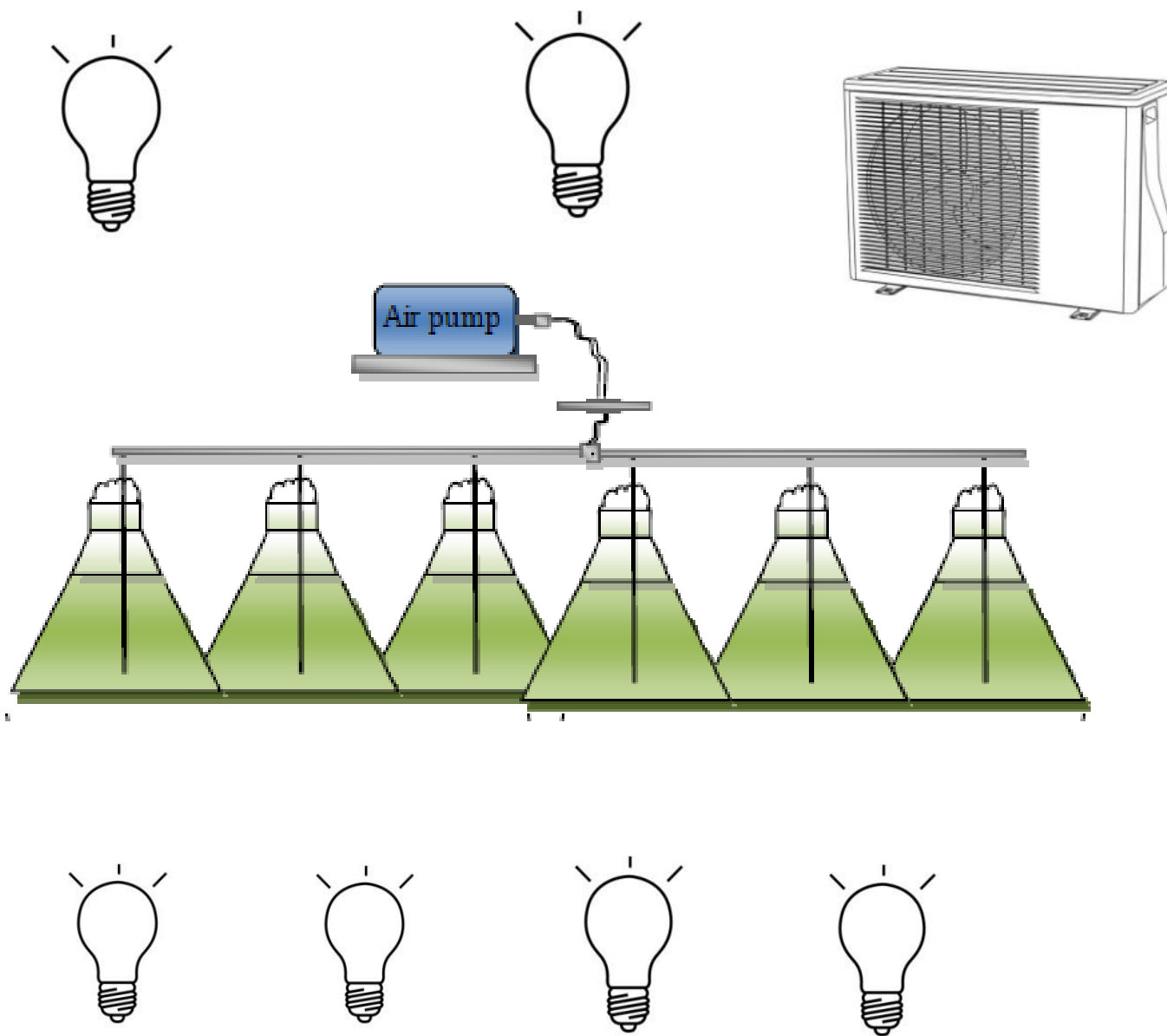


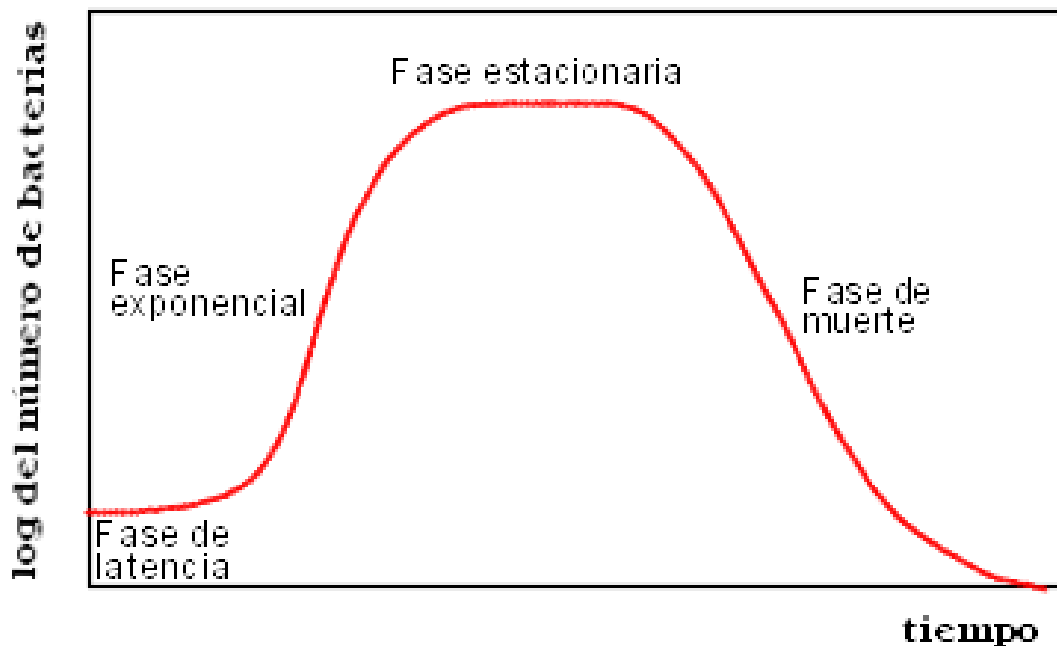
Figura 9. Distribución para birreactor

Fuente: "Obtención de biodiesel a partir de la micro alga *Chlorella vulgaris*" Ramón S., Emil D.

