

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA



OBTENCIÓN DE ACEITE A PARTIR DE ALGAS UNICELULARES OLEOGÉNICAS

Trabajo de graduación presentado por:

Alexandra Carolina Iten Rivas, Fabiola Marisol Morales Morales, Gabriela María Hurtado Corrales, María Paola Vettorazzi Vargas y Mellany Stephani Argueta Castillo para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Química y por Juan Luis Monzón Santos para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Industrial

Guatemala

2012

OBTENCIÓN DE ACEITE A PARTIR DE ALGAS UNICELULARES OLEOGÉNICAS

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA

OBTENCIÓN DE ACEITE A PARTIR DE ALGAS UNICELULARES OLEOGÉNICAS

Trabajo de investigación presentado por Alexandra Carolina Iten Rivas, Fabiola Marisol Morales Morales, Gabriela María Hurtado Corrales, María Paola Vettorazzi Vargas y Mellany Stephani Argueta Castillo para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Química y por Juan Luis Monzón Santos para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Industrial

Guatemala

2012

Vo. Bo.:

Asesores:


(f) 
Licenciado Osbel Núñez Jiménez


(f) 
Ingeniero Jaime Rosales Solórzano
Colegiado 320

(f) 
Ingeniero Ronald Cortés Quiñónez

Fecha de aprobación: 15 de noviembre de 2012

Tribunal Examinador:

(f) 
Ingeniero Gabriel Zambrano Ruano
Colegiado 686

(f) 
Ingeniero Jaime Rosales Solórzano
Colegiado 320

(f) 
Licenciado Osbel Núñez Jiménez

(f) 
Licenciado Roberto de León
Colegiado 427

Fecha de aprobación: 15 de noviembre de 2012

INDICE

	Página
ÍNDICE.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
INDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	xvi
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	xix
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
A. Contaminación ambiental	2
B. Energía renovable	5
C. Biocombustibles	6
D. Microalgas	10
1. Microalgas como alternativa para materia prima para la producción de biocombustibles.	12
2. Condiciones ambientales para cultivo de microalgas a escala laboratorio.....	14
3. Preservación de microalgas para futuro cultivo.	16
4. Cámara de Neubauer.....	19
1. Sistema abierto, raceway o laguna abierta.....	21
2. Invernadero.....	21
3. Fotobiorreactores.....	22
4. Equipos de fermentación.....	23
5. Cultivo mediante sistema abierto (biorreactor de pileta).....	23
F. Extracción de aceite	26
1. Obtención de la masa celular.....	26
2. Obtención del aceite.	28
G. Estudio de factibilidad.....	39
H. Balanced ScoreCard.....	40
I. Estimación de costo de proyectos	40
J. Análisis financiero.....	41

III.	JUSTIFICACIÓN	43
IV.	OBJETIVOS	44
	A. General.....	44
	B. Específicos	44
V.	PROBLEMA A RESOLVER.....	47
VI.	METODOLOGÍA.....	48
	A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO	49
	B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIOREACTOR TIPO PILETA....	50
	C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO.....	52
	D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE CON MÉTODO BLIGH & DYER Y BLIGH Y DYER MODIFICADO	53
	E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE CON MÉTODO SOXHLET	54
	F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	55
VII.	RESULTADOS	95
	A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO.....	95
	B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA.....	102
	C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO.....	106
	D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO DE BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO.....	115
	E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET.....	126
	F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	128
VIII.	DISCUSIÓN.....	140
	A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO	140
	B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA.....	150
	C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO.....	160
	D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO	175
	E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACIETE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET.....	180
	F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	185

IX.	CONCLUSIONES	193
X.	RECOMENDACIONES	194
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	195
XII.	APÉNDICE	208
A.	MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO	208
1.	Apéndice A: Equipo utilizado.....	208
2.	Apéndice B: Diagrama de Flujo del sistema	210
3.	Apéndice C: Datos obtenidos	210
4.	Apéndice D: Cálculos de muestra	216
5.	Apéndice E: Datos calculados.....	218
6.	Apéndice F: Análisis de error	235
7.	Apéndice G: Gráficas	239
8.	Apéndice H: Medio de cultivo	246
9.	Apéndice I: Fotografías del proyecto	247
B.	MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA.....	251
1.	Apéndice A: Bases de diseño.....	251
2.	Apéndice B: Cálculos de diseño.....	253
3.	Apéndice C: Dimensiones del equipo.....	261
4.	Apéndice D: Gráficas de control.....	262
5.	Apéndice E: Crecimiento celular promedio en biorreactores de 5 y 15 L.....	264
6.	Apéndice F: Análisis estadístico	266
7.	Apéndice G: Balance de masa y energía del biorreactor de pileta de 15 L.....	267
8.	Apéndice H: Costos de montaje	268
9.	Apéndice I: Fotografías del proyecto	269
C.	MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO.....	278
1.	Apéndice A: Cálculos de muestra	278
2.	Apéndice B: Análisis estadístico.....	279
3.	Apéndice C: Cálculo de análisis de error.....	281
4.	Apéndice D: Lectura en Cámara de Neubauer Improved	283
5.	Apéndice E: Análisis económico.....	286
6.	Apéndice F: Equipo.....	289
7.	Apéndice G: Fotografías del proyecto	291

D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO	294
1. Apéndice A: Codificación de muestras y métodos	294
2. Apéndice B: Metodología de extracción de aceite	295
3. Apéndice C: Procedimiento de Operación	296
4. Apéndice D: Metodología para análisis de ácido grasos.	301
5. Apéndice E: Análisis Estadístico de datos	303
6. Apéndice F: Cromatogramas	313
7. Apéndice G: Descripción de cromatogramas	318
8. Apéndice H: Equipo	320
9. Apéndice I: Hoja de Seguridad de solventes	325
E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACIETE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET	337
1. Apéndice A. Datos de placa del equipo	337
2. Apéndice B. Datos de cristalería	339
3. Apéndice C. Datos originales	340
4. Apéndice D. Cálculo de muestra	345
5. Apéndice E. Análisis de error	349
6. Apéndice F. Datos calculados	351
7. Apéndice G. Cromatogramas	353
8. Apéndice H. Procedimiento de extracción Soxhlet	356
9. Apéndice I. Procedimiento de análisis de ácidos grasos	358
10. Apéndice J. Fotografías del proyecto	359
11. Apéndice K. Hoja de seguridad de éter diisopropil	366
12. Apéndice L. Hoja de seguridad de hexano	369
F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉOTODS DE EXTRACCIÓN	373
1. Apéndice A: Datos calculados	373
2. Apéndice B	381
3. Apéndice C	382
4. Apéndice D	383
5. Apéndice E: Reglament del ISR sobre la depreciación	384
6. Apéndice F: Flujos de efectivo, por escala por método de extracción	385
7. Apéndice G: Estado de resultados por escala por método de extracción	390

8. Apéndice H: Gráficas de análisis de sensibilidad por escala, por método de extracción para el VPN.....	397
9. Apéndice I: Gráficas de análisis de sensibilidad por escala, por método de extracción para la TIR	401
10. Apéndice J: Sistema de medición completo por método de extracción	405
11. Apéndice K: Gráficas de resultados principales	408
G. GLOSARIO.....	411
H. NOMENCLATURA.....	419

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura No. 1 Método de subcultivos en placas Petri	17
Figura No. 2 Cuadrícula de cámara Neubauer.....	20
Figura No. 3 Curva típica de crecimiento celular.....	20
Figura No. 4 Esquema de un diseño típico de reactor tipo pileta para la producción de microalga	24
Figura No. 5 Diagrama de fases de una sustancia pura	31
Figura No. 6 Extracción sólido-líquido en sistema Soxhlet	34
Figura No. 7 Estructura de éter diisopropil.....	35
Figura No. 8 Estructura de hexano	35
Figura No. 9 Esquema de la extracción Soxhlet asistida con ultrasonido	39
Figura No. 10 Ubicación de recolección de microalgas de Lago de Amatitlán, Guatemala.....	53
Figura No. 11 Diagrama de flujo para el método de extracción Soxhlet	72
Figura No. 12 Diagrama de flujo para los métodos Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado	79
Figura No. 13 Vista de planta superior del biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala	103
Figura No. 14 Diagrama de flujo del biorreactor de pileta de 15 L.	104
Figura No. 15 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer-Improved.....	165
Figura No. 16 Diagrama de flujo de sistema de cultivo de microalgas.....	210
Figura No. 17 Medio de cultivo de la ATCC	246
Figura No. 18 Composición de Nitrofoska® Foliar SL.....	247
Figura No. 19 Diagrama del reactor tipo pileta.....	254
Figura No. 20 Recuento de 5 cuadros grandes de cámara de Neubauer	260
Figura No. 21 Área de muestreo en ambos reactores	264
Figura No. 22 Balance de masa y energía del biorreactor de pileta de 15 L)	267
Figura No. 23 Cotización de Talleres Hernández para bioreactor tipo pileta de 15 L.....	268
Figura No. 24 Vista de planta inferior del biorreactor de pileta de 15 L.....	273
Figura No. 25 Vista frontal del biorreactor de pileta de 15 L	274
Figura No. 26 Vista transversal frontal del biorreactor de pileta de 15 L.....	275
Figura No. 27 Vista lateral del biorreactor de pileta de 15 L	276
Figura No. 28 Vista del sistema de agitación del biorreactor de pileta de 15 L...	277
Figura No. 29 Información de Cromatograma No. 6	318
Figura No. 30 Información de Cromatograma No. 7	318
Figura No. 31 Información de Cromatograma No. 10	319

Figura No. 32 Información de Cromatograma No.10 (Continuación)	320
Figura No. 33 Reporte de sustancias detectadas en la muestra de extracto de algas del lago de Amatitlán por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala	342
Figura No. 34 Reporte de tiempo de retención detectado en la muestra de extracto de <i>Scenedesmus sp</i> utilizando hexano como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala	342
Figura No. 35 Reporte de tiempo de retención detectado en la muestra de extracto de <i>Scenedesmus sp</i> utilizando éter diisopropil como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala	343
Figura No. 36 Reporte de retención detectado en el extracto higuierillo utilizando hexano como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la UVG.....	344
Figura No. 37 Código de trabajo de Guatemala.....	382
Figura No. 38 Cotización de equipo de extracción Sonhlet.....	383

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Página
Fotografía No. 1 Cultivo de algas unicelulares en fotobiorreactor.....	22
Fotografía No. 2 Reactor tipo estanque abierto ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias en la Universidad del Valle de Guatemala	65
Fotografía No. 3 Equipo de ultrasonido UP100H en la Universidad del Valle de Guatemala.....	69
Fotografía No. 4 Equipo de extracción Soxhlet instalado en la Universidad del Valle de Guatemala.....	73
Fotografía No. 5 Agitador Vortex Mixer marca Fisher STD en la Universidad del Valle de Guatemala.....	80
Fotografía No. 6 Máquina centrífuga Centrifac Model 228 marca Fisher Scientific en la Universidad del Valle de Guatemala	81
Fotografía No. 7 Muestra de microalga del Lago de Amatitlán antes y después del tratamiento con ultrasonido	163
Fotografía No. 8 Muestra de microalgas del Lago de Amatitlán a distintos tiempos de exposición de ultrasonido	167
Fotografía No. 9 Cavitación en una muestra de microalgas del Lago de Amatitlán después de 5 minutos de tratamiento ultrasónico	168
Fotografía No. 10 Muestra de la cepa <i>Scenedesmus sp.</i> antes y después del pre-tratamiento ultrasónico.....	169
Fotografía No. 11 Muestra de microalgas del Lago de Amatitlán a distintos tiempos de exposición de ultrasonido	170
Fotografía No. 12 Sistema inicial para reproducción de microalgas	247
Fotografía No. 13 Inyección manual de Dióxido de Carbono.....	248
Fotografía No. 14 Muestras en Experimento 1	248
Fotografía No. 15 Muestras en Experimento 2 y 3.....	248
Fotografía No. 16 Segunda fase de sistema de área de reproducción de microalgas.....	249
Fotografía No. 17 Muestra, Medio de cultivo e inóculo a. medio de cultivo sintético de sales, b. Medio de cultivo fertilizante foliar.....	250
Fotografía No. 18 Inoculación en agar	250
Fotografía No. 19 Biorreactor de pileta de 15 L con lámpara fluorescente integrada ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala	269
Fotografía No. 20 Vista lateral del biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	269

Fotografía No. 21 Descargando biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	270
Fotografía No. 22 Biorreactor de 5 L ubicado en el segundo nivel del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	270
Fotografía No. 23 Agitación en Biorreactor de 5 L ubicado en el segundo nivel del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	271
Fotografía No. 24 Cámara de Neubauer para recuento del crecimiento celular en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica (edificio I1, primer nivel).....	271
Fotografía No. 25 Microscopio para visualizar células en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica (edificio I1, primer nivel).....	272
Fotografía No. 26 Muestras de las cuatro áreas del biorreactor de 15 L	272
Fotografía No. 27 Equipo de Ultrasonido UP100H utilizado para las pruebas....	290
Fotografía No. 28 Cámara Neubauer Marienfeld	290
Fotografía No. 29 Filtración de algas del Lago de Amatitlán.....	291
Fotografía No. 30 Muestra de algas de Lago de Amatitlán	291
Fotografía No. 31 Vista en microscopio de algas del Lago de Amatitlán sin pre-tratamiento ultrasónico.....	292
Fotografía No. 32 Vista en microscopio de algas <i>Scenedesmus sp.</i> sin pre-tratamiento ultrasónico.....	292
Fotografía No. 33 Vista de microscopio de la Cepa UVG sin pre-tratamiento ultrasónico.....	293
Fotografía No. 34 Secado de microalga en el secador del Laboratorio de Operaciones Unitarias de Universidad del Valle de Guatemala.....	295
Fotografía No. 35 Microalga extracción Método Bligh&Dyer.....	296
Fotografía No. 36 Tubos de centrífuga, centrífuga del laboratorio de biodisel de la Universidad del Valle de Guatemala	296
Fotografía No. 37 Frasco para biomasa filtrada	297
Fotografía No. 38 Biomasa para secar	297
Fotografía No. 39 Mortero	297
Fotografía No. 40 Tubo de vidrio de 15mL para centrífuga.....	298
Fotografía No. 41 Microalga con solvente.....	298
Fotografía No. 42 Tubo de centrífuga en el vortex ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	299
Fotografía No. 43 Luego del vortex.....	299
Fotografía No. 44 Separación de fases.....	300
Fotografía No. 45 Extracción de la capa orgánica	300
Fotografía No. 46 Extracto, estufa ubicada en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	300

Fotografía No. 47 Derivatización de ésteres metílicos	301
Fotografía No. 48 Muestra para cromatografía de gases.....	302
Fotografía No. 49 Balanza Analítica OHAUS, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	320
Fotografía No. 50 Vortex, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	321
Fotografía No. 51 Centrífuga Damon/ IEC Division, Laboratorio de biodiesel	321
Fotografía No. 52 Centrífuga pata separación de fases.....	322
Fotografía No. 53 Centrífuga Fisher Scientific, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	322
Fotografía No. 54 Horno Fisher Scientific, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	323
Fotografía No. 55 Estufa Barnstead, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	323
Fotografía No. 56 Secador a través de un tubo con aire, Laboratorio de Operaciones Unitarias.....	324
Fotografía No. 57 Algas recuperadas del lago de Amatitlán	359
Fotografía No. 58 Separación de algas en la centrífuga IEC HN-SII del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG	359
Fotografía No. 59 Alga centrifugada	360
Fotografía No. 60 Secado de algas en secador de bandejas del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG	360
Fotografía No. 61 <i>Scenedesmus sp</i> seca	361
Fotografía No. 62 Muestra de microalgas en filtro para la extracción	361
Fotografía No. 63 Sistema de extracción Soxhlet del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala	362
Fotografía No. 64 Cámara de extracción Soxhlet del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala	362
Fotografía No. 65 Evaporación del solvente en estufa CIMAREC del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG	363
Fotografía No. 66 Extracto de algas <i>Scenedesmus sp</i>	363
Fotografía No. 67 Saponificación en proceso de análisis de ácidos grasos	364
Fotografía No. 68 Separación de ácidos grasos	364
Fotografía No. 69 Heptano y ácidos grasos separados	365

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica No. 1 Comparación de crecimiento de microalgas con oxigenación en diferentes medios, Experimento 1	95
Gráfica No. 2 Crecimiento de microalgas en medio 01 y 02, Experimento 2	96
Gráfica No. 3 Crecimiento de microalgas A y B en medio 01 y 02, Experimento 3.....	97
Gráfica No. 4 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio de sales oxigenado	98
Gráfica No. 5 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio de sales oxigenado y CO ₂	99
Gráfica No. 6 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio fertilizante oxigenado.....	100
Gráfica No. 7 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio fertilizante oxigenado CO ₂	101
Gráfica No. 8 Control del crecimiento de cultivo de alga unicelular oleogénica en biorreactor de pileta de 15 litros	105
Gráfica No. 9 Células dañadas de la muestra del Lago de Amatitlán contra tiempo de pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)	109
Gráfica No. 10 Curva de rompimiento de células de microalga del Lago de Amatitlán por medio del pre-tratamiento con ultrasonido	110
Gráfica No. 11 Variación de la temperatura durante el pre-tratamiento para la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán	111
Gráfica No. 12 Células dañadas de la cepa <i>Scenedesmus sp.</i> contra tiempo de pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1).....	112
Gráfica No. 13 Curva de rompimiento de células de la cepa <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del tratamiento con ultrasonido	113
Gráfica No. 14 Variación de la temperatura durante el pre-tratamiento para la muestra de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i>	114
Gráfica No. 15 Desglose de costos de operación para el proceso de extracción mediante método Soxhlet en la Escala 2 (1000 Litros/año).....	135
Gráfica No. 16 Desglose de costos de operación para el método Soxhlet en la Escala 3	137
Gráfica No. 17 Diagrama de Gantt Plan de Seguimiento Fase 1	138
Gráfica No. 18 Crecimiento de algas medio 01, oxigenado, Experimento 1	239

Gráfica No. 19 Crecimiento de algas medio 01, oxigenado y CO ₂ , Experimento 1	239
Gráfica No. 20 Crecimiento de algas medio 01, anóxico, Experimento 1	240
Gráfica No. 21 Crecimiento de algas medio 01, anóxico y CO ₂ , Experimento 1	240
Gráfica No. 22 Media de resultados de crecimiento de cada variable en medio 01, Experimento 1	241
Gráfica No. 23 Crecimiento de algas medio 02, oxigenado, Experimento 1	241
Gráfica No. 24 Crecimiento de algas medio 02, oxigenado y CO ₂ , Experimento 1	242
Gráfica No. 25 Crecimiento de algas medio 02, anóxico, Experimento 1	242
Gráfica No. 26 Crecimiento de algas medio 02, anóxico y CO ₂ , Experimento 1	243
Gráfica No. 27 Media de resultados de crecimiento de cada variable en medio 02, Experimento 1	243
Gráfica No. 28 Crecimiento de microalgas en Medio 01, Experimento 2	244
Gráfica No. 29 Crecimiento de microalgas en Medio 02, Experimento 2	244
Gráfica No. 30 Crecimiento de microalgas A en Medio 01 y 02, Experimento 3	245
Gráfica No. 31 Crecimiento de microalgas B en Medio 01 y 02, Experimento 3	245
Gráfica No. 32 Prueba preliminar del control del crecimiento de alga unicelular oleogénica en bioreactor de pileta de 5 L	262
Gráfica No. 33 Control de temperatura del cultivo en biorreactor de 15 litros	262
Gráfica No. 34 Control de pH del cultivo en biorreactor de 15 litros	263
Gráfica No. 35 Control del crecimiento de alga unicelular oleogénica en bioreactor de pileta de 5 L	263
Gráfica No. 36 Tarifa de energía eléctrica de EEGSA para Guatemala durante el año 2012	286
Gráfica No. 37 Análisis FODA. Enfoque en el cultivo de las microalgas	379
Gráfica No. 38 Análisis FODA. Enfoque en los métodos de extracción	380
Gráfica No. 39 Escala Laboratorio: Método Soxhlet	397
Gráfica No. 40 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer	397
Gráfica No. 41 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer Modificado	398
Gráfica No. 42 Escala 1: Método Soxhlet	398
Gráfica No. 43 Escala 1: Método Bligh and Dyer	399
Gráfica No. 44 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado	399
Gráfica No. 45 Escala 3: Método Bligh and Dyer	400
Gráfica No. 46 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado	400
Gráfica No. 47 Escala Laboratorio: Método Soxhlet	401
Gráfica No. 48 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer	401
Gráfica No. 49 Escala Laboratorio: Bligh and Dyer odificado	402

Gráfica No. 50 Escala 1: Método Soxhlet	402
Gráfica No. 51 Escala 1: Método Bligh and Dyer	403
Gráfica No. 52 Escala 1: Método Bligh and Dyer Modificado.....	403
Gráfica No. 53 Escala 3: Método Bligh and Dyer	404
Gráfica No. 54 Escala 3: Método Bligh and Dyer Modificado.....	404
Gráfica No. 55 Costos de Operación anuales para el cultivo de microalgas a distintas escalas.....	408
Gráfica No. 56 Costos por unidad agregados por los procesos de cultivo y pre- tratamiento	408
Gráfica No. 57 Costo por unidad agregado por los distintos métodos de extracción.....	409
Gráfica No. 58 Precio del aceite por mililitro, según el método de extracción utilizado.....	409
Gráfica No. 59 Resultados de los métodos de extracción en el sistema de medición.....	410

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla No. 1 Principales materias primas para la elaboración de biodiesel	7
Tabla No. 2 Comparación de distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel	9
Tabla No. 3 Clasificación de las microalgas.....	12
Tabla No. 4 Contenido lipídico de algunas microalgas en condiciones autotróficas.....	14
Tabla No. 5 Condiciones Generales de variables para cultivo de microalgas.....	16
Tabla No. 6 Métodos de extracción y sus proporciones para recuperar lípidos.....	28
Tabla No. 7 Categoría: Foco estratégico, del sistema de medición desarrollado	58
Tabla No. 8 Tabla de decisión para asignación de masa en la calificación, según los rangos existentes en el nivel.....	59
Tabla No. 9 Categoría: Medida, del sistema de medición desarrollado	60
Tabla No. 10 Categoría: Meta del sistema de medición desarrollado	61
Tabla No. 11 Categoría: Calificación, del sistema de medición desarrollado.....	62
Tabla No. 12 Indicadores dentro del nivel técnico.....	63
Tabla No. 13 Indicadores dentro del nivel operativo	63
Tabla No. 14 Indicadores dentro del nivel económico.....	64
Tabla No. 15 Equipo que integra el biorreactor de pileta ubicada en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	102
Tabla No. 16 Biomasa inicial y final de microalga y parámetros de crecimiento en biorreactor de pileta de 15 litros	106
Tabla No. 17 Costo total del bioreactor tipo pileta de 15 litros	106
Tabla No. 18 Extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh & Dyer (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico a distinta amplitud	106
Tabla No. 19 Extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh & Dyer modificado (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico a distinta amplitud	107
Tabla No. 20 Extracción microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del método Bligh & Dyer (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1).....	108

Tabla No. 21 Extracción de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del método Bligh & Dyer modificado (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)	108
Tabla No. 22 Costos de utilizar ultrasonido como pre-tratamiento para la microalga del Lago de Amatitlán y <i>Scenedesmus sp.</i> , de acuerdo al extracto obtenido en las pruebas realizadas.....	115
Tabla No. 23 Métodos utilizados	115
Tabla No. 24 Muestras lago de Amatitlán con el pre-tratamiento ultrasónico.	116
Tabla No. 25 Extracto de microalga de muestra M1 con el método A	116
Tabla No. 26 Extracto de microalga de muestra M2 con el método A	116
Tabla No. 27 Extracto de microalga de muestra M3 con el método A	116
Tabla No. 28 Proporción de extracto de microalga muestra M1, M2 y M3 con el método A.....	117
Tabla No. 29 Extracto de microalga de muestra M1 con el método B	117
Tabla No. 30 Extracto de microalga de muestra M2 con el método B	117
Tabla No. 31 Extracto de microalga de muestra M3 con el método B	117
Tabla No. 32 Proporción de extracto de microalga con muestra M1, M2 y M3 con el método B	117
Tabla No. 33 Muestra de microalga <i>Scenedesmus sp.</i> con pre-tratamiento previo a la extracción	120
Tabla No. 34 Extracto de microalga de muestra M4 con el método A	120
Tabla No. 35 Proporción de extracto de microalga muestra M4 con el método A.....	121
Tabla No. 36 Extracto de microalga muestra M4 con el método B	121
Tabla No. 37 Proporción de extracto de microalga muestra M4 con el método B.....	121
Tabla No. 38 Proporción de extracto de microalga del lago de Amatitlán con éter diisopropil y con hexano como disolvente utilizando el método Soxhlet	124
Tabla No. 39 Proporción de extracto de microalga <i>Scenedesmus sp.</i> utilizando éter diisopropil como disolvente utilizando el método Soxhlet	124
Tabla No. 40 Proporción de microalga <i>Scenedesmus sp.</i> utilizando hexano como disolvente utilizando el método Soxhlet.....	124
Tabla No. 41 Proporción de extracción de semilla de higuierillo utilizando el método Bligh & Dyer y presencia de ácidos grasos en las muestras.....	124
Tabla No. 42 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga del lago de Amatitlán con éter diisopropil y con hexano como disolventes	126
Tabla No. 43 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga <i>Scenedesmus sp</i> utilizando éter diisopropil como disolvente	126

Tabla No. 44 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga <i>Scenedesmus</i> sp utilizando hexano como disolvente	126
Tabla No. 45 Análisis de ácidos grasos en el extracto de algas del lago de Amátitlán y <i>Scenedesmus</i> sp por cromatografía de gases	127
Tabla No. 46 Costo unitario obtenido con cada disolvente para la extracción de aceite de algas del lago de Amátitlán y de <i>Scenedesmus</i> sp.....	127
Tabla No. 47 Resumen de resultados obtenidos	128
Tabla No. 48 Procedimiento para uso del sistema de medición desarrollado la evaluación	129
Tabla No. 49 Plantilla del sistema de medición para los métodos de extracción de aceite (Completado hasta el paso 5).....	130
Tabla No. 50 Costos de operación anuales para el cultivo de microalgas a distintas escalas.....	131
Tabla No. 51 Costos de operación anuales para el pre-tratamiento ultrasónico de microalgas a distintas escalas.....	131
Tabla No. 52 Costo por unidad, agregado por los departamentos de cultivo y pre-tratamiento de microalgas a distintas escalas	131
Tabla No. 53 Costo por unidad, agregado por los métodos de extracción de aceite a distintas escalas	131
Tabla No. 54 Precio del aceite por mililitro, según el método de extracción y su escala correspondiente	132
Tabla No. 55 Resultados de los métodos de extracción en sistema de medición.....	132
Tabla No. 56 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala laboratorio	132
Tabla No. 57 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 1 (100 Litros anuales)	132
Tabla No. 58 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 2 (1000 Litros anuales)	133
Tabla No. 59 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 3 (1000 galones anuales).....	133
Tabla No. 60 Estado de resultados para proceso de extracción mediante método Soxhlet Escala 2	134
Tabla No. 61 Estado de Resultados para proceso de extracción mediante método Soxhlet Escala 3	136
Tabla No. 62 Actividades del Plan de Seguimiento Fase 1	139
Tabla No. 63 Equipo utilizado para el sistema de microalgas.....	208
Tabla No. 64 Equipo utilizado en laboratorio	209

Tabla No. 65 Características de Experimento 1 - Medio Sintético de Sales	210
Tabla No. 66 Variables controladas en muestras de Experimento 1 - Medio sintético de sales.....	211
Tabla No. 67 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales.....	211
Tabla No. 68 Características de Experimento 1 - Medio fertilizante foliar.....	212
Tabla No. 69 Variables controladas en muestras de Experimento 1 - Medio fertilizante foliar	212
Tabla No. 70 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar	213
Tabla No. 71 Características de Experimento 2 – Medio sintético de sales.....	213
Tabla No. 72 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 2 – Medio sintético de sales.....	214
Tabla No. 73 Características de Experimento 2 – Medio fertilizante foliar	214
Tabla No. 74 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 2 – Medio fertilizante foliar	214
Tabla No. 75 Características de Experimento 3 - Cepa <i>Scenedesmus sp.</i>	215
Tabla No. 76 Características de Experimento 3- Cepa UVG	215
Tabla No. 77 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 3 – Medio sintético de sales y fertilizante foliar, cepas: <i>Scenedesmus sp.</i> Y UVG.....	215
Tabla No. 78 Elaboración de soluciones stock de sales	218
Tabla No. 79 Volúmenes para elaboración de medio de cultivo sintético de sales.....	218
Tabla No. 80 Volúmenes para elaboración de medio de cultivo fertilizante foliar	218
Tabla No. 81 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales.....	219
Tabla No. 82 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - medio sintético de sales (Parte 1).....	220
Tabla No. 83 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales (Parte 2).....	221
Tabla No. 84 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar	222
Tabla No. 85 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar (Parte 1)	223
Tabla No. 86 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar (Parte 2)	224

Tabla No. 87 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo sintético de sales, Experimento 1	225
Tabla No. 88 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo fertilizante foliar, Experimento 1	227
Tabla No. 89 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio sintético de sales.....	229
Tabla No. 90 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio sintético de sales.....	230
Tabla No. 91 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio fertilizante foliar	231
Tabla No. 92 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio fertilizante foliar	232
Tabla No. 93 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 3	233
Tabla No. 94 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 3	234
Tabla No. 95 Bases de diseño del biorreactor tipo pileta de 15 L, ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.....	251
Tabla No. 96 Dimensiones de la pileta del biorreactor	261
Tabla No. 97 Dimensiones de agitador de paletas.....	261
Tabla No. 98 Dimensiones del motor del agitador de paletas	261
Tabla No. 99 Densidad celular en reactor de 5 L.....	264
Tabla No. 100 Densidad celular en reactor de 15 L.....	265
Tabla No. 101 Estadística descriptiva en biorreactor de pileta de 15 L.....	266
Tabla No. 102 Coeficiente de correlación entre días, crecimiento celular, pH y temperatura para el cultivo en el biorreactor tipo pileta de 15 L.....	267
Tabla No. 103 Costo detallado del montaje del bioreactor de pileta de 15 L	268
Tabla No. 104 Estadística descriptiva de la extracción de las microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del método Soxhlet	279
Tabla No. 105 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh&Dyer.....	279
Tabla No. 106 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh&Dyer modificado	280
Tabla No. 107 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del método Bligh&Dyer	280
Tabla No. 108 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> por medio del método Bligh&Dyer modificado	281

Tabla No. 109 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 1 de microalgas del Lago de Amatitlán, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%).....	283
Tabla No. 110 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 2 de microalgas del Lago de Amatitlán, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%).....	284
Tabla No. 111 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 1 de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> , trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%).....	284
Tabla No. 112 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 2 de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> , trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%).....	285
Tabla No. 113 Cargo por consumidor en energía eléctrica para el año 2012 en Guatemala.....	286
Tabla No. 114 Costos de utilizar el pre-tratamiento ultrasónico con el método Soxhlet, Bligh&Dyer y Bligh&Dyer modificado para la cepa del Lago de Amatitlán.....	287
Tabla No. 115 Costos de utilizar el pre-tratamiento ultrasónico con el método Soxhlet, Bligh&Dyer y Bligh&Dyer modificado para la cepa del <i>Scenedesmus sp.</i>	288
Tabla No. 116 Datos de placa del equipo utilizado.....	289
Tabla No. 117 Información de rendimiento de las sonotrodos estándar del equipo.....	289
Tabla No. 118 Codificación de muestras con pretratamiento previo a la extracción.....	294
Tabla No. 119 Codificación de microalga con pretratamiento previo a la extracción.....	294
Tabla No. 120 Codificación de los métodos utilizados.....	294
Tabla No. 121 Muestra M1 con el método A.....	303
Tabla No. 122 Muestra M1 con el método B.....	303
Tabla No. 123 Muestra M2 con el método A.....	303
Tabla No. 124 Muestra M2 con el método B.....	304
Tabla No. 125 Muestra M3 con el método A.....	304
Tabla No. 126 Muestra M3 con el método B.....	304
Tabla No. 127 Muestra M4 con el método A.....	304
Tabla No. 128 Muestra M4 con el método B.....	305
Tabla No. 129 Muestra semilla higuierillo con el método A.....	305
Tabla No. 130 Muestra M1 con el método A.....	306

Tabla No. 131 Microalga reutilizable obtenida en los 3 experimentos de muestra M1 utilizando método A.....	307
Tabla No. 132 Muestra M1 con el método B.....	307
Tabla No. 133 Microalga reutilizable obtenida en los 3 experimentos de M1 utilizando método B.....	307
Tabla No. 134 Muestra M2 con el método A.....	307
Tabla No. 135 Muestra M2 con el método B.....	307
Tabla No. 136 Muestra M3 con el método A.....	307
Tabla No. 137 Muestra M3 con el método B.....	308
Tabla No. 138 Muestra M4 con el método A.....	308
Tabla No. 139 Muestra M4 con el método B.....	308
Tabla No. 140 Muestra semilla de higuierillo con el método A	309
Tabla No. 141 Análisis estadístico de muestra M1 con el método A.....	310
Tabla No. 142 Análisis estadístico de muestra M1 con el método B.....	310
Tabla No. 143 Análisis estadístico de muestra M2 con el método A.....	311
Tabla No. 144 Análisis estadístico de muestra M2 con el método B.....	311
Tabla No. 145 Análisis estadístico de muestra M3 con el método A.....	311
Tabla No. 146 Análisis estadístico de muestra M3 con el método B.....	311
Tabla No. 147 Análisis estadístico de muestra M4 con el método A.....	312
Tabla No. 148 Análisis estadístico de muestra M4 con el método B.....	312
Tabla No. 149 Análisis estadístico de muestra semilla de higuierillo con el método A.....	312
Tabla No. 150 Datos de placa de equipo	337
Tabla No. 151 Datos de cristalería.....	339
Tabla No. 152 Datos de Preparación de la muestra para la extracción	340
Tabla No. 153 Condiciones de extracción.....	340
Tabla No. 154 Datos obtenidos de la extracción.....	341
Tabla No. 155 Flujo de agua utilizada para cada extracción.....	341
Tabla No. 156 Condiciones de extracción y masa de extracto de semilla de higuierillo.....	343
Tabla No. 157 Tiempo total de trabajo y relación solvente-muestra (p/p) utilizada en cada corrida	351
Tabla No. 158 Proporción extracto/biomasa (%).....	351
Tabla No. 159 Proporción extracto/biomasa (%) de extracción obtenida de la semilla de higuierillo.....	352
Tabla No. 160 Costos de agua, electricidad y solvente de cada corrida.....	352
Tabla No. 161 Costo de operación y Costo unitario obtenido	352

Tabla No. 162 Costos de los materiales utilizados para la construcción del estanque abierto	373
Tabla No. 163 Inversión inicial para el cultivo de microalgas, a distintas escalas.....	373
Tabla No. 164 Inversión Inicial para el pre-tratamiento ultrasónico de microalgas a distintas escalas.....	373
Tabla No. 165 Maquinaria y equipo para el montaje del método de extracción Soxhlet con sus respectivos costos	374
Tabla No. 166 Costos de mano de obra por métodos de extracción	374
Tabla No. 167 Costo de los materiales directos para Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado	375
Tabla No. 168 Maquinaria y equipo para el montaje de los métodos de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado, con sus respectivos costos.....	375
Tabla No. 169 Inversión Inicial para el método de extracción Soxhlet, a distintas escalas.....	376
Tabla No. 170 Inversión Inicial para el método de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado, a distintas escalas	376
Tabla No. 171 Costos de operación anuales para el método de extracción Soxhlet a distintas escalas	377
Tabla No. 172 Costos de operación anuales para el método de extracción Bligh and Dyer a distintas escalas	377
Tabla No. 173 Costos de operación anuales para el método de extracción Bligh and Dyer Modificado, a distintas escalas	378
Tabla No. 174 Análisis económico para los métodos de extracción a Escala Laboratorio	378
Tabla No. 175 Sistema de medición de desarrollo.....	381
Tabla No. 176 Escala Laboratorio: Método Soxhlet.....	385
Tabla No. 177 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer	386
Tabla No. 178 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer modificado	386
Tabla No. 179 Escala 1: Método Soxhlet.....	387
Tabla No. 180 Escala 1: Método Bligh and Dyer.....	387
Tabla No. 181 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado	388
Tabla No. 182 Escala 2: Método Bligh and Dyer.....	388
Tabla No. 183 Escala 2: Método Bligh and Dyer modificado	389
Tabla No. 184 Escala 3: Método Bligh and Dyer.....	389
Tabla No. 185 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado	390
Tabla No. 186 Escala Laboratorio: Método Soxhlet.....	390

Tabla No. 187 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer	391
Tabla No. 188 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer modificado	391
Tabla No. 189 Escala 1: Método Soxhlet	392
Tabla No. 190 Escala 1: Método Bligh and Dyer.....	392
Tabla No. 191 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado	393
Tabla No. 192 Escala 2: Método Bligh and Dyer.....	393
Tabla No. 193 Escala 2: Método Bligh and Dyer modificado	394
Tabla No. 194 Escala 3: Método Bligh and Dyer.....	395
Tabla No. 195 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado	396

RESUMEN

El objetivo del megaproyecto fue determinar los métodos de cultivo y extracción de aceite de algas unicelulares oleogénicas.

Para ello se identificaron las condiciones ideales para el crecimiento de microalgas con el fin de obtener una cantidad de biomasa suficiente para la extracción de aceite. A partir del cultivo se construyó una curva de crecimiento para la microalga evaluada. La curva muestra que, entre 12 y 15 días ésta llega a su punto máximo de crecimiento en la curva exponencial. También se logró identificar que entre un medio sintético de sales y un fertilizante foliar, el último medio de cultivo alcanzó mayor densidad celular en un menor período de tiempo.

A partir de ello, se diseñó y montó un biorreactor de pileta con capacidad de 15 litros, una hélice de ocho aspas, movida por un motor eléctrico de 90 Watts (0.12 hp) y una lámpara fluorescente de 14 Watts. El costo del biorreactor es de Q2113.50. Se logró producir 4.82 gramos de biomasa de cepa UVG en 13 días de cultivo con una tasa de crecimiento de 2.85 gramos al día por metro cuadrado.

El crecimiento de la biomasa no fue el esperado para realizar las extracciones de aceite y por que se trabajó con microalgas del lago de Amatitlán, con el riesgo de que se dificultara la extracción debido a la contaminación. Además, se trabajó con la cepa *Scenedesmus sp.*, de la que se obtuvo suficiente biomasa seca para realizar las pruebas.

Se utilizó un pre-tratamiento de ultrasonido para el rompimiento de la pared celular de las microalgas utilizando un procesador ultrasónico para laboratorio UP100H de Hielscher Ultrasound Technology.

Se determinó el mejor método de extracción entre el método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado a partir del proporción de extracción obtenido a nivel laboratorio. Se obtuvo un proporción de extracto de $4.0393 \pm 0.8123\%$ utilizando el método Bligh & Dyer y de $1.9690 \pm 0.7367\%$ con el método Bligh & Dyer modificado para la microalga *Scenedesmus sp.* En ambas microalgas el método más eficiente fue el Bligh & Dyer. La microalga del lago de Amatitlán sirvió para establecer las mejores condiciones para trabajar los métodos de extracción.

De igual forma se realizó la extracción de aceite de algas unicelulares oleogénicas mediante el sistema de extracción Soxhlet, trabajando con éter diisopropil y hexano como solventes. Se llevó a cabo cinco reflujos en un intervalo de temperaturas de $56.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ a $63.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. El tiempo promedio de extracción en el sistema Soxhlet fue de (210.6 ± 23.0) minutos.

En ambas muestras de microalgas se determinó que el hexano proporciona una mayor proporción extracto/biomasa (%) que el éter diisopropil. Asimismo, el costo unitario de la extracción utilizando hexano fue menor que con éter diisopropil. La extracción de microalgas *Scenedesmus sp* requirió $Q(84.7 \pm 3.4)$ por gramo de extracto utilizando éter diisopropil como solvente, mientras el hexano requirió $Q(4.55 \pm 2.09)$ por gramo de extracto.

Al comparar el método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado con el método Soxhlet, este último presenta una mayor proporción extracto/biomasa (%) debido a los ciclos de contacto que presenta el solvente con la microalga.

Se verificó la presencia de ácidos grasos en el extracto obtenido de microalgas, por medio de cromatografía de gases. No se observó presencia de ácidos grasos con ninguno de los métodos de extracción analizados. Sin embargo, los métodos fueron validados por medio de una extracción de semilla de higuerrillo.

Se realizó un análisis de factibilidad del proceso de producción de aceite variando la etapa final, es decir, el método de extracción. Ninguno de los métodos fue factible a una escala menor a 1000 litros de aceite por año. A escalas mayores, el método más factible a desarrollar dentro de la UVG es el método Soxhlet, realizando el proceso de producción completo; es decir, desde el cultivo hasta la obtención del aceite. Por otro lado, evaluando únicamente el método de extracción, el método Soxhlet fue más factible a escala laboratorio.

Adicionalmente, se presenta un plan de seguimiento al megaproyecto para desarrollar un sistema de producción de biodiesel a partir de microalgas unicelulares oleogénicas dentro de UVG, el cual sea económicamente factible y genere los mejores resultados en términos de obtención del producto final.

Se recomienda trabajar con cepas puras de microalgas y controlar las condiciones de crecimiento de las mismas para asegurar el contenido de aceite a obtener.

Palabras clave: Microalgas unicelulares oleogénicas, *Scenedesmus sp*, Lago de Amatitlán, Extracción asistida con Ultrasonido, aceite de microalga, Reactor de pileta, Crecimiento, Extracción Soxhlet, Extracción Bligh & Dyer, Extracción Bligh & Dyer modificado.

ABSTRACT

The main objective of this project was to determine the culture and oil extraction methods of unicellular oleaginous algae.

For this purpose, ideal conditions for the growth of microalgae were identified in order to obtain a quantity of biomass large enough to do the oil extraction. Based on the culture, a growth curve was constructed for the evaluated microalgae. The curve shows that between 12 and 15 days the microalgae reaches the maximum point of growth in the exponential curve. It was also possible to identify that, between a synthetic salt medium and a foliar fertilizer, the last one in mention reached a higher cellular density in a shorter time period.

Therefore, a raceway bioreactor was designed and mounted, with a 15 liter capacity, an eight blade helix moved by a 90 Watt (0.12 hp) electric motor and a fluorescent 14 Watt lamp. The cost of the bioreactor is Q2,113.50. 4.82 grams of biomass of UVG strain were produced in 13 days of culture and a growth rate of 2.85 grams per day per square meter.

The growth of the biomass wasn't as expected for the realization of the oil extraction, so microalgae obtained in Lake Amatitlán were used, with the risk of making the extractions more difficult due to the contamination of the sample. Additionally, a *Scenedesmus sp* strain was used, from which enough dry biomass was obtained for the tests.

An ultrasound pre-treatment was used for breaking the cellular walls of the microalgae using a laboratory ultrasound processor UP100H from Hielscher Ultrasound Technology.

The best extraction method between Bligh&Dyer and modified Bligh&Dyer was determined, based on the extraction percentage obtained in a laboratory scale. A 4.0393 % of extraction was obtained through the Bligh&Dyer method, and a 1.9690 % of extraction was obtained through the modified Bligh&Dyer method for the *Scenedesmus sp* microalgae. Testing both microalgae, the most efficient was the Bligh&Dyer method. The microalgae obtained from Lake Amatitlán were used to establish the best working conditions for the extraction methods.

An oil extraction using the Soxhlet extraction system was also done, working with diisopropil ether and hexane as extraction solvents. It was conducted using five refluxed and a temperature interval of $56.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ to $63.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The average time of extraction in the Soxhlet system resulted to be (210.6 ± 23.0) minutes.

In both microalgae samples, it was determined that hexane provides a better extract/biomass proportion (%) than diisopropil ether. It was further determined that the unitary extraction cost using hexane was less than with diisopropil ether. The *Scenedesmus sp* required Q (84.7 ± 3.4) per gram of extract, while hexane required Q (4.55 ± 2.09) per gram of extract.

When comparing the Bligh&Dyer and the modified Bligh&Dyer methods with the Soxhlet method, the latter presents a higher extract/biomass proportion (%) due to the contact cycles given between the solvent and the microalgae.

An absence of fatty acids in the algae extract was determined through gas chromatography for all of the evaluated extraction methods. However, the methods were validated through a castor seed oil extraction.

A viability analysis of the oil production process was done by the variation of the final stage of the process, i.e., the extraction method. None of the methods was viable in a scale less than 1000 liters of oil per year. At bigger scales, the most viable method to develop in the UVG is the Soxhlet method, analyzing the complete process production, that is, from culture to oil obtainment. On the other hand, only evaluating the extraction method, Soxhlet systems was also the most viable in laboratory scale.

Additionally, a follow-up plan was presented for the development of a biodiesel production system from oleaginous unicellular microalgae in UVG, which would be economically feasible and generates the best results in terms of final product obtainment.

Working with pure microalgae strains and controlling their growth conditions is recommended to ensure the oil content available for extraction.

Key words: oleaginous unicellular microalgae, *Scenedesmus sp*, lake Amatitlán, ultrasound assisted extraction, microalgae oil, raceway bioreactor, Soxhlet extraction, Bligh&Dyer extraction, modified Bligh&Dyer extraction.

I. INTRODUCCIÓN

La utilización de combustibles fósiles ha dado lugar a un avance industrial enorme en los últimos siglos. Sin embargo, el mundo se está enfrentando con una serie de señales que amenazan este modelo económico basado en la petroquímica, entre las cuales se pueden mencionar la incertidumbre del precio y suministro y el interés por la reducción de emisiones de gases procedentes de la combustión de los mismos. De esta manera inicia el desarrollo de energías alternativas.

La producción de bioetanol y biodiesel en Centroamérica ya es un tema en discusión. El biocombustible es el término con el cual se denomina cualquier tipo de combustible que derive de biomasa. El biodiesel se obtiene a partir del procesamiento de lípidos naturales. Guatemala inició investigaciones en el 2002 sobre la producción de aceites vegetales para la obtención de biodiesel a partir de semillas oleogénicas. (Nicolás, 2010: 58)

Actualmente se están realizando investigaciones para trabajar con algas con alto contenido de aceites para la obtención de biodiesel. La ventaja principal de utilizar este biocombustible es que la producción de algas no compite con la agricultura, las instalaciones pueden ser ubicadas en terrenos que no son aptos para la agricultura y no requieren una gran cantidad de agua.

El presente trabajo determina métodos de cultivo de algas unicelulares oleogénicas, un método para producción de biomasa, siendo este un bioreactor tipo pileta, y métodos de extracción con un pre-tratamiento ultrasónico, para analizar su posterior uso como biocombustible. Se utilizaron los métodos Soxhlet, Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado analizando cuál proporciona la mejor proporción de extracción. Se realizó un análisis de factibilidad del proceso de producción de aceite y un plan de seguimiento al megaproyecto para desarrollar un sistema de producción de biodiesel a partir de microalgas unicelulares oleogénicas.

II. ANTECEDENTES

A. Contaminación ambiental

Sólo en Guatemala, para el año 2008, la SAT estimaba que circularían entre 800 mil y 900 mil vehículos diariamente en la ciudad, de esta cifra el 97% correspondía a vehículos particulares y el 3% restante a transporte público colectivo. Si bien es cierto que el automóvil ha sido de gran beneficio, la contaminación que se ha creado a causa de esto también tiene un gran impacto. Por cada galón de combustible quemado en un motor diesel se generan alrededor de 2.66kg de dióxido de carbono, gas que ha sido utilizado como gas de referencia para medir la contaminación atmosférica. En un motor de gasolina, cada galón quemado genera alrededor de 2.37kg de dióxido de carbono. Un carro pequeño tiene una capacidad de 8 a 10 galones (30.28 a 37.85 litros) de combustible en el tanque y si éste se llena cada semana, se están generando, en promedio, 95kg de dióxido de carbono por auto. La cantidad de gases que se liberan por día es exorbitante; pero éste es sólo uno de los factores que influye en la contaminación ya que se requiere de aceites, lubricantes, refrigerantes, piezas de hule, metal, vidrio, aluminio, entre otros para que pueda funcionar y al llegar al término de su vida útil, estos desechos terminan en vertederos, ríos y áreas verdes.

La falta de consciencia ambiental ha provocado que no se tomen las medidas correctas para prevenir la contaminación. Se tiene empaques llamativos que ayudan al aumento de las ventas pero no se toma en cuenta que para la fabricación de éste se requiere de procesos de gran contaminación, claro que se obtendrá un envase de gran resistencia y durabilidad a un costo módico. Lo malo resulta que el producto que empaca se venderá a los 3 ó 4 meses y el producto durará 1 mes, mientras que el envase durará 800 años. Tomar en cuenta al ambiente no significa ser menos eficiente o ser menos rentable, sino ser más consciente y al mismo tiempo obtener ganancias. Como ya se verá, la contaminación no sólo proviene de un sitio y no sólo se manifiesta de una manera.

La contaminación atmosférica o del aire es provocada por compuestos tóxicos como plomo, cobre, zinc y óxido de carbono, azufre y nitrógeno que son arrojados como consecuencia de actividades humanas e incendios forestales, principalmente. Las fuentes que emiten tóxicos al

aire pueden ser fijas o móviles; las primeras, como calentadores, estufas, quema clandestina de basura, industrias y centrales de producción de energía son responsables del 20% al 30% de la contaminación, en tanto que las segundas, como automóviles, transporte público, camiones y aeronaves ocasionan el mayor volumen de gases dañinos (70% a 80%). (Roncero, 2009)

La contaminación del agua se da en mares, ríos y otras fuentes que abastecen el vital líquido a las poblaciones humanas. Estos, también se han visto invadidos por elementos nocivos provenientes de drenajes y desechos de la misma localidad afectada y regiones próximas. Los principales contaminantes del agua son los desechos domésticos, excremento animal y residuos alimenticios; plaguicidas, plásticos, detergentes, residuos industriales y aceites; ácidos, sales y metales tóxicos; cenizas, arenas, gravillas y otros sólidos provenientes de la erosión de los suelos; residuos radioactivos provenientes de plantas nucleoelectricas y tratamientos médicos; bacterias, virus, hongos y parásitos intestinales; lirios, algas y otros vegetales que impiden la circulación y oxigenación de lagos y ríos.

La contaminación del suelo se da por la eliminación de residuos sólidos, conocidos comúnmente como basura (restos de comida, materia fecal, envases de plástico, vidrio, metales, papel, agentes químicos y escombros), es hoy grave problema ecológico que alcanza cifras altamente peligrosas para el ambiente y seres vivos que lo habitan.

Por último, la contaminación acústica se debe al ruido generado por motores, herramientas, música y electrodomésticos; afecta a quienes realizan actividades industriales o frecuentan calles muy transitadas, pero también se presenta en lugares que en otros tiempos fueron más silenciosos, como restaurantes, gimnasios, vehículos y hogares.

Los efectos se manifiestan por las alteraciones en los ecosistemas; en la generación y propagación de enfermedades en los seres vivos, muerte masiva y, en casos extremos, la desaparición de especies animales y vegetales; inhibición de sistemas productivos y, en general, degradación de la calidad de vida (salud, aire puro, agua limpia, recreación, disfrute de la naturaleza, etc.).

La contaminación ambiental tiene efectos perjudiciales sobre algunos aspectos del medio ambiente, como:

- *Efectos en el clima.* El dióxido de carbono, CO₂, no es un contaminante, puesto que forma parte de la atmósfera y participa en los ciclos naturales. Sin embargo, un aumento rápido de su concentración, como el que se está produciendo por la quema del carbón y el petróleo, incrementará el efecto invernadero natural, elevará la temperatura media del planeta, y puede desencadenar un cambio climático con consecuencias imprevisibles.
- *Efectos en la biosfera.* Algunos gases, como los CFC, reaccionan con el ozono estratosférico y disminuyen su concentración, lo que permite la llegada a la superficie terrestre de más radiaciones ultravioleta, muy nocivas para la vida. Además, hay gases contaminantes, como los óxidos de nitrógeno y los de azufre, que se disuelven en el agua de las nubes y produce ácidos corrosivos que dañan los ecosistemas cuando llueve (lluvia ácida).
- *Efectos en la salud de las personas.* Algunos gases contaminantes son tóxicos para las personas y causan la irritación de los ojos y de las vías respiratorias. Las partículas de humo y de polvo también entran en nuestros pulmones y causan daños, a veces, muy serios.
- *Efectos en los materiales.* Las partículas de humo y ciertos gases contaminantes, solos o disueltos en el agua de lluvia pueden deteriorar muchos de los materiales con los que fabricamos objetos y edificios.

Por desgracia, Guatemala no cuenta con Normas o Reglamentos para regular, lo que hace más difícil que las empresas tomen acción. El mundo está evolucionando, cada día se investiga más acerca de nuevas tecnologías que ayuden a la proporción de las plantas de producción, automóviles, distribución del espacio; equipos más sofisticados que realizan tareas en menor tiempo y un sin fin de estudios que ayudan a mejorar el estilo de vida de las personas. Lamentablemente, todos estos cambios han contribuido al deterioro ambiental de alguna manera (aire, agua, suelos, visual, sonora, térmica).

B. Energía renovable

Debido a las formas de utilizar la energía en la actualidad y los problemas derivados de la obtención de la misma es urgente encontrar soluciones acerca de su adquisición. Las energías renovables pueden contribuir a resolver las dificultades de abastecimiento que se presentarán inevitablemente en un futuro cercano. (González, 2009)

La energía renovable es la energía que se produce de manera continua y recurrente en el mundo natural, que se restablece al mismo ritmo al que se utiliza. (González, 2009)

Se han presentado varias ventajas por las cuales optar por energías renovables es satisfactorio, entre las cuales están:

- Menor contaminación y una mayor disponibilidad en comparación con las energías no renovables.
- Son limpias y de mínimo impacto ambiental.
- No generan residuos difíciles de tratar ni gases contaminantes.
- Utilizan recursos que no se agotan.
- Reducen la dependencia energética del país.
- Generan puestos de trabajo en su construcción, mantenimiento y explotación.
- Son gratuitas y rentables, aunque requieren un sistema de apoyo energético con fuentes no renovables.
- No contribuyen al cambio climático.

Sin embargo también se han dado ciertos inconvenientes, entre los cuales se presentan:

- La tecnología está poco desarrollada y suele ser cara y poco accesible.
- Requieren de inversiones muy grandes.
- Requieren un mayor tiempo de instalación.
- Son aleatorias, pues dependen del clima.
- Produce impactos ambientales en los ecosistemas donde se construye (Gutiérrez, 2009)

Algunas de las fuentes renovables de energía son: energía hidráulica, geotérmica, eólica, solar, térmica, fotovoltaica y biomásica; para la última opción se puede subdividir en: leña, carbón vegetal, bagazo de caña de azúcar, biocombustibles, residuos urbanos, forestales, agrícolas y animales. (González, 2009)

Las energías renovables se dividen en limpias y contaminantes. Entre las primeras se clasifican la eólica, geotérmica, solar, hidráulica, entre otras. Las energías renovables contaminantes son aquellas obtenidas a partir de materia orgánica o biomasa. Este tipo de fuente energética presenta el mismo problema que las energías no renovables en cuanto a la producción de óxidos de carbono. Sin embargo, el producirse la masa biológica, esta absorbe óxidos de carbono de la atmósfera en su proceso por lo que se consideran menos contaminantes. (Inspira, 2010)

C. Biocombustibles

Es por todo lo anterior que se ha dado un creciente interés en el estudio de tecnologías limpias o verdes que ayuden a contrarrestar el daño que ya se ha hecho en el planeta. Por ejemplo, el desarrollo de tecnologías para elaborar biocombustible ha sido un tema de gran controversia y estudio en los últimos años.

Los biocombustibles pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos. Los biocombustibles sólidos son material vegetal, como astillas de madera y otros tipos de biomasa sólida o leñosa, que puede utilizarse como combustible directamente. El biocombustible gaseoso incluye el biogás; este se produce a partir de la digestión de desechos orgánicos. Los combustibles líquidos, como el bioetanol y biodiesel, se utilizan para la calefacción, cocción de alimentos, iluminación, transporte, entre otros. (IAASTD, 2009)

El bioetanol es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa, para su fabricación se puede utilizar una gran variedad de materias primas como el maíz, caña de azúcar o residuos de procesos agrícolas forestales o industriales con alto contenido en biomasa (García, 2006: 74). El etanol, como combustible único, es utilizado principalmente en Brasil y Argentina; su uso con temperaturas menores a 15°C puede dar problemas de encendido, por lo que se añade una porción de gasolina. La mezcla que se usa está compuesta por 85% de etanol y 15% de gasolina. Además, el etanol contiene menos energía por litro que la gasolina y su octanaje (alrededor de 110) hace que no se queme de forma tan eficiente en motores convencionales y provoca corrosión. (García, 2006: 85)

Por el otro lado, el biodiesel es un biocarburante líquido que se produce a partir de aceites vegetales y grasa animales, por ejemplo: colza, girasol, soja. Las propiedades del biodiesel son similares a las de la gasolina en cuanto a densidad y octanaje. Además, presenta un punto de inflamación superior. Por todo esto, el biodiesel puede mezclarse con la gasolina para su uso en motores o incluso sustituirlo por completo. (García, 2006: 32)

La Tabla No. 1 Principales materias primas para la elaboración de biodiesel muestra las principales materias primas para la elaboración de biodiesel.

Tabla No. 1 Principales materias primas para la elaboración de biodiesel

Aceites vegetales convencionales	Aceite de girasol (Europa)
	Aceite de colza (Europa)
	Aceite de soja (Estados Unidos)
	Aceite de coco (Filipinas)
	Aceite de palma (Malasia e Indonesia)
Aceites vegetales alternativos	Aceite de Brassica carinata (repollo, col de Bruselas, coliflor, brócoli, mostaza)
	Aceite de Pogianus
	Aceite de Jatropha curcas
	Aceite de Cynara curdunculus (alcachofa)
	Aceite de Crambe abyssinica (col de Abisinia)
Grasas animales	Sebo de vaca
	Sebo de búfalo
Aceites de otras fuentes	Producciones microbianas
	Microalgas
Aceites de frituras usados	

(García, 2006)

El método comercialmente utilizado para la obtención de biodiesel es la transesterificación, también conocido como alcoholisis. Durante este proceso, los ácidos grasos se separan de la glicerina y el metanol se une a ellos para formar ésteres. Se utiliza un catalizador para mejorar la velocidad de reacción y el rendimiento final.

Los catalizadores pueden ser ácidos homogéneos (ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico), ácidos heterogéneos (zeolitas, resinas sulfúricas), básicos heterogéneos (óxido de magnesio, óxido de calcio), básicos homogéneos (hidróxido de potasio o sodio) o enzimáticos (Candida, Penicillium, Pseudomonas). Los catalizadores que suelen utilizarse son los básicos homogéneos ya que actúan mucho más rápido y permiten operar en condiciones moderadas. (García, 2006: 41)

No obstante, la bioenergía también ha generado controversias. La atención se centra en el considerable aumento de los precios de los cereales, que se debe en parte a la expansión de los biocombustibles en todo el mundo, a expensas de la producción de alimentos. (IAASTD, 2009) En el mundo, las plantaciones para biocombustibles ya compiten con las de alimento, y mientras en algunos lugares se logra combinar o alternar distintas especies, en otras es un gran riesgo. (Naveda, 2007) Ejemplos de estos daños son: se favorece la erosión y sostenibilidad de los ecosistemas al remover los residuos de las cosechas, escasez de agua por la extracción intensiva de la misma para regar cultivos que se utilizarán como materia prima y deforestación y pérdida de biodiversidad por el uso de la tierra para ciertas plantaciones. (IAASTD, 2009)

Es por eso que se han desarrollado los combustibles de tercera generación, los cuales son combustibles producidos a partir de microalgas. El uso de microalgas para la producción de biodiesel es una alternativa ventajosa debido al elevado contenido de lípidos y perfil idóneo para la obtención del biocombustible que éstas ofrecen. (Hernández, 2009: 38) Además de esto, las microalgas son una alternativa atractiva debido a:

- Su capacidad fotosintética que les permite alcanzar grandes rendimientos con energía solar adecuada, una fuente de carbono y de nutrientes de fácil disponibilidad.
- Algunas especies están también en condición de crecer sobre sustrato orgánico, en presencia o ausencia de luz. La capacidad de estos microorganismos de poder crecer en ambientes diferentes y adversos a muchos otros organismos vegetales, es debido a la variedad excepcional de lípidos y otros compuestos inusuales, que están en condiciones de sintetizar. (Albarracín, 2007: 2)
- En general, los cultivos en gran escala son más simples y baratos.
- Los cultivos no compiten con la agricultura tradicional por cantidad o calidad de suelos.

- Los cultivos de algas consumen menos agua que los cultivos tradicionales y el uso de esta agua para irrigación es más ventajosa.
- Por ser organismos unicelulares, su biomasa entera posee los productos de interés, a diferencia de las plantas superiores en las que los productos recuperables se encuentran en sitios u órganos específicos y que dificultan la extracción. (Albarracín, 2007: 3)

La siguiente tabla compara algunas de las materias primas que se utilizan para la extracción de aceite para biodiesel con respecto a la cantidad de aceite (contenido y extraído), requerimiento de terreno y costo de producción.

Tabla No. 2 Comparación de distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel

Raw Material	Oil Content (% in dry weight biomass)	Output (L oil/ha year)	Land used (m ² year/Kg biodiesel)	Water Footprint (m ³ /ton)	Production Cost (US\$/L)	Acid value of oil	Biodiesel yield
Soybean	18	636	18	4200	0,40 - 0,60	0,2	90%
Rapeseed	41	974	12	4300	0,99	2,0	87%
Sunflower	40	1070	11	6800	0,62	0,1	90%
Palm	36	5366	2	5000	0,68	6,1	95%
Castor	48	1307	9	24700	0,92 - 1,56	4,6	89%
Microalgae*	50	97800	0,1	591-3276	3,96 - 10,56	8,9	60%

* Medium oil content, cultured in photobioreactors.

Como puede notarse, la microalga cuenta con un alto porcentaje de aceite (50% p/p), tiene la mayor producción anual en comparación con otros y no requiere demasiado espacio para su cultivo. Sin embargo, también debe tomarse en cuenta que los costos de producción, la huella de agua y la calidad del aceite obtenido. Los costos en las microalgas son altos, los cultivos heterotróficos pueden contaminarse fácilmente sobre todo si se trabaja con piletas abiertas y con fuentes de carbono. Los cultivos fototróficos pueden tener un menor costo de escalamiento y ser atractivos a gran escala. (González, 2011: 15)

El valor ácido del aceite mide la cantidad de KOH (mg) necesarios para reaccionar con la cantidad de aceite (g) en la muestra. De acuerdo con la ASTM D 664, el valor máximo permitido para el producto final (biodiesel) deber ser menor a 0.5 mg/g. (González: 2011, 15) Además, el biodiesel obtenido de microalgas debe cumplir con los estándares según el país. En los Estados Unidos el estándar relevante es el ASTM Biodiesel D estándar 6751. En la Unión Europea, existen estándares separados para el biodiesel destinado al uso en vehículos (EN estándar 14214) y para uso como aceite de calefacción (EN estándar 14213). (Albarracín, 2007: 8)

D. Microalgas

Las algas son organismos capaces de producir oxígeno a partir de la radiación solar, en otras palabras son organismos fotosintéticos. Es sus células tienen unas estructuras llamadas cloroplastos donde se encuentran diversos pigmentos los cuales son capaces de atrapar la luz solar. (Pelczar, 1982)

Las microalgas se pueden encontrar en el suelo, agua, incluso en el aire; capaces de habitar en pequeños charcos hasta ambientes extremos como lo son las aguas termales. Por lo tanto existen algas capaces de resistir a condiciones extremas, otras adaptadas a las altas concentraciones de sales (algas de agua dulce), otras adaptadas a las variaciones de concentración de sal en las distintas partes del océano (algas marinas). Principalmente se encontrarán algas donde haya suficiente luz, humedad y alimentos simples. (Pelczar, 1982)

Algunas desventajas son que el abundante crecimiento de ciertas algas forma capas y conglomeraciones que obstaculizan el aprovechamiento de algunas fuentes en aguas, tal como la disolución de oxígeno en el agua, dificultan el paso de la luz a aguas profundas y otros animales por lo que hay un entorpecimiento de la fotosíntesis de otras plantas, pueden llegar a incrementar la corrosividad del agua y desintegrar el cemento. Por otro lado, cuando están presentes en aguas naturales, pueden llegar a incrementar la concentración de oxígeno debido a la fotosíntesis, el crecimiento abundante de ciertas algas reduce la dureza de las aguas ya que disminuye el contenido de sales. (Pelczar, 1982)

Las algas presentan muchas formas y tamaños. Existen especies unicelulares, de forma esférica, bacilar, de clava o puntiagudas. Otras especies se agrupan en colonias multicelulares. Algunas colonias son simples células solas e idénticas, otras están compuestas de diferentes clases de células especializadas en ciertas funciones, éstas últimas llegan a ser muy complejas y superficialmente se asemejan a las plantas superiores. (Pelczar, 1982)

Existen varias divisiones de microalgas a partir de determinados pigmentos presentes en las mismas, organización, estructura y forma. Las cianofitas (Cyanophyta o Cyanoprokariota) conocidas como cianobacterias o algas verde-azúl, además de la clorofila posee otros dos pigmentos conocidos como ficocianina y ficoeritrina los cuales le dan el aspecto verdoso. Necesitan concentraciones altas de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo. Bajo ciertas condiciones son capaces de producir grandes florecimientos conocidos como “blooms”. Otro grupo es el de las clorofíceas (Chlorophyta) o algas verdes, su coloración se debe a la clorofila, carotenoides y xantofilas. Son capaces de reproducirse abundantemente y son útiles para los niveles tróficos¹ mayores, tiene propiedades bromatológicas² apreciables por lo que han sido utilizadas para estudios como alimento vivo o medicina humana. Las algas doradas o Chrysophytas, contienen una gran cantidad de carotenos los cuales enmascaran la clorofila. Están las Euglenophytas y las Pyrrophytas o Dynophytas, las cuales pertenecen al grupo del fitoplancton, también se clasifican como protistas; se caracterizan por la presencia de flagelos y por su tipo de alimentación que es fagocitaria, cuando se presentan en grandes cantidades son los causantes de lo que se conoce como marea roja. Las algas rojas o Rodophytas son comunes en ambientes marinos, escasas en agua dulce, sus pigmentos incluyen la clorofila, la ficoeritrina, ficocianina y aloficocianina; pueden ser útiles comercialmente como alimento o fuente de ficocoloides. (López, 2005)

En la Tabla No. 3 Clasificación de las microalgas se describen las principales divisiones en las cuales las microalgas han sido clasificadas de acuerdo a parámetros diversos tales como pigmentación, ciclo de vida, estructura celular.

¹ Nivel trófico: Lugar que ocupa un ser vivo en la cadena alimentaria. (Starr, 2004)

² Bromatología: ciencia que estudia los alimentos, su preparación adecuada y su asimilación por el organismo. (Wordreference, 2012)

Tabla No. 3 Clasificación de las microalgas

Clase	Características
Chlorophyta (algas verdes)	División conformada por una gran cantidad de especies, en particular por las que proliferan en ambientes dulceacuícolas. Pueden existir ya sea como células individuales o colonias. Su principal reserva de carbono es el almidón, sin embargo pueden almacenar lípidos bajo determinadas condiciones. En esta división destaca la clase Prasinophyceae, caracterizada por incluir especies que forman parte del 'pico-plancton'.
Bacillariophyta (diatomeas)	Las diatomeas predominan en aguas oceánicas, no obstante también se les puede encontrar en aguas dulces y residuales. Se caracterizan por contener silicio en sus paredes celulares. Almacenan carbono de maneras diversas, ya sea como aceites o como crisolaminarina (polímero glucídico).
Heterokontophyta	División constituida por una gran diversidad de clases dentro de las cuales destaca la Crysiophyceae (algas doradas), conformada por especies similares a las diatomeas en términos de composición bioquímica y contenido de pigmentos. Las algas doradas se distinguen por los complejos pigmentos que las conforman, los cuales les proporcionan tonalidades amarillas, café o naranjas. Las especies de este grupo son principalmente de agua dulce. Sus reservas de carbono son los lípidos y los carbohidratos. Asimismo, otras clases relevantes de esta división son: Phaeophyceae (algas café), Xanthophyceae (algas verde-amarillas), Eustigmatophyceae (forma parte del 'pico-plancton'), entre otras.
Cianobacteria	Las cianobacterias son microorganismos procariotes cuya estructura y organización son similares a las de las bacterias. Las cianobacterias desempeñan un papel relevante en la fijación del nitrógeno atmosférico.
Otras divisiones	Rhodophyta (algas rojas), Dinophyta (dinoflagelados).

(Hernández, 2009)

1. Microalgas como alternativa para materia prima para la producción de biocombustibles. Como se ha mencionado anteriormente las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares procariotas y eucariotas, localizadas en diversos hábitats, bajo un amplio rango de temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes. Se les considera responsables del 50% del oxígeno y de la fijación del 50% del carbono. (Hernández, 2009)

Entre las especies mencionadas en la Tabla No. 3, las más estudiadas para aplicaciones de biotecnología son las algas verdes y las diatomeas. (Hernández, 2009)

Una alternativa que asegura satisfacer o reemplazar la demanda global de petrodiesel es el uso de lípidos microalgales, utilizados para la producción de biodiesel. Esta tecnología es prometedora debido a que ofrece ciertas ventajas que las plantas oleaginosas no han podido ofrecer, tales como: mayor proporción fotosintética, proporción superior en la asimilación de nutrientes y períodos cortos de producción sostenida durante todo el año gracias a los cortos tiempos de reproducción de las microalgas. Los cultivos microalgales no dependen de una estación específica para su reproducción, permite utilizar zonas marginales o no aptas para la agricultura, ganadería, industria y turismo. Requiere en menores cantidades de agua y son

flexibles ante el tipo y calidad de la misma, por lo que sobreviven en aguas marinas, dulces y residuales. (Hernández, 2009)

Muchas microalgas pueden ser capaces de acumular cantidades significantes de lípidos, principalmente triglicéridos. Estos lípidos pueden ser extraídos de la biomasa y convertidos en biodiesel. Estos productos almacenados capaces de dar energía pueden estar presentes hasta en un 30% de la masa seca de las células. La biosíntesis de los lípidos se puede controlar y aumentar cuando el crecimiento celular es limitado, como con la limitación de nutrientes, sin limitar el suministro de energía metabólica vía fotosíntesis. La proporción de nutrientes se utiliza para inducir la acumulación de lípidos ocasiona dproporción de nitrógeno para las algas verdes y de sílica para las diatomeas. (Wiley, 2011; Hernández, 2009)

Dependiendo de la especie, las microalgas producen diferentes tipos de lípidos, hidrocarburos y otros aceites complejos, de los cuales no todos son adecuados para producir biodiesel. Los lípidos presentes en las microalgas por lo general constituyen del 20 al 50% de su masa seco. Las especies que producen más de un 30% de materias grasas se denominan oleaginosas. (Albarracín, 2007; Hernández, 2009)

Las algas verdes han sido fáciles de aislar y de desarrollar en condiciones de laboratorio; por lo que ha favorecido la identificación de numerosas especies oleaginosas en éste grupo. Las cianobacterias presentan bajos contenido lipídico promedio, sin embargo su aplicación en la producción de biodiesel ha sido sugerida a causa de la producción de lípidos paralela al crecimiento y sencillez para la manipulación genética. (Hernández, 2009)

Los lípidos son sustancias de origen biológico, poco solubles en el agua. Su estructura biomolecular está comprendida por largas cadenas hidrocarbonadas, unidades de isopreno y grupos funcionales diverso, principalmente oxigenados. En las microalgas los principales componentes de la fracción lipídica son triacilglicerolos, ácidos grasos libres, ceras, esterolos, hidrocarburos, glicolípidos, fosfolípidos y pigmentos; y en menor cantidad pueden presentar ácidos grasos halogenados e hidroxilados, alquenonas de cadena larga, entre otros. No todos los lípidos presentes en las microalgas son satisfactorios para producir biodiesel sin embargo los que son apropiados para ello son producidos con frecuencia y constituyen la mayor fracción de lípidos totales, generalmente del 20 al 40% (ácidos grasos, libres y unidos covalentemente al glicerol y sus derivados). (Hernández, 2009)

Tabla No. 4 Contenido lipídico de algunas microalgas en condiciones autotróficas.

Especie	%Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco x100)	Especie	%Contenido lipídico (gLípidos/gPeso-seco x100)
<i>Ankistrodesmus</i> sp. ^{2,4,8}	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 polylepsis</i> ^{2,8}	47.6	<i>Protosiphon botryoideus</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

(Hernández, 2009)

2. Condiciones ambientales para cultivo de microalgas a escala laboratorio. Existen diversas condiciones físicas y químicas del cultivo que pueden afectar la producción de lípidos en las algas tales como la fase de crecimiento, la disponibilidad y clase de nutrientes, salinidad, el tipo de períodos e intensidad de luz, la temperatura, el pH y la asociación con otros microorganismos. (Hernández, 2009) (David Sieg, 2008)

La restricción de nutrientes se caracteriza por la respuesta de la disminución de la división celular, alteraciones en la permeabilidad de las membranas, acumulación de lípidos y o polisacáridos, reducción de la actividad fotosintética y modificación de procesos metabólicos. La limitación de nitrógeno es considerada como la estrategia más eficiente para incrementar el contenido de lípidos neutros en las microalgas, particularmente de los triglicéridos conformados por ácidos grasos con un elevado grado de saturación. Algo similar sucede con la dproporción de fósforo, azufre y silicio (este último para las diatomeas). La disponibilidad de hierro (+3) influye en el contenido oleaginoso. Es importante tener en cuenta que el comportamiento de las microalgas ante la restricción de nutrientes es variable, por lo que no se puede establecer algo específico. La acumulación de lípidos mediante ésta acción es consecuencia de la asimilación continua de carbono y su orientación hacia la síntesis activa de ácidos grasos. Los lípidos bajo tales consecuencias, fungen como una reserva de carbono y energía, y también protegen al organismo contra estrés fotooxidativo. (Hernández, 2009) (David Sieg, 2008)

Otras variables a controlar son la temperatura la cual afecta notablemente la producción de lípidos en las microalgas, de manera que a bajas temperaturas incrementa el grado de saturación. Las altas intensidades luminosas es una condición que favorece de sobremanera la acumulación de triglicéridos con un elevado perfil de saturación; las intensidades bajas promueven la síntesis de lípidos polares altamente insaturados, estructural y funcionalmente asociados con las membranas. El pH y la salinidad son otros factores importantes en la síntesis de lípidos. (Hernández, 2009) (David Sieg, 2008)

En general, en la Tabla No. 5 se pueden observar rangos óptimos para las variables a controlar en el cultivo de algas. Es preferible que la temperatura se mantenga entre 18-24°C, una intensidad de luz entre 2,500 y 5,000 lux, un período de luz de 16 horas luz y 8 horas sin luz o bien 24 horas luz en el cual las algas estarán realizando la fotosíntesis, y un pH más o menos básico entre 8.2 y 8.7. Sin embargo es importante tomar en cuenta que estas variables pueden cambiar dependiendo del tipo de alga. (David Sieg, 2008) (Christine Band, 1997)

Tabla No. 5 Condiciones Generales de variables para cultivo de microalgas

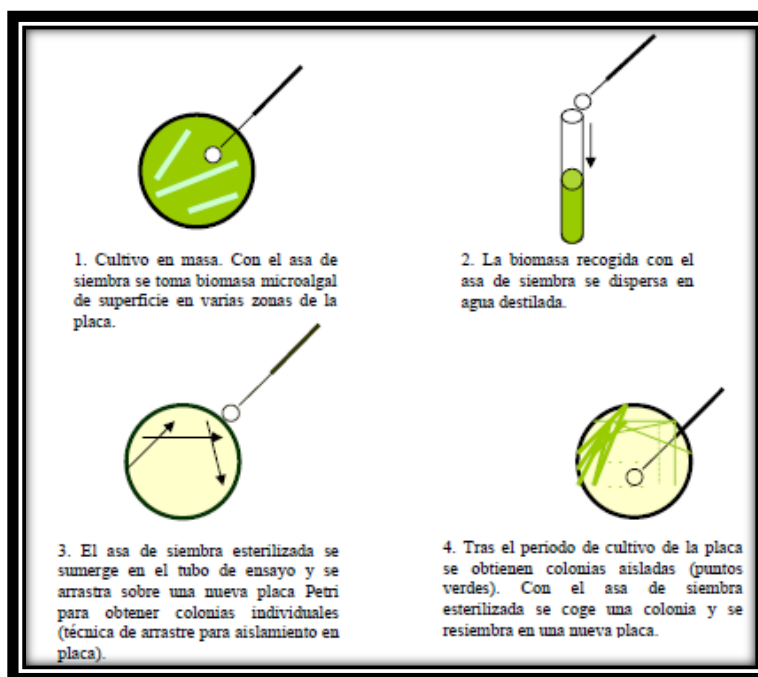
PARÁMETROS	RANGO	ÓPTIMO
Temperatura [°C]	16-27	18-24
Salinidad [g/L]	12-40	20-24
Intensidad de luz [luxes]	1,000 – 10,000 (depende del volumen y la densidad)	2,500-5,000
Período de luz [luz : no luz, horas]		16:8 (mínimo) 24:0 (máximo)
pH	7-9	8.2-8.7

(David Sieg, 2008)

3. Preservación de microalgas para futuro cultivo. Existen varios métodos de preservación de microalgas, los cuales se utilizan con el objetivo de preservar la cepa para que en el futuro pueda ser utilizada nuevamente, así como mantener los cultivos puros sin contaminación y sobre todo que se mantengan los cultivos sin cambio de características genéticas.

a. Subcultivos seriados. Los subcultivos seriados consisten en sembrar el microorganismo cada cierto tiempo en un medio adecuado. Generalmente se utiliza agar inclinado, ya que en medio sólido es posible detectar mejor los contaminantes que en medio líquido; se prefiere hacerlo inclinado para evitar la desecación del medio, también se puede hacer un placas Petri como lo indica la Figura No. 1 Método de subcultivos en placas Petri, en la siguiente página. (Pedro Mateos, 2009) (Lorena Martinez)

Figura No. 1 Método de subcultivos en placas Petri



(Lorena Martínez)

Método válido para períodos cortos de tiempo, entre una semana y 15 días, por lo tanto deberán ser resembrados con frecuencia lo que incrementa el riesgo de contaminación. Al conservarlos a temperatura ambiente, se podrían cambiar de forma espontánea las características genéticas por las cuales fueron seleccionados; es decir se ocasiona una mutación del microorganismo. (Pedro Mateos, 2009)

Para evitar estos inconvenientes, se pueden mantener a 4°C con lo que su crecimiento es inferior y el tiempo para hacer los subcultivos se prolonga de 1 a 3 meses. (Pedro Mateos, 2009)

b. Desección. La eliminación del agua es un proceso de conservación que reduce de forma drástica el metabolismo. No todos los microorganismos son capaces de sobrevivir a estos métodos de secado, por lo que será necesario añadir agentes protectores, estos podrían ser leche descremada, glutamato sódico al 10%. Una vez seco será importante mantener el producto sellado para evitar el contacto con el aire ya que son higroscópicos. (Pedro Mateos, 2009)

Los soportes comúnmente utilizados son arena, suelo, sílica gel previamente secado y esterilizados por calentamiento con aire caliente (no por autoclave). Sobre estos soportes se añade la suspensión de los microorganismos y se deja secar a temperatura ambiente. También se pueden utilizar como soportes discos o tiras de papel, agar, discos de gelatina donde se añade la suspensión de microorganismos y posteriormente se seca al vacío evitando la congelación, lo que se denomina L-secado (L-drying). Éste método de desecado es particularmente útil para conservar microorganismos de esporas. (Pedro Mateos, 2009)

c. Congelación. Los métodos de congelación son una opción, al bajar la temperatura hasta el punto de congelación o por debajo de éste se reduce el metabolismo drásticamente y en algunos caso hasta anularlo. A pesar que pueden tener grandes resultados, hay algunos problemas que se deben tener en cuenta. La formación de cristales de hielo pueden romper las células, al eliminar el agua debido a que se transforma en hielo las sales pueden llegar a concentrarse lo que podría ser perjudicial. Para evitar todo esto se pueden utilizar suspensiones con el mínimo de sales y agentes protectores como glicerol al 25% o dimetilsulfóxido (DMSO c.a. al 10%) los cuales neutralizan el efecto de las sales. (Pedro Mateos, 2009)

No se ha determinado si el proceso de congelación debe ser lento o rápido, en algunos casos se recomienda que se baje gradualmente $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta llegar a -20°C y luego que se haga un enfriamiento rápido. Lo que sí es seguro es que la descongelación debe ser rápida. (Pedro Mateos, 2009)

Las temperaturas que se utilizan en la congelación son tres:

- En un congelador convencional de una refrigeradora, a -30°C . Este método es el menos recomendable debido a la formación de suspensiones en diferentes puntos de congelación gracias a los solutos que tiene el medio y estos pueden dañar a las células.
- En ultracongeladores o nieve carbónica, a -70°C . Es el método más utilizado en los laboratorios de microbiología.
- Con nitrógeno líquido a -196°C . Este método es más utilizado para la conservación de bacterias, virus y líneas celulares. Existen varios problemas con este método, uno de ellos es que el nitrógeno se evapora gradualmente y se debe rellenar de forma regular, se deben utilizar recipientes que resistan éstas temperaturas y que estén bien cerrados para evitar la entrada de nitrógeno al medio que se desea congelar. (Pedro Mateos, 2009) (Zulia Weng, 2005)

d. Liofilización. La liofilización es el método más utilizado para la conservación de microorganismos. Consiste en congelar rápidamente una suspensión de microorganismos y eliminar el agua como vapor de agua directamente del hielo sin pasar por estado intermedio (estado líquido). Combina la desecación con la sublimación. El sistema utilizado para llevar a cabo este método consiste en un mecanismo de congelación, una bomba de vacío y una trampa de agua. (Pedro Mateos, 2009) (Zulia Weng, 2005)

Los organismos liofilizados son capaces de conservarlos entre 0 y 5°C durante muchos años. Para recuperarlos se suspende el liófilo en el medio de cultivo adecuado y se incuba a temperatura adecuada. Para este método es necesario tener en cuenta las condiciones óptimas de supervivencia de nuestros microorganismos. (Pedro Mateos, 2009) (Zulia Weng, 2005)

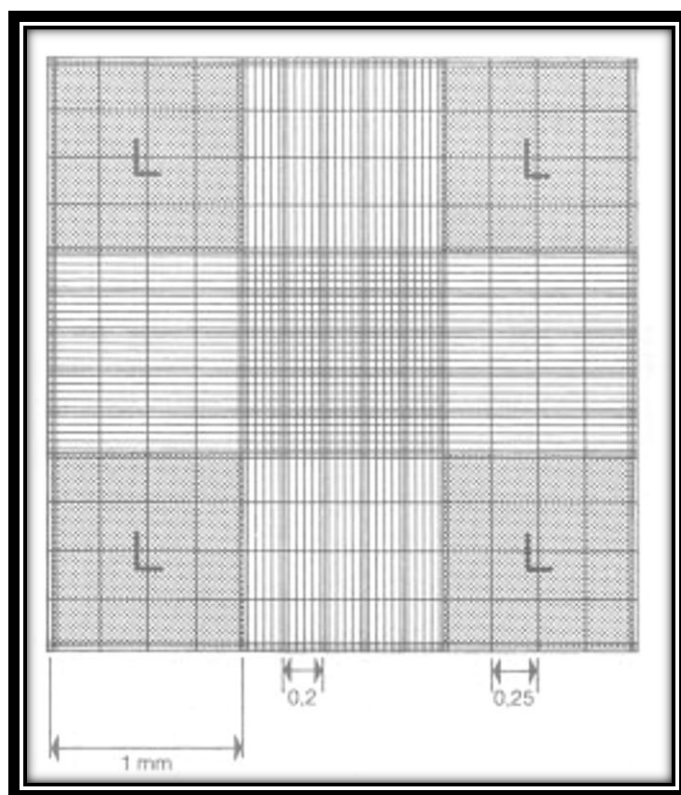
Para algas la mayor parte de cultivos se mantienen en subcultivos seriados a temperaturas entre 10 y 15°C. Para llevar a cabo el crecimiento se necesita luz. En general, las algas no son capaces de sobrevivir bien en la liofilización o en la desecación, en cuanto a la congelación los mejores resultados se obtienen con nitrógeno líquido. (Pedro Mateos, 2009)

4. Cámara de Neubauer. Es una gruesa pala de cristal con forma de portaobjetos de unos 30 x 70 mm y 4 mm de grosor. El conteo se realiza en el centro de la cámara, ésta parte posee una cuadrícula grabada, que es la que se utiliza para el conteo. (Oscar Bastidas)

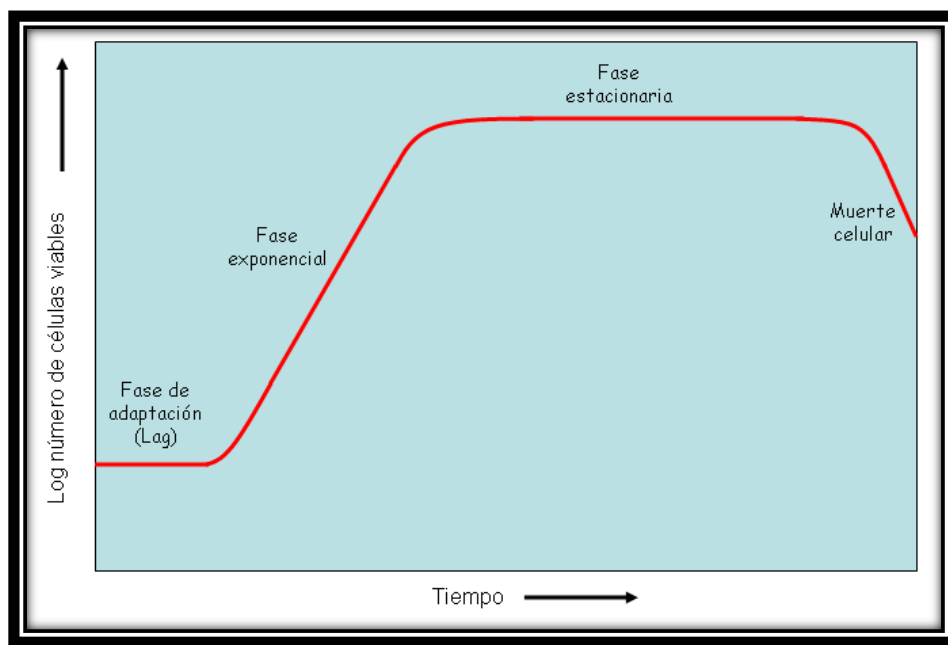
Ésta cámara posee 25 cuadros hábiles de conteo, que son los cuadros del centro; por lo que existen diferentes formas de realizar el conteo celular para garantizar un conteo aleatorio. La forma más comunes tomando las cuatro esquinas y el cuadro del centro. Alrededor de cada cuadrícula se observa que hay tres líneas que delimita el cuadro, estas líneas indican las células posibles de contar, si la célula toca la segunda línea no se toma en cuenta. A veces será necesario hacer una dilución.

Los 25 cuadros de la cuadrícula tienen un área total de 1mm^2 y un volumen total de 0.02mm^3 , de las dimensiones de la cámara se obtiene la fórmula para determinar las unidades leídas por centímetro cúbico.

En las siguientes Figuras se podrá ver la descripción anterior de la cámara y una curva de crecimiento celular.

Figura No. 2 Cuadrícula de cámara Neubauer

(María Aquiahuatl, 2004)

Figura No. 3 Curva típica de crecimiento celular

(María Aquiahuatl, 2004)

E. Sistemas de cultivo

1. Sistema abierto, raceway o laguna abierta. Debido a que las algas necesitan de luz solar celular, CO₂ y agua para crecer, pueden ser cultivadas en estanques y lagos (Guterman, 1996).

El riesgo de este tipo de sistemas de cultivos es la alta probabilidad de ser contaminados por otros tipos de algas, ya que las algas que tienen el mayor componente en aceite no necesariamente son las que más rápido crecen, por lo que algunas cepas de algas contaminantes podrían invadir masivamente el cultivo. Por otro lado en este sistema se tienen poco control frente a condiciones ambientales tales como temperatura del agua, CO₂, intensidad lumínica, por lo que el crecimiento del cultivo depende de las condiciones del medio y en general se produce en los meses más cálidos (Guterman, 1996).

En general, para el cultivo en sistemas abiertos se buscan cepas que puedan crecer bajo condiciones en las que otros organismos les resultaría difícil desarrollarse como ph altos o bajos, T^o específicas, requerimientos nutritivos específicos, etc. Es por esta razón que solo pocas especies fueron cultivadas con éxito en este tipo de sistemas. La ventaja que tienen los sistemas abiertos es que son muy baratos y fáciles de construir ya que básicamente lo que se hace es construir estanques o piletones en el suelo (Guterman, 1996).

2. Invernadero. Un sistema alternativo para el crecimiento de algas es mediante invernaderos, también en estanque. Aunque se reduce el área de cultivo se solucionan muchos problemas que poseen los sistemas abiertos: menor probabilidad de contaminación por especies no deseadas, pueden cultivarse un mayor número de especies, el periodo de cultivo es mayor ya que hay control de la temperatura y puede incrementarse la cantidad de CO₂ en el ambiente, con lo que también aumentaría la tasa de crecimiento de las algas. Los estanques poseen sistemas que permiten a las algas mantenerse en movimiento en el medio, de forma que todas reciban la misma cantidad de luz y nutrientes. Por otro lado se renueva continuamente la cantidad de CO₂ y nutrientes del medio (Chisti, 1999).

3. Fotobiorreactores. Otro tipo de sistemas cerrados de cultivos son los Fotobiorreactores los que incorporan luz blanca y natural y donde las condiciones son mas controladas que en los sistemas abiertos. Son sistemas muy costosos pero que tienen un alto rendimiento en cuanto a la producción de aceite de algas. (Scheper, 1998)

Un fotobiorreactor es un sistema capaz de general la fotosíntesis de las clorofilas existentes en los microorganismos. Con las algas producidas de esta manera se obtiene biodiesel, de manera que además de consumir dióxido de carbono, se obtiene combustible sin perjudicar los cultivos dedicados a la alimentación. (CCI, 2012)

Fotografía No. 1 Cultivo de algas unicelulares en fotobiorreactor



(Biodisol, 2009)

A pesar que el cultivo de microalgas a nivel industrial ya se había desarrollado en los años cuarenta, en las últimas dos décadas se ha intensificado la cantidad de investigaciones dirigidas a mejorar los sistemas de producción. (Albarracín, 2007: 7)

Esta tecnología es prometedora debido a las ventajas que ofrece en contraste con las plantas oleogénicas, tales como: mayor proporción fotosintética, eficacia superior en la asimilación de nutrientes y periodos cortos de producción sostenida durante todo el año. (Hernández, 2009: 44).

4. Equipos de fermentación. Algunas compañías obtuvieron aceite de algas sin crecimiento fotosintético, sino alimentando a las algas con azúcares que luego estas fermentaban. Una de estas compañías se llama Solazyme, una empresa de biotecnología que está desarrollando técnicas para producir combustible para autos y aviones a partir de algas. La desventaja de este sistema es que tiene sus propios problemas de extensión: las algas consumen CO_2 y nutrientes y producen O_2 (que a concentraciones elevadas puede inhibir el crecimiento de las algas) por lo que el crecimiento se puede deteriorar en el recipiente de fermentación (Flores, 2003).

5. Cultivo mediante sistema abierto (biorreactor de pileta). Son de forma elipsoidal con una separación central que permite formar canales poco profundos en forma de circuito cerrado; se mantienen en agitación mediante paletas giratorias y en ocasiones, cuentan con mecanismos para suministrar CO_2 y nutrientes (Sieg, 2008).

Las principales ventajas son el bajo costo de construcción, de operación y de producción de biomasa. Sin embargo, tienen varias desventajas: requieren de grandes áreas de terreno, sufren importantes pérdidas de agua por evaporación, y de CO_2 por difusión a la atmósfera, el sistema de mezclado es deficiente lo que origina una baja concentración celular, la cual a su vez, origina una baja productividad. Esta última también resulta afectada por contaminación con otras algas y/o por organismos que se alimentan de microalgas; costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura y el pH (Sieg, 2008).