Diagrama de crecimiento Microorganismos

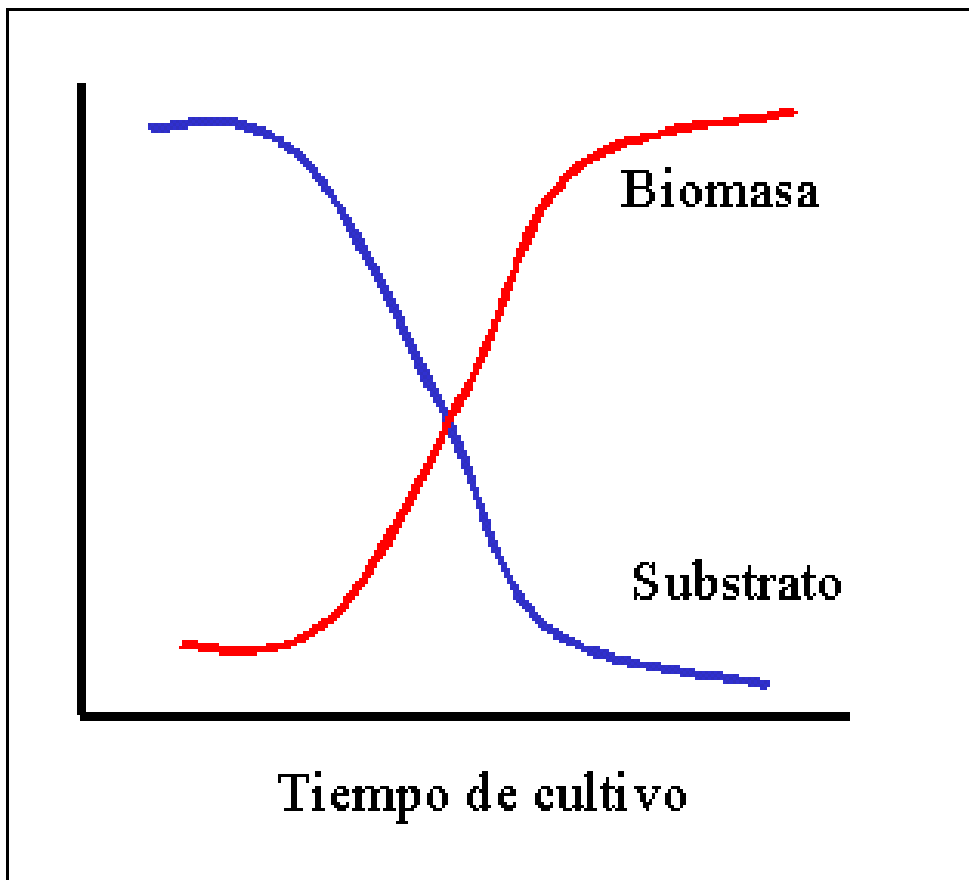
El crecimiento de los microorganismos (un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio) se divide en cuatro etapas:

1. Fase de latencia o adaptación: En la cual los microbios se acostumbran al medio, en esta fase hay poco crecimiento celular.
2. Fase exponencial: Los microbios ya se adaptaron al medio, y comienzan a reproducirse de manera exponencial, aumentando su población de manera rápida.
3. Fase estacionaria: Aquí, la mayor parte de la población es adulta; es ideal para realizar cultivos, y transportarlos a otros medios; es en esta etapa cuando podemos trabajar con los microbios.
4. Fase de muerte o declive: Ya no hay suficiente sustrato, o hay producción de alguna sustancia tóxica y empiezan a morir.



Crecimiento vs Disminución de sustrato.

En esta tabla se puede observar fácilmente como va disminuyendo la cantidad de sustrato a medida que aumenta la densidad poblacional del microorganismo. Siendo bien claro porque mueren los microbios en la cuarta etapa.



Anexo III: Tablas

| Tipo Agua | Microalga | Lípidos (% peso seco) | Referencia (libros y publicaciones) |
|------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|---|
| Agua dulce | <i>Chlorella emersonii</i> | 63 | Illman, et al., 2000 |
| | <i>Chlorella protothecoides</i> | 11-59 | Illman, et al., 2000; Miao y Wu, 2006; Shen et al., 2009 |
| | <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 27 | Tang et al., 2011a |
| | <i>Chlorella sorokiniana</i> | 13-23 | Illman, et al., 2000; Zheng et al., 2012 |
| | <i>Chlorella saccharophila</i> | 18-54 | Isleten et al., 2012; Zheng et al., 2012 |
| | <i>Chlorella sp.</i> | 19-43 | Rodolfi et al., 2009; Praveenkumar et al., 2012 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | 15-58 | Illman et al., 2000; Converti et al., 2009; Widjaja et al., 2009; Yeh, et al., 2012 |
| | <i>Chlorella zofingiensis</i> | 51 | Liu et al., 2011 |
| | <i>Haematococcus pluvialis</i> | 35 | Damiani et al., 2010 |
| | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 26-38 | Li et al., 2008; Pruvost et al., 2009; Popovich et al., 2012 |
| | <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 31 | Shen et al., 2009 |
| | <i>scenedesmus incrassatulus</i> | 8-12 | Hernández et al., 2009; Arias et al. 2011 b |
| | <i>scenedesmus obliquus</i> | 10-43 | Mandal y Mallick, 2009; Ho et al., 2010; Tang et al., 2011 |
| | <i>scenedesmus rubescens</i> | 27-43 | Arias et al. 2011 b |
| <i>scenedesmus sp.</i> | 7-53 | Hernández et al., 2009; Arias et al. | |
| Marina | <i>Chlorella minutissima</i> | 57 | Illman et al., 2000 |
| | <i>Chlorella sp.</i> | 35-52 | Chiu et al., 2008 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | 57 | Liu et al., 2008 |
| | <i>Dubaliella tertiolecta</i> | 24 | Tang et al., 2011b |
| | <i>Nannochloris sp.</i> | 40 | Takagi et al., 2000 |
| | <i>Nannochloropsis oculata</i> | 8-54 | Chiu et al., 2009 |
| | <i>Nannochloropsis sp.</i> | 24-60 | Rodolfi et al., 2009; Pal et al., 2011 |
| | <i>Tetraselmis suecica</i> | 20-54 | Rodolfi et al., 2009 |