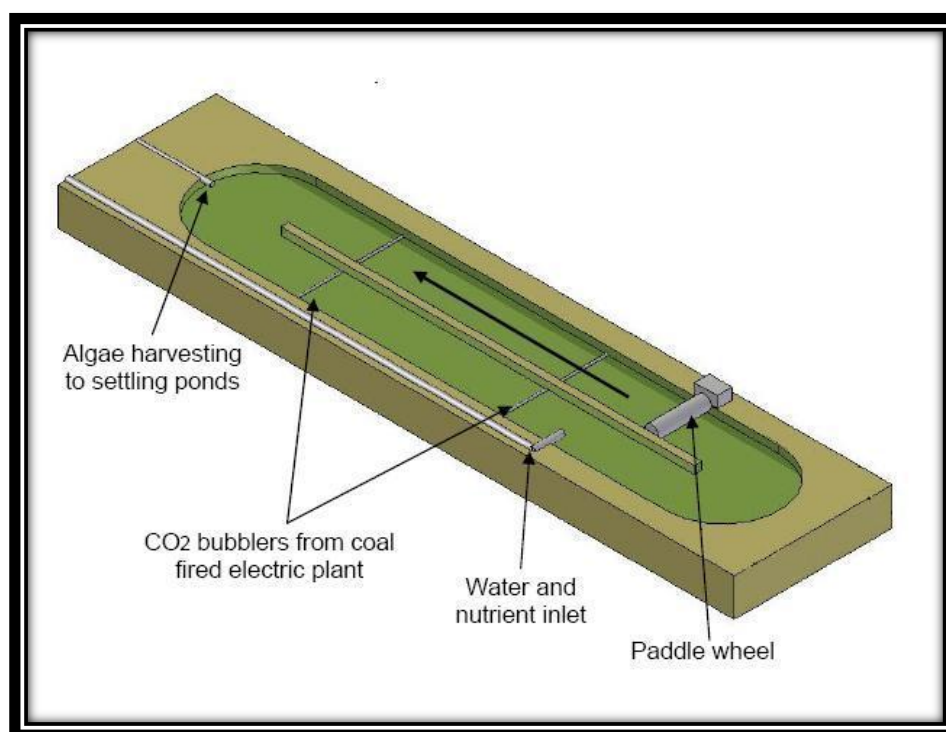
Los procesos desarrollados en reactores cerrados no son rentables todavía a gran escala y algunas experiencias comerciales de este tipo han fracasado en los últimos años. Todas las plantas de producción de microalgas, construidas antes de los años 90 hasta las de gran escala operando actualmente, utilizan reactores de pileta para la producción de biomasa de microalga que permiten alcanzar densidades celulares de hasta 0.7 g de células (base seca) por litro (Sieg, 2008).

Estos sistemas, contruidos por canales poco profundos (nivel de agua de 15 a 20 cm) en forma de circuito cerrado, en los que el medio de cultivo impulsado mediante paletas rotatorias, generalmente requieren de grandes áreas de terreno (500 – 5000 m^2), pero tiene como ventaja el bajo costo de producción de biomasa algal en algunas zonas geográficas específicas. Sin embargo, el perfeccionamiento de esta tecnología hace tiempo llegó a su límite, ya que las principales especificaciones de diseño y características constructivas ya han sido definidas,

restringiendo así el desarrollo de la biotecnología de microalgas quedando poco espacio para la innovación. La baja densidad celular origina varios inconvenientes, incluyendo baja productividad, fácil contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura (Sanchez, 2000).

El diseño de pileta para el cultivo masivo de algas se encuentra estandarizado en general, al haber sido utilizado por cerca de 40 años para el cultivo de microalgas para producir nutracéuticos. Un esquema de una laguna típica se muestra en la Figura No. 4 (Sanchez, 2000).

Figura No. 4 Esquema de un diseño típico de reactor tipo pileta para la producción de microalga



(Sanchez, 2000)

Cada carril suele tener 6 ó 7 metros de ancho, pero el largo puede variar considerablemente para alcanzar áreas de irradiación solar de 1000 o incluso 10000 m² (Sanchez, 2000).

A continuación se explican algunas de las principales variables que se deben definir en un reactor tipo pileta:

- *Dimensionamiento:* La profundidad de las lagunas debe ser lo suficientemente baja como para que la luz solar pueda penetrar incluso en las partes más profundas de ésta; por otra parte, mientras más bajas sean las lagunas, una mayor área es necesaria para mantener un mismo volumen de cultivo, y por lo tanto mayor es el requerimiento energético por unidad de volumen para hacer circular el fluido producto del efecto del roce del agua con la superficie de la laguna. Por lo general se diseñan lagunas con una profundidad de entre 20 y 30 cms. El ancho y el largo pueden variar, aunque un ancho de carril de 6 metros es común, y el largo puede variar sin problemas para alcanzar el área total irradiada por reactor deseada (Andersen, 2005).
- *Construcción:* Su construcción suele ser en cemento, pudiendo llevar un revestimiento plástico para evitar corrosión, facilitar el mantenimiento y mejorar las condiciones de flujo del cultivo. El tamaño de las lagunas depende de la etapa en el escalamiento en la que se esté. Éstas pasan de medir unos pocos metros de largo a varias decenas de metros de largo en las últimas etapas del cultivo. También es posible construirlas directamente en el terreno, en tal caso es necesario contar con un recubrimiento para mantener la estructura de la laguna(Andersen, 2005).
- *Agitación:* Las piletas cuentan con un agitador de paletas que mantiene el cultivo en permanente circulación, a fin de evitar el estancamiento de las microalgas en el fondo de la laguna y permitir la creación de los ciclos de luz y sombra necesarios para obtener que las algas crezcan de la mejor manera posible. Los cultivos están agitados por paletas rotatorias que cruzan el canal de las lagunas en una sola sección, perpendiculares al sentido del flujo, y se deben instalar de tal manera de que siempre quede al menos una paleta en el agua. En pruebas de campo, se ha mostrado que una sola rueda de paletas giratorias es suficiente para brindar una agitación adecuada (Andersen, 2005), si se mantiene una velocidad de flujo de entre 15 a 25 cm/s. Aun así, dada la gran cantidad de piletas necesarias para alcanzar una producción a gran escala del aceite de algas, este proceso es intensivo en el uso de energía. Además, el mezclado favorece el intercambio gaseoso (Putt, 2007).

El mezclado de un cultivo permite una utilización óptima de la luz y un mejor régimen de iluminación, sin embargo, puede también causar daño a las células. La fragilidad celular es con frecuencia un factor que limita la intensidad de mezclado que puede aplicarse a un cultivo. Las características fotosintéticas entre otros factores pueden variar de cepa a cepa, los niveles óptimos de mezclado dependerán de cada especie cultivada (Putt, 2007).

Es importante medir el oxígeno disuelto en medio, ya que el exceso de éste puede disminuir el rendimiento de la masa celular, porque se origina una inhibición en la respiración, causando problemas en la asimilación del CO₂ (Putt, 2007).

- *Entrada de CO₂*: El CO₂ es ingresado a la pileta a través de pozos, en los que se da el intercambio gaseoso. La proporción de absorción de CO₂ en este tipo de reactores es alta, cercana al 90% (Sheper, 1998). Las algas tienen gran potencial para fijar y utilizar el CO₂, en una relación de 1 kg de biomasa seca de alga utiliza aproximadamente 1.83 kg de CO₂ (Polakovičová et al., 2012). Además se tiene la relación de O₂ que liberan las algas durante su crecimiento, siendo esta de 1.5 – 1.92 kg O₂/kg microalga producida (Grobbelaar et al., 1988)

F. Extracción de aceite

1. Obtención de la masa celular. Un proceso de filtración convencional es el más apropiado para la recolección de microalgas grandes (> 70 micras) como *Coelastrum* y *Spirulina*. No se puede utilizar para las especies de algas de dimensiones bacteriana (<30 micras), como *Scenedesmus*, *Dunaliella* y *Chlorella* (Mohn, 1980). Para la recuperación de algas más pequeñas (<30 micras), la microfiltración de membrana y ultrafiltración son alternativas técnicamente viables a la filtración convencional (Petrusevski et al., 1995). Es adecuado para células frágiles que requieren baja presión de membrana y baja velocidad de flujo (Borowitzka, 1997).

Otro método de recolección podrá ser de las siguientes maneras: La primera etapa es agregar un floculante, con el fin de incrementar el tamaño de la célula. Éste es sólo un paso de preparación para los otros métodos (filtración, flotación, sedimentación, entre otros). Los floculantes más comunes son polivalentes como el cloruro férrico (FeCl_3), sulfato de aluminio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) y sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$).

Knuckey *et al.*, desarrollaron un proceso que implica el ajuste del pH de entre 10 y 10,6 utilizando NaOH, seguido por la adición de un polímero no iónico. La proporción de floculación fue mayor a un 80%, para una amplia gama de especies de algas. (Knuckey *et al.*, 2006)

Los métodos de flotación se basan en la captura de células de algas utilizando dispersión de micro-burbujas de aire y a diferencia de floculación, no requiere la adición de productos químicos (Wang *et al.*, 2008). Algunas cepas naturalmente flotan en la superficie del agua con el aumento del contenido en lípidos. (Bruton *et al.*, 2009).

La sedimentación por gravedad es la técnica más común para el aprovechamiento de la biomasa de algas en el tratamiento de aguas residuales debido a los grandes volúmenes tratados y al bajo valor de la biomasa (Nurdogan & Oswald, 1996). Sin embargo, el método sólo es adecuado para microalgas grandes (tamaño > 70 micras) como la espirulina (Muñoz & Guieysse, 2006).

Otro de los métodos para separar la biomasa es la centrifugación, la cual se utiliza para concentrar algas de gran valor y se considera caro y consume electricidad. A pesar de eso, es el método más conocido para la concentración de pequeñas algas unicelulares. Aplicarlo puede constituir un 40 a 50% del costo de inversión pero, trabajar la centrifugación como un método secundario puede reducir grandemente el costo. (Ecofys, 2009)

2. Obtención del aceite. La extracción de aceite de microalgas todavía es un tema de debate a nivel mundial y de intensiva investigación, es uno de los obstáculos para aprovechar por completo la producción de lípidos. A continuación se mencionaran algunos de los métodos que se conocen. Para ello se consideran dos bases, mecánicos y químicos. Las extracciones de aceite que se manejan con mayor frecuencia en base mecánica son la prensa y el ultrasonido. En la extracción química podemos encontrar solventes con hexano y método Soxhlet. (Demirbas,2010) (Oilgae,2011)

La siguiente tabla muestra los métodos de extracción más comunes y estudiados en la última década y su rendimiento en la recuperación de lípidos.

Tabla No. 6 Métodos de extracción y sus proporcións para recuperar lípidos

Extraction method	Organism	Recovered oil (%)	Fatty acid (% in recovered oil)	References
Solvent/saponification	<i>Porphyridium cruentum</i>	59.5	EPA – 79.5 ARA – 73.2	[22]
Bligh and dyer (wet)	<i>Mortierella alpina</i>	27.6	N/A	[19]
Bligh and dyer (dry)		41.1	Oleic – 49.3 Palmitic – 15.3 GLA – 31.3	
SC-CO ₂	<i>Arthrospira (spirulina) maxima</i>	2.1	GLA – 73.0	[26]
Bligh and dyer	<i>Nannochloropsis sp.</i>	5.5	EPA – 32.1	[48]
SC-CO ₂		25	Palmitic – 17.8 GLA – 13.0	
SC-CO ₂	<i>Arthrospira (spirulina) maxima</i>	40	GLA – 20.2	[30]
SC-CO ₂	<i>Spirulina (arthrospira) platensis</i>	77.9	Palmitic – 40.0	[29]
Solvent	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	96.1	EPA – 23.7 Palmitoleic – 19.2	[6]
UAE	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	25.9	DHA – 39.3 Palmitic – 37.9	
Soxhlet		4.8	DHA – 39.5 Palmitic – 38.0	
Bligh and dyer (dry)	<i>Chlorella vulgaris</i>	52.5	N/A	[50]
Solvent/transesterification	<i>Botryococcus braunii</i>	12.1	Oleic – 56.3 Linolenic – 19.0	[51]
	<i>Synechocystis sp.</i>	7.3	Palmitic – 59.2 Oleic – 16.7	
Wet milling	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	25.3		[16]
French press		21.2		
Sonnication		21.0		
Bead-beater		20.5		
Soxhlet		6.3		
Bead-beater		18.8	N/A	
French press		14.9		
Wet milling		14.4		
Sonnication		10.7		
Soxhlet		5.6		
SC-CO ₂	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	8.6	DHA – 42.7 Palmitic – 25.3	[52]
Bligh and dyer		19.9	DHA – 49.5 Palmitic – 22.9	

SC-CO₂ = supercritical carbon dioxide extraction, UAE = ultrasonic assisted extraction

EPA = eicosapentaenoic acid, C20:5(ω-3), ARA = arachidonic acid, C20:4(ω-6), oleic = oleic acid (C18:1), palmitic = palmitic acid (C16:0), GLA = γ-linolenic acid, C18:3(ω-6), DHA = docosahexaenoic acid, C22:6(ω-3), linolenic = linolenic acid (C18:3).

a. Destrucción mecánica. Para este método se utilizan varios dispositivos mecánicos como homogenizadores celulares, molinos de bolas, sistemas de prensado. Estos requieren que la biomasa obtenida de las microalgas sea secada previamente para obtener mejores resultados. Poseen la desventaja de la dificultad para la recuperación del aceite extraído, ya que se liberan otras sustancias presentes en la célula, lo cual hace que sean utilizados en combinación con métodos químicos. (González, 2009: 57)

La homogenización es el proceso de forzar la biomasa por un orificio, el cual resulta en cambio brusco de presión así como una acción de ruptura. (Mercer, Armenta, 2001)

Los molinos incluyen un contenedor empacado con pequeñas bolas que son agitadas a velocidades altas. La agitación de la biomasa con las bolas resulta en el daño de las células. Usualmente, este método se utiliza en conjunto con solventes para recuperar el aceite. Es más efectivo y económico cuando las concentraciones de células son significativas (100 a 200 g/L) y cuando los productos extraídos son fáciles de separar. (Mercer, Armenta, 2001)

Los sistemas de prensado someten la biomasa a grandes presiones para romper la pared celular y obtener el aceite. (Mercer, Armenta, 2001)

b. Extracción turbo. Utiliza un agitador de alta velocidad, que induce cavitación hidrodinámica, aumenta el contacto entre el material vegetal y el solvente por lo que aumenta la difusión entre las paredes y por consiguiente la proporción. (Azuola, 2007: 35)

c. Extracción asistida por microondas. Este método aprovecha la polaridad de las moléculas que componen la estructura de la microalga para crear fricción, lo cual crea calor y hace que el agua contenida en la célula escape debilitando la pared celular. La extracción asistida por microondas se caracteriza por ser una técnica que disminuye el tiempo y aumenta la proporción del proceso. (González, 2009: 55) Este método, en comparación con los otros, incluye un pre-tratamiento o acondicionamiento de las células (autoclave, molienda, resonancia y shock osmótico) seguido de una extracción de metanol-cloroformo para especies como *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus sp.* Y *Botryococcus sp.* (González: 2011, 12)

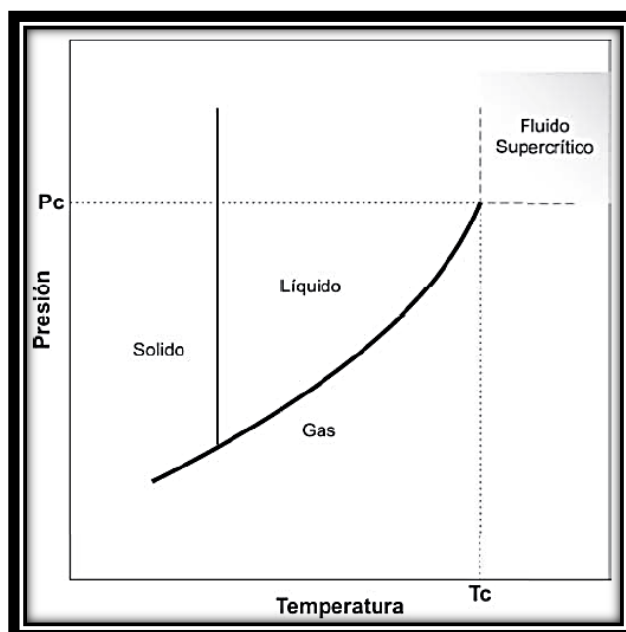
d. Extracción mediante fluidos supercríticos. Este método ha ganado aceptación en los últimos años debido a que produce extractos bastante puros que son libres de residuos potencialmente dañinos, la extracción y separación son rápidas, así como es seguro para productos sensibles a la temperatura. Además, el fraccionamiento de compuestos específicos es posible, lo que reduce los costos de separación y contrarresta los efectos del efecto invernadero al utilizar el dióxido de carbono. (Mercer, Armenta, 2001)

La extracción de fluidos supercrítica requiere de dióxido de carbono licuado y calentado bajo presión o agua subcrítica. Con este método pueden obtenerse proporciones muy cercanas al 100% pero su costo es elevado. (INTA: 2008) Este método surge como una alternativa al empleo tradicional de grandes cantidades de solventes tóxicos. Los fluidos son forzados a permanecer a unas condiciones de presión y temperaturas superiores a sus presiones y temperaturas críticas, como se muestra en la Ilustración 1. A estas condiciones los fluidos tienen características tanto de un gas como de un líquido (baja viscosidad y alta difusividad relativa), lo que le permite penetrar fácilmente en los sólidos. (González, 2009: 56)

El dióxido de carbono es el solvente más utilizado como fluido supercrítico debido a la facilidad para su eliminación después de la extracción, baja toxicidad y costo, aunque posee la desventaja de tener una baja polaridad, por lo que su proporción baja a la hora de extraer componentes polares. (González, 2009: 56) El dióxido de carbono se favorece debido a que su temperatura crítica (31.1°C) y presión (72.9 atm) son bajas. La proporción de la extracción se basa en cuatro factores: presión, temperatura, flujo de dióxido y tiempo de extracción. Puede utilizarse metanol como co-solvente para optimizar el método. Cuando se utiliza etanol, la polaridad del dióxido de carbono aumenta y la viscosidad del fluido se altera, además, requiere bajas temperaturas y presiones para que sea eficiente. Uno de los limitantes para la extracción con fluidos supercríticos es el nivel de humedad en la muestra. (Mercer, Armenta, 2001)

También se utiliza agua subcrítica (SWE), la cual está a temperaturas entre 100 y 374°C y entre 10 y 60 bares, ya que posee la ventaja de ser amigable con el medio ambiente y es de gran proporción con extracciones en muestras sólidas. (González, 2009: 59)

Figura No. 5 Diagrama de fases de una sustancia pura



(A. Gonzalez, 2009)

e. Autoclaveado. El principio de autoclaveado es similar a la extracción mediante agua subcrítica. Una ventaja es que la biomasa puede utilizarse húmeda. Este método incorpora una etapa adicional de extracción con solventes químicos así que se considera como una técnica de pre-tratamiento. (González, 2009: 56)

f. Extracción enzimática. La extracción enzimática utiliza enzimas para degradar las paredes celulares. Este método aún está en estudio y no está disponible en el mercado. (Oilgae, 2011) Estas enzimas también pueden ser utilizadas para transformar los ácidos grasos presentes en las microalgas en lípidos aptos para su posterior transesterificación. (González, 2009: 57) Sin embargo, la actividad enzimática se ve afectada por muchas variables, entre ellas: naturaleza de la enzima, concentración, composición de los aceites o ácidos grasos o pared celular, contenido de agua, temperatura, entre otros. (González, 2011: 13)

g. Shock osmótico. Este método consiste en la reducción de manera drástica de la presión ejercida por el líquido dentro de la célula, entonces, por osmosis, el agua ingresa a la célula y causa la ruptura de la pared y membranas celulares. Es recomendado para células debilitadas. (González, 2009: 57)

h. Cocción a presión. Incluye las ventajas de un menor costo, una mayor rapidez en la producción y más eficacia en el proceso. El método permite aprovechar los tipos de microalgas con menor proporción de aceites, además de eliminar el proceso de secado de las algas. Las microalgas se someten a una temperatura de 300°C, siempre manteniendo el agua a alta presión para preservar el estado líquido en lugar de crear vapor. La alta temperatura y presión permiten que las algas se descompongan al reaccionar con el agua y así se obtienen los hidrocarburos, proteínas y carbohidratos. Éste nuevo método ha sido elaborado por los especialistas en la Universidad de Michigan. (Piacente, 2010)

i. Pulsos electromagnéticos. Otro de los métodos potenciales para la extracción de aceite de microalgas es el uso de pulsos electromagnéticos (PEF), en el cual las células son expuestas a pulsos cortos de gran campo eléctrico. Los pulsos eléctricos permeabilizan la pared celular, mejorando la transferencia de masa a través de la membrana, lo que podría utilizarse como pre-tratamiento para la extracción por solventes o mecánica. (Mercer, Armenta, 2001)

j. Extracción con solvente químico. El método se basa en penetrar la biomasa con un solvente que sea de polaridad similar al compuesto que quiere extraerse y en conjunto con la habilidad de hacer un contacto físico con los lípidos, hace que la extracción sea posible. Alternativamente, una extracción con solventes puede mejorarse utilizando solventes orgánicos a temperaturas y presiones arriba de sus puntos de ebullición, lo cual se conoce como extracción acelerada con solventes (ASE) y puede ser aplicada a matrices sólidos o semi-sólidos. (Mercer, Armenta, 2001)

Entre los métodos químicos se encuentra la extracción con hexano, el cual es un método relativamente barato y las proporciones que se obtienen están cerca del 95% aunque este solvente es altamente inflamable y el uso de grandes concentraciones es muy peligroso. (Oilgae, 2011)

Otro de los solventes orgánicos popularmente utilizados es el etanol, con una mezcla hexano-etanol es posible extraer más del 98% de los ácidos grasos; sin embargo, el etanol tiene una selectividad relativamente baja comparada con otros solventes por lo que se pueden obtener otros componentes (azúcares, pigmentos, aminoácidos). (González, 2009: 54)

Existe también, el fraccionamiento cuántico que se da en el proceso de extracción de aceite de un sólo paso. Este proceso se basa en el uso de campos magnéticos y variación en el pH para extraer el aceite. Dejando reposar por una hora la gravedad separa el agua de la biomasa y del aceite. (Oilgae, 2011)

Una metodología fue propuesta por Folch, en la cual se extraen lípidos polares y apolares basados en una mezcla metanol-clorofomo, seguida de la purificación de los extractos con una solución de cloruro de potasio (KCl). (Gonzáles, 2009: 54)

k. Método de Bligh and Dyer. El método de Bligh & Dyer es una modificación del método de Folch, éste consiste en la homogenización a alta velocidad de la biomasa con una mezcla metanol-cloroformo en una proporción 2:1. Luego se agrega una parte de cloroformo y se deja homogenizar por 30 segundos, se agrega una parte de agua y se deja homogenizar por 30 segundos. Se realiza una filtración y una centrifugación, después se evapora el cloroformo y se obtiene el aceite. Este método ha tenido muy buenos resultados y se utiliza con frecuencia como complemento de la destrucción mecánica. (Gonzáles, 2009: 54)

De acuerdo a una investigación para la extracción óptima de lípidos de microalgas, se obtuvo que con el método de Bligh & Dyer asistida con ultrasonido se tiene alrededor del 52.5% p/p de aceite. (Araujo, *et.al*: 2012)

Para el método de Bligh & Dyer modificado, se utiliza 2-propanol y ciclohexano para reemplazar al metano y cloroformo respectivamente. Una de las ventajas que presenta el ciclohexano es su baja densidad que permite que se separe de la mezcla.

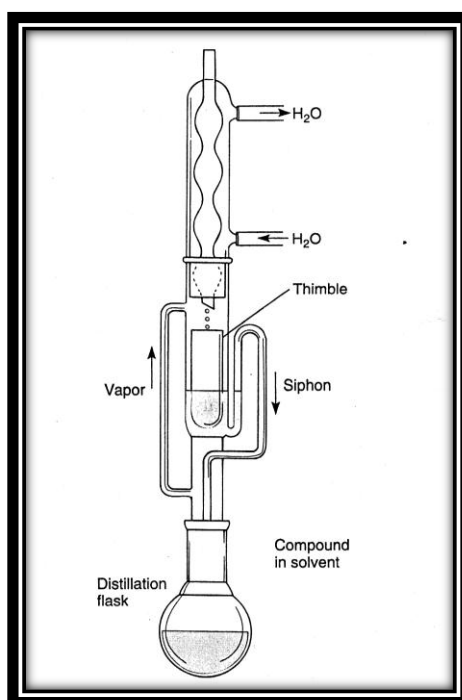
l. Método Soxhlet. El sistema Soxhlet ha sido utilizado comúnmente para la extracción sólido-líquido. Este sistema ha sido ampliamente utilizado en la extracción de aceite de microalgas. (Pavia, 2007: 688)

La extracción Soxhlet fue nombrada por Baron Von Soxhlet, quien introdujo el método en el siglo diecinueve. Había sido el método más utilizado hasta el desarrollo de técnicas modernas de extracción en los años ochenta. Actualmente, Soxhlet sigue siendo un método líder y de referencia para la extracción de sustancias semi-volátiles orgánicas de muestras sólidas. (Mitra, 2003: 142)

El extractor Soxhlet es comúnmente utilizado en laboratorios de investigación. Se compone de un balón que contiene un solvente orgánico, donde es calentado hasta ebullición. Cuenta con un tubo de extracción Soxhlet, donde se coloca la muestra dentro de un cartucho de celulosa. Después de evaporarse, el solvente es condensado y cae al tubo de Soxhlet. El disolvente caliente entra en contacto con el sólido y da lugar a una transferencia de masa, extrayendo el aceite contenido en la biomasa. El disolvente condensado se acumula en la cámara Soxhlet, cuando este alcanza el nivel de la válvula interior, el líquido es sifonado y devuelto al balón que contiene el resto de solvente y el proceso se repite durante el tiempo necesario. (González, 2009: 55)

Puesto que el punto de ebullición del aceite extraído siempre será superior al del disolvente utilizado, el disolvente destilado no contiene cantidades importantes de este, de manera que nunca se alcanzará el límite de solubilidad dentro de la cámara Soxhlet por lo que la transferencia se dará hasta que prácticamente todo el aceite se haya extraído de la biomasa.

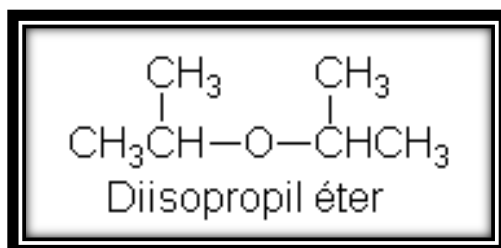
Figura No. 6 Extracción sólido-líquido en sistema Soxhlet



(Pavia, 2007: 689)

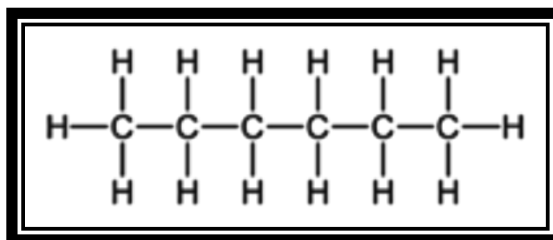
Una gran variedad de solventes orgánicos son utilizados para la extracción por medio del método Soxhlet. Se escoge un solvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado pero deje atrás el sólido insoluble no deseado. (Pavia, 2007: 688) El éter de petróleo es recomendado por ser un solvente no polar que se comportará selectivamente al extraer lípidos no polares de las microalgas, como los triglicéridos. El éter diisopropil también posee esta propiedad y ha sido utilizado para la extracción del alga *Neochloris oleobundans*. El principal inconveniente al utilizar éteres es su alta volatilidad, pues esto da lugar a una pérdida significativa del solvente durante el proceso de extracción, lo cual repercute en los costos de operación. (González, 2009: 55)

Figura No. 7 Estructura de éter diisopropil



El hexano ha presentado resultados interesantes como solvente de extracción para microalgas, pues es relativamente económico, fácil de recuperar y posee selectividad hacia los lípidos neutros. Además, puede ser utilizado en una mezcla con isopropanol, que es segura a escala industrial y eficiente. También puede ser mezclado con diclorometano, lo cual permite obtener una mayor cantidad de lípidos totales extraídos, en caso de ser prioritaria la proporción de extracción en lugar de la selectividad.

Figura No. 8 Estructura de hexano



Otra mezcla comúnmente utilizada es diclorometano/metanol, la cual presenta altas proporciones y recupera una gran cantidad de lípidos neutrales. (González, 2009: 55)

Extracciones con diferentes mezclas de solventes han sido utilizadas para la extracción de lípidos. Al utilizar el método Soxhlet se recomienda trabajar con muestras secas. (Manirakiza, 2000: 96)

Debido a que la muestra es extraída con solventes condensados, Soxhlet es lento y puede tomar varias horas para la extracción. El volumen de extracción es relativamente grande, por lo que usualmente es necesario un paso de evaporación para la concentración del analito previo a la extracción. El tamaño de muestra utilizado usualmente es de 10g o más. Muestras múltiples pueden ser extraídas en unidades separadas de Soxhlet y la extracción no requiere supervisión constante. (Mitra, 2003: 143)

Son pocos los parámetros que pueden afectar la extracción. Las principales desventajas son: el largo tiempo de extracción y el consumo relativamente grande de solvente. La utilización rutinaria de el sistema de extracción. (Mitra, 2003: 143)

m. Extracción con bio-solventes (terpenos). Los terpenos son solventes naturales que existen en frutas cítricas y en muchas otras plantas. Incluyen hidrocarbónos con unidades de isopreno (C_5H_8) y son derivados de aceites esenciales, resinas y otros productos vegetales aromáticos. Representan una alternativa óptima para solventes basados en petróleo en muchas aplicaciones industriales. D-Limoneno es un terpeno biodegradable de bajo costo y toxicidad que está presente en los desechos agrícolas de las cáscaras de cítricos. Actualmente, se han realizado pruebas para determinar si puede usarse como solvente orgánico para la extracción de aceite, dando resultados similares a los del hexano. El α -Pino es un aceite esencial que se obtiene del árbol de chicle y ya tiene varias aplicaciones industriales al igual que el p-Cymene, el cual es utilizado como intermediario en la industria química, como solvente para colorantes y varniz y como aditivo en fragancias y perfumes de almizcle, entre otros. (Dejoye Tanzi, 2012)

En el estudio se determinó que estos terpenos pueden sustituir al hexano en las extracciones de aceite de microalga.

n. Extracción mediante ultrasonido. El ultrasonido (US) es la parte del espectro del sonido en una frecuencia de 16 kHz aproximadamente, la cual está fuera del rango normal del oído humano. (Kharisov, 1999: 13) Las aplicaciones del US pueden dividirse en ultrasonido de señal y de potencia. El ultrasonido de señal (100 kHz a 1MHz) es utilizado para monitorear un proceso o producto. Son señales de baja intensidad. El ultrasonido de potencia (18 kHz a 100 kHz) utiliza señales de alta intensidad; con una frecuencia más baja y mayor potencia producen cambios físicos y químicos por medio de la cavitación. Algunas aplicaciones de las ondas de alta potencia se utilizan para desintegración celular u homogenización. (Azuola, 2007: 32)

El ultrasonido tiene varias aplicaciones actualmente, entre ellas: HIFU (ultrasonido enfocado de alta intensidad para cirugías de ablación no invasivas, litotricia (rompe cálculos del riñón), visualizar fetos, higiene dental, pruebas de integridad de metales y soldaduras, aumento de las reacciones catalíticas, detección de nivel y medidores de flujo, localización, desinfección bacterial por medio de cavitación y control de algas. (Hutchinson, 2007)

La técnica de ultrasonido, para la extracción de aceite, consiste en la exposición de las microalgas a ondas acústicas de una frecuencia determinada, las cuales destruyen la pared celular. Se han hecho estudios trabajando a frecuencias entre 19 y 300 kHz. Estas ondas resultan en ciclos alternos de alta y baja presión. Durante el ciclo de baja presión, se crean burbujas en el líquido, las cuales al alcanzar cierto tamaño, colapsan violentamente en los ciclos de alta presión.

A los ciclos de alta presión se les conoce como cavitación. (González, 2009: 55) Si las burbujas colapsan violentamente cerca de la pared celular, ocurre un daño a la célula. (Mercer, Armenta, 2001)

Se han desarrollado técnicas de extracción que utilizan incluyen al ultrasonido y microondas, trabajando simultáneamente entre 19 y 300 kHz, con lo que se ha logrado reducir el tiempo de extracción de manera significativa (hasta 10 veces) y se ha obtenido proporciones desde 50 hasta 500% para extracciones de aceite en algas. (González, 2011: 13)

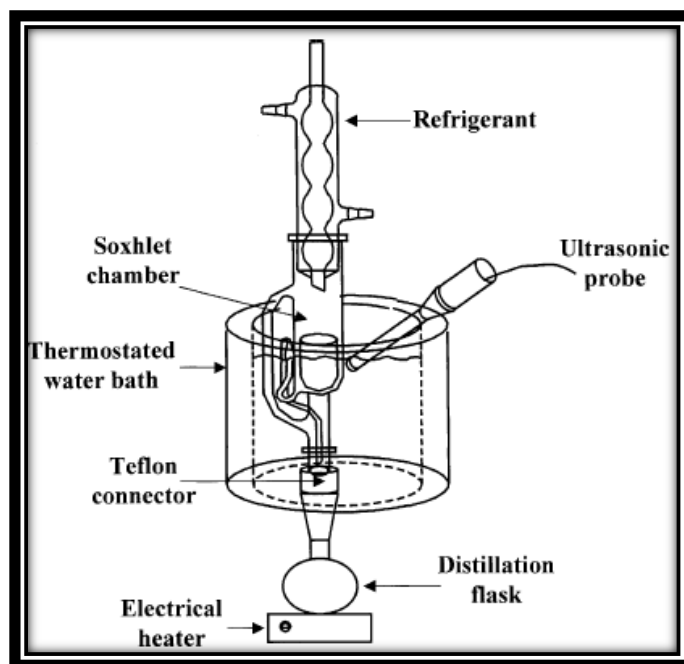
La compañía OriginOil ha desarrollado un proceso que combina el ultrasonido con pulsos electromagnéticos para romper las paredes celulares. Luego se agrega dióxido de carbono, lo cual resulta en una biomasa líquida y baja el pH para facilitar la separación ya que el aceite sube a la superficie y el resto de la célula se hunde. (Mercer, Armenta, 2001)

La influencia de varios factores para el éxito de la aplicación del US puede ser resumida de la siguiente manera:

- a. *Frecuencia*: el aumento de la frecuencia lleva al descenso de la producción e intensidad de cavitación en los líquidos. En otras palabras, a frecuencias altas el tiempo para que aparezca una burbuja es demasiado corto y no tiene el tamaño suficiente para afectar al líquido. (Kharisov, 1999: 14)
- b. *Solvente*: la cavitación produce efectos considerablemente menores en los líquidos viscosos o líquidos con tensiones superficiales altas. (Kharisov, 1999: 14)
- c. *Temperatura*: el aumento de la temperatura permite llevar a cabo la cavitación a intensidades más bajas. Eso es una consecuencia del aumento de la presión de vapor del solvente con el aumento de la temperatura. (Kharisov, 1999: 14)
- d. *Aplicación de gases*: si se aplican gases (pocos o muy solubles en el solvente), la intensidad de cavitación disminuye debido a la formación de un gran número de núcleos adicionales en el sistema. (Kharisov, 1999: 14)
- e. *Presión externa*: el aumento de la presión externa lleva al aumento de la intensidad de destrucción de burbujas de cavitación, o sea los efectos del US en este caso son más rápidos y más violentos en comparación con la presión normal. (Kharisov, 1999: 14)
- f. *Intensidad*: en general, el aumento de la intensidad del US fortalece los efectos producidos. (Kharisov, 1999: 14)

La extracción por ultrasonido puede trabajarse simultáneamente con el sistema Soxhlet. Todo el proceso se basa en los principios convencionales de la extracción Soxhlet, pero se coloca un baño con un termostato que permite que ondas ultrasónicas. El sistema se muestra en la Ilustración3. (Luque-García, 2004)

Figura No. 9 Esquema de la extracción Soxhlet asistida con ultrasonido



Luque-García. 2004. Ultrasound-assited Soxhlet extraction. Pág. 238

G. Estudio de factibilidad

El estudio de factibilidad permite recabar información importante sobre un proyecto, y de esta forma evaluar si es recomendable ejecutarlo. Este estudio se enfoca en tres aspectos: Técnico, operativo y económico. (Sapag, 2011)

Se establece, que el éxito o fracaso de un proyecto bajo estudio, está determinado por la factibilidad en cada uno de los tres aspectos mencionados. (Sapag, 2011)

La factibilidad técnica se refiere a todas aquellas herramientas, equipo, habilidades y conocimientos que deben poseerse, o adquirirse, para poder ejecutar el proyecto. La factibilidad operativa se refiere a los recursos que deben emplearse, o se emplearán al momento de realizar el proyecto. Finalmente, la factibilidad económica se refiere a los recursos de índole económica o financiera de los cuales se debe disponer para lograr llevar a cabo el proyecto. En estos se puede incluir el costo del tiempo, el costo de la inversión, entre otros. (Sapag, 2011)

H. Balanced ScoreCard

El Balanced ScoreCard o se refiere a una forma de trabajo la cual busca, mediante el establecimiento de indicadores o Key Performance Indicators (KPI's), transformar los objetivos de una empresa en medidores y de esta forma dirigir a la organización hacia el cumplimiento de sus metas. (Rojas, 2009)

En un Balanced ScoreCard se deben definir objetivos, medidas, metas y medios. Los objetivos indican lo que queremos alcanzar, las medidas indican como mediremos si estamos alcanzando nuestro objetivo, y las metas indican hacia dónde queremos llegar. Los medios se refieren a los recursos que utilizaremos en la consecución del objetivo. (Rojas, 2009)

I. Estimación de costo de proyectos

Debido a la índole de la investigación y la escala a trabajar, escala laboratorio, es importante poder realizar una proyección acerca de lo que sería realizar el proyecto a gran escala. El método Williams permite realizar esta proyección, utilizando como base únicamente el costo y el tamaño de un proyecto conocido, y el tamaño al que se desea llegar; dando como resultado el costo del nuevo proyecto. El valor obtenido puede ser utilizado en diversos cálculos a modo de monto de inversión inicial. (Perry, 1984)

La fórmula del método de Williams es presentada a continuación: $C_2 = C_1 \left(\frac{T_1}{T_2}\right)^f$

Donde:

- C_2 representa el costo del nuevo proyecto.
- C_1 representa el costo del proyecto realizado.
- T_1 representa el tamaño del proyecto realizado.
- T_2 representa el tamaño del nuevo proyecto.
- f representa un factor, el cual en este caso, y según el manual de Perry para el ingeniero químico, puede adaptarse a cualquier tipo de proyecto con un valor de 0.67.

(Perry, 1984)

J. Análisis financiero

El análisis financiero es una herramienta, que consta de una serie de otras herramientas, las cuales permiten que se realicen comparaciones entre negocios y facilita la toma de decisiones en términos de inversión, financiación, planes de acción, control de operaciones, entre otros. (Blank, 2006)

1. Tasas. Se deben mencionar dos tipos de tasas, que serán de vital importancia en el análisis del proyecto; siendo estas la Tasa Mínima Atractiva de Retorno (TMAR) y la Tasa Interna de Retorno (TIR).

La TMAR, está asociada al riesgo de la pérdida de la inversión; por lo cual un inversionista espera que mientras más baja sea la tasa de retorno menor será el riesgo y a la inversa. (Camacho, 2004)

Para el proyecto bajo desarrollo, la TMAR establecida será de 8.65%. Esta tasa fue calculada mediante el uso del modelo CAPM (capital asset pricing model) el cual utiliza la siguiente fórmula:

$$TMAR = R_f + \beta_i(E(R_m) - R_f)$$

Donde:

- R_f representa la tasa libre de riesgo de interés.
- β_i representa la sensibilidad de los rendimientos de los activos esperados, en base a los rendimientos del mercado esperados.
- $E(R_m)$ representa el retorno esperado del mercado.

Mientras que la TIR, toma en consideración el flujo de efectivo de un proyecto, la duración de este, así como también la inversión inicial del mismo; y es calculada mediante el uso de los factores mencionados para ser posteriormente comparada con la TMAR, y de esta forma determinar la factibilidad del proyecto bajo estudio. (Camacho, 2004)

2. Análisis de valor presente neto. El análisis del valor presente neto (VPN), facilita la determinación de la factibilidad económica de un proyecto. Con el fin de realizar este cálculo, se debe haber establecido la TMAR, además de conocer la inversión inicial necesaria para poner en marcha el proyecto, y finalmente el flujo de efectivo al operar el mismo. Finalmente, el criterio para determinar si un proyecto es económicamente viable, surgirá de obtener un valor presente neto mayor a 0, durante el período de vida del proyecto. (Blank, 2006)

III. JUSTIFICACIÓN

La búsqueda de energía limpia ha adquirido nuevas dimensiones, cobrando gran importancia a nivel mundial, siendo esto un reflejo de la preocupación por el medio ambiente y el daño que está sufriendo actualmente el mismo. Es así como las empresas y diversas instituciones, incluidos gobiernos en todo el mundo han buscado alternativas viables que puedan sustituir los combustibles fósiles, derivando en la producción de un nuevo tipo de carburante conocido como biocombustible.

Guatemala no ha sido la excepción; se han realizado varias investigaciones para encontrar soluciones a este problema, por ejemplo: el bio-etanol a base de maíz, biodiesel de la semilla de piñón, aceites usados, semilla de hule, entre otros. Sin embargo, dichas soluciones han creado controversia ya que la materia prima necesaria para su elaboración se obtiene a partir de productos alimenticios.

Actualmente, se ha iniciado una investigación para la producción de biodiesel a partir del aceite extraído de las microalgas. Sin embargo, es un tema nuevo y todavía se está determinando las mejores condiciones y especies para la elaboración del mismo. Es una alternativa para producir energía limpia sin la utilización de productos alimenticios, altos costos de producción y baja proporción. Las microalgas consumen dióxido de carbono, lo cual ayuda a la reducción de los gases de efecto invernadero. Los desechos que se obtienen, una vez se ha extraído el aceite, pueden utilizarse como alimento para ganado, obtención de vitaminas y pigmentos. Dependiendo del tipo de alga y las condiciones óptimas para su crecimiento, pueden ser utilizadas, también, para limpiar aguas residuales.

Por lo tanto, es necesario evaluar la viabilidad de obtener biodiesel a partir de algas unicelulares oleogénicas, determinando las variables necesarias para desarrollar un método de crecimiento en reactores, para la posterior producción masiva de microalga y obtención del aceite. De igual forma, se determinaron los métodos y materiales que son adecuados para el proceso, específicamente para llevarlo a cabo en Guatemala, para obtener energía limpia por medio de un proyecto rentable y consciente con el ambiente.

IV. OBJETIVOS

A. General

1. Determinar métodos de cultivo y extracción de aceite de algas unicelulares oleogénicas.

B. Específicos

1. Identificar las condiciones ideales para el crecimiento de microalgas para obtener una cantidad de biomasa suficiente para la extracción de aceite.
2. Construir un área de trabajo adecuado para el crecimiento de las microalgas, donde se pueda controlar la cantidad de luz a la que el sistema se expone, la temperatura a la que éste se encuentra y cantidad de aire suministrado.
3. Realizar un monitoreo diario de crecimiento de biomasa mediante el uso de la cámara Neubauer para la elaboración de una curva de crecimiento.
4. Utilizar dos medios diferentes, y controlar las variables de temperatura, luz y aire suministrado e identificar el medio que más favorece al crecimiento de las microalgas en base a la biomasa producida en un tiempo determinado.
5. Diseñar y montar un reactor tipo pileta de 15 litros que utilice luz artificial para el crecimiento de biomasa a partir de algas oleogénicas unicelulares.
6. Diseñar un sistema adecuado de circulación de aire y que evite estancamiento de las algas oleogénicas unicelulares.
7. Realizar un monitoreo del crecimiento de las algas oleogénicas unicelulares en el reactor.
8. Realizar el balance de masa y energía del reactor.

9. Determinar los costos del montaje del reactor de 15 litros.
10. Comparar la proporción extracto/biomasa (%) obtenida en la extracción de aceite a partir de algas unicelulares oleogénicas por medio del método Bligh & Dyer y el sistema de extracción Soxhlet con ultrasonido como pre-tratamiento.
11. Determinar la efectividad del pre-tratamiento con ultrasonido por medio de curvas de rompimiento de la pared celular de microalgas oleogénicas.
12. Obtener el tiempo óptimo de pre-tratamiento si se trabaja con las condiciones máximas que permite el equipo (ciclo y amplitud).
13. Determinar el costo de utilizar ultrasonido como pre-tratamiento para cada uno de los métodos.
14. Proponer una metodología de trabajo para pruebas futuras en el pre-tratamiento de ultrasonido.
15. Evaluar la proporción extracto/biomasa (%) por medio del método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado a nivel laboratorio utilizando pre-tratamiento ultrasónico, para la elección del mejor método.
16. Aplicar cromatografía de gases para determinar los ácidos grasos de la muestra obtenida luego de la extracción por solventes
17. Realizar preliminarmente la extracción de aceite mediante el sistema de extracción Soxhlet, trabajando con éter diisopropil y hexano como solventes.
18. Comprobar el solvente que proporcione la mayor proporción extracto/biomasa (%) de microalgas oleogénicas en el sistema de extracción Soxhlet.
19. Comparar el costo de operación de la extracción para cada uno de los solventes en el sistema de extracción Soxhlet.

20. Diseño de un sistema de medición para la producción de aceite para biodiesel en los aspectos de producción, financieros y de organización.
21. Medición y evaluación de la cantidad y el manejo de los recursos utilizados en el sistema de cultivo tipo pileta de 5 litros.
22. Medición y evaluación del manejo y administración de los recursos utilizados en la obtención del aceite de las microalgas para cada uno de los métodos de extracción bajo consideración.
23. Determinación de la variación en la factibilidad del proyecto debido al impacto del volumen de producción en la extracción de aceite proveniente de microalgas.
24. Creación de un plan de seguimiento para procurar la continuidad del proyecto de producción de biodiesel a partir de microalgas dentro de la Universidad del Valle de Guatemala.

V. PROBLEMA A RESOLVER

La creciente demanda de combustibles para la generación de energía se hace cada vez mayor y la problemática que existe con respecto a la contaminación ha llevado a la búsqueda de una producción de energía limpia. Las microalgas son la fuente más prometedora para la producción de biocombustibles debido a su rápido crecimiento, no ser un recurso alimenticio, costos de mantenimiento relativamente más bajos, requieren del dióxido de carbono presente en la atmósfera para crecer, por lo tanto, son de beneficio económico y ambiental.

El potencial que se tiene en el uso de microalgas, puede ser tanto en el área farmacéutica, alimenticia y purificación de aguas. Por la proporción de aceite que éstas pueden llegar a tener, se ha considerado desarrollar una investigación práctica acerca de la metodología para la producción de aceite a partir de algas unicelulares oleogénicas a nivel laboratorio, investigando sobre las mejores condiciones de operación tanto en el cultivo como en la extracción para obtener la mayor cantidad posible de aceite.

VI. METODOLOGÍA

El proyecto de extracción de aceite de microalgas oleogénicas, que incluye desde la evaluación de los diferentes medios de cultivo para su desarrollo hasta la extracción por los distintos métodos (Bligh & Dyer, Bligh & Dyer modificado y Soxhlet) asistidos por ultrasonido constó de distintas fases que se describen a continuación:

Fase I. Investigación bibliográfica

En esta etapa se realizó una revisión bibliográfica de textos, artículos científicos y experimentos realizados previamente. Se indagó acerca de las microalgas, en cuanto a su estructura, componentes y características de desarrollo; especificaciones de los distintos tipos de reactores, incluyendo diseño, construcción, ventajas y desventajas. Debido a que el tratamiento tiene relación con los métodos Soxhlet y Bligh & Dyer, se requirió investigar, también, acerca de los fundamentos de cada técnica y cuáles han sido los resultados obtenidos.

Fase II. Bases de diseño

Esta etapa consistió en la definición de los objetivos y alcance del proyecto, en donde se estableció la importancia, aplicaciones y los límites que fueron abarcados. Además, se definieron los pasos a seguir en la investigación y montaje del proyecto.

Fase III. Obtención de resultados

Se realizaron las pruebas correspondientes a cada módulo de trabajo, cada uno acorde a lo descrito posteriormente en su diseño experimental para obtener resultados concluyentes.

Fase IV. Informe

La última etapa consistió en la organización de datos y resultados, elaboración de gráficas y del informe de resultados.

A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO

Primero, se creó un lugar de trabajo, donde controlar las condiciones adecuadas para realizar los estudios del crecimiento de las microalgas. En este lugar se mantuvo los cultivos de microalgas comparativos. Las variables que se controlaron son el medio de cultivo donde el alga es inoculada, cantidad de aire suministrada, luz a la que éstas serán expuestas, temperatura y pH.

Se realizaron pruebas de crecimiento de microalga, con una microalga de prueba, controlando las variables de temperatura, luz, pH, aire y medio. Se elaboró una curva de crecimiento y se identificaron qué condiciones son las que mejor favorecen en el crecimiento de las mismas.

La temperatura fue controlada con un termómetro ambiental, verificando que ésta no se saliera de los rangos permisibles. La forma de controlar la luz fue con un reloj- temporizador, el cual mantuvo encendida la luz durante 17 horas y apagada durante 7 horas diariamente. Para determinar el pH al que se está el medio durante el período de tiempo se utilizó un potenciómetro, para determinar el pH al que se mantiene el medio y saber si es necesario regular el pH si éste se sale de los rangos que la literatura expresa. Se burbujeó el medio con aire, utilizando una bomba de aire, durante 24 horas al día todos los días. Se utilizaron dos medios de cultivo diferentes para poder realizar los cultivos comparativos.

Segundo, se definió que se trabajaría con dos medios de cultivo, un medio sintético de sales y un fertilizante foliar. La preparación del medio sintético de sales la provee la ATCC y ésta no fue modificada para éste trabajo (ver Apéndice 8). El medio a base de fertilizante foliar, se preparó a partir de la dilución del fertilizante en agua destilada. La concentración utilizada fue 1mL de fertilizante foliar por cada 100mL de agua destilada.

El medio se elabora para un volumen determinado, homogenizando los componentes, y esterilizándolo a 120°C por 15 minutos. Para la esterilización se utiliza una autoclave, que funciona con vapor a alta temperatura; el objetivo es lograr una temperatura adecuada, a altas presiones, durante un período de tiempo, para lograr eliminar todo microorganismo presente en el medio que pudiera inhibir el crecimiento del alga.

Tercero, para realizar la curva de crecimiento se hizo una lectura del cultivo usando la cámara Neubauer, la cual es comúnmente utilizada para lectura de microorganismos. Cuando la densidad celular es muy alta, es necesario realizar diluciones. La mejor forma de llevar a cabo las lecturas de crecimiento es cada dos días, para crear una curva de crecimiento celular representativa. Se lleva a cabo una lectura en triplicado, para tener resultados menos dispersos.

Hasta ahora se ha podido determinar la curva de crecimiento, con la cual se puede identificar la cantidad de días en las que las microalgas alcanzan su punto máximo de crecimiento.

Cuarto, una vez determinada la curva de crecimiento y la cantidad de días en que las microalgas alcanzan su punto máximo en la curva exponencial, se procedió a elaborar un lugar de trabajo y un sistema más adecuado para el cultivo de microalgas; ya que en el sistema anterior se encontró mucha contaminación.

Con un mayor control en el sistema, y menos contaminación, se realizó el mismo procedimiento mencionado anteriormente ahora con el fin de determinar cuál medio de cultivo es el más apropiado a utilizar para el desarrollo de microalgas. Esto puede ser evaluado con las mismas curvas de crecimiento, determinando con cual medio se alcanza una mayor densidad celular en menos tiempo.

Por último, se inició un estudio comparativo del crecimiento de diferentes cepas de microalgas utilizando la misma metodología anteriormente mencionada.

B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIOREACTOR TIPO PILETA

El proyecto constó de siete fases, las cuales ayudaron a que el proyecto se llevará a cabo de la mejor manera y así lograr alcanzar los objetivos propuestos.

Primero, se definieron de los objetivos y alcance del proyecto, en donde se estableció la importancia, aplicaciones y los límites que fueron abarcados. Además se definieron los pasos a seguir en la investigación y montaje del proyecto. En esta fase se determinó la capacidad que se utilizaría un reactor de menor escala como primer paso, 5 litros, para que luego que el inóculo

se propagará lo suficiente, colocarlo en el reactor de mayor escala, de capacidad de 15 litros. Siendo esta fase, la base de todo el proyecto.

Segundo, se determinaron las bases de diseño, las cuales estuvieron compuestas por: la creación de un sistema de información que contiene la investigación, revisión bibliográfica, tesis, artículos y expertos en el tema. El sistema de información contiene especificaciones tanto de algas oleaginosas unicelulares como de los distintos tipos de reactores, incluyendo diseño, construcción, ventajas, desventajas y proyectos similares al propuesto. En estas bases de diseño también se incluyeron los objetivos del diseño, los materiales utilizados en la construcción de ambos reactores, el medio de crecimiento de las algas, el método para cuantificar el crecimiento de las algas y el alcance del diseño.

Tercero, se diseñó y se realizaron los cálculos correspondientes al reactor de 15 litros, tomando en cuenta los objetivos, bases de diseño establecidos en la primera y segunda fase. En esta fase se eligió el motor en base a la velocidad lineal de la corriente de agua propuesta por la bibliografía. También se diseñó el agitador de paleta y la pileta de capacidad de operación de 15 litros.

Cuarto, se realizó la construcción del equipo a menor escala, el cual fue la base para el reactor de mayor capacidad. Para esto fue necesario la adquisición de un motor individual con caja reductora adaptado a corriente continua, una hélice, una pecera de 7.7 litros.

Quinto, se puso a trabajar el reactor de capacidad de 5 litros con microalga en un determinado medio de cultivo con exposición a luz artificial y se analizó su crecimiento. La toma de muestras se realizó en cuatro puntos del reactor, sin raspar el fondo, para tomar una muestra representativa del crecimiento en todo el biorreactor. El control de crecimiento de algas se realizó, tomando muestras diarias, por medio de la *cámara de Neubauer*. Se determinó que en la fase exponencial del cultivo, se inocularía para el reactor de 15 litros.

Sexto, se recolectaron los datos de la fase anterior, tanto para el reactor de 5 L como el de 15 L y se tabularon para proceder al análisis de estos.

Por último, con el propósito de plasmar el trabajo realizado durante aproximadamente un año y medio, se tiene la séptima fase, en donde se presenta el actual informe escrito. Este

informe escrito contiene los resultados, conclusiones y recomendaciones obtenidas a partir de la información aportada por las fases previamente descritas. La finalidad de éste es presentar los resultados para su análisis y formar parte de una guía escrita para la continuación del trabajo y así cumplir con las metas establecidas para el proyecto. Si bien el informe escrito es la finalización del presente trabajo, no es el fin del proyecto, ya que las metas del proyecto son a largo plazo. Este trabajo únicamente representa la base del proyecto y lo que se llegó a descubrir, para que esto sea base para futuras investigaciones y estudios sobre el tema. Es necesario darle continuación para ver los verdaderos resultados de todo el esfuerzo.

Se espera que el informe escrito sea de referencia para las personas que deseen continuar el trabajo.

C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO

Para realizar el pre-tratamiento ultrasónico fue necesario que las muestras de microalgas, del Lago de Amatitlán y *Scenedesmus sp.*, a tratar estuvieran en un medio acuoso.

Antes de iniciar, es necesario conocer lo siguiente de las muestras y el equipo:

Muestras

1. Volumen de la muestra
2. Masa de la muestra
3. Temperatura

Equipo

1. El equipo está asegurado correctamente
2. El equipo está conectado correctamente
3. El equipo cuenta con la aguja a trabajar

La prueba consiste en permitir un contacto con las ondas ultrasónicas por cierto tiempo, en este caso se tomará como margen 70 minutos. Durante los primeros 5 minutos se tomarán muestras aleatoriamente cada minuto y se hará una lectura con ayuda de la cámara de conteo Neubauer-Improved y un microscopio. Después de esto, las muestras se tomarán cada 5 y 10 minutos hasta llegar a los 70 minutos. Durante este tiempo, debe medirse la temperatura cada minuto y cada vez que se tome la muestra.

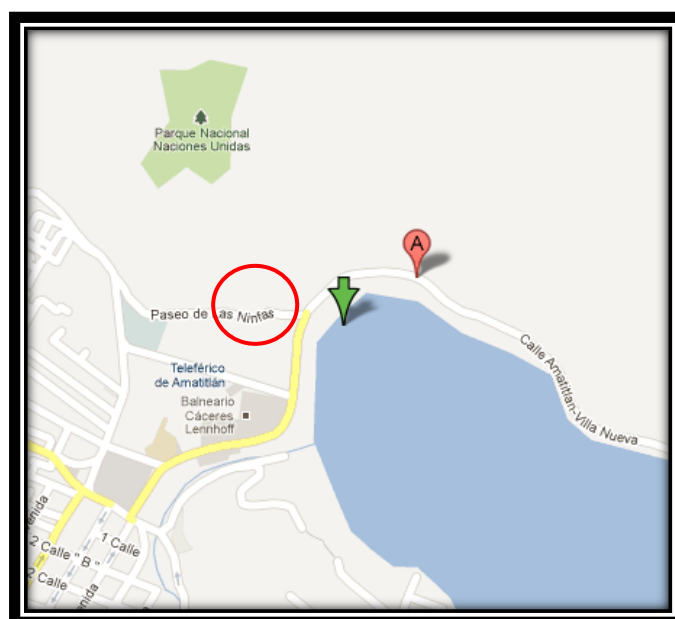
Para la lectura con la cámara Neubauer-Improved se utilizarán los cuadros medianos (Ver la sección de: Cámara de Neubauer, en la página 19, en la sección de Antecedentes), esto debido al tamaño de las células con las que se está tratando. Debido a las condiciones de uso que requiere el portaobjetos, debe asegurarse que el conteo que se esté realizando puede ser fiable. De lo contrario, debe realizarse una dilución adecuada.

D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE CON MÉTODO BLIGH & DYER Y BLIGH Y DYER MODIFICADO

Para la extracción de aceite es necesario secar la microalga para eliminar la cantidad de agua contenida en la misma luego de su filtración o centrifugación. La extracción de aceite de la microalgas oleaginosas se realiza utilizando el método Bligh & Dyer (Método A) y Bligh & Dyer modificado (Método B) a nivel laboratorio, luego de su extracción se utilizó cromatografía de gases para determinar la presencia de ácidos grasos en el extracto obtenido.

Las muestras de microalgas utilizadas para la realización del estudio fueron dos, la microalga del lago de Amatitlán se obtuvo realizando una recolección de la misma en el lago en las coordenadas de ubicación de 14.490261,-90.610302 en grados decimales, como se observa en la Figura No. 10.

Figura No. 10 Ubicación de recolección de microalgas de Lago de Amatitlán, Guatemala



La microalga *Scenedesmus sp.* también se evaluó realizando el procedimiento respectivo de los métodos a evaluados.

El método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado se han utilizado durante muchos años de diferentes maneras para la determinación de lípidos, para descubrir el éxito de este antiguo método se evaluó el procedimiento en base a la proporción de extracción obtenida en la microalgas, el análisis fue desarrollado a nivel laboratorio utilizando un pre-tratamiento al tejido celular de ambas microalgas para luego utilizar los métodos de extracción.

Al extracto obtenido se le realizó una derivatización para obtener ésteres metílicos y se identificaron por medio de un análisis cromatográfico para verificar la presencia de ésteres metílicos utilizando una cromatografía de gases.

Se llevó a cabo una extracción de semilla de higuierillo para validar los métodos utilizados ya que en los resultados cromatográficos no se obtuvo de presencia de ácidos grasos con las microalgas analizadas.

Con ambos métodos se hizo el análisis estadístico correspondiente para determinar el proceso de extracción eficiente para su posterior uso en la operación de otros experimentos.

E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE CON MÉTODO SOXHLET

Se trabajó con microalgas oleogénicas, evaluando si las algas del lago de Amatitlán son parte de este grupo y luego se trabajó con *Scenedesmus sp.* Las pruebas se realizaron con algas pretratadas.

Para la extracción se trabajó con dos solventes diferentes: éter diisopropil y hexano. Se trabajó la extracción con cada disolvente en duplicado. Todas las pruebas se hacen con la misma cantidad de ciclos para la extracción.

La biomasa se separó de la parte líquida por centrifugación. Ésta fue secada en un secador de bandejas a una temperatura de 60°C.

El solvente fue separado del aceite mediante evaporación o destilación. Se colectó el aceite extraído y se pesó en una balanza analítica, así como la cantidad de biomasa remanente.

De esta manera, se trabajaron tres experimentos, cada uno en duplicado con el fin de obtener resultados estadísticamente significativos. Para cada extracción se trabajó con alrededor de 4 g de biomasa seca, requiriendo un total de 24 g de biomasa seca.

Finalmente, el método fue validado por medio de la realización de una extracción de semilla de higuierillo en las mismas condiciones que las pruebas realizadas con algas.

Se calculó la proporción extracto/biomasa (%) obtenida. Además, el extracto obtenido fue analizado por medio de Cromatografía de Gases para determinar los ácidos grasos presentes.

Estos resultados fueron trabajados mediante un análisis estadístico, evaluando los resultados de cada experimento y determinando la media aritmética de las dos corridas realizadas para cada extracción, así como su desviación estándar y límite de confianza.

A partir de los resultados obtenidos en la extracción por el método Bligh & Dyer, obtenidos en la parte de este megaproyecto: Extracción de aceites de microalgas oleogénicas a escala laboratorio por medio de solventes utilizando el método Bligh&Dyer, se realizó una comparación de las proporciones extracto/biomasa (%) obtenidas en cada método.

F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1. Sistema de medición

a. Introducción al sistema de medición. Para realizar esta investigación se elaboró un sistema de medición por medio del cual, evaluando aspectos determinantes del objeto bajo estudio, establece una calificación por aspecto y global para el mismo.

El objeto bajo estudio pudo haber sido desde algo tan sencillo como una mesa, hasta algo tan complejo como un proyecto de inversión.

Dentro de la definición dada, se deben resaltar tres conceptos de suma importancia. El primer concepto es: “aspectos determinantes”. Este concepto se refiere a aquellas características que, para el usuario del sistema de medición, son de vital importancia y en consecuencia determinan el juicio final sobre el objeto. Es importante destacar que estas características pueden ser objetivas y/o subjetivas, mientras sean medibles.

El segundo concepto es: “establece una calificación”, lo cual se refiere a la comparación entre las características propias del objeto y los estándares preconcebidos como positivos. Esto, con el fin de determinar la variación que existe entre ellos y de esta forma asignarle una puntuación por característica, al objeto.

Finalmente, el tercer concepto es: “calificación por cada aspecto y de forma global para el sistema de medición”. Este concepto se refiere a lo que devuelve el sistema, una vez sean ingresados y calificados los aspectos determinantes. Dicho sistema deberá entregar a su usuario una calificación por cada uno de los aspectos evaluados, lo que le permitirá analizar el objeto bajo estudio. Por otro lado, con la calificación global se podrá comparar dicho objeto con otros de características similares que hayan sido evaluados por el sistema de medición.

Así, un sistema de medición conceptualizado de la forma anterior proveerá al evaluador un resultado que le permita determinar si el objeto cumple satisfactoriamente con los requisitos deseados. Y de cumplir con estos, le facilitará la tarea de compararlo contra otros objetos que también cumplan. En otras palabras, el objetivo final de un sistema de medición será el facilitar la toma de decisiones en cuanto a la selección de un objeto sobre otro.

b. Desarrollo del sistema de medición. Una vez definido lo que es un sistema de medición y sus características, se procedió con el diseño de un sistema de medición para la producción de aceite proveniente de microalgas; teniendo como objetivo el crear una plantilla de evaluación que estuviese compuesta por una serie de factores que al ser calculados y calificados, resumieran de forma adecuada la facilidad o dificultad que existiera en la implementación y ejecución de un método de extracción de aceite. Esta plantilla debía ser aplicable a cualquier método de extracción, situación que implicó seleccionar factores generales que pudiesen ser evaluados en cualquier método de extracción. De esta manera, se podría realizar una comparación objetiva entre cualesquiera dos, o más, métodos evaluados bajo este sistema.

1) Foco estratégico. Con esta serie de objetivos en mente, se decidió que el sistema de medición debía evaluar los métodos de extracción en los siguientes niveles: económico, operativo y técnico. Esta decisión estuvo fundamentada en los componentes que debe llevar un estudio de factibilidad. Cada uno de los niveles mencionados fue dividido en una serie de factores que en conjunto resumirían el nivel dentro del cual se ubicaban. A estos factores se les llamará de ahora en adelante, indicadores o KPI's (*Key Performance Indicators*, por sus siglas en inglés). La clasificación de los indicadores dentro de cada nivel se basó en los siguientes criterios:

- Toda razón económica que permitiera conocer y comparar entre sí los métodos de extracción analizando el rendimiento de la inversión fue incluida, además de los costos en los cuáles se incurriera previo a iniciar operaciones (pre-operativos).
- Todos aquellos factores que fuesen generados y/o empleados expresamente al momento de estar ejecutando el método de extracción debían ser incluidos en el nivel operativo; destacando que se podía incluir costos, en caso de considerarse estos inherentes al proceso productivo.
- Todos los factores que tuviesen un impacto en el resultado final del método, y que además fuese necesario realizar o tomar en consideración para el correcto desarrollo y/o ejecución del mismo, serían incluidos en el nivel técnico.

Tras realizar el listado de indicadores dentro de los niveles a evaluar, se clasificó cada indicador dentro de otros tres aspectos, independientemente del nivel en que se encontraran. Estos nuevos tres aspectos fueron: de producción, financiero y de organización. Los criterios de clasificación para ubicar el indicador dentro de estos fueron los siguientes:

- Los aspectos financieros incluyeron todo indicador cuya unidad de medida estuviese dada en Quetzales o moneda extranjera. Además, toda razón económica fue categorizada como aspecto financiero.
- Los aspectos de producción se refirieron a los inherentes al proceso productivo. Estos dieron como resultado la producción de aceite.
- Los aspectos de organización se tomaron como todos aquellos factores que fuesen necesarios para iniciar operaciones. Además, aquellos indicadores que requiriesen de algún tipo de consideración especial, en términos de su administración, para reducir su impacto ante el proceso de ejecución del método.

Así, los indicadores, los aspectos de estos, y el nivel al que pertenecían, fueron categorizados bajo el grupo denominado como foco estratégico, el cual se muestra en el siguiente cuadro:

Tabla No. 7 Categoría: Foco estratégico, del sistema de medición desarrollado

Foco estratégico		
Nivel	Indicador (KPI)	Aspecto
Económico		Financiero, producción u organización
Operativo		Financiero, producción u organización
Técnico		Financiero, producción u organización

2) Medida. Tras definir la primera parte del sistema de medición, el foco estratégico, se procedió a desarrollar una categoría que incluyera la forma de medición para los distintos indicadores que se evaluarían. Esta categoría fue denominada: Medida.

Al realizar un análisis preliminar de los posibles indicadores a incluir, se detectó que existirían algunos que deberían, por su naturaleza, tener más masa al momento de realizar la evaluación que otros. Fue por ello, que se decidió generar una escala que permitiera valorizar al indicador, según lo que el usuario de la plantilla considerara relevante en la evaluación. A este rubro se le asignó el título de: rango del KPI.

Una definición más formal de rango del KPI consiste en el nivel jerárquico del indicador y su influencia en la toma de decisiones. La escala definida constó de tres rangos (10, 5 y 1) siendo el rango 10, el más relevante y 1, el menos. La masa en la evaluación sería entonces, 50% para el rango 10, 35% para el rango 5 y 15% para el rango 1.

En este punto se debe resaltar que cabía la posibilidad que en un nivel existiesen indicadores de los 3 rangos, pero también solamente de dos rangos o solo de un rango, por lo cual se definió la siguiente tabla de asignación de masa, con el fin de conservar la relación establecida y no afectar la calificación final. (Ver Tabla No. 8).

Tabla No. 8 Tabla de decisión para asignación de masa en la calificación, según los rangos existentes en el nivel

Sí	Entonces
En el nivel existen los rangos 10, 5 y 1	La asignación de masa será 50%, 35% y 15%, respectivamente
En el nivel existen los rangos 10 y 5	La asignación de masa será 59% y 41 %, respectivamente
En el nivel existen los rangos 10 y 1	La asignación de masa será 77% y 23 %, respectivamente
En el nivel existen los rangos 5 y 1	La asignación de masa será 70% y 30%, respectivamente
En el nivel existe únicamente un rango	La asignación de masa será del 100% para ese rango

Posteriormente al rango de KPI, se incluyó un rubro que permitiera ingresar la dimensional del indicador. Esto, con el fin de proporcionar al usuario y a cualquier persona que utilizara la plantilla de evaluación e información en cuanto a la manera en la que el indicador es medido en su estado natural. Además, esto también podía ser utilizado para agrupar a los indicadores por unidad de medida.

Una vez definida la unidad de medida el KPI, se debía proporcionar al usuario, una sección dentro de la cual se pudiera incluir el valor real del KPI, obtenido al realizar el análisis del mismo. Dicho valor, dependiendo del indicador, sería comparado con otro valor registrado en la sección denominada: valor teórico estimado del indicador. Dentro del rubro de valor esperado del indicador, se asignaría una medida teórica basada en estimaciones, conocimientos previos o estudios realizados por otras entidades.

La desviación entre el valor real y el teórico determinaría entonces el resultado del indicador, dato que sería registrado en otra columna bajo el título de: resultado. Se debe hacer la salvedad, que podían existir indicadores cuyo valor teórico no era posible calcular o estimar de forma adecuada en esa etapa del proceso de evaluación, y por tanto en esta sección se leería: N/A (No Aplica); en cuyo caso el resultado del KPI sería directamente el valor real obtenido. Es importante mencionar también, que podía darse el caso en que al comparar el valor teórico con el real, el resultado en proporción fuese mayor de 100%. En este rubro, el

resultado mantendría exactamente el valor obtenido, con el fin de lograr una comparación más directa entre métodos de extracción por indicador, en caso de ser necesario. A continuación se presenta una vista preliminar de esta:

Tabla No. 9 Categoría: Medida, del sistema de medición desarrollado

Medida				
Rango del KPI	Unidad de medida	Valor Real del KPI	Valor teórico estimado del KPI	Resultado

3) Meta. Esta categoría tenía como objetivo finalizar con la calificación del indicador de forma individual. Para ello, se estableció un valor con el cual se compararía el resultado obtenido en la categoría anterior. Dicho valor fue denominado como: meta.

La meta variaría de indicador a indicador, y dependería de la unidad de medida que tuviese el indicador en el rubro de resultado, mencionado en la sección anterior; con el fin de poder ser comparable. Es decir, si el resultado se encontraba dado en porcentaje, proveniente de la comparación entre el valor real del KPI y el valor esperado del KPI, la meta estaría estipulada en porcentaje.

La forma de evaluar el KPI con respecto a la meta se basó en la desviación que podía existir entre el resultado y la meta. Debido a que la probabilidad que la desviación fuera cero entre ellos era muy baja; se estableció un conjunto de rubros bajo los cuales podía encontrarse el resultado, y en base a estos se ponderaría el indicador. Los rubros elegidos y la forma de clasificar el resultado obtenido entre ellos, son detallados a continuación:

- Rojo: El resultado obtenido tiene una desviación demasiado alta con respecto a la meta.
- Amarillo: El resultado obtenido se encuentra dentro de un rango aceptable con respecto a la meta, pero aún no es lo suficientemente bueno.
- Verde: El resultado obtenido se encuentra muy cercano, es igual o superior a la meta y por ello se acepta como bueno.

La tarea del evaluador sería asignar los rangos dentro de los cuales, respecto a la meta, el indicador sería considerado como rojo, amarillo o verde. Estos rangos podrían estar compuestos de números adimensionales o de porcentajes. La plantilla de evaluación entonces, de acuerdo a dónde se encontrase el resultado, se procedería a multiplicarlo por un factor propio de la casilla verde, roja o amarilla, asignado para cada indicador.

Se hace la aclaración de que existen ciertos casos en los cuales si el resultado con respecto a la meta, se encuentra en rojo, el factor por el cual se multiplica debería ser cero. Esto se debe a la naturaleza del indicador. Por ejemplo, si el indicador fuese la TIR (Tasa Interna de Retorno); la forma de evaluación de la misma está basada en que el resultado sea mayor o igual a la TMAR (Tasa Mínima Atractiva de Retorno) y en el caso que fuese menor, el proyecto se rechazaría. Entonces en la plantilla de evaluación, la meta sería: $TIR \geq TMAR$; y si no se cumpliera esto, el resultado ponderado según la meta debería ser cero, ya que no aprueba el requisito.

La última columna que compone esta categoría fue denominada: valor ponderado según la meta. En ésta se multiplica el resultado obtenido por el factor mencionado en los párrafos previos, de acuerdo a la desviación de la meta. Asimismo, se destaca que si el resultado fue mayor a 100%, este se aproxima a 100% con el fin de tener como resultado máximo 100 por ciento y como mínimo, cero en la calificación final.

A continuación, se presenta una vista preliminar de la categoría denominada como: meta; incluida en el sistema de medición desarrollado:

Tabla No. 10 Categoría: Meta del sistema de medición desarrollado

Meta				
Valor de la meta	Rojo	Amarillo	Verde	Valor Ponderado según la meta

4) Calificación. La categoría bajo el nombre de calificación comprende la última del sistema de medición desarrollado. Esta categoría tiene como objetivo otorgar al usuario un resumen rápido de comprender y sencillo de analizar acerca del proceso evaluado. Debido a esto, en ella se incluyó el resultado tanto a nivel económico, operativo y técnico tras la evaluación individual de cada KPI, así como la calificación por rango de KPI en cada nivel, y por supuesto, la calificación total final.

Se hace la aclaración de que el resultado final del método no es un promedio de las calificaciones obtenidas por nivel, sino que es el resultado de un análisis de las calificaciones por rango de los KPI's, independiente del nivel en que se encuentren. Esto se debe a que la calificación del método debe ser el resultado de una buena puntuación según los criterios que el usuario del sistema de medición considere como más relevantes para su toma de decisión. A continuación se presenta una vista previa de esta categoría, dentro del sistema de medición desarrollado:

Tabla No. 11 Categoría: Calificación, del sistema de medición desarrollado

Calificación				
Nivel	Por rangos de KPI			TOTAL por nivel
	10	5	1	
Económico				
Operativo				
Técnico				
Resultado final del método				

c. Adaptación del sistema de medición para la evaluación de los métodos de extracción de aceite. La adaptación del sistema de medición estuvo enfocada en cumplir con los primeros 5 pasos del procedimiento establecido en la sección anterior. Esto se debió a que en capítulos posteriores de esta investigación se cumplió con el resto de pasos estipulados, mediante el uso de distintas técnicas. El objetivo final de este capítulo del trabajo fue preparar la herramienta de análisis para la evaluación final de los métodos de extracción y como ya se mencionó, en capítulos posteriores se iría completando la plantilla de evaluación.

1) Selección de indicadores y clasificación. A continuación se presentan los indicadores, junto con una breve descripción de los mismos, así como el aspecto asignado, el rango establecido; además de la dimensional de cada uno; siguiendo y tomando todas las consideraciones destacadas en las secciones anteriores de esta investigación.

Tabla No. 12 Indicadores dentro del nivel técnico

Indicador	Descripción	Aspecto	Rango	Unidad de medida
Tiempo de Preparación	Tiempo de instalación para poder ejecutar el método	Organización	10	Minutos
Costo de equipo de seguridad	Costo que se debe emplear para proteger al personal involucrado en el proceso	Financiero	5	Quetzales
Complejidad del manejo de materiales	Dificultad y cuidado al tratar con el equipo y/o materia prima	Organización	1	Escala 1-10
Dificultad relativa del método	Grado de conocimientos necesarias para ejecutar el método.	Organización	1	Escala 1-10
Necesidad de control de condiciones ambientales	Determina si el método necesita estar bajo condiciones controladas (temperatura, humedad, etc.)	Organización	1	Escala 1-10

Tabla No. 13 Indicadores dentro del nivel operativo

Indicador	Descripción	Aspecto	Rango	Unidad de medida
Tiempo por corrida de producción	Tiempo de ejecución del método hasta la obtención del producto final	Producción	5	Horas
Cantidad de aceite extraído por corrida de producción	Producción final total al ejecutar el método	Producción	10	Mililitros
Costo de mano de obra	Costo de contratar y mantener al personal necesario.	Financiero	1	Quetzales
Costo de materiales requeridos por corrida de producción	Costo de los materiales directos del método utilizados por corrida de producción	Financiero	5	Quetzales
Costo de consumo de energía eléctrica por corrida de producción	Costo por el consumo de energía eléctrica generado por los equipos utilizados en la ejecución del método	Financiero	5	Quetzales

Tabla No. 14 Indicadores dentro del nivel económico

Indicador	Descripción	Aspecto	Rango	Unidad de medida
Costo de inversión inicial	Costo de adquirir el equipo y montaje del mismo para iniciar operaciones.	Financiero	5	Quetzales
Tiempo de recuperación de la inversión	Tiempo que debe transcurrir para que el dinero invertido sea recuperado.	Financiero	5	Años
Precio del aceite	Precio asignado por unidad en base a un costeo por procesos	Financiero	1	Quetzales
Valor Presente Neto	Herramienta financiera para visualizar los gastos y los ingresos en dinero de ahora	Financiero	10	Quetzales
Tasa Interna de Retorno	Relación que compara una inversión de bajo riesgo, y remuneración segura, contra el proyecto bajo análisis	Financiero	10	Porcentaje

De esta forma, el sistema de medición adaptado para los métodos de extracción resultante es presentado en la sección de resultados del presente trabajo.

2. Cultivo de microalgas y Pre-tratamiento ultrasónico. Una vez diseñado el sistema de medición, se procedió a realizar el análisis técnico de los procesos que permiten la extracción de aceite de las algas. Estos procesos fueron: el cultivo de las algas, el pre-tratamiento ultrasónico y los métodos de extracción.

Para el cultivo de las algas y el pre-tratamiento ultrasónico la información reunida en el análisis técnico abarcó tanto, aspectos de índole operativa y económica, como los tiempos de producción requeridos y su capacidad productiva. Esto, debido a que se consideró necesario obtener un conocimiento general de dichos procesos previo al estudio detallado de los métodos de extracción, ya que a pesar de no ser el foco de la investigación, juegan un papel importante en la producción de aceite.

A continuación se presentan los dos procesos que anteceden la extracción de aceite, tomados en consideración en este estudio.

a. Cultivo de microalgas

1) Análisis técnico y operativo. Como se mencionó en el marco teórico del presente trabajo, existen distintas maneras de cultivar las microalgas. La forma de cultivo estudiada en este caso fue: Estanque abierto Raceway. Los materiales utilizados para la construcción del estanque junto con el detalle del costo de cada uno de esto pueden encontrarse en el Apéndice del Módulo F, en la Tabla No. 162, en la página 373. El reactor resultante, cuya capacidad es de 5 litros, aparece a continuación:

Fotografía No. 2 Reactor tipo estanque abierto ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias en la Universidad del Valle de Guatemala



Como puede verse en la ilustración, el reactor cuenta con una rueda de paletas, las cuales garantizan la circulación de las algas, evitando así que se estanquen o adhieran a las paredes. Esto es reforzado por la división interna instalada.

Tras la instalación del reactor, se utilizó 50ml de medio de cultivo para iniciar con el crecimiento de las algas dentro del mismo, haciendo una relación de 10ml de medio por cada litro de capacidad. El medio de cultivo, se refiere a una solución que cuenta con los nutrientes necesarios para propiciar el desarrollo, en este caso de las algas. Además representa el único material directo agregado dentro del primer proceso.

Lo que se deseaba determinar como dato principal, dentro del reactor, era el tiempo que necesitaba el alga para llegar a la fase denominada “estacionaria”. Esta fase indica el punto en el que las algas pueden ser cosechadas y así continuar con el proceso.

El proceso para obtener este dato se basó en la segmentación del reactor por áreas y la medición del crecimiento de las algas de forma periódica, el cual fue registrado con el fin de obtener la curva de crecimiento del alga. El tiempo que tomó al alga alcanzar esta fase dentro del reactor fue de 34 días, lo cual puede verse en el Apéndice, Gráfica No. 27 Media de resultados de crecimiento de cada variable en medio 02, Experimento 1 en la página 243. Prueba preliminar del control del crecimiento de alga unicelular oleogénica en bioreactor de pileta de 5 Litros

Como último punto evaluado en el análisis técnico del cultivo de las algas, se determinó que eventualmente, se podría llegar a requerir de personal encargado del cuidado y mantenimiento del reactor. Para ello se definieron dos puestos que debían ser cubiertos:

a) Operario encargado del cultivo y cosecha de las algas. Sería el encargado del monitoreo del crecimiento de las algas en base diaria, así como del manejo del medio de cultivo que contiene los nutrientes de las algas. Además de esto, al momento de las algas alcanzar la fase “estacionaria”, tendría que retirarlas del estanque y transferirlas al siguiente proceso.

b) Operario de mantenimiento del estanque. Estaría encargado de asegurar que el estanque mantiene las condiciones ideales para el cultivo de las algas. Asimismo, la limpieza y ajustes al estanque al momento de ser cosechadas las algas entrarían dentro de su set de responsabilidades.

2) Análisis económico

a) *Inversión inicial y costos de operación.* A continuación se presentan los costos de inversión y de operación anuales para los dos procesos previos al método de extracción; tanto a la escala trabajada (escala laboratorio), como a distintas escalas. Además,

esta información fue utilizada a lo largo de todo el análisis para evaluar la factibilidad económica de los métodos, a distintas escalas.

Las escalas trabajadas estuvieron basadas en la cantidad de litros de aceite que se desearan obtener. Así, se definió la escala 1 para obtener 100 litros de aceite anuales, la escala 2 para obtener 1000 litros de aceite anuales y la escala 3 para obtener 3785 litros (1000 galones) de aceite anuales. Como se mencionó previamente, se utilizó el método de Williams para realizar la estimación de costos del proyecto. La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$C2 = C1 \left(\frac{T2}{T1} \right)^f$$

Para el caso de la inversión inicial del cultivo, T1 representó el volumen actual de la piscina de microalgas, mientras que T2, fue el volumen de la piscina deseado. C1, fue el costo de la inversión inicial para la piscina de 5 litros.

Previo al uso del método de Williams, estos costos y tamaños utilizados, fueron multiplicados por un factor de 34; este valor surgió del tiempo que toma a las microalgas alcanzar la fase de crecimiento estacionaria. Al realizar esta modificación, el resultado ofrecería la perspectiva de realizar una cosecha de microalgas diaria durante todo el año; trasladando esto a su vez, a las escalas proyectadas.

En cuanto a los costos de operación anuales, la forma de realizar las estimaciones para las diferentes escalas, estuvo basada en una asignación de costos fijos y costos variables para la producción. Exceptuando el caso de la escala laboratorio, la cual fue trabajada en su totalidad bajo costos variables, se determinó que los costos fijos de operación para las distintas escalas serían los siguientes:

- Mano de obra
- Insumos Clase A: Estos son aquellos que dependen de la mano de obra directamente. En el caso de este estudio, se refieren al equipo de protección requerido. Mientras que los costos variables para la producción serían los siguientes:
 - Materiales directos
 - Por consumo de energía eléctrica.

- Insumos Clase B: Estos son aquellos insumos que dependen del volumen de producción.

En cuanto a los insumos, es importante mencionar que a pesar de ser Clase A y Clase B, se presentan bajo el mismo rubro; pero su cálculo fue realizado en base a la descripción previa.

En el cuadro anterior, se puede observar claramente el impacto que tiene el costo de la mano de obra, mientras menor es la escala. Y, a medida que esta incrementa, los materiales directos son los que generan el más alto costo.

Tras determinar los costos de operación anuales para el pre-tratamiento ultrasónico y para el cultivo de las microalgas, se procedió a, establecer el costo que cada uno de estos procesos le agregaba a la unidad de producción, que en el caso de esta investigación fue el mililitro de aceite de microalgas. Se escogió esta unidad de trabajo, debido a que la escala real trabajada era la escala laboratorio, y por tanto, el mililitro era la unidad utilizada.

Mediante el costeo por procesos, se establecería finalmente el precio que debía tener el mililitro de aceite de microalgas. Este precio variaría únicamente de acuerdo al método de extracción utilizado.

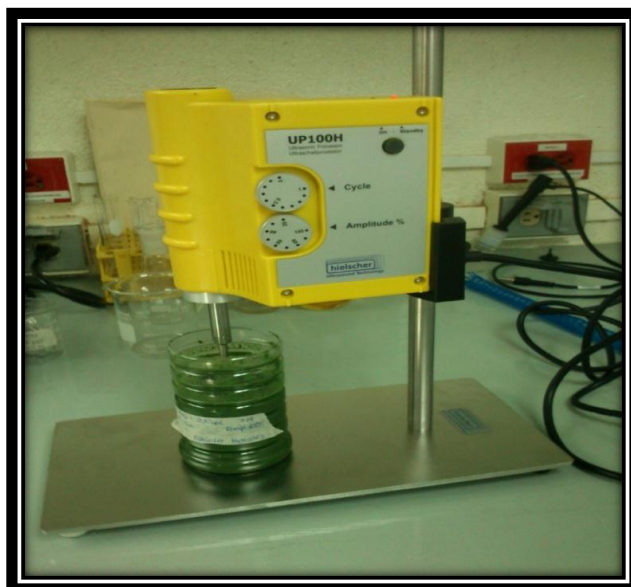
Es importante destacar, que debido a que las escalas de los procesos fueron establecidas en base a la cantidad de aceite que se deseaba producir, se asumió que no existirían unidades en proceso al finalizar el año. Además, un factor no mencionado, pero que sí fue considerado al realizar el cálculo de este costo, fue la depreciación de la maquinaria y equipo, el cual es un gasto indirecto de fabricación, y debe ser tomado en cuenta dentro del costeo por procesos.

b. Pre-tratamiento ultrasónico de microalgas

1) Análisis técnico y operativo. La siguiente etapa del proceso, previa a la extracción de aceite de las microalgas, es el tratamiento ultrasónico. Esta etapa tiene como objetivo la homogenización y ruptura celular de las algas; lo cual facilita y simplifica la extracción del aceite de las algas.

El equipo que se utilizó en este tratamiento fue: el procesador ultrasónico UP100H, el cual tuvo un costo de Q20,525.00. (Ver Fotografía No. 3).

Fotografía No. 3 Equipo de ultrasonido UP100H en la Universidad del Valle de Guatemala



En la ilustración se puede observar la máquina trabajando sobre una muestra de alga de 400 ml. El procedimiento de uso del UP100H consiste en montar el equipo en una base universal, luego colocar la muestra de algas debajo del equipo para posteriormente conectarlo a la corriente. Posteriormente, se ajustan los ciclos y la amplitud del ultrasonido para luego conectar la máquina a la corriente eléctrica y encenderla, dejándola trabajar durante el período establecido por el investigador.

Es importante resaltar que, según especificaciones del fabricante, el equipo está capacitado para realizar trabajo de forma continua. Asimismo se destaca la variación de potencia utilizable al trabajar en medio acuoso, como lo es en el caso de trabajar con las microalgas. Este valor se reduce de 100 W a 90 W de potencia.

Para el proceso de tratamiento ultrasónico de las microalgas, no se agrega material alguno directamente a la producción, por lo que el costo en este rubro es Q.0.00.

Al igual que para el proceso de cultivo de microalgas, como último punto del análisis técnico, se estableció que se podría llegar a requerir de una persona encargada de manejar esta etapa del proceso, y por tanto era importante definir las responsabilidades que tendría. Estas son detalladas a continuación:

a) Operario de pre-tratamiento ultrasónico. Este operario estaría encargado de la recepción de las microalgas provenientes del cultivo, así como del montaje y ejecución del proceso ultrasónico. Así como también del traslado de las microalgas tratadas hacia el método de extracción. Debido a la naturaleza del proceso, no se consideró necesario crear una segunda plaza, pero según fuese la producción, sería importante reconsiderar esto.

2) Análisis económico. Utilizando de la misma manera, el método de Williams; siendo C1 el costo de inversión inicial para la escala actual, T1 la capacidad máxima anual de procesamiento en volumen de microalgas, determinado por la jornada laboral diaria de 8 horas. Y, T2 el volumen de microalgas procesadas para obtener la cantidad de aceite establecido. (Ver Apéndice F, Tabla No. 166 en la página 374)

3. Métodos de extracción. Para los métodos de extracción, el análisis técnico incluyó un estudio del proceso en aspectos generales como lo son: los requerimientos de materiales directos, maquinaria y equipo, implementos de seguridad para los encargados del método, requisitos de personal y tiempo de preparación. Asimismo, se tomó en consideración la percepción de las personas encargadas de las extracciones de aceite en términos de complejidad del método, manejo de los materiales y de grado de control requerido sobre las condiciones ambientales.

El análisis operativo tuvo como objetivo el obtener información relevante acerca del proceso productivo del aceite de microalgas, según el método de extracción utilizado.

Dentro de la información recopilada en este análisis se encontrarán datos como la capacidad de producción diaria y el tiempo utilizado por corrida de producción, entre otros. Es importante destacar que el análisis operativo reunió ciertos datos de carácter económico, pero que son presentados dentro de este capítulo debido a su íntima relación con la producción; como lo son: los costos de mano de obra y de consumo de energía eléctrica; al igual que fueron

incluidos dentro del nivel operativo del sistema de evaluación desarrollado y presentado con anterioridad. Esta información fue utilizada posteriormente, dentro del análisis económico, para realizar las proyecciones pertinentes sobre los costos en base al volumen producido.

Es importante mencionar, que al trabajar a escala laboratorio, con el fin de ahorrar costos, se realizó el análisis por corrida, mientras que al incrementar la escala, se establecieron costos anuales. Se resalta, que este análisis se basó en datos obtenidos sobre la escala trabajada.

El análisis económico de la investigación, se dividió en una serie de etapas, las cuales facilitaron la realización de este. Como primer punto, se estimaron los costos a distintas escalas, para posteriormente realizar un costeo por procesos, mediante el cual se establecería el precio del aceite. Es importante resaltar, que debido a la escala trabajada dentro del estudio, el volumen de producción era realmente bajo, y por tanto, para lograr obtener una utilidad anual, el precio debía ser extremadamente alto.

Los procesos utilizados para el costeo, fueron: el cultivo, el pre-tratamiento, y el método de extracción de las microalgas.

Es importante mencionar, que debido a la complejidad del análisis económico, y a la estrecha relación que existía en los cálculos, sin importar el método trabajado, se incluyó una sección aparte al final de este capítulo, con dicho análisis.

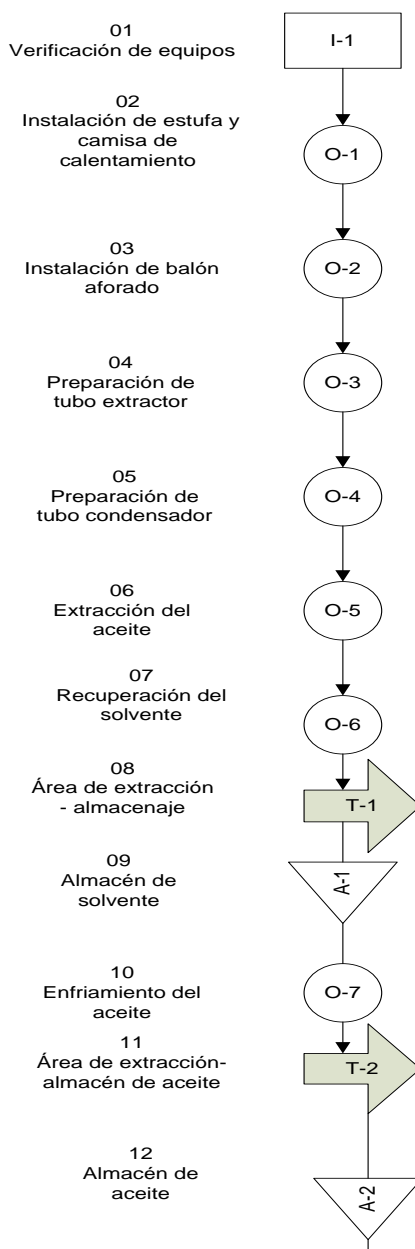
A continuación se presentan los análisis de los métodos de extracción evaluados durante esta investigación. Se decidió agrupar el método de Bligh and Dyer junto con el Bligh and Dyer modificado, debido a que la única diferencia entre ellos radica en los solventes que utilizan. De igual forma se especificó la referencia a cualquiera de los dos métodos.

a. Método de extracción Soxhlet

1) Análisis técnico. Con el fin de conocer la forma en que se realiza el método de extracción, es importante observar el procedimiento del mismo, el cual fue presentado en un diagrama de flujo, facilitando así su visualización. El diagrama de flujo del método de extracción Soxhlet se presenta en la Figura No. 11.

a) *Tiempo de preparación.* Al observar el diagrama anterior, se puede apreciar que los primeros 5 pasos del proceso son de preparación para iniciar la extracción de aceite. De ellos se deriva entonces el tiempo requerido por el método para iniciar su ejecución. Para el método Soxhlet, el tiempo de preparación se estableció en 30 minutos para la corrida inicial y en 15 para las corridas de producción subsiguientes. Tras realizar el estudio, se observó que el tiempo de preparación real para el método era alrededor de 45 minutos para la corrida inicial y de 20 minutos para las corridas siguientes.

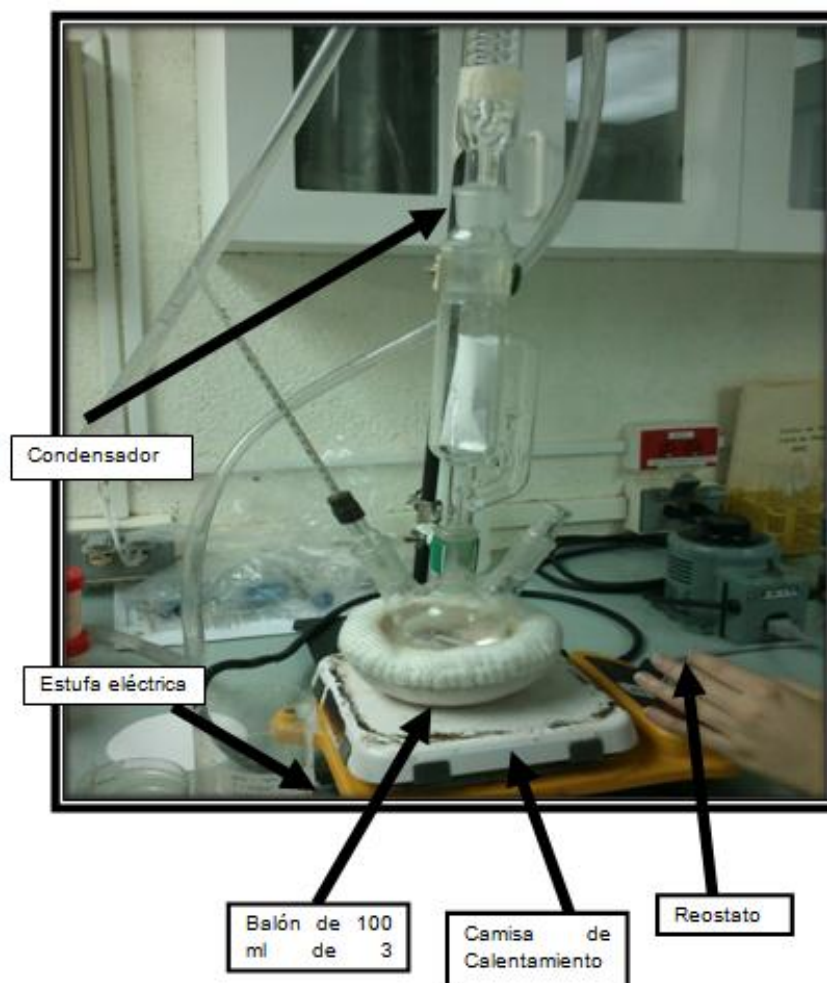
Figura No. 11 Diagrama de flujo para el método de extracción Soxhlet



b) Materiales directos, maquinaria y equipo requerido. En este método de extracción, el único material directo agregado a la producción es el éter de petróleo, solvente que extrae el aceite. El costo del mismo es de Q546.16 por litro. (Ver Apéndice Módulo F, Tabla No. 165 Maquinaria y equipo para el montaje del método de extracción Soxhlet con sus respectivos costos, en la pág. No. 374)

El método instalado con los materiales mencionados es presentado en la Fotografía No. 4 resaltando únicamente las partes principales del sistema de extracción.

Fotografía No. 4 Equipo de extracción Soxhlet instalado en la Universidad del Valle de Guatemala



Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias, Universidad del Valle de Guatemala

c) *Equipo de seguridad requerido.* Como se mencionó inicialmente, dentro del análisis técnico se evaluó el costo de los implementos de seguridad necesarios para garantizar la protección y cuidado de las personas a ejecutar el método de extracción. Para este método, debido al manejo de los solventes, se determinó que el equipo mínimo requerido sería mascarillas y guantes de látex.

Asimismo, se estableció que la mascarilla debía cambiarse diariamente, mientras que los guantes de látex, después de cada corrida. El costo de 50 mascarillas es de Q53.57, mientras que de 100 pares de guantes de látex es de Q.119.64. Por lo tanto el costo unitario fue establecido en Q1.20 y Q1.07 para los guantes y la mascarilla, respectivamente.

d) *Personal requerido y responsabilidades.* Se estableció que para el correcto funcionamiento del método de extracción, se debían cubrir dos puestos.

i. *Operario del método de extracción.* Sería el encargado de realizar las extracciones de aceite, lo que implicaría el control de las condiciones de operación, así como del mantenimiento y cuidado de los equipos utilizados. El único requisito para el puesto de la persona encargada del método es estar en tercer año de Ingeniería Química o carrera afín.

ii. *Ayudante del operario.* El ayudante del operario estaría encargado del montaje y desmontaje del método según fuese utilizado. Además de esto, estaría encargado de realizar los procesos de pesado de algas y de aceite, el transporte de estos y el almacenaje. Por último, debería tener un conocimiento básico del método para poder cumplir las funciones del operario, en caso este se ausentara. Debido a lo mencionado previamente, se recibió la sugerencia que la persona fuese, idealmente, estudiante de los primeros años de Ingeniería Química o carrera afín.

e) *Detalles del método.* Se tomó en cuenta la percepción de los encargados de la ejecución del método, con el fin de establecer determinadas características de los mismos. Para la evaluación de estas características se estableció una escala desde 1 hasta 10, en dónde 10 implica el grado más alto y 1 el más bajo.

A continuación se presentan los 3 rubros, sobre los cuáles se cuestionó al encargado, y su respuesta:

- Complejidad en la ejecución del método de extracción: 3
- Dificultad en el manejo de los materiales: 5
- Grado de control sobre las condiciones del ambiente: 3

Es importante resaltar que la complejidad en la ejecución del método se refiere a la dificultad de las distintas actividades que deben realizarse para lograr llevar a cabo el método de extracción.

La dificultad en el manejo de los materiales se refiere al cuidado que se debe tener al utilizar determinados materiales requeridos por el método.

Por último, el grado de control sobre las condiciones de ambiente se refiere a los factores de tipo ambiental (ej: humedad, temperatura, etc.), y su impacto sobre el método de extracción, de no ser controlados.

f) Análisis operativo

i. Materiales directos. Como se mencionó en el análisis técnico, el método de extracción Soxhlet utiliza el éter de petróleo como único material directo del proceso. La cantidad de solvente utilizada por corrida de producción fue de 100 ml de aceite, capacidad establecida por el tamaño del equipo de extracción Soxhlet. Esto equivale a un costo de Q.54.62 por corrida de producción.

Se debe destacar que la capacidad máxima de masa seco de microalgas que podría ser trabajada, con la cantidad de solvente mencionada y dentro del equipo Soxhlet utilizado, sería de 25 gramos.

ii. Tiempo por corrida de producción. La corrida de producción del método de extracción Soxhlet, está compuesta por una serie de cinco repeticiones, durante las cuales es extraída la mayor cantidad de aceite de las microalgas posible. Inicialmente, se estableció un tiempo por corrida de producción teórico de dos horas.

Pero tras realizar el método, se detectó que el tiempo real de producción era de aproximadamente tres horas; destacando que la primera repetición de la serie, siempre la más larga, tomaba alrededor de una hora y diez minutos.

iii. Capacidad de producción diaria. Basado en la información presentada con anterioridad, se procedió a estimar la capacidad de producción diaria tanto la teórica como la real, de utilizarse este método. Para ello, se utilizaron los datos que se presentan a continuación:

Teórico:

- Tiempo de preparación del método Soxhlet por corrida inicial y siguiente: 45 minutos y 15 minutos respectivamente.
- Tiempo por corrida de producción: 2 horas

Real:

- Tiempo de preparación del método Soxhlet por corrida inicial y siguiente: 45 minutos y 15 minutos respectivamente.
- Tiempo por corrida de producción: 3 horas

General:

- Tiempo disponible: Se estableció una jornada laboral compuesta de 8 horas, de acuerdo a las estipulaciones por ley. (Ver Apéndice C en la página 387)
- Masa seco de microalgas por corrida (máx.): 25 gramos
- Masa teórico de aceite a extraer por corrida (máx.): Utilizando el alga *Chlorella spp.*, cuyo proporción de aceite en masa seco es del 30%, la cantidad máxima de aceite posible de extraer por corrida sería de 7.5 gramos. Su equivalente en mililitros es de 8.68.

Así, la cantidad de corridas teóricas completas al día serían 3, de las cuáles se podría trabajar 75 gramos de masa seco de microalgas; obteniendo de esta forma 22.5 gramos ó 19.44 mililitros de aceite al día. Se destaca que una hora del tiempo disponible no sería utilizada, debido a no ser suficiente para ejecutar el método.

Las corridas reales al día podrían ser 2, trabajando 50 gramos de masa seco de microalgas, dando como resultado 15 gramos ó 12.96 mililitros de aceite diarios. Al igual que en cálculo teórico, existe un determinado tiempo, el cual no puede ser utilizado debido a no ser suficiente para completar una corrida de producción; en este caso ese tiempo equivale a una hora con 15 minutos.

iv. Aceite extraído por corrida de producción. Como se mencionó en el inciso anterior, si se utilizara el alga *Chlorella spp.*, se podría obtener un 30% de aceite, del masa seco del alga como máximo. Según la especie, esta proporción variará.

Se debe tomar en consideración, que la cantidad de aceite obtenida del microalga, dependerá del método utilizado. Con base en dicha cantidad de aceite obtenida, se podría calcular la proporción del método, y utilizar este factor para analizar la producción.

v. Costo por consumo de energía eléctrica por corrida de producción. Utilizando como dato principal el tiempo efectivo utilizado para la ejecución del método, además de considerar que los equipos que consumen energía eléctrica (estufa, camisa de calentamiento/reostato) se encuentran conectados a la electricidad todo este tiempo; el costo por corrida de producción sería de Q3.192 para el tiempo teórico y Q.4.788 para el tiempo real. Utilizando los costos mencionados previamente, se hace una proyección de los mismos, para el costo de energía en base diaria, mensual y anual.

Para el tiempo teórico los costos serían los siguientes:

- Diario: Q9.576.
- Mensual: Q.210.672.
- Anual: Q2, 528.064.

Para el tiempo real los costos serían los siguientes:

- Diario: Q9.576.
- Mensual: Q.210.672.
- Anual: Q.2, 528.064.

Se resalta que la igualdad en los costos, teóricos y reales, se debe a la cantidad de corridas de producción que pueden realizar por día cada uno de los métodos. Es decir, estos valores serían el costo máximo por consumo de energía eléctrica, datos que pueden ser corroborados y revisados en las secciones previas de este capítulo.

vi. Costo de mano de obra. Basándose en la información recabada en el análisis técnico, se estableció los puestos a cubrir para el método de extracción Soxhlet, junto con los costos mensuales de su contratación: (Ver Apéndice Modulo F

vii.

viii.

ix.

x.

xi.

xii.

xiii.

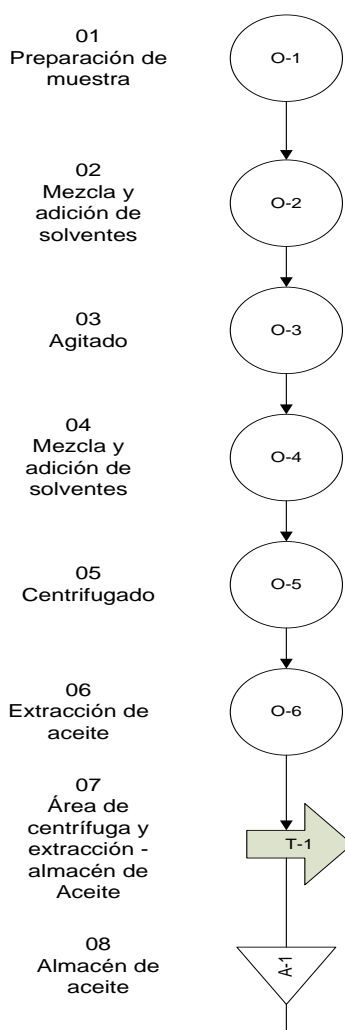
xiv. Tabla No. 166 Costos de mano de obra por métodos de extracción en la página 374)

- Operario encargado del método: Q3, 091.38
- Soporte técnico del método: Q3, 091.38

b. Métodos de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado

1) Análisis técnico. A continuación se presenta el diagrama de flujo para el método de Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado. (Ver Figura No. 12 en la siguiente página).

Figura No. 12 Diagrama de flujo para los métodos Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado



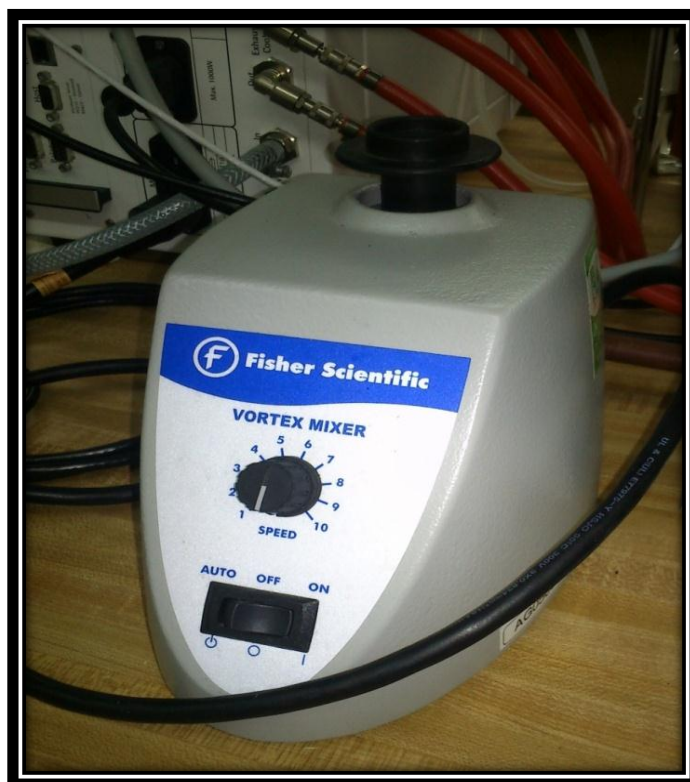
Se resalta nuevamente, que el diagrama de flujo de procesos es aplicable tanto para el método Bligh and Dyer, como para el Bligh and Dyer modificado, ya que la única diferencia entre ellos, radica en los solventes utilizados para realizar la extracción.

a) Tiempo de preparación. El tiempo de preparación para cada corrida de este método se estableció en 5 minutos. Este tiempo de preparación relativamente corto, se debió a que la única actividad previa a la operación es el depósito de las algas a trabajar en tubos para máquina centrífuga.

b) Materiales directos, maquinaria y equipo requerido. Para este método de extracción se utilizan dos solventes, los cuales, junto con el agua destilada, comprenden los materiales directos de la operación. (Ver Apéndice Módulo F, Tabla No. 167 en la página 375)

La maquinaria que juega el papel más importante en este proceso son: la máquina centrífuga y el agitador automático. En el caso particular de esta investigación, el agitador automático utilizado fue el Vortex Mixer marca Fisher STD, cuyo costo fue presentado en el Cuadro No.13.

Fotografía No. 5 Agitador Vortex Mixer marca Fisher STD en la Universidad del Valle de Guatemala



Fuente: Laboratorio de Microbiología, Universidad del Valle de Guatemala

Fotografía No. 6 Máquina centrífuga Centrif Model 228 marca Fisher Scientific en la Universidad del Valle de Guatemala



Fuente: Laboratorio de Microbiología, Universidad del Valle de Guatemala

c) Equipo de seguridad requerido. Para los métodos Bligh and Dyer y Bligh and Dyer se determinó que el equipo de seguridad mínimo requerido sería el siguiente:

- Mascarilla
- Guantes de látex
- Lentes de Seguridad

Al igual que para el método de extracción Soxhlet, se estableció que la mascarilla debería ser cambiada en base diaria, mientras que los guantes de látex, después de cada corrida. El costo de 50 mascarillas es de Q53.57, mientras que el de 100 pares de guantes de látex es de Q.119.64. Por lo tanto, el costo unitario fue establecido en Q1.20 y Q1.07, para los guantes y la mascarilla, respectivamente.

Para los lentes de seguridad, se determinó que serían requeridas dos unidades al año. El costo de estos es de Q45.29.

d) Personal requerido y responsabilidades. Se estableció que, para el correcto funcionamiento del método de extracción, tanto para el Bligh and Dyer como para el Bligh and Dyer modificado, únicamente era necesario un operario.

i. Operario del método de extracción. Sería el encargado de realizar las extracciones de aceite, lo que implicaría el control de las condiciones de operación, así como del mantenimiento y cuidado de los equipos utilizados. El único requisito para ocupar este puesto es el de estar en tercer año de Ingeniería Química o carrera afín.

2) Detalles de los métodos. En los detalles del método, se tomó en cuenta la percepción de los encargados de la ejecución del mismo, con el fin de establecer determinadas características de estos. Para la evaluación de estas características se estableció una escala 1-10, en donde 10 implica el grado más alto y 1 el más bajo.

A continuación se presentan los 3 rubros, sobre los cuáles se cuestionó al encargado, y la respuesta de este sobre ellos:

- Complejidad en la ejecución del método de extracción: 6
- Dificultad en el manejo de los materiales: 5
- Grado de control sobre las condiciones del ambiente: 1

La definición de cada uno de estos rubros fue descrita en la sección de detalles del método, del método de extracción Soxhlet, en el análisis técnico. A pesar de no ser los mismos solventes utilizados para los métodos, la persona encargada de ellos consideró que ninguno de los tres rubros evaluados sufría un impacto considerable debido a esto.

a) Análisis Operativo: Método de extracción Bligh and Dyer

i. Materiales directos. El método de extracción Bligh and Dyer, utiliza cloroformo y metanol, además de agua destilada en una cantidad de 6ml por corrida de producción. Esta cantidad puede variar según la cantidad de masa seco de microalgas que se esté utilizando.

La capacidad máxima que podría ser trabajada es de 3 gramos de masa seco de microalga por corrida de producción; dentro del equipo utilizado. Esto equivaldría a utilizar 12 ml de los solventes y de agua destilada, lo que en costos supondría un valor de Q0.128 para el metanol, de Q8.22 para el cloroformo y de Q0.026 para el agua destilada. Para todos los cálculos posteriores, se utilizaron los datos de capacidad máxima del método de extracción.

ii. Tiempo por corrida de producción. Al igual que para el método de extracción Soxhlet, previo a realizar el método de extracción, se estableció un tiempo por corrida de producción teórico. Para el caso del Bligh and Dyer, este tiempo fue de 50 minutos. Al momento de realizar el método, se pudo observar, que la ejecución del mismo tomaba más tiempo, aproximadamente una hora y 5 minutos. Se denominó a éste, el tiempo real por corrida de producción.

iii. Capacidad de producción diaria. Basado en la información presentada con anterioridad, se procedió a estimar cual sería la capacidad de producción diaria tanto la teórica como la real, de utilizarse este método. Para ello, se utilizaron los siguientes datos:

Teórico:

- Tiempo de preparación del método Bligh and Dyer: 5 minutos.
- Tiempo por corrida de producción: 50 minutos.

Real:

- Tiempo de preparación del método Bligh and Dyer: 5 minutos.
- Tiempo por corrida de producción: 1 hora con 5 minutos.

General:

- Tiempo disponible: Se estableció una jornada laboral compuesta de 8 horas, de acuerdo a las estipulaciones por ley. (Ver Apéndice C en la página 387)
- Masa seco de microalgas por corrida (máx.): 3 gramos
- Masa teórico de aceite a extraer por corrida (máx.): Utilizando el alga *Chlorella spp.*, cuyo proporción de aceite en masa seco es del 30%, la cantidad máxima de aceite posible de extraer por corrida sería de 0.9 gramos. Su equivalente en mililitros es de 1.042.

Derivado de esta información, entonces, la cantidad de corridas teóricas completas al día serían 8. Durante estas 8 corridas, se podrían trabajar 24 gramos de masa seco de microalgas y así obtener 7.2 gramos de aceite, que en mililitros equivaldría a 8.33. Se resalta, al igual que con el método Soxhlet, que no se dejan corridas de producción en proceso al día, lo que representa un tiempo de 40 minutos que no se aprovecha.

Mientras que las corridas reales al día podrían ser 7. Trabajando 21 gramos de masa seco de microalgas, dando como resultado 6.3 gramos ó 7.29 mililitros de aceite diarios. Al igual que en cálculo teórico, existe un determinado tiempo, el cual no puede ser utilizado debido a no ser suficiente para realizar una corrida de producción. En este caso ese tiempo equivale a 21 minutos.

iv. Aceite extraído por corrida de producción. Como se mencionó en el inciso anterior, si se utilizara el alga *Chlorella* spp., se podría obtener un 30% de aceite, del masa seco del alga como máximo. Según la especie, esta proporción variará.

Se debe tomar en consideración, que la cantidad de aceite obtenida del microalga, dependerá del método utilizado. En base a dicha cantidad de aceite obtenida, se podría calcular la proporción del método, y utilizar este factor para analizar la producción.

v. Costo por consumo de energía eléctrica por corrida de producción. Para el caso del método Bligh and Dyer, el equipo que consume energía eléctrica son: Vortex Mixer, y la máquina Centrífuga. El costo de energía eléctrica por corrida de producción de estos sería de Q0.08 para el Vortex Mixer y de Q0.043 para la máquina centrífuga. Lo que equivale a un total de Q.0.12 por corrida. Utilizando los costos mencionados previamente, se hace una proyección de los mismos, para el costo de energía en base diaria, mensual y anual.

Para el tiempo teórico los costos serían los siguientes:

- Diario: Q0.98.
- Mensual: Q21.58.
- Anual: Q258.99.

Para el tiempo real los costos serían los siguientes:

- Diario: Q0.86.
- Mensual: Q18.88.
- Anual: Q226.61.

vi. Costo de mano de obra. Basándose en la información recabada en el análisis técnico, se estableció los puestos a cubrir para el método de extracción Bligh and Dyer, junto con los costos mensuales de su contratación.

- Operario encargado del método: Q3,091.98

Este valor equivaldría al costo total de mano de obra para el método de extracción Bligh and Dyer al mes bajo una jornada laboral de 8 horas diarias, siendo este el único puesto necesario para llevar a cabo la producción. Es importante recordar, que los operadores son contratados por hora trabajada en base a la carga de producción. El costo de mano de obra por hora trabajada es de Q 12. 67. Para conocer el detalle, de los rubros que componen el monto de la mano de obra, se recomienda ver la Tabla No. 166 en la página 374, presentado previamente.

b) Análisis operativo: Método de extracción Bligh and Dyer Modificado. La información y análisis operativo del método Bligh and Dyer modificado, coincide con la información del método Bligh and Dyer en los siguientes rubros:

- Tiempo por corrida de producción
- Capacidad de producción diaria
- Costo por consumo de energía eléctrica
- Costo de mano de obra

Es por ello, que bajo estas categorías, únicamente se indica que el valor coincide entre los métodos, con el fin de evitar repetir la información ya presentada.

i) Materiales directos. Como se mencionó en el análisis técnico, el método de extracción Bligh and Dyer modificado utiliza como solventes al hexano y al alcohol isopropílico,

además de agua destilada. Todos ellos, son utilizados en una cantidad de 6 mililitros por corrida de producción.

Durante la investigación, para el método de extracción Bligh and Dyer modificado, se utilizó 1.5 gramos de microalgas por corrida de producción.

Según la cantidad de solvente utilizada, los costos por corrida de producción de estos fueron de Q2.47 para el alcohol isopropílico y de Q.1.88 para el hexano. El costo del agua destilada por corrida de producción fue de Q0.013.

Se destaca que la capacidad máxima que podría ser trabajada es de 3 gramos de masa seco de microalga por corrida de producción; dentro del equipo utilizado. Esto equivaldría a utilizar 12 mL de los solventes y de agua destilada, lo que en costos supondría un valor de Q4.94 para el alcohol isopropílico, de Q3.76 para el hexano y de Q0.026 para el agua destilada. Y fueron estos los datos utilizados para todos los cálculos posteriores.

ii) Tiempo por corrida de producción. Al igual que para el método de Bligh and Dyer, el tiempo teórico se estableció en 50 minutos. La variación en tiempo real con dicho método fue prácticamente nula, y por ello, el tiempo por corrida de producción, se estableció también en una hora y cinco minutos.

iii) Capacidad de producción diaria. Tanto los valores teóricos como los reales, en términos de la capacidad de producción diaria, son los mismos que para el método de extracción Bligh and Dyer.

iv) Aceite extraído por corrida de producción. Como se mencionó en el inciso anterior, si se utilizara el alga *Chlorella spp.*, se podría obtener un 30% de aceite, del masa seco del alga como máximo. Según la especie, este proporciónvariará. Se debe tomar en consideración, que la cantidad de aceite obtenida del microalga, dependerá del método utilizado. En base a dicha cantidad de aceite obtenida, se podría calcular la proporción del método, y utilizar este factor para analizar la producción.

v) Costo por consumo de energía eléctrica por corrida de producción. El costo por consumo de energía eléctrica por corrida de producción para el método de extracción Bligh and Dyer modificado, es equivalente al costo para el método de extracción Bligh and Dyer.

vi) Costo de mano de obra. El costo de mano de obra par este método, también es el mismo que para el método Bligh and Dyer. El monto total fue establecido en Q3, 091.98; siendo el salario del operador encargado del método, el único valor que influye en el dato presentado. El valor utilizado es de Q 12.67 por hora; así el cálculo de mano de obra se ve determinado por las horas trabajadas en base a la carga de producción.

c) Análisis Económico para los métodos de extracción

i. *Inversión Inicial, costos de operación y precio del aceite.* A continuación, se presentan las estimaciones pertinentes realizadas, en términos de inversión inicial y de costos de operación, para cada uno de los procesos de extracción con el objetivo final de establecer un precio para el mililitro de aceite de microalga producido, en base al método del cual proviene. Posteriormente, y utilizando el precio del mililitro de microalga, se presentarán los flujos de efectivo realizados para los métodos a las diferentes escalas.

Una vez establecidos los costos de operación por método de extracción a las diferentes escalas, se procedió a establecer el costo que agregaba a cada unidad trabajada el método de extracción. Posteriormente, a este costo por unidad, se le sumó el costo por unidad provenientes del cultivo y el pre-tratamiento, y en base a esto, se calculó el precio por unidad (mililitro) del aceite producido. Se estableció un margen de utilidad del 5%, además de tomar en cuenta el IVA, al momento de establecer el precio.

Utilizando el costo por unidad obtenido, y basado en los mismos criterios presentados previamente para establecer el precio, se definió un precio exclusivo para cada uno de los métodos de extracción; pero únicamente a escala laboratorio. Esto se debió a que el sistema de evaluación desarrollado, evaluaría los métodos a dicha escala. Cabe resaltar que la evaluación es sobre los métodos de extracción, y no sobre todo el proceso de obtención de aceite. El precio por unidad de aceite (mililitro), el cual cumple con las especificaciones previamente descritas, es presentado en la sección de resultados del trabajo.

Para realizar el análisis económico, se tomó el precio más elevado obtenido en cada escala, y con ese valor se trabajó los tres métodos. Esta acción tomada, estuvo basada en el deseo de realizar una comparación justa entre los métodos, y debido a que la producción era la misma, si se utilizaba un precio menor, los ingresos anuales se verían reducidos.

ii. Cálculo de la TMAR. La segunda etapa que compuso el análisis económico, fue el establecimiento de la TMAR. Esta tasa sería de vital importancia para realizar la serie de cálculos pertinentes para el estudio de este punto en adelante.

Para el cálculo de la TMAR se utilizó el CPAM (capital pricing asset model); debido a la naturaleza del estudio, este fue categorizado bajo el rubro de biotecnología, con el fin de obtener todos los datos relativos a este tipo de mercado. La fórmula para el CPAM es la siguiente:

$$TMAR = R_f + \beta_i(E(R_m) - R_f)$$

Donde:

- R_f (tasa libre de riesgo) fue utilizado el valor de 2.94%. Siendo esta, la tasa de un bono del tesoro de los Estados Unidos a 30 años.
- β_i obtenida para empresas cuyo giro del negocio era la biotecnología fue de 3.58.
- $E(R_m)$, siendo este la tasa de retorno esperada para empresas de biotecnología fue de 4.54%.

Es importante tomar en consideración, que el proyecto se está realizando dentro de la República de Guatemala, y por lo tanto la TMAR, podría utilizar como tasa de interés libre de riesgo, un bono del Banco de Guatemala, con una tasa del 5%. Esto modificaría la TMAR, a un valor de 10.73%.

iii. Evaluación de los métodos de extracción mediante el sistema de medición. Al finalizar los análisis técnico, operativo y económico, se había recopilado la información necesaria para poder evaluar los métodos de extracción, utilizando el sistema de medición que se había desarrollado originalmente. Además de esto, se tenía una idea general de cuál de los métodos sería el que obtendría la puntuación más alta debido a los análisis realizados con anterioridad.

A pesar de tener toda la información del análisis económico, el sistema de medición había sido desarrollado para evaluar directamente los métodos de extracción, y no el proceso de extracción en su totalidad. Debido a esto, fue necesario realizar un análisis económico enfocado únicamente en los métodos de extracción utilizados. Esta tarea se facilitó debido al hecho, que el costo por unidad, los costos de operación y la inversión inicial para cada uno de los métodos habían sido calculados de forma separada del cultivo y del pre-tratamiento.

El resumen del análisis económico de los métodos de forma individual, se incluye a continuación. Para posteriormente, presentar una tabla que resume los resultados obtenidos por los mismos en los tres niveles considerados y la calificación final total, al haber sido evaluados con el sistema de medición; dicha tabla se encuentra en la sección de resultados del trabajo.

Se destaca que la meta, dentro del sistema de medición, para todos los rubros evaluados fue del 100%; con excepción de las categorías siguientes:

- Valor Presente Neto
- Tasa Interna de Retorno
- Complejidad del manejo de materiales
- Dificultad relativa del método
- Necesidad de control de condiciones ambientales

En el caso del VPN y de la TIR, se estableció como meta los mismos criterios de aceptación de proyectos definidos previamente. Es decir, $VPN > 0$ y $TIR > TMAR$. Para los últimos tres incisos listados, debido a que su calificación era en base a una escala de 1-10; se estableció como meta el grado menor, uno.

Los rangos de desviación para puntuar el resultado, al ser comparado contra la meta fueron los siguientes:

- Rango Rojo: Valor menor al 60%
- Rango Amarillo: Valor entre el 60% y el 90%
- Rango Verde: Valor mayor al 90%

Se hace la aclaración que estos rangos también variaron para los rubros presentados con anterioridad, en los cuales la meta no fue dada sobre un proporción del 100%.

4. Variaciones en la factibilidad económica, por escala. La siguiente etapa estuvo compuesta por el análisis económico del proceso de extracción variando el método de extracción y la escala de producción. Esto fue realizado con el fin de poder realizar las comparaciones pertinentes entre los métodos de forma directa, además de facilitar la presentación y comprensión de los resultados. El tiempo de vida para los proyectos, fue establecido en 10 años. Es por ello que los flujos de efectivo, fueron realizados hasta dicho período de tiempo.

Los criterios de evaluación utilizados para el análisis económico fueron los siguientes:

- Valor Presente Neto (VPN)
- Tasa Interna de Retorno (TIR)
- Período de Recuperación (NPER)
- Ratio Beneficio/Costo (B/C)

Los requisitos para la aprobación del proyecto en cada uno de estos rubros era la siguiente:

- $VPN > 0$
- $TIR > TMAR$
- $B/C > 1$

En el caso del Ratio Beneficio/Costo, este es utilizado para realizar una comparación directa entre los métodos, es decir, mientras que el VPN y la TIR, por sí solas expresan la rentabilidad del proyecto sin necesidad de comparación entre proyectos, el B/C permite determinar si un incremento en el costo entre un proyecto y otro se ve justificado por un mayor beneficio. Como se explicará más adelante, esta razón financiera no fue utilizada para todos los métodos de extracción, ni para todas las escalas. Asimismo, se estableció que de ser necesario calcular esta razón financiera para un solo método, se utilizaría la razón B/C modificada.

La razón B/C modificada, toma en cuenta además de los beneficios y los costos, a los contrabeneficios y los costos de mantenimiento y operación; y es este resultado el cual es comparado contra la inversión inicial.

Previo a la presentación de resultados por escalas, se debe resaltar que para todos los análisis presentados dentro de este capítulo, se tomó en consideración al cultivo y al pre-

tratamiento como parte del proyecto, y es por ello que sus datos fueron presentados con anterioridad. Asimismo, debido a que los costos e inversión de estos procesos fueron iguales sin importar el método al que enviarían su producto final, se puede asumir, entonces que la diferencia en los resultados, se debe únicamente al método de extracción utilizado.

Finalmente, otra suposición importante dentro del análisis económico, fue la demanda que tendría el aceite producido, más allá del precio que tuviese la unidad (mililitro de aceite). La demanda supuesta para el aceite fue del 85% de la producción generada. De igual forma, y debido al impacto que esta suposición tendría en los resultados obtenidos, se realizó un estudio en el que se contemplaran situaciones en las cuales el precio del aceite, la demanda, entre otros, variara. Este estudio se presenta dentro de este capítulo bajo el título de análisis de sensibilidad; en el que se observará el impacto que dichos factores tienen sobre la factibilidad económica del proyecto.

Como criterio para realizar el cálculo del ratio Beneficio/Costo, así como los análisis de sensibilidad respectivos, se estableció cuáles eran aquellos métodos y a qué escalas, que cumplieran con los primeros criterios establecidos. Es decir, si el proyecto tras el análisis de VPN y TIR, no era económicamente factible, no se realizaría el ratio Beneficio/Costo.

Asimismo, se consideró importante incluir el análisis de sensibilidad con el fin de generar otra serie de evaluaciones, al realizar determinadas variaciones en las variables que determinaban el resultado del método. Ya que se quería observar el impacto de dichas variables, tanto en la TIR como en el VPN, se realizó dos análisis para cada método de extracción. A continuación se presentan las tablas que resumen el análisis de sensibilidad, según la variable que fuese modificada y el efecto que tuvo sobre la TIR y el VPN, para posteriormente presentar los gráficos de dichos análisis. Se destaca que para todos los análisis de sensibilidad, se tomó un rango de variación entre 50% y -50%; con intervalos de 10%.

5. Plan de Seguimiento

a. Enfoques del plan de seguimiento. Se consideró como el factor más relevante al precio del aceite, ya que tanto el nivel técnico, como el operativo, y de especial forma, el económico, ejercían influencia sobre este valor. Y, tras los análisis presentados a lo largo de

todo el trabajo, se determinó que el precio, por unidad de aceite era muy elevado, a pesar del incremento en el volumen que fue proyectado.

Aun así, la tendencia del precio al incrementar el volumen era a la baja, y por tanto, se podría suponer que entre mayor fuese el volumen, el precio del aceite disminuiría. Dicha suposición, propició una revisión de los costos asignados por cada departamento, y de acuerdo a esto, se logró establecer dos orientaciones que podría seguir el proyecto. Estas orientaciones son presentadas a continuación:

- Enfoque en el cultivo de las microalgas
- Enfoque en los métodos de extracción

La finalidad de estos enfoques sería lograr que en dichas partes del proceso, el costo por unidad procesada se viese reducido, para posteriormente poder disminuir el precio del aceite. Asimismo, se resalta, que el objetivo final del proyecto es la instalación de un proceso de obtención de aceite, con todos los procesos (cultivo, pre-tratamiento y método de extracción), y que además sea sostenible.

Una de las mayores dificultades encontradas durante la investigación, fue que el estudio no lograba abarcar la totalidad de las variables que impactaban el resultado final. Con esto en mente, se estableció que, de los dos enfoques planteados, se debía seleccionar uno para la siguiente fase del proyecto. Para ello, se tomó la decisión de realizar un análisis FODA por enfoque y de esta forma poder compararlos.

b. Desarrollo del plan de seguimiento. Habiendo establecido que el enfoque del plan de seguimiento, sería en el cultivo de las microalgas; se procedió a desarrollar dicho plan. Para ello, se definió un tiempo de proyecto de seis meses. Esto se debió a que al término de este tiempo, se debería evaluar los avances obtenidos, y si fuese el caso, redefinir la dirección del proyecto. A estos primeros seis meses se les denominará Fase 1 del proyecto.

Como parte principal del plan de seguimiento, se definió un objetivo para el enfoque seleccionado, una breve descripción de lo que sería el proyecto, además de establecer una delimitación superficial del alcance del proyecto.

El objetivo del proyecto enfocado en el cultivo de las microalgas fue: Determinar, mediante la variación de la técnica de cultivo, cuál de éstas favorece al crecimiento de las microalgas, en términos de cantidad y velocidad de reproducción.

La descripción general del proyecto fue: Se realizará una selección de dos tipos de alga, y se escogerán tres técnicas de cultivo. A cada técnica de cultivo le será asignada los dos tipos de alga y todas las técnicas serán conducidas bajo las mismas condiciones, con el fin de comparar los resultados obtenidos, en base al objetivo establecido. Por último, y habiendo establecido la técnica más favorable para el cultivo, se procederá a realizar proyecciones en cuanto a lo que sería la producción en masa de microalgas, y el impacto que esto tiene sobre los costos por unidad (mL de microalga, gramo de microalga, etc.).

Con el fin de proveer un aporte significativo a este seguimiento del proyecto, se tomó la decisión de sugerir las tres técnicas de cultivo que se podrían utilizar, así como las especies de microalga. Aun así, se estableció dentro de las actividades a realizar, un estudio detallado de las posibles técnicas y especies de microalgas que se podrían utilizar, y según a esto tomar una decisión. Las técnicas de cultivo sugeridas son:

- Pileta abierta estilo Raceway (Control)
- Pileta cerrada estilo Invernadero
- Fotobiorreactor tubular horizontal

Se hace especial énfasis en la pileta cerrada estilo invernadero, ya que se consideró la posibilidad de llevar a cabo un trabajo en conjunto con el megaproyecto: Macrotúneles. Éste está enfocado en la optimización de cultivos; por lo que las técnicas y conocimientos adquiridos por los integrantes de dicho grupo podrían ser re-aplicados en el desarrollo de las microalgas. Las especies de microalgas sugeridas son:

- *Chlorella vulgaris*
- *Scenedesmus brasiliensis*

La sugerencia de la utilización de las mencionadas especies se deriva de su uso regular en estudios para la obtención de biodiesel, así como de su alto proporción de aceite.

El proyecto será realizado dentro de las instalaciones del campus central de la Universidad del Valle de Guatemala. Únicamente se analizará la cantidad y velocidad de reproducción y en base a esto, además del costo de inversión y operación, se tomará una decisión sobre qué técnica de cultivo resultaría más factible desarrollar. Esto sería el alcance (delimitación) del proyecto, sin embargo, las personas que conducirán el mismo, deberán encargarse de estructurarlo de una mejor manera.

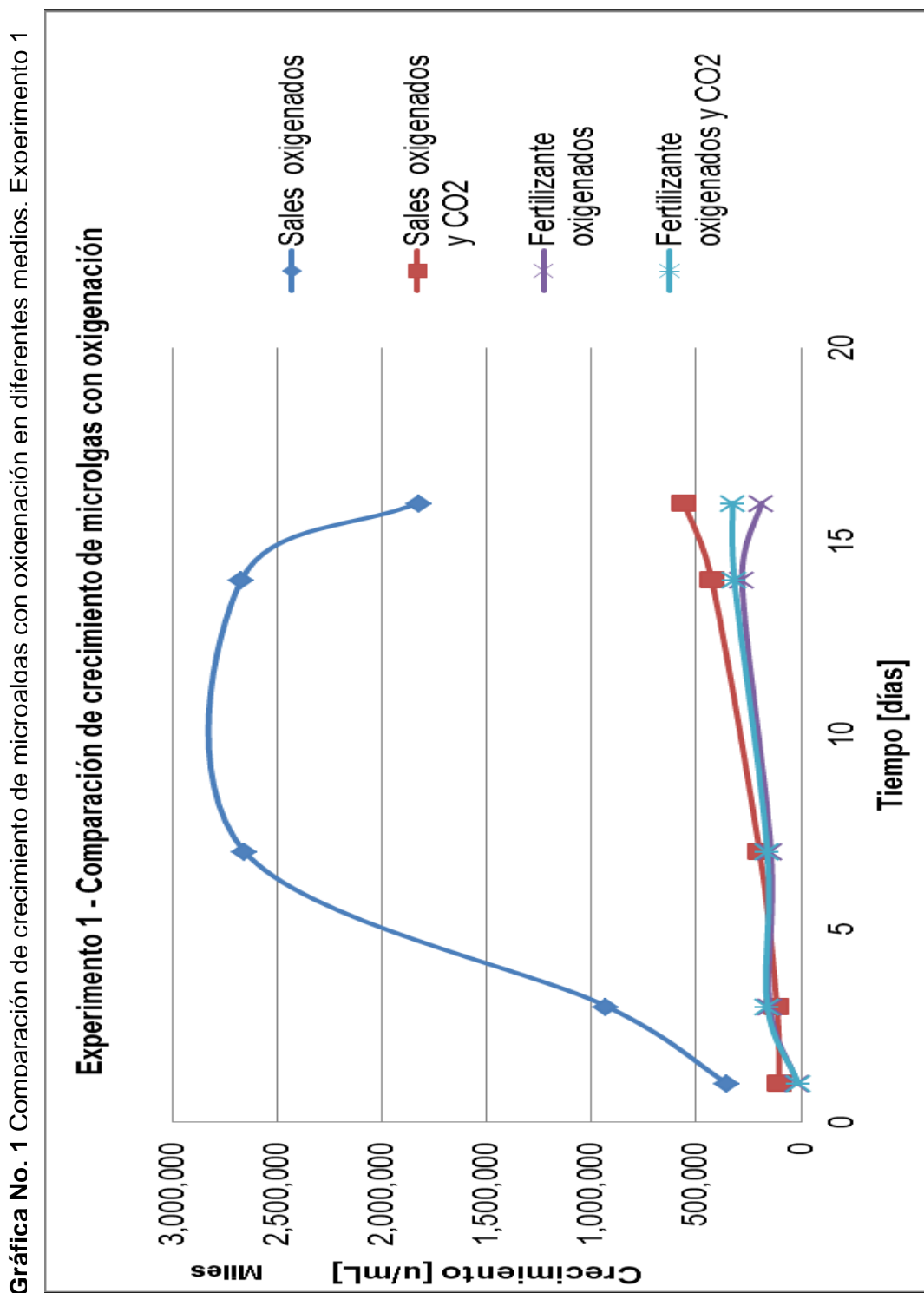
Con la finalidad de aprovechar al máximo el tiempo disponible, se detalló un listado de actividades a realizar, las cuales fueron distribuidas a lo largo de los 6 meses establecidos. El listado, fue desarrollado en forma de plan de acción, en donde se debía especificar lo siguiente:

- Actividad: Establece la acción a realizar.
- Persona encargada o Responsable: Delimita la persona que velará por el cumplimiento de la actividad, ya sea realizándola o supervisando su desarrollo. (Este rubro será ingresado al conocer a las personas que desarrollarán el plan de seguimiento)
- Fecha de Inicio: Establece la fecha en la que debería dar inicio la actividad.
- Fecha de finalización: Establece la fecha en la que debiese ser terminada la actividad.
- Estatus de la actividad: Indica el estado de la actividad y permite controlar los avances. Los rangos para medir dicho estado son: Terminada, en proceso y no iniciada.

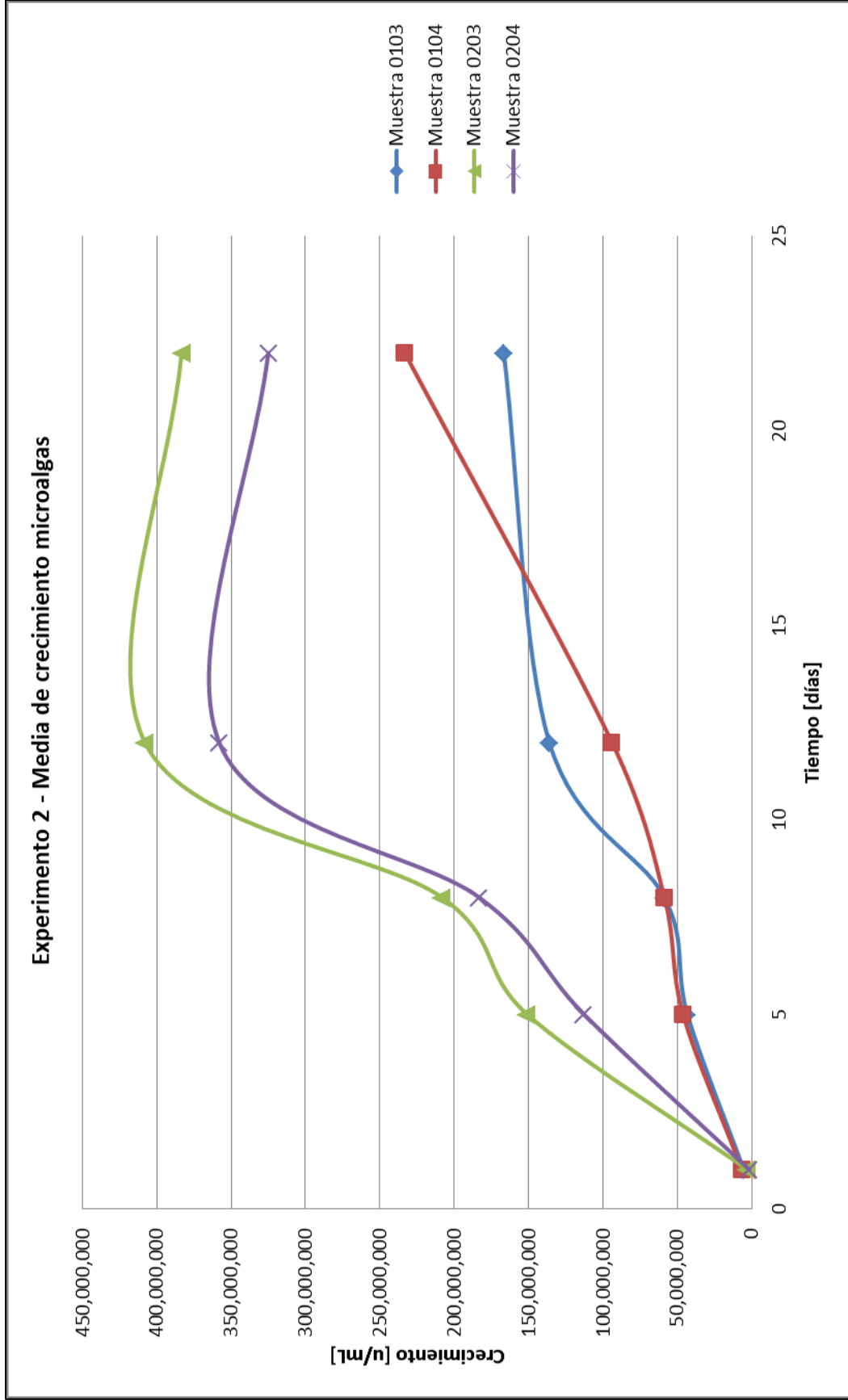
Se hace la aclaración que las fechas estipuladas no son definitivas, ya que serán los encargados de la coordinación y conducción del proyecto, quienes determinarán la posibilidad de cumplir con estas fechas y de no ser así, realizar la reestructuración pertinente. Además, las fechas dependerán del período en el que se inicie el plan de seguimiento. Las actividades y el cronograma del plan de seguimiento, pueden ser encontrados en la sección de resultados del presente trabajo.

VII. RESULTADOS

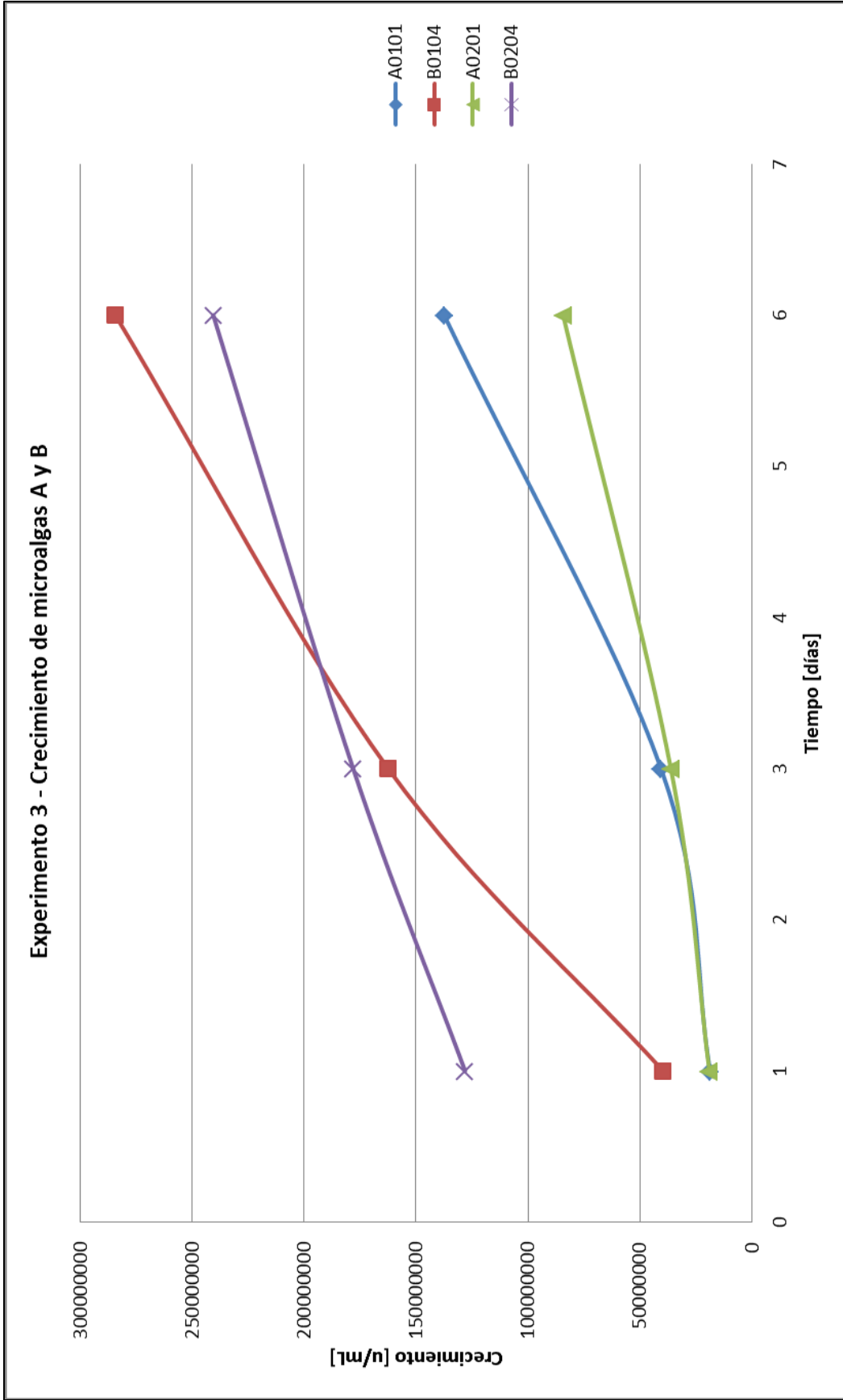
A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO



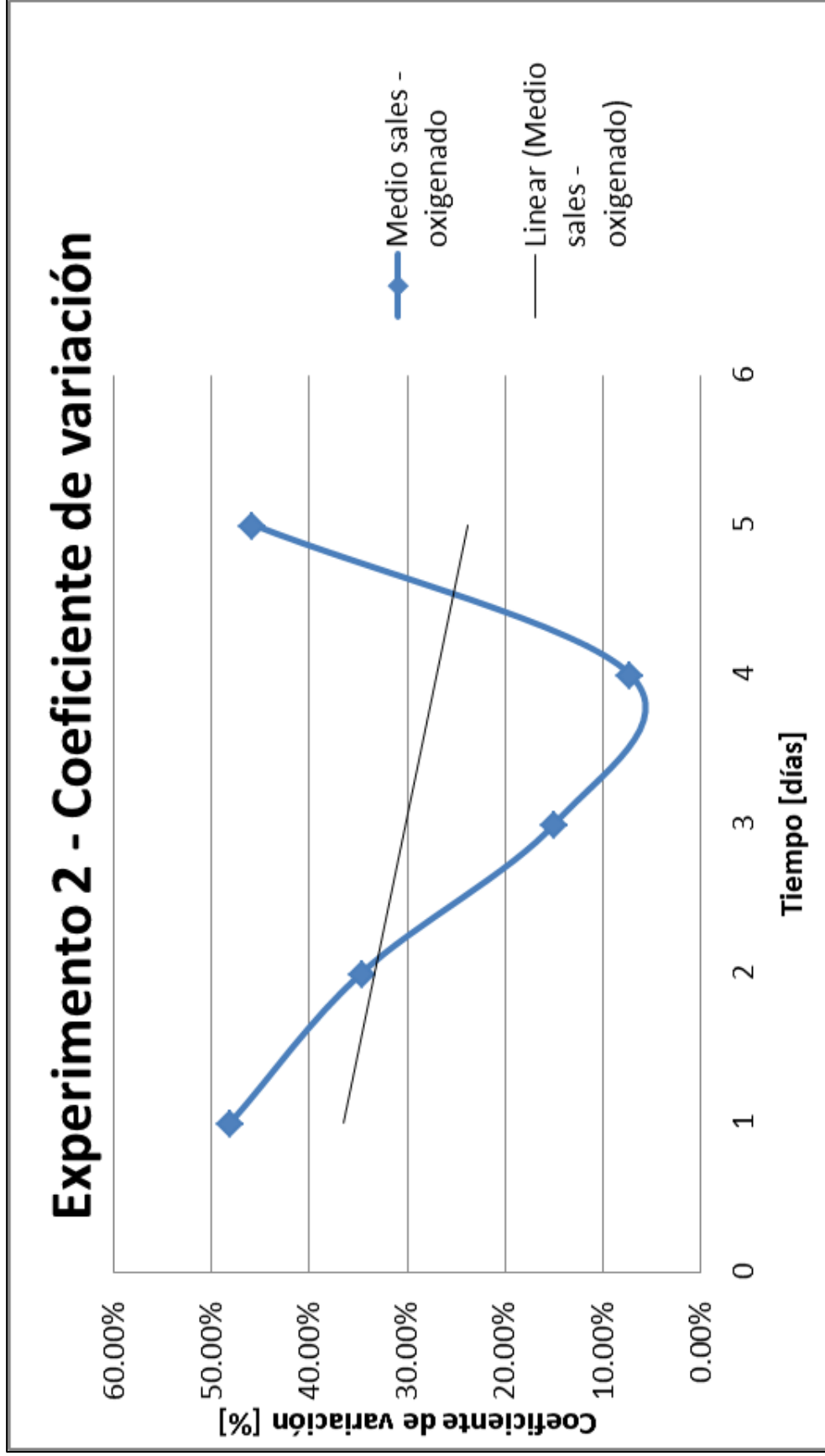
Gráfica No. 2 Crecimiento de microalgaas en medio 01 v 02. Exoerimento 2



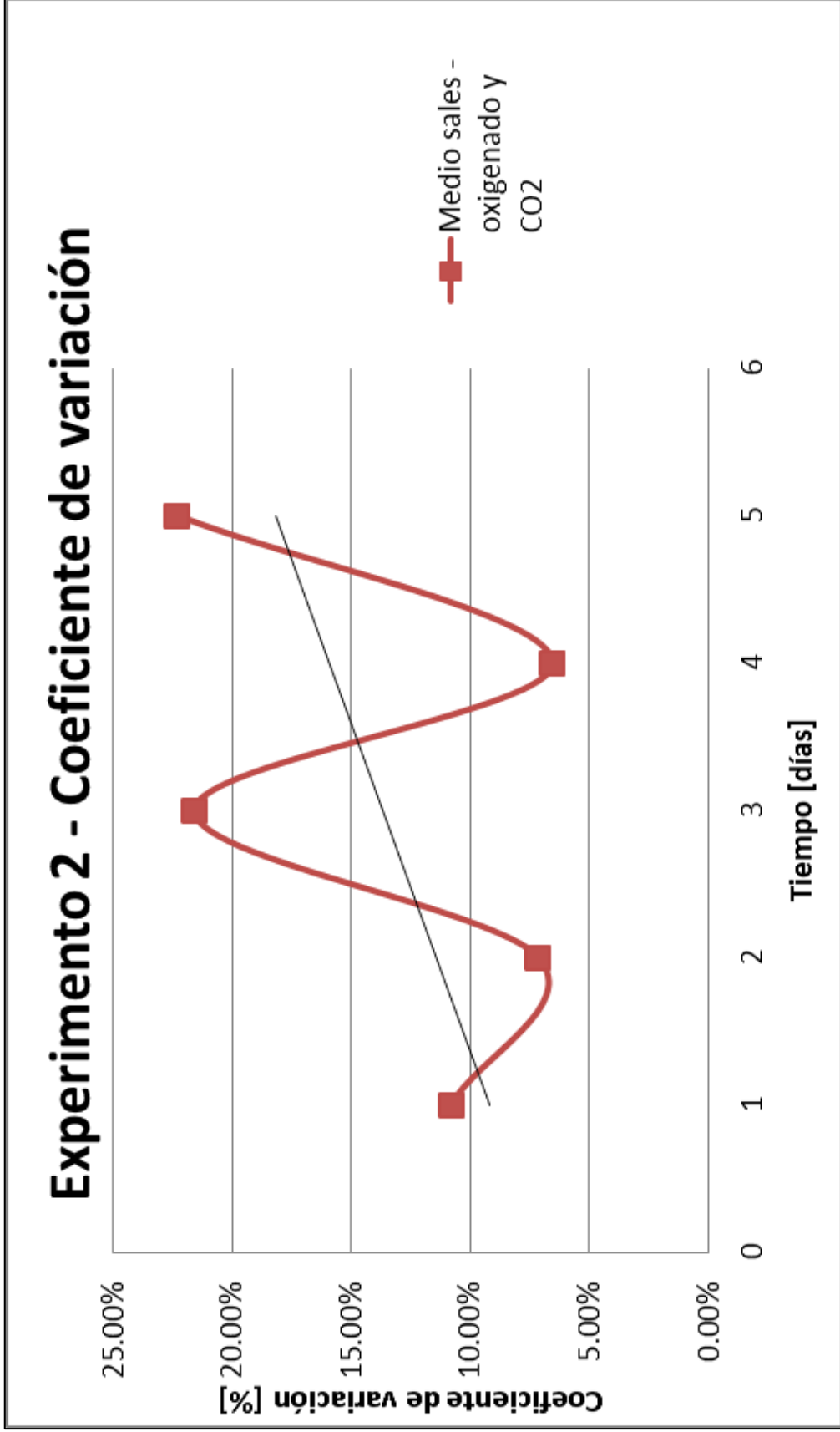
Gráfica No. 3 Crecimiento de microalgas A y B en medio 01 y 02, Experimento 3



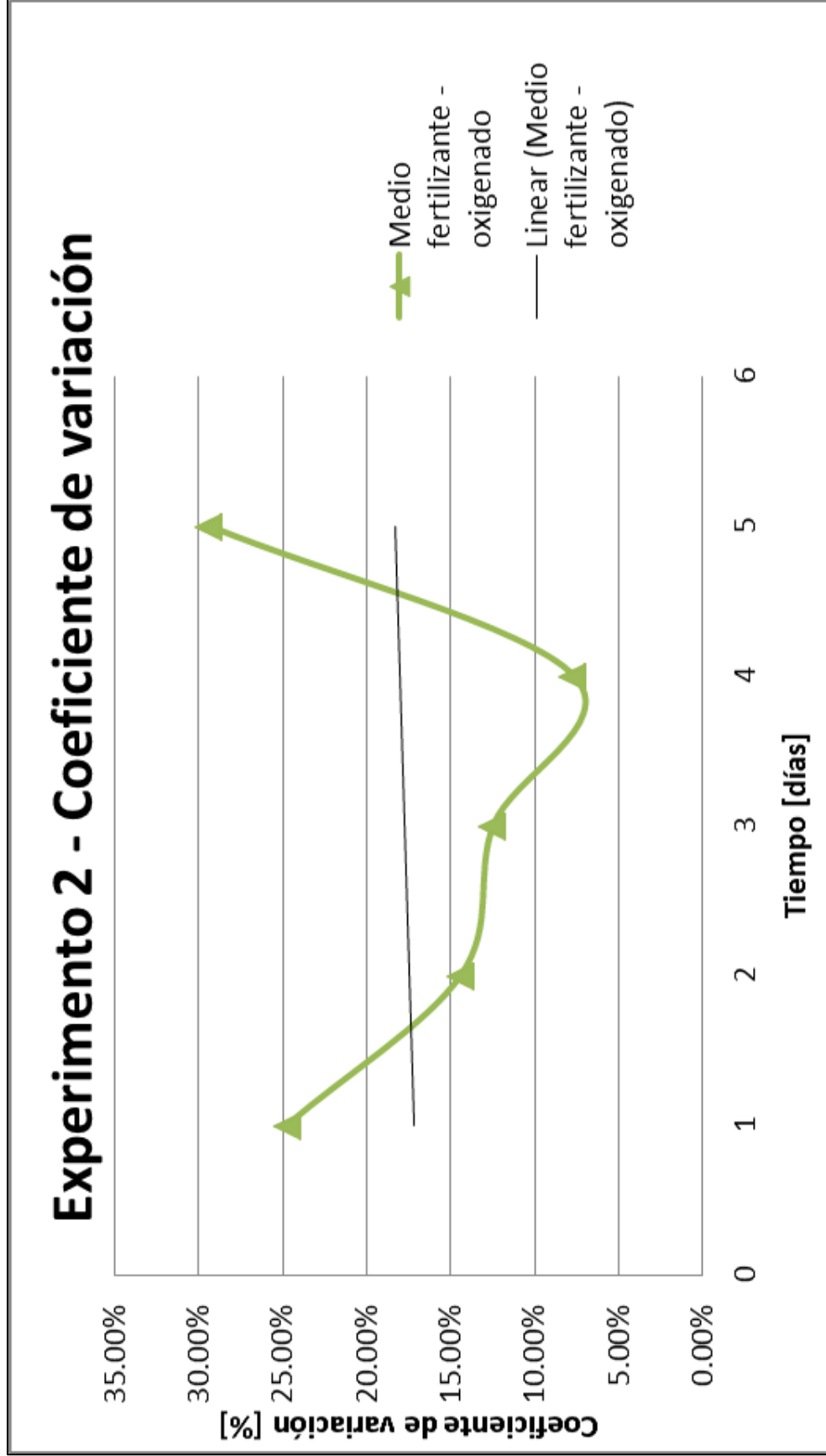
Gráfica No. 4 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio de sales oxigenado



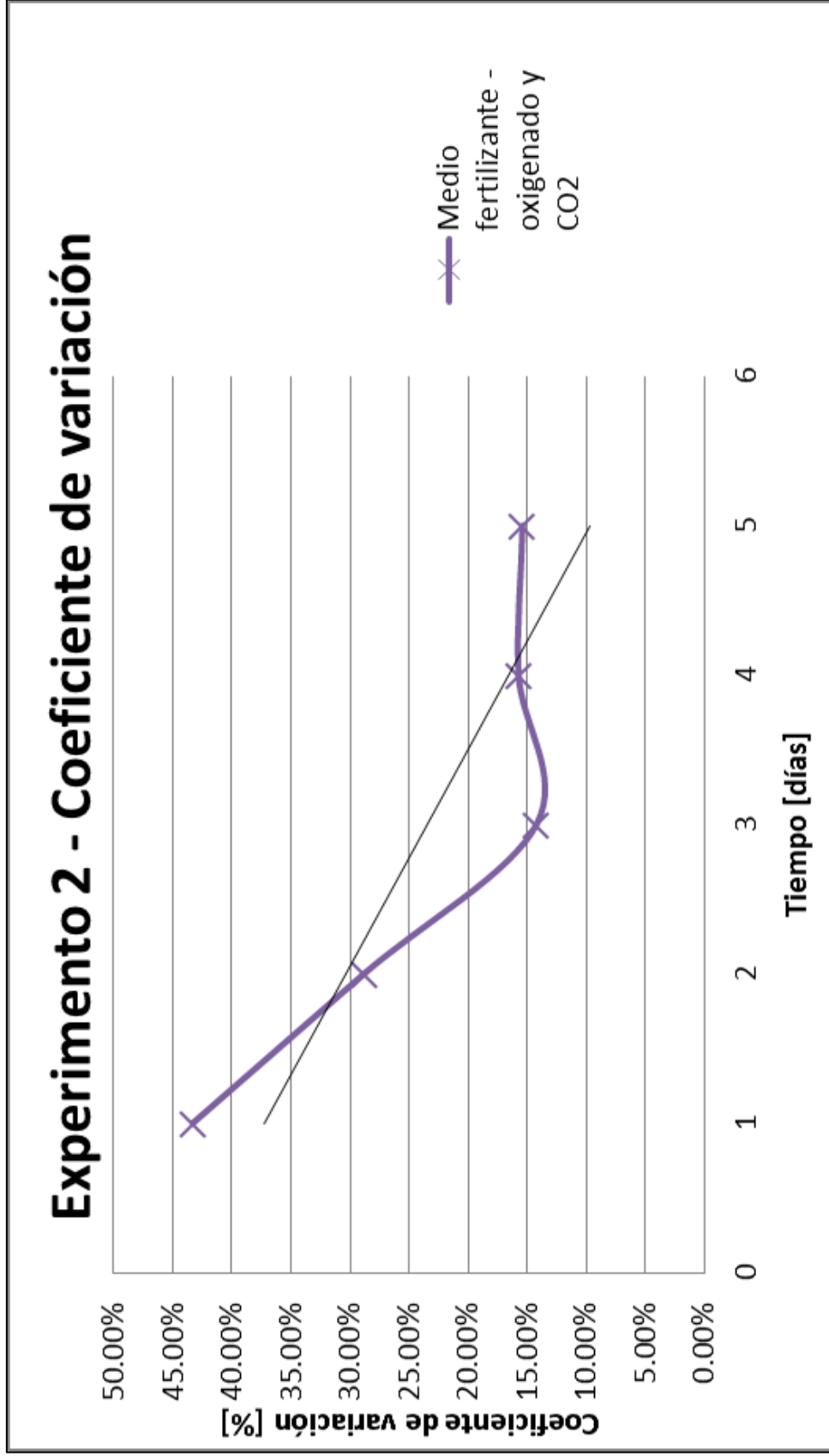
Gráfica No. 5 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio de sales oxigenado y CO₂



Gráfica No. 6 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio fertilizante oxigenado



Gráfica No. 7 Evaluación de dispersión de datos, mediante el coeficiente de variación obtenido en el Experimento 2, con los datos de las muestras de medio fertilizante oxigenado CO₂



B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA

Tabla No. 15 Equipo que integra el biorreactor de pileta ubicada en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala

Equipo	Descripción / Materiales
Pileta (volumen de 15 Litros)	Lámina de hierro negro, 1 mm de grosor Base anticorrosiva Pintura Blanca Largo: 0.70 m Ancho: 0.20 m Altura: 0.25 m
Paletas de hélice	Lámina de hierro negro Base corrosiva Pintura blanca Base: 0.09 m Altura: 0.19 m A 0.07 m del fondo del tanque
Hélice	8 paletas Radio: 0.19 m 30 rpm (0.60 m/s)
Motor de la hélice	6000 rpm Potencia 90 W Voltaje 110 V Monofásico
Codo 45°	Hierro galvanizado Diámetro ¾ "
Llave de bola	Hierro galvanizado Diámetro ¾ "
Lámpara fluorescente con pantalla protectora	14 Watts 344 lux 10 000 horas de vida 0.58 m de largo

Figura No. 13 Vista de planta superior del biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala (Ver apéndice I para más vistas, Pág No. 279)

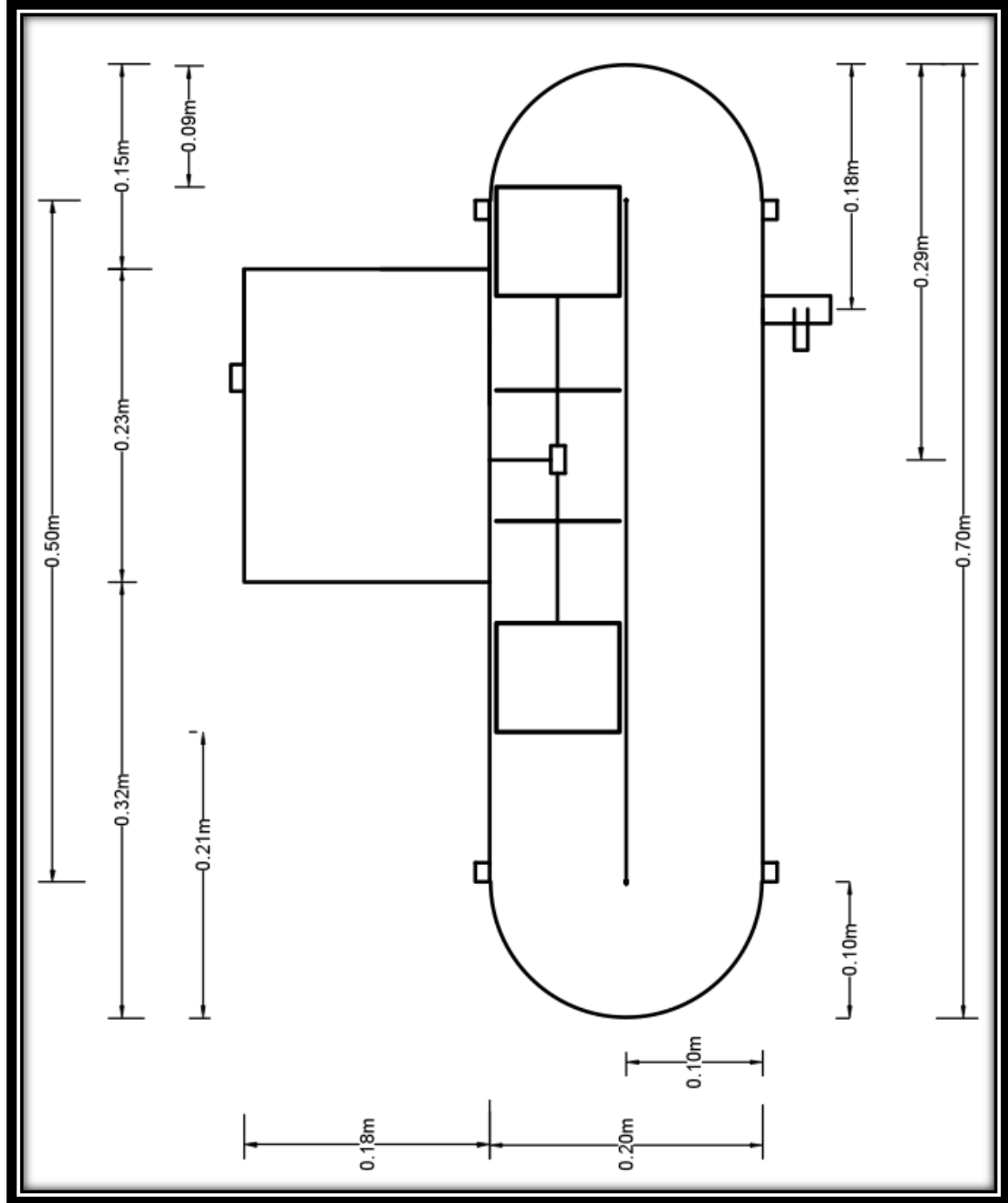
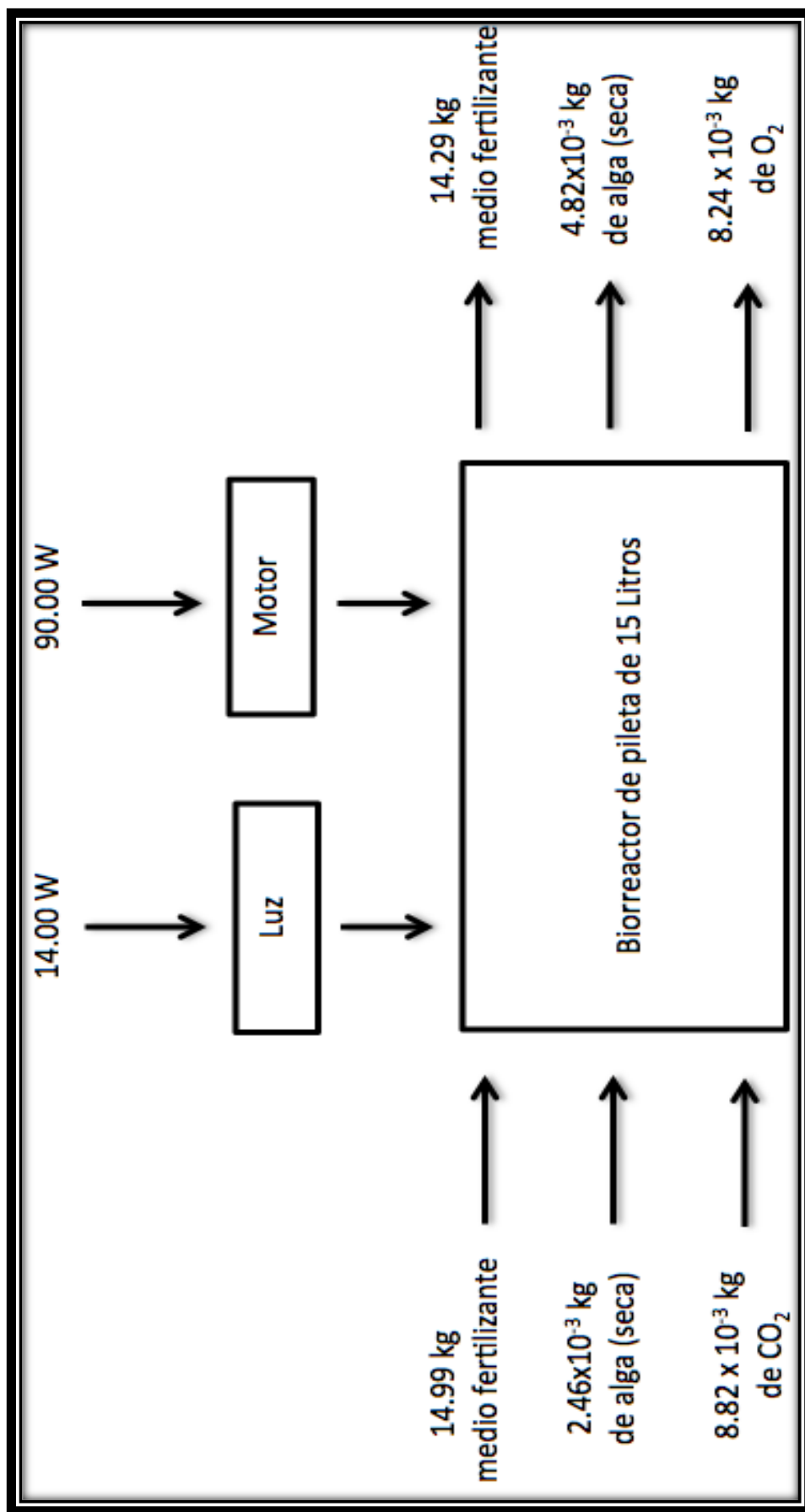


Figura No. 14 Diagrama de flujo del biorreactor de pileta de 15 L.



Gráfica No. 8 Control del crecimiento de cultivo de alga unicelular oleogénica en biorreactor de pileta de 15 litros

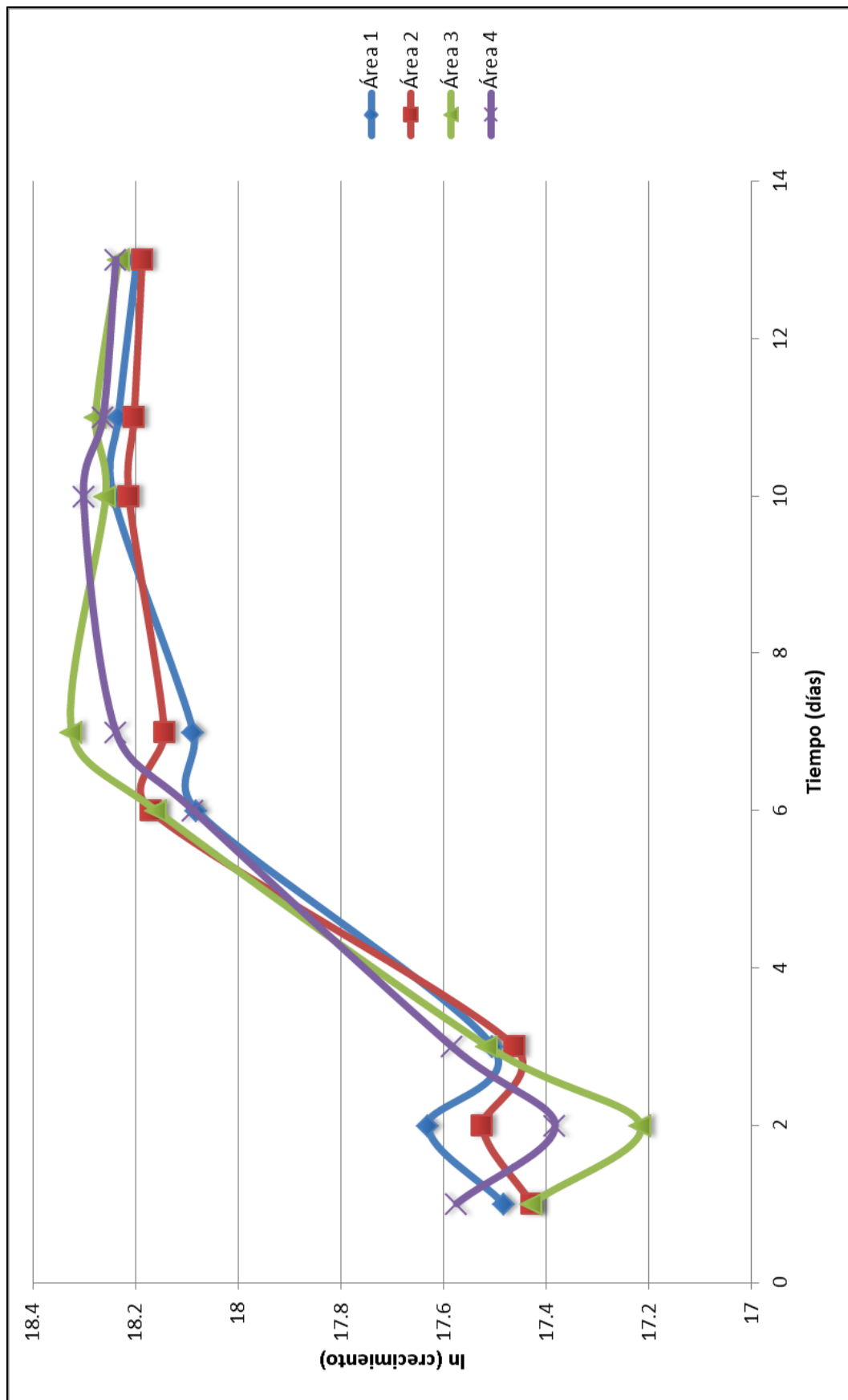


Tabla No. 16 Biomasa inicial y final de microalga y parámetros de crecimiento en biorreactor de pileta de 15 litros

Biomasa seca inicial (± 0.01 g)	Biomasa seca final (± 0.01 g)	Tasa de crecimiento (± 0.01 g día ⁻¹ m ²)	Productividad ($\pm 1.01 \times 10^{-3}$ gL ⁻¹ día ⁻¹)	Rendimiento ($\pm 1.25 \times 10^{-3}$ g L ⁻¹)
2.46	4.82	2.85	0.02	0.32

Tabla No. 17 Costo total del bioreactor tipo pileta de 15 litros

Costo total
Q2,113.50

C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO

A continuación se presentan los datos promedio obtenidos durante las pruebas realizadas de pre-tratamiento con ultrasonido y la extracción por medio de los tres métodos (Soxhlet, Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado) a dos cepas distintas de microalga, una proveniente del Lago de Amatitlán y *Scenedesmus sp.*

Tabla No. 18 Extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh & Dyer (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico a distinta amplitud

Amplitud (%)	Media de la masa del extracto (g)	Proporción media de extracción (%)
60	0.0219 \pm 1.699E-05	4.3794 \pm 0.6908
80	0.0276 \pm 2.927E-06	5.5195 \pm 0.1090
100	0.0250 \pm 2.000E-06	4.9835 \pm 0.0841

Proporción de la extracción (%)		
Amplitud (%)	Intervalo de confianza (z = 95%)	
60	4.3794 \pm	0.3909
80	5.5195 \pm	0.0617
100	4.9835 \pm	0.0476

Continúa en la siguiente página.

Continuación Tabla No. 18 Extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh & Dyer (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico a distinta amplitud

Masa del extracto (g)		
Amplitud (%)	Intervalo de confianza (z = 95%)	
60	0.0219 ±	9.611E-06
80	0.0276 ±	1.656E-06
100	0.0250 ±	1.132E-06

Tabla No. 19 Extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh & Dyer modificado (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico a distinta amplitud

Amplitud (%)	Media de la masa del extracto (g)	Proporción media de la extracción (%)
60	0.0154 ± 4.247E-06	3.0608 ± 0.1620
80	0.0102 ± 1.013E-05	2.0336 ± 0.4000
100	0.0068 ± 2.467E-07	1.3817 ± 0.0013

Proporción de la extracción (%)		
Amplitud (%)	Intervalo de confianza (z = 95%)	
60	3.0608 ±	0.0917
80	2.0336 ±	0.2263
100	1.3817 ±	0.0007

Masa del extracto (g)		
Amplitud (%)	Intervalo de confianza (z = 95%)	
60	0.0154 ±	2.403E-06
80	0.0102 ±	5.730E-06
100	0.0068 ±	1.396E-07

Tabla No. 20 Extracción microalgas *Scenedesmus sp.* por medio del método Bligh & Dyer (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)

Media de la masa del extracto (g)	Proporción media de la extracción (%)
0.0222 ± 0.0007	4.0348 ± 22.6823

Proporción de extracción	
Intervalo de confianza (z = 95%)	
4.0348 ±	1.1667

Masa del extracto (g)	
Intervalo de confianza (z = 95%)	
0.0222 ±	0.5554

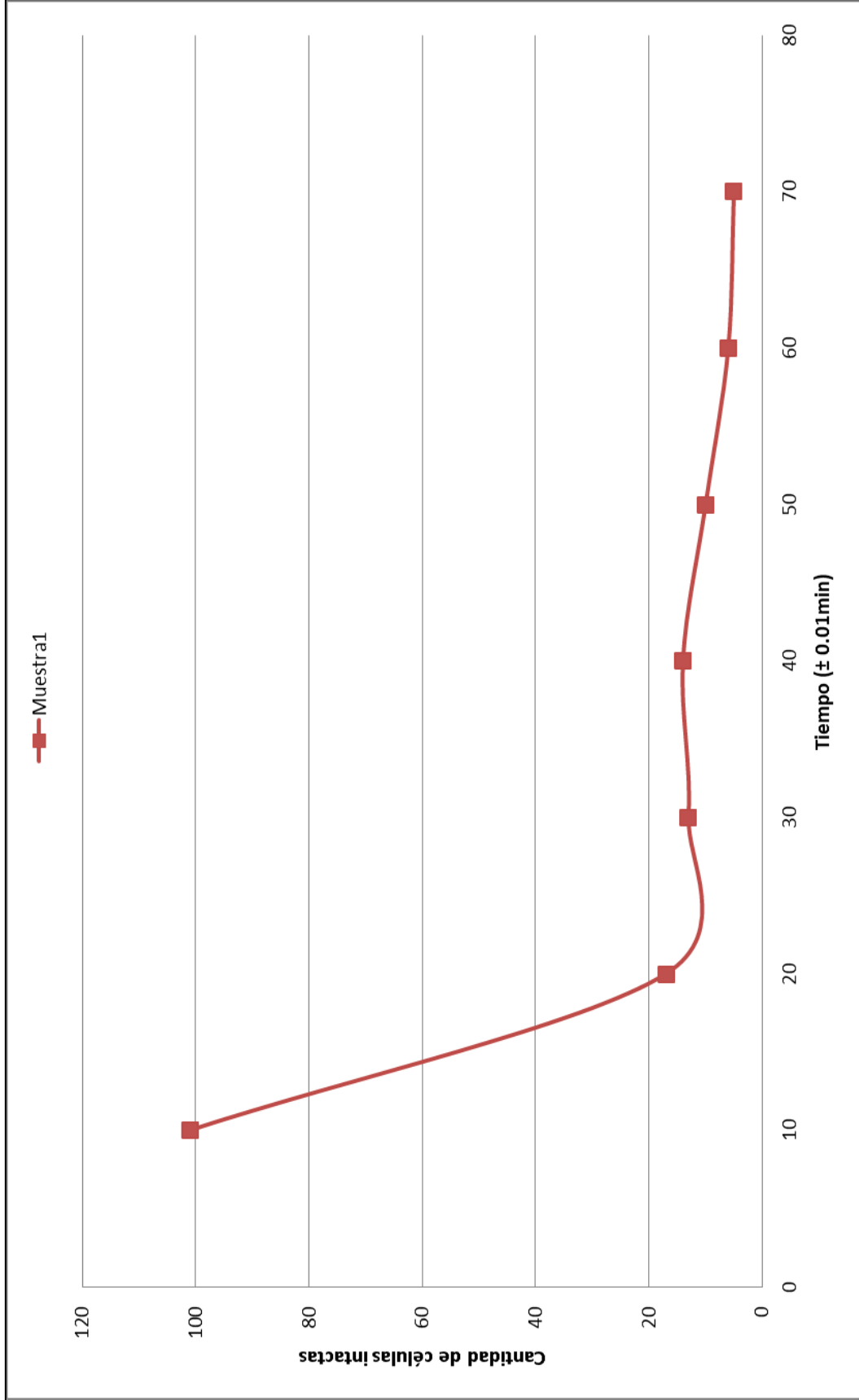
Tabla No. 21 Extracción de microalgas *Scenedesmus sp.* por medio del método Bligh & Dyer modificado (B&D) con pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)

Media de la masa del extracto (g)	Proporción media de la extracción (%)
0.0111 ± 0.0006	1.9894 ± 19.4766

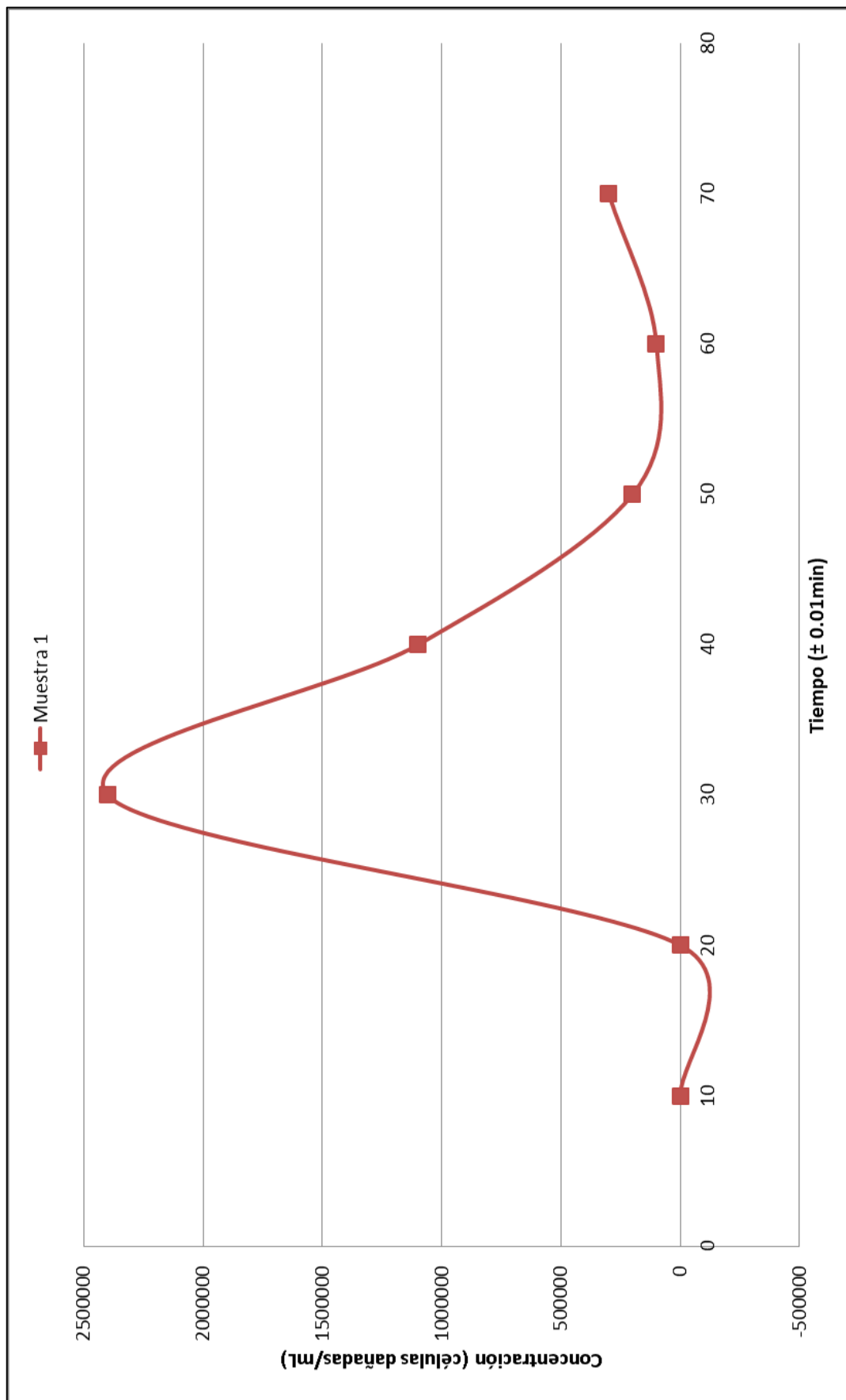
Proporción de extracción	
Intervalo de confianza (z = 95%)	
1.9894 ±	1.0018

Masa del extracto (g)	
Intervalo de confianza (z = 95%)	
0.0111 ±	0.6833

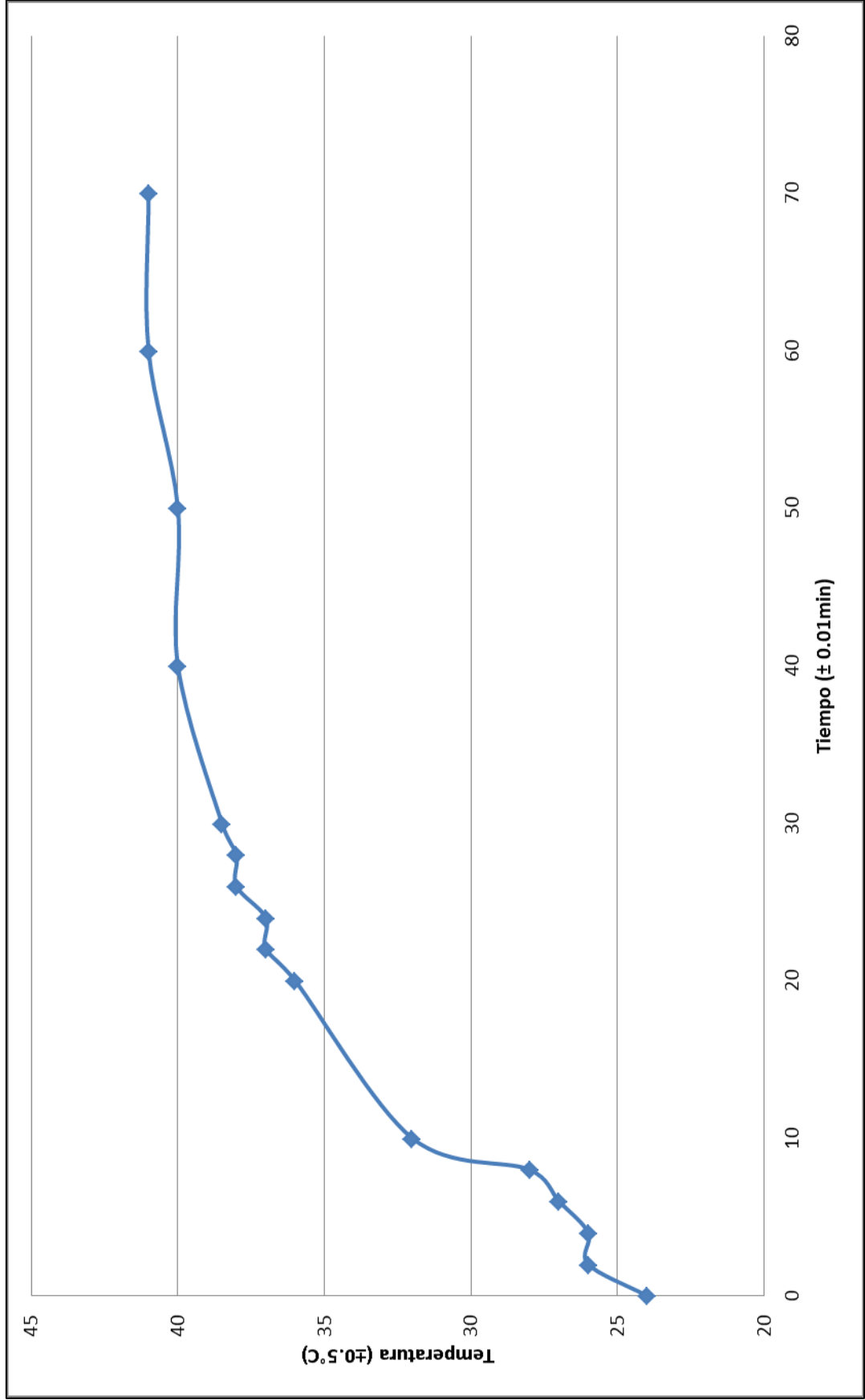
Gráfica No. 9 Células dañadas de la muestra del Lago de Amatitlán contra tiempo de pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)



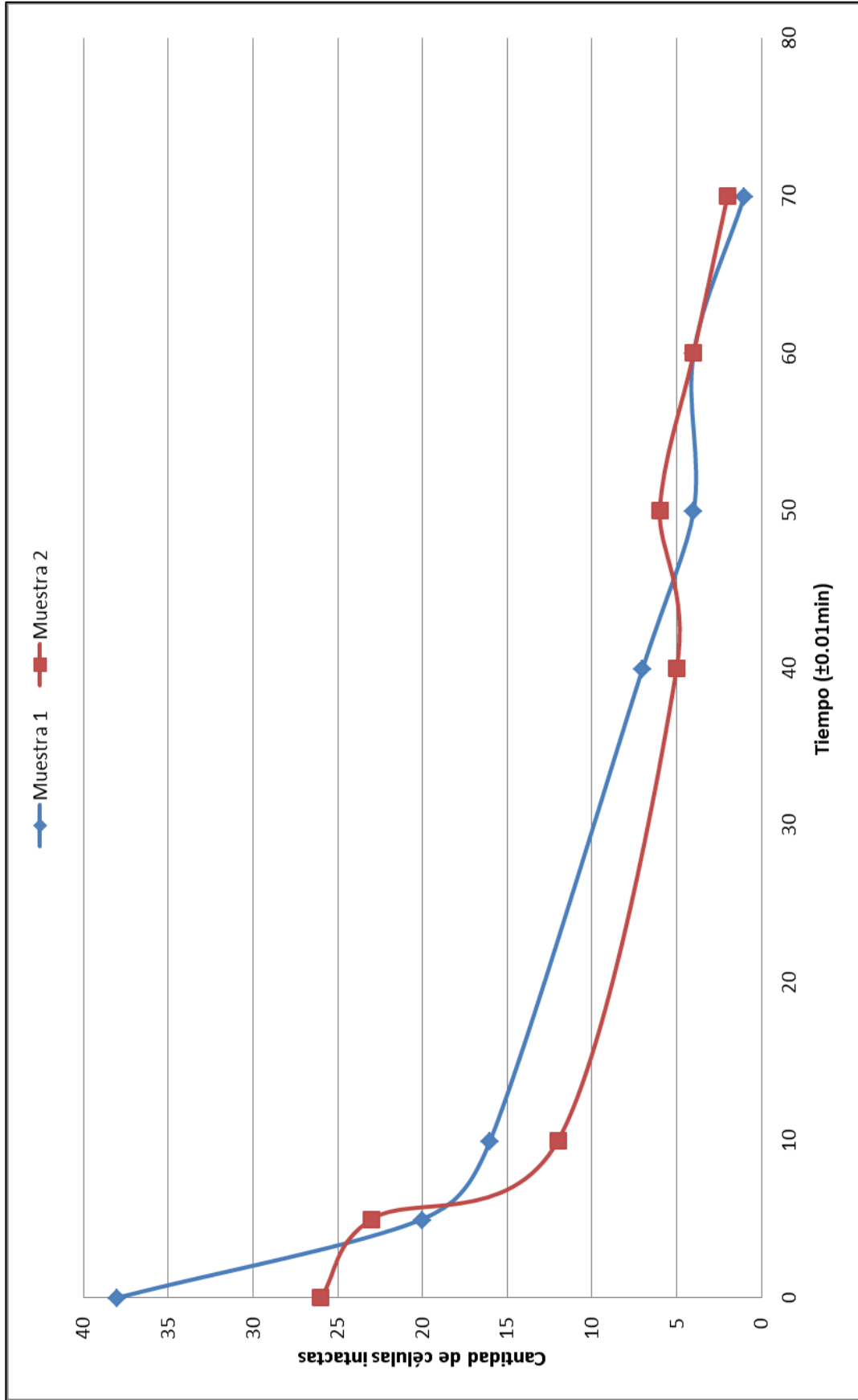
Gráfica No. 10 Curva de rompimiento de células de microalga del Lago de Amatitlán por medio del pre-tratamiento con ultrasonido



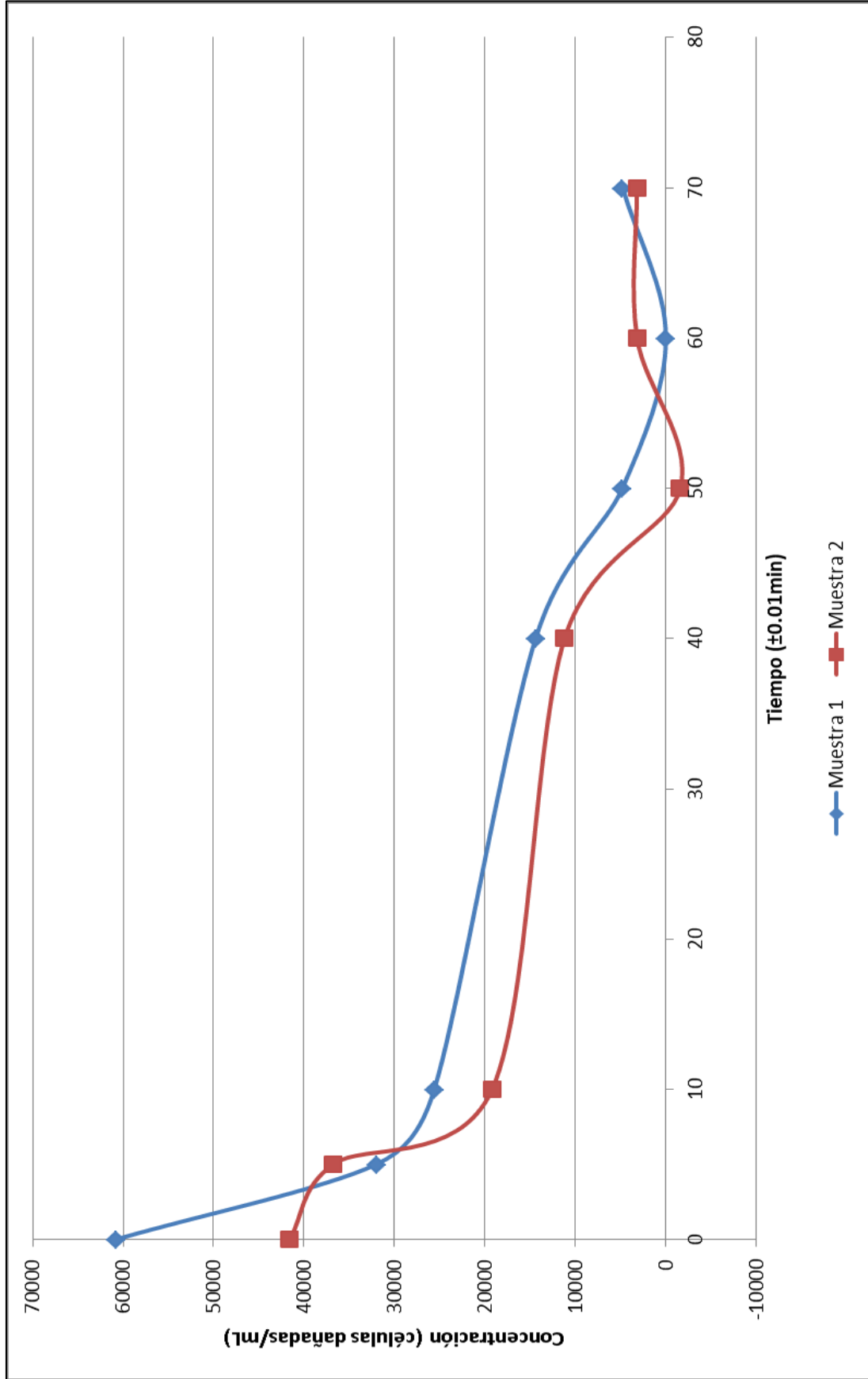
Gráfica No. 11 Variación de la temperatura durante el pre-tratamiento para la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán



Gráfica No. 12 Células dañadas de la cepa *Scenedesmus* sp. contra tiempo de pre-tratamiento ultrasónico (amplitud 100% y ciclo 1)



Gráfica No. 13 Curva de rompimiento de células de la cepa *Scenedesmus sp.* por medio del tratamiento con ultrasonido



Gráfica No. 14 Variación de la temperatura durante el pre-tratamiento para la muestra de microalgas *Scenedesmus sp.*

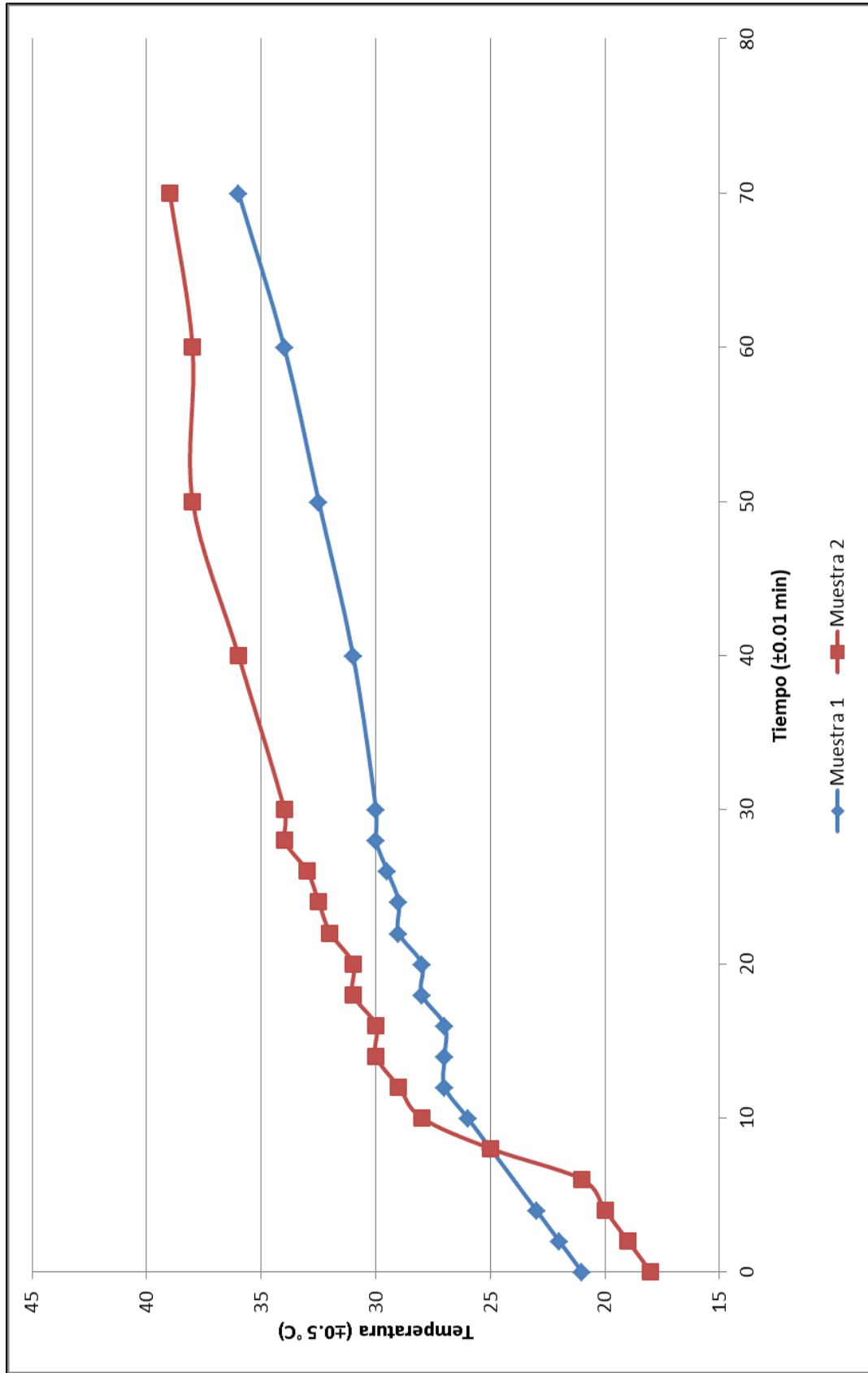


Tabla No. 22 Costos de utilizar ultrasonido como pre-tratamiento para la microalga del Lago de Amatitlán y *Scenedesmus sp.*, de acuerdo al extracto obtenido en las pruebas realizadas

	Lago de Amatitlán	<i>Scenedesmus sp.</i>
Costo de pre-tratamiento (Q/L muestra)	Q 400.02	Q 133.34
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente (Q/g extracto obtenido)	Q 0.40	Q 2.21
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando hexano como solvente (Q/g extracto obtenido)	Q 0.44	Q 0.19
Costo de pre-tratamiento con método Bligh & Dyer (Q/g extracto obtenido)	Q 16.07	Q 6.01
Costo de pre-tratamiento con método Bligh & Dyer modificado (Q/g extracto obtenido)	Q 37.04	Q 12.01

D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO DE BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO

Los métodos empleados para la extracción fueron el método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado, en cada uno de estos se utilizó la mezcla de solventes cloroformo-metanol (Bligh &Dyer) y hexano-alcohol isopropílico (Bligh & Dyer modificado).