Tabla1. Composición en lípidos de algunos tipos de alga.

| Espece | %Contenido lipídico (gLipidos/gPeso-seco X100) | Espece | %Contenido lipídico (gLipidos/gPeso-seco X100) |
|---|---|--|---|
| <i>Ankistrodesmus</i> sp. ^{2,4,6} | 24.5 – 40.3 | <i>Hormotilopsis gelatinosa</i> ² | 49.1 |
| <i>Botryococcus braunii</i> var. A ^{2,5} | 43.0 – 63.0 | <i>Isochrysis</i> sp. ^{4,8} | 7.1 – 47.0 |
| <i>Botryococcus braunii</i> var. B ^{2,5} | 53.0 – 86.0 | <i>Monallantus salina</i> ^{1,2} | 20.0 – 72.2 |
| <i>Botryococcus sudeticus</i> ⁷ | 9.39 – 23.09 | <i>Monodus subterraneus</i> ^{2,10} | 39.3 - 40.0 |
| <i>Chaetoceros gracilis</i> ² | 46.0 | <i>Nannochloris</i> sp. ^{1,8} | 20.0 – 47.8 |
| <i>Characium polymorphum</i> ² | 42.0 | <i>Nannochloropsis salina</i> ⁸ | 40.8 – 72.2 |
| <i>Chlamydomonas applanata</i> ² | 32.8 | <i>Nannochloropsis</i> sp. ^{1,9} | 28.7 – 68.0 |
| <i>Chlorella emersonii</i> ^{9,10} | 63.0 | <i>Naviculla pelliculosa</i> ^{2,8} | 22.0 – 44.8 |
| <i>Chlorella minutissima</i> ^{9,10} | 57.0 | <i>Neochloris oleoabundans</i> ^{2,3} | 18.9 – 88.8 |
| <i>Chlorella protothecoides</i> ¹⁰ | 23.0 | <i>Nitzschia laevis</i> ¹⁰ | 69.1 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ^{2,8} | 14.4 – 35.8 | <i>Nitzschia pelea</i> Kutz ^{2,8} | 27.2 – 39.5 |
| <i>Chlorella sorokiana</i> ^{9,10} | 22.0 | <i>Nitzschia</i> sp. ^{1,4} | 22.1 – 47.0 |
| <i>Chlorella</i> sp. ¹ | 28.0 – 32.0 | <i>Ochromonas danica</i> ^{2,8} | 39.0 – 71.0 |
| <i>Chlorella vulgaris</i> ⁹ | 5.1 - 56.0 | <i>Oocystis polymorpha</i> ² | 34.7 |
| <i>Chlorococcum oleofaciens</i> ² | 44.3 | <i>Parietochloris incisa</i> ¹⁰ | 62.0 |
| <i>Chlorosarcinopsis nagevensis</i> ² | 32.2 | <i>Ourococcus</i> sp. ^{2,8} | 27.0 – 49.5 |
| <i>Chroomonas salina</i> ⁸ | 44.0 | <i>Peridinium cinetum</i> fa. Westi ² | 36.0 |
| <i>Chrysochromulina kappa</i> ^{2,8} | 32.6 | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> ² | 31.0 |
| <i>Chrysochromulina polylepsis</i> ^{2,8} | 47.6 | <i>Protosiphon botryoides</i> ^{2,8} | 37.0 |
| <i>Cosmarium laeve</i> ^{2,8} | 15.0 - 33.0 | <i>Prymnesium parvm</i> ^{2,8} | 22.0 - 38.2 |
| <i>Cryptocodinium cohnii</i> ¹ | 20.0 | <i>Radiosphaera nagevensis</i> ^{2,8} | 43.0 |
| <i>Cyclotella cryptica</i> ² | 36.8 | <i>Scenedesmus dimorphus</i> ^{2,8,9} | 6.0 – 40.0 |
| <i>Cyclotella</i> sp. ² | 54.0 | <i>Scenedesmus obliquus</i> ⁹ | 11.0 - 55.0 |
| <i>Cylindrotheca</i> sp. ¹ | 16.0 – 37.0 | <i>Scotiella</i> sp. ^{2,8} | 34.5 – 48.0 |
| <i>Dunaliella primolecta</i> ^{1,2,8} | 23.0 – 53.8 | <i>Schizochytrium</i> sp. ¹ | 50.0 - 77.0 |
| <i>Dunaliella salina</i> ^{2,4,8} | 9.2 – 47.2 | <i>Skeletonema costatum</i> ² | 30.3 |
| <i>Euglena gracilis</i> ² | 55.0 | <i>Stichococcus bacillaris</i> ² | 38.9 |
| <i>Hantzchia</i> sp. ² | 61.0 | <i>Tetraselmis sueica</i> ¹ | 15.0 – 23.0 |