Tabla No. 23 Métodos utilizados

Método A	Método Bligh & Dyer
Método B	Método Bligh & Dyer modificado

Cada uno de los métodos se analizo en las microalgas obtenidas del lago de Amatitlán realizando un pre-tratamiento con ultrasonido, previo a la extracción por medio de solventes, en donde se tomó tres diferentes amplitudes de onda y diferente tiempo en el que se encuentran expuesta la biomasa a esa amplitud de onda y todas expuesta a un ciclo, que es la pulsación por segundo que se da.

Tabla No. 24 Muestras lago de Amatitlán con el pre-tratamiento ultrasónico.

Muestra	Parámetro
M1	Amplitud de onda 60% Tiempo de exposición: 1 minutos 59.90 segundos
M2	Amplitud de onda 80% Tiempo de exposición: 3 minutos 5.38 segundos
M3	Amplitud de onda 100% Tiempo exposición: 5 minutos 2.71 segundos

Se realizar la extracción con los métodos, descritos anteriormente, pero antes se eliminó el agua que no se pudo eliminar utilizando tela filtrante, por lo tanto la biomasa húmeda se expone por aproximadamente 9 horas, a una temperatura de secado de 64.4°C. Se obtuvieron los siguientes masas de muestra de microalga seca y su respectiva extracción con el método Bligh & Dyer:

Tabla No. 25 Extracto de microalga de muestra M1 con el método A

Muestra	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5007	0.0237
2	0.5018	0.0186
3	0.5002	0.0232

Tabla No. 26 Extracto de microalga de muestra M2 con el método A

Muestra	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5006	0.0267
2	0.5016	0.0292
3	0.4997	0.027

Tabla No. 27 Extracto de microalga de muestra M3 con el método A

Muestra	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5018	0.0239
2	0.5007	0.0256
3	0.5025	0.0251

Se obtiene la proporción de extracto en base a la masa de microalga seca utilizado para las diferentes muestras con el método Bligh & Dyer.

Tabla No. 28 Proporción de extracto de microalga muestra M1, M2 y M3 con el método A

Muestra	Proporción de extracto de microalga (%)
M1	4.3594 ± 0.6419
M2	5.5194 ± 0.2985
M3	4.9569 ± 0.3171

Se obtienen los siguientes masas de microalga seca y su respectiva extracción con el método Bligh & Dyer modificado:

Tabla No. 29 Extracto de microalga de muestra M1 con el método B

Muestra	Masa alga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5023	0.0142
2	0.5004	0.0149
3	0.5033	0.0170

Tabla No. 30 Extracto de microalga de muestra M2 con el método B

Muestra	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5008	0.0084
2	0.4979	0.0094
3	0.5009	0.0127

Tabla No. 31 Extracto de microalga de muestra M3 con el método B

Muestra	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.4994	0.0068
2	0.5033	0.0071
3	0.4662	0.0064

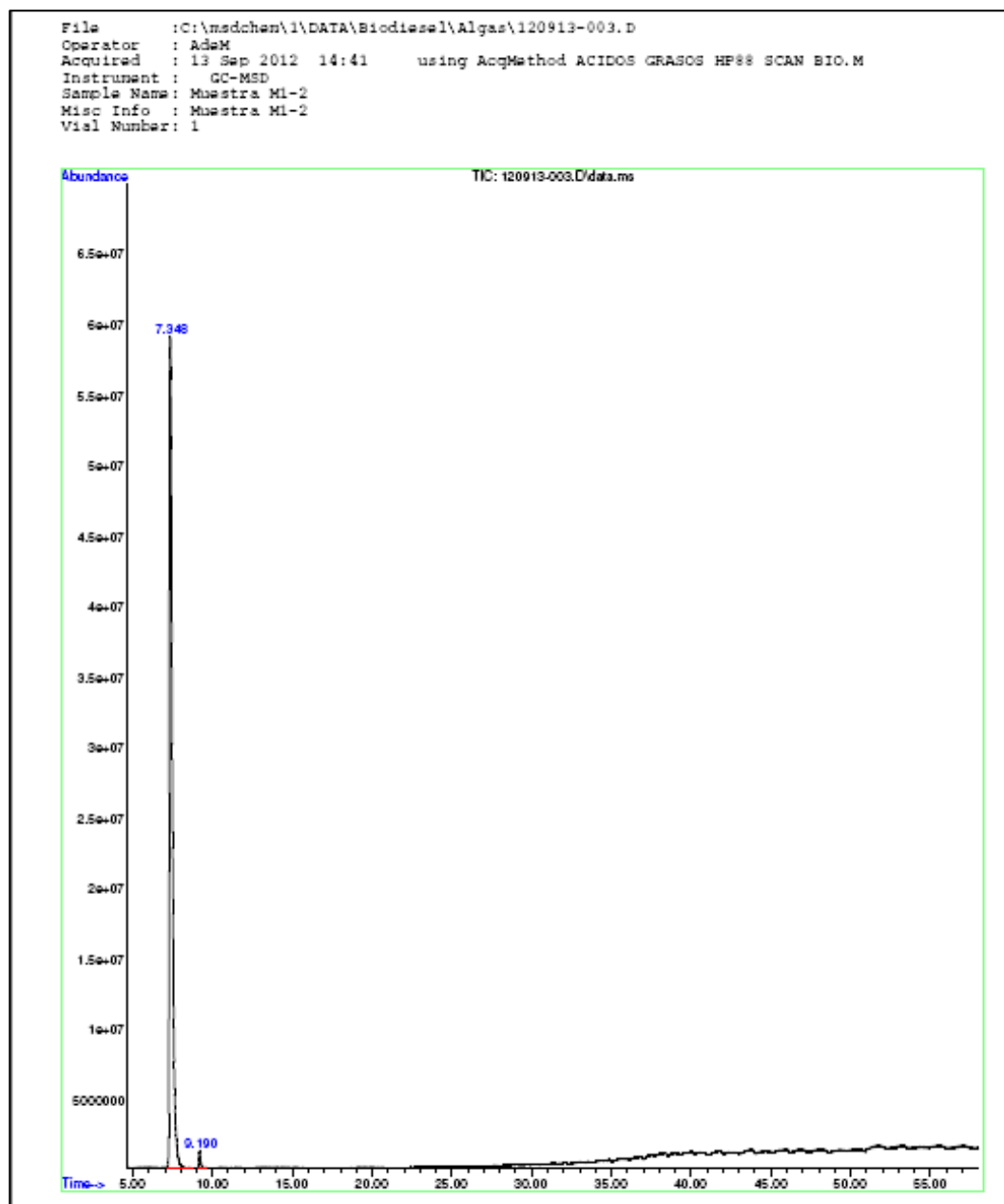
Se obtiene la proporción de extracto en base a la masa de microalga seca utilizado para las diferentes muestras con el método Bligh & Dyer modificado.

Tabla No. 32 Proporción de extracto de microalga con muestra M1, M2 y M3 con el método B

Muestra	Proporción de extracto de microalga (%)
M1	3.0608 ± 0.3221
M2	2.0335 ± 0.5061
M3	1.3817 ± 0.029

Se analizó cada uno de los extractos de microalga obtenido con el método Bligh & Dyer por medio de cromatografía de gases para verificar la presencia de ácidos grasos de los cual se tuvo el siguiente cromatograma, en donde se observa la ausencia de los mismos:

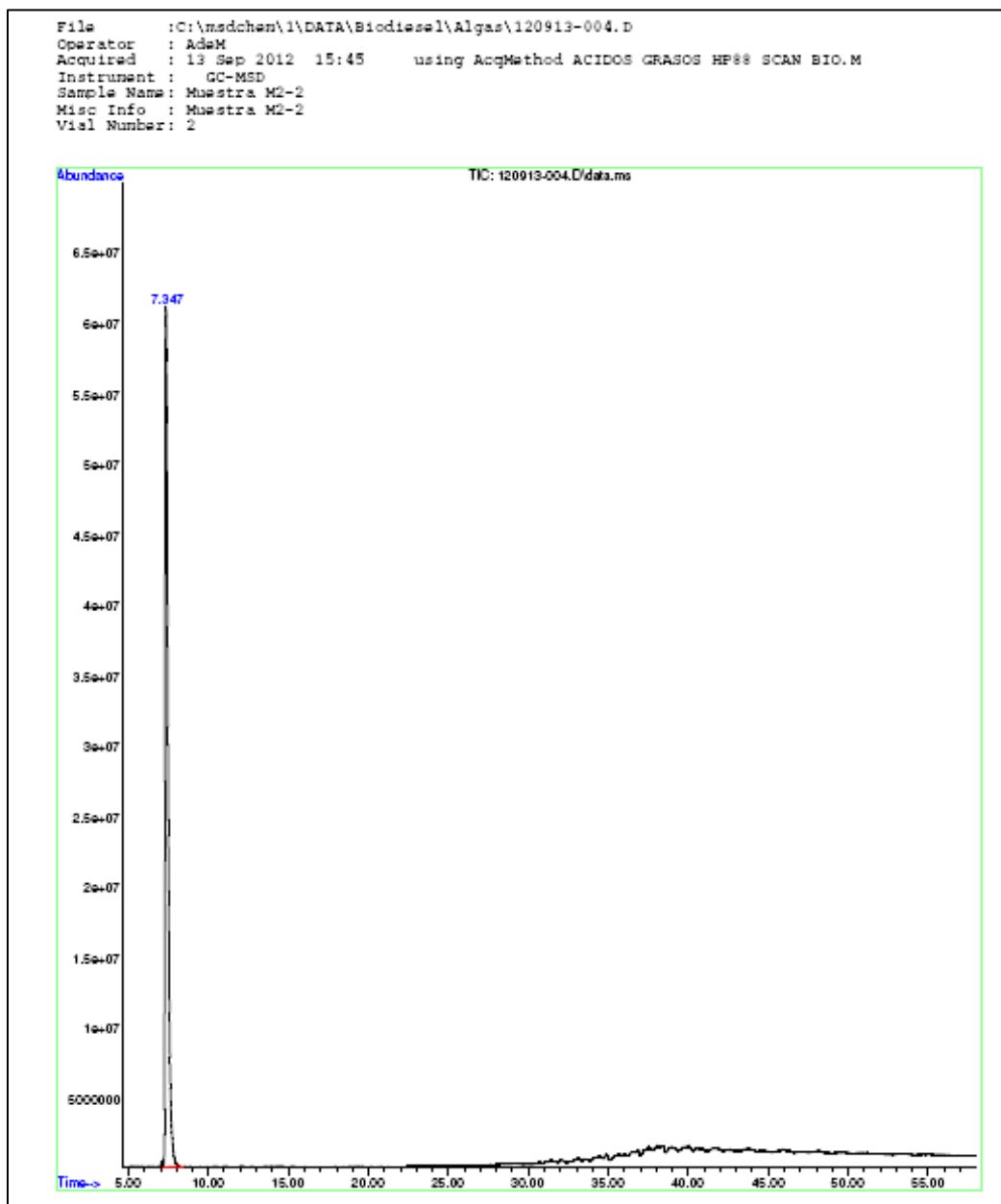
Cromatograma No. 1 Muestra M1, M2 y M3 de extracto de microalga con el método A



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de
la Universidad del Valle de Guatemala

De igual forma se analizaron las tres diferentes muestras para verificar si el extracto de microalga tenía presencia de ácidos grasos de cual se obtuvo el siguiente cromatograma con el método Bligh & Dyer modificado, mostrando la ausencia de los mismos:

Cromatograma No. 2 Muestra M1, M2 y M3 de extracto de microalga con el método B



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la
Universidad del Valle de Guatemala

Para realizar la extracción con los métodos, descritos anteriormente, utilizando la microalga del género *Schenedesmus sp.* fue necesario realizar una centrifugación para eliminar la mayor cantidad de agua posible, proveniente del medio en donde se da el crecimiento de la microalga, el sedimento obtenido luego de la centrifugación es la biomasa con un proporción de agua menor, la cual se pone a secar por 9 horas a una temperatura de 64.4°C. Se obtuvieron los siguientes masas de microalga para analizar y su respectiva extracción con el método Bligh & Dyer:

Tabla No. 33 Muestra de microalga *Schenedesmus sp.* con pre-tratamiento previo a la extracción

Muestra	Parámetro
M4	Amplitud 100% Tiempo exposición: 5 minutos Ciclo 1

Tabla No. 34 Extracto de microalga de muestra M4 con el método A

Experimento	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.554	0.0153
2	0.5526	0.0253
3	0.5496	0.0196
4	0.5488	0.0084
5	0.5505	0.0124
6	0.5522	0.0182
7	0.5539	0.0271
8	0.5534	0.0242
9	0.5494	0.0215
10	0.5498	0.0352
11	0.5485	0.0308
12	0.5501	0.0291

Se obtiene el proporción de extracto en base al masa de microalga *Scenedesmus sp* seca utilizado para las diferentes muestras con el método Bligh & Dyer:

Tabla No. 35 Proporción de extracto de microalga muestra M4 con el método A

Proporción de extracto de microalga (%)
4.0393 ± 0.8123

Se obtuvieron los siguientes masas de microalga seca y su respectiva extracción con el método Bligh & Dyer modificado:

Tabla No. 36 Extracto de microalga muestra M4 con el método B

Experimento	Masa microalga seca (g)	Extracto de microalga (g)
1	0.5519	0.0127
2	0.5540	0.0164
3	0.5539	0.0159
4	0.5505	0.0137
5	0.5519	0.0146
6	0.5529	0.0243
7	0.5520	0.0047
8	0.5467	0.0069
9	0.5020	0.0020
10	0.5493	0.0016
11	0.5520	0.0022
12	0.5896	0.0163

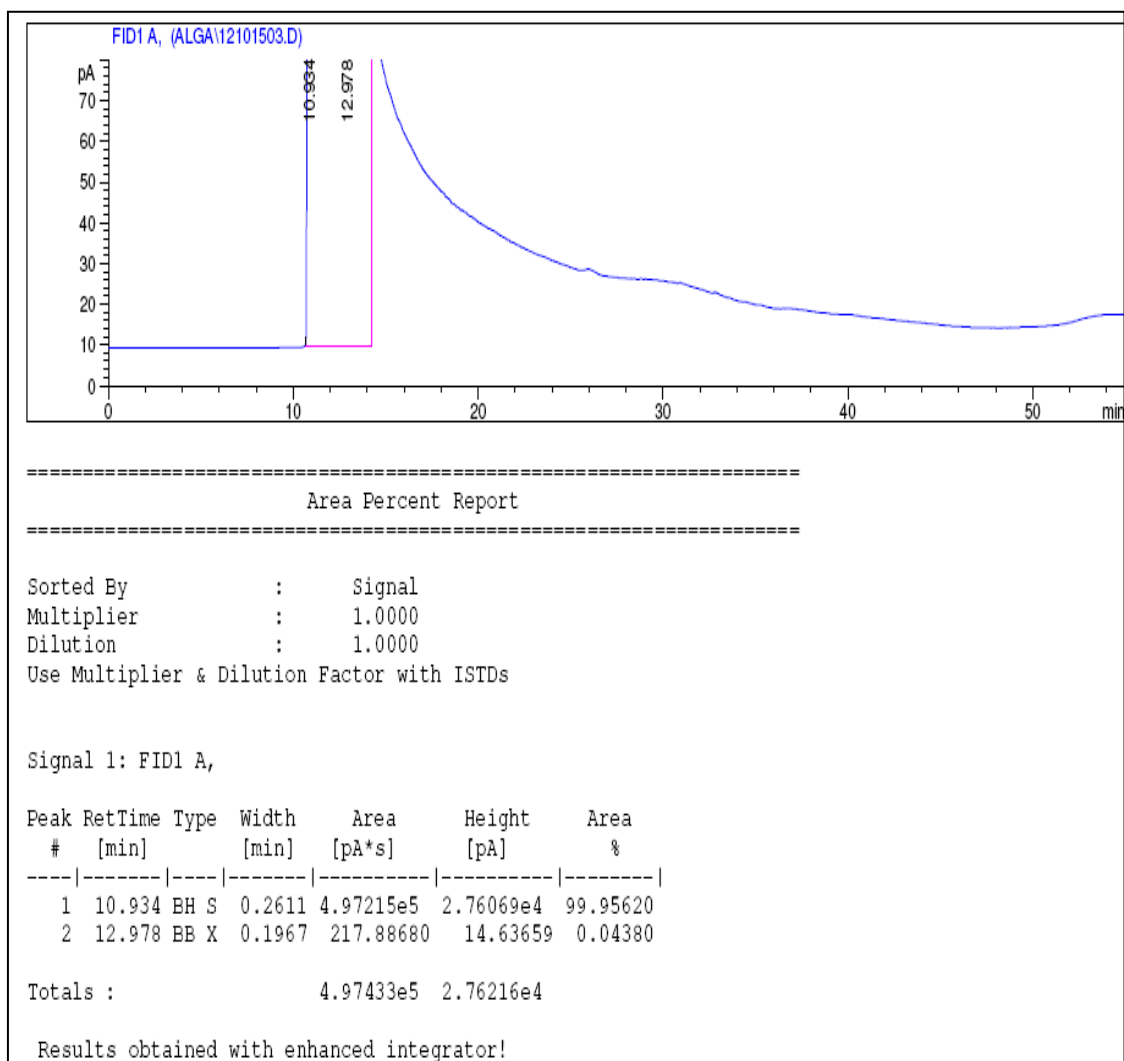
Se obtiene la proporción de extracto en base a la masa de microalga seca utilizado para las diferentes muestras con el método Bligh & Dyer modificado:

Tabla No. 37 Proporción de extracto de microalga muestra M4 con el método B

Proporción de extracto de microalga (%)
1.9690 ± 0.7367

Se analizó el extracto obtenido de la microalga *Scenedesmys sp.* con el método Bligh & Dyer por medio de cromatografía de gases para verificar la presencia de ácidos grasos de los cual se tuvo el siguiente cromatograma, en donde se muestra que no contiene ácidos grasos:

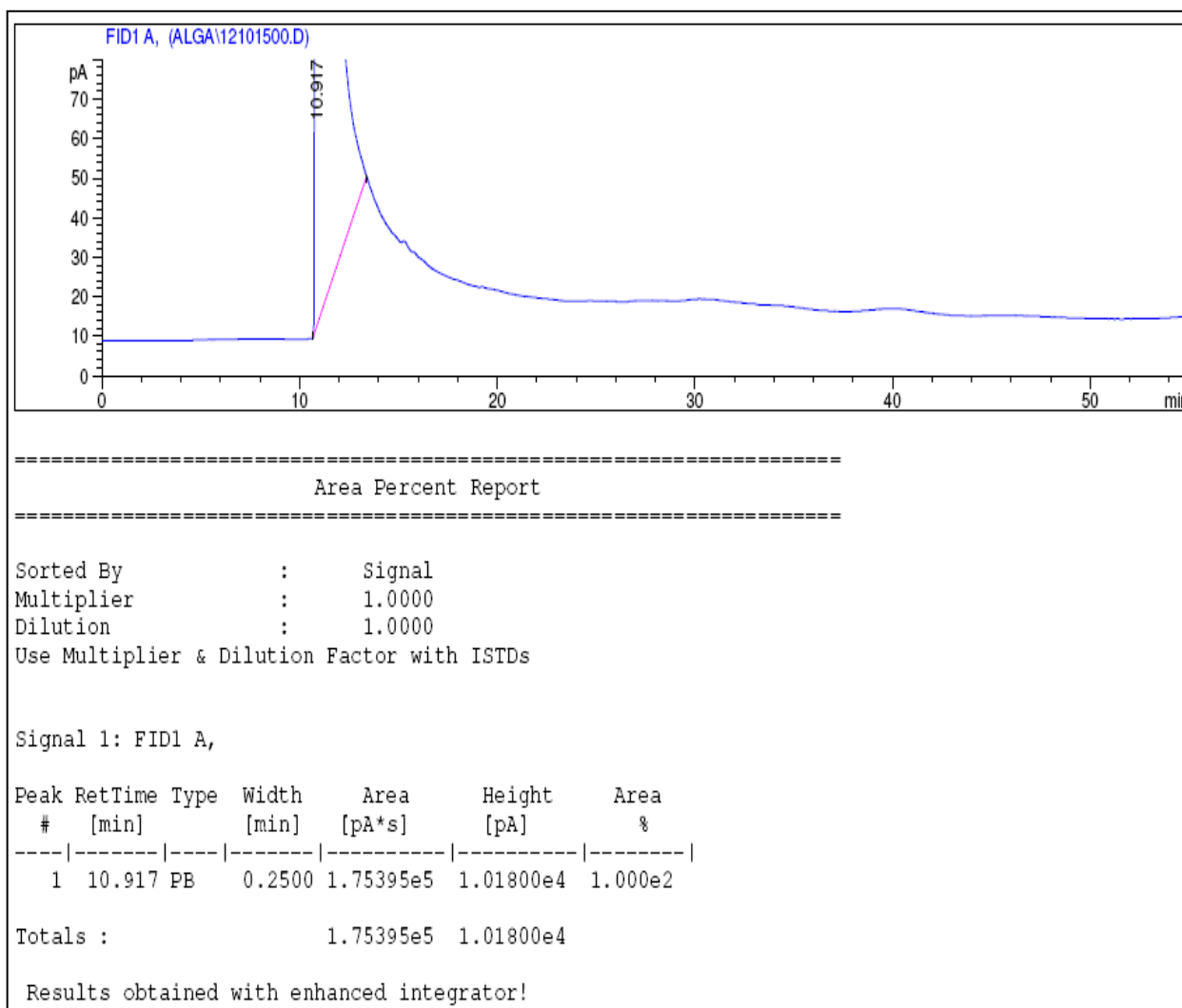
Cromatograma No. 3 Muestra M4 de extracto de microalga con el método A



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la
Universidad del Valle de Guatemala

De igual forma se analizó el extracto de la microalga *Scenedesmus sp.* para verificar la presencia de ácidos grasos de cual se obtuvo el siguiente cromatograma con el método Bligh & Dyer modificado, observando que no presenta ningún ácido graso:

Cromatograma No. 4 Muestra M4 de extracto de microalga con el método B



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la
Universidad del Valle de Guatemala

A continuación se presenta la proporción de extracto obtenido del módulo “Extracción de aceite de microalgas oleogénicas a escala laboratorio por medio de solventes en el sistema de extracción Soxhlet” realizado por Alexandra Iten a las diferentes muestras de microalga con diferentes solventes utilizando el método Soxhlet.

Tabla No. 38 Proporción de extracto de microalga del lago de Amatitlán con éter diisopropil y con hexano como disolvente utilizando el método Soxhlet

Solvente	Proporción de extracción (%)
Éter diisopropil	19.2801 ± 0.0019
Hexano	22.2960 ± 0.0025

Tabla No. 39 Proporción de extracto de microalga *Scenedesmus sp.* utilizando éter diisopropil como disolvente utilizando el método Soxhlet

Promedio de la proporción de extracción (%)
1.6628 ± 0.1532

Tabla No. 40 Proporción de microalga *Scenedesmus sp.* utilizando hexano como disolvente utilizando el método Soxhlet

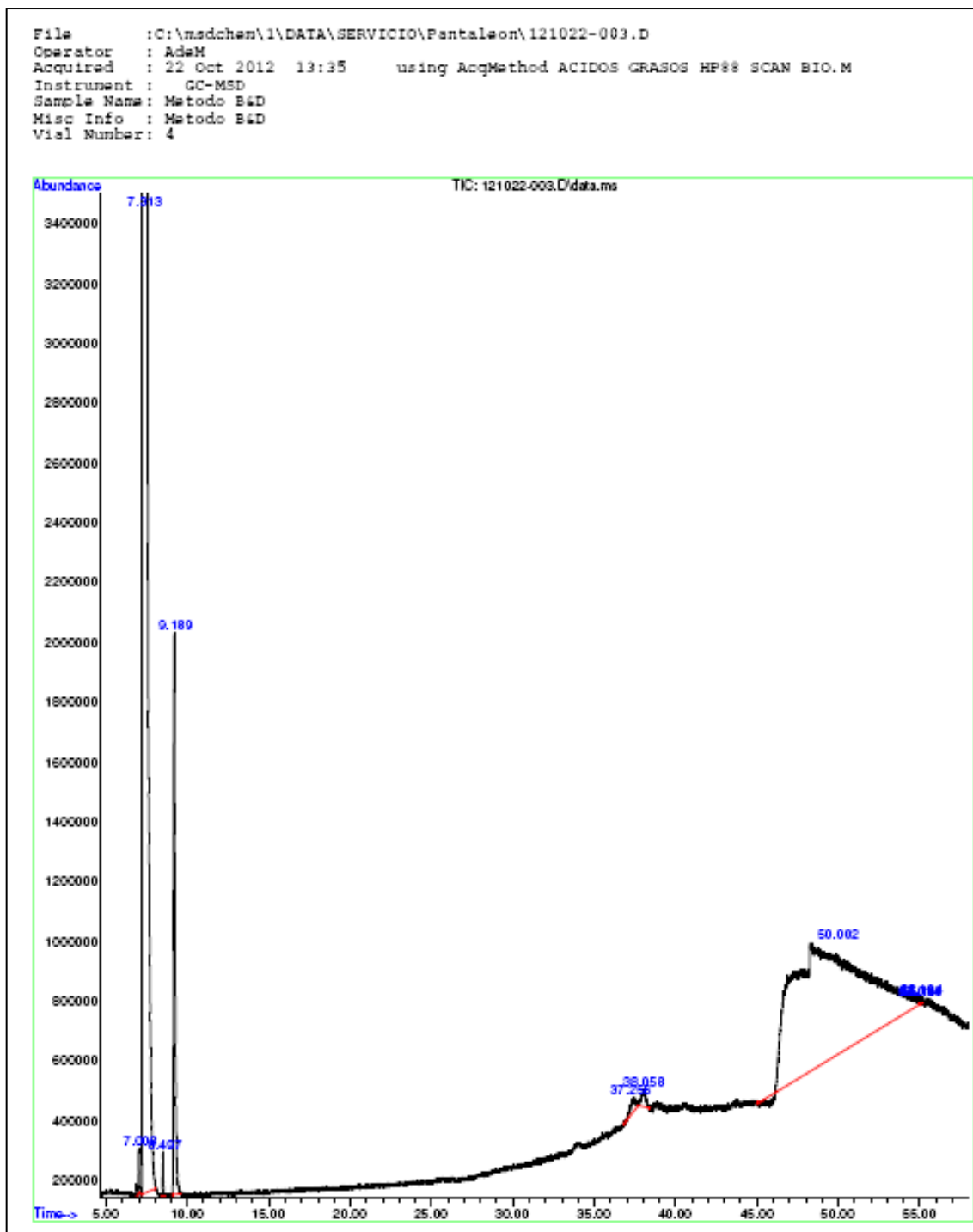
Promedio de la proporción de extracción (%)
17.0927 ± 6.4807

Tabla No. 41 Proporción de extracción de semilla de higuero utilizando el método Bligh & Dyer y presencia de ácidos grasos en las muestras

Proporción de extracción (%)
42.4747 ± 1.8533

En el siguiente cromatograma se observa la ausencia de ácidos grasos del extracto de semilla de higuierillo.

Cromatograma No. 5 Muestra de extracto de higuierillo por el método A



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la
Universidad del Valle de Guatemala

E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET

Tabla No. 42 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga del lago de Amatitlán con éter diisopropil y con hexano como disolventes

Solvente	Proporción extracto/biomasa (%)		
éter diisopropil	19.2801	±	0.0019
hexano	22.2960	±	0.0025

Tabla No. 43 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga Scenedesmus sp utilizando éter diisopropil como disolvente

Proporción extracto/biomasa promedio (%)
1.6628 ± 0.1542

Tabla No. 44 Proporción extracto/biomasa (%) de microalga Scenedesmus sp utilizando hexano como disolvente

Proporción extracto/biomasa promedio (%)
17.0927 ± 6.4807

Tabla No. 45 Análisis de ácidos grasos en el extracto de algas del lago de Amátitlán y *Scenedesmus sp* por cromatografía de gases

Muestra	Aceites grasos detectados
Extracto de algas del lago de Amátitlán	Ausente
Extracto de <i>Scenedesmus sp</i> utilizando hexano	Ausente
Extracto de <i>Scenedesmus sp</i> utilizando éter diisopropil	Ausente

Tabla No. 46 Costo unitario obtenido con cada disolvente para la extracción de aceite de algas del lago de Amátitlán y de *Scenedesmus sp*.

Alga	Solvente	Costo unitario promedio (Q/g)
Lago de Amátitlán	éter diisopropil	8.44 ± 2.35
	hexano	4.86 ± 1.22
<i>Scenedesmus sp</i>	éter diisopropil	84.7 ± 3.4
	hexano	4.55 ± 2.09

F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

A continuación se presenta una tabla que resume los resultados obtenidos dentro del trabajo, para posteriormente, realizar un desglose por objetivo trazado de cada uno de ellos.

Tabla No. 47 Resumen de resultados obtenidos

Rubro	Detalle	Resultado
Costo por unidad agregado por proceso a Escala Laboratorio	Cultivo	Q126.33
	Pre-tratamiento ultrasónico	Q7.56
Costo por unidad agregado por método de extracción para Escala Laboratorio	Método Soxhlet	Q4.13
	Método Bligh and Dyer	Q4.85
	Método Bligh and Dyer Modificado	Q4.89
Resultado de análisis financiero (VPN/TIR) para Escala Laboratorio	Método Soxhlet	-Q10,699.52 / 4%
	Método Bligh and Dyer	-Q18,752.31 / 0%
	Método Bligh and Dyer Modificado	-Q18,890.85 / 0%
Resultado de análisis financiero (VPN/TIR) para Escala 2	Método Soxhlet	Q654,053.99 / 27%
	Método Bligh and Dyer	-Q117,351.82 / 6%
	Método Bligh and Dyer Modificado	-Q342,653.97 / 1%
Resultado final en sistema de medición por método de extracción	Método Soxhlet	74.5%
	Método Bligh and Dyer	65.7%
	Método Bligh and Dyer Modificado	65.7%

Tabla No. 48 Procedimiento para uso del sistema de medición desarrollado la evaluación

Paso 1: Establecer el objeto de estudio
Paso 2: Determinar los indicadores por nivel (económico, operativo y técnico) que se consideren relevantes.
Paso 3: Establecer para cada indicador según su aspecto (producción, financiero o de organización).
Paso 4: Asignarle un rango a cada indicador (10, 5 ó 1). Se recomienda que los indicadores clasificados dentro del rango 10, no superen el 20% del total de indicadores por nivel
Paso 5: Determinar la dimensional del indicador.
Paso 6: Realizar una breve recopilación de información para establecer un valor teórico para los indicadores (solamente para los que sea posible).
Paso 7: Establecer una meta por indicador en cuanto a la desviación que se desea tener del valor teórico, así como un valor mínimo o máximo para aquellos indicadores que no tengan valor teórico.
Paso 8: Determinar el rango por indicador para el cual el resultado obtenido con respecto a la meta, será bueno, aceptable y malo (Rojo, Amarillo y Verde).
Paso 9: Asignar para cada indicador, el factor por el cual deberá ser multiplicado el resultado de acuerdo a su ubicación en Rojo, Amarillo o Verde.
Paso 10: Calcular el valor real de cada indicador, e ingresarlos en la plantilla de evaluación.
Paso 11: Realizar los análisis, comparaciones y toma de decisiones según los resultados obtenidos.

Tabla No. 49 Plantilla del sistema de medición para los métodos de extracción de aceite (Completado hasta el paso 5)

Foco estratégico			Medida	
Nivel	Indicador (KPI)	Aspecto	Rango del KPI	Unidad de medida
Económico	Costo de inversión inicial	Financiero	5	Quetzales
	Tiempo de recuperación de la inversión	Financiero	5	Años
	Precio del aceite	Financiero	1	Quetzales
	Valor presente neto	Financiero	10	Quetzales
	Tasa interna de retorno	Financiero	10	%
Operativo	Tiempo por corrida de producción	Producción	5	Horas
	Cantidad de aceite extraído (del % de masa seco)	Producción	10	%
	Costo de mano de obra por corrida de producción	Financiero	1	Quetzales
	Costo de materiales requeridos por corrida de producción	Financiero	5	Quetzales
	Costo de consumo de energía eléctrica por corrida de producción	Financiero	5	Quetzales
Técnico	Tiempo de preparación	Organización	10	Minutos
	Costo de equipo de protección o seguridad	Financiero	5	Quetzales
	Complejidad del manejo de los materiales	Organización	1	Valor entre 1-10
	Dificultad relativa del método	Organización	1	Valor entre 1-10
	Necesidad de control de condiciones ambientales	Organización	1	Valor entre 1-10

Tabla No. 50 Costos de operación anuales para el cultivo de microalgas a distintas escalas

Costo	Escala laboratorio	Escala 1	Escala 2	Escala 3
Materiales directos	Q256.14	Q42, 211.54	Q422,115.42	Q1,597,706.88
Insumos (equipo de protección)	Q173.21	Q173.21	Q173.21	Q173.21
Mano de obra	Q74,193.12	Q74,193.12	Q74,193.12	Q74,193.12
Costo anual de operación	Q74, 682.31	Q116,577.87	Q496,481.75	Q1,672,073.21

Tabla No. 51 Costos de operación anuales para el pre-tratamiento ultrasónico de microalgas a distintas escalas

Costo	Escala laboratorio	Escala 1 (100L/año)	Escala 2 (1000 L/año)	Escala 3 (1000 Gal/año)
Materiales directos	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Insumos (equipo de protección)	Q93.27	Q186.54	Q186.54	Q186.54
Mano de obra	Q329.41	Q37,096.56	Q37,096.56	Q37,096.56
Consumo de energía eléctrica	Q24.42	Q4,024.23	Q40, 241.94	Q152, 315.78
Costo anual de operación	Q447.1	Q41, 307.33	Q77.525.04	Q189,598.88

Tabla No. 52 Costo por unidad, agregado por los departamentos de cultivo y pre-tratamiento de microalgas a distintas escalas

Departamento	Escala laboratorio	Escala 1 (100L/año)	Escala 2 (1000 L/año)	Escala 3 (1000 Gal/año)
Cultivo	Q126.33	Q1.17	Q0.50	Q0.44
Pre-tratamiento	Q7.56	Q0.45	Q0.08	Q0.05
Total	Q133.89	Q1.62	Q0.58	Q0.49

Tabla No. 53 Costo por unidad, agregado por los métodos de extracción de aceite a distintas escalas

Método de extracción	Escala laboratorio	Escala 1 (100L/año)	Escala 2 (1000 L/año)	Escala 3 (1000 Gal/año)
Soxhlet	Q4.13	Q1.40	Q0.72	Q0.66
Bligh and Dyer	Q4.85	Q1.46	Q.0.94	Q0.86
Bligh and Dyer Modificado	Q.4.89	Q.1.50	Q0.98	Q0.89

Tabla No. 54 Precio del aceite por mililitro, según el método de extracción y su escala correspondiente

Método de extracción	Escala laboratorio	Escala 1 (100L/año)	Escala 2 (1000 L/año)	Escala 3 (1000 Gal/año)
Soxhlet	Q162.72	Q3.56	Q1.53	Q1.36
Bligh and Dyer	Q163.57	Q3.63	Q1.79	Q1.59
Bligh and Dyer Modificado	Q163.61	Q3.68	Q1.84	Q1.63

Tabla No. 55 Resultados de los métodos de extracción en sistema de medición

Método de extracción	Análisis técnico	Análisis operativo	Análisis económico	Resultado final
Soxhlet	64.2%	70.7%	88.8%	74.5%
Bligh and Dyer	95.0%	79.7%	22.5%	65.7%
Bligh and Dyer Modificado	95.0%	79.7%	22.5%	65.7%

Tabla No. 56 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala laboratorio

Tipo de evaluación	VPN (Quetzales)	TIR (%)	NPER (años)
Método de extracción			
Soxhlet	-Q10,699.52	4%	17
Bligh and Dyer	-Q18,752.31	0%	>20
Bligh and Dyer Modificado	-Q18,890.85	0%	>20

Tabla No. 57 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 1 (100 Litros anuales)

Tipo de evaluación	VPN (Quetzales)	TIR (%)	NPER (años)
Método de extracción			
Soxhlet	-Q72,426.64	-4%	>20
Bligh and Dyer	-Q40,041.19	5%	15
Bligh and Dyer Modificado	-Q62,572.67	3%	19

**Tabla No. 58 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 2
(1000 Litros anuales)**

Tipo de evaluación	VPN (Quetzales)	TIR (%)	NPER (años)
Método de extracción			
Soxhlet	Q654,053.99	27%	4
Bligh and Dyer	-Q117,351.82	6%	13
Bligh and Dyer Modificado	-Q342,653.97	1%	>20

**Tabla No. 59 Resumen de resultados de evaluación económica para Escala 3
(1000 galones anuales)**

Tipo de evaluación	VPN (Quetzales)	TIR (%)	NPER (años)
Método de extracción			
Soxhlet	Q1,966,041.15	31%	4
Bligh and Dyer	-Q 186,626.03	7%	12
Bligh and Dyer Modificado	-Q1,039,393.07	-1%	>20

Tabla No. 60 Estado de resultados para proceso de extracción mediante método Soxhlet Escala 2

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00
Gastos de operación	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)
-Depreciación	(Q151,157.25)	(Q151,157.25)	(Q151,157.25)	(Q151,157.25)	(Q151,157.25)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q121,483.31	Q121,483.31	Q121,483.31	Q121,483.31	Q121,483.31
-Impuestos	(Q37,659.83)	(Q37,659.83)	(Q37,659.83)	(Q37,659.83)	(Q37,659.83)
Utilidad Neta	Q83,823.48	Q83,823.48	Q83,823.48	Q83,823.48	Q83,823.48

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00
Gastos de operación	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)	(Q1,291,359.44)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q272,640.56	Q272,640.56	Q272,640.56	Q272,640.56	Q272,640.56
-Impuestos	(Q84,518.57)	(Q84,518.57)	(Q84,518.57)	(Q84,518.57)	(Q84,518.57)
Utilidad Neta	Q188,121.99	Q188,121.99	Q188,121.99	Q188,121.99	Q188,121.99

Gráfica No. 15 Desglose de costos de operación para el proceso de extracción mediante método Soxhlet en la Escala 2 (1000 Litros/año)

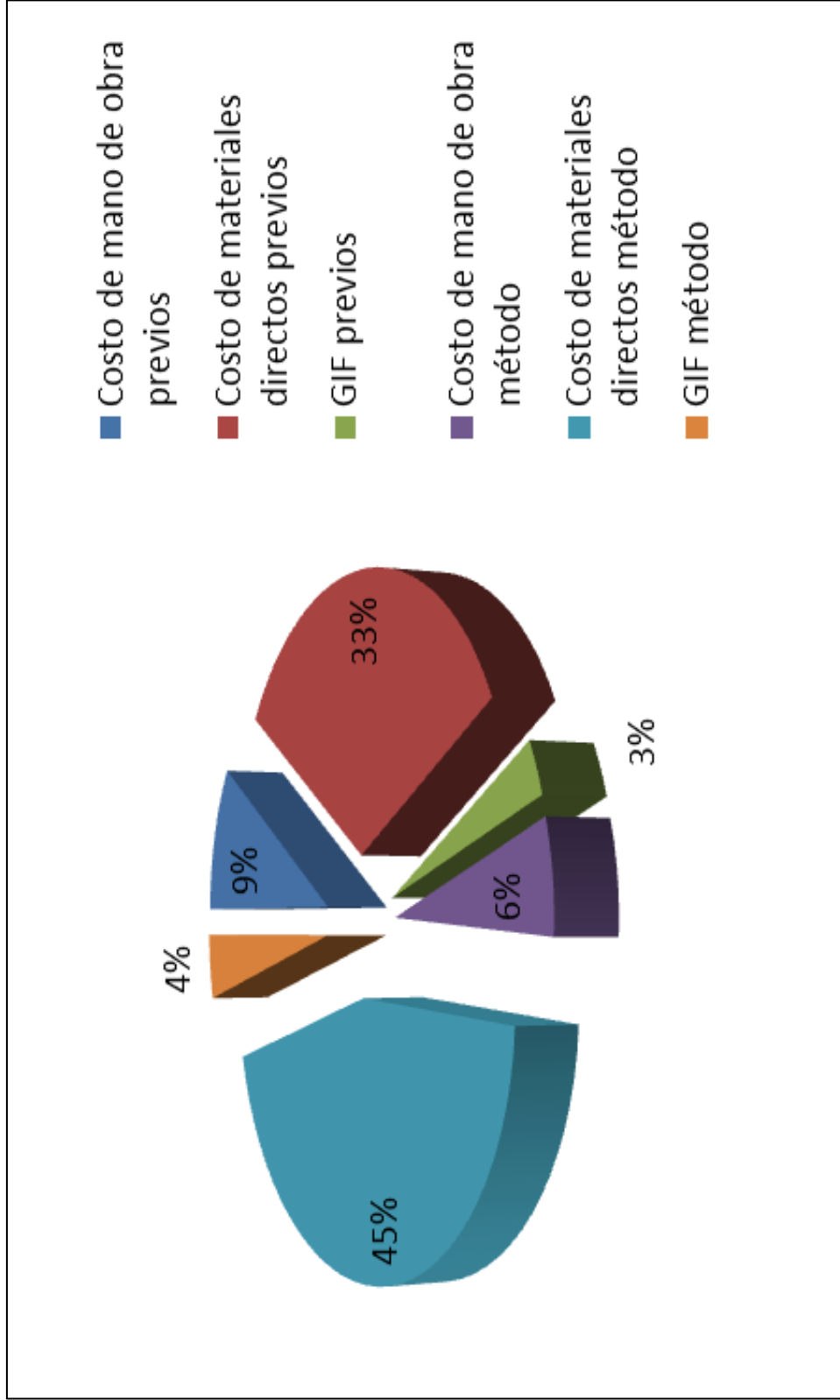
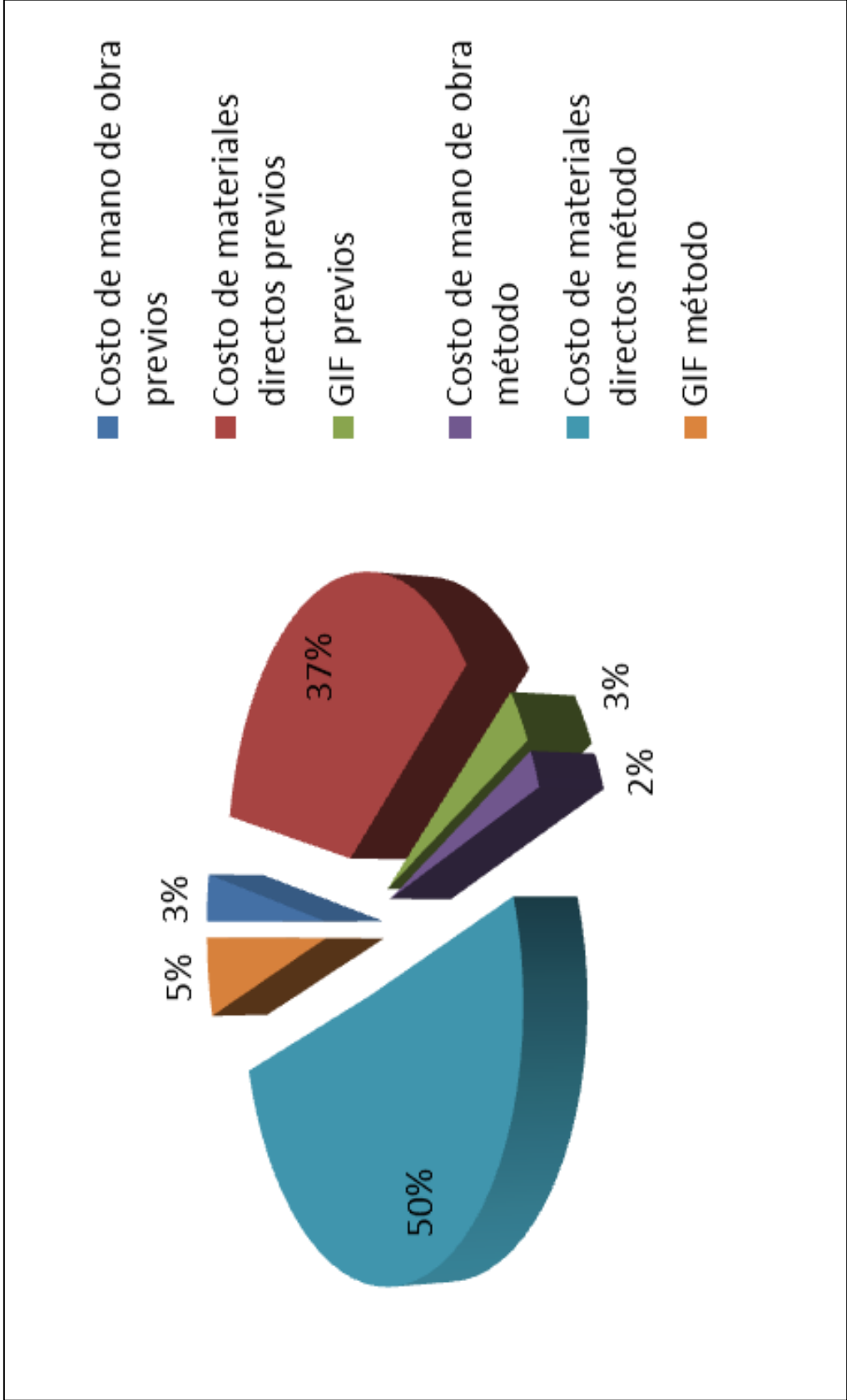


Tabla No. 61 Estado de Resultados para proceso de extracción mediante método Soxhlet Escala 3

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50
-Gastos de Operación	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)
-Depreciación	(Q368,750.86)	(Q368,750.86)	(Q368,750.86)	(Q368,750.86)	(Q368,750.86)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q378,750.41	Q378,750.41	Q378,750.41	Q378,750.41	Q378,750.41
-Impuestos (31%)	(Q117,412.63)	(Q117,412.63)	(Q117,412.63)	(Q117,412.63)	(Q117,412.63)
Utilidad Neta	Q261,337.78	Q261,337.78	Q261,337.78	Q261,337.78	Q261,337.78

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50	Q5,115,427.50
-Gastos de Operación	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)	(Q4,367,926.23)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q747,501.27	Q747,501.27	Q747,501.27	Q747,501.27	Q747,501.27
-Impuestos (31%)	(Q231,725.39)	(Q231,725.39)	(Q231,725.39)	(Q231,725.39)	(Q231,725.39)
Utilidad Neta	Q515,775.88	Q515,775.88	Q515,775.88	Q515,775.88	Q515,775.88

Gráfica No. 16 Desglose de costos de operación para el método Soxhlet en la Escala 3



Gráfica No. 17 Diagrama de Gantt Plan de Seguimiento Fase 1

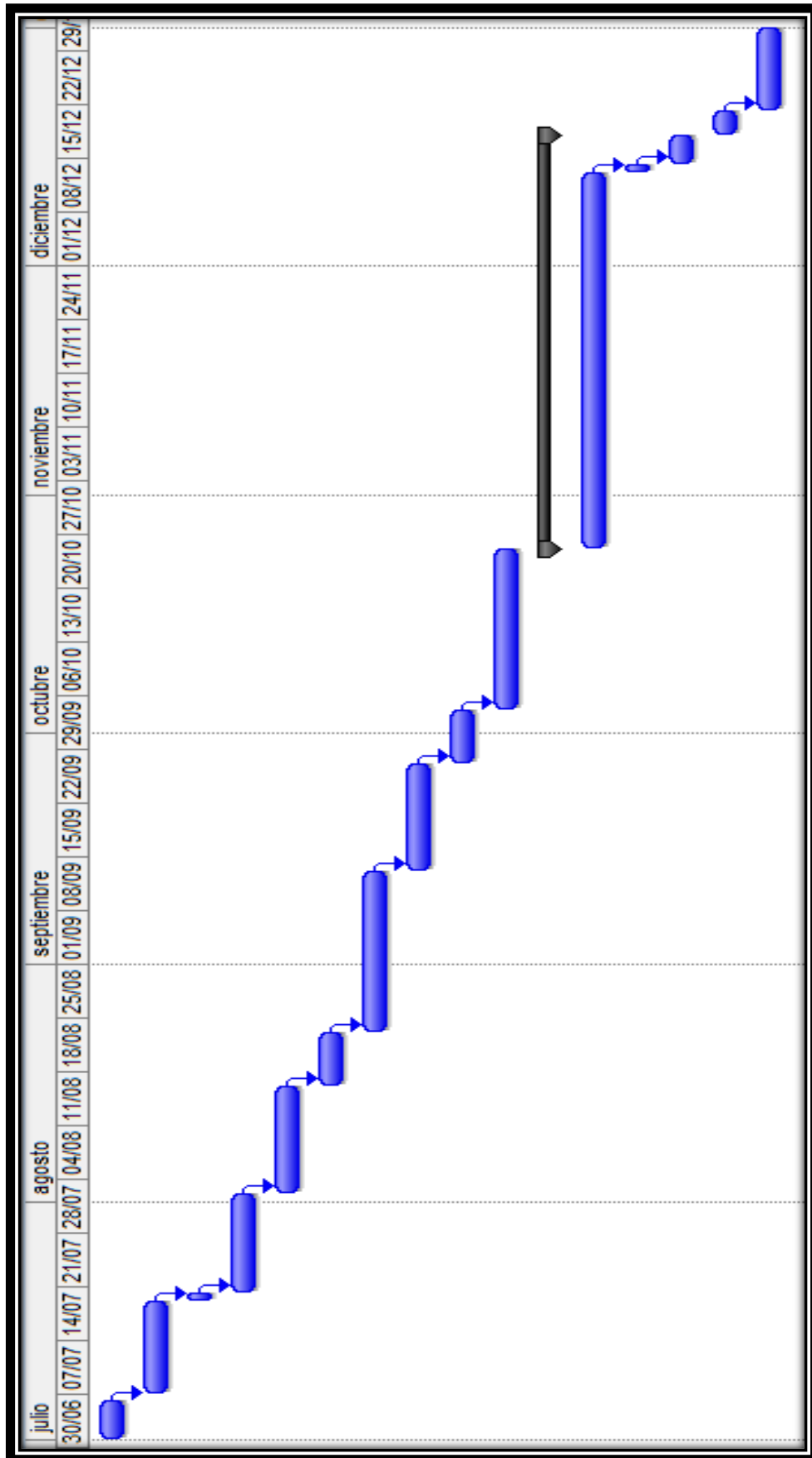


Tabla No. 62 Actividades del Plan de Seguimiento Fase 1

No. de act.	Actividad	Responsable	Fecha de inicio	Fecha de finalización	Estatus
1	Definición de responsabilidades		01/07/13	05/07/13	
2	Investigación sobre especies de microalgas		07/07/13	18/07/13	
3	Decisión sobre especies de microalgas a utilizar (2)		19/07/13	19/07/13	
4	Requisición de especies de microalga escogidas		20/07/13	01/08/13	
5	Investigación sobre técnicas de cultivo		02/08/13	15/08/13	
6	Decisión sobre técnicas de cultivo a utilizar (3)		16/08/13	22/08/13	
7	Diseño de área y prototipos para las técnicas de cultivo		23/08/13	12/09/13	
8	Definición de áreas dentro de la universidad que podrían ser utilizadas para el cultivo		13/09/13	26/09/13	
9	Selección de área a utilizar dentro de UVG (obtención de permisos)		27/09/13	03/10/13	
10	Construcción de prototipos y montaje en área seleccionada		04/10/13	24/10/13	
11	Inicio de fase de cultivo de prueba con especie de microalga disponible		25/10/13	12/12/13	
12	Primera cosecha de fase de prueba		13/12/13	13/12/13	
13	Análisis de cosecha (fin de fase de prueba)		14/12/13	17/12/13	
14	Inicio de nueva cosecha con las dos especies de microalgas adquiridas (Fin de Fase 1)		18/12/13	20/12/13	
15	Desarrollo de Plan para Fase 2 (siguientes 6 meses)		21/12/13	31/12/13	

Dentro de la sección de apéndices del presente módulo, se resume a modo de gráficas, los resultados principales obtenidos durante el desarrollo del mismo, con el fin de facilitar la comprensión de estos. (Ver Apéndice K, dentro del módulo de factibilidad).

VIII. DISCUSIÓN

A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO

1. Identificar las condiciones ideales para el crecimiento de microalgas para obtener una cantidad de biomasa suficiente para la extracción de aceite. Para poder identificar las condiciones a las que las microalgas idealmente crecen, fue necesario primeramente construir un área de trabajo en donde se pudiera colocar las microalgas para su reproducción. En esta área física, se controlaron las variables tales como cantidad de luz suministrada, temperatura, suministro de aire y CO₂.

También fue necesario definir el tipo de alga a trabajar, ya que de esto dependen las condiciones y tipos de medios de cultivo utilizados para la reproducción de las microalgas. Una vez definido el tipo de cepa a trabajar se pudo definir el medio de cultivo a utilizar. Se inició trabajando con una cepa provista por la Universidad del Valle de Guatemala, esta cepa fue utilizada anteriormente en otros trabajos de graduación de la misma universidad; entre ellos una tesis elaborada por el alumno Sergio Manuel Meléndez Mendizabal, el año 2010, titulada "Diseño y construcción de un Fotobiorreactor tubular Continuo para crecimiento de biomasa a partir de microalgas". (Sergio M. Meléndez, 2010)

Esta cepa es presuntivamente *Chlorella*, sin embargo es algo que no se sabe con seguridad porque la misma no ha sido analizada adecuadamente para definir el género de la misma. Conforme avanza el trabajo, se podrá encontrar el nombre cepa UVG, ésta es la forma en que se ha llamado a la cepa en cuestión, ya que no se conoce con exactitud su género. Al observar la cepa UVG en el microscopio se observa que ésta tiene una forma esférica, unicelular y conforme aumenta la densidad celular ésta se agrupa en colonias.

Los medios de cultivo escogidos para trabajar han sido un medio sintético de sales y un fertilizante foliar, las características de los mismos se pueden encontrar en el Apéndice 8 del Módulo A. El medio sintético de sales, el cual consiste en la elaboración de soluciones de sales sugeridas por la ATCC en el catálogo que se presenta en línea, este medio en específico es sugerido para géneros de microalgas *Chlorella* y *Scenedesmus*. (ATCC, 2012) Ambos géneros se encuentran en la teoría como microalgas potenciales para la producción y extracción de aceite. (Hernández, 2009)

El otro medio utilizado es un fertilizante foliar, Nitrofoska® Foliar. Este fertilizante se encuentra en el mercado, es un medio líquido y concentrado; por lo que se ha optado por hacer una dilución del mismo para la preparación del medio.

Se ha decidido hacer esta comparación, debido a la posibilidad de obtención de recursos. Se sabe que lo ideal es utilizar un medio de cultivo propio para microalgas, según su género y necesidad de nutrientes (Robert Andersen, 2005), sin embargo se podría dar el caso que no se cuente con la posibilidad de adquisición de cada uno de los suplementos a agregar dictados por las formulas de medios de cultivo tales como los que presenta la ATCC o bien Robert Andersen en su libro "Algal Culturing Techniques". Por lo que se ha tomado una opción que pueda dar los nutrientes necesarios a las microalgas tal como es el fertilizante foliar. El fertilizante foliar es un medio enriquecido que posee macro y micro nutrientes así como otros elementos que lo enriquecen. La limitante que podría tener el fertilizante foliar, es que todos los nutrientes ya tienen una cantidad específica. Si se varía la concentración se varían todos los elementos, lo que no ocurre con el medio sintético de sales, ya que si en éste se quisiera variar algún componente se agrega más o menos del mismo.

Puesto que existen variedad de tipos de medio de cultivo, se ha escogido trabajar con los dos anteriormente mencionados; con el fin de definir desde la evaluación a nivel laboratorio qué medio de cultivo utilizar al escalar el proyecto. Es importante tomar en cuenta que la forma de cultivo de cada microalga podría llegar a variar, tanto en las condiciones que ésta necesita para desarrollarse como en la cantidad de lípidos que ésta pueda llegar a generar, para su extracción. Sin embargo es importante conocer el comportamiento de una microalga en un ambiente determinado, ya que a partir de esto se

puede empezar a desarrollar un sistema apto para microalgas, donde éstas puedan ser cultivadas, cosechadas y sometidas a extracción de aceite.

La forma de determinar si estas condiciones están siendo favorables o no al crecimiento y reproducción de microalgas, fue por medio de la construcción de una curva de crecimiento donde se compara unidades de células por mililitro en función del tiempo transcurrido en días.

2. Construir un área de trabajo adecuado para el crecimiento de las microalgas, donde se pueda controlar la cantidad de luz a la que el sistema se expone, la temperatura a la que éste se encuentra y cantidad de aire suministrado.

Se preparó un área de trabajo, el cual consiste principalmente de tres elementos: luz, control de temperatura y suministro de aire. El área de trabajo no sólo debe tener el espacio para mantener los cultivos, si no que también debe evitar que los mismos se contaminen.

La luz es suministrada por lámparas de luz blanca de 20W de 120 cm de largo, se utilizan 4 de éstos tubos, colocados dos a cada lado del sistema, los cuales dan un total de intensidad de luz de 3,580 lux. En principio la luz se mantuvo controlada con un reloj temporizador marca Intermatic, el cual se programó para mantener encendida la luz durante 17 horas y apagada durante 7 horas diarias.

La temperatura fue controlada con termómetros ambientales, con el fin de evaluar el rango de temperatura en que el sistema se mantenía. El rango de temperatura al que se mantuvo el sistema fue entre 23 y 27°C.

La cantidad de aire suministrado fue a través de una bomba de aire de marca Maxima, la cual inyecta el aire del ambiente al medio. La bomba de aire se mantiene encendida 24 horas diarias, permitiendo la oxigenación del medio y el suministro de dióxido de carbono que contiene el aire. El suministro de aire se da utilizando mangueras las cuales salen de la bomba y llegan hasta los frascos que contienen el medio con las microalgas. Se le ha colocado un filtro de aire entre la salida de aire de la bomba y la

entrada a los frascos de cultivo, para evitar que el aire suministrado lleve polvo y microorganismos que puedan inhibir el crecimiento de las microalgas.

Los frascos utilizados como el lugar donde se lleva a cabo el crecimiento de las microalgas, también son parte del sistema. Estos deben ser transparentes para el paso de la luz, de un volumen adecuado para estimular el crecimiento de las microalgas. En principio se trabajó con frascos plásticos estériles, con tapadera. Sin embargo se pudo notar que la contaminación en dichos frascos era elevada, ya que las aperturas que éstos tenían para el suministro de aire permitieron la entrada de polvo e insectos, ocasionando contaminación al medio. Por lo que se optó por utilizar frascos de vidrio, los cuales dieron la ventaja que éstos pueden ser esterilizados, tienen una boca menos pronunciada lo que permitió colocar un tapón de hule, el cual solamente tiene dos aperturas, una para la entrada de aire y la otra para la salida. (Ver Fotografía No. 12 y Fotografía No. 16, en las páginas 247 y 249, respectivamente).

El área de trabajo debe ser segura y con facilidad de acceso para asegurar el bienestar de la persona que esté manipulando y haciendo las evaluaciones diarias de los cultivos. También debe ser un área fresca, con la menor cantidad de polvo posible para evitar la contaminación de los medios.

Estas medidas se llevaron a cabo, ya que se está trabajando a nivel laboratorio, por lo que todos los parámetros deben ser debidamente cuidados, ya que un mínimo cambio en ellos puede provocar un resultado completamente diferente. La ventaja de los parámetros controlados, es que son parámetros que se pueden replicar al momento de escalar el sistema a un reactor.

3. Realizar un monitoreo diario de crecimiento de biomasa mediante el uso de la cámara Neubauer para la elaboración de una curva de crecimiento.

Primero fue necesario a determinar las variables que se pueden manipular para un sistema donde se pueda cultivar microalgas. Se encontró en la teoría que los nutrientes, el dióxido de carbono, la cantidad de luz, la temperatura y el pH. Por lo que se desarrolló un método de experimentación donde se reprodujera microalga en un sistema donde se variara el tipo de nutrientes, es decir el medio de cultivo, y la oxigenación proporcionada.

Durante el tiempo de experimentación para este proyecto, se llevó a cabo tres experimentos para el crecimiento celular de las microalgas.

El primer experimento consistió en tener medios de cultivo, expuestos a las mismas condiciones de cantidad de luz, y temperatura. A estos cultivos se les varió la cantidad de aire suministrado y el medio de cultivo utilizado.

Por lo que se tuvo un grupo llamado oxigenado y oxigenado con CO₂, a ambos se les suministró la misma cantidad de aire su diferencia radica en que a los primeros nos se les agregó CO₂ extra; en cambio al segundo grupo se les suministró CO₂ cada 7 días. También se tuvieron otros grupos a los que no se les proporcionó aire, está el anóxico y el anóxico con CO₂, la diferencia entre éstos dos es que al segundo no se le agregó aire pero cada 7 días se le suministró CO₂. El dióxido de carbono utilizado fue burbujeadado directamente del tanque de CO₂ que está en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala, limpiando una manguera con etanol se inyectó CO₂ al medio de cultivo, se realizó periódicamente ya que no se posee un suministro de CO₂ propio para el sistema de microalgas. (Ver Fotografía No. 12, en la pág. No.247). Estos grupos mencionados se tuvieron para los dos medios de cultivo utilizados en éste estudio. (Ver Tabla No. 66, en la pág. No. 212 y Tabla No. 69 en la pág. No. 212).

Para este primer estudio se llevó a cabo alrededor de 20 días, con la cepa UVG. Con ésta prueba de crecimiento de microalgas, se logró determinar una curva de crecimiento y apreciar su tendencia conforme el tiempo. La primera observación a realizar es que las microalgas tienen una curva de crecimiento la cual posee cuatro etapas: la primera etapa es de adaptación donde las microalgas consumen nutrientes pero tienen poca reproducción, luego inicia una etapa exponencial donde las microalgas empiezan a aumentar su densidad alcanzando alta densidad de células rápidamente, luego entran a una fase estacionaria donde la misma cantidad de células intactas son la misma cantidad de células dañadas, y por último tienen un período de muerte.

La segunda observación es que las muestras que menos crecimiento tuvieron fueron aquellas con la variable anóxico ver Gráfica No. 22 en pág. No. 241 y Gráfica No. 27 en pág. No. 243.

En estas gráficas se puede observar que los grupos anóxico con CO₂, para ambos medios, tuvieron mayor aumento de unidades celulares, sin embargo en todos los casos se dio un tiempo de adaptación prolongado. Por lo que las curvas indican que a pesar de ser un estudio a nivel laboratorio, es necesario suministrar aire constantemente para que los cultivos tengan oxigenación y la fuente de carbono.

Se desea evitar el tiempo de adaptación, ya que entre mayor sea éste, más tiempo tardarán las microalgas en empezar a reproducirse en grandes cantidades, lo que indica que tomará más tiempo mantener las algas en reproducción así como el gasto de más recursos.

Tercero, se logró determinar que el mayor rendimiento lo dan las muestras que poseen aeración las 24 horas del día, debido a la dispersión de los datos y a la tendencia de crecimiento que éstas muestras tuvieron. (Ver Gráfica No. 1).

Hasta el momento no se ha querido determinar cuál medio funciona mejor para la microalga, se sabe que ambos proveyeron los nutrientes necesarios, puesto que hubo crecimiento, sin embargo hubo mucha dispersión de datos por lo que no se puede determinar todavía el medio de cultivo a utilizar en una la más grande (reactor). En este estudio tampoco se puede determinar cuáles condiciones han dado un mejor desarrollo, ya que durante ésta experimentación se tuvo mucha contaminación. El medio fue fácilmente contaminado por polvo e insectos. Por lo que determinar cuál contribuyó mejor a la reproducción de microalga no es válido, ya que la misma contaminación pudo haber inhibido al completo desarrollo de la microalga.

4. Utilizar dos medios diferentes, y controlar las variables de temperatura, luz y aire suministrado e identificar el medio que más favorece al crecimiento de las microalgas en base a la biomasa producida en un tiempo determinado.

Para poder determinar el medio más favorable al crecimiento de las microalgas, se realizó un segundo experimento. Para este estudio se procedió a cambiar el tipo de frasco que se utilizó, para evitar la contaminación del medio. Para esto se buscó frascos de vidrio, porque son más duraderos y se pueden esterilizar, lo que evita estar cambiando

de frascos cada vez que se hace un nuevo inóculo. También se procedió a colocar filtros de aire entre la bomba de aire y la entrada de la manguera a los frascos, ya que se desea trabajar con menos contaminación. A los frascos se les puso un tapón de hule, con una entrada para la manguera que ayudará a la oxigenación del medio y una salida, para que no se genere presión dentro del frasco, ésta salida fue tapada con algodón para evitar que contaminación externa entrara al sistema. (Ver Fotografía No. 15 Muestras en Experimento 2 y 3 **Error! Reference source not found.**, en la pág. No. 248)

Una de las razones por las que no se logró un crecimiento parejo entre las muestras de la misma variable del primer experimento, como se puede observar de la Gráfica No. 18 a la Gráfica No. 27 en la pág. No. 239, es que no se realizó el mismo inóculo inicial en todas las muestras, como se puede observar en la Tabla No. 67 en la pág. No. 211 y Tabla No. 70 en la pág. No. 213. La medición se inició con mucha diferencia de unidades celulares por mililitro entre cada muestra por lo que no sería aceptable determinar qué medio de medio de cultivo fue el más efectivo para su crecimiento.

Para evitar dicha dispersión de datos, para la siguiente experimentación se tomó la muestra que estuviera en su fase exponencial y de ésta se tomó el inóculo para todas las muestras a preparar en ésta siguiente fase. Utilizando el nuevo sistema, con los cambios mencionados anteriormente (Ver Fotografía No. 16, pág. No. 249), se procedió a realizar el mismo procedimiento para elaboración del medio. El sistema consistió en suministrar la misma cantidad de luz y aire, que en el primer experimento. Se cambió el volumen de los frascos a 250 mL. En este sistema se tuvo mayor control de la contaminación por polvo e insectos. Esta vez se verificó que el inóculo inicial de alga fuera lo más parecido posible en todas las muestras. Para realizar el inóculo, se homogenizaron las muestras que pertenecen al medio sintético de sales, oxigenados con CO₂, se escogieron éstas ya que en la Gráfica No. 1 se puede observar que para el período que se realizó el inóculo al nuevo sistema ésta fue la muestra que se encontraba en la etapa exponencial de reproducción.

En la Gráfica No. 3, se puede observar la curva de crecimiento obtenida en la segunda fase de experimentación. Con ésta fase se pretendió determinar el comportamiento de la reproducción de microalgas, para las muestras con suministro de

aire, siendo la variable evaluada la oxigenación y la oxigenación más CO_2 ; ya que en la etapa anterior se descartaron las muestras anóxicas. En ésta gráfica se puede observar que en las muestras con medio fertilizante foliar se obtuvo un mayor crecimiento y más rápido que lo que se obtuvo para el medio sintético de sales.

Por esta razón se ha sugerido a la parte del proyecto titulada: “Diseño y Construcción de un Biorreactor Tipo Pileta para el Crecimiento de Algas Unicelulares Oleogénicas”, que se utilice un medio de fertilizante foliar para la reproducción en los sistemas de reactores.

Con el medio fertilizante foliar, se debe tener mayor control del tiempo, ya que como alcanza mayor crecimiento celular en menos tiempo que el medio sintético de sales también inicia la etapa estacionaria antes, por lo que será necesario estar pendiente de la fase de crecimiento, para realizar siguiente inóculo en la etapa exponencial.

Lo que se pretende al inocular en la etapa exponencial de crecimiento del alga, es que en el siguiente paso se iniciará en ésta etapa, por lo que se reducirá el tiempo de adaptación del alga al medio. Se desea reducir lo más posible la etapa de adaptación, ya que es una etapa donde el alga consume muchos nutrientes y se reproduce poco, por lo que podría ocasionar el consumo de todos los nutrientes o la mayoría de ellos antes de llegar a la etapa exponencial de crecimiento y al momento que la células lleguen a ésta etapa tendrán poco alimento por lo que iniciarán su período estacionario más rápido.

De la segunda etapa experimental, se tomó una de las muestras para inocular en el reactor de pileta elaborado por proyecto titulado: “Diseño y Construcción de un Biorreactor Tipo Pileta para el Crecimiento de Algas Unicelulares Oleogénicas”, ésta muestra fue la número 0104 donde el estado de su crecimiento se encuentra en la Tabla No. 89 y en la página 229. Esta muestra se encontró en su etapa exponencial en el día 20 (ver Tabla No. 90, pág. 231), por lo que fue el mejor momento para ser inculada en un volumen mayor para que continuara su crecimiento de una forma más rápida.

Sin embargo los resultados obtenidos por este proyecto, en la inoculación de esta muestra, revelaron que dicha muestra tuvo un tiempo de adaptación de siete días al nuevo ambiente.

Por último, se ha obtenido otra alga, la *Scenedesmus sp.* La ventaja de esta alga es que se sabe el tipo de alga que es, ya que se conoce sus características esenciales y ha sido identificada como un alga potencial para la extracción de aceite (ver Tabla No. **4Error! Reference source not found.**, pág. No. 14). Se ha sometido ésta cepa a las mismas condiciones que la cepa UVG, y se ha realizado el crecimiento de forma paralela asegurando que ambas cepas sean sometidas a las mismas condiciones. El sistema fue el mismo, solamente cambió el tiempo de luz, se dejó de 24 horas. El inóculo que se tomó de la cepa UVG, fue de una muestra homogenizada de todas las muestras anteriormente evaluadas. De la cepa *Scenedesmus sp.* se desconoce su estado de crecimiento para el momento del inóculo.

La Gráfica No. 3 en la página 97 muestra el crecimiento de las cepas *Scenedesmus sp.* (A) y cepa UVG (B). *Scenedesmus sp.* ha respondido adecuadamente a ambos medios de cultivo, a pesar que tuvo un tiempo de adaptación corto (tres días) y ha iniciado la etapa exponencial. La cepa UVG ha continuado su reproducción y ha iniciado en etapa exponencial lo que ha ayudado a que aumente la cantidad de unidades celulares por mililitro de una forma más rápida.

Es importante mencionar que para la cepa UVG el fertilizante foliar sigue siendo el medio con el que se obtiene mejores resultados de crecimiento, mientras que para *Scenedesmus sp.* el mejor crecimiento se lo da el medio sintético de sales.

Es necesario aclarar que en este proyecto, solamente se ha hecho una investigación comparativa entre dos medio de cultivo para evaluar el crecimiento celular del alga. Por lo que se recomienda que se continúe una investigación con otros tipos de medio para lograr determinar cuál es el que provee las mejores condiciones de nutrientes a las algas a tratar, y así poder determinar el mejor medio para el cultivo de algas.

El método utilizado para evaluar el crecimiento de las algas fue a través de la cámara de Neubauer. Este método consiste en el conteo de unidades celulares en un microscopio. Debido a que el conteo lo realiza una persona, el método resulta muy subjetivo dependiendo de la persona que lo realice y de la experiencia que ésta tenga. El error introducido a contar se puede ver reducido por la cantidad de conteos realizados por muestra y por la adquisición de la experiencia. (Ver Apéndice E: Datos calculados, del módulo A, en la pág. No. 218)

Se ha realizado una evaluación estadística de los resultados obtenidos de las lecturas. La media de las lecturas se calculó con el fin tener un valor representativo de las lecturas realizadas. Tanto la desviación estándar (S y S_y) como el coeficiente de variación (CV) y la dispersión (w), son cálculos estadísticos realizados para evaluar la precisión del método.

La dispersión de los datos, se pueden observar desde la Gráfica No.4 hasta la Gráfica No. 7, donde se puede ver graficado el coeficiente de variación de los datos obtenidos en el experimento 2. Los datos no se ajustan a la tendencia lineal graficada, por lo que es aceptable decir que la dispersión de los mismos es alta. Lo que se desea en éstos casos es que se disminuya esa dispersión lo más posible, procurando que sea casi siempre lo mismo, los datos de coeficiente de variación en su mayoría son arriba de 30% y han llegado hasta 60%, por lo que indica que ha faltado precisión en las lecturas. Es posible disminuir éste valor al mejorar la forma de conteo celular mediante el uso de un contador, cambiando el procedimiento o utilizando herramientas de medida más precisas.

Se ha determinado que entre más experiencia tenga la persona en leer los resultados, menos será el error incurrido. Sin embargo el error introducido sigue siendo lo suficientemente alto como para sugerir que se utilice otro método de evaluación de crecimiento celular.

B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA

1. Diseñar y montar un reactor tipo pileta de 15 litros que utilice luz artificial para el crecimiento de biomasa a partir de algas oleogénicas unicelulares.

Para poder diseñar un biorreactor, se involucran varias áreas de la Ingeniería Química, esto para poder determinar que variables serán las que se deben controlar durante la operación y así poder calcular y obtener la información necesaria. Luego se proceder al diseño, construcción y montaje de los equipos.

El proyecto inició con la decisión del tipo de biorreactor que se iba a utilizar, siendo este el biorreactor tipo pileta. Las razones por las que se eligió este tipo de reactor se deben a que este es el reactor con mayor uso en la producción de algas, tanto a nivel industrial como a escala laboratorio. Este diseño es uno de los más eficientes para el cultivo a gran escala. Otra razón es que es el sistema de cultivo base para el crecimiento de algas, teniendo alta producción. El reactor tipo pileta tiene una facilidad de remoción de la biomasa producida y la limpieza, es sencilla. Estas características lo hacen ideal para el cultivo de microalgas.

Otra razón por la que este diseño es ideal para el cultivo de algas, es que a pequeñas escalas, como las que se simularon en el proyecto, no hay necesidad de colocar una fuente extra de CO_2 , ya que el disponible en el ambiente fue suficiente para el crecimiento del cultivo. Este tipo de reactor tiene la ventaja de que su diseño permite una amplia flexibilidad en cuanto a los materiales utilizados para la construcción, entre los que se pueden mencionar: láminas de hierro negro, plexiglás, vidrio, acero inoxidable, concreto con cubierta plástica, entre otros. Además, que con el flujo proporcionado por el agitador de paletas, se obtienen varios beneficios, como: la aireación y circulación del medio para que las microalgas se mantengan suspendidas a lo largo del reactor y no existan puntos muertos en flujo, es decir acumulaciones de alga a lo largo del reactor. Sin embargo, la mayor ventaja para la elección de este tipo de biorreactor, se basa en los costos involucrados en la construcción y montaje, así como en los bajos costos de operación, ya que el consumo eléctrico es la única fuente energética indispensable para la operación.

A pesar de estas ventajas, también se consideraron las desventajas del reactor, que se listan a continuación. Dado el sistema abierto al ambiente del reactor, este está propenso a contaminación de otro tipo de algas, bacterias, insectos, polvo, entre otros. Las pérdidas por evaporación del agua son significativas, por lo que a lo largo del proceso se debe agregar el agua perdida. A grandes escalas, el reactor requiere de grandes extensiones, ya que se tiene la condición que el cultivo no puede tener una profundidad mayor a 0.30 m, de lo contrario la parte más profunda no podrá recibir la cantidad de luz necesaria y no se podrá llevar a cabo adecuadamente la aireación y agitación del medio. Esto conlleva a la sedimentación de la biomasa en el fondo de la pileta. Conforme se requiera un reactor con mayor volumen se deberá construir en el exterior, dejando al reactor propenso al clima. Otro factor es la temperatura a controlar, ya que estando en el exterior esta depende de la temperatura del ambiente, y controlarlo agregaría un costo extra. Por último se puede mencionar que a pesar de que tiene alta producción, tiene baja productividad.

Contemplando las ventajas y desventajas, se decidió utilizar un biorreactor tipo pileta ya que este presenta varias ventajas, entre las más importantes son los costos, facilidad de construcción y flexibilidad de diseño en comparación con otros biorreactores y aún así es capaz de mantener tazas de producción aceptables.

Luego de determinar el tipo de reactor a diseñar, se determinó el medio de cultivo a utilizar, basándose en las pruebas realizadas en otra fase del megaproyecto llamada "Evaluación de diferentes medios de cultivo para el desarrollo de algas unicelulares oleogénicas a escala de Laboratorio". Las proporciones del medio deben de favorecer las concentraciones de Nitrógeno y Fósforo, ya que el primero forma parte esencial de moléculas como proteínas y clorofila y el segundo interviene en los procesos metabólicos para un crecimiento y desarrollo normal de la célula. Se puede decir que la relación óptima entre éste y el Nitrógeno, para el crecimiento de microalgas de agua dulce, debe ser 6-10:4 [P:N]. El fertilizante que se utilizó, Fertimaíz®, cumple con esta condición.

Basándose en los resultados de la fase de evaluación de los medios de cultivo, la relación de este y agua destilada es de 10:1000 (10 ml de fertilizante por cada 1000 mL de agua).

2. Diseño de un reactor tipo pileta con un volumen de 15 L. Establecido la anterior, se determinaron las condiciones para el volumen de operación del biorreactor de pileta de mayor escala, esto con bases teóricas. Se asume un proporción de crecimiento de alga del 55%, lo que indica que solamente el 55% del inóculo cosechado será capaz de reproducirse y el 45% restante es biomasa muerta o que no fue capaz de reproducirse debido a que entró en competencia con otros microorganismos o contaminación. Se asumió una velocidad de crecimiento de $200 \frac{kg}{m^3 \cdot s}$, representado una velocidad teórica esperada para las algas oleogénicas unicelulares.

Teniendo estos datos, se determinó el volumen del reactor, utilizando la ecuación proveniente de la velocidad de crecimiento, siendo este de $0.0135 m^3$, aplicando un factor del 10% de sobredimensionamiento por seguridad, se obtuvo un volumen final de $0.0148 m^3$ (14.80 litros) que aproximado se tomó $0.0150 m^3$ (15.00 Litros).

Contando con el volumen de 15 litros, se determinó que se debía utilizar una escala intermedia entre esta y la de 250 mL, por dos razones: la primera es que se deseaba conocer las modificaciones de diseño de una escala menor para no cometer errores que afectaran a la producción de biomasa. La segunda es que la fase de latencia no durará tantos días.

Para la construcción del reactor de menor escala, se determinó que sería de 5 L, ya que se consideró que era un volumen razonable para luego escalarlo a 15 L, ya calculados. Se utilizó una pecera de vidrio, donada por la Universidad del Valle de Guatemala, la cual tenía dimensiones 0.37 m x 0.18 m x 0.115 m de largo, ancho y altura, respectivamente. Esta pecera tiene un volumen total de 7.66 litros, pero no se iba a utilizar al 100 % de su volumen, sino que se determinó, basándose en la teoría y por factores de seguridad que no sucediera un rebalse ni pérdida por agitación, que la altura del medio a utilizar tenía que estar entre 0.06 y 0.07 m, por lo que se tomó una altura de 0.067 m.

Las dificultades y de proporción del diseño de 5 L fueron: por ser éste un rectángulo, se tenían acumulaciones en las esquinas, ya que en estas se quedaba medio estancado,

optando por un diseño de esquinas suavizadas para el nuevo diseño. Además, que en la industria son con esquinas suavizadas.

Para el cálculo de las dimensiones se dividió la figura en un rectángulo y dos semicírculos, uno de cada lado (ver Figura No. 19, pág No. 254). La teoría indica que, para diseños a pequeña escala, el largo del rectángulo debía de ser igual a 2.5 veces el ancho y que el radio de la semicircunferencia y el ancho del carril serían la mitad del ancho del rectángulo. El volumen del reactor debía de ser el área de esta figura por la profundidad del medio de cultivo, dejando la expresión del volumen en términos del ancho del reactor.

Cabe mencionar que el biorreactor de pileta se mandó a construir a Talleres Hernández, obteniendo un diseño final con dimensiones: 0.20 m de ancho, 0.70 m de largo y 0.25 m alto. La altura del reactor se definió a partir de la altura que debía tener el medio. La altura del medio no puede ser mayor a 0.30 m, porque la luz no podría penetrar el medio, además, que la agitación no cumpliría con sus funciones. La altura del medio fue de 0.11 m, quedando esta altura adecuada a los 0.25 m, ya que se había experimentado en el reactor de 5 L, que a mayor velocidad se tenían pérdidas del medio, debido a que las paredes eran muy bajas. Con las dimensiones se obtuvo un área total de 0.13 m².

3. Diseñar un sistema adecuado de circulación de aire y que evite estancamiento de las algas oleaginosas unicelulares.

Para el sistema de agitación del biorreactor de 5 L, se determinó que se iba a utilizar plexiglás para el agitador de paleta, ya que es un material resistente y su masa no es mucho. Al agitador se le colocó un eje con una varilla, la cual se acopló a un motor individual con caja reductora. Fue necesario hacerle al motor una adaptación a corriente continua, para que se pudiera utilizar las 24 horas. Se realizaron pruebas preliminares con agua del chorro, para determinar que el funcionamiento y adaptaciones del modelo estaban funcionando correctamente. En estas pruebas, se determinó que se debía agregar una pared extra al final del carril en donde se había colocado el motor, ya que la

agitación era muy fuerte y generaba choque de agua con la pared, lo que ocasionaba que el agua se saliera de la pecera.

Al agregar la pared extra con plexiglás, se probó nuevamente, pero el agua se seguía saliendo porque la velocidad del agitador era muy fuerte. Se decidió agregarle un variador de velocidad (potenciómetro) al motor y de esta manera se controlaba la velocidad, evitando que el agua no fuera esparcida al exterior. Otro problema que surgió fue que, el motor se calentaba mucho, ya estaba trabajando las 24 horas, por lo que hubo necesidad de cambiar el primer motor, por un segundo. Al hacer el cambio, se trabajó con una velocidad más baja (25 rpm) evitando el calentamiento rápido. Como fuente de luz, se colocaron dos lámparas fluorescentes, de 3580 lux, una de cada lado de la pecera.

Luego de experimentar en el reactor de 5 L, se determinó el diseño del agitador de paletas del reactor de 15 L. Este agitador es importante ya que brinda la turbulencia necesaria que permite la distribución homogénea y constante del alga a lo largo del reactor y así evitar sedimentación, facilita la asimilación de nutrientes y la captación de luz. Con esto se logra obtener mayores densidades celulares, lo que significa que el volumen del cultivo que debe ser procesado para cosechar la biomasa, se reduce, además se logra tener una temperatura homogénea en todo el medio.

La teoría indica que una mezcla agitada adecuadamente muestra mayor productividad y que con solo un agitador es suficiente para lograr el efecto deseado. Las velocidades de flujo mínima se encuentran entre 20 y 30 cm/s, pero si se logra tener más que esto, será un gran beneficio para el cultivo.

Otra razón por la que la agitación es sumamente importante, se debe a que las microalgas absorben el CO_2 del aire adquirido en la agitación. El principal componente de la biomasa algal y nutriente más importante, es el carbono, suministrado como CO_2 . Éste se convierte en azúcares, por medio de la reducción de Carbono, que posteriormente se transforman en ATP (energía) siendo esta la primera molécula en la que queda almacenada la energía. Luego, esto se utiliza para sintetizar moléculas orgánicas siendo estas: carbohidratos (hasta 55% del alga) proteínas (40-50% del alga) y lípidos (20-30% del alga).

Las algas unicelulares son organismos autotróficos, es decir que son capaces de producir moléculas orgánicas a partir de CO_2 y otras materias primas inorgánicas, que en el caso del cultivo que se maneja fueron los componentes del fertilizante foliar.

Con el reactor y agitador diseñado, se tiene una velocidad de 60 cm/s, estando por encima del flujo mínimo propuesto y comprobando, con el número de Reynolds de 94 845, que si se logra tener un flujo turbulento ya que es mayor a 4000, que es el valor mínimo para que un fluido sea turbulento. Las otras características determinadas del agitador son: frecuencia de 30 rpm, 8 paletas, ya que en la escala menor se tuvo problema con la agitación, por eso se aseguró que se generara la menor cantidad de salpicaduras, colocando el número máximo de paletas permitidas para este tipo de agitadores. De esta manera, al tener más paletas, el movimiento será más uniforme y constante, además, que siempre va a haber una paleta, como mínimo, sumergida en el agua. Para la altura de la paleta, se tenía la condición de quedar 50% dentro del agua y 0.07 por encima del fondo de la paleta, de esta manera se aseguraba que toda el agua era propulsada hacia adelante y no se iba a regresar un oleaje contrario a la dirección deseada, por lo que se definió que debía de ser de 0.08 m. El ancho se definió basándose en el ancho del carril, dejando un espacio de 5 mm de cada lado de la paleta, obteniendo un ancho total de 0.09 m.

Para determinar la potencia requerida del motor, fue necesario calcular el flujo volumétrico, siendo este de $6.56 \times 10^{-3} \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$. También se calculó la densidad del medio, calculando un promedio de la solución con 99.09% de agua (1000 mL) y 0.91% (10 mL) de medio. La densidad del agua es 997.13 kg/m^3 (a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) y la del medio 1250 kg/m^3 , obteniendo una densidad de la solución de 999.43 kg/m^3 . La potencia requerida es de 41.49 W, con un 10% de sobredimensionamiento por seguridad se obtuvo 46 W. Como en el mercado no se consigue un motor los 46 W, se decidió por un motor de 90 W, supliendo lo requerido. El motor es monofásico, ya que la potencia requerida es pequeña, con voltaje de 110V y 6000 rpm. Se definió que se tendría un variador de velocidad, por lo que fue necesario adaptarle un sistema de poleas vareadoras de velocidad.

4. Realizar un monitoreo del crecimiento de las algas oleogénicas unicelulares en el reactor. Para la determinación del crecimiento del cultivo, en ambos reactores, se utilizó el método directo de recuento de células por cámara de Neubauer. Este método, tiene las ventajas que se pueden observar la diferencia de la célula a medida que pasa el tiempo, además que las exigencias del equipo utilizado, son mínimas (microscopio y cámara de Neubauer) pero tiene el inconveniente que se hace un recuento total, por lo que no se distingue las células vivas de las muertas. Además, se analiza poca cantidad de muestra. Por este último inconveniente, se determinó que cada lectura se realizaría en triplicado y la toma de muestras se haría en cuatro puntos del biorreactor, (ver Figura No. 21, pág No. 264) para tomar una muestra más representativa del medio. Los cuatro puntos eran las cuatro esquinas del reactor. Otro factor a considerar es que las mediciones se realizaban, aproximadamente, a la misma hora todos los días.

La primera cosecha de algas en el reactor de 5 L, se realizó con medio decantado de muestras que la fase de evaluación de diferentes medios de cultivo desechó, ya que no se contaba con inóculo suficiente para colocarlo en el reactor. Al observar el crecimiento de cultivo (ver Gráfica No. 33 **Error! Reference source not found.**, pág No. 262), no tuvo fase de latencia y se comportaron de manera similar, a excepción del área 1, que está área fue la que se comportó de diferente manera a las demás. Probablemente se deba a que no recibió la misma cantidad de luz que las otras esquinas. Se puede observar, que las áreas 2, 3 y 4 mantienen un mismo comportamiento. El día que se cargó el reactor, se tuvo una densidad celular promedio de 1.69×10^7 células/mL. El día 19 mostró el máximo crecimiento del cultivo con 3.08×10^7 cel/mL, y el día de la descarga, día 34, se tuvo 1.70×10^7 cel/mL. Se determinó que hubo crecimiento de algas. Para las gráficas de crecimiento se graficó en el eje x el tiempo (días) y el eje y el logaritmo natural de la densidad celular, ya que de esta manera se visualiza mejor el crecimiento.

Al realizar la primera prueba de crecimiento en el reactor y que se obtuvieron resultados como se esperaba según la teoría, se continuó realizando los cálculos de dimensionamiento del reactor de 15 L. Ya teniendo el reactor de 15 L, se puso en marcha con agua del chorro para verificar que el funcionamiento fuera correcto, además sirvió de limpieza del reactor.

Una semana antes que se pusiera a trabajar el reactor de 15 L, se colocó un inóculo de 200 mL del cultivo inicial en el reactor de 5 L, para permitir que el alga se adaptará y que la fase de latencia (lag) fuese la más corta posible. El alga que se utilizó no se sabía con seguridad su tipo, por lo que fue llamada cepa UVG. En la Gráfica No. 35 en pág. No.263, se observa que en el día 8, el cultivo estaba iniciando la fase exponencial, siendo este el momento idóneo para trasladar el cultivo a un volumen mayor. Se puede observar que la fase de latencia tuvo una duración de 7 días, representando bastante tiempo. Esto probablemente se deba a dos razones: el medio fertilizante que se utilizó en el reactor de 5 L no era el mismo con el que el alga había crecido en el inóculo de 250 mL, por lo que le tomó 7 días en adaptarse al nuevo medio y la otra razón podría ser que hay un cambio muy grande de volumen entre 250 mL y 5 L, necesitando un volumen intermedio para el crecimiento. Se propone que sea 1 ó 2 L. La primera razón se tendría que comprobar trabajando desde el inóculo de 250 mL con el mismo fertilizante y observar si la fase de latencia en el reactor de 5 L se comporta de la misma manera que este resultado. Si se comporta igual, entonces se tendría que agregar el volumen intermedio para el crecimiento. La densidad celular promedio al inicio del cultivo fue de 3.23×10^6 cel/mL y al final de 6.65×10^7 cel/mL.

Se preparó 10 L de medio nuevo para agregarlo a los 5 L provenientes del reactor. El primer día, el inóculo tuvo una densidad celular de 4.16×10^7 cel/ mL. En la Gráfica No. 8 en pág. No. 105, se puede observar que la fase de latencia fue mucho menor en comparación con el reactor de menos escala, siendo esta de 3 días. Entre los días 3 y 7, el cultivo estaba en la fase exponencial llegando a densidad celular de 8.04×10^7 cel/mL. Del 7^{mo} día en adelante, el cultivo se mantuvo en fase estacionaria y se descargó para su posterior extracción de aceite, llegando a una densidad celular de 8.13×10^7 cel/mL. Las cuatro áreas del reactor se comportaron de manera similar, con una pequeña excepción que en la fase estacionaria del área dos, se obtuvo un crecimiento levemente menor a las demás áreas.

A este cultivo, se le monitoreo la temperatura y el pH cada vez que se determinaba la densidad celular. En la Gráfica No. 33 en la pág. No. 262, se puede observar que la temperatura estuvo entre 23.90 y 24.90 °C, estando los primeros seis días por arriba de la temperatura promedio y posterior a esto se mantuvo por debajo del valor promedio. Los

valores se mantuvieron dentro del rango óptimo de temperatura, siendo éste de 17.00 °C a 26.00 °C y cumpliendo con la condición de mantenerse entre $\pm 2^\circ\text{C}$, que permite alcanzar una estabilidad. En la Gráfica No. 34 en la pág. No. 263, se puede observar el comportamiento del pH, que el máximo fue de 7.5 y el mínimo de 7.2, lo cual muestra que a lo largo del análisis el cultivo absorbió dióxido de carbono, presentándose mayor pH que al inicio del crecimiento. Es importante mencionar que se mantuvo dentro del rango óptimo de pH, que es de 7 a 9, no dejando que el medio fuera tan básico o ácido, ya que de lo contrario causa muerte de las algas.

5. Realizar el balance de masa y energía del reactor. Para el balance de masa y energía se consideraron las entradas al reactor y las salidas, que se consideraron al momento de descargar el reactor. Como entradas se tiene una alimentación de 2.46 g de biomasa seca, 14.99 g de medio de cultivo y para la masa de entrada de CO₂ se utilizó la relación mencionada en los antecedentes obteniendo 8.82 g CO₂, la potencia de la lámpara de 14.00 W y la del motor de 90.00 W. Las salidas fueron 4.82 g de biomasa seca, 14.29 kg de medio de cultivo y para el O₂ liberado, se tomó un promedio de la relación mencionada en los antecedentes teniendo 8.24 g oxígeno liberados.

Al obtener los datos del balance de masa, se pudo determinar el rendimiento del reactor; esto se refiere a la producción de masa por unidad de volumen, que fue de $0.32 \frac{g}{L}$. También se pudo calcular la productividad; esto se refiere al rendimiento por unidad de tiempo, que fue de $0.02 \frac{g}{L \cdot día}$ y la tasa de crecimiento en los 13 días fue de $2.85 \frac{g}{día m^2}$.

Se aplicó dos análisis estadísticos a los datos, siendo estos: estadística descriptiva del monitoreo y análisis de correlación entre las variables: tiempo, densidad celular, temperatura y pH.

Dentro de las estadísticas descriptivas más importantes se tiene: la media para la densidad celular de 6.56×10^7 cel/mL, desviación estándar de 2.14×10^7 , mediana de 7.74×10^7 cel/mL, nivel de confianza al 95% de 1.79×10^7 . De esto se puede decir que la mayoría de los datos se encuentran en un rango de media \pm límite de confianza, por lo

que la distribución de estos esta cercano a lo normal. Para el pH se tiene una media de 7.37, desviación estándar de 0.11, mediana de 7.35 y nivel de confianza al 95% de 0.09, mostrando una distribución asimétrica positiva, ya que media > mediana. Para la temperatura se tiene una media de 24.38 °C, desviación estándar de 0.45, mediana de 24.30 °C y nivel de confianza al 95% de 0.38, teniendo una distribución asimétrica positiva.

El análisis de correlación muestra que entre los días y el crecimiento celular se tiene un coeficiente de correlación de 0.90, entre los días y el pH de -0.94, entre los días y la temperatura de -0.81, entre el crecimiento y el pH de -0.79, entre el crecimiento y la temperatura de -0.75 y entre el pH y la temperatura de 0.77. A medida que el coeficiente se acerque a 1, indicará una fuerte correlación, ya sea con dirección positiva o negativa. La relación lineal más fuerte positiva es entre los días y el crecimiento celular.

6. Determinar los costos del reactor de 15 litros. El costo del biorreactor de 15 L, en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala, fue de Q2,113.50, siendo la pileta el elemento más caro con un costo de Q 1,950.00. El costo detallado se puede ver en la Tabla No. 103 Costo detallado del montaje del bioreactor de pileta de 15 L en la pág. No. 268.

Como fuentes de error se tiene que en algunas tomas de muestras, el fondo y paredes de la pileta era raspado con la pipeta, afectando el conteo celular y se debía repetir la toma de muestra. Otra fuente de error se debe al mal conteo celular debido al enfoque de la cámara de Neubauer. También se puede mencionar que en el segundo y tercer día de operación del biorreactor de 15 L, dejó de funcionar el motor, quedando sin agitación el medio.

Al obtener los resultados finales, se determinó que se cumplieron los objetivos, tanto principales como específicos, en el diseño de un biorreactor tipo pileta en el que se pueda hacer crecer biomasa, monitoreando el crecimiento con un método directo.

C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO

1. Comparar la proporción obtenida en la extracción de aceite a partir de algas unicelulares oleogénicas por medio del método Bligh & Dyer y el sistema de extracción Soxhlet con ultrasonido como pre-tratamiento.

Para poder realizar una comparación adecuada entre los métodos de extracción fue necesario que el pre-tratamiento de las muestras se diera en la misma manera, es por esto que se trató con 100mL de muestra y 5 minutos de pre-tratamiento a las condiciones permitidas por el equipo (ciclo y proporción de amplitud). Luego, cada muestra fue sometida a cualquiera de los métodos de extracción.

Para la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán con el método Soxhlet y éter diisopropil como solvente, se obtuvo una masa de extracto de 1.0097 ± 0.0001 g, lo que muestra una proporción de extracción de $19.2801 \pm 0.0019\%$. Mientras que utilizando hexano como solvente, se obtuvo una masa de extracto de 0.9128 ± 0.0001 g con una proporción de $18.2779 \pm 0.0020\%$. Sin embargo, estos resultados no pueden tomarse en cuenta ya que la masa que se utilizó para la prueba no tenía un pre-tratamiento igual, por lo tanto, se desconoce la influencia real del pre-tratamiento para esta parte.

Para la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán, pero con el método de Bligh & Dyer, el pre-tratamiento se realizó a distintas amplitudes (60, 80 y 100%) para conocer si esto tenía alguna influencia con la proporción de extracción. Para la primera amplitud (60%) se obtuvo una masa de extracción de $0.0219 \pm 1.699E-05$ g, lo que representa una proporción del $4.3794 \pm 0.6908\%$. Para una amplitud de 80% se obtuvo un extracto de $0.0276 \pm 2.927E-06$ g, con una proporción de extracción de $5.5195 \pm 0.1090\%$. Para la muestra que se trabajó a 100%, se obtuvieron $0.0250 \pm 2.000E-06$ g de extracto, lo que indica una proporción de $4.9835 \pm 0.0841\%$. Como puede notarse, hay un aumento de la proporción de extracción trabajando a 80% de amplitud, sin embargo, esto no puede asegurarse debido a que otros factores pueden influir en esto dado que la muestra es muy pequeña (0.5g de masa seca).

Para las extracciones, también se consideró el método Bligh & Dyer modificado. Para esta prueba, las muestras fueron sometidas a distintas amplitudes de trabajo (60, 80 y

100%). Se obtuvieron $0.0154 \pm 4.247E-06$ g de extracto con una proporción de $3.0608 \pm 0.1620\%$ para la muestra a 60% de amplitud. Para la siguiente amplitud, se obtuvieron $0.0102 \pm 1.013E-05$ g de extracto con una proporción de $2.0336 \pm 0.4000\%$. Por último, al trabajar con 100% de amplitud se obtuvo un $0.0068 \pm 2.467E-07$ g de extracto, lo que muestra una proporción de $1.3817 \pm 0.0013\%$. Para éste método, la mayor proporción se dio al trabajar con 60% de amplitud, sin embargo, deben realizarse más pruebas que muestren resultados similares.

Como ya se mencionó anteriormente, se trabajó con dos cepas: microalgas del Lago de Amatitlán y *Scenedesmus sp.* Debido a que la biomasa con la que se contaba no era suficiente para realizar varias pruebas y por cuestión de tiempo, se decidió analizar únicamente la proporción de extracción a una sola amplitud y se eligió trabajar a las condiciones máximas permitidas por el procesador ultrasónico UP100H (ciclo de 1 y amplitud de 100%).

Para la cepa *Scenedesmus sp.* con el método Soxhlet y éter diisopropil como solvente se obtuvo un $0.0604 \pm 2.178E-05$ g de extracto, lo que indica una proporción de $1.6628 \pm 0.0238\%$. Al utilizar hexano en lugar del éter, se obtuvo una masa de $0.7109 \pm 6.337E-04$ g con una proporción del $17.0927 \pm 6.4807\%$. No obstante, una proporción alta, como la que muestra el hexano, no garantiza que se obtenga el aceite deseado para su conversión a biodiesel. Las proporciones pudieron verse afectadas debido a la cantidad de biomasa seca con la que se realizó la prueba, ya que el mínimo de trabajo es de 10 g y se trabajó con masas de 3 a 5 g.

Con el método Bligh & Dyer, trabajando a las mismas condiciones, se obtuvo un 0.0222 ± 0.0007 g de extracto, lo que representa un $4.0348 \pm 22.6823\%$ de proporción. Mientras que al utilizar el método modificado se obtuvieron 0.0111 ± 0.0006 g de extracto, lo que representa un $1.9894 \pm 1.0018\%$ de proporción.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos de la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán, se puede notar que las proporciones de extracción son similares al trabajar al 100% y esto puede ser un indicador de que esta amplitud no es la mejor para realizar las extracciones. Además, el método Bligh & Dyer muestra una mayor proporción que el método modificado. No es posible comparar la proporción de extracción del método

Soxhlet para las muestras del Lago de Amatitlán con los otros dos debido a que las condiciones del pre-tratamiento no fueron iguales y para la cepa *Scenedesmus sp* resulta mejor el método de extracción tipo Soxhlet, en cuanto a proporción de extracción. Esto se debe a que en el método soxhlet la muestra analizada se mantiene más tiempo en contacto con el solvente permitiendo una mejor extracción por medio de los ciclos habituales del sistema Soxhlet, en donde el solvente se condensa y se vaporiza, aparte que el método Soxhlet se realiza a una alta temperatura a la cual el solvente se calienta permitiendo la vaporización y los ciclo teniendo una mejor interacción con las moléculas siendo esta una de las razones del éxito de este método.

2. Determinar la efectividad del pre-tratamiento con ultrasonido por medio de curvas de rompimiento de la pared celular de microalgas oleogénicas. Para realizar la prueba con ultrasonido se requirió un procesador ultrasónico para laboratorio UP100H de Hielscher Ultrasound Technology, el cual trabaja a 30 kHz de frecuencia, amplitudes de 20 a 100% y ciclo de 0 a 1. Estudios realizados previamente para la extracción de aceite en microalgas han trabajado con frecuencias entre 19 y 300 kHz, por lo que el equipo está dentro del rango e indica que puede ser capaz de romper la pared celular.

El equipo cuenta con transductores que utilizan la excitación eléctrica para generar ultrasonido, la cual es transferida al medio líquido por medio de los sonotrodos (MS Micro tip). El manual cuenta con una tabla de información (ver Tabla No. 117 en la sección de Apéndice Módulo C, página 289) acerca de cada sonotrodo que puede utilizarse con el procesador de ultrasonido, tal como la amplitud máxima que puede alcanzarse, la densidad acústica y la máxima profundidad a la que puede sumergirse cada uno. En este caso, el equipo incluía dos sonotrodos (MS Micro tip 3 y 10), y se utilizó el sonotrodo MS Micro tip 3 debido a que permite tener una amplitud (180 μ m) y densidad acústica (460W/cm²) mayor a la que presenta el sonotrodo de 10mm., lo que favorece a que se tenga una posibilidad mayor de rompimiento celular.

De acuerdo a las condiciones de trabajo del equipo, es necesario que las muestras se trabajen en forma acuosa. Para hacer más eficiente el método de secado posterior y tener más control sobre el pre-tratamiento, se decidió trabajar con soluciones acuosas que tuvieran una masa de microalgas mayor a la cantidad de agua presente.

Para determinar la curva de rompimiento se utilizaron dos muestras de microalgas del Lago de Amatitlán y dos muestras de la cepa *Scenedesmus sp.* de 100 mL cada una. Se decidió que las muestras serían de 100mL debido a que se contaba con los frascos plásticos con ese volumen, además, se consideró que al tener un menor volumen, el tratamiento sería más homogéneo en toda la muestra. Esto se tomó en cuenta luego de realizar unas pruebas con muestras provenientes del Lago de Amatitlán.

Como se muestra en la Fotografía No. 7, durante el tratamiento se notaba un cambio en la biomasa que estaba en la parte baja, mientras que la biomasa que estaba en la parte superior no mostraba mayor cambio. Después del tratamiento por 5 minutos se pudo notar un cambio de color en la parte inferior y en ciertas áreas pequeñas más arriba. Además, la formación de burbujas debido a la cavitación no fue apreciable con facilidad.

Fotografía No. 7 Muestra de microalga del Lago de Amatitlán antes y después del tratamiento con ultrasonido



Al trabajar con muestras más pequeñas se logró que la potencia acústica del ultrasonido fuera homogénea para toda la muestra. Durante el tratamiento se notó movimiento constante de la biomasa, se notó el cambio de coloración en toda la muestra, hubo un burbujeo constante (ver Fotografía No. 9) y apareció en menor tiempo comparado con las muestras anteriores.

Luego de establecer el tamaño de la muestra que se utilizaría, se realizó la prueba, la cual consistía en tomar una muestra con pipeta del frasco de 100 mL y hacer una lectura en el microscopio con la ayuda de la cámara de Neubauer-Improved cada cierto tiempo durante el pre-tratamiento.

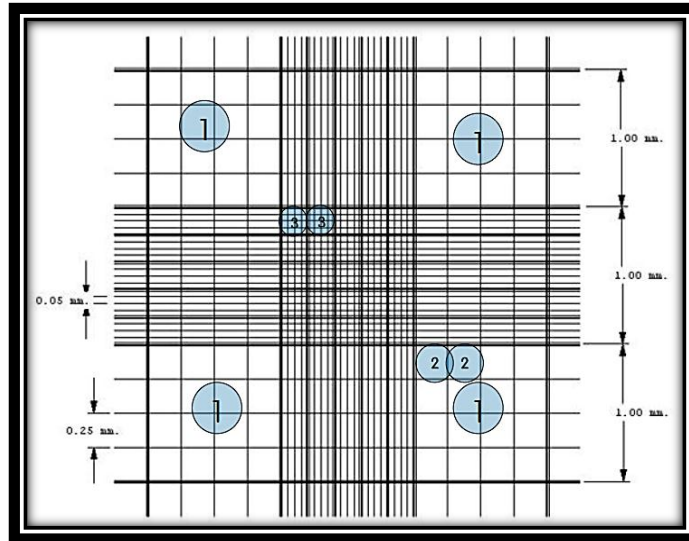
La cámara Neubauer consiste en una placa gruesa de cristal de 30 x 70mm y unos 4mm de grosor; pueden contener 1 ó 2 zonas de conteo, que es lo más común. La retícula completa mide 3mm x 3mm y está subdividida en 9 cuadros de 1mm de cada lado (ver Figura No. 15 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer-Improved en la página 165). Como no todas las muestras son de igual tamaño de célula entonces se requiere de más o menos líneas de referencia para realizar el conteo. Es por esto que el cuadro central se divide en 25 cuadros medianos (0.25mm x 0.25mm) y 400 cuadros pequeños.

En el caso de las microalgas que se utilizaron (>10 micrometros) se realizó el conteo en los cuadros medianos marcados como No.3 en la Figura No. 15.

Para la muestra del Lago de Amatitlán fue necesario realizar diluciones de 1:10mL para realizar una lectura adecuada. Sin embargo, de acuerdo al Manual de Uso de la cámara Neubauer-Improved, es necesario que la muestra esté entre 250,000 células y 2.5 millones de células por mililitro. Fuera de este rango se tiene muestras poco representativas y por lo tanto, la lectura no es fiable o la probabilidad de cometer errores al momento del conteo aumenta y esto también afecta la fiabilidad del resultado.

A pesar de esto, determinar la concentración de células siempre tiene un error de hasta 20% y 30% debido a cómo se toma la muestra, que la muestra no sea lo suficientemente representativa, errores de volumen de muestra dentro de la cámara, errores de lectura, entre otros. Para determinar la concentración de células por mililitro es necesario conocer las dimensiones de la cámara. La siguiente ilustración muestra esto para la cámara que se utilizó en la prueba.

Figura No. 15 Detalle de la rejilla de una cámara de Neubauer-Improved



Al conocer que cuadro es en el que se está haciendo el conteo, puede determinarse la concentración por medio de la siguiente fórmula:

Ecuación No. 1 Cálculo de la concentración

$$\text{Concentración} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{número de células}}{\text{volumen (mL)}}$$

Como ya se mencionó antes, para las muestras del Lago de Amatlán fue necesario realizar diluciones de 1:10mL por lo que el cálculo varía un poco, como se muestra en la siguiente fórmula:

Ecuación No. 2 Cálculo de la concentración si se aplicó una dilución

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \times 10,000}{\text{número de cuadros} \times \text{dilucion}}$$

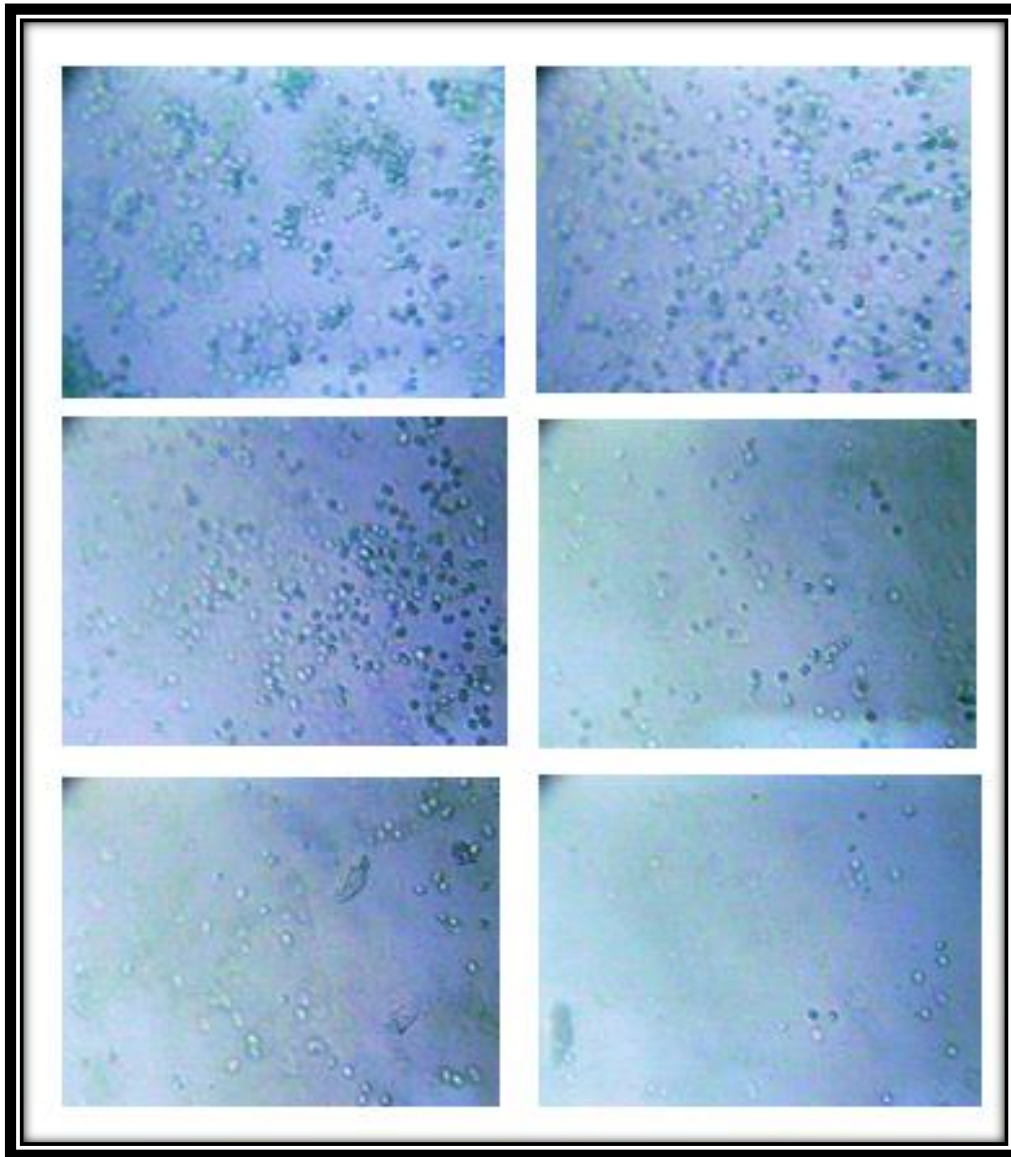
Donde el número de cuadros es la cantidad de cuadros grandes (No.1 en la Figura No. 15), la dilución se coloca en decimales y el 10,000 resulta del volumen de cada cuadro grande.

Aunque no fue posible observar células rotas bajo el microscopio después del pre-tratamiento, si pudo notarse que el número de células intactas iba disminuyendo conforme se aplicaba el ultrasonido por más tiempo. Esta disminución indica que, efectivamente, existe un debilitamiento y, en algunos casos, la ruptura de la pared celular. Las curvas de rompimiento, entonces, se basaron en el número de células que se tenía inicialmente antes de iniciar el pre-tratamiento y después de realizar el conteo con la cámara de Neubauer Improved, se determinó el número de células dañadas.

Con la microalgas del Lago de Amatitlán se obtuvo la curva que se muestra en la Gráfica No. 9 de la sección de Resultados, en la que se observa la cantidad de células dañadas después de distintos tiempos de exposición al ultrasonido para las dos muestras. Para éstas muestras, la lectura comienza a los 10 minutos de exposición ya que las fotos obtenidas con el microscopio no pudieron ser analizadas debido a un error de enfoque.

Con la curva se puede notar que el número de células iba variando conforme el tiempo y que iba disminuyendo. Para la Muestra 1, la disminución de las células no fue tan notoria como para la segunda muestra, la cual muestra una disminución constante después de los 30 minutos de pre-tratamiento. En la siguiente fotografía se muestra la disminución de las células para los tiempos de pre-tratamiento de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha de 0 minutos, 5 minutos, 20 minutos, 40 minutos, 50 minutos y 70 minutos. Estos tiempos se eligieron para mostrar los cambios más significativos durante la prueba.

Fotografía No. 8 Muestra de microalgas del Lago de Amatitlán a distintos tiempos de exposición de ultrasonido



La proporción máxima de ruptura (57.14%) que se presentó durante el pre-tratamiento con las microalgas del Lago de Amatitlán fue alrededor de los 70 minutos. Se dieron picos de proporción a los 20 minutos de exposición de 45.83% (Muestra 2) y de 40.00% (Muestra 1) a los 60 minutos. A pesar de estos resultados, es necesario realizar más pruebas para determinar los picos de las muestras. Algunas variaciones pudieron darse debido a que la primera muestra se trabajó con unas horas de diferencia después de haberse traído las microalgas del Lago de Amatitlán y la segunda muestra se trabajó una semana después.

Como era de esperarse, la temperatura de la muestra se eleva durante la prueba debido al ultrasonido. Para estas muestras, la temperatura se elevó en 17°C en los 70 minutos que duró el pre-tratamiento de la Muestra 2. Para la Muestra 1 no se tomaron temperaturas durante el proceso por lo que no se tienen datos. Otro de los posibles resultados por el rompimiento de las células es el cambio de color, como el visto en la Fotografía No. 7. Este cambio de coloración es más notorio en la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán que en la *Scenedesmus sp.*, posiblemente porque la cepa tiene algún pigmento que al romper la célula sale a la solución.

Como se ha mencionado anteriormente, el pre-tratamiento por medio de ultrasonido se basa en la cavitación para lograr el debilitamiento y ruptura de las células. Esto pudo verse claramente después de los 5 minutos de tratamiento como se muestra en la siguiente

Fotografía No. 9 Cavitación en una muestra de microalgas del Lago de Amatitlán después de 5 minutos de tratamiento ultrasónico



Con la cepa *Scenedesmus sp.* se obtuvo la curva en la Gráfica No. 12 de la sección de Resultados (página 112), en la que se muestra una relación más cercana entre los datos de ambas muestras. Esto puede deberse a que las muestras se trabajaron el mismo día. El número de células intactas disminuye y aunque el número de células que mueren también decrece, esto puede deberse a que las condiciones a las que trabaja el procesador ultrasónico ya no permiten seguir rompiendo o debilitando la pared celular y aunque se siga trabajando por más tiempo, no se tendría mejores resultados. Es por esto que debería de hacerse el estudio a distintas condiciones (ciclo y amplitud) y continuar

con el pre-tratamiento por más tiempo para chequear si hay algún otro cambio, sobre todo en la extracción de aceite.

En comparación con las eficiencias de ruptura de las muestras de microalgas del Lago de Amatitlán, las eficiencias para la cepa *Scenedesmus sp.* no bajaron del 50% en promedio. Los picos de ruptura para esta cepa fueron a los 5 minutos para segunda muestra con un 88.46% y a los 10 minutos con 80.00%.

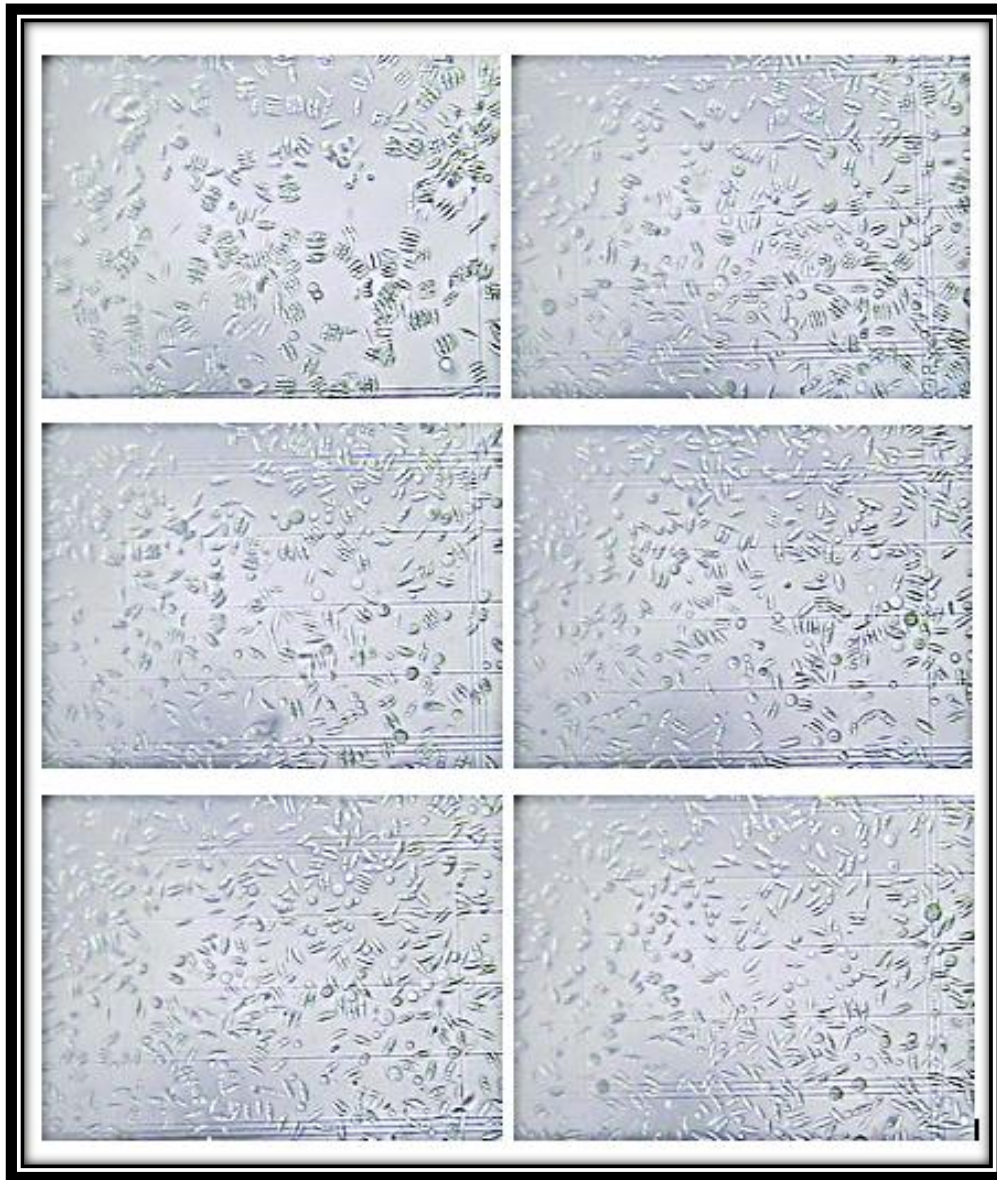
Para esta muestra, la cavitación no fue fácilmente vista hasta los 17 minutos aproximadamente y no hubo cambio de color en ningún momento. Como puede apreciarse en la siguiente fotografía. El cambio de temperatura fue notorio para ambas muestras con aumentos de 15°C y 21°C respectivamente (Ver Gráfica No.12 en la página 112).

Fotografía No. 10 Muestra de la cepa *Scenedesmus sp.* antes y después del pre-tratamiento ultrasónico



A continuación se presenta algunas fotografías que muestran la cantidad de células después de la exposición a ultrasonido. Tomando de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha, se muestra el conteo para la cepa sin tratamiento, a los 5 minutos, 10 minutos, 50 minutos, 60 minutos y 70 minutos. Es preciso notar que aunque no se ve una disminución de células a simple vista, lo que cuenta es la célula completa (como se muestra en la Fotografía No. 32, además de que debe tenerse precaución de no contar a los flagelados.

Fotografía No. 11 Muestra de microalgas del Lago de Amatitlán a distintos tiempos de exposición de ultrasonido



3. Obtener el tiempo óptimo de pre-tratamiento si se trabaja con las condiciones máximas que permite el equipo (ciclo y amplitud). Una vez se determinaron las curvas de rompimiento celular para cada muestra de microalgas, se revisaron los puntos en los que se tuvieron mayores eficiencias, de esta manera se puede conocer en qué momento se pueden lograr los mayores beneficios del pre-tratamiento y se evita emplear más tiempo y otros recursos.

En este caso, la extracción más eficiente resultó ser del $19.2801 \pm 0.0019\%$ para la muestra de microalgas del Lago de Amatitlán y de $17.0927 \pm 6.4807\%$ para *Scenedesmus sp.* trabajando a un ciclo de 1 y una amplitud de 100% en 30 minutos y entre 5 y 10 minutos para cada cepa respectivamente. Lo que muestra que el ciclo también influye en la eficiencia de extracción. No obstante, debe conocerse más acerca de las condiciones de trabajo y la cepa.

De acuerdo a un estudio realizado con la microalga *Nannochloropsis sp.* se determinó que las condiciones óptimas de tiempo y temperatura eran de 35°C y 8 minutos para n-Hexano con el método Soxhlet. Para este trabajo se llegaron a temperaturas similares y el tiempo de mejor eficiencia de extracción resultó ser mayor para las muestras que para la *Nannochloropsis sp* probablemente porque su estructura es distinta.

4. Determinar el costo de utilizar ultrasonido como pre-tratamiento para cada uno de los métodos. Una vez se conoció el tiempo óptimo de pre-tratamiento para cada tipo de cepa, se calculó el costo que se tendría para obtener un gramo de extracto con cada uno de los métodos, lo que se muestra en la Tabla No. 22 Costos de utilizar ultrasonido como pre-tratamiento para la microalga del Lago de Amatitlán y *Scenedesmus sp.*, de acuerdo al extracto obtenido en las pruebas realizadas de la sección de Resultados (página 115). Estos cálculos se realizaron basados en la masa de extracto obtenida experimentalmente.

Para el método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente se obtuvo un costo de Q0.40 por gramo y de Q0.44 por gramo si se utiliza hexano como solvente. Estos datos si se trabajara el pre-tratamiento durante 30 minutos y con la cepa del Lago de Amatitlán.

Para la cepa *Scenedesmus sp.* con el método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente, el valor resultante fue de Q2.21 por gramo y de Q0.19 por gramo si se utiliza hexano como solvente. Estos costos serían así al trabajar por 10 minutos el pre-tratamiento ultrasónico.

Con el método Bligh & Dyer, el costo de obtener un gramo de extracto sería de Q16.07 para la cepa del Lago de Amatitlán y de Q6.01 para la cepa *Scenedesmus sp.* trabajando a 30 y 10 minutos respectivamente.

El método más caro resultó ser el Bligh & Dyer modificado, el cual mostró costos de Q37.04 para la cepa del Lago de Amatitlán y de Q12.01 para la cepa *Scenedesmus* *sp* trabajando a 30 y 10 minutos respectivamente.

Para los costos debió tomarse en cuenta la eficiencia de extracción y la cantidad de biomasa seca que cada uno requiere. A pesar de esto, el método Bligh & Dyer modificado mostró los costos de pre-tratamiento más altos y el método Soxhlet los precios más bajos.

Ahora bien, si no se conoce la eficiencia de extracción sino sólo el volumen de muestra a utilizar entonces se determinó que por cada litro de muestra tratada se tendría un costo de Q400.02 para la cepa del Lago de Amatitlán y de Q133.34 para la cepa *Scenedesmus sp.*, trabajando a las condiciones óptimas antes mencionadas.

5. Proponer una metodología de trabajo para pruebas futuras en el pre-tratamiento de ultrasonido. De acuerdo a la experimentación realizada y los resultados obtenidos, se pretende establecer una mejor técnica para el pre-tratamiento ultrasónico, como sigue:

Materiales:

- Frascos plásticos de 100mL de capacidad
- Pipeta de 1mL
- Beakers
- Agua destilada

Equipo:

- Procesador UP100H de Hielscher Ultrasound Technology.
- Microscopio

Procedimiento:

Preparación de la muestra

- a. Tomar la cantidad necesaria para una muestra de 100mL.
- b. Asegurarse que sea una solución acuosa.

- c. Preparación del equipo.
- d. Verificar que el equipo esté completo (base de metal, clamp, sonotrodos, procesador para laboratorio, base de plástico, herramienta para desarmar el procesador).
- e. Armar la base de metal y asegurar la rosca en la parte inferior.
- f. Colocar la base plástica con el procesador y ensamblarlo a la base de metal. Verificar que esté seguro.
- g. Conectar el equipo.
- h. Colocar la muestra y asegurarse de llevar el sonotrodo a la distancia permitida de acuerdo al Manual (ver Apéndice – Tabla No. 117 en la página 289).
- i. Apachar el botón de encendido y si quiere dejarse trabajando solo entonces se aprieta el botón negro de seguro y luego, puede soltarse el botón de encendido.

Muestreo y determinación de la concentración

- a. Tomar dos muestras antes de comenzar con el pre-tratamiento.
- b. Colocar las muestras en la cámara de Neubauer Improved y tomar la lectura de ser posible, de lo contrario realizar la dilución empezando por 1:10mL y leer de nuevo. Asegurarse que se está leyendo en los cuadros grandes (No. 1 – ver Figura No. 15 página 165)
- c. Realizar las pruebas a mismo ciclo (20 a 1) pero distinta amplitud (10 – 100%) durante 90 minutos, tomando muestras cada minuto durante los primeros 5 minutos, muestras de 5 minutos hasta llegar a los 20 minutos y luego cada 10 minutos. Realizar los muestreos en duplicado tratando de tomar de distinto lado cada vez. Tomar la temperatura cada vez que se hace un muestreo.

- d. Realizar las pruebas con la misma amplitud (10 – 100%) pero a distinto ciclo (20 a 1) durante 90 minutos, tomando muestras cada minuto durante los primeros 5 minutos, muestras de 5 minutos hasta llegar a los 20 minutos y luego cada 10 minutos. Realizar los muestreos en duplicado tratando de tomar de distinto lado cada vez. Tomar la temperatura cada vez que se hace un muestreo.
- e. Hacer el conteo de células en cada muestra y tomar el valor de la corrida inicial menos el número de células en la corrida como el número de células dañadas. La eficiencia se calcula en base a la cantidad de células dañadas dividido por la cantidad de células al inicio (corrida anterior) por 100.
- f. Graficar tiempo contra cantidad de células dañadas y contra temperatura.
- g. Determinar a qué condiciones ocurren los picos de eficiencia de rompimiento de las células.

D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO

1. Evaluar la proporción de extracción de aceite por medio del método Bligh & Dyer y Bligh & Dyer modificado a nivel laboratorio utilizando pre-tratamiento ultrasónico, para la elección del mejor método. La biomasa de microalga del lago de Amatitlán se obtuvo a partir de utilizar tela filtrante, esta biomasa contiene cierta cantidad de agua que varía dependiendo del tipo de filtración que se use por lo tanto es necesario que esta biomasa se seque para eliminar el agua contenida en la microalga y de esta manera hacer posible y más eficiente la extracción de aceite. La biomasa de microalga *Scenedesmus sp.* se obtiene a partir de la centrifugación que se le realiza a 3000 rpm en tubos de centrifuga plásticos de 50mL por 2 min esta biomasa todavía contiene un proporción de agua que, de igual forma, debe de pasar por un secado previo a su extracción con solventes. El secado de la biomasa de la microalga se realizó en el secador de bandejas que funciona a base de resistencia eléctrica, ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala, el tiempo de secado depende de la cantidad de biomasa y la distribución que se le dé al momento de colocarlo en la bandeja por lo general es de 9 horas, a una temperatura de secado es de 64.4°C con un nivel de resistencia eléctrica “high”, es importante tomar en cuenta que en, aproximadamente, la primera media hora de secado la temperatura del aire se estabilizará hasta llegar a su temperatura máxima en donde se mantiene constante, la temperatura de secado va a depender del nivel de resistencia que se le coloque. Al obtener la biomasa seca no se tiene una distribución homogénea por lo tanto es necesario utilizar un mortero para la respectiva homogeneización de la microalga seca.

Para el análisis de la extracción de la microalga del lago de Amatitlán se realizó un pre-tratamiento ultrasónico a diferentes amplitudes de onda siendo M1, M2 y M3 de amplitud 60%, 80% y 100% respectivamente. Para la extracción se utilizó 0.5g de muestra de microalga seca, la cantidad de microalga utilizada estaba restringida por la capacidad del tubo de vidrio de centrifuga utilizado, 15mL, ya que por el solvente utilizado para el método Bligh & Dyer, cloroformo, el tubo de plástico se desintegraba al manipularlo con este solvente. Por lo tanto para las extracciones de las muestras se utilizó aproximadamente 0.5g de microalga seca realizando 3 corridas para cada una de las diferentes amplitudes a los dos diferentes métodos utilizados. Con los análisis realizados a la microalga del lago de Amatitlán se establecieron las condiciones adecuadas para llevar a cabo el procedimiento de

los métodos y de igual forma conocer el potencial que la microalga del lago puede tener para la obtención de aceite y su posterior uso como biocombustible.

Para el análisis de la extracción de la microalga *Scenedesmus sp.* se realizó el pre-tratamiento ultrasónico a una sola amplitud de onda 100%, ya que no se contaba con una buena cantidad de biomasa de microalga para realizar varias pruebas de pre-tratamiento a diferentes amplitudes de onda, por lo tanto en este caso no se puede comparar el método ultrasónico realizado ya que solo se expuso la microalga a esa amplitud de onda por 5 minutos, pero se conoce que mientras la biomasa este expuesta a ondas ultrasónicas estas beneficiaran a la proporción de la extracción ya que se debilitan y en algunos casos rompen las membranas celulares de la microalga facilitando el ingreso del solvente para obtener el extracto. De igual forma se utilizaron tubos de vidrio para centrifuga de 15mL, siendo la cantidad de muestra de microalga *Scenedesmus sp.* analizada de 0.55g, realizando 12 corridas para cada uno de los métodos.

En la biomasa seca del lago de Amatitlán, realizado el pre-tratamiento a una amplitud de onda de 60% (M1) utilizando el método Bligh & Dyer se obtuvo un proporción de extracto de microalga de $4.3590 \pm 0.6419\%$ y con el método Bligh & Dyer modificado se obtuvo un proporción de extracto de $3.0608 \pm 0.3221\%$. Para una amplitud de onda de 80% (M2) para la extracción con el método Bligh & Dyer se obtuvo un proporción de extracto de $5.5194 \pm 0.2985\%$ y con el método Bligh & Dyer modificado se obtuvo un proporción de $2.0335 \pm 0.5061\%$. Para una amplitud de onda de 100% (M3) se obtuvo un proporción de extracto de $4.9569 \pm 0.3171\%$ con el método Bligh & Dyer y de $1.3817 \pm 0.029\%$ con el método Bligh & Dyer modificado (Ver Tabla No. 28 en página 117 y Tabla No. 32 en página 117).

Como se observa en los resultados obtenidos para la extracción de la microalga del lago de Amatitlán, el método Bligh & Dyer es más eficiente que el método modificado del mismo, obteniendo casi en la muestra M3 el doble de proporción comparando los resultados obtenidos de ambos métodos, esto se debe a los solventes que se utilizan en el método Bligh & Dyer, la mezcla de cloroformo-metanol, es más soluble que el hexano-alcohol isopropílico al entrar en contacto con las moléculas de lípidos permitiendo de esta manera remover el extracto de las membranas celulares. Es importante mencionar que en el proceso Bligh & Dyer modificado (hexano-alcohol isopropílico) la capa orgánica se encuentra en la

parte superior facilitando su obtención a diferencia del método Bligh & Dyer (cloroformo-metanol) en donde la capa se encuentra en la parte inferior, esto sucede por las densidades de los solventes utilizados siendo el cloroformo más denso que hexano. En cuanto a la diferencia de amplitud de onda en el método Bligh & Dyer se tiene mayor proporción con una amplitud del 80% seguido de la amplitud del 100% y por último una amplitud de onda del 60%, esta característica también se esperaría que sucediera con el método Bligh & Dyer modificado pero en este caso el comportamiento es diferente con la amplitud de onda del 60% se tiene una mayor proporción. Por lo tanto es importante tener en cuenta que la magnitud de presión con la que la onda golpea la membrana celular durante un determinado tiempo debe de estar en un rango establecido para la microalga a experimentar ya que no todas se comportarán de la misma manera, en el caso de la microalga del Lago de Amatitlán el pre-tratamiento debería de estar en una longitud de onda del 60 al 80% de uno a tres minutos para tener una proporción óptima. Debido a que en algún momento o punto se desea que el pre-tratamiento ultrasónico rompa las paredes celulares para que la mezcla de solventes tenga contacto directo con las moléculas apolares y polares de la microalga. Es necesario que luego del pre-tratamiento la biomasa no pase por una segunda centrifugación o filtración ya que se puede desperdiciar biomasa indispensable para el extracto de microalga, por lo que la biomasa se deberá de secar luego de realizar el pre-tratamiento.

Para la biomasa analizada de la microalga *Scenedesmus sp.* a una amplitud de onda de 100% se tiene una proporción de extracto de $4.0393 \pm 0.8123\%$ utilizando el método Bligh & Dyer y de $1.9690 \pm 0.7367\%$ con el método Bligh & Dyer modificado. Como se conocía ya de la extracción realizada con la microalga de lago de Amatitlán el método Bligh & Dyer es más eficiente que el método modificado, como se dijo antes debido a los solventes utilizados en el método Bligh & Dyer, por lo que, para un análisis a nivel laboratorio para extraer "aceite" de una muestra de esta microalga se debe de utilizar el método Bligh & Dyer ya que este presenta un mayor proporción de extracto el cual será importante al momento de evaluar las características del extracto para verificar la presencia de ácidos grasos. (Ver Tabla No. 35 en la página 121 y Tabla No. 37 en la página 121)

Se realiza una mezcla de solventes para ambos métodos debido a que presentan una mejor proporción al obtener el extracto, el orden en que los solventes se agregaron es importante para la cinética de extracción, ya que se realiza primero una asociación donde se

destruyen los constituyentes de la célula en donde los lípidos se disuelven en un sistema monofásico, luego se transfiere a una fase orgánica formando un sistema bifásico creado por la adición de más cloroformo y agua o hexano y agua, dependiendo del método utilizado. Se realiza una mezcla de metanol- agua o agua-alcohol isopropílico en la fase acuosa para que de esta manera los compuestos polares sean solubles en la mezcla y de esta manera separarlo de la capa orgánica. Los solventes utilizados deben de tener la característica de ser solubles en las moléculas de lípidos y tener las suficientes fuerzas de interacción para removerlo de las membranas celulares. Tomar en cuenta que el manejo de los solventes se debe de realizar de la manera más adecuada ya que principalmente el uso de cloroformo puede causar dolor de cabeza, en este trabajo de investigación el investigador está expuesto a pequeñas cantidades de cloroformo pero es necesario tomar las precauciones necesarias como, utilizar mascarilla y guantes para manipular los solventes. El hexano es altamente inflamable a diferencia del cloroformo que no es inflamable por lo tanto se debe de tener la precaución necesaria en el lugar en donde se esté manipulando el solvente, de igual forma los vapores que producen ambos solventes, por su volatilidad, afectan la salud. Es importante tomar en cuenta que luego de que las muestras fueron pasadas por la centrífuga durante 10 minutos, se separa en dos fases teniendo que extraer con una pipeta pasteur la fase orgánica, la cual no se extrae a su totalidad y se debe de tomar en cuenta que puede tener cierta cantidad de la fase acuosa, la cual afectara el rendimiento del proceso.

Como se observa en los resultados no siempre el masa de la microalga fue de 0.5g en el caso de la microalga del Lago de Amatitlán (Tabla No. 25 a 27 en la página 116 y Tabla No. 29 a 31 en la página 117), ni 0.55g en el caso de la microalga *Scenedesmus sp.*(Tabla No. 34 en la página 120 y Tabla No. 36 en la página 121) sino que esta varía, en algunos casos se observa que a medida que aumenta el masa seco de microalga la cantidad de extracto aumenta pero no siempre va a ser así extrayendo a nivel laboratorio debido a la pequeña desviación que existe entre las muestras originales pero en cantidades significativas obviamente se espera tener más cantidad de extracto a un mayor masa de microalga seco analizado. Este extracto de microalga luego de ser extraído del tubo de centrífuga con la pipeta de pasteur se debe evaporar a una temperatura aproximada de 80°C para eliminar el solvente, cloroformo o hexano, que contiene esta capa orgánica dejando solamente la cantidad de extracto obtenida, o evaporarlo a una mayor temperatura para asegurarse de eliminar solventes provenientes de la capa acuosa.

2. Aplicar cromatografía de gases para determinar los ácidos grasos de la muestra obtenida luego de la extracción por solventes. El extracto de microalga, presentó la dificultad de quedarse pegado en el beaker donde se volatilizó el solvente que contiene la capa orgánica, por la poca cantidad de extracto obtenido se juntaron todos los experimentos realizados con el método Bligh & Dyer para realizar la derivatización de igual forma se hizo con el método Bligh & Dyer modificado en ambas microalgas analizadas. Conociendo que no solamente se estaba extrayendo “aceite” sino que también materia que es soluble en el solvente utilizado, se analizó el extracto por cromatografía de gases realizando una derivatización previa para obtener los ésteres metílicos. La derivatización tiene el objetivo primordial de obtener los metil ésteres utilizando metanol para la esterificación del carboxilo, se esterifica completamente al agregar el trifluoruro de boro, se lleva al aforo con solución NaCl, en un balón aforado, donde se separan dos capas siendo la superior la que contiene ácidos grasos y el solvente utilizado, heptano, se le agrega una cantidad de sulfato de sodio anhídrido para eliminar el agua contenida en la muestra y de esta forma pueda volatilizar de mejor manera la muestra dentro de la columna del cromatógrafo.

El conocer si la biomasa de microalga tiene ácidos grasos es importante para su posterior análisis como biodiesel por lo tanto deben de ser identificables esto ácidos grasos siendo los ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, como ácido linolénico y ácido oléico, llamados ácidos grasos de cadenas largas los más importantes. La muestra derivatizada del extracto de microalga del lago de Amatitlán se analizó por medio de cromatografía de gases en el Cromatógrafo de Gases de Alta Resolución con Software HP Chem Station. La cromatografía de gases se utiliza ya que el método es más simple, más rápido y más sensible que los correspondientes a cromatografía líquida de alta resolución, se tiene de igual forma equipo más sencillo y económico, se emplea cuando los compuestos son volátiles. A partir de realizar la cromatografía se tiene el cromatograma correspondiente a la muestra, como se observa en el Cromatograma No. 1 (página 118) que corresponde a la muestra de extracto de microalga utilizando el método Bligh & Dyer y el Cromatograma No. 2 (página 119) que corresponde al método Bligh & Dyer modificado en ambos se observa que el pico que se muestra representa al solvente utilizado, heptano y triclorometano por lo tanto del extracto obtenido del la microalga del lago de Amatitlán con el método Bligh & Dyer y el Bligh & Dyer modificado no se tiene ninguna presencia de contenido de ácidos grasos. Por lo tanto puede ser que la microalga que se encuentra en el lago de Amatitlán si tenga algunas especies de microalgas oleogénicas pero en este trabajo de investigación como no se realizó

ninguna separación previa de especies de microalgas a la biomasa analizada o la muestra analizada era muy poca cantidad, el contenido de las mismas no presentó ácidos grasos en sus membranas celulares utilizando los métodos mencionados con anterioridad. Es importante mencionar que la biomasa de microalga de lago que se desechó luego de realizar la extracción debe tener un pre-tratamiento para eliminar el contenido de compuestos orgánicos que esta misma muestra presenta.

El análisis de extracción de la microalga *Scenedesmus sp.* también se verificó su presencia de ácidos grasos por medio de cromatografía para ambos métodos, obteniendo en ambos métodos ninguna presencia de ácidos grasos en los Cromatogramas No. 3 y 4 (página 122 y 123). Por lo tanto para validar el proceso realizado a la cantidad de muestra tomada para las microalgas, se llevó a cabo una extracción de aceite de semilla de higuierillo en la cual se realiza el mismo procedimiento. Obteniendo en esta extracción presencia de ácidos grasos, Cromatograma No. 5 (página 125), validando de esta manera el procedimiento llevado a cabo para las extracciones. Indicando que las microalgas analizadas no contienen ácidos grasos utilizando los métodos planteados con su respectivo procedimiento.

E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET

1. Realizar preliminarmente la extracción de aceite mediante el sistema de extracción Soxhlet, trabajando con éter diisopropil y hexano como solventes. Para la extracción de aceite de las microalgas fue necesario preparar las muestras. Estas estaban en un medio acuoso, por lo que se procedió a centrifugarlas para separar la fase líquida de la sólida, siendo esta última la biomasa a utilizar. Inicialmente se utilizó filtración para la separación, pero ésta resultó ser poco eficiente, pues el tiempo de separación era muy largo, y poco eficaz, pues se perdía una cantidad considerable de algas en el papel filtro y en el líquido separado. Se prosiguió a preparar las muestras con un pretratamiento de ultrasonido, que proporcionó un debilitamiento de la pared celular de las microalgas, dando lugar a una mayor facilidad de extracción.

A continuación se realizó el secado de la biomasa en un secador de bandejas. El secado removió la mayor parte del contenido de agua de las microalgas. Este se hizo a 60°C hasta que la muestra se observaba sólida. Inicialmente se realizó el secado sobre papel aluminio, pero se encontró que se perdía una gran cantidad de muestra que se quedaba pegada al papel, por lo que se utilizó papel mantequilla. Se consideró utilizar papel filtro, pero la muestra todavía contenía un proporcionalto de agua, por lo que se requirió un material no poroso. Esta porción de papel remanente en la muestra fue una fuente de error, pues generó desviación en el resultado de proporción de extracción.

Para la realización de las extracciones se inició con (100.0±12.5) ml de solvente y se iba añadiendo más si se observaba que el nivel de líquido en el balón era muy bajo. En algunos casos fue necesario agregar más solvente debido a pérdidas del mismo que se dieron al manejar el sistema.

Durante la extracción, fue de gran importancia controlar la temperatura y el sellado del sistema. Se requirió una temperatura ligeramente inferior al punto de ebullición para que el solvente se evaporara y pasara a la cámara de extracción, pero no muy alta para que se diera lugar al contacto entre fases y el solvente no llenara la cámara Soxhlet en un tiempo muy corto. De haber trabajado con temperaturas altas se hubiera reducido la proporción de extracción. El sellado del sistema fue importante pues, por la presión generada dentro del sistema debido a la temperatura, partes del sistema podían ser expulsadas del mismo permitiendo el escape de solvente. La cantidad de solvente perdido es determinante para el costo unitario de la extracción.

El tiempo total de trabajo necesario para la extracción fue variable puesto que incluye la preparación de equipo y materiales, la operación y la evaporación final del solvente. El tiempo de preparación varió ya que la práctica que se obtuvo después de realizar varias corridas permitió que el sistema fuera armado más rápidamente. Además, si se realiza una corrida después de otra, el tiempo de preparación se reduce considerablemente. El tiempo de operación presentó algunas variaciones debidas, principalmente, a los cambios en las condiciones del ambiente de trabajo. Cuando la temperatura en el mismo era más baja o había más corriente de aire, el sistema perdía más calor y, por tanto, tomaba más tiempo en evaporar el solvente. La evaporación final del solvente fue necesaria para remover las trazas de solvente que pudieron quedar en la muestra extraída. Este también varió puesto que

cuando se obtuvo cantidades muy pequeñas de extracto, fue necesario retirarlo del balón de extracción con mayor contenido de solvente para evitar pérdidas del extracto en la superficie del balón. Por lo tanto, requería más tiempo de evaporación posterior. En la Tabla No. 156 (página 343) se puede observar que el tiempo promedio de extracción en el sistema Soxhlet fue de (210.6 ± 23.0) minutos, lo cual es una de las desventajas de este método.

Finalmente, se obtuvo un extracto de color café oscuro (**Error! Reference source not found.**Fotografía No. 66, página 363), insoluble en agua y con apariencia aceitosa. Sin embargo, se desconocía si el contenido del extracto eran ácidos grasos. Debido a esto, se realizaron análisis de ácidos grasos a los extractos por medio de derivatización y cromatografía de gases. En la Tabla No. 45 (página 127) se pueden observar los resultados obtenidos para el extracto de algas del lago de Amatitlán, el extracto de *Scenedesmus sp* utilizando hexano como solvente y el extracto de *Scenedesmus sp* utilizando éter diisopropil como solvente. En las tres se determinó ausencia de ácidos grasos.

Inicialmente, se consideró que el tamaño de muestra era muy pequeño y no proporcionaba resultados representativos del método utilizado. Se puso esto a prueba realizando una extracción con semilla de higuerrillo, pues se conoce que tiene alrededor de un 47% de aceite (Ramírez, 2008, 7). Esta se hizo en las mismas condiciones que se trabajaron las muestras de algas. Se realizó una prueba utilizando la cámara Soxhlet llena de semilla y otra utilizando alrededor de 3.5 g de semilla, para trabajar un tamaño de muestra similar al utilizado con las microalgas. En la Tabla No. 159 (página 352) se puede observar que la proporción extracto/biomasa (%) obtenida en ambas corridas fue muy cercana, de manera que se determina que el tamaño de la muestra no repercute en la proporción de extracción. Además, se realizó un análisis de ácidos grasos al extracto de higuerrillo por medio de cromatografía de gases y se confirmó que este contenía ácidos grasos (Ver Apéndice J). Sin embargo, utilizar muestras de biomasa muy pequeñas da lugar a que las pérdidas de aceite en la operación repercutan más significativamente en la proporción extracto/biomasa (%) obtenida.

También se consideró que la cantidad de aceite extraído de las microalgas pudo haber sido muy pequeño, y que en los procesos posteriores, evaporación, trasvase y derivatización, se haya perdido. Se considera que, al momento de pasar el aceite extraído del balón de extracción al beaker para su evaporación final, se pudo haber perdido parte del

extracto en la superficie del balón, así como en derrames al momento de trasvasar la muestra. Asimismo, al momento de realizar la derivatización se formaron capas, de las cuales interesa la capa superior que contiene los ácidos grasos. Sin embargo, se formó una capa en medio (ver Fotografía No. 68, página 364), que contenía parte de la capa oleosa y parte de la capa acuosa, por lo cual no fue recuperada. Por lo tanto, se pudo haber perdido aceite en ese proceso. Debido a las cantidades tan pequeñas de biomasa trabajada, se necesitarían técnicas micro para poder analizar su contenido y obtener resultados exactos y confiables.

Otra consideración importante es que la cantidad de aceite extraída depende de la cantidad de aceite contenida originalmente en la microalga. Si el alga es oleogénica, como lo es la *Scenedesmus sp.*, el contenido de aceite depende principalmente del medio y condiciones de crecimiento de la misma. Se recomienda conocer las condiciones de crecimiento de las algas a utilizar y verificar que estas sean adecuadas para la producción de aceite. Así como trabajar con cepas puras de microalgas para asegurar el contenido de aceite obtenido. De la misma manera, sería recomendable evaluar la utilización de algas modificadas genéticamente para potencializar el contenido de aceite que tengan.

2. Comprobar el solvente que proporcione la mayor proporción extracto/biomasa (%) de microalgas oleogénicas en el sistema de extracción Soxhlet. En la Tabla No. 42 (página 126) se puede observar la proporción extracto/biomasa (%) obtenida al utilizar algas recuperadas del lago de Amatitlán. Éstas se recuperaron por medio de filtros que removían partículas grandes y retenían las algas. Un aspecto importante de ellas es que se desconoce el tipo de algas presentes y otras sustancias que pudieran ser parte de las muestras.

La proporción extracto/biomasa (%) obtenida al utilizar éter diisopropil como solvente de extracción fue de $(19.2801 \pm 0.0019)\%$, mientras al utilizar hexano como solvente de extracción se obtuvo $(22.2960 \pm 0.0025)\%$, para las algas del lago de Amatitlán.

Para las microalgas *Scenedesmus sp.* la proporción extracto/biomasa (%) utilizando éter diisopropil fue de $(1.6628 \pm 0.1542)\%$, mientras con hexano fue de $(17.0927 \pm 6.4807)\%$. Estos se encuentran en la Tabla No. 43 (página 126) y Tabla No. 44 (página 126), respectivamente.

Se puede observar que, en ambas muestras, el hexano proporcionó una mayor proporción extracto/biomasa (%) que el éter diisopropil. Esto se pudo deber a que la estructura del hexano es más lineal que la del éter diisopropil, que es más ramificada, proporcionando mayor facilidad para que las moléculas de aceite interactúen con las del hexano y, por lo tanto, que se lleve a cabo la extracción. Además, es necesario tomar en cuenta que el éter diisopropil es un solvente más selectivo que el hexano, por lo que el extracto de hexano puede ser mayor pero también puede contener más moléculas que no interesan para la producción de biodiesel.

Es importante considerar que en la muestra de algas del lago de Amatitlán se desconoce los componentes de la misma y el contenido del extracto puede contener sustancias que no producen biodiesel.

Se recomienda evaluar la utilización de mezclas de solventes para la extracción Soxhlet para optimizar la proporción de extracción, buscar la utilización de solventes menos volátiles y contaminantes, más económicos y mantener una selectividad del solvente que proporcione un aceite apto para la producción de biodiesel.

3. Comparar el costo de operación de la extracción para cada uno de los solventes en el sistema de extracción Soxhlet. En la Tabla No. 46 (página 127) se puede observar que el costo unitario del hexano fue menor que el del éter diisopropil. Para la extracción de microalgas *Scenedesmus sp* requiere $Q(84.7 \pm 3.4)$ por gramo de extracto utilizando éter diisopropil como solvente, con un intervalo de confianza de $Q54.4/g - Q115.0/g$, mientras el hexano requiere $Q(4.55 \pm 2.09)$ por gramo de extracto, con un intervalo de confianza de $Q-14.3/g - Q23.4/g$. Esto se debe a que el éter diisopropil tiene una alta volatilidad, lo cual da lugar a una pérdida significativa del solvente y aumentando los costos de operación. Además, el precio del éter diisopropil es mayor que el del hexano, por lo que la pérdida de solvente tiene un mayor impacto. En la Tabla No. 160 (página 352) se puede observar que el costo del solvente es el que más repercute en el costo de operación de ambos solventes.

Para reducir el costo del solvente se podría trabajar la recuperación del solvente por medio de un sistema de destilación para evitar abrir y cerrar el sistema y, por lo tanto, evitar el escape de solvente. Para reducir el costo del agua y de la electricidad es necesario controlar la temperatura del ambiente de trabajo para minimizar el tiempo de extracción.

Es indispensable tomar en cuenta que los solventes utilizados son tóxicos, irritantes e inflamables (ver Apéndice K, página 366 y Apéndice L, página 369), lo cual indica que la pérdida de solvente no sólo repercute en el costo sino que también representa un peligro para las personas que realizan las extracciones, el sistema de extracción y el lugar de trabajo.

Un aspecto importante a considerar es que el costo de operación calculado solamente incluye la operación del sistema Soxhlet. Sin embargo, para la extracción es necesario realizar los procesos de centrifugación y secado como preparación de la muestra. Estas actividades aumentarían el costo de operación y el costo unitario del proceso. Sin embargo, no se tomó en cuenta en el análisis puesto que afectaría de igual manera a todas las pruebas realizadas.

F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1. Diseño de un sistema de medición para la producción de aceite para biodiesel en los aspectos de producción, financieros y organización. El sistema de medición buscó conformar una plantilla de evaluación que fuera aplicable a cualquier objeto bajo estudio; y por ello las categorías que lo conformaron son genéricas. Es decir, la plantilla inicialmente, no está orientada ni adaptada para evaluar los métodos de extracción; sino para realizar una evaluación de cualquier objeto.

Tras realizar la adaptación del sistema de medición con el fin de evaluar los métodos de extracción, se observó que éste permitiría analizar de forma individual los aspectos que se consideran como más pertinentes. Asimismo, el resumen de los resultados, es decir, en los niveles económico, operativo y técnico, darían pie a poder enfocar las acciones a mejorar aquel en el cual, el método puntuase más bajo.

Por último, cabe destacar que debido a que dentro del sistema de medición existen rubros netamente subjetivos, además de ser la meta y las desviaciones de la misma, valores asignados por el evaluador, la influencia de este sobre el resultado es significativa. A pesar de ello, si se utilizaban exactamente los mismos criterios para realizar la evaluación, el

evaluador obtendría resultados comparables entre sí. Haciendo la aclaración, que este resultado, como ya se dijo anteriormente, estaría sesgado o influenciado por las creencias, deseos y conocimientos del evaluador o grupo de evaluadores.

2. Medición y evaluación de la cantidad y el manejo de los recursos utilizados en el sistema de cultivo tipo pileta de 5 litros. Como primer punto, se destaca que la información recopilada se concentró en el hecho que la extracción del aceite proveniente de las microalgas era un proceso. Este proceso estaba conformado por tres grandes etapas: cultivo, pre-tratamiento y el método de extracción. Además de esto, el estudio se limitó a la recolección de datos de la escala trabajada; que en este caso era escala laboratorio. A partir de dicha escala, se varió el volumen de producción anual, para poder determinar el impacto que esto tenía sobre los costos, y en general sobre la factibilidad del proyecto.

Las escalas utilizadas, como ya se detalló, fueron la escala 1, escala 2 y escala 3. Cada una de ellas incrementaba a un volumen mayor la producción, siendo dicho incremento: 100 litros de aceite anuales, 1000 litros de aceite anuales y 1000 galones de aceite anuales. La justificación de estas escalas escogidas, se basó en la producción anual actual a escala laboratorio, que era de 0.6 litros aproximadamente; obtenidos de una serie de 34 piscinas con capacidad de 5 litros.

Así que, aproximando el valor real de 0.6 litros anuales, a un litro anual; la primera escala incrementó el volumen de producción en 100 veces, y la segunda en 1000 veces. En tanto que la tercera escala, incrementó el volumen de producción en 3,785 veces. Este valor, surgió del deseo de utilizar una unidad de medida más comercial, en términos de la venta de diesel, la cual se hace generalmente en galones. A pesar de tratarse de incrementos, que parecen relativamente grandes, la producción mantiene un nivel que aún puede ser categorizada como de laboratorio. Pero partiendo de diseños y proyecciones como las realizadas, se puede generar una idea de lo que sería la producción a escala industrial; resaltando que los equipos utilizados también deben ser modificados y adaptados para este fin.

Tras establecer las escalas, se procedió a realizar una serie de análisis que tomaran en cuenta los dos procesos que antecedían al método de extracción. Siendo estos el cultivo y el pre-tratamiento. En el caso del cultivo, los resultados obtenidos que mayor impacto tuvieron sobre el estudio fueron: el tiempo que tomó a las algas alcanzar la fase de estancamiento, la cantidad de algas que se cosecharon tras dicho tiempo y los costos operativos y de inversión.

El tiempo registrado para alcanzar la fase de estancamiento fue de 34 días, período tras el cual se podía cosechar. De esta forma si únicamente se cultivaba una piscina, durante un año habría solamente diez cosechas de algas; lo que limitaría de forma significativa la producción de aceite. Por otro lado, la cantidad de algas por cosecha, se veía limitada por la capacidad de la piscina en la cual se encontrarán contenidas. Estos dos factores fueron considerados, y se tomó la decisión de generar un escenario en el cual se trabajara con 34 piscinas al año, con el fin de lograr realizar una cosecha diaria, maximizando de esta forma el uso de las personas encargadas del cultivo; e impulsando la puesta en marcha de las demás partes del proceso de producción de aceite. En términos de los costos de operación, el valor era bastante elevado, en comparación con la cantidad de microalgas obtenidas. Principalmente, la mano de obra para las primeras dos escalas (laboratorio y Escala 1) y los materiales directos para las últimas dos escalas (Escala 2 y Escala 3).

Para las primeras dos escalas, se podría evaluar la posibilidad que los encargados del cultivo fuesen alumnos de la universidad que se hicieran responsables por el cuidado de las algas, sin recibir ningún tipo de remuneración económica. Esta solución derivaría en un decremento del 99% en los gastos de operación previos para la Escala Laboratorio, y en un 61% de estos gastos de operación previos, para la Escala 1.

En el caso de las siguientes escalas, el impacto que tenía la mano de obra sobre el resultado era menor, ya que a medida que el volumen de producción incrementaba, el costo de los materiales directos también. Aun así, el resultado de eliminar el costo de mano de obra de proveniente del cultivo, reduciría en un 6% los costos de operación de la Escala 2 y en un 2% los costos de operación de la Escala 3. Estas reducciones permitirían percibir un mayor beneficio por las actividades, además de reducir de forma considerable el precio del aceite.

El siguiente proceso que se analizó fue el pre-tratamiento ultrasónico. Para este proceso, se detectaron dos limitantes principales: la primera, la cantidad máxima de masa “húmedo” de algas que podía tratar; y la segunda, el tiempo requerido para tratar dicha cantidad.

Dichas limitantes, se encontraban íntimamente relacionadas, ya que, la cantidad a tratar establecida como máxima, debía ser tratada durante determinado espacio de tiempo, con el fin que fuera efectivo el tratamiento ultrasónico. Los valores estipulados fueron de 400mL de masa “húmedo” de algas por 5 minutos de tratamiento. Debido a las características de la máquina utilizada, se podría reducir los lotes que se están procesando a 200mL por corrida, ya que esta cantidad podría ser procesada en tan sólo 2 minutos. Este cambio, generaría una reducción de un minuto por cada 400mL procesados, lo que derivaría en un ahorro en el consumo de energía eléctrica. Y si sumado a esto, se aplica la misma solución que en el cultivo para reducir el costo de mano de obra, el ahorro en esta parte del proceso sería considerable.

Esta parte del proceso, se creía, sería la más costosa por motivo del alto costo de la maquinaria utilizada; sin embargo, el hecho de no necesitar materiales directos, y que el único costo variable fuese debido al consumo de energía eléctrica, ocasionaba que los gastos de operación fueran relativamente bajos, convirtiéndolo en el proceso más económico. Y de igual forma, a medida que el volumen de producción incrementaba, los costos fijos (costo de mano de obra) perdían masa sobre el costo final, y eran los costos variables (energía eléctrica) los que adquirirían mayor relevancia.

3. Medición y evaluación del manejo y administración de los recursos utilizados en la obtención del aceite de las microalgas para cada uno de los métodos de extracción bajo consideración. Al analizar a fondo los métodos, con la ayuda del sistema de medición, se detectó que en el único aspecto en el cual el método Soxhlet tenía una mejor puntuación que los demás, era en el financiero. Mientras que los métodos de Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado, tenían una mejor calificación en los aspectos operativo y técnico. A pesar de esto, el nivel económico estaba conformado por dos rubros de rango 10 y por ello tenía una masa equivalente al conjunto de los otros dos aspectos. De igual forma, la diferencia de puntuación entre los métodos en los niveles técnico y operativo, fue de 30.8% y 9.7%

respectivamente. Se hace la aclaración que los métodos de Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado obtuvieron la misma puntuación en todos los niveles.

Al inicio de la investigación, se creía que el método de Bligh and Dyer, debido a los solventes que utilizaba, tendría un menor costo de operación que el Bligh and Dyer Modificado, pero la relación de costo era muy similar, lo que generaba que los métodos se comportaran de manera casi idéntica en el análisis económico. Y siendo, el mismo procedimiento, y al utilizar la misma maquinaria, la diferencia entre ellos fue muy reducida.

Para los análisis de sensibilidad, se pudo observar que las variaciones en el VPN y en la TIR, además del impacto de las variables sobre los métodos son muy similares. Asimismo, se destaca que una pequeña variación en el costo de los materiales directos del método, repercutió de forma drástica sobre los resultados obtenidos. Pero se mantiene, que son la demanda, el precio del aceite, y los gastos de operación en conjunto, las tres variables que mayor impacto, sobre el resultado del método, tienen.

4. Determinación de la variación en la factibilidad del proyecto debido al impacto del volumen de producción en la extracción de aceite proveniente de microalgas. Finalmente, tras el análisis económico, dentro del cual se incluyó los métodos de extracción, se detectó que únicamente el método Soxhlet resultaba rentable, y esto solamente en las escalas 2 y 3. Mientras que los métodos de Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado; bajo ninguna de las escalas resultaron rentables. Es importante resaltar que la diferencia principal entre los métodos se encontraba en los materiales directos que se utilizaban, además de la inversión necesaria para implementarlos. Tanto el costo de los materiales directos, como la inversión inicial eran menores para el método Soxhlet, y por lo tanto la capacidad de percibir utilidades por este método se incrementaba.

Existió un fenómeno que vale la pena mencionar. A escala laboratorio, el método que resultaba más factible económicamente, de los tres evaluados, era el Soxhlet, y esto se debió a que, para esta escala, los gastos de operación estaban basados en el costo por corrida. Al hablar de método más factible económicamente, es que al realizar una

comparación directa entre ellos, haciendo a un lado los criterios de $VPN > 0$, y $TIR > TMAR$, el método con mejores calificaciones fue el Soxhlet.

Mientras que en la Escala 1, al incrementar el volumen de producción, pero en un grado relativamente pequeño, el método Soxhlet, presentó los peores resultados en términos del Valor Presente Neto y la Tasa Interna de Retorno. Esto se debió a que los costos al tener costos fijos, como en el caso de la mano de obra, el impacto sobre este método era mayor debido a la necesidad de contar con dos personas para su ejecución.

Como ya se mencionó, la primera parte del análisis económico, tomó en consideración todo el proceso de obtención de aceite, mientras que al utilizar el sistema de medición, el análisis económico se enfocó únicamente en los métodos de extracción. Aun así, y por las razones descritas en el párrafo anterior, el método Soxhlet era el único que lograba aprobar todos los criterios financieros, mediante los cuales fueron evaluados.

A continuación se hace un análisis por cada una de las variables utilizadas para la construcción del análisis de sensibilidad:

- **Inversión Inicial:** Es la variable que menor incidencia tiene sobre el resultado, tanto para la TIR como para el VPN. Aun así, se debe destacar que un incremento, aunque no sea muy grande, dentro de este rubro, convierte al VPN en negativo. Un dato importante también, es que el método de Bligh and Dyer modificado, requiere una disminución mayor del valor de la inversión inicial, para que su VPN llegue a ser mayor a cero.

- **Materiales directos del método:** Esta variable forma parte de los gastos de operación, pero posee su análisis individual, debido a que como se mostró en secciones anteriores, esta compone aproximadamente la mitad de los gastos de operación. Esto se observa claramente, al comparar la gráfica de los gastos de operación vs. la gráfica de los materiales directos del método; ya que ante una variación de la misma magnitud, el impacto sobre el VPN y sobre la TIR, es de aproximadamente la mitad para los materiales directos del método.

- **Gastos de operación:** Los gastos de operación juegan un papel sumamente importante en la factibilidad económica del proceso de extracción. Debido a la forma en la cual se encuentran compuestos, estos presentan una mayor posibilidad de reducción. De esta forma, se observa que con una reducción de aproximadamente un 10% del valor actual, el VPN adquiere un valor más alto, y la TIR sería mayor a la TMAR. Con este fin se podría buscar por ejemplo la eliminación del costo de mano de obra, mediante la transformación del proyecto en parte de una clase, con el fin de lograr que los alumnos de la universidad trabajen en el ad honorem.

- **Precio del aceite:** Esta variable es el rubro más determinante dentro de la factibilidad económica del proceso de extracción. Es importante destacar que el precio por mililitro de aceite es sumamente alto, y por tanto, una reducción en este, genera una disminución considerable en los valores de TIR y VPN. Asimismo, un incremento en el precio, aunque sería difícil que este se diera, por ser ya elevado, generaría un aumento importante en el VPN y la TIR. Y, a diferencia de la demanda, la cual será analizada posteriormente, el precio no tiene límite para ser incrementado, más allá de la respuesta de los consumidores ante las variaciones en el mismo.

- **Demanda:** La demanda es el segundo factor más influyente en el resultado de la factibilidad económica. En el caso de la demanda se observa un fenómeno interesante dentro de los análisis de sensibilidad, y es que existe un punto en el cual su valor se vuelve constante. Esto se debe a que la demanda está íntimamente relacionada con la producción; y por tanto, debido a que la producción tiene un límite, la demanda no podrá exceder este valor. Es decir, a medida que la producción alcanza su máxima capacidad, no se podrá vender más de lo producido; y es aquí donde se estanca el valor de la demanda. De lo contrario, el impacto de la demanda sobre la TIR y el VPN, sería exactamente igual al del precio del aceite.

Los demás métodos, tras realizar los análisis de sensibilidad, presentaron una tendencia muy parecida, y es por ello que no se incluyen dentro de esta sección. Las gráficas que resumen el análisis de sensibilidad para las variaciones en el VPN y la TIR, pueden ser encontradas dentro de la sección de Anexos de la presente investigación. (Ver Anexos VIII y IX).

5. Creación de un plan de seguimiento para procurar la continuidad del proyecto de producción de biodiesel a partir de microalgas dentro de la Universidad del Valle de Guatemala. Dentro del plan de seguimiento se determinó que el enfoque sería en las técnicas de cultivo. Esto se debió, principalmente, a que son las algas la materia prima para la obtención del aceite.

Para el plan de seguimiento, es importante resaltar que las actividades a efectuar, así como las fechas establecidas como de inicio y de final, están sujetas a cambios. El plan de seguimiento, tuvo como objetivo ser una guía para las personas que continuaran con el proyecto, y de esta forma impulsar su continuidad.

Es lo mencionado con anterioridad, lo que permite la variación y modificación de las actividades, ya que serán las personas que en su momento, se encuentren manejando y conduciendo el megaproyecto, quienes decidirán los cursos de acción a seguir, en base a las necesidades puntuales que se tengan.

Finalmente, se destaca, que las actividades propuestas, así como las fechas estipuladas en el plan de seguimiento, estuvieron basadas en la experiencia, además de las dificultades con las que se lidiaron durante la realización del trabajo. Esto, favorece al plan, ya que este estará lo más apegado a la realidad que se enfrentará al momento de proseguir con el trabajo acá iniciado.

IX. CONCLUSIONES

1. Con base en las variables controladas en el sistema, el mejor medio evaluado para el crecimiento de las algas cepa UVG fue el fertilizante foliar y para *Scenedesmus sp.* fue el medio de sales sintético.
2. La mayor concentración de células se obtiene entre los 10 y 12 días, a nivel laboratorio.
3. En la cosecha de reactor de 15 L, se obtuvo un crecimiento de algas según lo esperado, con una fase de latencia corta, indicando el buen uso de relación de cultivo 5:15 L reflejando un buen diseño y montaje del reactor.
4. La biomasa inicial en el reactor de 15 litros fue de 2.46 g y la obtenida al final del crecimiento fue de 4.82 g de alga seca.
5. Se encontró relación entre el tiempo de pre-tratamiento y la eficiencia de extracción.
6. En el estudio realizado el método Bligh & Dyer resultó ser más eficiente que el modificado para la obtención de extracto de microalga.
7. El hexano proporcionó una mayor proporción extracto/biomasa (%) que el éter diisopropil en la extracción de microalgas a través del sistema Soxhlet.
8. En la biomasa analizada se determinó ausencia de ácidos grasos, por medio de cromatografía de gases.
9. Al utilizar los métodos de extracción de aceite, Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado, el proyecto no resultaba económicamente factible. El proyecto, utilizando el método de extracción de aceite Soxhlet, resultó factible en las escalas de producción 2 y 3.
10. La continuación y seguimiento del proyecto debe estar orientado al estudio y desarrollo de las técnicas de cultivo debido al impacto de este proceso, en la obtención del aceite.

X. RECOMENDACIONES

- Utilizar los resultados obtenidos para evaluar las nuevas cepas adquiridas, con los parámetros estudiados.
- Realizar el análisis de crecimiento de algas variando la velocidad del agitador, para determinar cuál es la que favorece mejor al desarrollo de las algas unicelulares oleogénicas.
- Realizar una curva de rompimiento celular para distintas amplitudes y ciclos para determinar las mejores condiciones de operación.
- Analizar si el residuo de microalga después de la extracción puede utilizarse como materia prima para otro proceso.
- Trabajar con cepas puras de microalgas para asegurar el contenido de aceite obtenido. Así como evaluar la utilización de algas modificadas genéticamente para potencializar el contenido de aceite que tengan.
- Realizar un estudio de mercado para el aceite de microalgas, que permita decidir si es conveniente proceder con el proceso de transesterificación para la producción de biodiesel o dedicarse a la venta del aceite.
- Evaluar la posibilidad de formar una alianza estratégica con el megaproyecto: Macrotúneles para implementar las técnicas de agricultura allí utilizadas, en el cultivo de microalgas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar V., 2011. *Aumenta la preocupación en LATAM por el calentamiento global*. Nielsen. México.

Albarracín, I. 2007. XV Simposio Electrónico Internacional. *La producción de Biocombustibles con proporción, estabilidad y equidad. Microalgas: Potenciales productoras de Biodiesel*.

Alvarez, H. 1994. Capítulo III: Introducción al método ficológico. *Algae basics, algae cultivation, harvesting and extraction*. Oilgae. 2011. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Ecuador.

Anderser, R. 2005. *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press. China. 578 pp.

Anónimo. Capital Asset Pricing Model. Página modificada el 9 de septiembre de 2012. Disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/Capital_asset_pricing_model

Anónimo. *Estudio de Factibilidad (esquema aplicable para nuevos productos)*. Disponible en: <http://proyectos.aragua.gob.ve/descargas/ESTUDIOFACTIBILIDADECON%C3%93MICA.pdf>

Aquiahuatl, María de los Ángeles y María de Lourdes Pérez. 2004. Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general: *Estudio de factibilidad*. Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Biotecnología, México. Disponible en: http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf

Araujo, GS.; Matos, L.J; et.al. 2012. *Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method*. (En línea). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22938999>

Arias, C., López, J., Obregón, E., Castillo, D., Barrera, M. 2011. *Prototipo de Biodigestor para Aguas Residuales para la Generación de Biogás*. Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala. 263 páginas.

Arief, W.; Chao-Chao,C.; Yi-Hsu, J. 2009. *Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. (En línea). Consultado el: 6 de mayo de 2012. Disponible en: http://www.its.ac.id/personal/files/pub/2986-arief_w-chem-eng-widjaja%2009.pdf

Azuola, R.; Vargas, P. 2007. *Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA)*. Tecnología en Marcha.

Band Chirstine. 1997. *Generación biotecnológica para la producción de microalgas*. Instituto de Industrias UMAR. Disponible en: <http://www.umar.mx/revistas/1/microalgas.pdf>

Barsanti,L., Gualtieri, P. 2006. *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Taylor and Fracis Tour. Estado Unidos. 301pp.

Bastidas, Oscar. *Neubauer Chamber Cell Counting*. Disponible en: <http://celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>

Benjumea H., Pedro Nel; John Ramiro Agudelo Santamaría y Luis Alberto Ríos. 2009. *Biodiesel: Producción, calidad y caracterización*. Colombia: Universidad de Antioquía. Págs. 16-17. Disponible en: http://books.google.com.gt/books?id=yiaApKhNqRYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=microalgas&f=false

BiodiSol. 2009. *El biodiesel de algas es el único combustible alternativo capaz de sustituir al petróleo*. Disponible en: <http://www.biodisol.com/biocombustibles/biodiesel-de-algas-es-el-unico-biocombustible-alternativo-capaz-de-sustituir-al-petroleo-energias-renovables-investigacion-e-innovacion/>

Blank, L. 2006. *Ingeniería Económica*. India. 6 ed. McGraw-Hill. 815 páginas.

Camacho, H. 2004. *Introducción a la Ingeniería Económica*. Universidad Nacional de Colombia. 140 páginas.

Camps M., Marcos F. 2008. *Los biocombustibles*. 2da Edición. Madrid. 384pp

CCI. 2012. *Biotecnología de microalgas*. Fuente química para la ciencia. Cámaras Climáticas. Disponible en: <http://cci-calidad.blogspot.com/2012/05/biotecnologia-de-microalgas-fuente-de.html>

Chisti Y. 2007. *Biodiesel from microalgae*. Biotechnol. Volumen 25, 306 pp.

Christie, W. 1987. *High Performance Liquid Chromatography and Lipids: A Practical Guide*. The Hannah Reserch Institute, Ayr, Scotland. Editorial Pergamon Press.

Christie, W. 1987. *Lipid Analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*. Segunda Edición. Editorial Pergamon Press.

Colmenares, A. 2005. *Cromatografía de Gases. Determinación de ácidos grasos en mantequilla, manteca y aceites*. Universidad del Valle de Guatemala.

Comparación de biodiesel a partir de aceite de microalgas y combustible diesel. Departamento de ciencias biológicas y biotecnología. Universidad de Tsinghua, Beijing. China. 2004

Dejoye, C.; Vian, M. et.al. 2012. *Terpenes as Green Solvents for Extraction of Oil from Microalgae. Molecules. Journal*. Consultado el: 08 de octubre de 2012.

Demirbas, Ayhan; 2010; *Algae Energy: Algae as a new source of biodiesel*. Springer; Londres; 199 pp

Dermibas. A; Dermibas M.F. 2010. *Green Energy and Technology: Algae Energy. Algae as a New Souce of Biodiesel*. Springer-Verlag London Limited. Trabzon,Turkey.

Duarte, C. 2010. Océano: *El secreto del planeta Tierra*. Colección Divulgación. Editorial CSIC. Ministerio de Ciencia e innovación. Gobierno de España

Ecofys, GBEP, FAO. 2009. *Algae-based biofuels: A Review of Challenges and Opportunities for Developing Countries*. (En línea). Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/aquaticbiofuels/docs/0905_FAO_Review_Paper_on_Algae-based_Biofuels.pdf

Fernández Seixas, P. 2005. Tesis: *Composición bioquímica y crecimiento de paralarvas de pulpo, alimentadas con juveniles de artemia enriquecidos con microalgas y otros suplementos nutricionales*. Universidad de Santiago de Compostela. Madrid, España.

Flores, C. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Asociación Interciencia*. 28:450-456 pp

García Camús, J.; García Laborda, J. 2006. *Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol*. Dirección General de Universidades e Investigación. Círculo de Innovación en Tecnologías Medioambientales y Energía (CITME). (En línea). Consultado el: 28 de enero de 2012. Disponible en: http://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/vt/vt4_biocarburantes_liquidos_biodiesel_y_bioetanol.pdf

González, A., Viatcheslav, K, Alexander, G. Diciembre de 2009. Artículo: *Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas*. Colombia. 53-60 pp.

González, J. 2009. *Energías renovables*. Barcelona: Editorial Reverte. Págs. 46-47. Recopilado en la web: http://books.google.com.gt/books?id=bl6L8E_9t1kC&pg=PA46&dq=una+posible+soluci%C3%B3n:+fuentes+renovables&hl=es&sa=X&ei=N_HIT8u2OoWE8QTVk6iWDw&ved=0CDUQ6AEwAA#v=onepage&q=una%20posible%20soluci%C3%B3n%3A%20fuentes%20renovables&f=false

González, J. 2009. *Energías renovables*. Editorial Reverte. Barcelona. 656 páginas. “Una posible solución: Las fuentes renovables”. Páginas 46-47.

González, A., Kafarov, V. y Guzmán, A.. 2009. *Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas*. Universidad Industrial de Santander. Colombia. Prospect. Vol. 7, No.2, Páginas: 53-60.

González, A., Kafarov, V. 2011. *Microalgae based biorefinery: Issues to consider*. Bucaramanga, Colombia.

Grobbelaar, J. 1994. *Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations*. *Appl Phycol*. 6: 331-335 pp.

Guanda, A; Carrero, A. 2007. *Efecto que tienen los principales contaminantes ambientales sobre el planeta Tierra y sus medidas preventivas*. Disponible en: http://www.utchvirtual.net/recursos_didacticos/documentos/ecologia/efecto.pdf

Guanda, Adalis. 2007. *Efecto que tienen los principales contaminantes ambientales sobre el planeta Tierra y sus medidas preventivas*. U.E. Colegio Javier. Venezuela.

Guerrero, R., Gustavo, M. 2010. *Biocombustibles Líquidos: Situación actual y oportunidades de futuro para España*. Fundación ideas para el progreso. 53 páginas.