Tabla2. Composición en lípidos de algunos tipos de alga.

| Stock solutions | Concentration per litre of distilled water ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) | | |
|---|---|--------|--|
| 1. $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 36.76 | | |
| 2. $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 36.97 | | |
| 3. NaHCO_3 | 12.60 | | |
| 4. K_2HPO_4 | 8.71 | | |
| 5. NaNO_3 | 85.01 | | |
| 6. $\text{Na}_2\text{SiO}_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | 28.42 | | |
| 7. Na_2EDTA | 4.36 | | |
| 8. $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 3.15 | | |
| 9. Metal Mix | $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.01 | Each constituent was added separately to ~750 mL of dH_2O then completed to up to 1 L with dH_2O |
| | $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.022 | |
| | $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0.01 | |
| | $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 0.18 | |
| | $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.006 | |
| 10. Vitamin stock | Cyanocobalamin (Vitamin B12) | 0.0005 | |
| | Thiamine HCl (Vitamin B1) | 0.10 | |
| | Biotin | 0.0005 | |
| 11. Tris stock | 250.0 | | |

Tabla 3. Medio de cultivo Woods-Hole

| | Requerimientos | Compuestos Químicos | Valores |
|-------------------|----------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| Físicos | Luz | | 4000-8000 Lux |
| | Temperatura | | 15-22 °C |
| | Salinidad | | 0,37% |
| | pH | | 07-sep |
| | Redox | | |
| Nutritivos | C | CO ₂ , CO ₃ | g/100 ml |
| | O, H | O ₂ , H ₂ O | g/100 ml |
| | N | N-NH ₄ , NO ₃ | g/100 ml |
| | P | PO ₄ ⁻³ | g/100 ml |
| | S | SO ₄ ⁻² | g/100 ml |
| | Na, K, Ca, Mg | sales | g/100 ml |
| | Fe, Zn, Mn, B, Br, Si | sales | mg/100 ml |
| | Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, et | sales | µg/100 ml |
| | Vitaminas | B12, tiamina, biotina | µg/100 ml |