Guterman, H. 1996. *A flat inclined modular photobioreactor for outdoor masscultivation of photoautotrophs*. *Biotechnol, Bioeng*. 70 pp

Gutiérrez P., Cayetano; Cayetano Gutiérrez Cánovas. 2009. *La actuación frente al cambio climático*. Región de Murcia: EDITUM. Págs. 102-104. Disponible en: <http://books.google.com.gt/books?id=b9fLFtWbucgC&printsec=frontcover&dq=la+actuaci%C3%B3n+frente+al+cambio+clim%C3%A1tico&hl=es&sa=X&ei=mPHIT--cl5SO8wTQ7cJwDg&ved=0CDgQ6AEwAA#v=snippet&q=ventajas&f=true>

Gutiérrez Pérez, Cayetano; Gutiérrez Cánovas, Cayetano. 2009. *La actuación frente al cambio climático: guía para un consumo sostenible*. Editorial EDITUM. 299 páginas.

Hernández, A. 2009. *Biodiesel a Partir de Microalgas*. *BioTecnología*. Vol. 13 No. 3. Página 38-61. Disponible en: http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Biodiesel.pdf

Herrera,R., Alberto,J. 2008. *Caracterización y aprovechamiento del aceite residual de frituras para la obtención de un combustible (biodiesel)*. Universidad Tecnológica de Pereira. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1059/1/6626H565.pdf>

Hielscher – Ultrasound Technology. 2011. Biodiesel from Algae using Ultrasonication. (En línea). Disponible en: http://www.hielscher.com/ultrasonics/algae_extraction_01.htm

Hopp Vollrath. 2005. *Fundamentos de Tecnología Química*. Editorial Reverté. Barcelona, España.

Hutchinson. G.W. 2007. *Ultrasonic Algae Control: Basic Technology and Application*. Iowa Rural Water Association.

IAASTD. 2009. *Evaluación internacional del conocimiento, ciencia y tecnología en el desarrollo agrícola Bioenergía y biocombustibles: Oportunidades y limitaciones*. Island Press. (En línea). Disponible en: <http://www.agassessment.org/docs/bioenergyESlowres.pdf>

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2010. *Manual de Biocombustibles*. Asociación regional de empresas de petróleo y gas natural en Latinoamérica y el Caribe (Arpel). Página Consultada 33-34

Inspira. 2010. *Energías renovables*. Disponible en: <http://www.inspira.es/>

Javanmardian,M. 1991. *High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction and operation of a novel photobioreactor sustem*. Biotechnol, Bioeng. 38: 1182-1189 pp.

Jiménez, B. 2001. *La contaminación ambiental en México: Causas, efectos y tecnología apropiada*. Editorial Limusa Noriega Editores. 926pp

Kharisov, B.; Ortiz, U. 1999. *Uso del ultrasonido en procesos químicos*. Ingenierías, Septiembre-Diciembre 1999. Vol. II, No. 5. Disponible en: <http://grafito.fime.uanl.mx/misitio2/OrtizMendez1999a.pdf>

Knuckey, R.M. et al. 2006. *Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds*. Aquacultural Engineering. Disponible en: <http://era.deedi.qld.gov.au/803/>

León, M. 2009. *El análisis financiero*. Administración Empresarial. Disponible en: <http://www.slideshare.net/Sunz42/el-analisis-financiero-1874576>

Limón, S., Mejía, J. y Aguilera, J. 2006. *Ciencias 1 Biología Secundaria*. México. Editorial Castillo. 304 páginas.

Lopez , Silvia y Roberto Barrientos. 2005. *La colección de microalgas dulceacuícolas y marinas de la península de Yucatán*. México: Universidad Autónoma de Yucatán. Pág. 13-19. Disponible en: http://books.google.com.gt/books?id=IVSZq_PvTLsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Luque-García, J.L.; Luque de Castro, M.D. 2004. *Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid simple treatment*. Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*. Elsevier.

Makarious, N. 2012. *Transesterification reaction mechanism*. Penn Arts & Sciences. University of Pennsylvania. Disponible en: <http://www.sas.upenn.edu/~nader/ref8later5.pdf>

Manirakiza P., A. Covaci, P. Schepens. 2000. Artículo: *Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods*. Toxicological Centre, University of Antwerp, Wilrijk, Belgium.

Manson, Jones, Morris. 2003. *Lo esencial en célula y genética*. 2ª edición. Traducción de la obra *Cell Biology and Genetics*. Elsevier. Madrid, España. Págs: 31-58

Martínez, J. 2008. *Instrumentos económicos para la protección del medio ambiente*. Editorial Dykinson, S.L. Madrid, España. 398pp

Martínez, L. *Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas*. Universidad de León, Tesis del área de Ingeniería Química. Disponible en: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/1414/2008ON-MART%25CDNEZ%20GARC%25CDA,%20LORENA.pdf?sequence=1>

Martínez,A. 2011. *Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente*. Universidad Politécnica de Valencia. 102 pp.

Mateos, P (Dr.). 2009. *Mantenimiento y conservación de microorganismo industriales*. Facultad de Biología, Universidad de Salamanca. Disponible en: <http://darwin.usal.es/profesores/pfmg/sefin/MI/tema04MI.html>

McMurry, J. 2008. *Lípidos*. Química Orgánica. 7ª edición. Cengage Learning. México. Pág. 1060-1064.

Meléndez, S. 2010. *Diseño y construcción de un Fotobiorreactor tubular continuo para crecimiento de biomasa a partir de microalgas*. Tesis de la Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ingeniería. 80 págs.

MEM. 2012. *Ministerio de Energía y Minas*. Gobierno de Guatemala. Disponible en: <http://www.mem.gob.gt/>

Mercer, P.; Armenta.R. 2001. *Developments in oil extraction from microalgae*. Ocean Nutrition Canada, Dartmouth, Nova Scotia, Canada. Pág. 9

Mitra, S. 2003. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*. Illustrated Edition. John Wiley & Sons Publisher. Pág. 142-144

Molina, E., Chisti,Y. 1999. *Photobioreactors: light regime and scaleup*. J. Biotechnol. 70: 231-248 pp.

Mourelle, L. 2009. *Técnicas hidrotermales y estética del bienestar: Las algas*. Aplicaciones en salud y bienestar. Editorial Paraninfo. Pág.145

Muniguate. 2012. *Precio del servicio de agua por rangos de consumo*. EMPAGUA. Disponible en: http://consultas.muniguate.com/consultas/dir_servicios/#inicio

National Renewable Energy Laboratory (NREL). 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae*. Colorado, United States. (En línea). Disponible en: <http://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf>

Naveda, E. 2007. *Biocombustibles: esperanza o desolación*. El Periódico: Actualidad-Nacionales. Disponible en: <http://www.elperiodico.com.gt/es/20070701/actualidad/41217/>

Nicolás, L. 2010. *Biocombustibles, una alternativa en auge*. Productor Agropecuario, Edición No. 5 Noviembre-Diciembre 2010. Págs. 58-62.

Nirbhay, K., Wattal, D. 2010. *Microalgae as second generation biofuel*. A review. Copyright INRA.

OriginOil. 2011. *Single-Step Extraction*. (En línea). Disponible en: <http://www.originoil.com/technology/single-step-extraction.html>

Osorio, P. 2008. *Estudio Técnico Económico Para La Producción De Biodiesel A Partir De Algas*. Universidad de Chile. 113 pp.

Pavia, L. 2007. *Introduction to organic laboratory techniques: a microscale approach*. Thomson Brooks/Cole. 4ta edición. Pág. 688-689.

Pelczar, M., Reid, R., E.C.S. Chan. 1982. *Microbiología*. 2ª ed. México: McGraw Hill. Págs. 288-305.

Perry, R., & et. al. 1984. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. Estados Unidos. 6 ed. Mc. Graw-Hill.

Persoone, G., Morales, J., Verlet, H., De Pauw, N. 1980. *Air-lift pumps and the effect of mixing on algal growth*. Shelef and Soeder. Holanda. 18 pp.

Perú ecológico. 2009. *La contaminación Ambiental*. Perú. Disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/lib_c22_t04.htm

Polakovičová G., Kušnir P., Nagyová S. and Mikulec J.. 2012. *Process integration of algae production and anaerobic digestion*. Chemical Engineering Transactions. 29. 1129-1134.

Putt,R. 2007. *Algae as a Biodiesel Feedstock: A feasibility assessment*. Universidad de Auburn. Estados Unidos. 47 pp.

Quezada,M. 2010. *Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades*. Rev Latinoam Biotecnología Ambiental Algal. 26 pp

Ramírez, M. 2008. *Cultivos para la producción sostenible de biocombustibles: Una alternativa para la generación de empleos e ingresos*. Modulo II: Higuerrillo. Servicio Holandés de Cooperación al Desarrollo SNV. Honduras. Primera edición. Pág. 7.

RAP-AL Uruguay. 2010. *Contaminación y eutrofización del agua*. Págs. 14-16. Disponible en: http://www.rap-al.org/articulos_files/Eutrofizacion_final.pdf

Richmond, A. 2000. *Microalgal at the turn of the millennium: a personal view*. J. Appl. Phycol. 12: 441-451 pp.

Richmond, A. 2004. *Hanbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science Publishing. Oxford, United Kingdom. Inglaterra. 577 pp.

Rojas, D. *Balanced ScoreCard*, Tablero de Comando CMI. Página actualizada el 15 de febrero de 2009. Disponible en: <http://www.slideshare.net/jcfdezmxmanag/que-es-el-bsc-1032043>

Roncero, A. 2009. *Emisiones de CO₂: ¿qué contamina más, un gasolina o un diesel?* Disponible en: <http://autoconsultorio.com/coches-ecologicos/emisiones-de-co2-%C2%BFque-contamina-mas-un-gasolina-o-un-diesel/>

Rovirosa, N. 1995. *An integrated system for agricultural wastewater treatment*. Water Sci. Tech. 32: 165-171 pp.

Ruiz, J., Ramos, P., Flores, J. 2009. *El hombre y el medio ambiente*. Ediciones Universidad Salamanca. Aquilafuente.

Salinas, Edmar y Victor Gasca. 2009. *Los biocombustibles*. El Cotidiano- Revista de la Realidad Mexicana. Septiembre-Octubre 2009. Pág.. 76-77.

Sánchez S., Martínez M.E. and Espinola F. 2000. *Raceway Pond Design for Microalgae culture for Biodiesel*. Biochem Eng. 6 pp .

Sans Ramón, Joan Ribas. 1989 *Ingeniería Ambiental: Contaminación y tratamientos*. Editorial Productica. Barcelona, España.

Savin, I; Tsyganok, S; etal. S.f. *Ultrasonic Chemical Reactors*. Disponible en: <http://ultrasonic.ru/downloads/edm07/react1.pdf>

Scheper, T. 1998. *Bioprocess and algae reactor technology*. Springer Editor. Alemania. 259 pp.

Schmidt, M. 2012. *Synthetic Biology: Algae-based fuels*. John Wiley & Sons. Págs. 266. Disponible en: http://books.google.com.gt/books?id=WPf9zntG7fcC&dq=where+microalgae+stores+oil&hl=es&source=gbs_navlinks_s

Seaweed. 2012. *Microalgas. Seaweed Canarias*. Disponible en: <http://www.seaweedcanarias.com/html/microalgas.html>

Sepúlveda, Sergio. 2007. *Potencial de la agricultura y los territorios rurales para producir bioenergía*. IICA. Cuaderno Técnico No. 37-2007. Págs. 2-3

Sheehan, J. 1998. *A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from algae*. National Renewable Energy Lab. Department of Energy. Estados Unidos. 33 pp.

Sieg, David. 2008. *Making algae biodiesel at home*. Disponible en: <http://www.algae-oil.com/extracting.htm>.

Stanhope-seta. 2010. *Biofuel Specifications*. Seta biofuel testing. Disponible en: <http://www.biofueltesting.com/specifications.asp>

Starr, Cecie y Ralph Taggart. 2004. *Biología: la unidad y diversidad de la vida*. 10ª ed. México: Thomson. Pág. 519. Recopilado en la web: <http://books.google.com.gt/books?id=nSBA3BYwsbIC&pg=PA535&dq=niveles+tr%C3%B3ficos+de+algas&hl=es&sa=X&ei=OQ3HT5QYjqbxBPb1IYgP&ved=0CDoQ6AEwAg#v=onepage&q=niveles%20tr%C3%B3ficos&f=false>

Tec-Tron. 2008. *Factor de Potencia. Tecnología Eléctrica y Electrónica*. Disponible en: <http://www.tec-tron.com.ar/factor-de-potencia.html>

Tresguerres J., Vicente, M., Víctor, N. 2003. *Biotecnología Aplicada a la medicina*. Editorial Diaz de Santos. Madrid, España.

U.S. Department of Energy. 2012. *Biodiesel*. Disponible en: <http://www.fueleconomy.gov/feg/biodiesel.shtml>

Velásquez, E. 2008. *El congestionamiento en la ciudad: el vehículo particular ocupa más espacio que el colectivo*. Opinión, El Periódico. (En línea). Disponible en: <http://www.elperiodico.com.gt/es/20080116/opinion/47541/>

Villegas, W et al. 2006. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. *Análisis Ultravioleta – Visible*. La teoría y la práctica en el ejercicio profesional. Mérida, México

Weng, Z., Olvido, E., Álvarez, Inalviz. *Conservación de microorganismos*. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Micriología. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol43_3_05/hie06305.htm

Wiley, J. 2011. *Biomass to biofuels*. Disponible en: <http://books.google.com.gt/books?id=Gsg6bhnsvgkC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Wordreference. 2012. Disponible en: <http://www.wordreference.com>

XII. APÉNDICE

A. MÓDULO DE DESARROLLO DE MICROALGAS EN DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO

1. Apéndice A: Equipo utilizado

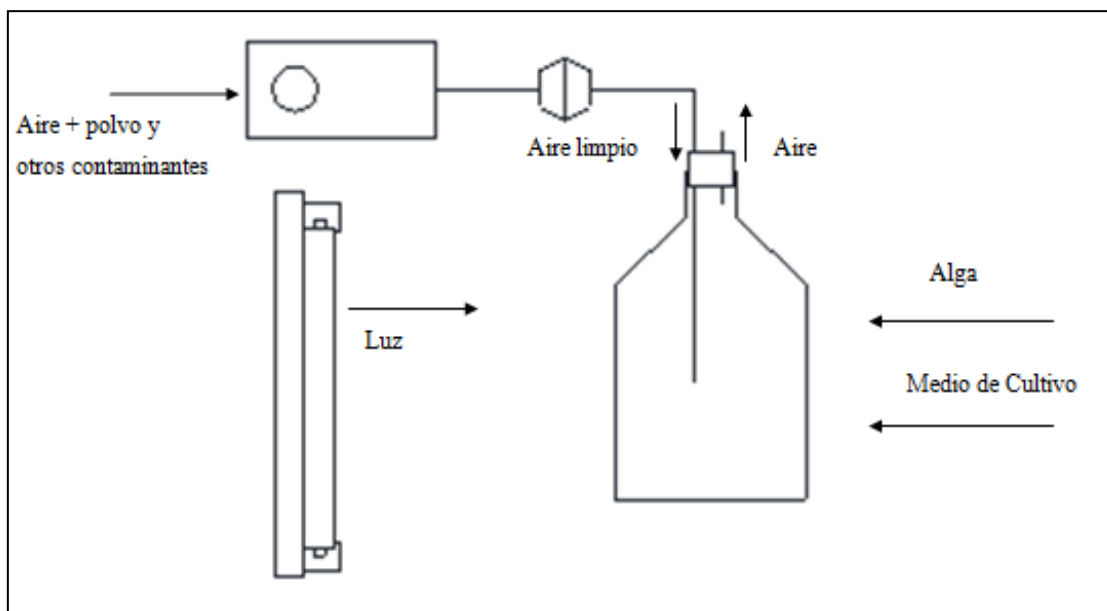
Tabla No. 63 Equipo utilizado para el sistema de microalgas

Cantidad	Equipo	Descripción
1	Bomba de aire	Marca: Elite, Hagen - Maxima Aire a 0.8 m/s Para acuarios de hasta 30 U.S.gal /113.6L
24	Frascos estériles de plástico	Capacidad de 100mL
12	Frascos estériles de vidrio	Capacidad de 250mL
1	Manguera de acuario (para pecera)	10 m de largo en total Transparente, flexible
8	Lámparas fluorescentes	20 W de potencia Entre 5000 y 9000 horas de vida Cátodo Frío, 120 cm de largo
1	Reloj-temporizador	Marca: Intermatic Modelo No. TN311
1	Luxómetro y anemómetro	Marca: Sper Scientific LTD Modelo 850070 Mini Environmental Quality Meter Velocidad de Aire: 0.4 – 25 m/s Intensidad de Luz: 0 – 20,000 Lux

Tabla No. 64 Equipo utilizado en laboratorio

Cantidad	Equipo	Descripción
1	Balanza analítica	Rango: 0-220g ±0.0001g Boeco, Germany
1	Microscopio	Fisher Scientific Micromaster Cat. No. 12563 20
1	Autoclave	NAPCO Modelo 8000- DSE
1	Campana	Flujo de aire transversal Luz blanca y Luz Ultravioleta LABCONCO - Purifier Series
1	Potenciómetro	-5 a 105 °C y -1.99 a 19.99 pH Fisher Scientific
15	Jeringas	5 mL, Posibles de esterilizar
1	Cámara de Neubauer	Tief Depth Profoundeur 0.100mm 0.0025mm ² Neubauer – Improved – Marienfeld
	Beakers	20, 50 mL, 20°C Pyrex USA
	Pipetas	10 ±0.5 mL, 20°C y 1 ±0.1 mL, 20°C DINA Germany
	Buretas	100 ± 0.5 mL, 20°C LMS, DINA Germany 500 ± 5 mL, 20°C Pyrex USA

2. Apéndice B: Diagrama de Flujo del sistema

Figura No. 16 Diagrama de flujo de sistema de cultivo de microalgas

3. Apéndice C: Datos obtenidos

a. Experimentación 1 de microalgas

Tabla No. 65 Características de Experimento 1 - Medio Sintético de Sales

Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 17 horas
Temperatura (promedio)	27.1 °C
Volumen	100mL
Medio de cultivo	Sintético de sales
Código de medio	01
Cepa de microalga	Cepa UVG

Tabla No. 66 Variables controladas en muestras de Experimento 1 - Medio sintético de sales

Muestra	Variable
0101	oxigenado
0102	oxigenado
0103	oxigenado
0104	oxigenado y CO ₂
0105	oxigenado y CO ₂
0106	oxigenado y CO ₂
0107	oxigenado y CO ₂
0108	anóxico con CO ₂
0109	anóxico con CO ₂
0110	anóxico
0111	anóxico
0112	anóxico
0113	anóxico

Tabla No. 67 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales

Día	1			3			7			14			16		
Muestra	Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]		
	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD
0101	34	21	10	71	72	10	85	98	20	103	77	20	43	56	30
0102	18	27	10	68	74	10	96	110	20	87	89	20	39	41	30
0103	30	40	10	70	93	10	130	119	20	136	149	20	55	58	30
0104	11	18	10	30	21	10	61	52	10	36	38	20	28	27	30
0105	4	11	10	29	27	1	19	30	1	23	30	10	11	15	20
0106	41	54	1	35	30	1	38	20	1	23	18	10	21	26	20
0107	76	56	1	50	63	1	17	20	1	9	22	10	10	14	20
0108	40	46	1	71	60	1	10	20	10	9	15	10	17	13	10
0109	25	33	1	61	70	1	60	53	1	7	6	10	10	16	10
0110	10	8	1	18	8	1	14	17	1	15	8	1	19	9	1
0111	13	6	1	18	13	1	17	11	1	9	15	1	25	15	1
0112	7	7	1	24	16	1	11	10	1	15	14	1	10	17	1
0113	8	8	1	15	21	1	18	24	1	7	6	1	17	18	1

Tabla No. 68 Características de Experimento 1 - Medio fertilizante foliar

Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 17 horas
Temperatura (promedio)	27.1 °C
Volumen	100mL
Medio de cultivo	Fertilizante Foliar
Código de medio	02
Cepa de microalga	Cepa UVG

Tabla No. 69 Variables controladas en muestras de Experimento 1 - Medio fertilizante foliar

Muestra	Variable
0201	oxigenado
0202	oxigenado
0203	oxigenado
0204	oxigenado
0205	oxigenado y CO ₂
0206	oxigenado y CO ₂
0207	oxigenado y CO ₂
0208	oxigenado y CO ₂
0209	anóxico con CO ₂
0210	anóxico con CO ₂
0211	anóxico
0212	anóxico
0213	anóxico
0214	anóxico

Tabla No. 70 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar

Día	1			3			9			15			18		
Muestra	Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]			Lectura [unidades]		
	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD	1	2	FD
0201	10	13	1	12	10	10	7	12	10	5	12	20	5	8	20
0202	5	9	1	4	8	10	24	17	10	9	6	20	3	6	20
0203	18	14	1	8	5	10	11	15	10	27	12	20	8	13	20
0204	20	16	1	2	0	10	37	29	1	8	11	20	8	9	20
0205	3	14	1	32	35	1	19	12	10	20	15	20	10	18	20
0206	4	6	1	12	35	1	33	40	1	13	8	20	11	27	20
0207	5	12	1	20	17	1	73	79	1	11	5	20	10	11	20
0208	19	22	1	51	60	1	21	29	10	16	14	20	8	10	20
0209	16	25	1	41	32	1	32	60	1	6	8	10	3	14	10
0210	9	7	1	26	19	1	24	29	1	4	3	10	22	2	10
0211	7	5	1	15	20	1	10	13	1	2	1	10	2	1	10
0212	6	3	1	15	8	1	1	11	1	1	1	10	1	4	10
0213	13	17	1	24	26	1	20	33	1	2	3	10	3	6	10
0214	21	32	1	31	20	1	14	23	1	5	7	10	6	3	10

b. Experimentación 2 de microalgas

Tabla No. 71 Características de Experimento 2 – Medio sintético de sales

Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 17 horas
Temperatura (promedio)	27.5 °C
Volumen	250 mL
Medio de cultivo	Sintético de Sales
Código de medio	01
Cepa de microalga	Cepa UVG

Tabla No. 72 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 2 – Medio sintético de sales

Día		1				5			
Muestra	Variable	Lectura [unidades]				Lectura [unidades]			
		1	2	3	FD	1	2	3	FD
103	Oxigenado	2	5	6	1	47	34	23	1
104	Oxigenado + CO ₂	5	5	6	1	40	35	36	1

Día		8				12				22			
Muestra	Variable	Lectura [unidades]				Lectura [unidades]				Lectura [unidades]			
		1	2	3	FD	1	2	3	FD	1	2	3	FD
103	Oxigenado	47	54	40	1	112	100	115	1	10	4	6	20
104	Oxigenado + CO ₂	45	58	38	1	72	73	81	1	10	7	11	20

Tabla No. 73 Características de Experimento 2 – Medio fertilizante foliar

Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 17 horas
Temperatura (promedio)	27.5 °C
Volumen	250 mL
Medio de cultivo	fertilizante foliar
Código de medio	02
Cepa de microalga	Cepa UVG

Tabla No. 74 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 2 – Medio fertilizante foliar

Día		1				5				8			
Muestra	Variable	Lectura [unidades]				Lectura [unidades]				Lectura [unidades]			
		1	2	3	FD	1	2	3	FD	1	2	3	FD
203	Oxigenado	3	2	2	1	113	141	109	1	15	19	16	10
204	Oxigenado + CO ₂	1	1	2	1	116	91	64	1	17	14	13	10

Día		12				22			
Muestra	Variable	Lectura [unidades]				Lectura [unidades]			
		1	2	3	FD	1	2	3	FD
203	Oxigenado	30	33	35	10	20	15	11	20
204	Oxigenado + CO ₂	29	24	33	10	15	13	11	20

c. Experimentación 3 de microalgas

Tabla No. 75 Características de Experimento 3 - Cepa *Scenedesmus sp.*

Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 24 horas
Temperatura (promedio)	23.3°C
Volumen	250 mL
Medio de cultivo	Sintético de sales y fertilizante foliar
Código de medio	01 y 02
Cepa de microalga	<i>Scenedesmus sp</i>
Código de cepa	A

Tabla No. 76 Características de Experimento 3- Cepa UVG

Variable controlada	Tiempo
Aire	0.8 m/s por 24 h
Luz	por 24 horas
Temperatura (promedio)	23.3°C
Volumen	250 mL
Medio de Cultivo	Sintético de sales y fertilizante foliar
Código de medio	01 y 02
Cepa de microalga	Cepa UVG
Código de Cepa	B

Tabla No. 77 Lectura de crecimiento de microalgas, Experimento 3 – Medio sintético de sales y fertilizante foliar, cepas: *Scenedesmus sp.* Y UVG.

Muestra	Variable	1					3					6					9				
		1	2	3	4	FD	1	2	3	4	FD	1	2	3	4	FD	1	2	3	4	FD
A0101	Oxigenada	14	20	12	14	1	29	28	36	37	1	15	16	12	13	10	28	22	30	24	10
B0104	Oxigenada	17	29	39	42	1	17	8	14	13	10	26	26	29	16	10	44	38	39	42	10
A0201	Oxigenada	16	15	16	14	1	31	37	31	17	1	7	8	11	9	10	16	13	13	14	10
B0204	Oxigenada	7	9	6	19	10	15	11	12	19	10	20	22	25	29	10	35	36	31	33	10

4. Apéndice D: Cálculos de muestra

a. Elaboración de medio sintético de sales. Cálculo para determinar la cantidad total de medio que se va a elaborar, a partir de las indicaciones de elaboración de medio de cultivo de la ATCC³.

- Elaboración de soluciones stock de sales
Pesar sales, según Figura No. 17 (página 246) y disolver a 400 mL.
- Elaboración de medio de cultivo
Se toma una alícuota de cada solución Stock y se elabora el medio de cultivo.
10 mL de cada solución stock para 1000mL de medio.
Se desea hacer 1500mL de medio.

$$1500 \text{ mL de medio} * \frac{10 \text{ mL de solución stock}}{1000 \text{ mL de medio}} = 15 \text{ mL de solución stock}$$

$$\begin{aligned} &(15.0 \pm 0.1) \text{ mL NaNO}_3 + (15.0 \pm 0.1) \text{ mL CaCl}_2 + (15.0 \pm 0.1) \text{ mL MgSO}_4 \\ &+ (15.0 \pm 0.1) \text{ mL K}_2\text{HPO}_4 + (15.0 \pm 0.1) \text{ mL KH}_2\text{PO}_4 + (15.0 \pm 0.1) \text{ mL NaCl} \\ &= (90.0 \pm 0.2) \text{ mL} \end{aligned}$$

$$1500 \text{ mL} - 90 \text{ mL} = 1410 \text{ mL de H}_2\text{O}$$

$$(90.0 \pm 0.2) \text{ mL} + (1410 \pm 5) \text{ mL} = (1500 \pm 5.006) \text{ mL de medio}$$

Se asume que son volúmenes aditivos.

³ Ver Apéndice: Medio de cultivo, en página 285

b. Elaboración de medio de fertilizante foliar

Se desea preparar 1500 mL de medio. Se hace una dilución del Fertilizante Nitrofoska® Foliar 1:100mL

$$1500 \text{ mL de medio} * \frac{1 \text{ ml de Nitrofoska® Foliar}}{100 \text{ mL de medio}} = 15 \text{ mL de Nitrofoska® Foliar}$$

$$1500 \text{ ml} - 15 \text{ mL} = 1485 \text{ mL de H}_2\text{O}$$

$$(15.0 \pm 0.1) \text{ mL} + (1485 \pm 5) \text{ mL} = (1500 \pm 5) \text{ mL de medio}$$

- c. Unidades de microalga por mililitro. Éste cálculo se realiza a partir de la lectura realizada en el microscopio con la cámara Neubauer.

Ecuación No. 3 Unidades de microalga por mililitro

$$\frac{\text{unidades}}{\text{mL}} = N * 25 * 50 * 1000 * FD \text{ (María Aquiahuatl, 2004)}$$

Donde:

N= las unidades leídas en el microscopio con la cámara Neubauer

FD = factor de dilución

25 = cantidad de cuadros que la cámara tiene

50*1000 = constantes para obtener el resultado en mL

Ejemplo: Se realiza el ejemplo con los datos de la primera lectura, del primero día, de la Tabla No. 567, para la muestra 0101.

$$\frac{\text{unidades}}{\text{mL}} = 34 \text{ unidades} * 25 * 50 * 1000 * 1 = 42,500,000 \frac{\text{unidades}}{\text{mL}}$$

Se realiza el mismo cálculo para todos los demás datos de las siguientes tablas: Tabla No. 67, Tabla No. 70, Tabla No. 72, Tabla No. 74 y Tabla No. 77. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93.

5. Apéndice E: Datos calculados

a. Elaboración de medio de cultivo sintético de sales

Tabla No. 78 Elaboración de soluciones stock de sales

Sales	Sales	H ₂ O
	Masa [g]	Volumen [mL]
NaNO ₃	10.0002 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
CaCl ₂	0.9998 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
MgSO ₄	3.0002 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
K ₂ HPO ₄	2.9997 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
KH ₂ PO ₄	7.0001 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
NaCl	1.0001 ± 0.0001	400.0 ± 0.5
FeCl ₃	0.9989 ± 0.0001	100.0 ± 0.5

Tabla No. 79 Volúmenes para elaboración de medio de cultivo sintético de sales

Componentes	Solución de sales
	Volumen [mL]
NaNO ₃	15.000 ± 0.1
CaCl ₂	15.000 ± 0.1
MgSO ₄	15.000 ± 0.1
K ₂ HPO ₄	15.000 ± 0.1
KH ₂ PO ₄	15.000 ± 0.1
NaCl	15.000 ± 0.1
Agua destilada	1410.000 ± 5
Medio sintético de sales	1500.000 ± 5.006
FeCl ₃	0.10 ± 0.05
Medio sintético de sales	1500.100 ± 5.006

b. Elaboración de medio de cultivo de fertilizante foliar

Tabla No. 80 Volúmenes para elaboración de medio de cultivo fertilizante foliar

Componentes	Medio de Fertilizante Foliar
	Volumen [mL]
Fertilizante	15.000 ± 0.1
Agua destilada	1485 ± 5
Medio de fertilizante foliar	1500 ± 5.001

c. Cultivo 1 de microalgas

Tabla No. 81 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales

Día	1		3		7	
	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	1	2	1	2	1	2
101	425,000,000	262,500,000	887,500,000	900,000,000	2,125,000,000	2,450,000,000
102	225,000,000	337,500,000	850,000,000	925,000,000	2,400,000,000	2,750,000,000
103	375,000,000	500,000,000	875,000,000	1,162,500,000	3,250,000,000	2,975,000,000
104	137,500,000	225,000,000	375,000,000	262,500,000	762,500,000	650,000,000
105	50,000,000	137,500,000	36,250,000	33,750,000	23,750,000	37,500,000
106	51,250,000	67,500,000	43,750,000	37,500,000	47,500,000	25,000,000
107	95,000,000	70,000,000	62,500,000	78,750,000	21,250,000	25,000,000
108	50,000,000	57,500,000	88,750,000	75,000,000	125,000,000	250,000,000
109	31,250,000	41,250,000	76,250,000	87,500,000	75,000,000	66,250,000
110	12,500,000	10,000,000	22,500,000	10,000,000	17,500,000	21,250,000
111	16,250,000	7,500,000	22,500,000	16,250,000	21,250,000	13,750,000
112	8,750,000	8,750,000	30,000,000	20,000,000	13,750,000	12,500,000
113	10,000,000	10,000,000	18,750,000	26,250,000	22,500,000	30,000,000

Día	14		16	
	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	1	2	1	2
101	2,575,000,000	1,925,000,000	1,612,500,000	2,100,000,000
102	2,175,000,000	2,225,000,000	1,462,500,000	1,537,500,000
103	3,400,000,000	3,725,000,000	2,062,500,000	2,175,000,000
104	900,000,000	950,000,000	1,050,000,000	1,012,500,000
105	287,500,000	375,000,000	275,000,000	375,000,000
106	287,500,000	225,000,000	525,000,000	650,000,000
107	112,500,000	275,000,000	250,000,000	350,000,000
108	112,500,000	187,500,000	212,500,000	162,500,000
109	87,500,000	75,000,000	125,000,000	200,000,000
110	18,750,000	10,000,000	23,750,000	11,250,000
111	11,250,000	18,750,000	31,250,000	18,750,000
112	18,750,000	17,500,000	12,500,000	21,250,000
113	8,750,000	7,500,000	21,250,000	22,500,000

Tabla No. 82 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - medio sintético de sales (Parte 1)

Día	1			3			7		
	Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]		
	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm
101	343,750,000	114,904,852	81,250,000	893,750,000	8,838,835	6,250,000	2,287,500,000	229,809,704	162,500,000
102	281,250,000	79,549,513	56,250,000	887,500,000	53,033,009	37,500,000	2,575,000,000	247,487,373	175,000,000
103	437,500,000	88,388,348	62,500,000	1,018,750,000	203,293,200	143,750,000	3,112,500,000	194,454,365	137,500,000
104	181,250,000	61,871,843	43,750,000	318,750,000	79,549,513	56,250,000	706,250,000	79,549,513	56,250,000
105	93,750,000	61,871,843	43,750,000	35,000,000	1,767,767	1,250,000	30,625,000	9,722,718	6,875,000
106	59,375,000	11,490,485	8,125,000	40,625,000	4,419,417	3,125,000	36,250,000	15,909,903	11,250,000
107	82,500,000	17,677,670	12,500,000	70,625,000	11,490,485	8,125,000	23,125,000	2,651,650	1,875,000
108	53,750,000	5,303,301	3,750,000	81,875,000	9,722,718	6,875,000	187,500,000	88,388,348	62,500,000
109	36,250,000	7,071,068	5,000,000	81,875,000	7,954,951	5,625,000	70,625,000	6,187,184	4,375,000
110	11,250,000	1,767,767	1,250,000	16,250,000	8,838,835	6,250,000	19,375,000	2,651,650	1,875,000
111	11,875,000	6,187,184	4,375,000	19,375,000	4,419,417	3,125,000	17,500,000	5,303,301	3,750,000
112	8,750,000	0	0	25,000,000	7,071,068	5,000,000	13,125,000	883,883	625,000
113	10,000,000	0	0	22,500,000	5,303,301	3,750,000	26,250,000	5,303,301	3,750,000

Día	14			16		
	Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]		
	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm
101	2,250,000,000	459,619,408	325,000,000	1,856,250,000	344,714,556	243,750,000
102	2,200,000,000	35,355,339	25,000,000	1,500,000,000	53,033,009	37,500,000
103	3,562,500,000	229,809,704	162,500,000	2,118,750,000	79,549,513	56,250,000
104	925,000,000	35,355,339	25,000,000	1,031,250,000	26,516,504	18,750,000
105	331,250,000	61,871,843	43,750,000	325,000,000	70,710,678	50,000,000
106	256,250,000	44,194,174	31,250,000	587,500,000	88,388,348	62,500,000
107	193,750,000	114,904,852	81,250,000	300,000,000	70,710,678	50,000,000
108	150,000,000	53,033,009	37,500,000	187,500,000	35,355,339	25,000,000
109	81,250,000	8,838,835	6,250,000	162,500,000	53,033,009	37,500,000
110	14,375,000	6,187,184	4,375,000	17,500,000	8,838,835	6,250,000
111	15,000,000	5,303,301	3,750,000	25,000,000	8,838,835	6,250,000
112	18,125,000	883,883	625,000	16,875,000	6,187,184	4,375,000
113	8,125,000	883,883	625,000	21,875,000	883,883	625,000

Tabla No. 83 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio sintético de sales (Parte 2)

Día	1		3	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
101	33.43%	162,500,000	0.99%	12,500,000
102	28.28%	112,500,000	5.98%	75,000,000
103	20.20%	125,000,000	19.96%	287,500,000
104	34.14%	87,500,000	24.96%	112,500,000
105	66.00%	87,500,000	5.05%	2,500,000
106	19.35%	16,250,000	10.88%	6,250,000
107	21.43%	25,000,000	16.27%	16,250,000
108	9.87%	7,500,000	11.88%	13,750,000
109	19.51%	10,000,000	9.72%	11,250,000
110	15.71%	2,500,000	54.39%	12,500,000
111	52.10%	8,750,000	22.81%	6,250,000
112	0.00%	0	28.28%	10,000,000
113	0.00%	0	23.57%	7,500,000

Día	7		14		16	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
101	10.05%	325,000,000	20.43%	650,000,000	18.57%	487,500,000
102	9.61%	350,000,000	1.61%	50,000,000	3.54%	75,000,000
103	6.25%	275,000,000	6.45%	325,000,000	3.75%	112,500,000
104	11.26%	112,500,000	3.82%	50,000,000	2.57%	37,500,000
105	31.75%	13,750,000	18.68%	87,500,000	21.76%	100,000,000
106	43.89%	22,500,000	17.25%	62,500,000	15.04%	125,000,000
107	11.47%	3,750,000	59.31%	162,500,000	23.57%	100,000,000
108	47.14%	125,000,000	35.36%	75,000,000	18.86%	50,000,000
109	8.76%	8,750,000	10.88%	12,500,000	32.64%	75,000,000
110	13.69%	3,750,000	43.04%	8,750,000	50.51%	12,500,000
111	30.30%	7,500,000	35.36%	7,500,000	35.36%	12,500,000
112	6.73%	1,250,000	4.88%	1,250,000	36.66%	8,750,000
113	20.20%	7,500,000	10.88%	1,250,000	4.04%	1,250,000

Tabla No. 84 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar

Día	1		3		9	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	1	2	1	2	1	2
201	12,500,000	16,250,000	150,000,000	125,000,000	87,500,000	150,000,000
202	6,250,000	11,250,000	50,000,000	100,000,000	300,000,000	212,500,000
203	22,500,000	17,500,000	100,000,000	62,500,000	137,500,000	187,500,000
204	25,000,000	20,000,000	25,000,000	0	46,250,000	36,250,000
205	3,750,000	17,500,000	40,000,000	43,750,000	237,500,000	150,000,000
206	5,000,000	7,500,000	15,000,000	43,750,000	41,250,000	50,000,000
207	6,250,000	15,000,000	25,000,000	21,250,000	91,250,000	98,750,000
208	23,750,000	27,500,000	63,750,000	75,000,000	262,500,000	362,500,000
209	20,000,000	31,250,000	51,250,000	40,000,000	40,000,000	75,000,000
210	11,250,000	8,750,000	32,500,000	23,750,000	30,000,000	36,250,000
211	8,750,000	6,250,000	18,750,000	25,000,000	12,500,000	16,250,000
212	7,500,000	3,750,000	18,750,000	10,000,000	1,250,000	13,750,000
213	16,250,000	21,250,000	30,000,000	32,500,000	25,000,000	41,250,000
214	26,250,000	40,000,000	38,750,000	25,000,000	17,500,000	28,750,000

Día	15		18	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	1	2	1	2
201	125,000,000	300,000,000	125,000,000	200,000,000
202	225,000,000	150,000,000	75,000,000	150,000,000
203	675,000,000	300,000,000	200,000,000	325,000,000
204	200,000,000	275,000,000	200,000,000	225,000,000
205	500,000,000	375,000,000	250,000,000	450,000,000
206	325,000,000	200,000,000	275,000,000	675,000,000
207	275,000,000	125,000,000	250,000,000	275,000,000
208	400,000,000	350,000,000	200,000,000	250,000,000
209	75,000,000	100,000,000	37,500,000	175,000,000
210	50,000,000	37,500,000	275,000,000	25,000,000
211	25,000,000	12,500,000	25,000,000	12,500,000
212	12,500,000	12,500,000	12,500,000	50,000,000
213	25,000,000	37,500,000	37,500,000	75,000,000
214	62,500,000	87,500,000	75,000,000	37,500,000

Tabla No. 85 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar (Parte 1)

Día	1			3			9		
	Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]		
	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm
201						14,375,000			2,651,650
202	8,750,000	3,535,534	2,500,000	75,000,000	35,355,339	25,000,000	256,250,000	61,871,843	43,750,000
203	20,000,000	3,535,534	2,500,000	81,250,000	26,516,504	18,750,000	162,500,000	35,355,339	25,000,000
204	22,500,000	3,535,534	2,500,000	12,500,000	17,677,670	12,500,000	41,250,000	7,071,068	5,000,000
205	10,625,000	9,722,718	6,875,000	41,875,000	2,651,650	1,875,000	193,750,000	61,871,843	43,750,000
206	6,250,000	1,767,767	1,250,000	29,375,000	20,329,320	14,375,000	45,625,000	6,187,184	4,375,000
207	10,625,000	6,187,184	4,375,000	23,125,000	2,651,650	1,875,000	95,000,000	5,303,301	3,750,000
208	25,625,000	2,651,650	1,875,000	69,375,000	7,954,951	5,625,000	312,500,000	70,710,678	50,000,000
209	25,625,000	7,954,951	5,625,000	45,625,000	7,954,951	5,625,000	57,500,000	24,748,737	17,500,000
210	10,000,000	1,767,767	1,250,000	28,125,000	6,187,184	4,375,000	33,125,000	4,419,417	3,125,000
211	7,500,000	1,767,767	1,250,000	21,875,000	4,419,417	3,125,000	14,375,000	2,651,650	1,875,000
212	5,625,000	2,651,650	1,875,000	14,375,000	6,187,184	4,375,000	7,500,000	8,838,835	6,250,000
213	18,750,000	3,535,534	2,500,000	31,250,000	1,767,767	1,250,000	33,125,000	11,490,485	8,125,000
214	33,125,000	9,722,718	6,875,000	31,875,000	9,722,718	6,875,000	23,125,000	7,954,951	5,625,000

Día	15			18		
	Crecimiento [u/ml]			Crecimiento [u/ml]		
	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm	Media,	Desviación Estándar, S	Desviación Estándar de la Media, Sm
201						212,500,000
202	187,500,000	53,033,009	37,500,000	112,500,000	53,033,009	37,500,000
203	487,500,000	265,165,043	187,500,000	262,500,000	88,388,348	62,500,000
204	237,500,000	53,033,009	37,500,000	212,500,000	17,677,670	12,500,000
205	437,500,000	88,388,348	62,500,000	350,000,000	141,421,356	100,000,000
206	262,500,000	88,388,348	62,500,000	475,000,000	282,842,712	200,000,000
207	200,000,000	106,066,017	75,000,000	262,500,000	17,677,670	12,500,000
208	375,000,000	35,355,339	25,000,000	225,000,000	35,355,339	25,000,000
209	87,500,000	17,677,670	12,500,000	106,250,000	97,227,182	68,750,000
210	43,750,000	8,838,835	6,250,000	150,000,000	176,776,695	125,000,000
211	18,750,000	8,838,835	6,250,000	18,750,000	8,838,835	6,250,000
212	12,500,000	0	0	31,250,000	26,516,504	18,750,000
213	31,250,000	8,838,835	6,250,000	56,250,000	26,516,504	18,750,000
214	75,000,000	17,677,670	12,500,000	56,250,000	26,516,504	18,750,000

Tabla No. 86 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 1 - Medio fertilizante foliar (Parte 2)

Día	1		3		7	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,
		w		w		w
201	18.45%	3,750,000	12.86%	25,000,000	37.22%	62,500,000
202	40.41%	5,000,000	47.14%	50,000,000	24.15%	87,500,000
203	17.68%	5,000,000	32.64%	37,500,000	21.76%	50,000,000
204	15.71%	5,000,000	141.42%	25,000,000	17.14%	10,000,000
205	91.51%	13,750,000	6.33%	3,750,000	31.93%	87,500,000
206	28.28%	2,500,000	69.21%	28,750,000	13.56%	8,750,000
207	58.23%	8,750,000	11.47%	3,750,000	5.58%	7,500,000
208	10.35%	3,750,000	11.47%	11,250,000	22.63%	100,000,000
209	31.04%	11,250,000	17.44%	11,250,000	43.04%	35,000,000
210	17.68%	2,500,000	22.00%	8,750,000	13.34%	6,250,000
211	23.57%	2,500,000	20.20%	6,250,000	18.45%	3,750,000
212	47.14%	3,750,000	43.04%	8,750,000	117.85%	12,500,000
213	18.86%	5,000,000	5.66%	2,500,000	34.69%	16,250,000
214	29.35%	13,750,000	30.50%	13,750,000	34.40%	11,250,000

Día	14		16	
Muestra	Crecimiento [u/ml]		Crecimiento [u/ml]	
	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,
		w		w
201	58.23%	175,000,000	32.64%	75,000,000
202	28.28%	75,000,000	47.14%	75,000,000
203	54.39%	375,000,000	33.67%	125,000,000
204	22.33%	75,000,000	8.32%	25,000,000
205	20.20%	125,000,000	40.41%	200,000,000
206	33.67%	125,000,000	59.55%	400,000,000
207	53.03%	150,000,000	6.73%	25,000,000
208	9.43%	50,000,000	15.71%	50,000,000
209	20.20%	25,000,000	91.51%	137,500,000
210	20.20%	12,500,000	117.85%	250,000,000
211	47.14%	12,500,000	47.14%	12,500,000
212	0.00%	0	84.85%	37,500,000
213	28.28%	12,500,000	47.14%	37,500,000
214	23.57%	25,000,000	47.14%	37,500,000

Tabla No. 87 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo sintético de sales, Experimento 1

Días	1				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media, S,	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	354,166,667	78,644,109	45,405,197	22.21%	156,250,000
Oxygenado y CO ₂	104,218,750	53,310,644	26,655,322	51.15%	121,875,000
Anóxico y CO ₂	45,000,000	12,374,369	8,750,000	27.50%	17,500,000
Anóxico	10,468,750	1,385,847	692,924	13.24%	3,125,000

Días	3				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media, S,	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	933,333,333	74,038,982	42,746,426	7.93%	131,250,000
Oxygenado y CO ₂	116,250,000	135,902,654	67,951,327	116.91%	283,750,000
Anóxico y CO ₂	81,875,000	0	0	0.00%	0
Anóxico	20,781,250	3,797,443	1,898,721	18.27%	5,625,000

Días	7				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media	Desviación	Desviación	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,
Oxygenado	2,658,333,333	418,765,547	241,774,401	15.75%	537,500,000
Oxygenado y CO ₂	199,062,500	338,167,742	169,083,871	169.88%	683,125,000
Anóxico y CO ₂	129,062,500	82,643,105	58,437,500	64.03%	116,875,000
Anóxico	19,062,500	5,460,559	2,730,280	28.65%	13,125,000

Continúa en la siguiente página.

Continuación de Tabla No. 87 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo sintético de sales, Experimento 1

Días	14				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión,
Oxygenado	2,670,833,333	772,610,564	446,066,917	28.93%	1,362,500,000
Oxygenado y CO2	426,562,500	337,012,572	168,506,286	79.01%	731,250,000
Anóxico y CO2	115,625,000	48,613,591	34,375,000	42.04%	68,750,000
Anóxico	13,906,250	4,188,744	2,094,372	30.12%	10,000,000

Días	16				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media,	Desviación	Desviación	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	1,825,000,000	310,556,456	179,299,854	17.02%	262,500,000
Oxygenado y CO2	560,937,500	339,437,916	169,718,958	60.51%	731,250,000
Anóxico y CO2	175,000,000	17,677,670	12,500,000	10.10%	25,000,000
Anóxico	20,312,500	3,835,823	1,917,912	18.88%	8,125,000

Tabla No. 88 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo fertilizante foliar, Experimento 1

Días	1				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	16,406,250	6,131,693	3,065,846	37.37%	11,250,000
Oxygenado y CO2	13,281,250	8,483,670	4,241,835	63.88%	19,375,000
Anóxico y CO2	17,812,500	11,048,543	7,812,500	62.03%	15,625,000
Anóxico	16,250,000	12,655,285	6,327,643	77.88%	27,500,000

Días	3				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	149,375,000	88,367,721	44,183,861	59.16%	215,000,000
Oxygenado y CO2	161,718,750	117,884,317	58,942,159	72.89%	266,875,000
Anóxico y CO2	45,312,500	17,235,728	12,187,500	38.04%	-24,375,000
Anóxico	19,531,250	11,091,182	5,545,591	56.79%	25,625,000

Días	9				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	144,687,500	89,694,940	44,847,470	61.99%	215,000,000
Oxygenado y CO2	161,718,750	117,884,317	58,942,159	72.89%	266,875,000
Anóxico y CO2	45,312,500	17,235,728	12,187,500	38.04%	24,375,000
Anóxico	19,531,250	11,091,182	5,545,591	56.79%	25,625,000

Continúa en la siguiente página.

Continuación de la Tabla No. 88 Media de resultados de crecimiento en cada variable para medio de cultivo fertilizante foliar, Experimento 1

Días	15				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	281,250,000	139,006,894	69,503,447	49.42%	300,000,000
Oxygenado y CO ₂	318,750,000	107,286,610	53,643,305	33.66%	237,500,000
Anóxico y CO ₂	65,625,000	30,935,922	21,875,000	47.14%	43,750,000
Anóxico	34,375,000	28,182,811	14,091,405	81.99%	62,500,000

Días	18				
Variable	Crecimiento [u/mL]				
	Media, \bar{X}	Desviación	Desviación	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
Oxygenado	187,500,000	64,549,722	32,274,861	34.43%	150,000,000
Oxygenado y CO ₂	328,125,000	111,043,816	55,521,908	33.84%	250,000,000
Anóxico y CO ₂	128,125,000	30,935,922	21,875,000	24.15%	43,750,000
Anóxico	40,625,000	18,750,000	9,375,000	46.15%	25,000,000

d. Experimento 2 de microalgas

Tabla No. 89 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio sintético de sales

Día	1		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
103	2,500,000	6,250,000	7,500,000
104	6,250,000	6,250,000	7,500,000

Día	5		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
103	58,750,000	42,500,000	28,750,000
104	50,000,000	43,750,000	45,000,000

Día	8		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
103	58,750,000	67,500,000	50,000,000
104	56,250,000	72,500,000	47,500,000

Día	12		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
103	140,000,000	125,000,000	143,750,000
104	90,000,000	91,250,000	101,250,000

Día	22		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
103	250,000,000	100,000,000	150,000,000
104	250,000,000	175,000,000	275,000,000

Tabla No. 90 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio sintético de sales

Día	1				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
103	5,416,667	2,602,082	1,502,313	48.04%	5,000,000
104	6,666,667	721,688	416,667	10.83%	1,250,000

Día	5				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
103	43,333,333	15,017,351	8,670,272	34.66%	30,000,000
104	46,250,000	3,307,189	1,909,407	7.15%	6,250,000

Día	8				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
103	58,750,000	8,750,000	5,051,815	14.89%	17,500,000
104	58,750,000	12,686,114	7,324,332	21.59%	25,000,000

Día	12				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
103	136,250,000	9,921,567	5,728,220	7.28%	18,750,000
104	94,166,667	6,166,104	3,560,002	6.55%	11,250,000

Día	22				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coeficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
103	166,666,667	76,376,262	44,095,855	45.83%	150,000,000
104	233,333,333	52,041,650	30,046,261	22.30%	100,000,000

Tabla No. 91 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio fertilizante foliar

Día	1		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
203	3,750,000	2,500,000	2,500,000
204	1,250,000	1,250,000	2,500,000

Día	5		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
203	141,250,000	176,250,000	136,250,000
204	145,000,000	113,750,000	80,000,000

Día	8		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
203	187,500,000	237,500,000	200,000,000
204	212,500,000	175,000,000	162,500,000

Día	12		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
203	375,000,000	412,500,000	437,500,000
204	362,500,000	300,000,000	412,500,000

Día	22		
Muestra	Crecimiento [u/ml]		
	1	2	3
203	500,000,000	375,000,000	275,000,000
204	375,000,000	325,000,000	275,000,000

Tabla No. 92 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 2 - Medio fertilizante foliar

Día	1				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
203	2,916,667	721,688	416,667	24.74%	1,250,000
204	1,666,667	721,688	416,667	43.30%	1,250,000

Día	5				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
203	151,250,000	21,794,495	12,583,057	14.41%	40,000,000
204	112,916,667	32,508,012	18,768,509	28.79%	65,000,000

Día	8				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
203	208,333,333	26,020,825	15,023,130	12.49%	50,000,000
204	183,333,333	26,020,825	15,023,130	14.19%	50,000,000

Día	12				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
203	408,333,333	31,457,643	18,162,079	7.70%	62,500,000
204	358,333,333	56,365,622	32,542,707	15.73%	112,500,000

Día	22				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
203	383,333,333	112,731,244	65,085,414	29.41%	225,000,000
204	325,000,000	50,000,000	28,867,513	15.38%	100,000,000

e. Experimento 3 de microalgas

Tabla No. 93 Cálculo de crecimiento de microalgas, Experimento 3

Día	1			
Muestra	Crecimiento [u/ml]			
	1	2	3	4
A0101	17,500,000	25,000,000	15,000,000	17,500,000
B0104	21,250,000	36,250,000	48,750,000	52,500,000
A0201	20,000,000	18,750,000	20,000,000	17,500,000
B0204	87,500,000	112,500,000	75,000,000	237,500,000

Día	3			
Muestra	Crecimiento [u/ml]			
	1	2	3	4
A0101	36,250,000	35,000,000	45,000,000	46,250,000
B0104	212,500,000	100,000,000	175,000,000	162,500,000
A0201	38,750,000	46,250,000	38,750,000	21,250,000
B0204	187,500,000	137,500,000	150,000,000	237,500,000

Día	6			
Muestra	Crecimiento [u/ml]			
	1	2	3	4
A0101	12,500,000	187,500,000	200,000,000	150,000,000
B0104	125,000,000	325,000,000	325,000,000	362,500,000
A0201	12,500,000	87,500,000	100,000,000	137,500,000
B0204	125,000,000	250,000,000	275,000,000	312,500,000

Día	9			
Muestra	Crecimiento [u/ml]			
	1	2	3	4
A0101	125,000,000	350,000,000	275,000,000	375,000,000
B0104	125,000,000	550,000,000	475,000,000	487,500,000
A0201	125,000,000	200,000,000	162,500,000	162,500,000
B0204	125,000,000	437,500,000	450,000,000	387,500,000

Tabla No. 94 Cálculo estadístico de crecimiento de microalgas, Experimento 3

Día	1				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
A0101	18,750,000	4,330,127	2,165,064	23.09%	2,500,000
B0104	39,687,500	14,119,099	7,059,550	35.58%	31,250,000
A0201	19,062,500	1,196,784	598,392	6.28%	2,500,000
B0204	128,125,000	74,564,709	37,282,355	58.20%	162,500,000

Día	3				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
A0101	40,625,000	5,818,433	2,909,217	14.32%	11,250,000
B0104	162,500,000	46,770,717	23,385,359	28.78%	112,500,000
A0201	36,250,000	10,606,602	5,303,301	29.26%	25,000,000
B0204	178,125,000	44,924,706	22,462,353	25.22%	100,000,000

Día	6				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
A0101	137,500,000	85,999,031	42,999,516	62.54%	187,500,000
B0104	284,375,000	107,710,550	53,855,275	37.88%	237,500,000
A0201	84,375,000	52,415,607	26,207,803	62.12%	125,000,000
B0204	240,625,000	81,250,000	40,625,000	33.77%	187,500,000

Día	9				
Muestra	Crecimiento [u/ml]				
	Media	Desviación estándar, S	Desviación estándar de la media	Coefficiente de Variación, CV [%]	Dispersión, w
A0101	281,250,000	112,500,000	56,250,000	40.00%	150,000,000
B0104	409,375,000	192,401,219	96,200,610	47.00%	362,500,000
A0201	162,500,000	30,618,622	15,309,311	18.84%	37,500,000
B0204	350,000,000	152,411,176	76,205,588	43.55%	262,500,000

6. Apéndice F: Análisis de error

a. Media

Valor promedio de más de una medición

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n a_i \text{ (Skoog \& Holler, 2008)} \quad \square$$

Ecuación No. 4

Donde:

\bar{x} = media

n= corridas realizadas

Ejemplo:

Se realiza el ejemplo con los datos del primero día de la Tabla No. 81, para la muestra 0101.

$$\bar{x} = 425,000,000 + 262,500,000 = 343,750,000 \frac{u}{mL}$$

Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 82, Tabla No. 85, Tabla No. 87, Tabla No. 88, Tabla No. 90, Tabla No. 92 y Tabla No. 94.

b. Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \text{ (Skoog \& Holler, 2008)} \quad \square$$

Ecuación No. 5

Donde:

x_i = valor i de la media

\bar{x} = media

N-1 = número de grados de libertad, donde N es el número de datos

Ejemplo:

Se realiza el ejemplo con los datos del primero día de la Tabla No. 81, para la muestra 0101.

$$S = \sqrt{\frac{(425,000,000 - 343,750,000)^2 + (262,500,000 - 343,750,000)^2}{2 - 1}} \frac{u}{mL}$$

$$= 114,904,852 \frac{u}{mL}$$

Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 82, Tabla No. 85, Tabla No. 87, Tabla No. 88, Tabla No. 90, Tabla No. 92 y Tabla No. 94.

c. Desviación estándar de la media o error estándar de la media

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{N}} \text{(Skoog \& Holler, 2008) \textcircled{2}}$$

Ecuación No. 6**Donde:**

S = Desviación estándar

N= número de datos

Ejemplo:

Se realiza el ejemplo con los datos del primero día de la Tabla No. 81, para la muestra 0101.

$$S_m = \frac{114,904,852 \frac{u}{mL}}{\sqrt{2}} = 81,250,000 \frac{u}{mL}$$

Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 82, Tabla No. 85, Tabla No. 87, Tabla No. 88, Tabla No. 90, Tabla No. 92 y Tabla No. 94.

- d. Coeficiente de variación o proporción de desviación estándar

$$CV [\%] = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \text{ (Skoog \& Holler, 2008)} \quad \square$$

Ecuación No. 7

Donde:

S = Desviación estándar

\bar{x} = Media

Ejemplo:

Se realiza el ejemplo con los datos del primero día de la Tabla No. 81, para la muestra 0101.

$$CV[\%] = \frac{114,904,852 \frac{u}{mL}}{343,750,000 \frac{u}{mL}} * 100 = 33.43\%$$

Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 82, Tabla No. 85, Tabla No. 87, Tabla No. 88, Tabla No. 90, Tabla No. 92 y Tabla No. 94.

- e. Dispersión

$$w = \text{valor más alto} - \text{valor más bajo} \text{ (Skoog \& Holler, 2008)} \quad \square$$

Ecuación No. 8

Ejemplo:

Se realiza el ejemplo con los datos del primero día de la Tabla No. 81, para la muestra 0101.

$$w = 425,000,000 - 262,500,000 = 162,500,000$$

Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 81, Tabla No. 84, Tabla No. 89, Tabla No. 91 y Tabla No. 93. Los resultados se encuentran en las tablas: Tabla No. 82, Tabla No. 85, Tabla No. 87, Tabla No. 88, Tabla No. 90, Tabla No. 92 y Tabla No. 94.

f. Desviación estándar de una sumas o restas

$$s_y = \sqrt{s_a^2 + s_b^2} \text{ (Skoog \& Holler, 2008) } \square$$

Ecuación No. 9

Ejemplo:

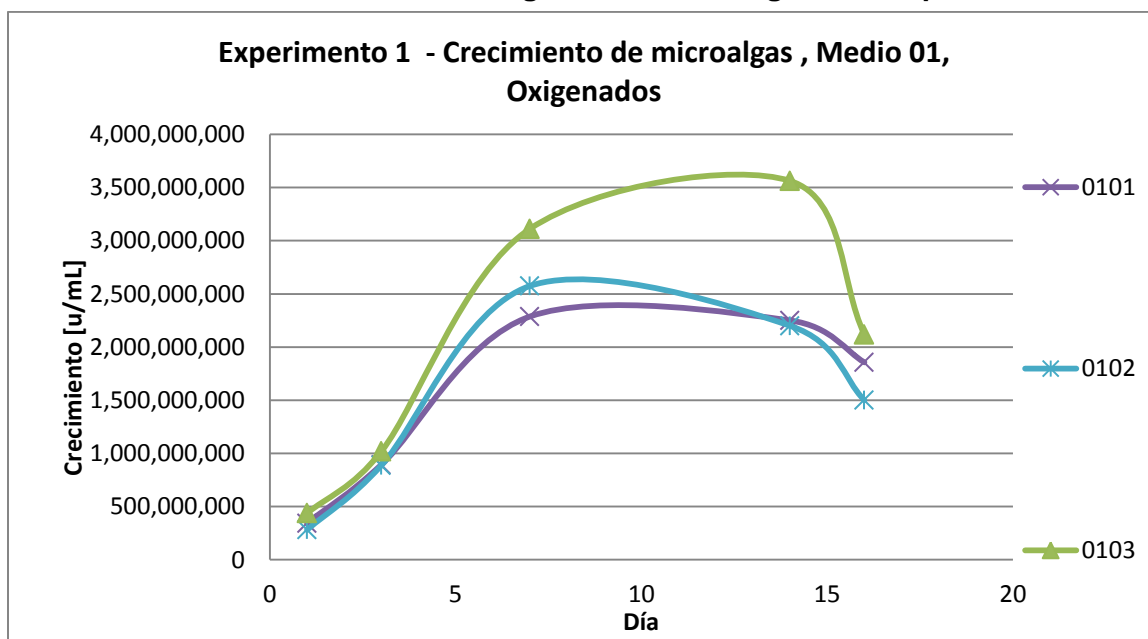
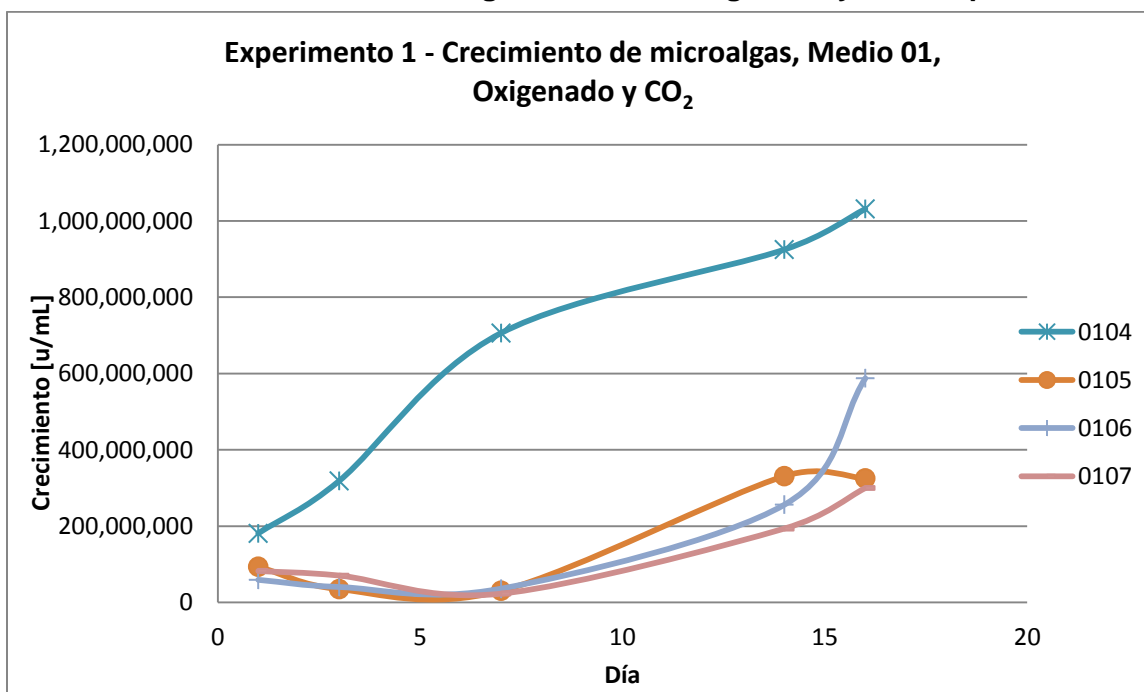
Se realiza el ejemplo con los datos de la Tabla No. 81. El cálculo realizado se muestra en la sección de Apéndice E: Datos calculados en la página 218.

$$s_y = \sqrt{0.1^2 + 0.1^2 + 0.1^2 + 0.1^2 + 0.1^2 + 0.1^2 + 5^2} = 0.2449$$

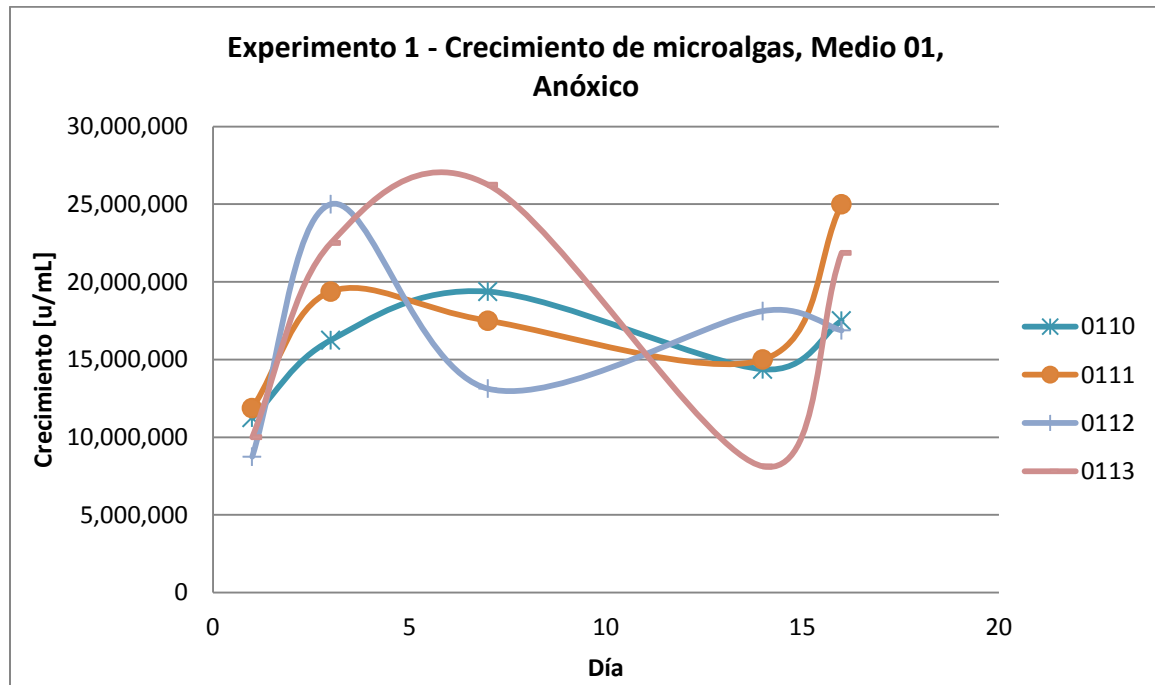
De la misma forma se obtiene la desviación estándar de todos los demás datos obtenidos por suma o resta.

7. Apéndice G: Gráficas

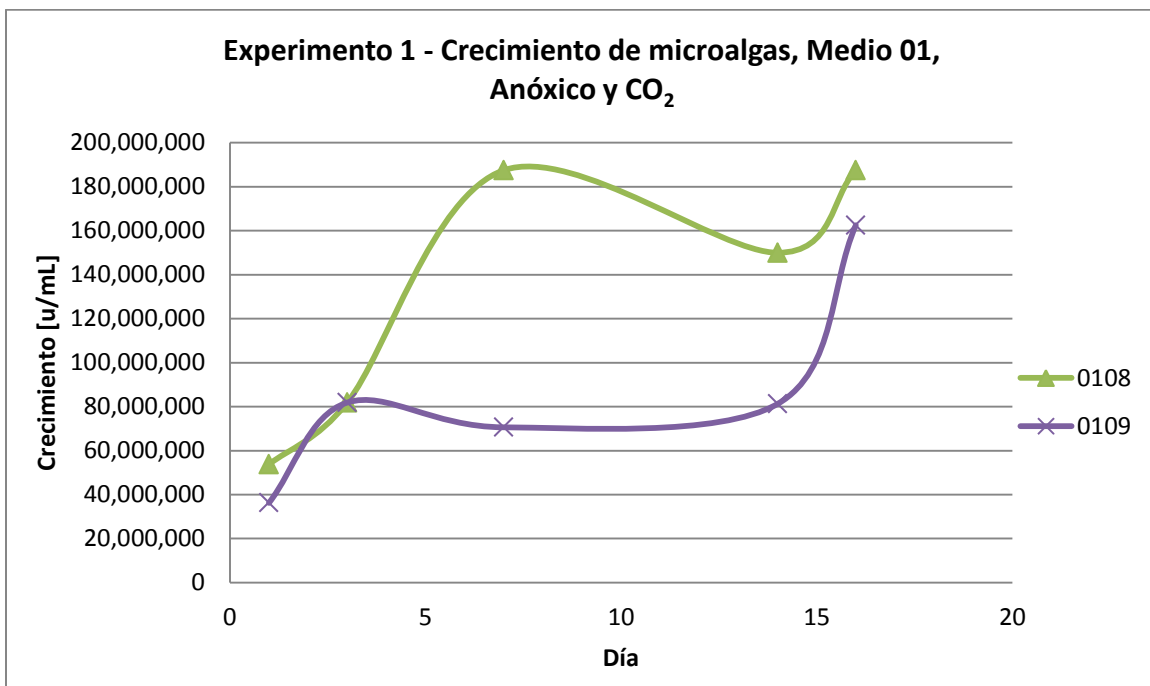
a. Experimento 1 de microalgas

Gráfica No. 18 Crecimiento de algas medio 01, oxigenado, Experimento 1**Gráfica No. 19 Crecimiento de algas medio 01, oxigenado y CO₂, Experimento 1**

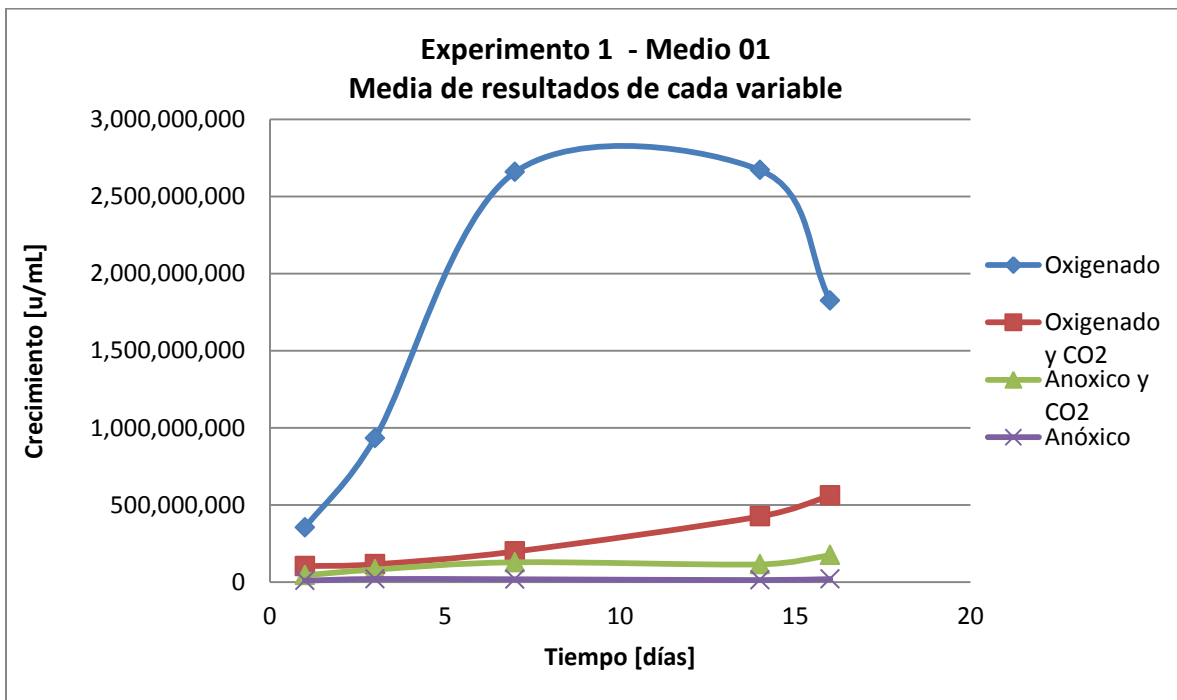
Gráfica No. 20 Crecimiento de algas medio 01, anóxico, Experimento 1



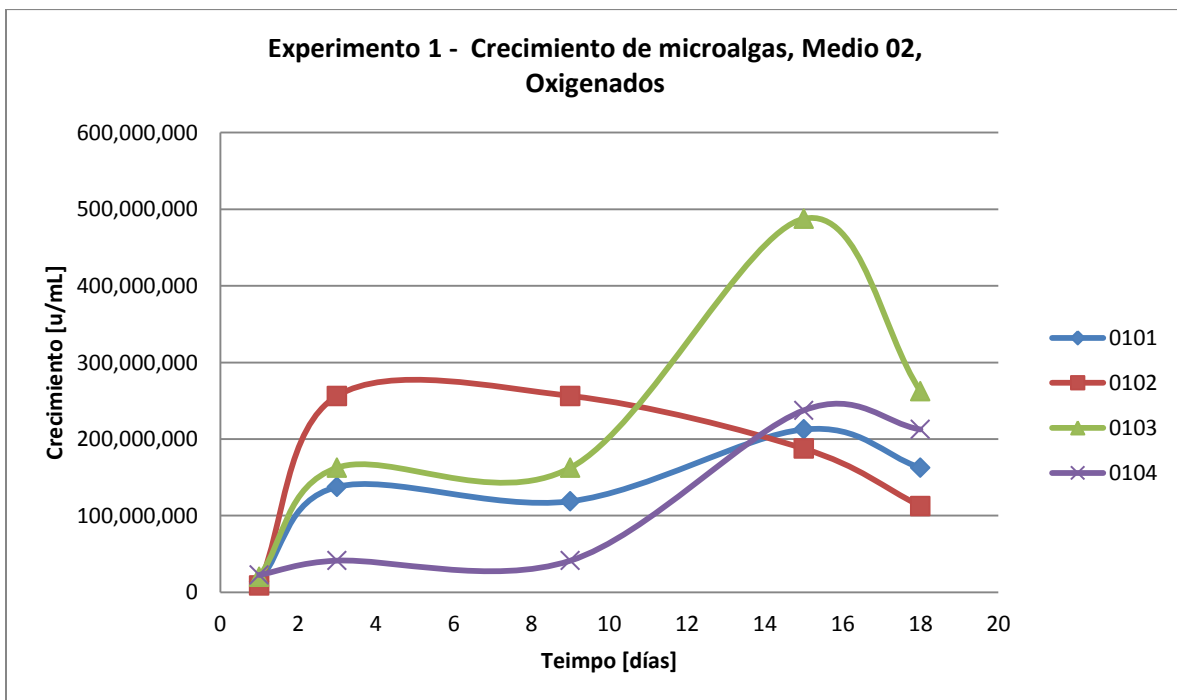
Gráfica No. 21 Crecimiento de algas medio 01, anóxico y CO₂, Experimento 1



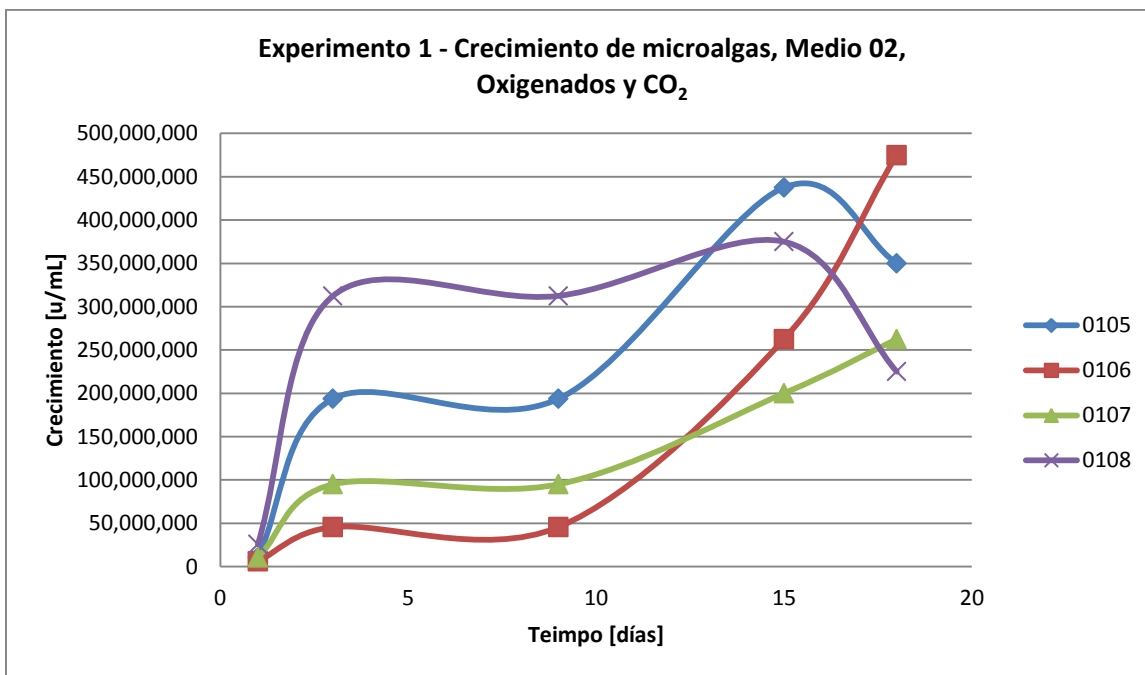
Gráfica No. 22 Media de resultados de crecimiento de cada variable en medio 01, Experimento 1



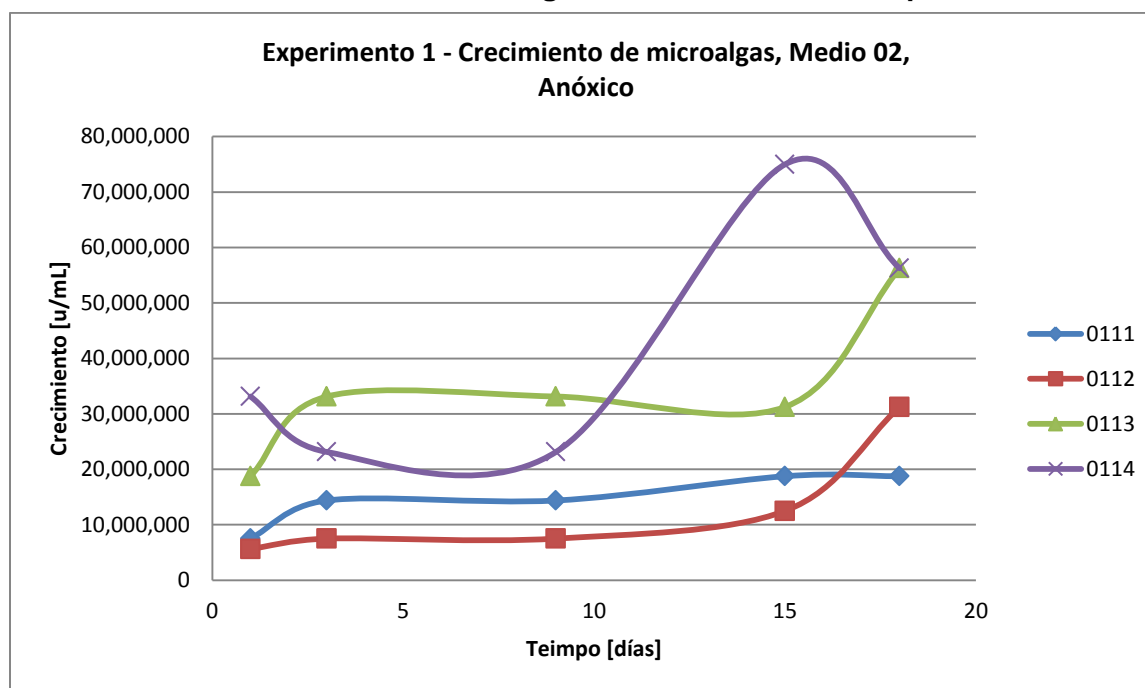
Gráfica No. 23 Crecimiento de algas medio 02, oxigenado, Experimento 1



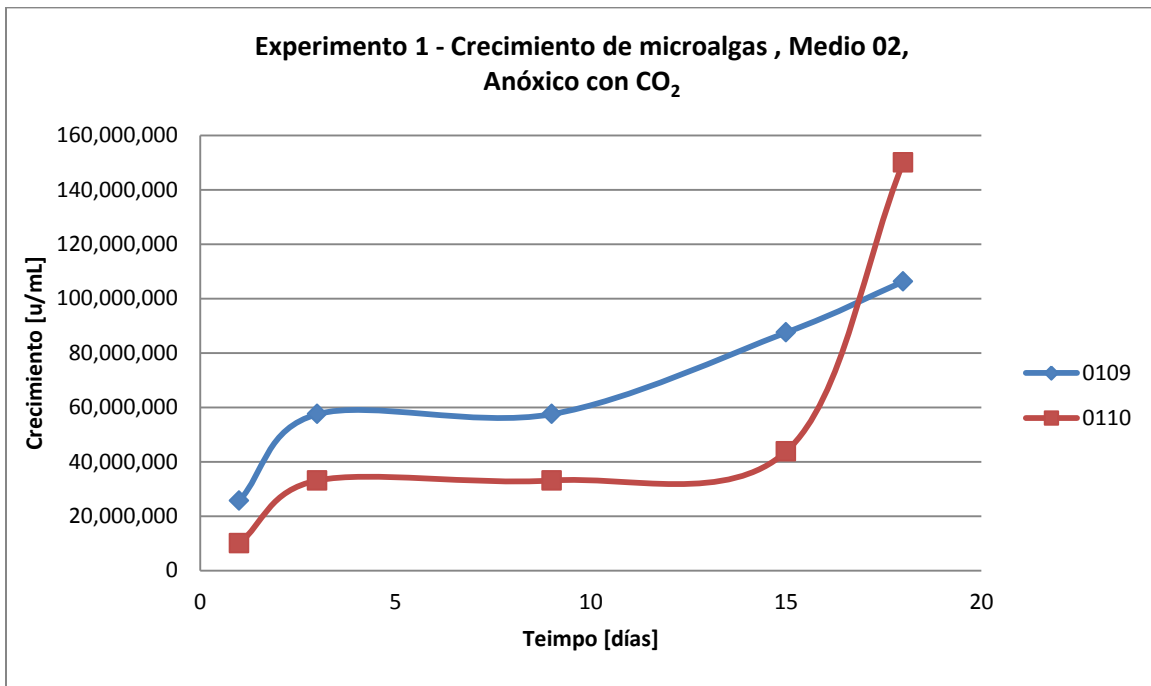
Gráfica No. 24 Crecimiento de algas medio 02, oxigenado y CO₂, Experimento 1



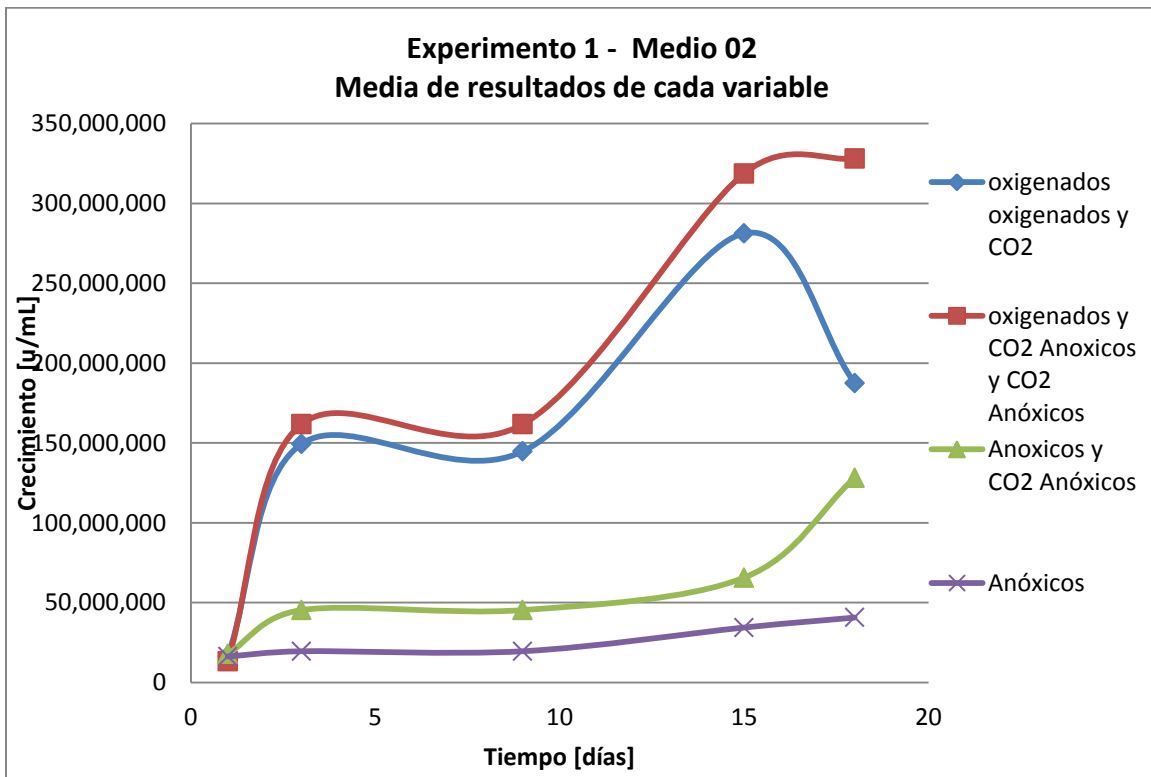
Gráfica No. 25 Crecimiento de algas medio 02, anóxico, Experimento 1



Gráfica No. 26 Crecimiento de algas medio 02, anóxico y CO₂, Experimento 1

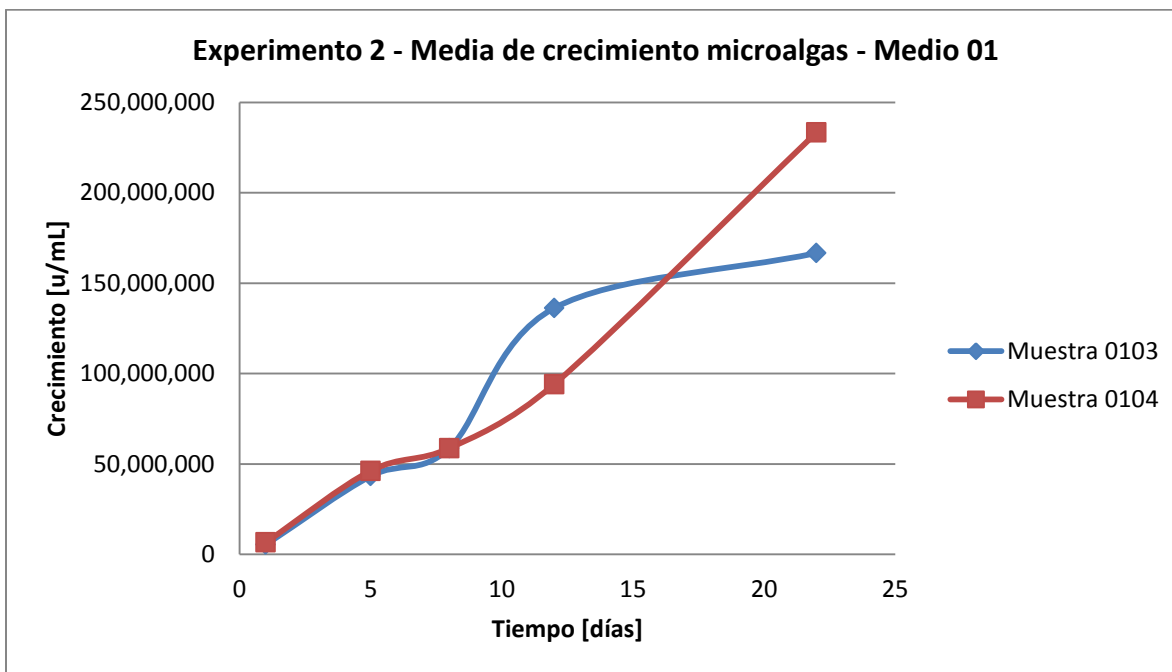


Gráfica No. 27 Media de resultados de crecimiento de cada variable en medio 02, Experimento 1

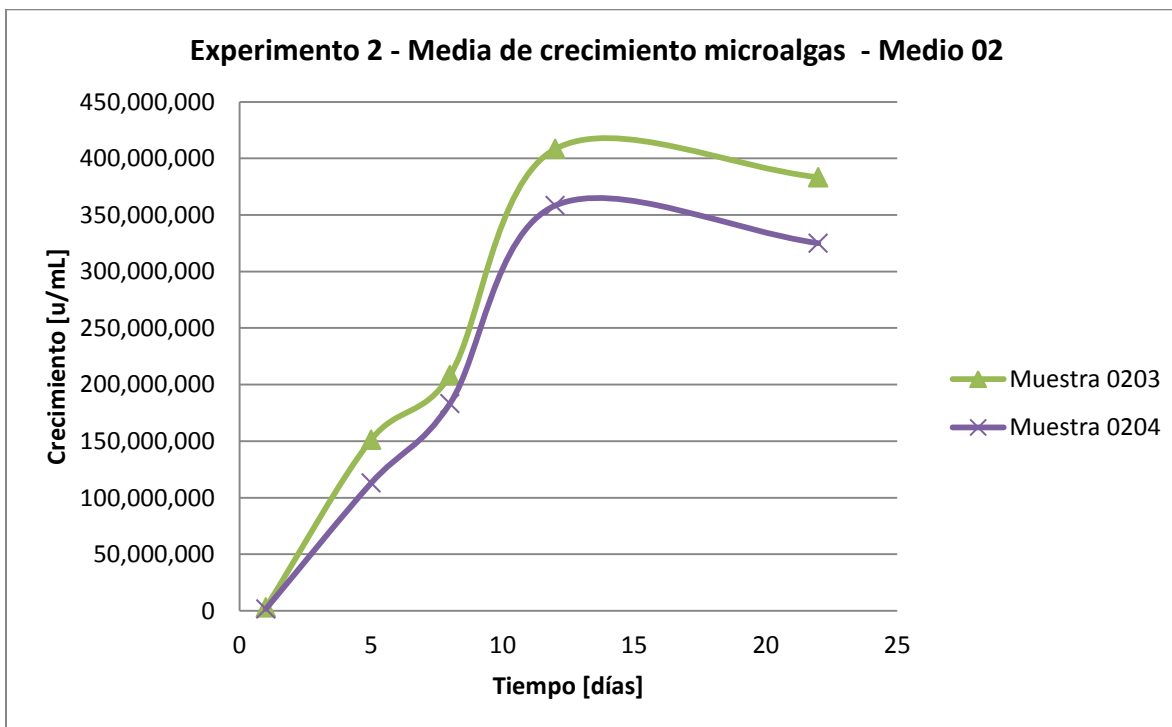


b. Experimento 2 de microalgas

Gráfica No. 28 Crecimiento de microalgas en Medio 01, Experimento 2

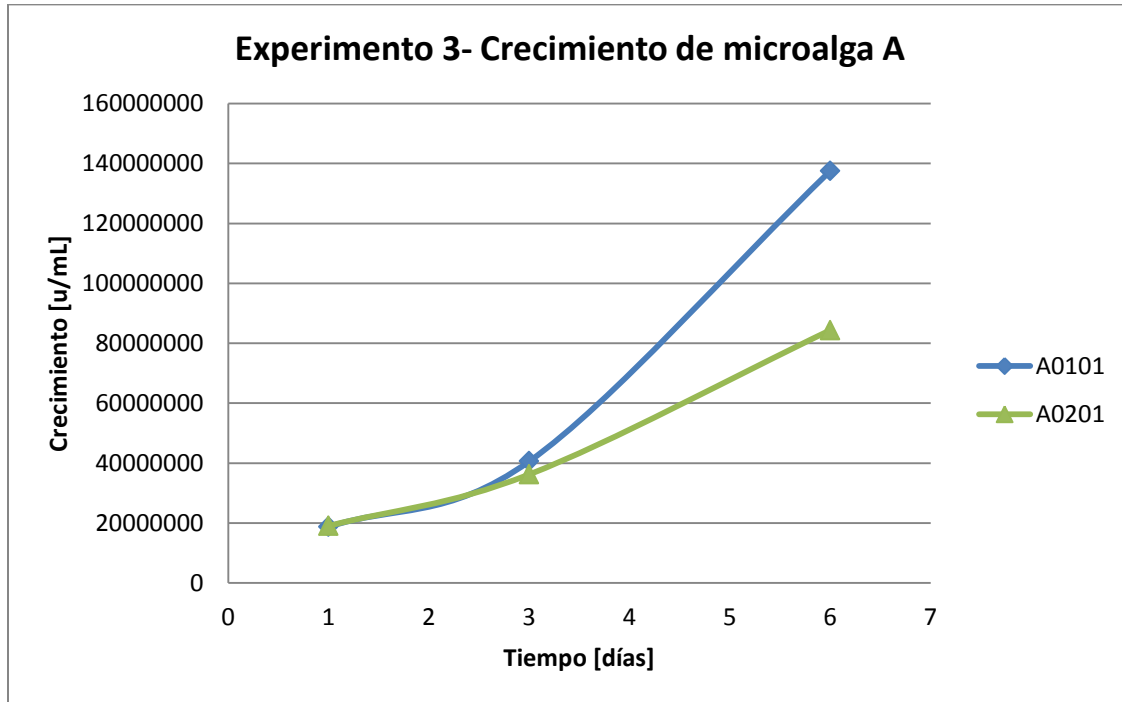


Gráfica No. 29 Crecimiento de microalgas en Medio 02, Experimento 2

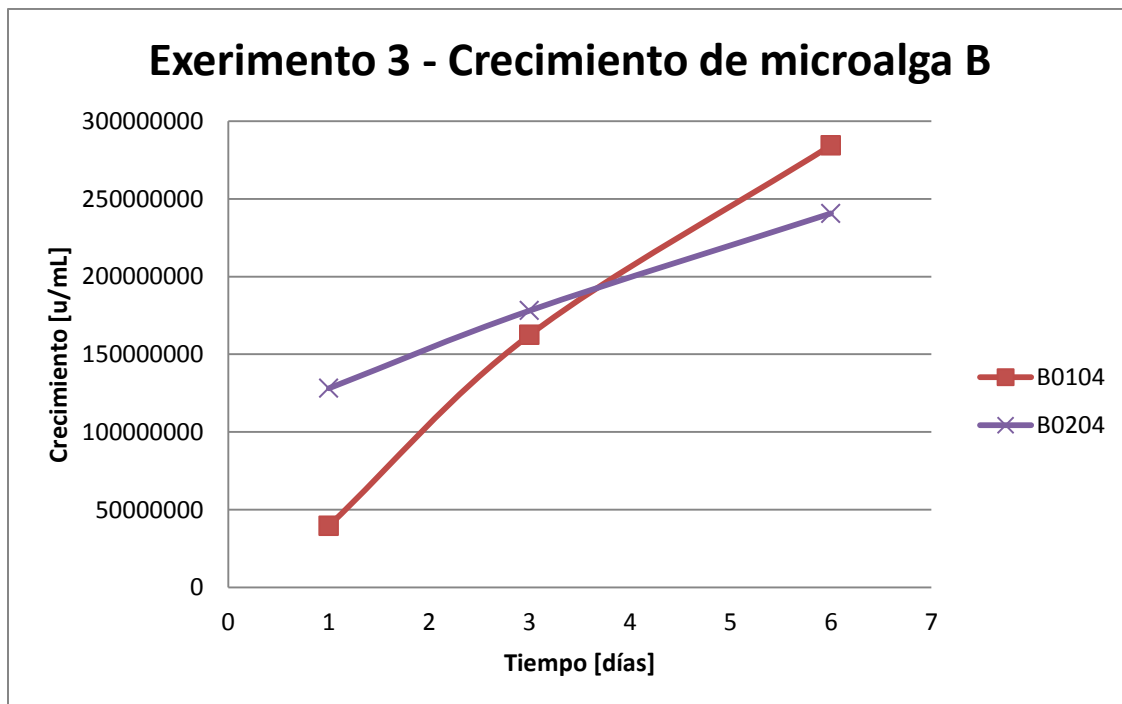


C. Experimento 3 de microalgas

Gráfica No. 30 Crecimiento de microalgas A en Medio 01 y 02, Experimento 3



Gráfica No. 31 Crecimiento de microalgas B en Medio 01 y 02, Experimento 3



8. Apéndice H: Medio de cultivo

a. Medio de Cultivo Sintético. El medio de cultivo se obtuvo de la página de ATCC, es el medio que se propone para las cepas de *Scenedesmus* sp. y *Chlorella*. (ATCC, 2012)

El medio indica las cantidades, en gramos, de sales a agregar para cada solución stock, la cual se mantiene en refrigeración mientras ésta no está siendo utilizada, así como la cantidad, en mililitros, necesaria para elaborar el medio de cultivo para 1 L de solución. También indica la forma en que se elabora el medio agar, tal como se puede observar en la **Error! Reference source not found.**

Figura No. 17 Medio de cultivo de la ATCC

Medio de la ATCC, 847 Agar de protosa para algas		
Solución Bristol (la preparación se detalla más abajo)		1.0 L
Peptona de Protosa (BD 211684)		1.0 g
Agar		15.0 g
<i>* Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos</i>		
Solución Bristol		
NaNO ₃	Nitrato de sodio	10.0 g
CaCl ₂	Cloruro de calcio	1.0 g
MgSO ₄ *7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	3.0 g
K ₂ HPO ₄	Fosfato de potasio dibásico	3.0 g
KH ₂ PO ₄	Fosfato monopotásico	7.0 g
NaCl	Cloruro de Sodio	1.0 g
Preparar seis soluciones stock, cada una de 400.0 mL en volumen y cada una conteniendo una de las sales anteriores.		
Para 1 L de solución, agregar 10 mL de cada una de las soluciones stock y completar con agua destilada al volumen total. Finalmente agregar una gota de 1.0% de una solución de FeCl ₃		

(ATCC, 2012)

b. Medio de cultivo fertilizante foliar. Se utilizará el fertilizante foliar llamado Nitrofoska® Foliar SL, el cual es un fertilizante líquido en base a nitrógeno, fósforo y potasio con algunos elementos menores. El mismo es grado agrícola. Es un líquido con una apariencia verde oscuro e inodoro, tiene un pH entre 2 y 2.5, no es inflamable, corrosivo, ni tóxico; sin embargo se debe maniobrar con cuidado porque es concentrado. La composición del fertilizante se puede observar en la Figura No. 18.