Tabla 4. Requerimiento nutricional de las microalgas

| Ensayo | Unidades | Valor Limite | Norma de Ensayo |
|---|--------------------|--------------|-----------------|
| Contenido en éster | % (m/m) | Min 96.5% | UNE EN 14103 |
| Densidad a 15°C | Kg/m ³ | 860-900 | EN ISO 3675 |
| Viscosidad a 40°C | Mm ² /s | 3.50-5.00 | UNE EN ISO 3104 |
| Flash Point | °C | Min 120 | ISO 3679 |
| Contenido en azufre | mg/kg | 10.0 | ISO 20846 |
| Numero de cetano | | 51.0 | EN ISO 5165 |
| Residuo carbonoso | % (m/m) | 0.30 | ISO 10370 |
| Contenido en cenizas de sulfatos | % (m/m) | 0.02 | ISO 3987 |
| Contenido en agua | mg/kg | 500 | EN ISO 12937 |
| Contaminación total | mg/kg | 24 | EN 12662 |
| Corrosión en lamina de cobre | Clasificación | Clase 1 | EN ISO 2160 |
| Estabilidad a la oxidación | Horas | Min 6.0 | UNE EN 14112 |
| Valor ácido | Mg KOH/g muestra | 0.50 | UNE EN 14104 |
| Índice de Yodo | g I /100 g muestra | 120 | UNE EN14111 |
| M. E. Linoleico | % (m/m) | 12.0 | UNE EN 14103 |
| M. E. Poliinsaturados | % (m/m) | 1 | |
| Contenido en metanol | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14110 |
| Contenido en mono glicéridos | % (m/m) | 0.80 | UNE EN 14105 |
| Contenido en di glicéridos | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14105 |
| Contenido en triglicéridos | % (m/m) | 0.20 | UNE EN 14105 |
| Glicerina libre | % (m/m) | 0.02 | UNE EN 14105 |
| Glicerina total | % (m/m) | 0.25 | UNE EN 14105 |
| Metales del grupo I (Na ⁺ ,K ⁺) | mg/kg | 5.0 | UNE EN 14108 |
| Metales del grupo II (Ca ⁺² , Mg ⁺²) | mg/kg | 5.0 | Pr EN 14538 |
| Contenido en fosforo | mg/kg | 10.0 | UNE EN 14107 |
| CFPP | °C | | EN 116 |

Tabla 5. Parámetros de calidad de biocombustibles según la Union Europea.

| Ensayo | Unidades | Valor Limite | Biodiesel de algas |
|--|--------------------|--------------|--------------------|
| Densidad a 15°C | Kg/m ³ | 860-900 | 898 |
| Viscosidad a 40°C | Mm ² /s | 3.50-5.00 | 3.68 |
| Contenido en agua | %(v/v) | Max 0.05 | 0.04 |
| Valor ácido | Mg KOH/g muestra | Max 0.50 | 0.657 |
| Índice de Yodo | g I /100 g muestra | Max 120 | 22.66 |
| Contenido en metanol | %(m/m) | Max 0.20 | 0.1035 |
| Metales del grupo I (Na ⁺ ,K ⁺) | mg/kg | Max 5.0 | < 2.0 |
| Contenido en Azufre | Mg/kg | Max 10.0 | < 2.0 |

Tabla 6.Resultados de ensayos de calidad.

| Utensilio | Consumo/h | Horas de Uso | Total Consumo /h (KWh) |
|----------------------|--------------|--------------|-----------------------------------|
| Bombilla 1 | 60 W | 960 | 57,600 W (57.6 kWh) |
| Bombilla 2 | 60 W | 960 | 57,600 W (57.6 kWh) |
| Lámpara Fluorescente | 21W | 960 | 20,160 W (20.16 kWh) |
| Aire Acondicionado | 740 W | 1160 | 858,400 W (858.4 kWh) |
| Bomba Aire | 2W | 1160 | 22320 W (2.32 kWh) |
| TOTAL | 883 W | 5200 | 1,1016,080 W (1,016.08kWh) |

Tabla 7. Consumo de utensilios para Reactor.