Figura No. 18 Composición de Nitrofoska® Foliar SL

Nitrógeno	100	g/L
Fósforo	40	g/L
Potasio	70	g/L
Magnesio	2	g/L
Hierro	0,15	g/L
Cinc	0,005	g/L
Manganeso	0,015	g/L
Boro	0,02	g/L
Cobre	0,025	g/L
Molibdeno	0,003	g/L

9. Apéndice I: Fotografías del proyecto

Fotografía No. 12 Sistema inicial para reproducción de microalgas



Fotografía No. 13 Inyección manual de Dióxido de Carbono



Fotografía No. 14 Muestras en Experimento 1



Fotografía No. 15 Muestras en Experimento 2 y 3



Fotografía No. 16 Segunda fase de sistema de área de reproducción de microalgas

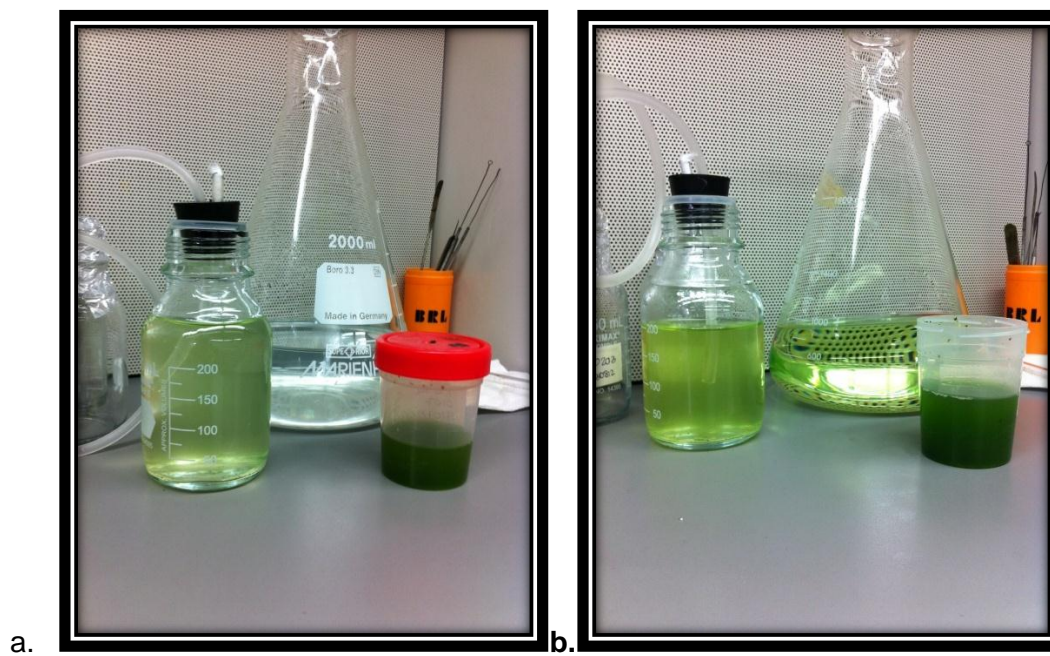


a.



b.

Fotografía No. 17 Muestra, Medio de cultivo e inoculo a. medio de cultivo sintético de sales, b. Medio de cultivo fertilizante foliar



Fotografía No. 18 Inoculación en agar



B. MÓDULO DE DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR TIPO PILETA

1. Apéndice A: Bases de diseño. A continuación se encuentran las bases de diseño desde las cuales se partió para desarrollar el proyecto.

Tabla No. 95 Bases de diseño del biorreactor tipo pileta de 15 L, ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.

Parámetro	Decisión	Razón
Materia Prima	Microalga, agua filtrada (filtros uv del laboratorio Operaciones Unitarias de la UVG), fertilizante foliar	La materia prima que se hará crecer en el reactor tipo pileta serán microalgas, que tendrá como nutrientes el fertilizante foliar y como fuente de luz, una lámpara blanca de 20 W.
Fertilizante foliar		El fertilizante foliar se preparará con una relación de 10:1000 con agua destilada. Tomando en cuenta una relación K:P:N de 10:3:7
Lugar	Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala	La escala (dimensiones) del reactor será apta para fines experimentales y didáctico, por lo que puede estar dentro de un laboratorio o planta piloto.
Energía	Eléctrica	La fuente de energía que se utilizará en la lámpara y para mover el motor será eléctrica
Tipo de reactor	Reactor tipo pileta	Se elegirá este tipo de reactor, ya que es el reactor con mayor uso en la industria de producción de algas. También es el sistema de cultivo base para el crecimiento de algas, teniendo alta producción.
Agitador	Rueda de paletas	Se elegirá una rueda de paletas como el tipo de agitador para el reactor ya que esta cumple los dos requisitos necesarios para el crecimiento óptimo de algas: Generar un flujo constante turbulento a lo largo del reactor y airear con su movimiento el contenido del reactor.
Volumen del reactor	15 L	Este volumen será determinado según los objetivos del proyecto. Ver la sección de cálculo de muestra para ver como se obtendrá este volumen.

Continuación de Tabla No. 95 Bases de diseño del biorreactor tipo pileta de 15 L, ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala.

Parámetro	Decisión	Razón
Material del reactor	Hierro Negro con recubrimiento de pintura blanca con base anticorrosiva	Se elegirá como material el hierro negro, ya que es un material resistente, flexible y sobre todo económico para la construcción del reactor. El hierro negro no es resistente a la corrosión, es por esto que se le aplicará una pintura base anticorrosiva como medio de protección y una capa de pintura blanca es el color que refleja más la luz.
Altura del agua	0.11 m	Esta altura será determinada mediante especificaciones teóricas, para tener suficiente iluminación hasta el fondo del reactor.
Tipo de operación	Batch	Se elegirá este tipo de operación ya que el reactor será cargado con distinto tipo de alga, por lo que se debe descargar completamente el reactor antes de cada carga. Además se implementará de una sola vez y será cosechado completamente después de que la producción de algas alcance un nivel apropiado, medido en número de células por mL. En el momento de la cosecha, el cultivo debe estar en fase exponencial.
Área del reactor		Será determinada con fines de ubicación del reactor y para determinación de tasa de crecimiento de biomasa por día.

2. Apéndice B: Cálculos de diseño

o Volumen de cada lote

Bases de diseño:

- Se asume un proporción de conversión de 55 %.
- Se desea un flujo másico a lo largo del reactor de pileta de 4.91 kg/s.
- Se desea una velocidad de reacción de $200 \frac{kg}{m^3 \cdot s}$.

Utilizando la ecuación

$$V = \frac{F_A X_A}{r_A}$$

Ecuación No. 10

Donde:

- ✓ V: volumen del reactor [L]
- ✓ F_A : velocidad de salida del reactor [kg/s]
- ✓ X_A : conversión
- ✓ r_A : velocidad de reacción $\left[\frac{kg}{m^3 \cdot s} \right]$

Sustituyendo valores

$$V = \frac{\left(4.91 \frac{kg}{s}\right) \cdot (0.55)}{\left(200 \frac{kg}{m^3 \cdot s}\right)} = 0.0135 m^3$$

Tomando un 10% de sobredimensionamiento:

$$V_f = 1.10 V$$

Ecuación No. 11

$$V_f = (1.10) \cdot (0.0135 m^3)$$

$$V_f = 0.0148 m^3 \approx 0.015 m^3 * \frac{1000 L}{1 m^3} = 15 L$$

○ Densidad promedio de la solución

Se tiene que la solución está conformada por 99.09 % de agua y 0.91 % medio.

$$\rho_{\text{agua @ 25 }^\circ\text{C}} = 997.13 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$\rho_{\text{fertilizante}} = 1250 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

$$\rho_{\text{medio}} = \left(0.9909 \cdot 997.13 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right) + \left(0.0091 \cdot 1250 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right)$$

$$\rho_{\text{medio}} = 999.43 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$$

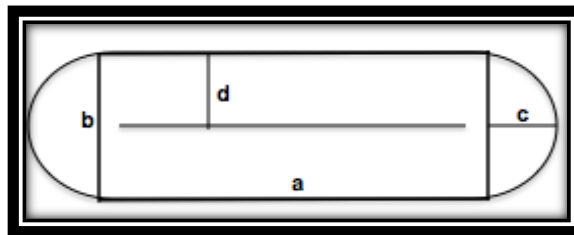
○ Diseño de equipo

Base de diseño: se utilizará un lote de 15 L de medio fertilizante foliar, con una relación 10:1000 (10 mL de fertilizante por cada 1 litro de agua destilada).

▪ **Diseño de la pileta**

Para realizar el diseño se basó en el siguiente diagrama, donde se dividió la figura en un rectángulo y dos semicírculos a los lados:

Figura No. 19 Diagrama del reactor tipo pileta



Donde:

- a: largo del rectángulo
- b: ancho del rectángulo
- c: radio de la semi – esfera
- d: ancho del carril

Se definieron las siguientes relaciones basándose en la teoría:

- $a = 2.5 b$

Ecuación No. 12

- $d = c = \frac{b}{2}$

Ecuación No. 13

Por lo tanto, se tiene que el volumen del reactor será:

$$V_f = (\text{Áreatotal}) \cdot (\text{profundidad del medio})$$

Ecuación No. 14

Definiendo las dos variables de la ecuación 5 se tiene:

❖ Área total

Estará definida como:

$$\text{Áreatotal} = (\text{Árearectángulo}) + (2 \cdot \text{Áreasemicirculo})$$

Ecuación No. 15

El área de un rectángulo está definida como:

$$\text{Área}_{\text{rectangulo}} = \text{base} \cdot \text{altura}$$

Ecuación No. 16

El área de un semicírculo está definida como:

$$\text{Área}_{\text{semicirculo}} = \frac{\pi}{2} \text{radio}^2$$

Ecuación No. 17

De la ecuación 6, se tiene que el área total de la pileta será:

$$\text{Área total} = (a \cdot b) + \left(2 \cdot \frac{\pi}{2} c^2\right)$$

$$\text{Área total} = (a \cdot b) + (\pi \cdot c^2)$$

$$\text{Área total} = (2.5 \cdot b \cdot b) + \left(\pi \cdot \left[\frac{b}{2}\right]^2\right)$$

$$\text{Área total} = (2.5 \cdot b^2) + \left(\pi \cdot \left[\frac{b}{2}\right]^2\right)$$

❖ Profundidad del medio de cultivo

La profundidad del medio está definida por las bases teóricas del diseño de reactores de pileta

$$h = 0.11 \text{ m}$$

Definidas las dos variables de la ecuación 5 se tiene:

$$V_f = (2.5 \cdot b^2) + \left(\pi \cdot \left[\frac{b}{2}\right]^2\right) \cdot h$$

Despejando b

$$b = \sqrt{\frac{V_f/h}{2.5 + \pi/4}}$$

$$b = \sqrt{\frac{\left(15L * \frac{1 m^3}{1000 L} / 0.11 m\right)}{2.5 + \pi/4}}$$

$$b = 0.20 m$$

$$a = (2.5 \cdot 0.20) m$$

$$a = 0.50 m$$

$$c = d = \frac{0.20 m}{2} = 0.10 m$$

$$\text{Área total} = (0.50 m \cdot 0.20 m) + \left(2 \cdot \frac{\pi}{2} (0.10 m)^2\right)$$

$$\text{Área total} = 0.13 m^2$$

▪ **Diseño del agitador de paletas**

- Ancho

Se partió de la condición que el ancho de la paleta del agitador debía ser aproximadamente el mismo ancho del carril del estanque, siendo el ancho del carril de 0.10 metros. Por lo que se determinó que el ancho de la paleta será de 0.09 m.

- Alto

Para al altura de la paleta, se tomó la consideración que ésta debía quedar 0.07 m por encima del fondo del tanque y que el 50% de la paleta debía estar dentro del agua, por lo que la altura debe de ser de 0.08 m.

- Número de paletas

El número de paletas se basó de la teoría y de cumplir con la condición que al menos una paleta debe estar en el agua en cualquier momento. El número de paletas del agitador está entre 4 y 8, por lo que se eligió de 8 paletas.

▪ **Motor**

Para determinar la potencia del motor se utilizó la siguiente ecuación

$$P = \frac{QWd}{e}$$

Ecuación No. 18

Donde:

- P: potencia [kW]
- Q: flujo volumétrico [m³/s]
- W: densidad del medio [kg/m³]
- d: profundidad del medio [m]
- e: proporción del agitador de paleta. Se toma como 0.17, que es un valor promedio de este tipo de agitadores

Para determinar el flujo volumétrico (Q) se utilizó la siguiente ecuación

$$Q = wdV_T$$

Ecuación No. 19

Donde:

- Q: flujo volumétrico [m³/s]
- w: ancho del canal
- d: profundidad del medio [m]
- V_T: velocidad tangencial de la paleta

La velocidad tangencial de la paleta se calculó de la siguiente manera (se tomó en cuenta que el radio del agitador es de 0.19 m)

$$V_T = \left(30 \frac{rev}{min}\right) \cdot \left(\frac{1 min}{60 s}\right) \cdot \left(\frac{2\pi \cdot 0.19 m}{1 rev}\right)$$

$$V_T = 0.597 \frac{m}{s} \approx 0.60 \frac{m}{s}$$

Regresando a la ecuación 9, se tiene que el flujo volumétrico es

$$Q = (0.10 m) \cdot (0.11 m) \cdot \left(0.60 \frac{m}{s}\right)$$

$$Q = 6.56 \times 10^{-3} \frac{m^3}{s}$$

Ya que se obtuvo el flujo volumétrico, se regresa a la ecuación 8 para obtener la potencia del motor

$$P = \left(\frac{\left(6.56 \times 10^{-3} \frac{m^3}{s} \right) \cdot \left(999.43 \frac{kg}{m^3} \right) \cdot (0.11 m)}{0.17} \right) \cdot \left(\frac{1 kW}{102 \frac{kg m}{s}} \right)$$

$$P = (0.04159 kW) \cdot \left(\frac{1000 W}{1 kW} \right) = 41.59 W$$

Tomando un 10% de sobredimensionamiento

$$P = (41.59 W) \cdot (1.10)$$

$$P = 45.75 W \approx 46 W$$

○ Número de Reynolds

$$Re = \frac{D_a^2 \cdot N \cdot \rho}{\mu}$$

Ecuación No. 20

Donde:

- D_a : diámetro del agitador utilizado [m]
- N : velocidad de giro del agitador [rps]
- ρ : densidad de la solución $\left[\frac{kg}{m^3} \right]$
- μ : es la viscosidad de la solución [$Pa \cdot s$]

$$Re = \frac{(0.40 m)^2 \cdot \left(\frac{30}{60} rps \right) \cdot \left(999.43 \frac{kg}{m^3} \right)}{8.43 \times 10^{-4} Pa \cdot s}$$

$$Re = 94\ 845$$

○ Balance de masa

- Masa de entrada de CO_2

$$m_{CO_2} = (4.82 \pm 0.01) g \text{ alga seca} \cdot \left(\frac{1 kg}{1000 g} \right) \cdot \left(\frac{1.83 kg CO_2}{1 kg \text{ alga}} \right) \cdot \left(\frac{1000 g}{1 kg} \right)$$

$$m_{CO_2} = (8.82 \pm 0.02) g CO_2$$

- Masa de salida de O_2

$$m_{O_2} = (4.82 \pm 0.01) g \text{ alga seca} \cdot \left(\frac{1 kg}{1000 g} \right) \cdot \left(\frac{1.71 kg O_2}{1 kg \text{ alga}} \right) \cdot \left(\frac{1000 g}{1 kg} \right)$$

$$m_{CO_2} = 8.24 \pm 0.02 g O_2$$

- Masa del medio entrada

$$m_{\text{medio entrada}} = (15.00 \pm 0.05 \text{ L}) \cdot \left(\frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} \right) \cdot \left(\frac{999.43 \text{ kg}}{1 \text{ m}^3} \right)$$

$$m_{\text{medio entrada}} = (14.99 \pm 0.05) \text{ kg}$$

- Masa del medio salida

$$m_{\text{medio salida}} = (14.30 \pm 0.05 \text{ L}) \cdot \left(\frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} \right) \cdot \left(\frac{999.43 \text{ kg}}{1 \text{ m}^3} \right)$$

$$m_{\text{medio salida}} = (14.29 \pm 0.05) \text{ kg}$$

- Masa alga seca entrada

$$m_{\text{alga entrada}} = \left(41\,562\,500 \frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) \cdot \left(\frac{4.82 \text{ g alga seca}}{81\,354\,167 \frac{\text{cel}}{\text{mL}}} \right)$$

$$m_{\text{alga entrada}} = 2.46 \text{ g alga seca}$$

- Proporción de alga reproducida

$$\% = \frac{m_{\text{alga salida}}}{m_{\text{alga entrada}}} - 1$$

$$\% = \frac{4.82 \text{ g alga seca}}{2.46 \text{ g alga seca}} - 1$$

$$\% = 95.74\% \approx 96\%$$

- Conteo celular por cámara de Neubauer

Se tomó como ejemplo la lectura del área 1 del primer día del reactor de 15 litros

$$\frac{\text{Número de células}}{\text{mL}} = N * 25 * 50 * 1000 * FD$$

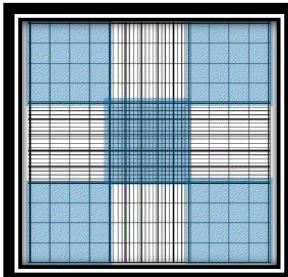
Ecuación No. 21

En donde

- ✓ N : número de células vistas en la cámara
- ✓ FD: factor de dilución

Se tomaron los siguientes cuadros de la cámara de Neubauer para el conteo de células

Figura No. 20 Recuento de 5 cuadros grandes de cámara de Neubauer



$$\frac{\text{Número de células}}{\text{mL}} = 31.33 * 25 * 50 * 1000$$

$$\frac{\text{Número de células}}{\text{mL}} = 39\,166\,666.70 \frac{\text{unidades}}{\text{mL}}$$

De la misma manera se llevó a cabo los demás días de conteo de células en ambos reactores

- Rendimiento del reactor de 15 litros

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Biomasa producida}}{\text{Volumen del medio}}$$

$$\text{Rendimiento} = \frac{(4.82 \pm 0.01) \text{ g alga seca}}{(15.00 \pm 0.05) \text{ L medio}}$$

$$\text{Rendimiento} = 0.32 \pm 1.25 \times 10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{L}}$$

- Productividad del reactor de 15 litros

$$\text{Productividad} = \frac{\text{Rendimiento}}{\text{Tiempo de producción}}$$

$$\text{Productividad} = \frac{0.32 \pm 1.25 \times 10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{L}}}{13 \text{ días}}$$

$$\text{Productividad} = (0.02 \pm 1.01 \times 10^{-3}) \frac{\text{g}}{\text{L} \cdot \text{día}}$$

- Tasa de crecimiento de alga en reactor de 15 litros

$$Tasa\ de\ crecimiento = \frac{Biomasa\ producida}{Tiempo\ de\ producción \cdot \text{Área\ pileta}}$$

$$Tasa\ de\ crecimiento = \frac{(4.82 \pm 0.01)\ g\ alga\ seca}{(13\ días) \cdot (0.13\ m^2)}$$

$$Tasa\ de\ crecimiento = (2.85 \pm 0.01) \frac{g}{día\ m^2}$$

3. Apéndice C: Dimensiones del equipo

Tabla No. 96 Dimensiones de la pileta del biorreactor

Volumen de cada lote del reactor (L)	Largo (m)	Ancho (m)	Ancho del carril (m)	Altura (m)
15	0.70	0.20	0.10	0.25

Tabla No. 97 Dimensiones de agitador de paletas

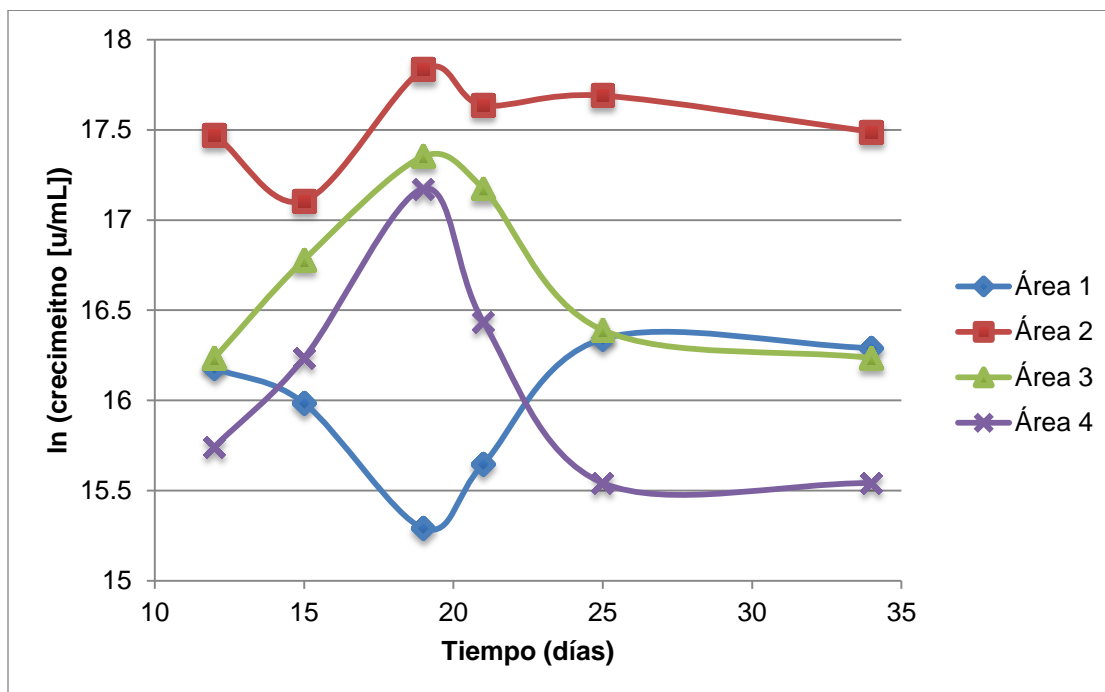
Número de aspas	Frecuencia (rpm)	Altura (m)		Base (m)	Altura desde fondo de pileta (m)
		Agitador	Paleta		
8	30	0.19	0.08	0.09	0.07

Tabla No. 98 Dimensiones del motor del agitador de paletas

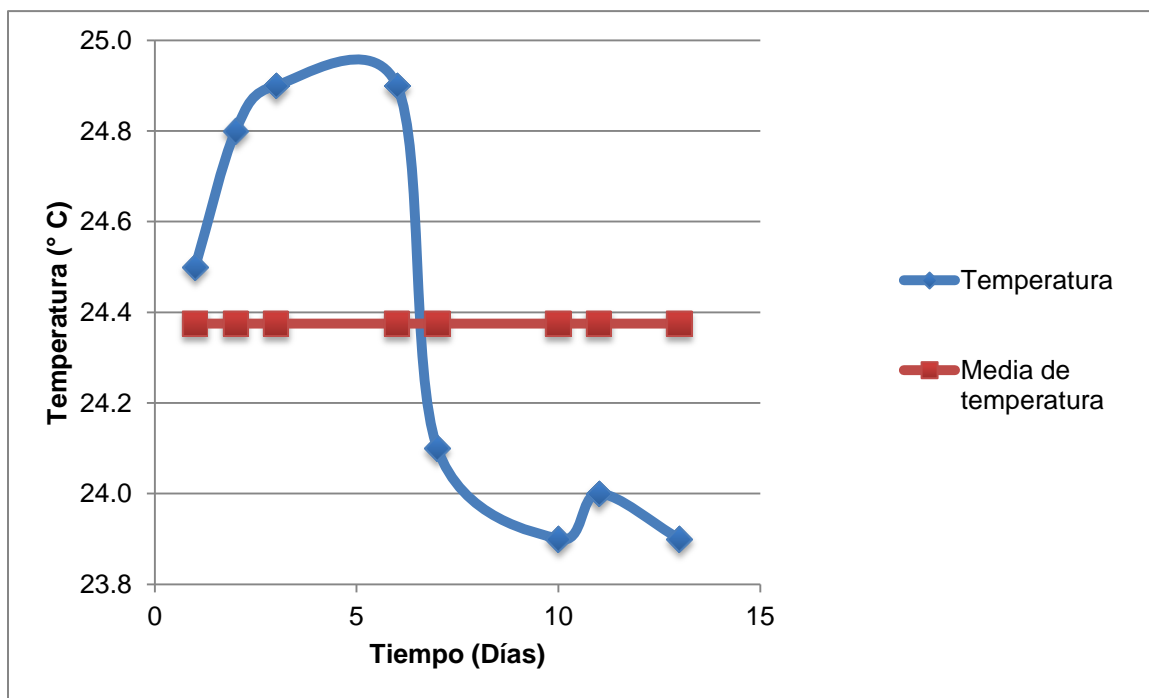
Velocidad tangencial (m/s)	Flujo volumétrico (m ³ /s)	Potencia (W)	Número de Reynolds
0.60	6.56×10^{-3}	46	94 845

4. Apéndice D: Gráficas de control

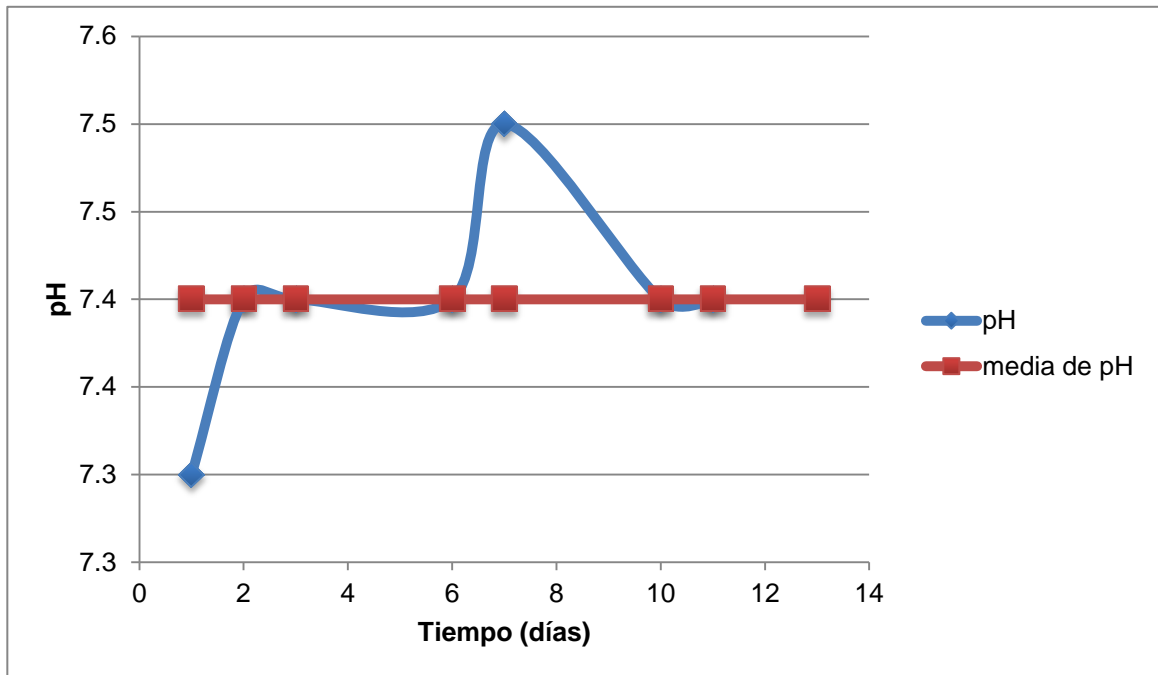
Gráfica No. 32 Prueba preliminar del control del crecimiento de alga unicelular oleogénica en bioreactor de pileta de 5 L



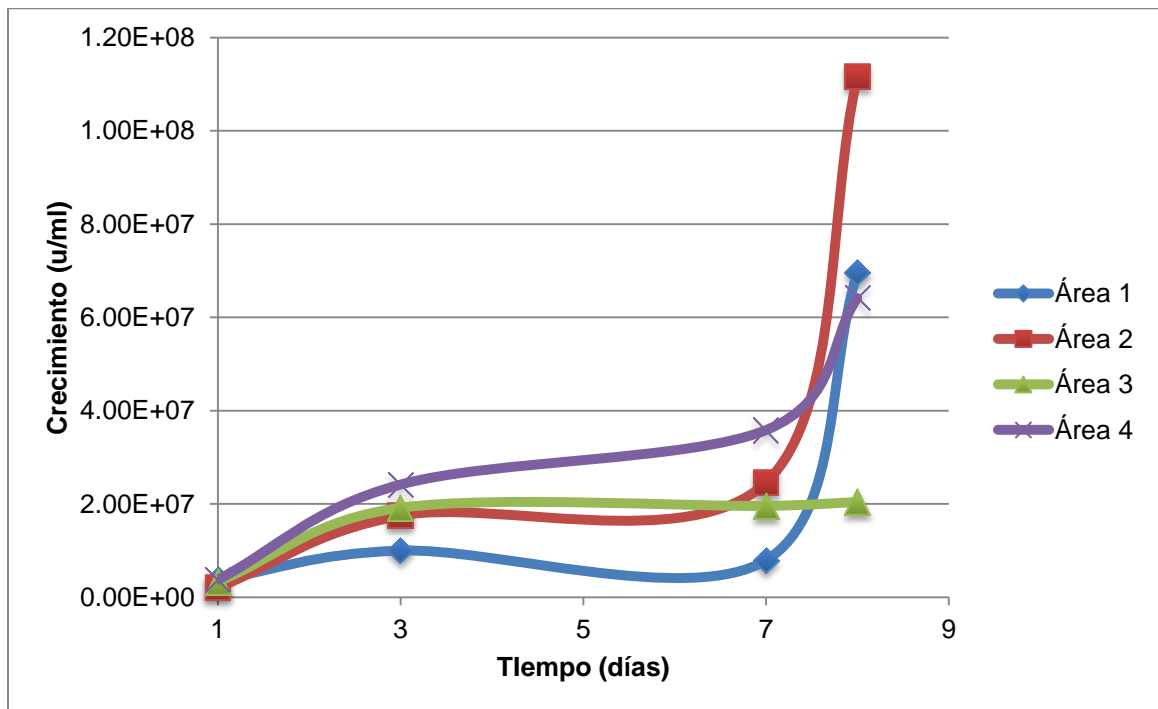
Gráfica No. 33 Control de temperatura del cultivo en biorreactor de 15 litros



Gráfica No. 34 Control de pH del cultivo en biorreactor de 15 litros



Gráfica No. 35 Control del crecimiento de alga unicelular oleogénica en bioreactor de pileta de 5 L



5. Apéndice E: Crecimiento celular promedio en biorreactores de 5 y 15 L

Figura No. 21 Área de muestreo en ambos reactores

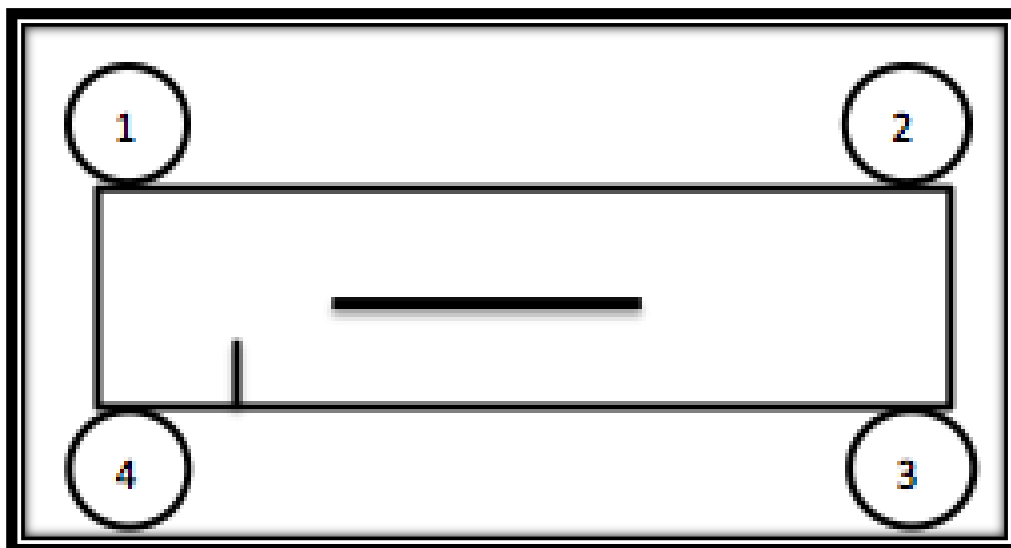


Tabla No. 99 Densidad celular en reactor de 5 L

Día	Densidad celular (cel/mL)			
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
1	3750000	2083333	3333333	3750000
3	10000000	17500000	19166667	24166667
7	7916667	24583333	19583333	35833333
8	69583333	111666667	20416667	64166667

Tabla No. 100 Densidad celular en reactor de 15 L

Día	Densidad celular (células/mL)			
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
1	41666667	39583333	39583333	45416667
2	45416667	40833333	30000000	35416667
3	40000000	38333333	40416667	43333333
6	71250000	77916667	77083333	71666667
7	71666667	75833333	90833333	83333333
10	83750000	81250000	85000000	88750000
11	82916667	80416667	86666667	85416667
13	80000000	79166667	82916667	83333333

6. Apéndice F: Análisis estadístico

Tabla No. 101 Estadística descriptiva en biorreactor de pileta de 15 L

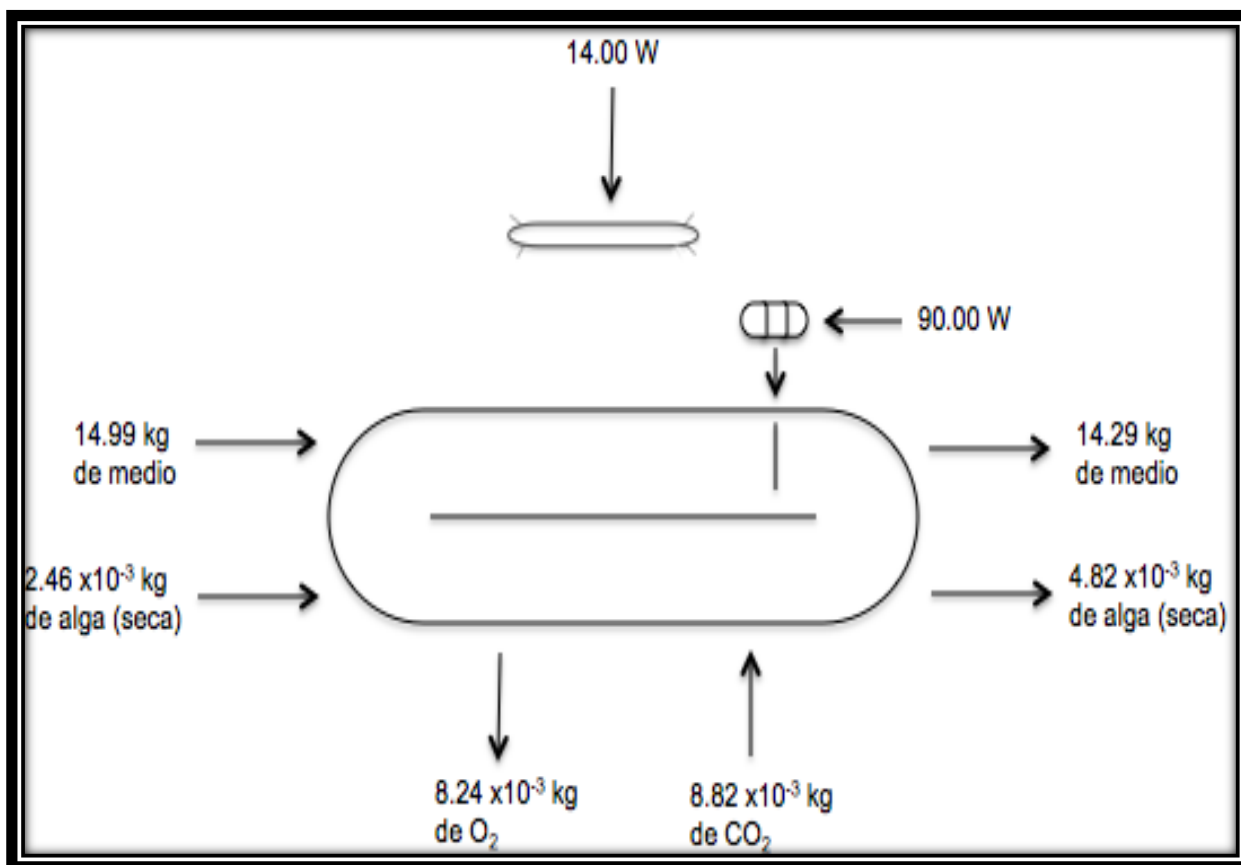
<i>Días</i>		<i>Crecimiento</i>		<i>pH</i>		<i>Temperatura</i>	
Media	6.63	Media	65598 958	Media	7.3 8	Media	24.3 8
Error típico	1.57	Error típico	75796 33	Error típico	0.0 4	Error típico	0.16
Mediana	6.50	Mediana	77447 917	Mediana	7.3 5	Mediana	24.3 0
Moda	-	Moda	-	Moda	7.4 0	Moda	24.9 0
Desviación estándar	4.44	Desviación estándar	21438 441	Desviación estándar	0.1 1	Desviación estándar	0.45
Varianza de la muestra	19.70	Varianza de la muestra	4.59E +14	Varianza de la muestra	0.0 1	Varianza de la muestra	0.20
Curtosis	-1.56	Curtosis	-2.18	Curtosis	- 0.9 4	Curtosis	-2.28
Coficiente de asimetría	0.12	Coficiente de asimetría	-0.58	Coficiente de asimetría	- 0.0 4	Coficiente de asimetría	0.17
Rango	12	Rango	46770 833	Rango	0.3 0	Rango	1
Mínimo	1	Mínimo	37916 667	Mínimo	7.3 0	Mínimo	23.9 0
Máximo	13	Máximo	84687 500	Máximo	7.5 0	Máximo	24.9 0
Suma	53	Suma	52479 1666. 7	Suma	58. 70	Suma	195
Cuenta	8	Cuenta	8	Cuenta	8.0 0	Cuenta	8
Mayor (1)	13	Mayor (1)	84687 500	Mayor (1)	7.5 0	Mayor (1)	24.9 0
Menor(1)	1	Menor(1)	37916 667	Menor(1)	7.3 0	Menor(1)	23.9 0
Nivel de confianza(95.0%)	3.71	Nivel de confianza(95.0%)	17922 985	Nivel de confianza(95.0%)	0.0 9	Nivel de confianza(95.0%)	0.38

Tabla No. 102 Coeficiente de correlación entre días, crecimiento celular, pH y temperatura para el cultivo en el biorreactor tipo pileta de 15 L

	<i>Días</i>	<i>Crecimiento celular</i>	<i>pH</i>	<i>Temperatura</i>
Días	1			
Crecimiento	0.90	1		
pH	-0.94	-0.79	1	
Temperatura	-0.81	-0.75	0.77	1

7. Apéndice G: Balance de masa y energía del biorreactor de pileta de 15 L

Figura No. 22 Balance de masa y energía del biorreactor de pileta de 15 L)




8. Apéndice H: Costos de montaje

Tabla No. 103 Costo detallado del montaje del bioreactor de pileta de 15 L

Cantidad	Descripción	Costo unitario	Costo total
1	Pileta con lamina de hierro pintada con base anticorrosiva y pintura blanca, hélice de 8 aspas planas con velocidad variable (poleas variadores de velocidad), llave de 3/4" para drenaje	Q1,950.00	Q1,950.00
1	Lámpara fluorescente de 14 Watts con pantalla protectora	Q82.50	Q82.50
3	Soportes de madera	Q27.00	Q81.00
Total			Q2,113.50

Figura No. 23 Cotización de Talleres Hernández para bioreactor tipo pileta de 15 L



TALLERES HERNÁNDEZ
mecánica industrial

13 Avenida 4-27, Zona 1 • Tel./Fax: 502 - 2220-2635
Tels. 502 • 2251-5512 • 2230-3403 • 2210-3387
talleres.hernandez@yahoo.com
talleres.hernandez.gt@gmail.com

COTIZACION
1248
FECHA
08/05/2012

Fabricación, reparación y mantenimiento de maquinaria industrial. Toda clase de trabajos para la industria farmacéutica y alimenticia. Especialidad en trabajos de acero inoxidable.

CLIENTE

Nombre del Cliente: **UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**
Atención a: **Ing. Gamaliel Zambrano** NIT: _____
Dirección: **zambrano@uvg.edu.gt** Tel: **23640336** Tel./Fax: **23640336**
Forma de pago: **60% DE ANTICIPO Y 40% CONTRAENTREGA** Vigencia de esta cotización: **15 días**

CONCEPTO

■ Por fabricación de reactor de pileta, con lámina de hierro pintada base anticorrosiva y pintura blanca, hélice de 8 aspas planas que giren a 86 RPM, velocidad variable. Por medio de poleas variadoras de velocidad llevar a una llave de 3/4" para drenaje y un motor pequeño para hélice de 8 aspas.

Precio.....Q1,950.00

Esperando que la presente satisfaga su necesidad de inversión y en espera de una respuesta favorable, quedo de usted.
Atentamente,

OBSERVACIONES LOS PRECIOS YA INCLUYEN I.V.A. DE SER APROBADA LA PRESENTE COTIZACION. FAVOR REENTREGAR FIRMADA, SELLADA CON FECHA DE APROBACION Y ORDEN DE COMPRA.

COTIZACION AUTORIZADA POR:
Daniel Hernández R.

Nombre: _____

FIRMA DE APROBACION

FECHA DE APROBADO

COTIZACION AUTORIZADA POR EL CLIENTE

Nombre: _____

ACEPTADO - CLIENTE

ORIGINAL (1) Cliente - DUPLICADO (4) Distribuidor - TRIPULCADO (1) Archivo
Imp: 5/05/2012 12:01:44PM - Rev: 03/02/09 (1.0)

9. Apéndice I: Fotografías del proyecto

Fotografía No. 19 Biorreactor de pileta de 15 L con lámpara fluorescente integrada ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 20 Vista lateral del biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 21 Descargando biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 22 Biorreactor de 5 L ubicado en el segundo nivel del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



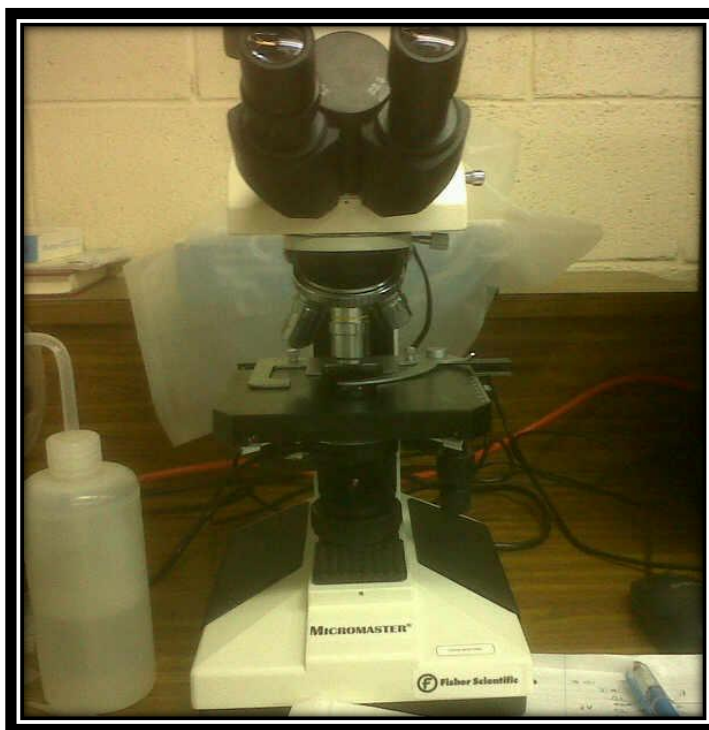
Fotografía No. 23 Agitación en Biorreactor de 5 L ubicado en el segundo nivel del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 24 Cámara de Neubauer para recuento del crecimiento celular en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica (edificio I1, primer nivel)



Fotografía No. 25 Microscopio para visualizar células en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica (edificio I1, primer nivel)



Fotografía No. 26 Muestras de las cuatro áreas del biorreactor de 15 L



10. Apéndice I: Vistas del biorreactor de pileta de 15 L ubicado en el laboratorio de operaciones unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala

Figura No. 24 Vista de planta inferior del biorreactor de pileta de 15 L

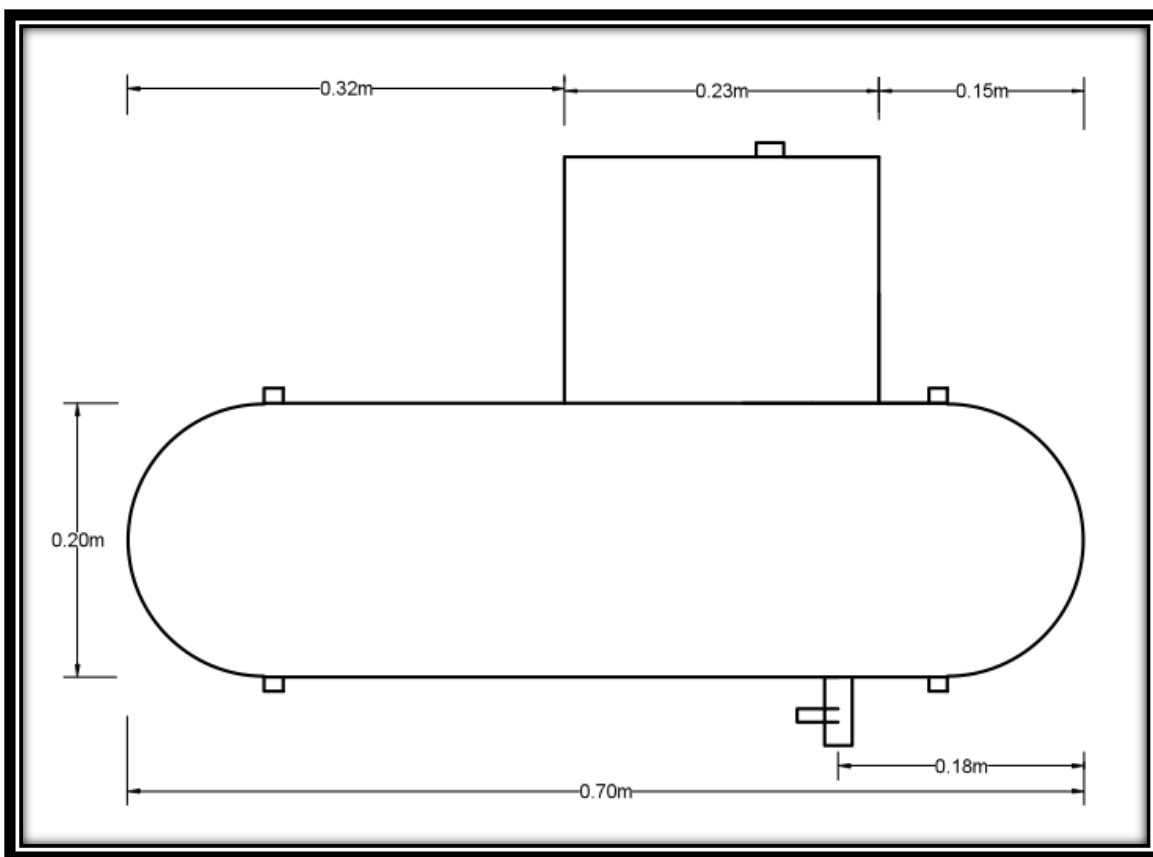


Figura No. 25 Vista frontal del biorreactor de piletta de 15 L

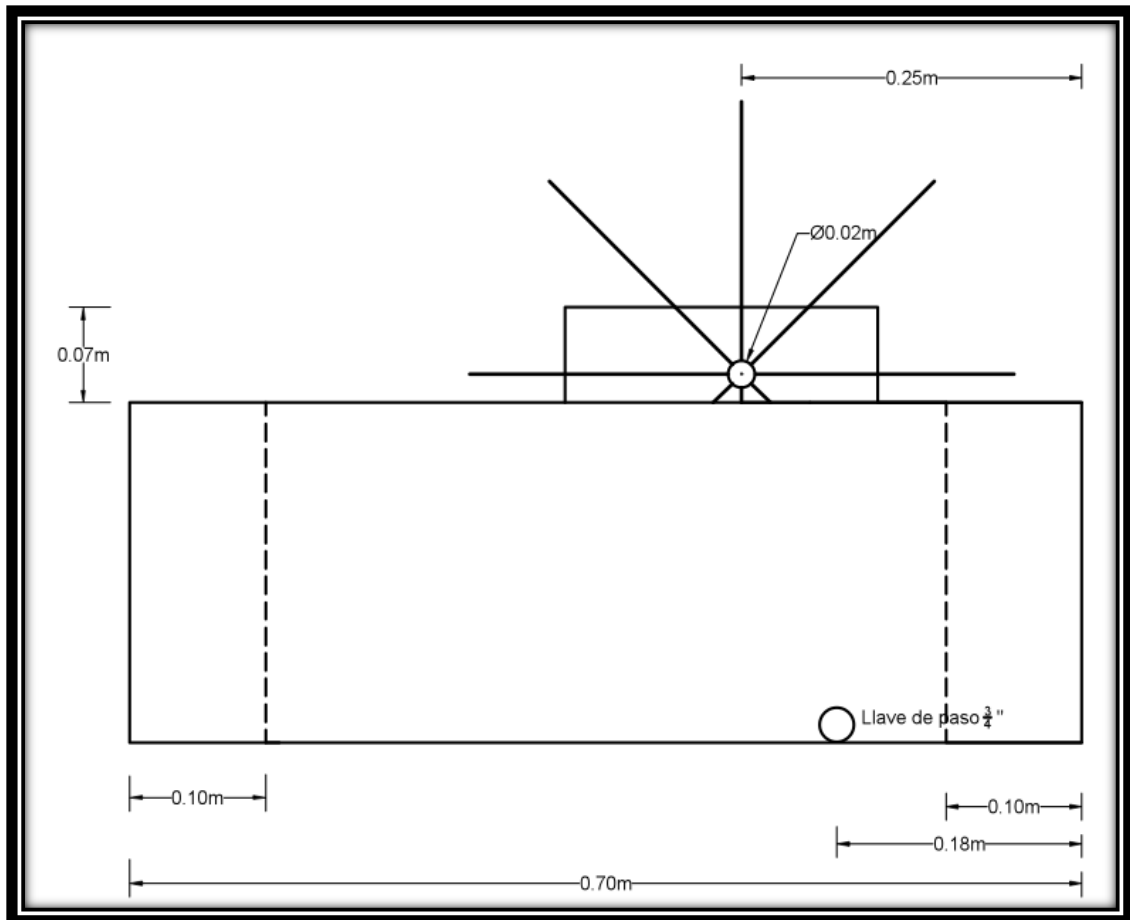


Figura No. 26 Vista transversal frontal del biorreactor de pileta de 15 L

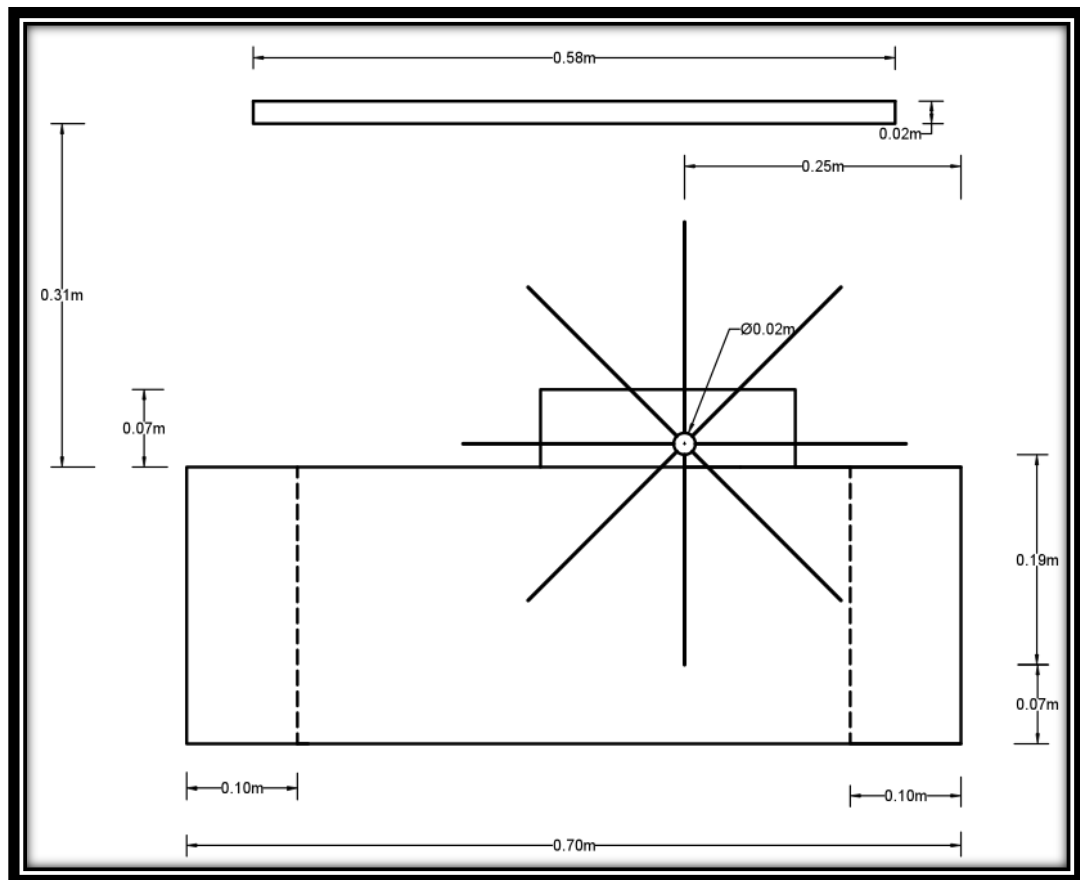


Figura No. 27 Vista lateral del biorreactor de pileta de 15 L

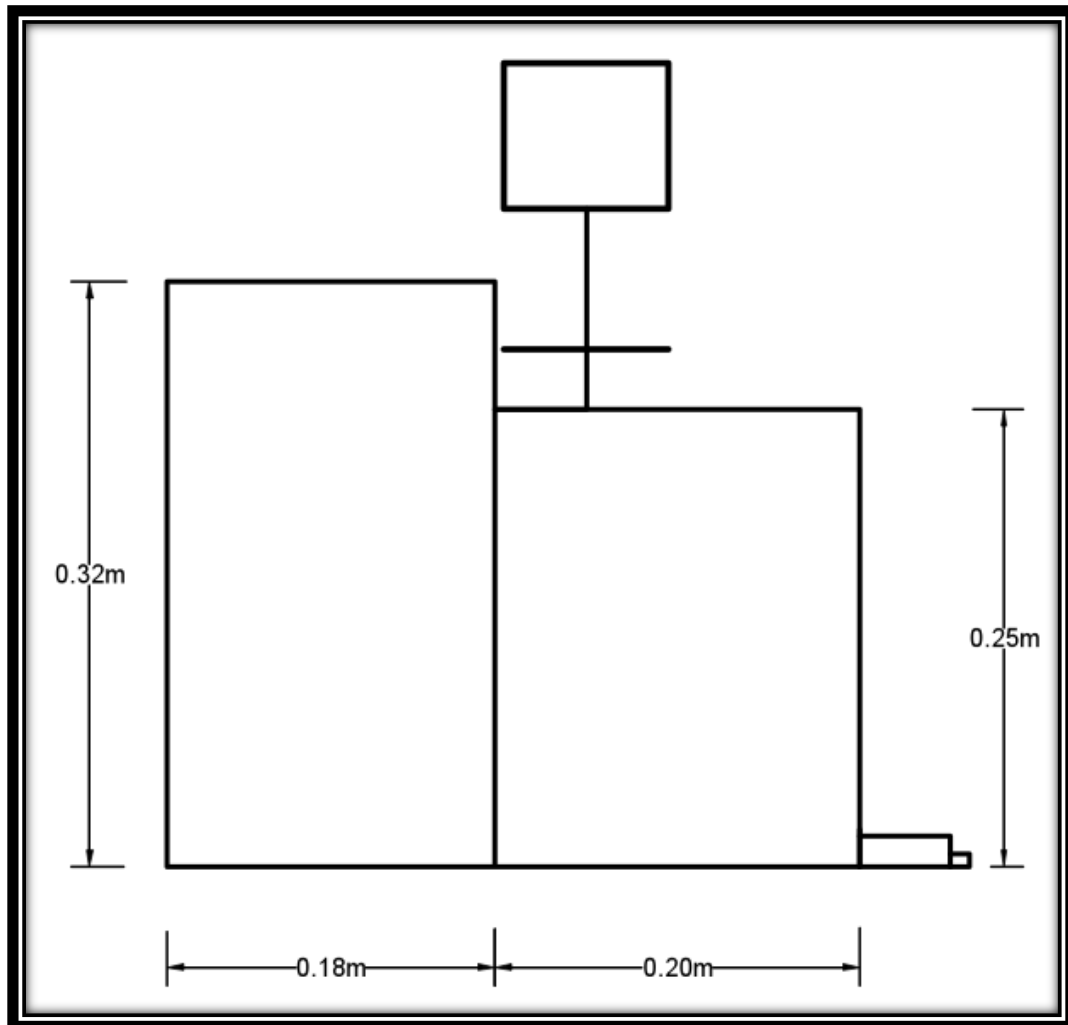
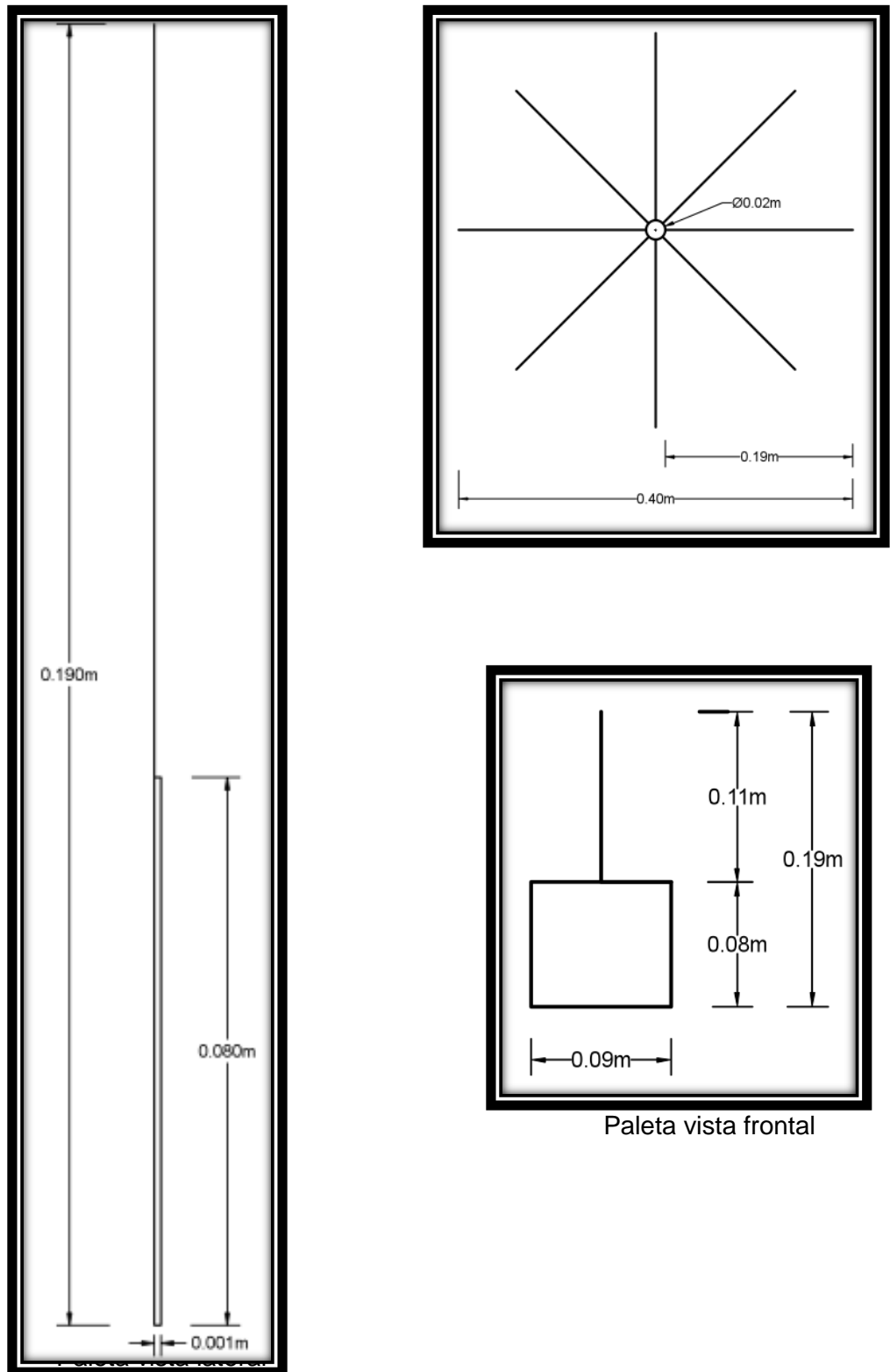


Figura No. 28 Vista del sistema de agitación del biorreactor de piletta de 15 L



C. MÓDULO DE PRE-TRATAMIENTO ULTRASÓNICO

1. Apéndice A: Cálculos de muestra

Cálculo No.1. Determinación de la concentración de la Muestra No.1 (tiempo 0) para la cepa *Scenedesmus sp.*

$$\text{Concentración} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{número de células}}{\text{volumen (mL)}}$$

$$\text{Concentración} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) = \frac{38 \text{ células vivas}}{0.000625 \text{ mL}} = 60800 \text{ cel vivas/mL}$$

Del mismo modo se calculó la concentración del resto de las muestras de *Scenedesmus sp.*

Cálculo No. 2. Determinación de la concentración de la Muestra No.1 (tiempo 10) para las microalgas del Lago de Amatitlán con una dilución 1:100 mL

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \times 10,000}{\text{número de cuadros} \times \text{dilucion}}$$

$$\text{Concentración} = \frac{101 \times 10,000}{0.000625 \times 0.1} = 16160 \text{ cel vivas/mL}$$

Del mismo modo se calculó la concentración del resto de las muestras del Lago de Amatitlán.

2. Apéndice B: Análisis estadístico

Tabla No. 104 Estadística descriptiva de la extracción de las microalgas *Scenedesmus sp.* por medio del método Soxhlet

Masa del extracto (g)				
Solvente	Varianza	Z al 95%	Intervalo de Confianza	Mediana
éterdiisopropil	0.0238	1.96	1.6628 ± 0.0330	0.0604
hexano	41.9994	1.96	17.0927 ± 58.2083	0.7109

Proporción de la extracción (%)				
Solvente	Varianza	Z al 95%	Intervalo de Confianza	Mediana
éterdiisopropil	2.178E-05	1.96	1.6628 ± 0.0330	1.6628
hexano	6.337E-04	1.96	17.0927 ± 58.2083	17.0927

Tabla No. 105 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh&Dyer

Proporción de la extracción (%)				
Amplitud (%)	Varianza proporción	z al 95%	Intervalo de confianza	Mediana
60	0.3454	1.96	4.3794 ± 0.3909	4.6381
80	0.0545	1.96	5.5195 ± 0.0617	5.4433
100	0.0421	1.96	4.9835 ± 0.0476	4.9751

Masa del extracto (g)				
Amplitud (%)	Varianza extracción	z al 95%	Intervalo de confianza	Mediana
60	0.0000	1.96	0.0219 ± 9.611E-06	0.0232
80	0.0000	1.96	0.0276 ± 1.656E-06	0.0272
100	0.0000	1.96	0.0250 ± 1.132E-06	0.0267

Tabla No. 106 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas del Lago de Amatitlán por medio del método Bligh&Dyer modificado

Proporción de la extracción (%)				
Amplitud (%)	Varianza	z al 95%	Intervalo de confianza	Mediana
60	0.0810	1.96	3.0608 ± 0.0917	2.9776
80	0.2000	1.96	2.0336 ± 0.2263	1.8879
100	0.0007	1.96	1.3817 ± 0.0007	1.3728

Masa del extracto (g)				
Amplitud (%)	Varianza extracción	z al 95%	Intervalo de confianza	Mediana
60	2.123E-06	1.96	0.0154 ± 2.403E-06	0.0149
80	5.063E-06	1.96	0.0102 ± 5.730E-06	0.0094
100	1.233E-07	1.96	0.0068 ± 1.396E-07	0.0094

Tabla No. 107 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas *Scenedesmus sp.* por medio del método Bligh&Dyer

Proporción de extracción			
Varianza	z al 95%	Intervalo de confianza (z = 95%)	Media
2.0620	1.96	4.0348 ± 1.1667	4.1432
Masa del extracto (g)			
Varianza	z al 95%	Intervalo de confianza (z = 95%)	Media
0.9817	1.96	0.0222 ± 0.5554	0.0229

Tabla No. 108 Estadística descriptiva de la extracción de microalgas *Scenedesmus sp.* por medio del método Bligh&Dyer modificado

Proporción de extracción				
Varianza	z al 95%	Intervalo de confianza (z = 95%)		Media
1.7706	1.96	1.9894	± 1.0018	2.3949
Masa del extracto (g)				
Varianza	z al 95%	Intervalo de confianza (z = 95%)		Media
1.2076	1.96	0.0111	± 0.6833	0.0132

3. Apéndice C: Cálculo de análisis de error

Media Aritmética

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (\text{Skoog, 2005})$$

Ej. Cálculo de la media aritmética para la muestra No. 3 de masa del extracto con el método Bligh & Dyer

$$\bar{X} = \frac{0.0210 \pm 0.0001 + 0.0260 \pm 0.0001 + 0.0250 \pm 0.0001}{3} = 0.0250 \pm 2.000E - 06$$

De la misma manera se realizó la media aritmética para las otras corridas.

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (\text{Skoog, 2005})$$

Ej. Desviación Estándar de la media anterior

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \text{media})^2}{3 - 1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(0.0210 - 0.0250)^2 + (0.0260 - 0.0250)^2 + (0.0250 - 0.0250)^2}{2}}$$

$$= 2.000E - 06$$

Propagación de Error (suma y resta)

$$S_y = \sqrt{S_a^2 + S_b^2 + S_c^2} \quad (\text{Skoog, 2005})$$

Ej. Cálculo de la propagación de error de la resta entre la masa del beaker con el extracto y el beaker vacío

$$S_y = \sqrt{0.0001^2 + 0.0001^2} = 0.0153 \pm 0.00014 \text{ g}$$

De la misma manera se realizó la propagación de error para las otras corridas.

Propagación de Error (Multiplicaciones y Divisiones)

$$\text{Multiplicación o división: } \frac{S_y}{y} = \sqrt{\frac{S_a^2}{a^2} + \frac{S_b^2}{b^2}} \quad (\text{Skoog:2005})$$

Ej. Determinación de la proporción extracto/biomasa (%)

$$S = \frac{0.5007 \text{ g}}{0.0240 \text{ g}} \sqrt{\left(\frac{0.0001}{0.5007}\right)^2 + \left(\frac{0.00014}{0.0240}\right)^2} = 0.0479 \pm 0.0283$$

De la misma manera se realizó la propagación de error para las otras corridas.

Cálculo del intervalo de confianza

$$IC = \bar{x} \pm \frac{1.96 * s}{\sqrt{n}}$$

(Ecuación 17, Skoog 2005)

Ejemplo: cálculo del intervalo de confianza del promedio del intervalo de confianza al 95%

$$IC = 0.0218 \pm \frac{(1.96)(7.90E - 06)}{\sqrt{3}} = 0.0218 \pm 8.943E - 06$$

De la misma manera se realizó el cálculo del intervalo de confianza del promedio de flujo de agua utilizada para condensar el vapor extraído de la solución.

4. Apéndice D: Lectura en Cámara de NeubauerImproved

Tabla No. 109 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 1 de microalgas del Lago de Amatitlán, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%)

Tiempo (±0.01min)	Cantidad de células intactas después del tratamiento	Concentración de células en la muestra	Cantidad de células dañadas después del tratamiento	Proporción (%)
0	--	--	--	--
5	--	--	--	--
10	101	16160	16160	--
20	17	1700000	-1683840	--
30	13	1300000	400000	23.53
40	14	1400000	-100000	-7.69
50	10	1000000	400000	28.57
60	6	600000	400000	40.00
70	5	500000	100000	16.67

Tabla No. 110 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 2 de microalgas del Lago de Amatitlán, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%)

Muestra 2				
Tiempo (±0.01min)	Cantidad de células intactas después del tratamiento	Concentración de células en la muestra	Cantidad de células dañadas después del tratamiento	Proporción (%)
0	--	--	--	--
5	--	--	--	--
10	24	2400000	2400000	--
20	13	1300000	1100000	45.83
30	11	1100000	200000	15.38
40	10	1000000	100000	9.09
50	7	700000	300000	30.00
60	7	700000	0	0.00
70	3	300000	400000	57.14

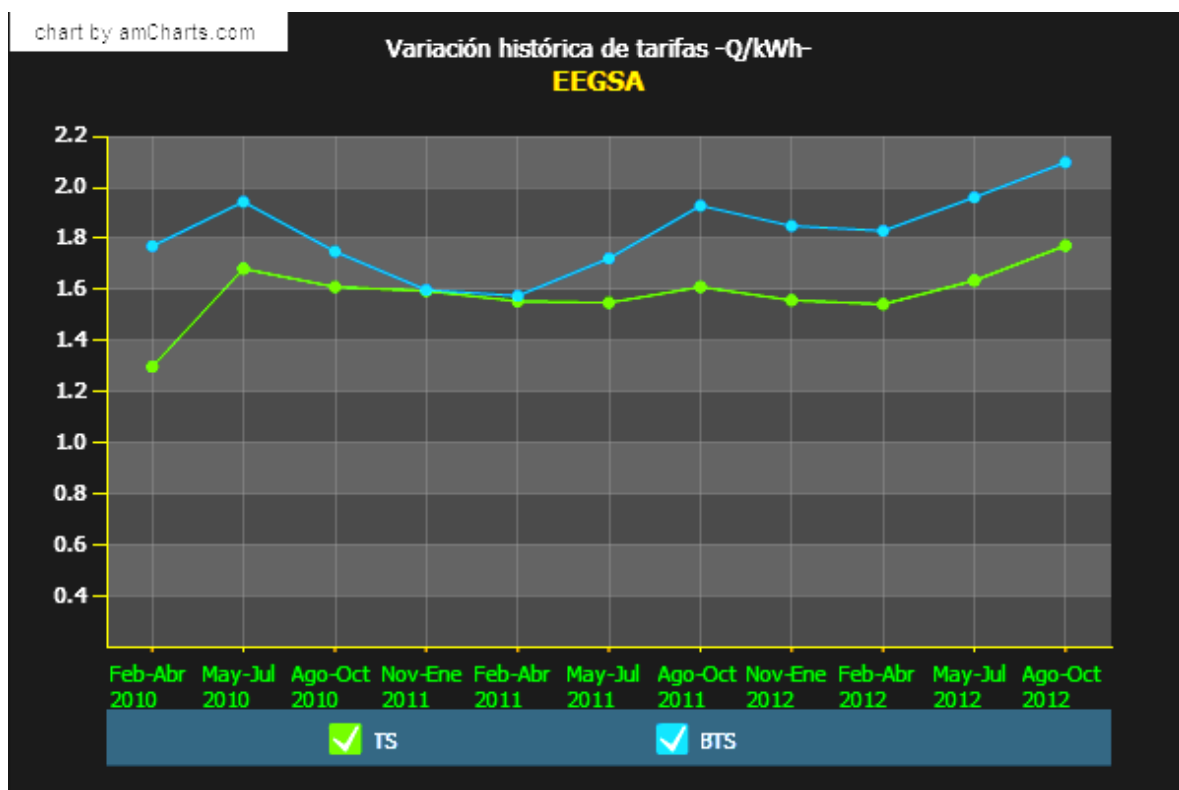
Tabla No. 111 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 1 de microalgas *Scenedesmus sp.*, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%)

Muestra 1				
Tiempo (±0.01min)	Cantidad de células intactas después del tratamiento	Concentración de células en la muestra	Cantidad de células dañadas después del tratamiento	Proporción (%)
0	38	60800		
5	20	32000	32000	52.63
10	16	25600	25600	80.00
40	7	11200	14400	56.25
50	4	6400	4800	42.86
60	4	6400	0	0.00
70	1	1600	4800	75.00

Tabla No. 112 Determinación de la curva de rompimiento celular para la Muestra 2 de microalgas *Scenedesmus sp.*, trabajado a las condiciones máximas del equipo UP100H (ciclo 1 y amplitud 100%)

Muestra 2				
Tiempo (±0.01min)	Cantidad de células intactas después del tratamiento	Concentración de células en la muestra	Cantidad de células dañadas después del tratamiento	Proporción (%)
0	26	41600		
5	23	36800	36800	88.46
10	12	19200	19200	52.17
40	5	8000	11200	58.33
50	6	9600	-1600	-20.00
60	4	6400	3200	33.33
70	2	3200	3200	50.00

5. Apéndice E: Análisis económico

Gráfica No. 36 Tarifa de energía eléctrica de EEGSA para Guatemala durante el año 2012

Obtenida de: <http://www.cnee.gob.gt/Calculadora/index3.php>

Tabla No. 113 Cargo por consumidor en energía eléctrica para el año 2012 en Guatemala

Cargo por consumidor (Q/consumidor-mes)
8.889342

Obtenida de: <http://www.cnee.gob.gt/Calculadora/index3.php>

Tabla No. 114 Costos de utilizar el pre-tratamiento ultrasónico con el método Soxhlet, Bligh&Dyer y Bligh&Dyer modificado para la cepa del Lago de Amatitlán

	Cantidad	Valor en Euros	Tipo de cambio (20/2/12) EUR - \$	Tipo de cambio (20/2/12) \$ - Q	Valor en Quetzales
Costo de equipo para laboratorio	1	€ 2,913.65	1.32579	7.81083	Q 30,172.36
Costo de electricidad (Q/kWh)	--	--	--	--	Q 8.89
Tiempo óptimo de pre-tratamiento (min/100mL muestra)	30	--	--	--	--
Consumo de energía eléctrica por el equipo de ultrasonido en sistema acuoso (W)	90	--	--	--	--
Masa de extracto con método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente (g)	1.0097	--	--	--	--
Masa de extracto con método Soxhlet utilizando hexano como solvente (g)	0.9128	--	--	--	--
Masa de extracto con método Bligh&Dyer (g)	0.0249	--	--	--	--
Masa de extracto con método Bligh&Dyer modificado (g)	0.0108	--	--	--	--
Costo de pre-tratamiento (Q/prueba)	--	--	--	--	Q 400.02
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente (Q g extracto obtenido por prueba)	--	--	--	--	Q 0.40
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando hexano como solvente (Q de g extracto obtenido por prueba)	--	--	--	--	Q 0.44
Costo de pre-tratamiento con método Bligh&Dyer (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 16.07
Costo de pre-tratamiento con método Bligh&Dyer modificado (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 37.04

Tabla No. 115 Costos de utilizar el pre-tratamiento ultrasónico con el método Soxhlet, Bligh&Dyer y Bligh&Dyer modificado para la cepa del *Scenedesmus*.

	Cantidad	Valor en Euros	Tipo de cambio (20/2/12) EUR - \$	Tipo de cambio (20/2/12) \$ - Q	Valor en Quetzales
Costo de equipo para laboratorio	1	€ 2,913.65	1.32579	7.81083	Q 30,172.36
Costo de electricidad (Q/kWh)	--	--	--	--	Q 8.89
Tiempo óptimo de pre-tratamiento (min/100mL muestra)	10	--	--	--	--
Consumo de energía eléctrica por el equipo de ultrasonido en sistema acuoso (W)	90	--	--	--	--
Masa de extracto con método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente (g)	0.0604	--	--	--	--
Masa de extracto con método Soxhlet utilizando hexano como solvente (g)	0.7109	--	--	--	--
Masa de extracto con método Bligh&Dyer (g)	0.0222	--	--	--	--
Masa de extracto con método Bligh&Dyer modificado (g)	0.0111	--	--	--	--
Costo de pre-tratamiento (Q/L muestra)	--	--	--	--	Q 133.34
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando éter diisopropil como solvente (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 2.21
Costo de pre-tratamiento con método Soxhlet utilizando hexano como solvente (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 0.19
Costo de pre-tratamiento con método Bligh&Dyer (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 6.01
Costo de pre-tratamiento con método Bligh&Dyer modificado (Q/g extracto obtenido)	--	--	--	--	Q 12.01

6. Apéndice F: Equipo

Tabla No. 116 Datos de placa del equipo utilizado

Fabricante	HielscherUltrasonicsGmbH
Proporción	> 90%
Frecuencia de trabajo	30 kHz
Rango de control	± 1 kHz
Salida nominal utilizable	
UP50H	50W (45W en sistema acuoso)
UP100H	100W (90W en sistema acuoso)
Densidad máxima de energía	125 a 600 W/cm ²
Amplitud máxima	125 a 220 µm

Tabla No. 117 Información de rendimiento de las sonotrodos estándar del equipo

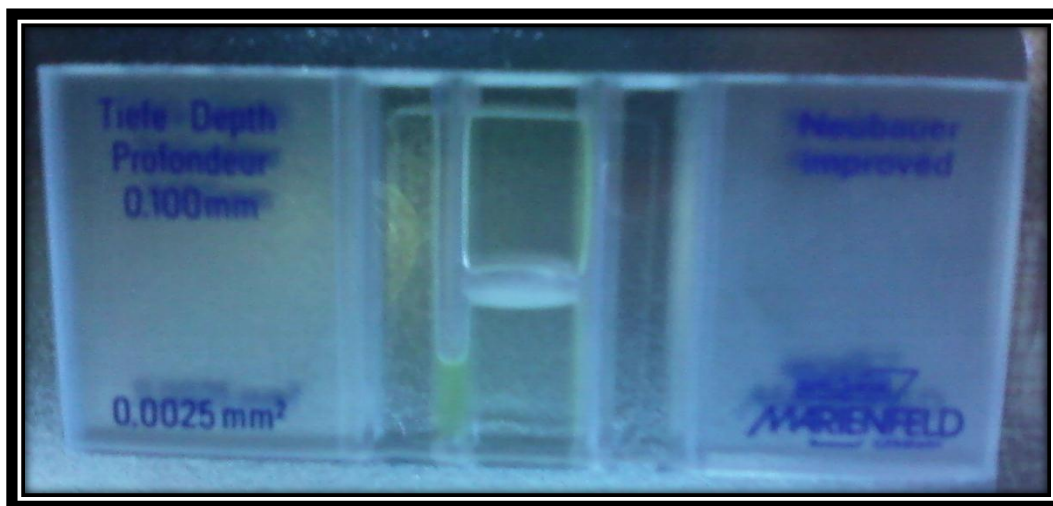
Title	max. submerg ed depth (mm)	Tip diameter (mm)	max. amplitude (µm)	Acoustic power density (W/cm ²)
MS0,5 Micro tip 0.5	5	0.5	140	125
MS1 Micro tip 1	5	1	140	125
MS2 Micro tip 2	30	2	220	600
MS3 Micro tip 3	30	3	180	460
MS7 Micro tip 7	30	7	125	130
MS7D Flow tip 7	30	7	125	130
MS10 Micro tip 10 (only for UP100H)	30	10	70	90

Fotografía No. 27 Equipo de Ultrasonido UP100H utilizado para las pruebas



Fuente: Laboratorio de Operaciones Unitarias, Universidad del Valle de Guatemala

Fotografía No. 28 Cámara Neubauer Marienfeld



Fuente: Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, Universidad del Valle de Guatemala

7. Apéndice G: Fotografías del proyecto

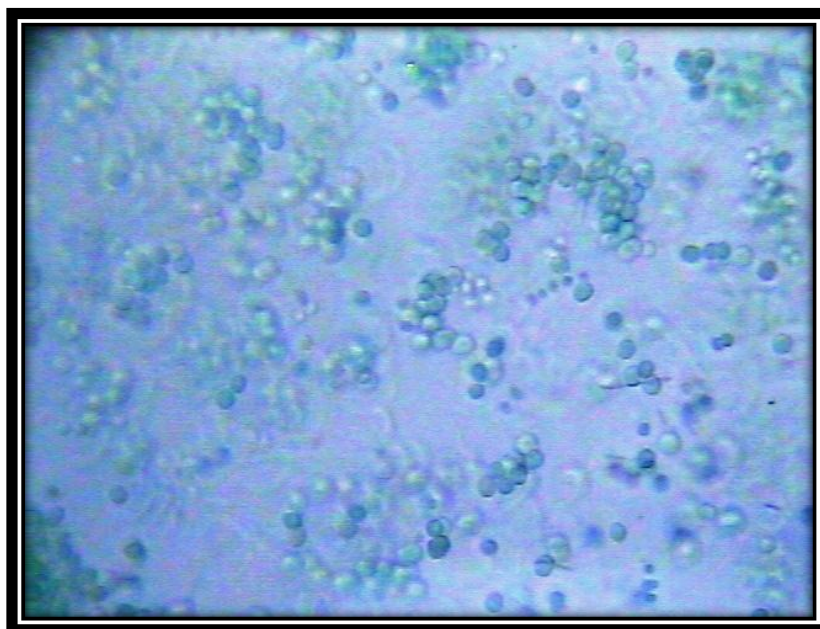
Fotografía No. 29 Filtración de algas del Lago de Amatitlán

Fotografía por: Fabiola Morales

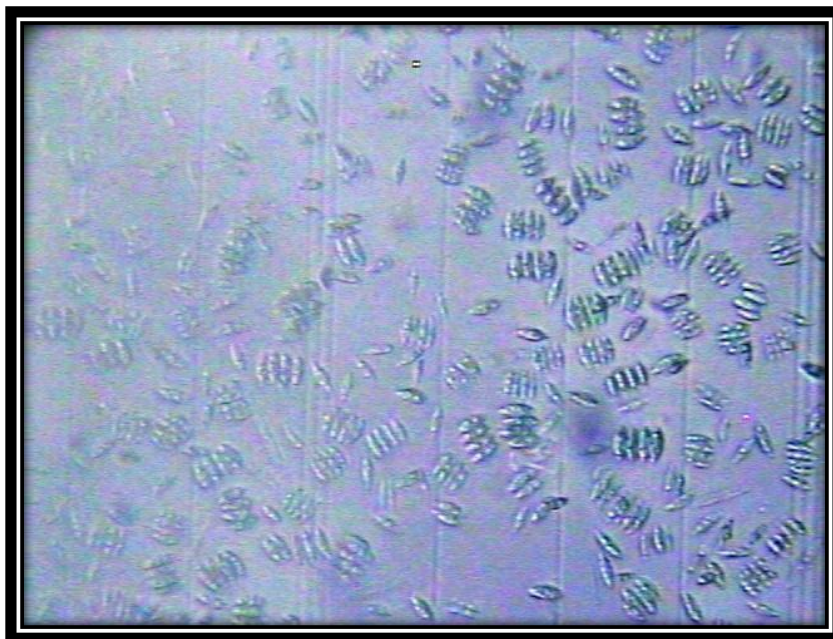
Septiembre 2012

Fotografía No. 30 Muestra de algas de Lago de Amatitlán

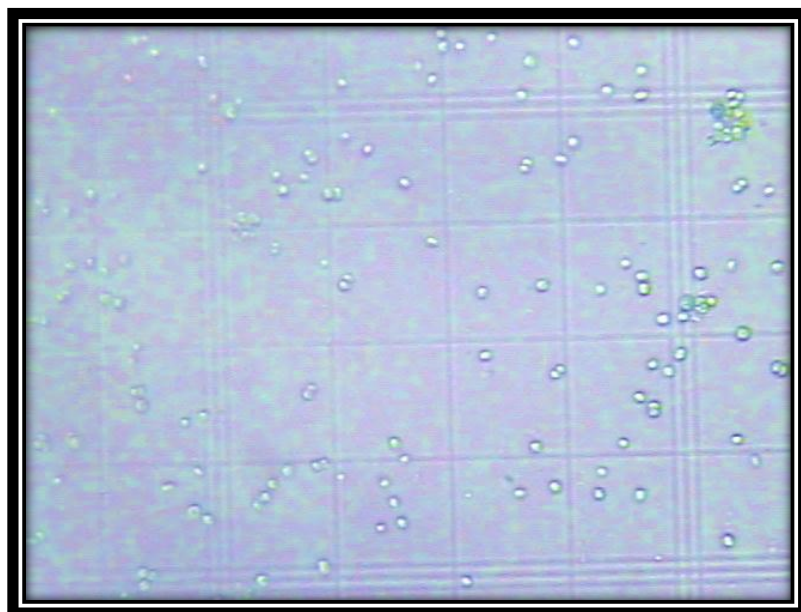
Fotografía No. 31 Vista en microscopio de algas del Lago de Amatitlán sin pre-tratamiento ultrasónico



Fotografía No. 32 Vista en microscopio de algas *Scenedesmus sp.* sin pre-tratamiento ultrasónico



Fotografía No. 33 Vista de microscopio de la Cepa UVG sin pre-tratamiento ultrasónico



D. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE POR MEDIO DEL MÉTODO BLIGH&DYER Y BLIGH&DYER MODIFICADO

1. Apéndice A: Codificación de muestras y métodos

a. Muestras del lago de Amatitlán

Tabla No. 118 Codificación de muestras con pretratamiento previo a la extracción

Muestra	Parámetros
M1	Amplitud de onda 60% Tiempo de exposición: 1 minutos 59.90 segundos
M2	Amplitud de onda 80% Tiempo exposición: 3 minutos 5.38 segundos
M3	Amplitud de onda 100% Tiempo exposición: 5 minutos 2.71 segundos

b. Muestras microalga *Scenedesmus sp.*

Tabla No. 119 Codificación de microalga con pretratamiento previo a la extracción

Muestra	Parámetros
M4	Amplitud de onda 100% Tiempo de exposición: 5 minutos

c. Método de extracción

Tabla No. 120 Codificación de los métodos utilizados

Método A	Método Bligh&Dyer
Método B	Método Bligh&Dyer modificado

2. Apéndice B: Metodología de extracción de aceite

a. Secado de microalga. La biomasa de microalga como se sabe, contiene gran cantidad de agua, debido al medio en donde crece, por lo tanto previo a su extracción es necesario eliminar la cantidad de agua por medio del secador utilizando un flujo de aire a una temperatura de 60.3°C por 6 horas, es necesario revisar cada 30min o 1h el proceso de secado de la microalga ya que puede que este tiempo dure más o menos dependiendo del contenido de agua de la muestra.

Fotografía No. 34 Secado de microalga en el secador del Laboratorio de Operaciones Unitarias de Universidad del Valle de Guatemala



1) Extracción utilizando Método Bligh&Dyer. El método Bligh&Dyer como ya se ha mencionado con anterioridad es utilizado para la extracción a partir de solventes, se utilizan dos solventes siendo estos el metanol y cloroformo, polar y no polar respectivamente, los cuales se mezclan en una proporción 2:1 con la cantidad de microalga seca para luego ser expuesta al vortex por 2 minutos, se le agrega la misma cantidad de cloroformo que al inicio se agita en el vortex por 2 minutos, se le agrega agua destilada agitando nuevamente por 2 minutos. Esta muestra se centrifuga por 10 minutos a 2000rpm. Se ve la separación de las dos capas, orgánica y acuosa, luego de la centrifugación la capa orgánica (solvente cloroformo) es la que contiene el extracto por lo tanto al obtener esta capa será necesario evaporar el solvente a una temperatura alrededor de 80°C .

Fotografía No. 35 Microalga extracción Método Bligh&Dyer

a. Extracción utilizando Método Bligh&Dyer modificado. El método Bligh&Dyer modificado tiene el mismo procedimiento que su método original con la variante importante de los solventes, en este caso se utiliza hexano en vez de cloroformo y alcohol isopropílico en lugar de metanol por lo tanto ya que el hexano presenta una menor densidad que el cloroformo luego de que la muestra es centrifugada 10 minutos la capa orgánica se separa en la parte superior. Evaporando el hexano a una temperatura alrededor de 80°C. Se realiza el mismo procedimiento que con el Método Bligh&Dyer solo que con diferente solvente.

3. Apéndice C: Procedimiento de Operación

a. Secado

- 1) Filtrar la biomasa de microalga, colocarla en tubos para centrífuga de 50mL centrifugando a 2000rpm

Fotografía No. 36 Tubos de centrífuga, centrífuga del laboratorio de biodisel de la Universidad del Valle de Guatemala

- 2) Colocar la biomasa filtrada en un frasco tarado para conocer la cantidad de biomasa que se filtro.

Fotografía No. 37 Frasco para biomasa filtrada



- 3) Colocar la biomasa en papel para ponerla a secar

Fotografía No. 38 Biomasa para secar



- 4) Colocarla en el secador a través de un tubo con flujo de aire a una temperatura de 60.3°C
- 5) Utilizar el mortero para homogenizar la microalga seca.