A continuación se muestra la tabla de tarifa del sistema interconectado de electricidad, que aplica para la categoría BTS1: iglesias, casas, escuelas y universidades.

| TARIFA SIE PARA SISTEMA INTERCONECTADO | | | Marzo, Abril , Mayo | |
|--|---|----------|-----------------------|-----------------------|
| | | | TARIFA CALCULADA RD\$ | TARIFA CALCULADA RD\$ |
| BTS1 | Cargo Fijo | | | |
| | Consumo Mensual de 0 hasta 100 kwh CFBTS050 | | 33,83 | 37,95 |
| | Consumo Mensual de 101 en adelante CFBTS075 | | 122,33 | 137,25 |
| | Energía | | | |
| | 0-200 KWh | CEBTS1Bo | 8,21 | 4,44 |
| | 0-200 KWh | CEBTS1Co | 8,21 | 6,97 |
| | 0-200 KWh | CEBTS1Do | 10,12 | 10,86 |
| | 0-200 KWh | CEBTS1Io | 10,12 | 11,1 |

Tabla 8. Tarifa SIE para sistemas interconectados

Anexo IV: Manual de procedimientos de análisis.

Viscosidad: Viscosímetro Saybolt

La viscosidad se mide utilizando un Viscosímetro Saybolt. Una vez obtenido el tiempo que tardó en completarse la copa, se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{SSU} = \text{Centistokes} \times 4.62$$

SSu= segundos Saybolt Universal

1 centistoke = 1 mm²/s

Gravedad Específica: Método AASHTO T-228

1. Alcance

Este método de ensayo cubre la determinación de gravedad específica de una muestra conocida.

2. Gravedad específica

La gravedad específica de una muestra se expresa como la relación del peso de un volumen dado de esta a 25 C (77 F) y un igual volumen de agua a la misma temperatura, y debe expresarse de este modo:

$$\text{Gravedad Especifica, 25/25 C (77/ 77 F)}.$$

3. Aparatos

La determinación de la gravedad específica debe ser hecha con un picnómetro de vidrio, consistente de un vaso cilíndrico o cónico que tenga un tapón que ajuste correctamente de aproximadamente 22 a 26 mm de diámetro.

El tapón debe estar provisto con un agujero de aproximadamente 1.0 a 2.0 mm de diámetro. Localizado en el centro en referencia al eje vertical. La superficie de arriba del tapón debe ser suave y substancialmente plana, la superficie de abajo del tapón debe ser cóncava en orden de permitir que todo el aire escape a través del agujero. La altura de la sección cóncava debe ser de aproximadamente 5 mm en el centro. El picnómetro tapado debe tener una capacidad de cerca de 24 a 30 ml, y debe pesar no más de 40 gramos.

4. Calibración del picnómetro

Limpie completamente, seque y pese el picnómetro con el tapón. Designe este peso como “a”. llene el picnómetro con agua destilada recién hervida, inserte firmemente el tapón, y sumerja el picnómetro en un beaker de agua destilada recién hervida a 25 C (77 C), el tiempo que durara el picnómetro sumergido dependerá de la sustancia a medir. Con el picnómetro y su contenido a esa temperatura, descubra la parte superior del tapón e inmediatamente seque el agua que lo cubre de modo que su superficie este seca y el menisco del agujero se enrase con la parte superior del tapón. Remueva el picnómetro desde el beaker, y entonces enfríelo a una temperatura ligeramente por debajo de 25 C. seque la humedad de la superficie exterior del picnómetro con un trapo limpio y seco y péselo inmediatamente. Designe este peso como “b”.

5. Procedimiento

Vierta parte de la muestra en el picnómetro hasta llenarlo cerca de la mitad. Tome precauciones para evitar que el material toque los lados del picnómetro, y evite la inclusión de burbujas. Lleve el picnómetro y su contenido hasta temperatura ambiente y pese, a esto lo designamos como “c”. Luego, complete el picnómetro con agua destilada recién hervida, e inserte firmemente el tapón. Sumérjalo completamente en agua destilada recién hervida mantenida a 25 C hasta que el picnómetro y su contenido alcancen esta misma temperatura. Una vez logrado esto, descubra la parte superior del tapón e inmediatamente quite el agua que lo cubre, de modo que esta superficie este seca y que el menisco del agua en el agujero se enrase con la parte superior del tapón.

Remueva el picnómetro desde el beaker, enfríelo a una temperatura ligeramente por debajo de 25 C. seque toda humedad de la superficie exterior del picnómetro, e inmediatamente péselo. Designe este peso como “d”.

Notas:

- Si se desea conocer la gravedad específica a otras temperaturas, se repite el mismo proceso y solo se varía la temperatura de 25 C (77 F) por la otra a la cual se desea trabajar.
- No se especifica el tiempo que debe durar sumergido las sustancias y el picnómetro en el agua, porque dependerá de la muestra que se esté midiendo, un tiempo aceptable para sería 10 mins.

6. Cálculos

Calcule la gravedad específica de la muestra con la siguiente fórmula:

$$\text{Gravedad Especifica} = \frac{c - a}{(b - a) - (d - c)}$$

7. Precauciones

Cuando se hace la determinación de la gravedad específica es importante que:

- Solamente se use agua destilada recién hervida.
- La temperatura de 25 C (77 F) debe ser interpretada como 25.0 C (77.0 F) , con una variación permisible de + 0.2 C (+0.4F).
- Se deben tomar precauciones para prevenir expansión y sobre flujo de los contenidos desde el calor de las manos, cuando se seque la superficie del picnómetro.
- La presencia de toda burbuja de aire debe ser eliminada al llenar el picnómetro.
- Los pesos deben ser registrados al miligramo.

Valor ácido

Método operatorio:

1. Se mezclan 25 ml de éter etílico, 25 ml de etanol al 96% y 1 ml de solución fenolftaleína (1%).

Se neutraliza cuidadosamente con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.01M.

2. Se disuelven 1.5 g del aceite, en 10 ml de la mezcla neutralizada de solventes recientemente preparada. se agita hasta solubilizar completamente la muestra.
3. Se titula la mezcla con una solución de hidróxido de sodio 0.01 M utilizando como indicador fenolftaleína (1%). Se agita constantemente hasta que el color rosa persista por aproximadamente 30 segundos.

Cálculos:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{56.1 \times N \times V}{\text{pesomuestra}}$$

mgNaOH/ g muestra

Dónde:

N = Normalidad de la solución de NaOH

V= Volumen de NaOH en ml, gastados para la titulación.

NOTA: se debe realizar una equivalencia entre KOH y NaOH al momento de mostrar los resultados.

Fuente: "formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento" De la cruz Rodríguez, Eduar Ruber; Huaman Gutiérrez, Juan Orlando

Determinación del índice de Yodo: Método de Wijs

Método operatorio:

1. Preparación del reactivo de Wijs:

Se disuelven 8 g de tricloruro de yodo en 200 ml de ácido acético glacial. Se disuelven 9 g de yodo en 300 ml de tetracloruro de carbono y luego se mezclan las dos soluciones y se completan a 1000 ml con ácido acético glacial.

2. Se vierten de 0.2 a 0.3 g de muestra en un matraz esmerilado (de aproximadamente 250 ml de capacidad).
3. Se adicionan 10 ml de tetracloruro de carbono al matraz esmerilado y se agita vigorosamente hasta disolver la muestra.
4. Se agregan 20 ml del reactivo de Wijs, se cierra bien el matraz y se deja en reposo en la oscuridad por 30 minutos.
5. Luego, se adiciona al matraz 15 ml de una solución de yoduro de potasio al 10%, 100 ml de agua destilada y Se agita bien.
6. Se titula la mezcla con una solución de tiosulfato de sodio 0.1 M, usando Almidón al 1% como indicador (el indicador se debe agregar casi al final de la titulación).
7. Se realiza una prueba en blanco al mismo tiempo que se analiza la muestra.

Cálculos:

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(b-a) \times 1.269}{g \text{ muestra}}$$

g de I / g muestra

Dónde:

a= ml gastado de tiosulfato para valorar la muestra

b= ml gastado de tiosulfato para valorar el blanco

NOTA:

Si (b - a) es mayor que b/2, se debe repetir la prueba utilizando menor cantidad de muestra.

Fuente: *"formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4-benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento"* De la cruz Rodríguez, Eduar Ruber; Huaman Gutiérrez, Juan Orlando