Fotografía No. 39 Mortero



b. Método Bligh&Dyer

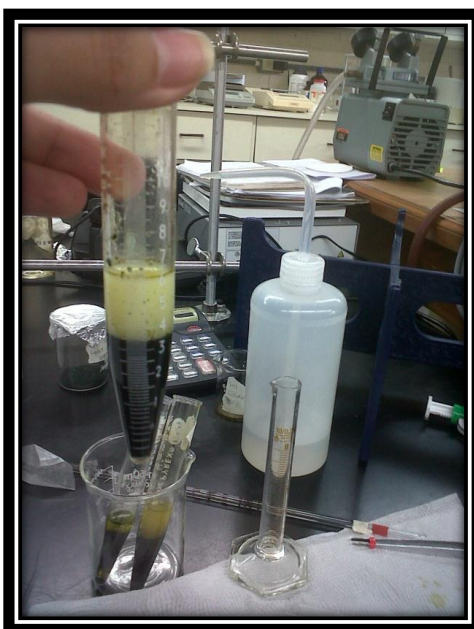
- 1) Pesar la microalga dependiendo de la muestra que se desee analizar en este caso alrededor de 0.5 a 0.55g
- 2) Colocar la muestra en un tubo para centrifuga de vidrio de 15mL

Fotografía No. 40 Tubo de vidrio de 15mL para centrifuga



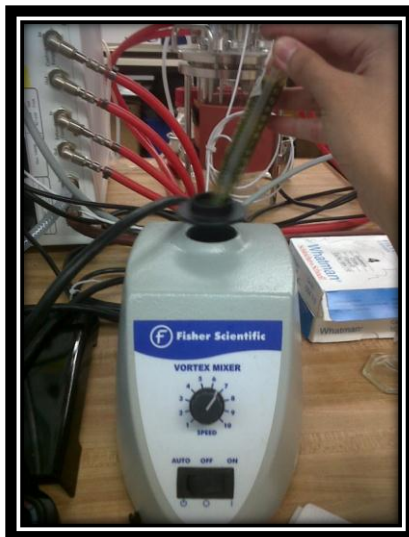
- 3) Agregarle 1mL de cloroformo y 2mL de metanol

Fotografía No. 41 Microalga con solvente



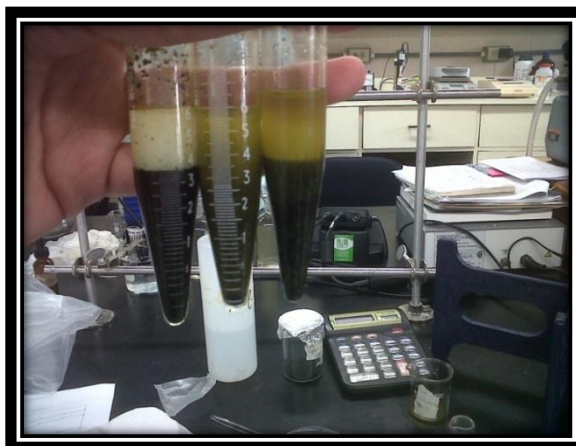
- 4) Colocar en el vortex por 2 minutos

Fotografía No. 42 Tubo de centrífuga en el vortex ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



- 5) Agregarle 1mL de cloroformo
- 6) Colocar la muestra nuevamente en el vortex por 2 minutos
- 7) Agregarle 2mL de agua
- 8) Colocar en el vortex por 2 minutos

Fotografía No. 43 Luego del vortex



- 9) Colocar el tubo de vidrio en la centrífuga a 2000rpm por 10 minutos.
- 10) Se observaran las dos fases, una orgánica (inferior) y otra acuosa (superior)

Fotografía No. 44 Separación de fases

- 11) Se separa la fase orgánica con pipeta de pasteur para colocarla en un beaker tarado

Fotografía No. 45 Extracción de la capa orgánica

- 12) Luego evaporar a 80°C para eliminar el solvente y obtener el extracto.

Fotografía No. 46 Extracto, estufa ubicada en el Laboratorio de Ingeniería Bioquímica

La adición de los solventes puede cambiar dependiendo la cantidad de muestra que se analice.



c. Método Bligh&Dyer modificado. En este método se realiza el mismo procedimiento con las mismas proporciones de solventes con la variante de los solventes, en este caso en vez de cloroformo se utiliza hexano y en vez de metanol se utiliza alcohol isopropílico. Por lo tanto, en la separación de fase orgánica y acuosa, la fase orgánica se separa en la parte superior debido a su baja densidad.

4. Apéndice D: Metodología para análisis de ácido grasos.

a. Derivatización ácidos grasos

1) Reactivos

- 50mL de NaOH 0.5N disuelto en metanol
- 50mL trifluoruro de boro al 20% en metanol
- 150mL solución saturada de cloruro de sodio en agua

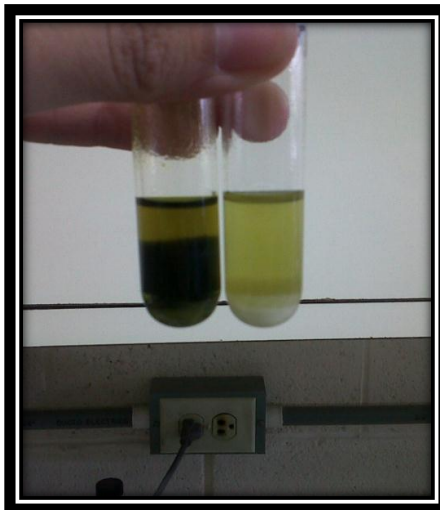
2) Preparación de muestra

- Colocar 20 gotas del aceite en balón aforado de 25mL
- Agregar 5mL de NaOH 0.5N aforado con metanol
- Colocar en una estufa y calentar a 70°C por 10 minutos hasta que se saponifique totalmente
- Agregar 3mL de BF₃ en metanol al 20%
- Agregar 5mL de heptano
- Agregar solución saturada de NaCl hasta el aforo
- La capa superior, fase orgánica, colocar en un tubo de ensayo que contenga 0.5g de sulfato de sodio anhidro.

Fotografía No. 47 Derivatización de ésteres metílicos



Fotografía No. 48 Muestra para cromatografía de gases



3) Determinación de parámetros para cromatografía

Cromatógrafo con software

- Cromatógrafo usado: Cromatógrafo HP 5890 II
- Se utiliza una columna semi capilar
- Columna SPB-5 (30m x 0.53mm x 1micrometro)
- Nitrógeno (43psi) con split 94:1, acarreador 2.4ml/min
- Inyector 245°C, detector FID, Ionización de llama 260°C (H₂ 13psi, aire 36psi.
- Horno 100°C, 10°C/min hasta 250°C, 10 min
- Sistema cromatográfico HP 589II/ ChemStation
- Se inyecta 0.4µL de la muestra a analizar

Cromatógrafo detector FID

- Columna HP-88
- Detector FID 300°C
- Horno 125°C, 20°C/min hasta 165°C 1 min; 5°C/min hasta 220°C 10 min
- Volumen de inyección 1µL

b. Determinación de los cromatogramas. El cromatograma muestra el área de los picos donde se identifico el ácido graso u otro componente, identificando de acuerdo a su base de datos que componente se encuentra en la muestra analizada, en caso de no tener base de datos es necesario tener referencia bibliográfica de los tipos de picos que se espera tener en la muestra analizada.

5. Apéndice E: Análisis Estadístico de datos

a. Datos originales

Tabla No. 121 Muestra M1 con el método A

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5007	28.2620	29.9970	28.2857
2	0.5018	23.9144	25.2731	23.9330
3	0.5002	13.2862	15.2300	13.3094

Tabla No. 122 Muestra M1 con el método B

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente(g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5023	27.4444	28.3056	27.4586
2	0.5004	28.2383	29.0115	28.2532
3	0.5033	30.2353	31.1390	30.2523

Tabla No. 123 Muestra M2 con el método A

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5006	28.2478	30.1195	28.2745
2	0.5016	27.451	29.5242	27.4802
3	0.4997	30.2438	32.2085	30.2708

Tabla No. 124 Muestra M2 con el método B

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5008	30.604	31.0926	30.6124
2	0.4979	29.886	30.3841	29.8954
3	0.5009	28.6433	29.3212	28.6560

Tabla No. 125 Muestra M3 con el método A

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5018	31.4521	33.406	31.476
2	0.5007	30.6084	32.8261	30.634
3	0.5025	30.2517	32.3451	30.2768

Tabla No. 126 Muestra M3 con el método B

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.4994	28.6382	29.6102	28.645
2	0.5033	28.25	29.071	28.2571
3	0.4662	29.8794	30.5737	29.8858

Tabla No. 127 Muestra M4 con el método A

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.554	28.2474	30.2531	28.2627
2	0.5526	29.88	31.8714	29.9053
3	0.5496	28.2717	30.9645	28.2913
4	0.5488	28.272	30.254	28.2804
5	0.5505	29.8874	31.3254	29.8998
6	0.5522	28.2716	30.1453	28.2898
7	0.5539	28.246	30.4828	28.2731
8	0.5534	29.8785	32.1983	29.9027
9	0.5494	29.2700	30.4309	29.2915
10	0.5498	28.6381	30.8014	28.6733
11	0.5485	31.4473	33.8216	31.4781
12	0.5501	30.2517	32.4201	30.2008

Tabla No. 128 Muestra M4 con el método B

Experimento	Masa seco microalga (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5519	28.6396	29.0478	28.6523
2	0.5540	31.4498	32.5474	31.4662
3	0.5539	30.2531	31.2036	30.2690
4	0.5505	28.6345	29.4567	28.6532
5	0.5519	31.4509	33.0979	31.4655
6	0.5529	30.2543	31.4576	30.2786
7	0.5520	28.2517	29.1178	28.2563
8	0.5467	28.8830	30.7591	29.8899
9	0.5020	28.2982	29.0874	28.3002
10	0.5493	28.6516	29.1364	28.6532
11	0.5520	31.4564	32.2399	31.4586
12	0.5896	30.2544	30.9284	30.2707

Tabla No. 129 Muestra semilla higerillo con el método A

Experimento	Masa seco semilla (g)	Masa beaker (g)	Masa beaker con extracto y solvente (g)	Masa beaker con extracto (g)
1	0.5534	29.8809	32.8445	30.1393
2	0.5500	23.7797	25.7010	24.0236
3	0.5538	30.9098	32.4196	31.1311
4	0.5544	31.4513	32.4520	31.6564
5	0.5537	27.4576	29.2070	27.6652
6	0.5524	28.2790	30.5131	28.5037
7	0.5535	29.8819	32.1521	30.1394
8	0.5537	23.7809	25.8666	24.0236
9	0.5531	30.9125	33.0418	31.1508
10	0.5520	31.4530	33.6873	31.7075
11	0.5539	27.4586	29.7287	27.6924
12	0.5546	28.2807	30.5078	28.5124

b. Datos calculados

1) Cantidad de Aceite obtenido

Si se toma como ejemplo el experimento 1 realizado a la muestra M4 con el método A, se tiene lo siguiente,

Ecuación No. 22

$$\text{Aceite} = \text{pesobeakerconmuestra sin solvente} - \text{pesobeakerseco}$$

$$\text{Aceite} = 28.2627g - 28.2474g = 0.0153g$$

2) Proporción de aceite extraído

Ecuación No. 23

$$\% \text{ aceite extraído} = \frac{\text{aceite (g)}}{\text{peso de alga seca (g)}}$$

$$\% \text{ aceite extraído} = \frac{0.0153g}{0.5540g} * 100\% = 2.7616\%$$

3) Solvente evaporado

Ecuación No. 24

$$\text{Solvente evaporado} = \text{pesobeakerconaceiteysolvente} - \text{pesobeakerseco}$$

$$\text{Solvente evaporado} = 30.2531g - 28.2627g = 1.9904g$$

De igual forma se calcularon todos los datos de los experimentos de las diferentes muestras a los diferentes métodos de extracción.

Tabla No. 130 Muestra M1 con el método A

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0237	4.7334	1.7113
2	0.0186	3.7067	1.3401
3	0.0232	4.6381	1.9206

Tabla No. 131 Microalga reutilizable obtenida en los 3 experimentos de muestra M1 utilizando método A.

Experimento	1	2	3
Microalga (g)	0.5007	0.5018	0.5002
Microalga reutilizable (g)	0.3174	0.2633	0.3148

Tabla No. 132 Muestra M1 con el método B

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0142	2.8270	0.7551
2	0.0149	2.9776	1.0131
3	0.017	3.3777	0.8561

Tabla No. 133 Microalga reutilizable obtenida en los 3 experimentos de M1 utilizando método B.

Experimento	1	2	3
Microalga (g)	0.5023	0.5004	0.5033
Microalga reutilizable (g)	0.3203	0.3690	0.3161

Tabla No. 134 Muestra M2 con el método A

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0267	5.3336	0.5321
2	0.0292	5.8214	0.8985
3	0.027	5.4032	1.0483

Tabla No. 135 Muestra M2 con el método B

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0267	1.6773	0.4802
2	0.0292	1.8879	0.4887
3	0.027	2.5354	0.6652

Tabla No. 136 Muestra M3 con el método A

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0239	4.7629	1.9300
2	0.0256	5.1128	2.1921
3	0.0251	4.9950	2.0683

Tabla No. 137 Muestra M3 con el método B

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracto extraído (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0068	1.3616	0.9652
2	0.0071	1.4107	0.8139
3	0.0064	1.3728	0.6879

Tabla No. 138 Muestra M4 con el método A

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracción (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0153	2.7616	1.9904
2	0.0253	4.5783	1.9661
3	0.0196	3.5662	2.6732
4	0.0084	1.5306	1.97336
5	0.0124	2.2525	1.4256
6	0.0182	3.2959	1.8555
7	0.0271	4.8926	2.2097
8	0.0242	4.3730	2.2956
9	0.0215	3.9134	1.1394
10	0.0352	6.4023	2.1281
11	0.0308	5.6153	2.3435
12	0.0291	5.2899	2.1393

Tabla No. 139 Muestra M4 con el método B

Experimento	Extracto de microalga (g)	Proporción de extracción (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.0127	2.3011	0.3955
2	0.0164	2.9603	1.0812
3	0.0159	2.8706	0.9346
4	0.0137	2.4886	0.8085
5	0.0146	2.6454	1.6324
6	0.0243	4.3950	1.1790
7	0.0047	0.8515	0.8614
8	0.0069	1.2621	0.8692
9	0.0020	0.3984	0.7872
10	0.0016	0.2913	0.4832
11	0.0022	0.3986	0.7813
12	0.0163	2.7645	0.6577

Tabla No. 140 Muestra semilla de higuero con el método A

Experimento	Extracto de semilla (g)	Proporción de extracción (%)	Solvente Evaporado (g)
1	0.2584	46.6932	2.7052
2	0.2439	44.3455	1.6774
3	0.2213	39.9603	1.2885
4	0.2051	36.9949	0.7956
5	0.2076	31.4932	1.5418
6	0.2247	40.6770	2.0094
7	0.2575	46.5221	2.0127
8	0.2427	43.8324	1.8430
9	0.2383	43.0844	1.8910
10	0.2545	46.1050	1.9798
11	0.2338	42.2098	2.0363
12	0.2317	41.7779	1.9954

4) Análisis estadístico

a) Media

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

$$\bar{x} = \frac{4.7334 + 3.7067 + 4.6381}{3} = 4.3594$$

b) Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{(4.7334 - 4.3594)^2 + (3.7067 - 4.3594)^2 + (4.6381 - 4.3594)^2}{3 - 1}} = 0.5673$$

c) Varianza

Ecuación No. 25

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$$

$$s^2 = 0.3218$$

d) Intervalo de confianza

Si se tiene un nivel de confianza al 95% entonces $z = 1.96$

Ecuación No. 26

$$IC\ 95\% = \bar{x} \pm \frac{z * s}{\sqrt{N}}$$

$$IC\ 95\% = \bar{x} \pm \frac{1.96 * 0.5673}{\sqrt{3}} = 4.3594 \pm 0.6420$$

De igual forma se calculó el análisis estadístico de los datos calculados de las diferentes muestras a los diferentes métodos de extracción.

Tabla No. 141 Análisis estadístico de muestra M1 con el método A

Proporción	
Media	4.3594
Desviación Estándar	0.5673
Varianza	0.3218
Intervalo de confianza	0.6420

Tabla No. 142 Análisis estadístico de muestra M1 con el método B

Proporción	
Media	3.0608
Desviación Estándar	0.2846
Varianza	0.0810
Intervalo de confianza	0.3221

Tabla No. 143 Análisis estadístico de muestra M2 con el método A

Proporción	
Media	5.5194
Desviación Estándar	0.2638
Varianza	0.0696
Intervalo de confianza	0.2985

Tabla No. 144 Análisis estadístico de muestra M2 con el método B

Proporción	
Media	2.0336
Desviación Estándar	0.4472
Varianza	0.2000
Intervalo de confianza	0.5061

Tabla No. 145 Análisis estadístico de muestra M3 con el método A

Proporción	
Media	4.9569
Desviación Estándar	0.1781
Varianza	0.2015
Intervalo de confianza	0.0317

Tabla No. 146 Análisis estadístico de muestra M3 con el método B

Proporción	
Media	1.3817
Desviación Estándar	0.0257
Varianza	0.0291
Intervalo de confianza	0.0007

Tabla No. 147 Análisis estadístico de muestra M4 con el método A

Proporción (%)	
Media	4.0393
Desviación Estándar	1.4356
Varianza	2.0611
Intervalo de confianza	0.8123

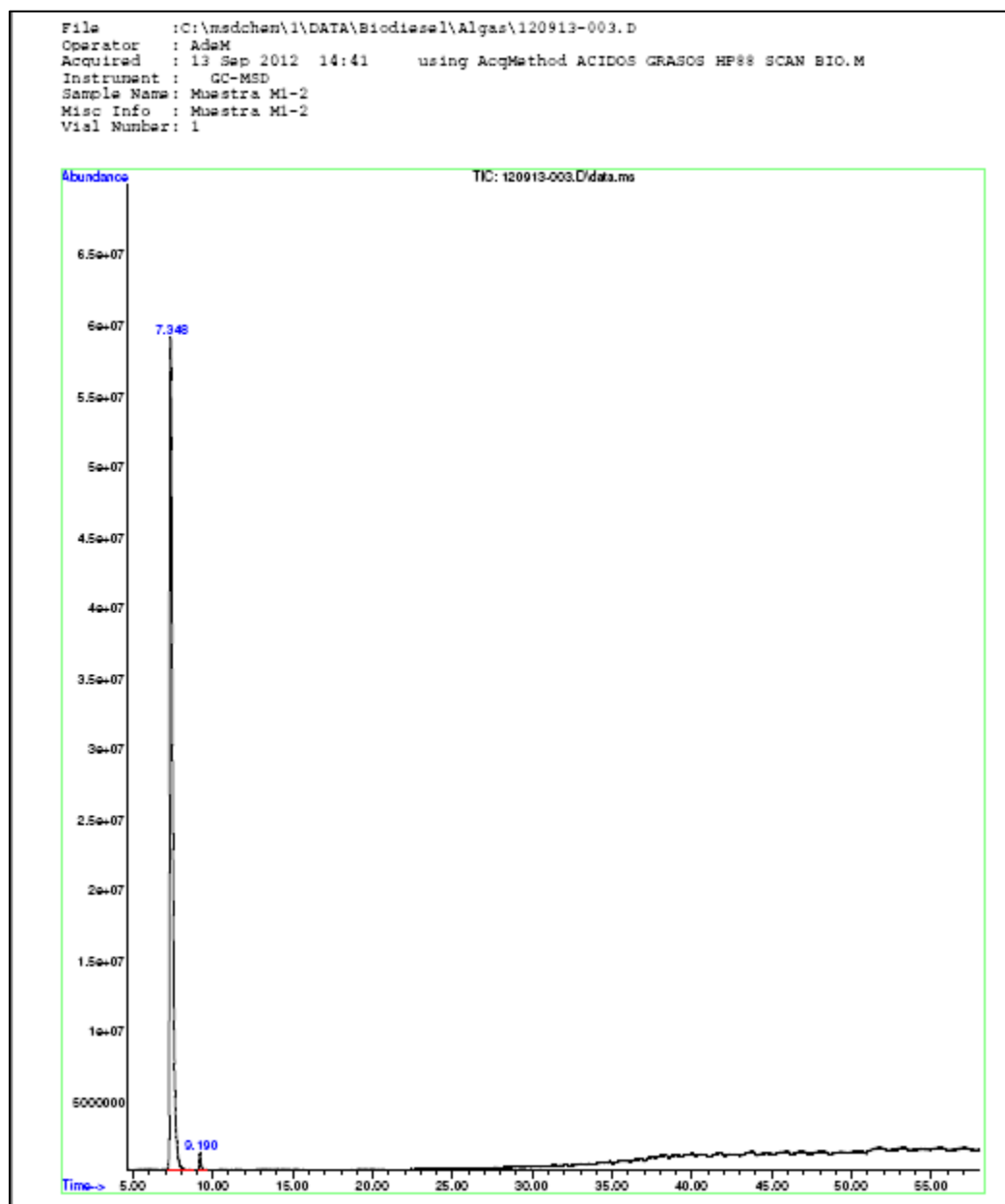
Tabla No. 148 Análisis estadístico de muestra M4 con el método B

Proporción (%)	
Media	1.9690
Desviación Estándar	1.3020
Varianza	1.6953
Intervalo de confianza	0.7367

Tabla No. 149 Análisis estadístico de muestra semilla de higuierillo con el método A

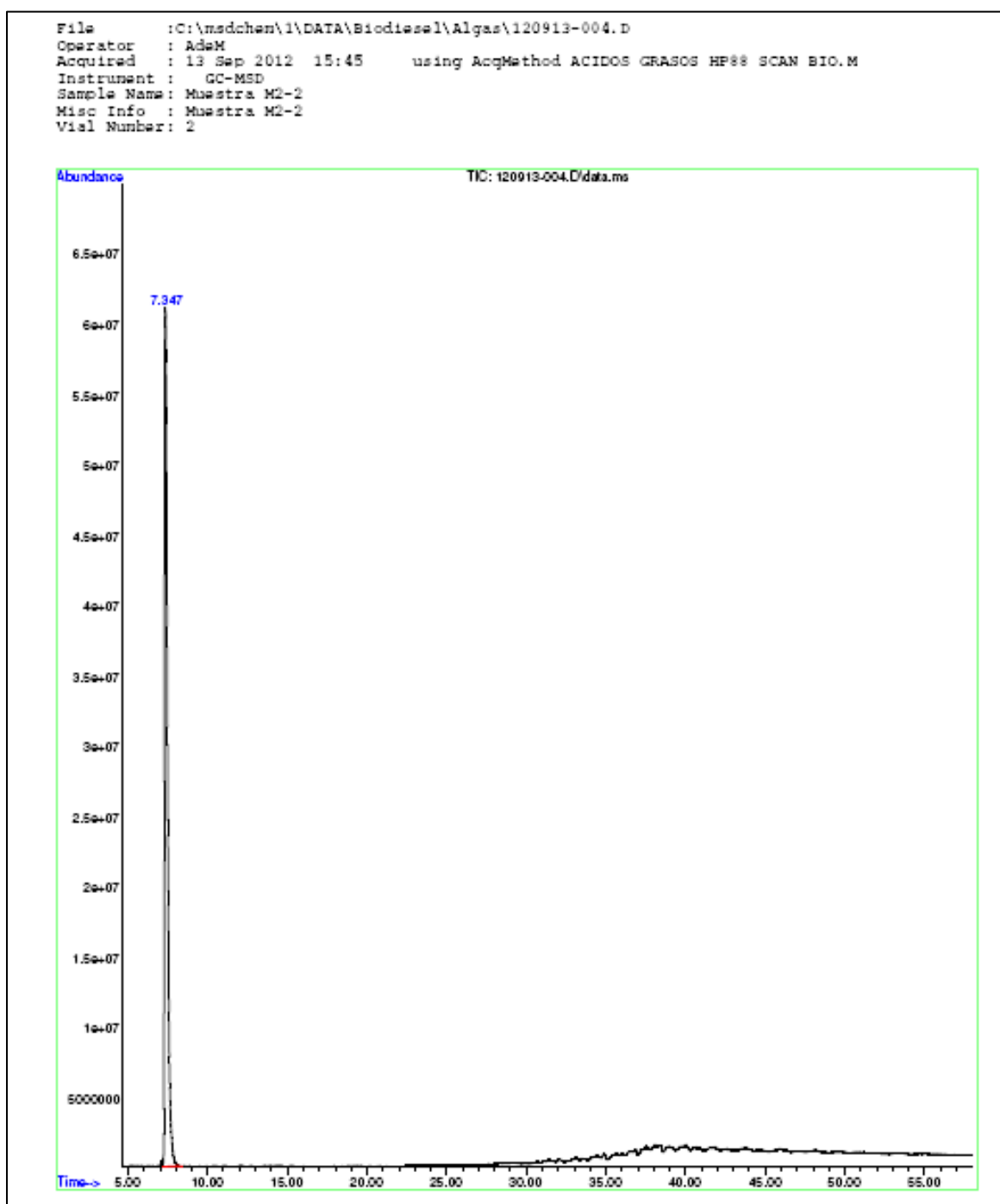
Proporción (%)	
Media	42.47465
Desviación Estándar	3.2756
Varianza	10.7294
Intervalo de confianza	1.8533

6. Apéndice F: Cromatogramas

Cromatograma No. 6 Muestra M1, M2 y M3 de extracto de microalga con el método A

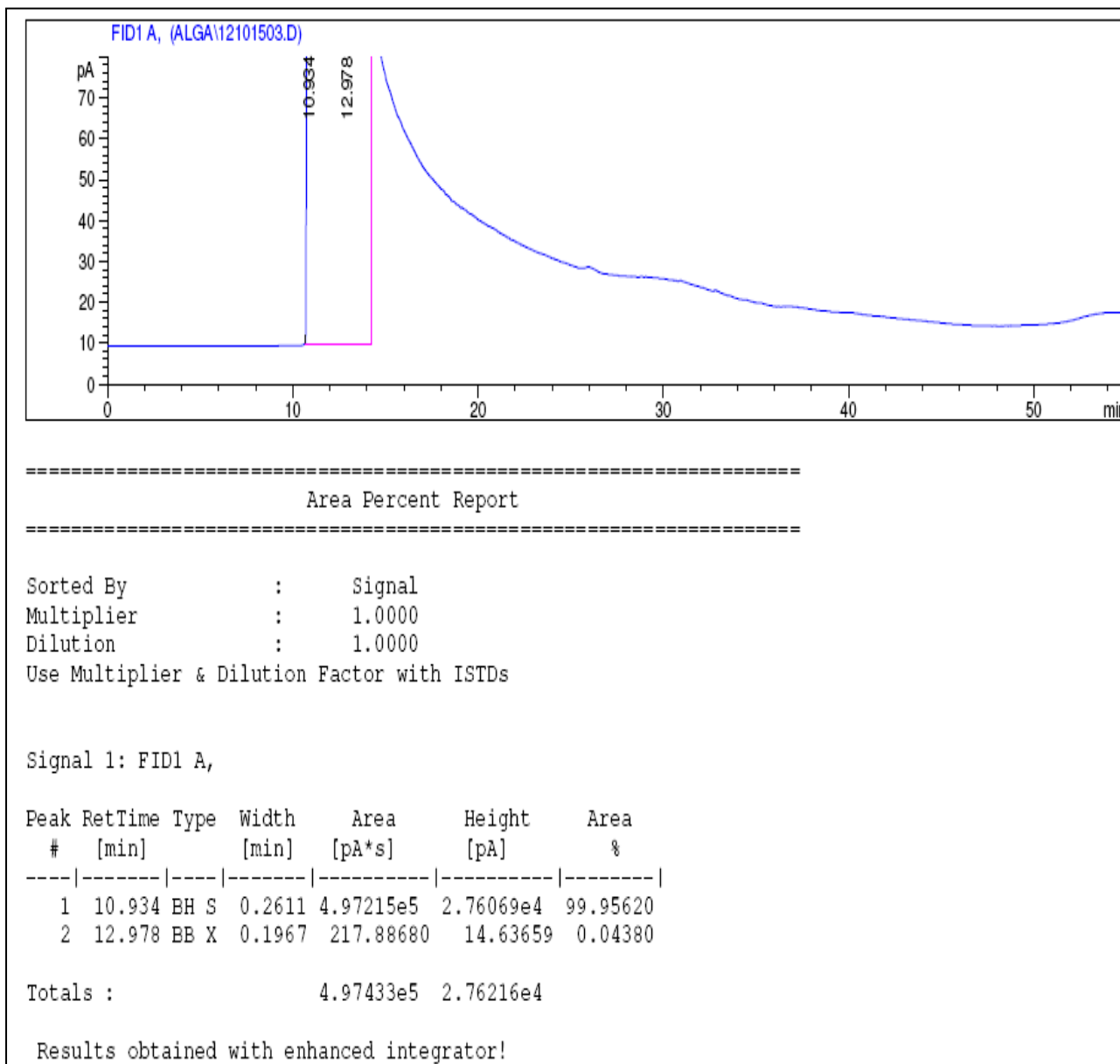
Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la Universidad del Valle de Guatemala

Cromatograma No. 7 Muestra M1, M2 y M3 de extracto de microalga con el método B



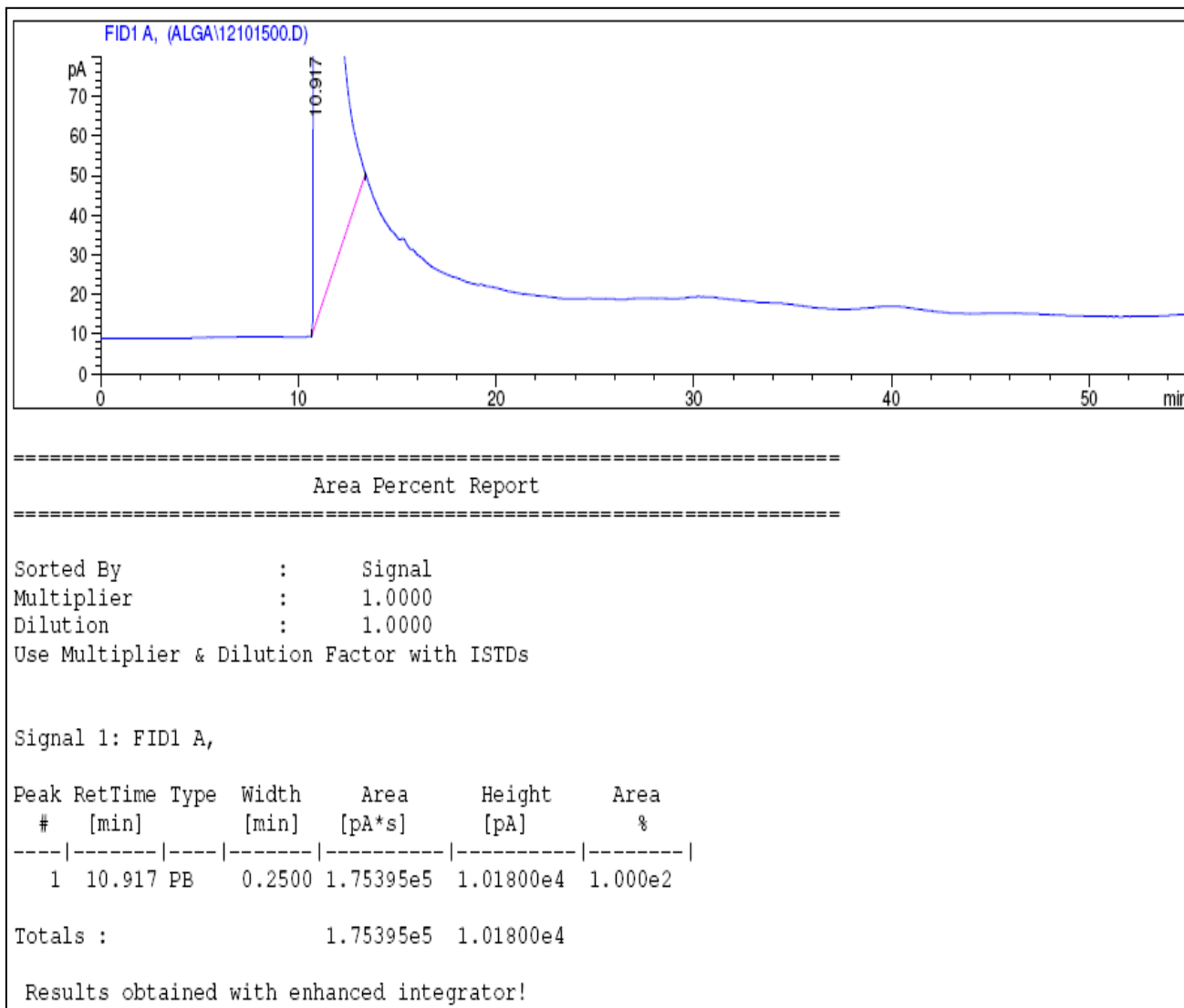
Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la Universidad del Valle de Guatemala

Cromatograma No. 8 Muestra M4 de extracto de microalga con el método A

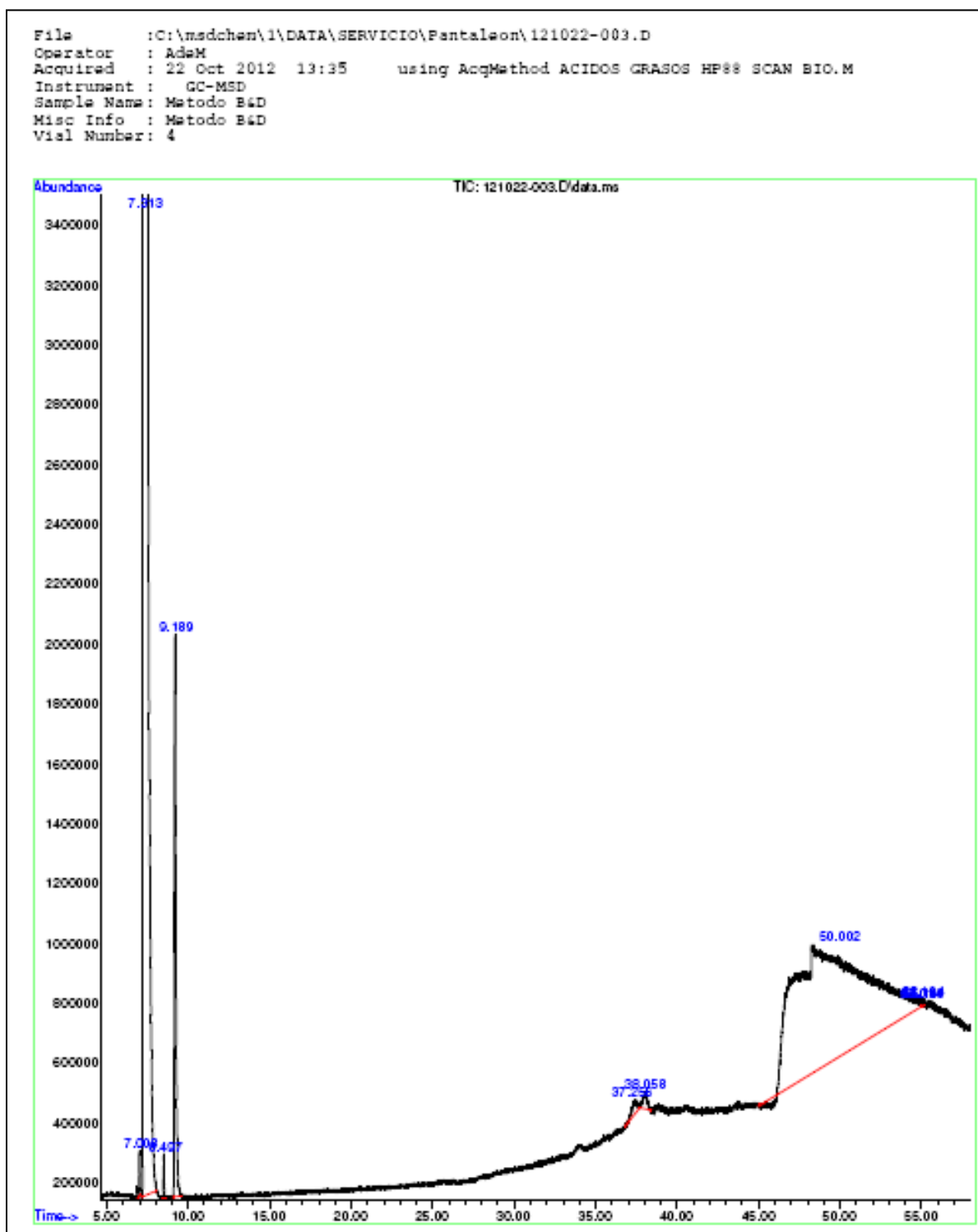


Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la Universidad del Valle de Guatemala

Cromatograma No. 9 Muestra M4 de extracto de microalga con el método B



Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la Universidad del Valle de Guatemala

Cromatograma No. 10 Muestra semilla de higuierillo utilizando el método A

Análisis realizado en Laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la
Universidad del Valle de Guatemala

7. Apéndice G: Descripción de cromatogramas

Figura No. 29 Información de Cromatograma No. 6

LIQA Library Search Report						
Data Path : C:\msdchem\1\DATA\Biodiesel\Algas\ Data File : 120913-003.D Title : Acq On : 13 Sep 2012 14:41 Operator : AdeM Sample : Muestra M1-2 Misc : Muestra M1-2 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1						
Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0						
Unknown Spectrum: Apex Integration Events: ChemStation Integrator - events.e						
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	7.348	98.98	C:\Database\NIST05a.L Heptane Heptane Heptane	3884 3887 3885	000142-82-5 000142-82-5 000142-82-5	90 83 62
2	9.190	1.02	C:\Database\NIST05a.L Trichloromethane Trichloromethane Trichloromethane	8712 8713 8714	000067-66-3 000067-66-3 000067-66-3	96 94 93

Figura No. 30 Información de Cromatograma No. 7

LIQA Library Search Report						
Data Path : C:\msdchem\1\DATA\Biodiesel\Algas\ Data File : 120913-004.D Title : Acq On : 13 Sep 2012 15:45 Operator : AdeM Sample : Muestra M2-2 Misc : Muestra M2-2 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1						
Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0						
Unknown Spectrum: Apex Integration Events: ChemStation Integrator - events.e						
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	7.348	100.00	C:\Database\NIST05a.L Heptane Heptane Heptane	3884 3887 3885	000142-82-5 000142-82-5 000142-82-5	90 83 62

Figura No. 31 Información de Cromatograma No.10

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\Pantaleon\ Data File : 121022-003.D Title : Acq On : 22 Oct 2012 13:35 Operator : AdeM Sample : Metodo B&D Misc : Metodo B&D ALS Vial : 4 Sample Multiplier: 1						
Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0						
Unknown Spectrum: Apex minus baseline at 45 minutes Integration Events: ChemStation Integrator - events.e						
1	7.007	0.05	C:\Database\NIST05a.L Dimethyl ether Dimethyl ether Formamide	96 97 90	000115-10-6 000115-10-6 000075-12-7	83 5 5
2	7.311	72.70	C:\Database\NIST05a.L Heptane Heptane Heptane	3885 3886 3884	000142-82-5 000142-82-5 000142-82-5	94 91 90
3	8.499	0.09	C:\Database\NIST05a.L Acetone Acetone Acetone	210 211 208	000067-64-1 000067-64-1 000067-64-1	9 7 5
4	9.190	2.32	C:\Database\NIST05a.L Trichloromethane Trichloromethane Trichloromethane	8712 8713 8714	000067-66-3 000067-66-3 000067-66-3	96 94 93
5	37.255	0.20	C:\Database\NIST05a.L Cyclopentanetridecanoic acid, meth yl ester Cyclopropanecarboxylic acid, undec yl ester Cyclopropanecarboxylic acid, nonyl ester	122333 85374 65804	024828-61-3 103677-78-7 060128-06-5	27 27 27
6	38.060	0.19	C:\Database\NIST05a.L 3-Furan-2-ylmethyl-5-methyl-2-[(1- phenyl-propylidene)-hydrazono]-thi azolidin-4-one 2-Furancarboxamide, N-(3-chlorophe nyl)- THYMIDINE, 3'-(O-TERT.-BUTYLDIMETH YLSILYL)-5'-ACETYL-	148233 71800 170603	1000275-52-0 1000307-03-7 1000144-56-5	9 5 4
7	50.000	24.44	C:\Database\NIST05a.L Methyl ricinoleate Methyl ricinoleate 8-Octadecenoic acid, methyl ester	132192 132191 122297	000141-24-2 000141-24-2 002345-29-1	87 64 47
8	55.013	0.00	C:\Database\NIST05a.L Methyl ricinoleate Methyl ricinoleate 7-Octadecenoic acid, methyl ester	132192 132191 122298	000141-24-2 000141-24-2 057396-98-2	87 83 58
9	55.104	0.01	C:\Database\NIST05a.L 7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- Methyl ricinoleate Methyl ricinoleate	104151 132192 132191	056875-67-3 000141-24-2 000141-24-2	64 58 53
10	55.140	0.00	C:\Database\NIST05a.L Methyl ricinoleate Methyl ricinoleate 9-Octadecenoic acid, methyl ester,	132191 132192 122326	000141-24-2 000141-24-2 001937-62-8	62 58 53

Figura No. 32 Información de Cromatograma No.10 (Continuación)

```

Data Path : C:\msdchem\1\DATA\SERVICIO\Pantaleon\
Data File : 121022-003.D
Title      :
Acq On    : 22 Oct 2012  13:35
Operator  : AdeM
Sample    : Metodo B&D
Misc      : Metodo B&D
ALS Vial  : 4   Sample Multiplier: 1

Search Libraries:  C:\Database\NIST05a.L           Minimum Quality:  0

Unknown Spectrum:  Apex minus baseline at 45 minutes
Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

```

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			(E)-			
11	55.163	0.00	C:\Database\NIST05a.L			
			Methyl ricinoleate	132192	000141-24-2	91
			Methyl ricinoleate	132191	000141-24-2	74
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	122321	000112-62-9	55

8. Apéndice H: Equipo

a. Balanza Analítica

Marca OHAUS Corp. Pine Brook
 Legibilidad: 0.0001g
 Voltaje: 8 – 14.5V
 Frecuencia: 50/60Hz
 Capacidad máxima: 110g

Fotografía No. 49 Balanza Analítica OHAUS, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



b. Vortex

Marca: Fisher Scientific
Catálogo No. 02215365
Número de Serie: 091130019
Voltaje: 15 V
Potencia: 150 W
Frecuencia: 50/60 Hz 1 fase
Velocidad: 1 - 10
Distribuido por DiLab

Fotografía No. 50 Vortex, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



c. Centrífuga para separación de microalgas

Marca: Damon/IEC Division
Modelo: HNS II
No. Serie: 325515240
Voltaje: 120V
Corriente: 2.5 A
Hp: 1/7
Frecuencia: 60Hz – 1 fase
Velocidad: 0-9000 rpm

Fotografía No. 51 Centrífuga Damon/ IEC Division, Laboratorio de biodiesel



d. Centrífugas para separación de fases

Marca: Eppendorf
Centrifuge 5804 R
Voltaje: 120V
Corriente: 12 A
Frecuencia: 60 Hz
Potencia 1300W
Número de serie: 0033302
Rpm: 14,000

Fotografía No. 52 Centrífuga para separación de fases



e. Centrífuga Eppendorf, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica

Marca: Fisher Scientific
Modelo: ZZ8
Rpm: 3400
Voltaje: 120 V
Corriente: 2.1 A

Fotografía No. 53 Centrífuga Fisher Scientific, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



f. Horno

Marca Fisher Scientific

Modelo: 5502

Rango: 20-80°C

Voltaje: 120 V

Corriente: 7.7 A

Potencia: 600 W

Fotografía No. 54 Horno Fisher Scientific, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



g. Estufa

Marca: Barnstead/Thermolyne Cimarec 3

No. Modelo: SP47235

No. Serie: 1072990220125

Voltaje: 120V

Corriente: 13.7 A

Potencia: 1650

Frecuencia. 60Hz – 1 fase

Fotografía No. 55 Estufa Barnstead, Laboratorio de Ingeniería Bioquímica



h. Secador por medio de aire a través de un tubo

Termocuplas

Marca: Taylor 9940

Capacidad de medición: 25° a 70°C

Fotografía No. 56 Secador a través de un tubo con aire, Laboratorio de Operaciones Unitarias



9. Apéndice I: Hoja de Seguridad de solventes

a. Metanol

FÓRMULA: CH₄O, CH₃OH

MASA MOLECULAR: 32.04 g/mol

COMPOSICIÓN: C: 37.48 %, H: 12.58 % y O: 49.93 %

GENERALIDADES:

Es un líquido incoloro, venenoso, con olor a etanol y cuando está puro puede tener un olor repulsivo. Arde con flama no luminosa. Es utilizado industrialmente como disolvente y como materia prima en la obtención de formaldehído, metil-ter-butil éter, ésteres metílicos de ácidos orgánicos e inorgánicos. También es utilizado como anticongelante en radiadores automovilísticos; en gasolinas y diesel; en la extracción de aceites de animales y vegetales y agua de combustibles de automóviles y aviones; en la desnaturalización de etanol; como agente suavizante de plásticos de piroxilina y otros polímeros y como disolvente en la síntesis de fármacos, pinturas y plásticos.

Durante mucho tiempo se obtuvo por destilación destructiva de madera a altas temperaturas, en la actualidad se produce por hidrogenación catalítica de monóxido de carbono a presiones y temperaturas altas, con catalizadores de cobre-óxido de cinc; por oxidación de hidrocarburos y como subproducto en la síntesis de Fischer-Tropsch.

NÚMEROS DE IDENTIFICACIÓN:

CAS: 67-56-1 UN: 1230

NIOSH: PC 1400000 RCRA: U154

NOAA: 3874 STCC: 4909230

RTECS: PC1400000 NFPA: Salud: 1 Reactividad: 0 Fuego:3

HAZCHEM CODE:2 PE El producto está incluido en: CERCLA, 313

MARCAJE: Líquido inflamable, venenoso.

SINÓNIMOS: Alcohol metílico, hidrato de metilo, hidróxido de metilo

PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

Densidad (g/ml): 0.81 g/ml (0/4°C), 0.7960 (15/4°C), 0.7915 (20/4°C), 0.7866 (25/4°C)

Punto de fusión: -97.8°C

Punto de ebullición (°C): 64.7 (760 mm de Hg), 34.8 (400 mm de Hg), 34.8 (200 mm de Hg), 21.2 (100 mm de Hg), 12.2 (60 mm de Hg), 5 (40 mm de Hg), -6 (20 mm de Hg), -16.2 (10 mm de Hg), - 25.3 (5 mm de Hg), -44 (1 mm de Hg)

Índice de refracción a 20°C: 1.3292

Densidad de vapor (aire = 1): 1.11
Punto de inflamación en copa cerrada (Flash point): 12°C
Punto de congelación: -97.68°C.
Temperatura de ignición: 470°C
Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 6-36.5
Temperatura crítica: 240°C
Presión crítica: 78.5 atm
Volumen crítico: 118 ml/mol
Calor de formación (kJ/mol): -239.03 (líquido a 25°C).
Energía libre de formación (kJ/mol): -166.81 (líquido a 25°C).
Calor de fusión (J/g): 103
Calor de vaporización en el punto de ebullición (J/g): 1129
Calor de combustión (J/g): 22 662 (a 25°C)
Temperatura de autoignición: 380°C
Tensión superficial (din/cm): 22.6 Calor específico (J/g K): 1.37 (vapor a 25°C) y 2.533 (líquido a 25°C)
Presión de vapor (mm de Hg): 127.2 (a 25°C)
Viscosidad (cP): 0.541 (líquido a 25°C)
Momento dipolar: 1.69
Constante dieléctrica: 32.7 (a 25°C)
Conductividad térmica (W/m K): 0.202 (a 25°C)
Forma azeótropos con muchos compuestos

PROPIEDADES QUÍMICAS:

Este producto reacciona violentamente con bromo, hipoclorito de sodio, dietilcinc, disoluciones de compuestos de alquil-aluminio, trióxido de fósforo, cloruro ianúrico, ácido nítrico, peróxido de hidrógeno, sodio, ter-butóxido de potasio y perclorato de plomo. En general, es incompatible con ácidos, cloruros de ácido, anhídridos, agentes oxidantes, agentes reductores y metales alcalinos.

RIESGOS:

Riesgos de fuego y explosión: Es un producto inflamable. Sus vapores pueden explotar si se prenden en un área cerrada y pueden viajar a una fuente de ignición, prenderse y regresar al área donde se produjeron en forma de fuego. Los contenedores pueden explotar.

Riesgos a la salud: El envenenamiento puede efectuarse por ingestión, inhalación o absorción cutánea. Y se debe, posiblemente, a su oxidación a ácido fórmico o formaldehído, esta oxidación se sabe que puede ser inhibida por etanol, pues el etanol es metabolizado de manera muy específica y desintoxica al organismo de metanol por medio de la respiración. Después de la muerte, el efecto mas grave de este producto, es la ceguera permanente.

Inhalación: La exposición a una concentración mayor de 200 ppm produce dolor de cabeza, náusea, vómito e irritación de membranas mucosas. Concentraciones muy altas pueden dañar el sistema nervioso central y causar problemas en la visión. Los metabolitos de este producto (ácido fórmico y formaldehído) son metabolizados lentamente por el organismo, por lo que los efectos del metanol son acumulativos y una exposición constante aún a bajos niveles, puede causar muchos de los efectos mencionados arriba. Estos efectos varían con cada individuo.

Contacto con ojos: Tanto los vapores como el líquido son muy peligrosos, pues se ha observado que el metanol tiene un efecto específico sobre el nervio óptico y la retina.

Contacto con la piel: El contacto directo produce dermatitis y los efectos típicos (mencionados arriba) de los vapores de metanol que se absorben por la piel.

Ingestión: El envenenamiento por este medio se lleva a cabo frecuentemente por etanol adulterado y sus efectos dependen de la cantidad ingerida, pues, como se mencionó arriba, el etanol afecta el metabolismo del metanol. Generalmente una dosis de 25 a 100 ml resulta fatal. Al principio se produce una narcosis similar a la producida por el etanol, pero después de 10 a 15 horas se presentan daños mas graves sobre el sistema nervioso central, específicamente sobre el nervio óptico y finalmente, se presentan los efectos agudos ya mencionados.

Carcinogenicidad: No se ha observado un incremento en los casos de cáncer en trabajadores expuestos a metanol, en estudios epidemiológicos.

Mutagenicidad: Resultó ser no mutagénico en estudios con Salmonella typhimuriumun y no indujo el intercambio de cromátida hermana.

Peligros reproductivos: En estudios con concentraciones altas de vapor (10000 ppm) se incrementan las malformaciones congénitas las cuales incluyen órganos urinarios y cardiovasculares. A concentraciones de 5000 ppm no se observaron estos efectos.

ACCIONES DE EMERGENCIA:

Primeros auxilios:

Inhalación: Mover a la víctima a un área bien ventilada y mantenerla abrigada. Si no respira, dar respiración artificial y oxígeno.

Ojos: Lavarlos con agua o disolución salina neutra en forma abundante, asegurándose de abrir los párpados con los dedos.

Piel: Lavar la zona dañada inmediatamente con agua y jabón. En caso necesario, quitar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.

Ingestión: No inducir el vómito. Pueden utilizarse de 5 a 10 g de bicarbonato de sodio para contrarrestar la acidosis provocada por este producto y en algunos casos, se ha informado de hemodiálisis como método efectivo para este tipo de envenenamiento.

Control de fuego: Usar agua en forma de neblina, pues los chorros de agua pueden ser inefectivos. Enfriar todos los contenedores involucrados con agua. El agua debe aplicarse desde distancias seguras. En caso de fuegos pequeños

puede utilizarse extinguidores de espuma, polvo químico seco y dióxido de carbono.

Fugas y derrames: Utilizar el equipo de seguridad mínimo (bata, lentes de seguridad y guantes) y, dependiendo de la magnitud del siniestro, utilizar equipo de protección completa y de respiración autónoma.

Alejar cualquier fuente de ignición del derrame y evitar que llegue a fuentes de agua y drenajes. Para ello construir diques con tierra, bolsas de arena o espuma de poliuretano, o bien, construir una fosa

Para bajar los vapores generados, utilice agua en forma de rocío y almacene el líquido.

Si el derrame es al agua, airear y evitar el movimiento del agua mediante barreras naturales o bombas para controlar derrames y succionar el material contaminado. El material utilizado para absorber puede quemarse.

El material utilizado para absorber el derrame y el agua contaminada debe de almacenarse en lugares seguros y desecharlo posteriormente de manera adecuada.

En el caso de derrames pequeños, el líquido puede absorberse con papel y llevarse a un área segura para su incineración o evaporación, después lavar el área con agua.

Desechos: En el caso de cantidades pequeñas, puede dejarse evaporar o incinerarse en áreas seguras.

Para volúmenes grandes, se recomienda la incineración controlada junto con otros materiales inflamables.

ALMACENAMIENTO:

El metanol debe almacenarse en recipientes de acero al carbón, rodeado de un dique y con sistema de extinguidores de fuego a base de polvo químico seco o dióxido de carbono, cuando se trata de cantidades grandes. En el caso de cantidades pequeñas, puede manejarse en recipientes de vidrio.

En todos los casos debe mantenerse alejado de fuentes de ignición y protegido de la luz directa del sol.

b. Cloroformo

FÓRMULA: CHCl_3

MASA MOLECULAR: 119.39 g/mol.

COMPOSICIÓN: C: 10.05 %; H: 0.84 % y Cl: 89.10 %.

GENERALIDADES:

El cloroformo es un líquido incoloro con olor dulce característico, muy volátil.

Generalmente contiene pequeños porcentajes (1-5 %) de etanol como estabilizador. Es ligeramente soluble en agua y con densidad mayor que ésta.

Es no inflamable, pero productos de su oxidación, como el fosgeno, son muy peligrosos. Es peligroso por inhalación e ingestión.

Se obtiene por medio de una cloración cuidadosamente controlada de metano, por tratamiento de acetona con polvos blanqueadores (CaOCl_2) y ácido sulfúrico. Fue descubierto en 1847 y se utilizó como anestésico por inhalación, como insecticida y en la industria farmacéutica, sin embargo su toxicidad ha provocado que sea reemplazado por otras sustancias. Actualmente, es utilizado como intermediario en síntesis orgánica, especialmente en la obtención de fluorocarbono 22, el cual es utilizado como refrigerante, propelente y en la fabricación de tetrafluoroetileno y su polímero (PTFE).

SINÓNIMOS: Cloroformo, trocloruro de formilo, triclorometano, tricloruro de metilo, tricloruro de metenilo, tricloroformo, R 20 (Refrigerante)

PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

Punto de fusión: $-63.5\text{ }^\circ\text{C}$

Punto de ebullición: $61.26\text{ }^\circ\text{C}$ (760 mm de Hg)

Densidad: 1.498 g/ml (a $15\text{ }^\circ\text{C}$); 1.484 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$)

Densidad de vapor (aire =1): 4.12

Índice de refracción ($20\text{ }^\circ\text{C}$): 1.4476

Temperatura de autoignición: mayor de $1000\text{ }^\circ\text{C}$

Viscosidad (cP): 0.855 (a $-13\text{ }^\circ\text{C}$), 0.70 (a $0\text{ }^\circ\text{C}$), 0.563 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$) y 0.51 (a $30\text{ }^\circ\text{C}$).

Tensión superficial respecto al aire (din/cm): 27.14 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$) y 21.73 (a $60\text{ }^\circ\text{C}$); respecto al agua: 45.0 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$).

Capacidad calorífica (kJ/kg K): 0.979 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$)

Temperatura crítica: $263.4\text{ }^\circ\text{C}$.

Presión crítica: 53.79 atm.

Volumen crítico: $0.002\text{ m}^3/\text{kg}$

Conductividad térmica (W/m K): 0.13 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$)

Constante dieléctrica: 4.9 (a $20\text{ }^\circ\text{C}$) Momento dipolar (debye): 1.15

Calor de combustión (MJ/kg mol): 373

Calor de formación (MJ/kg mol) a $25\text{ }^\circ\text{C}$: -89.66 (gas) y -120.9 (líquido)

Calor latente de evaporación en el punto de ebullición (kJ/kg): 247

Solubilidad: miscible con etanol, benceno, éter dietílico, éter de petróleo, tetracloruro de carbono, disulfuro de carbono y acetona.

Solubilidad en agua (g/kg de agua): 10.62 (a 0°C), 8.22 (a 20°C) y 7.76 (a 30°C).
Solubilidad de agua en cloroformo (g/kg de cloroformo): 0.806 (a 22°C).
Presión de vapor (mm de Hg): 0.825 (a -60°C), 2.03 (a -50°C), 4.73 (a -40°C), 9.98 (a -30°C), 19.58 (a -20°C), 34.73 (a -10°C), 60.98 (a 0°C), 100.5 (a 10°C), 159.6 (a 20°C), 246.0 (a 30°C), 366.38 (a 40°C) y 525.98 (a 50°C).
Forma azeótropo con agua de punto de ebullición 56.1°C y contiene 97.2 % de cloroformo.

PROPIEDADES QUÍMICAS:

Los productos de descomposición del cloroformo son: fosgeno, cloruro de hidrógeno, cloro y óxidos de carbono y cloro. Todos ellos corrosivos y muy tóxicos.

El cloroformo reacciona violentamente con:

-Acetona en medios muy básicos.

-Fluor, tetróxido de dinitrógeno, metales como aluminio, magnesio, sodio, litio y potasio, sodio en metanol, metóxido de sodio, nitrometano, isopropilfosfina y derivados alquilados de aluminio.

Es oxidado por reactivos como ácido crómico, formando fosgeno y cloro. Se descompone a temperatura ambiente por acción de la luz del sol en ausencia de aire y en la oscuridad en presencia de este último, siendo uno de los productos de esta descomposición el fosgeno, el cual es muy tóxico.

RIESGOS:

Riesgos de fuego y explosión: A pesar de ser un producto no inflamable, los contenedores donde se encuentra almacenado el cloroformo explotan con calor. Además, al calentarse, libera fosgeno, cloruro de hidrógeno, cloro y óxidos de carbono y cloro, los cuales son corrosivos y muy tóxicos.

Riesgos a la salud: Está clasificado como moderadamente tóxico, sin embargo está considerado como posible carcinogénico humano. Una probable dosis letal para humanos es de 0.5 a 5 g /Kg. Sin embargo, se sospecha que es carcinógeno para humanos. Puede causar una muerte rápida, atribuida a paro cardíaco y una muerte lenta por daño al hígado y riñón. Debe evitarse que personas alcohólicas, con problemas graves nutricionales, de hígado, riñón y sistema nervioso central, utilicen este producto.

Inhalación: Los signos de intoxicación aguda con vapores de cloroformo, en general, son: depresión respiratoria, neumonitis química, edema pulmonar, acidosis metabólica, depresión del sistema nervioso central, dolor de cabeza, fatiga, adormecimiento y pérdida del equilibrio. Se ha informado, también de arritmias y paro cardíacos.

Por este medio se tienen riesgos particularmente para hígado y riñones, ya que el cloroformo tiende a alojarse en los tejidos de estos órganos, uniéndose covalentemente a macromoléculas celulares. La ingestión de alcohol, potencializa la toxicidad de los vapores de cloroformo.

Su poder como anestésico se presenta a concentraciones entre 10000 y 15000 ppm, mientras que entre 15000 y 18000 puede ser fatal por paro respiratorio.

Contacto con ojos: Ocasiona conjuntivitis, e, incluso, quemaduras dolorosas, ya sea en forma de vapor o líquido.

Contacto con la piel: No hay una absorción significativa a través de la piel.

Ingestión: Provoca náusea, vómito, salivación, anorexia, irritación gastrointestinal y daño al hígado y riñones.

Carcinogenicidad: Se ha encontrado que es un carcinogénico en ratas y ratones y se sospecha que es un carcinógeno humano a largo plazo y debe ser reemplazado por otros disolventes, cuando sea posible.

Mutagenicidad: Se tienen resultados negativos en algunos estudios realizados con

Salmonella typhimurium.

Riesgos reproductivos: Es teratogénico para ratas y ratones y altamente tóxico al feto por inhalación en experimentos con estos mismos animales. También ha estado implicado en desordenes similares en humanos, por lo que se recomienda que las mujeres embarazadas no tengan contacto con este producto.

ACCIONES DE EMERGENCIA:

Primeros auxilios:

Una exposición aguda al cloroformo requiere descontaminación y soporte de vida básico para la víctima. El personal de emergencia debe usar ropa de protección adecuada, dependiendo del grado de contaminación. Toda la ropa y equipo contaminado debe almacenarse en recipientes especiales, para darles el tratamiento de descontaminación adecuado, más tarde.

De manera general, la víctima debe moverse a una zona ventilada. Evaluar signos vitales como: pulso y velocidad de respiración. Si no hay pulso, proporcionar rehabilitación cardiopulmonar. Si no respira, proporcionar respiración artificial. Si la respiración es dificultosa, proporcionar oxígeno. No existe un antídoto específico y se sabe que no debe darse adrenalina a las personas que sufren envenenamiento por cloroformo.

Ojos y piel: Quitar la ropa contaminada, y lavar según sea el caso, ojos y/o piel con agua corriente en gran cantidad. Los ojos pueden lavarse también con disolución salina neutra asegurándose de abrir bien los párpados.

Ingestión: Mantener a la víctima en reposo y caliente. No inducir el vómito. Puede suministrarse carbón activado, si la víctima está consciente. Usar de 15 a 30 g, para niños, o de 50 a 100 g, para adultos con 1/2 a 1 taza de agua. Provocar excreción con un cartártico salino o sorbitol para víctimas concientes, los niños requieren de 15 a 30 g y los adultos de 50 a 100 g.

Control de fuego:

Use equipo de respiración autónoma y ropa de protección adecuada, dependiendo de la magnitud del incendio. Recordar, que a pesar de que el

compuesto es no inflamable, los productos de descomposición por calentamiento (entre ellos fosgeno) son muy peligrosos.

Mover los recipientes fuera del área de fuego cuando sea posible. Atacar el fuego desde una distancia segura. El agua utilizada para controlar el fuego no debe tirarse al drenaje por lo que, si es necesario, debe construirse un dique para contenerla y tratarla posteriormente.

Para incendios pequeños, pueden utilizarse extinguidores de polvo químico seco, dióxido de carbono, agua, neblina o espuma.

Fugas y derrames:

Utilizar bata, lentes de seguridad y guantes o el equipo de seguridad que sea necesario, dependiendo de la magnitud del siniestro.

Mantenga el material alejado de fuentes de agua y drenajes. Construir diques para almacenar el líquido, en caso necesario. Para ello puede utilizarse tierra, sacos de arena o espuma de poliuretano. El líquido derramado puede absorberse con cemento y para inmovilizar el derrame, se utilizan agentes gelantes universales. Para almacenar el agua de desecho, utilizar recipientes especializados o excavar un foso y absorber con sacos de arena o succionadores. Para el agua contaminada puede utilizarse carbón activado, en regiones de 10 ppm o mas, aplicarlo, en una proporción 10:1 carbón activado/derrame.

Desechos:

En pequeñas cantidades puede dejarse evaporar en una campana extractora. En caso de grandes cantidades, debe mezclarse con combustible, como queroseno, e incinerarse en equipo especializado para evitar la generación de fosgeno.

ALMACENAMIENTO:

Los recipientes que contienen este producto deben ser almacenados en lugares alejados de la luz directa del sol, ya que se descompone lentamente a productos como el fosgeno.

c. Alcohol isopropílico

FÓRMULA: $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$

MASA MOLECULAR: 60.09 g /mol.

GENERALIDADES:

Manufactura de acetona y sus derivados, acetato de isopropilo y glicerina; disolvente para aceites esenciales, alcaloides, gomas, resinas, derivados de celulosa, de revestimientos; agente anticongelante para combustibles líquidos, productos farmacéuticos, perfumes, lacas, procesos de extracción, agente deshidratante, preservativo.

SINÓNIMOS: Isopropanol, 2-propanol, dimetil carbinol, carbinol dimetilico.

PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

Apariencia: Líquido incoloro de olor característico agradable.

Gravedad Específica (Agua=1): 0.786 / 20°C

Punto de Ebullición (°C): 82

Densidad Relativa del Vapor (Aire=1): 2.07

Punto de Fusión (°C): -82 a -89

Viscosidad (cp): 2.1

pH: N.A.

Presión de Vapor (mm Hg): 33.0 / 20°C

Solubilidad: Soluble en alcohol, éter y cloroformo

RIESGOS

Peligros de incendio y/o explosión:

Inflamable. Los vapores son más densos que el aire, pueden viajar hasta la fuente de ignición y regresar con llamas. Los contenedores pueden explotar con el calor.

Productos de la combustión: Óxidos de carbono.

Precauciones para evitar incendio y/o explosión:

Mantener buena ventilación a nivel del piso. Evitar cualquier fuente de ignición o de calor. Los equipos eléctricos y de iluminación deben ser a prueba de explosión. Conectar a tierra los recipientes para evitar descargas electrostáticas.

Procedimientos en caso de incendio y/o explosión:

Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Usar equipo de protección personal. Enfriar los contenedores con agua en forma de rocío. Retirar material combustible de los alrededores.

Agentes extintores del fuego:

Espuma para alcohol, dióxido de carbono, polvo químico seco.

PRIMERO AUXILIOS

Inhalación: Trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener la víctima abrigada y en reposo. Buscar atención médica inmediatamente.

Ingestión: Lavar la boca con agua. Si está consciente, suministrar abundante agua. No inducir el vómito. Buscar atención médica inmediatamente.

Piel: Retirar la ropa y calzado contaminados. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón, mínimo durante 15 minutos. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica inmediatamente.

Ojos: Lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico. Si la irritación persiste repetir el lavado. Buscar atención médica.

ALMACENAMIENTO

Lugares ventilados, frescos y secos. Lejos de fuentes de calor e ignición (y de la acción directa de los rayos solares). Separado de materiales incompatibles.

Rotular los recipientes adecuadamente. Almacenar en contenedores herméticamente cerrados.

d. Hexano

FÓRMULA: C_6H_{14}

MASA MOLECULAR: 86.17 g/mol

COMPOSICIÓN: C: 83.62 %, H: 16.38 %.

GENERALIDADES:

El hexano es un líquido incoloro con un olor parecido al del petróleo. Es menos denso que el agua e insoluble en ella, sus vapores son mas densos que el aire.

El producto comercial generalmente contiene otros productos hidrocarbonados como isómeros de seis carbonos, benceno, algunos compuestos de 5 y 7 carbonos y otros con azufre, oxígeno, cloro o dobles ligaduras, aunque en menor proporción. Se obtiene del petróleo. Por destilación de fracciones de las que se obtienen gasolinas o a través de reformados catalíticos, por medio de los que se obtienen compuestos aromáticos.

Una forma de obtener n-hexano de gran pureza es pasarlo a través de malla molecular, en la cual se retienen la n-parafinas y eluyen las ramificadas, cíclicas y compuestos aromáticos. Un posterior cambio de temperatura y/o presión, permite recuperar las parafinas lineales. En el caso de contener impurezas con dobles ligaduras u otros elementos como azufre, oxígeno o halógenos, entonces la purificación debe llevarse a cabo mediante hidrogenación.

Forma parte de la gasolina de automóviles y es utilizado en la extracción de aceite de semillas, como disolvente en reacciones de polimerización y en la formulación de algunos productos adhesivos, lacas, cementos y pinturas. También se utiliza como desnaturalizante de alcohol y en termómetros para temperaturas bajas, en lugar de mercurio. Por último, en el laboratorio se usa como disolvente y como materia prima en síntesis.

SINÓNIMOS: n-hexano

PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

Punto de ebullición: 69°C

Punto de fusión: -95.6°C

Densidad (g/ml): 0.66 (a 20°C)

Índice de refracción (20°C): 1.38

Presión de vapor (a 15.8°C): 100 mm de Hg

Temperatura de autoignición: 223°C

Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 1.2-7.7

Densidad de vapor (aire=1): 3

Punto de inflamación (flash point): -21.7°C

Temperatura de autoignición: 225°C

PROPIEDADES QUÍMICAS:

Productos de descomposición: monóxido y dióxido de carbono.

Reacciona vigorosamente con materiales oxidantes como cloro, flúor o perclorato de magnesio.

MANEJO:

Equipo de protección personal:

Para manejar este producto deben utilizarse bata, lentes de seguridad y guantes, evitando todo contacto con la piel, en un lugar bien ventilado. Si la cantidad a manejar es considerable, debe utilizarse un equipo de respiración autónoma.

RIESGOS:

Riesgos de fuego y explosión:

Es un compuesto altamente inflamable, cuyos vapores pueden viajar a una fuente de ignición y regresar con fuego al lugar que los originó, pueden explotar en una área cerrada y generar mezclas explosivas con aire.

Riesgos a la salud:

En forma de vapor, irrita a la nariz y garganta; como líquido, irrita a la piel y ojos. Se sospecha que el n-hexano es una neurotoxina y se ha encontrado que su metabolito más tóxico es la 2,5-hexanediona. Por otra parte se ha observado un efecto sinérgico de la metil-etilcetona en la neurotoxicidad del hexano y la metil-butilcetona (ambos tienen una ruta metabólica en común), mientras que el tolueno disminuye esa toxicidad.

Inhalación: Causa tos y cansancio a concentraciones bajas. A concentraciones altas, tiene efecto narcótico provocando adormecimiento, confusión mental e inconsciencia. En este caso puede presentarse también, congestión de los pulmones, lo que provoca dificultad para respirar. Una exposición crónica provoca una pérdida de sensibilidad en manos y pies y se han observado efectos neurotóxicos aún después de varios meses de la exposición, seguida de una recuperación muy lenta. Además, existen riesgos de daños en la médula espinal en pacientes dañados de manera severa.

Contacto con ojos: Causa irritación y enrojecimiento.

Contacto con la piel: Causa irritación y enrojecimiento. Si la exposición es constante, se genera dermatitis.

Ingestión: Causa náusea, vómito e irritación de la garganta. En casos severos, puede perderse la conciencia.

Carcinogenicidad: No existe información al respecto.

Mutagenicidad: No existe información al respecto.

Peligros reproductivos: No existe información al respecto.

ACCIONES DE EMERGENCIA:

Primeros auxilios:

Inhalación: Transportar a la víctima a una zona bien ventilada. Si no respira, proporcionar respiración artificial y oxígeno. Mantenerla en reposo y abrigada.

Ojos: Lavar inmediatamente con agua o disolución salina neutra, asegurándose de abrir bien los párpados.

Piel: Lavar inmediatamente el área contaminada con agua y jabón. Si es necesario, eliminar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.

Ingestión: Dar a beber agua para diluir. No inducir el vómito

Control de fuego: Utilizar, preferentemente, espuma resistente al alcohol para incendios grandes.

Usar agua para enfriar los contenedores que se encuentren cerca del fuego.

Para incendios pequeños, utilizar extinguidores de espuma, polvo químico seco o dióxido de carbono.

Fugas y derrames:

Debe utilizarse bata, lentes de seguridad, guantes y dependiendo de la magnitud del derrame se procederá a evacuar la zona y utilizar equipo de respiración autónoma y botas.

Mantener alejados del derrame flamas o cualquier fuente de ignición.

Evitar que el líquido derramado tenga contacto con fuente de agua y drenajes para evitar explosiones. Para ello, construir diques con tierra, cemento en polvo o bolsas de arena, con lo cual también se absorberá el líquido. Los vapores generados se dispersan con agua. Tanto el agua contaminada como los sólidos utilizados para absorber el derrame deben almacenarse en lugares seguros para su tratamiento posterior.

Pequeñas cantidades pueden absorberse con papel y evaporarlas en una campana de extracción, nunca deben tirarse al drenaje pues pueden alcanzar concentraciones explosivas.

Desechos:

Los desechos de hexano deben incinerarse de manera adecuada, pudiendo servir como combustible en condiciones controladas.

Pequeñas cantidades pueden evaporarse en una campana extractora de gases.

ALMACENAMIENTO:

Debe almacenarse alejado de cualquier fuente de ignición y de materiales oxidantes, en lugares bien ventilados y de la luz directa del sol.

Pequeñas cantidades pueden almacenarse en frascos de vidrios, pero para cantidades considerables, debe hacerse en tanques metálicos protegidos de descargas estáticas.

Recordar que los vapores son más pesados que el aire, por lo que pueden acumularse y viajar hacia fuentes de ignición y regresar, generando fuego en las zonas de almacenamiento.

E. MÓDULO DE EXTRACCIÓN DE ACIETE POR MEDIO DEL SISTEMA SOXHLET

1. Apéndice A. Datos de placa del equipo

Tabla No. 150 Datos de placa de equipo

Estufa CIMAREC – Heat and Stir
Marca: Thermo Scientific Modelo No.: SP131325 Serie No.: 1768080456135 Voltaje: 120 Amperaje: 8.90 Frecuencia: 60 Hz 1 Fase
Reóstato – Powerstat Variable Autotransformer
Marca: The Superior Electric Co. Tipo: 3PN116C Voltaje: 120 Amperaje: 10 kVA: 1.4 Frecuencia: 50/60 1 Fase
Termómetro
Rango: 10-360 °C Incertidumbre: ± 0.5

Continúa en la siguiente hoja

Balanza electrónica
Marca: OHAUS Modelo: ScoutPro SP2001 Masa máx: 2000g Incertidumbre: ± 0.1 g Voltaje: 12 Amperaje: 0.5 A
Balanza analítica
Marca: BOECO Masa máx: 220g Incertidumbre: ± 0.0001 g Voltaje: 12-30
Manta térmica
Marca: Glas-Col Serie No.: 1720636 Catálogo No.: 0406 Watts: 270 Voltaje: 115
Centrífuga IEC HN-SII
Marca: Damon/IEC Division Modelo: HNS-11 Serie No.: 235515240 hp: $\frac{1}{2}$ Voltaje: 115 Amperaje: 2.5 Frecuencia: 60 Hz 1 Fase

Continúa en la siguiente hoja

Ventilador centrífugo - Secador de bandejas
<p>Marca: Kohl Bach</p> <p>Modelo: 56</p> <p>Serie No.: 1189</p> <p>rpm: 1745</p> <p>Voltaje: 120/220</p> <p>Frecuencia: 60 Hz</p> <p>1 Fase</p>

Equipo ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG

2. Apéndice B. Datos de cristalería

Tabla No. 151 Datos de cristalería

Equipo de extracción Soxhlet – Cámara, balón de 250 ml y condensador Graham
<p>Marca: KIMAX USA</p> <p>Relación de tamaños:</p> <p>Condensador: 45/50</p> <p>Balón y cámara: 24/40</p>
Beaker
<p>Marca: KIMAX USA</p> <p>No.: 14000</p> <p>Capacidad: 400 ml</p> <p>Incertidumbre: ± 12.5 ml</p>
Beaker
<p>Marca: Marienfeld-Superior</p> <p>Capacidad: 50 ml</p> <p>Incertidumbre: ± 5 ml</p>

Continúa en la siguiente hoja

Continuación de la Tabla No.151 Datos de cristalería

Balón
Marca: Pyrex Capacidad: 250 ml
Tubos de ensayo
Marca: Gardner MT

Ubicado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG

3. Apéndice C. Datos originales

Tabla No. 152 Datos de Preparación de la muestra para la extracción

Muestra	Volumen (ml)	Masa (g)	Tiempo centrifuga (min)	Tiempo secado (h)	Masa algas secas (g)
1	100	112.8659	42	6	-
2	100	103.0676			27.35

Tabla No. 153 Condiciones de extracción

Alga	Corrida	Solvente	Volumen inicial solvente (± 12.5 ml)	Masa de muestra (± 0.0001 g)	Temperatura Sistema (± 0.5 oC)	Temperatura Reóstato (± 0.5 oC)	Agitación
Lago de Amatitlán	1	éter diisopropil	125.0	5.2370	60.0	50.0	4
	2	hexano	125.0	4.0940	61.0	50.0	4
<i>Scenedesmus sp</i>	3	éter diisopropil	150.0	3.5951	61.0	55.0	4
	4	éter diisopropil	125.0	3.6749	63.0	50.0	4
<i>Scenedesmus sp</i>	5	hexano	100.0	3.3619	56.0	49.0	4
	6	hexano	125.0	5.5403	57.0	50.0	4

Tabla No. 154 Datos obtenidos de la extracción

Alga	Corrida	Volumen recuperado de solvente (± 12.5 ml)	Tiempo		
			Preparación (± 0.1 s)	Extracción (± 0.5 min)	Evaporación solvente (± 0.5 min)
Lago de Amatitlán	1	80	1800	162	30
	2	75	787	122	48
<i>Scenedesmus sp</i>	3	110	1685	138	45
	4	90	1280.4	168	60
<i>Scenedesmus sp</i>	5	75	780	121	65
	6	95	852	132	53

Alga	Masa extracto (± 0.0001 g)	Masa final algas (± 0.0001 g)
Lago de Amatitlán	1.0097	-
	0.9128	5.0819
<i>Scenedesmus sp</i>	0.0637	3.7457
	0.0571	3.7075
<i>Scenedesmus sp</i>	0.7287	3.3778
	0.6931	5.1106

Tabla No. 155 Flujo de agua utilizada para cada extracción

Corrida	Agua (± 0.1 g)	Tiempo (± 0.1 s)
1	213.9	31.1
2	220.1	29.9
3	206.4	30.3
4	169.7	30.4
5	130.55	20.9
6	135.03	23.4

Figura No. 33 Reporte de sustancias detectadas en la muestra de extracto de algas del lago de Amatitlán por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
LIQA Library Search Report Data Path : C:\msdchem\1\DATA\Biodiesel\Algas\ Data File : 120913-004.D Title : Acq On : 13 Sep 2012 15:45 Operator : AdeM Sample : Muestra M2-2 Misc : Muestra M2-2 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1 Search Libraries: C:\Database\NIST05a.L Minimum Quality: 0 Unknown Spectrum: Apex Integration Events: ChemStation Integrator - events.e						
1	7.348	100.00	C:\Database\NIST05a.L			
			Heptane	3884	000142-82-5	90
			Heptane	3887	000142-82-5	83
			Heptane	3885	000142-82-5	62

El cromatograma se puede observar en Apéndice G.

Figura No. 34 Reporte de tiempo de retención detectado en la muestra de extracto de *Scenedesmus sp* utilizando hexano como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
Area Percent Report ===== Sorted By : Signal Multiplier : 1.0000 Dilution : 1.0000 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs Signal 1: FID1 A, Peak # RetTime Type Width Area Height Area % --- ----- ----- ----- ----- ----- ----- 1 10.912 PB S 0.2451 2.48285e5 1.48500e4 1.000e2 Totals : 2.48285e5 1.48500e4 Results obtained with enhanced integrator! ===== *** End of Report ***						

El cromatograma se puede observar en Apéndice H.

Figura No. 35 Reporte de tiempo de retención detectado en la muestra de extracto de *Scenedesmus sp* utilizando éter diisopropil como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle de Guatemala

```

=====
                          Area Percent Report
=====

Sorted By           :      Signal
Multiplier          :      1.0000
Dilution            :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FID1 A,

Peak RetTime Type  Width      Area      Height      Area
#   [min]         [min]    [pA*s]     [pA]        %
----|-----|----|-----|-----|-----|-----|
  1  10.897 PB    0.2381  1.36297e5  8232.69336  1.000e2

Totals :                          1.36297e5  8232.69336

Results obtained with enhanced integrator!
=====
                          *** End of Report ***
=====

```

El cromatograma se puede observar en Apéndice I.

Tabla No. 156 Condiciones de extracción y masa de extracto de semilla de higuierillo

Muestra	Corrida	Solvente	Volumen inicial solvente (±12.5ml)	Masa de muestra (±0.0001 g)
Semilla de higuierillo	7	hexano	120	20.0009
	8	hexano	120	3.4891

Muestra	Corrida	Temperatura Sistema (±0.5oC)	Temperatura Reóstato (±0.5oC)	Agitación	Masa extracto (±0.0001 g)
Semilla de higuierillo	7	59	50	4	8.3524
	8	57	51	4	1.4157

Figura No. 36 Reporte de retención detectado en el extracto higuierillo utilizando hexano como solvente por cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la UVG

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	6.870	0.02	C:\Database\NIST05a.L			
			1,2,5-Oxadiazole	482	000288-37-9	1
			Methane, diazo-Diazirine	63	000334-88-3	1
				61	1000305-84-1	1
2	7.079	2.13	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexane	1791	000110-54-3	90
			Hexane	1792	000110-54-3	74
				1790	000110-54-3	72
3	7.184	0.10	C:\Database\NIST05a.L			
			1-Hexene	1426	000592-41-6	72
			Cyclopentane, methyl-	1465	000096-37-7	58
				1469	000760-21-4	58
4	7.320	91.92	C:\Database\NIST05a.L			
			Heptane	3884	000142-82-5	90
			Heptane	3887	000142-82-5	83
				3885	000142-82-5	62
5	8.494	0.47	C:\Database\NIST05a.L			
			Acetone	211	000067-64-1	86
			Manganese(II) acetate	38574	006156-78-1	83
				210	000067-64-1	72
6	8.699	0.01	C:\Database\NIST05a.L			
			1,3-Butadiene, 1-(ethylthio)-	7144	010574-85-3	12
			3-Methoxy-2-methyl-1-butene	3839	1000279-60-1	10
				7294	061142-45-8	9
7	8.949	0.03	C:\Database\NIST05a.L			
			1-Methoxy-2,3-dimethyl-2-butene	7401	020518-48-3	9
			2-tert-Butylcyclohexyl methylphosphonofluoridate	82072	1000298-39-6	9
				3373	000123-56-8	7
8	8.972	0.02	C:\Database\NIST05a.L			
			Isothiazole, 4-methyl-	3393	000693-90-3	9
			1-Methoxy-2,3-dimethyl-2-butene	7401	020518-48-3	9
				7215	004964-02-7	5
9	13.975	0.05	C:\Database\NIST05a.L			
			1,3-Dioxolane, 2-propyl-	7880	003390-13-4	9
			Silane, trimethylpropyl-	8064	003510-70-1	7
				7959	000822-83-3	5
10	26.911	0.15	C:\Database\NIST05a.L			
			Naphthalene	11575	000091-20-3	91
			Azulene	11571	000275-51-4	91
				11574	000275-51-4	83
11	34.003	0.39	C:\Database\NIST05a.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105644	000112-39-0	94
			Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	105662	005129-60-2	91
				105645	000112-39-0	90
12	34.412	0.00	C:\Database\NIST05a.L			
			Dodecanoic acid, 10-methyl-, methyl ester	77322	005129-65-7	64
			Hexadecanoic acid, methyl ester	105644	000112-39-0	50
				105645	000112-39-0	50
13	37.255	2.36	C:\Database\NIST05a.L			
			8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	122325	026528-50-7	99
			6-Octadecenoic acid, methyl ester	122301	052355-31-4	99
				122326	001937-62-8	95
14	38.060	2.05	C:\Database\NIST05a.L			
			9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	121093	002462-85-3	99
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	121107	000112-63-0	98
				121099	056554-61-1	96
15	38.902	0.11	C:\Database\NIST05a.L			
			1,4-Cyclooctadiene, (Z,Z)-	5311	016327-22-3	81
			1,3-Cyclooctadiene, (Z,Z)-	5318	003806-59-5	70
				128659	001191-41-9	64
16	40.603	0.20	C:\Database\NIST05a.L			
			9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	122326	001937-62-8	58
			12-Octadecenoic acid, methyl ester	122311	056554-46-2	52
				122312	013481-95-3	50

El cromatograma se puede ver en el Apéndice J.

4. Apéndice D. Cálculo de muestra

- Determinación del flujo másico de agua utilizado para cada extracción

$$\dot{m} = \frac{m}{t} \quad \text{Ecuación No. 27}$$

Donde \dot{m} es el flujo másico, m es la masa y t es el tiempo.

Cálculo del flujo másico de agua utilizado para el condensador en la corrida No. 1:

$$\dot{m} = \frac{(213.9 \pm 0.1)g}{(31.1 \pm 0.1)s} = (6.88 \pm 0.70) g/s$$

El resto de flujos másicos se calcularon de la misma manera.

- Determinación de la relación solvente/muestra utilizada en cada extracción

$$\text{relación} = \frac{\text{masa de solvente}}{\text{masa de algas}} \quad \text{Ecuación No. 28}$$

Cálculo de la relación solvente/muestra utilizada para la corrida No. 1:

Utilizando una densidad de éter diisopropil de 0.7257 g/ml, del Apéndice I.

$$\text{relación} = \frac{(125.0 \pm 12.5)ml * \frac{0.7257 g \text{ solvente}}{1 ml}}{(5.2370 \pm 0.0001)g \text{ alga}} = (17.32 \pm 1.73) \frac{g \text{ solvente}}{g \text{ alga}}$$

Las demás relaciones solvente/muestra se calcularon de la misma manera. Para las corridas en las cuales se utilizó hexano como solvente, la densidad del Apéndice J es de 0.66 g/ml.

- Determinación de la proporción extracto/biomasa (%)

$$\text{proporción extracto/biomasa (\%)} = \frac{\text{masa extracto}}{\text{masa muestra}} \times 100\% \quad \text{Ecuación No. 29}$$

Cálculo de la proporción extracto/biomasa (%) de la corrida No. 1:

$$\begin{aligned} \text{proporción extracto/biomasa (\%)} &= \frac{(1.0097 \pm 0.0001)g \text{ extracto}}{(5.2370 \pm 0.0001)g \text{ muestra}} \times 100\% \\ &= (19.2801 \pm 0.0019)\% \end{aligned}$$

Las proporciones extracto/biomasa (%) del resto de corridas se determinaron de la misma manera.

- Determinación del tiempo total de trabajo

$$\text{tiempo total} = \text{tiempo preparación} + \text{tiempo extracción} + \text{tiempo evaporación}$$

Ecuación No. 30

El tiempo de preparación se refiere al tiempo requerido para el armado del sistema, el tiempo de extracción se refiere al tiempo de operación y el tiempo de evaporación se refiere a la evaporación del solvente fuera del sistema de extracción Soxhlet.

Cálculo del tiempo total de trabajo de la corrida No. 1:

$$\begin{aligned} \text{tiempo total} &= (1,800.0 \pm 0.1) \text{sx} \frac{1 \text{ min}}{60\text{s}} + (162.0 \pm 0.5) \text{min} + (30.0 \pm 0.5) \text{min} \\ &= (222.0 \pm 0.7) \text{min} \end{aligned}$$

- Determinación del Costo de operación

$$\text{costo} = \text{costo agua} + \text{costo electricidad} + \text{costo solvente} \quad \text{Ecuación No. 31}$$

Para la determinación del Costo de Operación se toma en cuenta el agua de condensación, la pérdida de solvente y la energía eléctrica requerida para el agitador magnético y la manta térmica.

El precio del agua es de Q9.156/m³(Muniguat, 2012), el de la electricidad es Q1.06553/kWh (MEM, 2012), el del éter diisopropil es Q611.70/l y el del hexano es Q350/l.

- Donde el Costo del agua es:

$$\text{costo agua} = \text{flujo másico} \times \text{tiempo extracción} \times \text{densidad} \times \text{precio}$$

Ecuación No. 32

La densidad del agua a 25°C es 997.13 kg/m³.

Cálculo del Costo del agua de la corrida 1.

$$\begin{aligned} \text{costo agua} &= \frac{(6.88 \pm 0.70)g}{s} \times (162.0 \pm 0.5) \text{ min} \times \frac{60 s}{1 \text{ min}} \times \frac{1 kg}{1000g} \times \frac{1 m^3}{997.13 kg} \times \frac{Q9.156}{1 m^3} \\ &= Q(0.614 \pm 0.062) \end{aligned}$$

El costo del agua para las demás corridas se calculó de la misma manera. Para el cálculo del costo de operación se utilizó el costo promedio del agua, pues este no depende del solvente utilizado.

- Donde el costo de la electricidad incluye el consumo de electricidad por el agitador magnético y la manta térmica.

$$\begin{aligned} \text{costo eléctrico} &= (E \text{ manta térmica} \times \text{tiempo} \\ &+ (V \text{ estufa} \times A \text{ estufa} \times \text{factor de potencia}) \times \text{tiempo}) \times \text{precio} \end{aligned}$$

Ecuación No. 33

Donde E es energía, V es voltaje y A es amperaje. El factor de potencia se considera 1 en aquellos artefactos en los cuales la energía es transformada en energía lumínica o calórica, tales como lámparas y estufas eléctricas. (Tec-Tron, 2008) Estos datos son obtenidos del Apéndice A.

Cálculo del costo eléctrico para la corrida No. 1:

$$\begin{aligned} \text{costo eléctrico} &= \left(0.270kW \times (30.0 \pm 0.5) \text{ min} \times \frac{1 h}{60 \text{ min}} + 120V \times 8.9A \times \frac{1kW}{1000W} \times ((162.0 \right. \\ &\left. + 30.0) \pm 0.5) \text{ min} \times \frac{1 h}{60 \text{ min}} \right) \times \frac{Q1.06443}{1 kWh} = Q(4.414 \pm 0.074) \end{aligned}$$

El costo eléctrico de las otras corridas se calculó de la misma manera.

- Donde el costo del solvente es el costo del solvente perdido durante la operación.

$$\text{costo solvente} = (\text{volumen solvente utilizado} - \text{volumen solvente recuperado}) \times \text{precio}$$

Ecuación No. 34

El precio del hexano es Q350/l y el del éter diisopropil es Q611.70/l.

Cálculo del costo del solvente perdido durante la corrida No. 1:

$$\begin{aligned} \text{costo solvente} &= ((125.0 \pm 12.5)\text{ml} - (80.0 \pm 12.5)\text{ml}) \times \frac{1\text{l}}{1000\text{ml}} \times \frac{Q611.70}{1\text{l}} \\ &= Q(27.5 \pm 7.6) \end{aligned}$$

El costo del solvente para el resto de corridas se calculó de la misma manera.

Cálculo del costo de operación de la corrida No. 1:

$$\begin{aligned} \text{costo operación} &= Q(0.614 \pm 0.062) + Q(4.414 \pm 0.074) + Q(27.5 \pm 7.6) \\ &= Q(32.6 \pm 7.6) \end{aligned}$$

El costo de operación de las demás corridas se calculó de la misma manera.

- o Determinación del costo unitario

$$\text{costo unitario} = \frac{\text{costo de operación}}{\text{g extracto}}$$

Ecuación No. 35

Cálculo del costo unitario de la corrida No. 1:

Puesto que los costos serían los mismos si la cámara está llena, se calcula el costo unitario asumiendo que la relación extracto/muestra permanece igual. Si en la cámara Soxhlet cabe 20.0g de microalga seca,

$$\begin{aligned} \text{costo unitario} &= \frac{Q(32.6 \pm 7.6)}{20.0g \text{ biomasa} \times \frac{(1.0097 \pm 0.0001)g \text{ extracto}}{(5.2370 \pm 0.0001)g \text{ biomasa}}} \\ &= Q(8.44 \pm 2.35)/g \text{ extracto} \end{aligned}$$

El costo unitario del resto de corridas se calculó de la misma manera.

5. Apéndice E. Análisis de error

- Incertidumbre de la suma de tiempo total de trabajo de la corrida No. 1:

$$s = \sqrt{(S_a)^2 + (S_b)^2} \text{ (Skoog \& Holler, 2008) } \square$$

$$s = \sqrt{(0.00167min)^2 + (0.5min)^2 + (0.5min)^2}$$

$$s = 0.7 \text{ min}$$

De igual forma se obtuvo la incertidumbre para el resto de sumas y restas.

- Incertidumbre de multiplicación para el cálculo de la relación solvente/muestra de la corrida No.1:

$$s_y = y \times \sqrt{\left(\frac{s_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2} \text{ (Skoog \& Holler, 2008) } \quad \square$$

Ecuación No. 36

$$s_y = 17.32 \frac{\text{g solvente}}{\text{g muestra}} \times \sqrt{\left(\frac{12.5 \text{ ml}}{125.0 \text{ ml}}\right)^2 + \left(\frac{0.0001 \text{ g}}{5.2370 \text{ g}}\right)^2}$$

$$s_y = 1.73 \frac{\text{g solvente}}{\text{g muestra}}$$

De igual forma se obtuvo la incertidumbre del resto de multiplicaciones.

- Media de la proporción de extracción de la corrida No. 3 y 4:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \text{ (Skoog \& Holler, 2008) } \quad \square$$

Ecuación No. 37

$$\bar{x} = \frac{1.7719\% + 1.5538\%}{2} = 1.6628\%$$

De igual forma se calculó el resto de medias aritméticas.

- Desviación estándar de la media de la proporción de extracción de la corrida No. 3 y 4:

$$s = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N}}{N-1}} \text{ (Skoog \& Holler, 2008) } \quad \square$$

Ecuación No. 38

$$s = \sqrt{\frac{(1.7719^2 + 1.5538^2) - \frac{(1.7719+1.5538)^2}{2}}{2-1}} = 0.1542$$

De igual forma se calculó la desviación estándar para las demás medias aritméticas.

6. Apéndice F. Datos calculados

Tabla No. 157 Tiempo total de trabajo y relación solvente-muestra (p/p) utilizada en cada corrida

Corrida	Tiempo total de trabajo (min)	Relación solvente/muestra (g/g)
1	222.0 ± 0.7	17.32 ± 1.73
2	183.1 ± 0.7	22.16 ± 2.22
3	211.1 ± 0.7	30.28 ± 2.52
4	249.3 ± 0.7	24.68 ± 2.47
5	199.0 ± 0.7	21.59 ± 2.70
6	199.2 ± 0.7	16.37 ± 1.64
PROMEDIO	210.6 ± 23.0	21.4 ± 5.3

Tabla No. 158 Proporción extracto/biomasa (%)

Alga	Corrida	Solvente	Proporción extracto/biomasa (%)	Proporción extracto/biomasa promedio (%)
Iago	1	éter diisopropil	19.2801 ± 0.0019	-
	2	hexano	22.2960 ± 0.0025	-
Scenedesmus sp	3	éter diisopropil	1.7719 ± 0.0028	1.6628 ± 0.1542
	4	éter diisopropil	1.5538 ± 0.0027	
Scenedesmus sp	5	hexano	21.6752 ± 0.0030	17.0927 ± 6.4807
	6	hexano	12.5102 ± 0.0018	

Tabla No. 159 Proporción extracto/biomasa (%) de extracción obtenida de la semilla de higuierillo

Muestra	Corrida	Proporción extracto/biomasa (%)
Semilla de higuierillo	7	41.7601 ± 0.0005
	8	40.5749 ± 0.0031

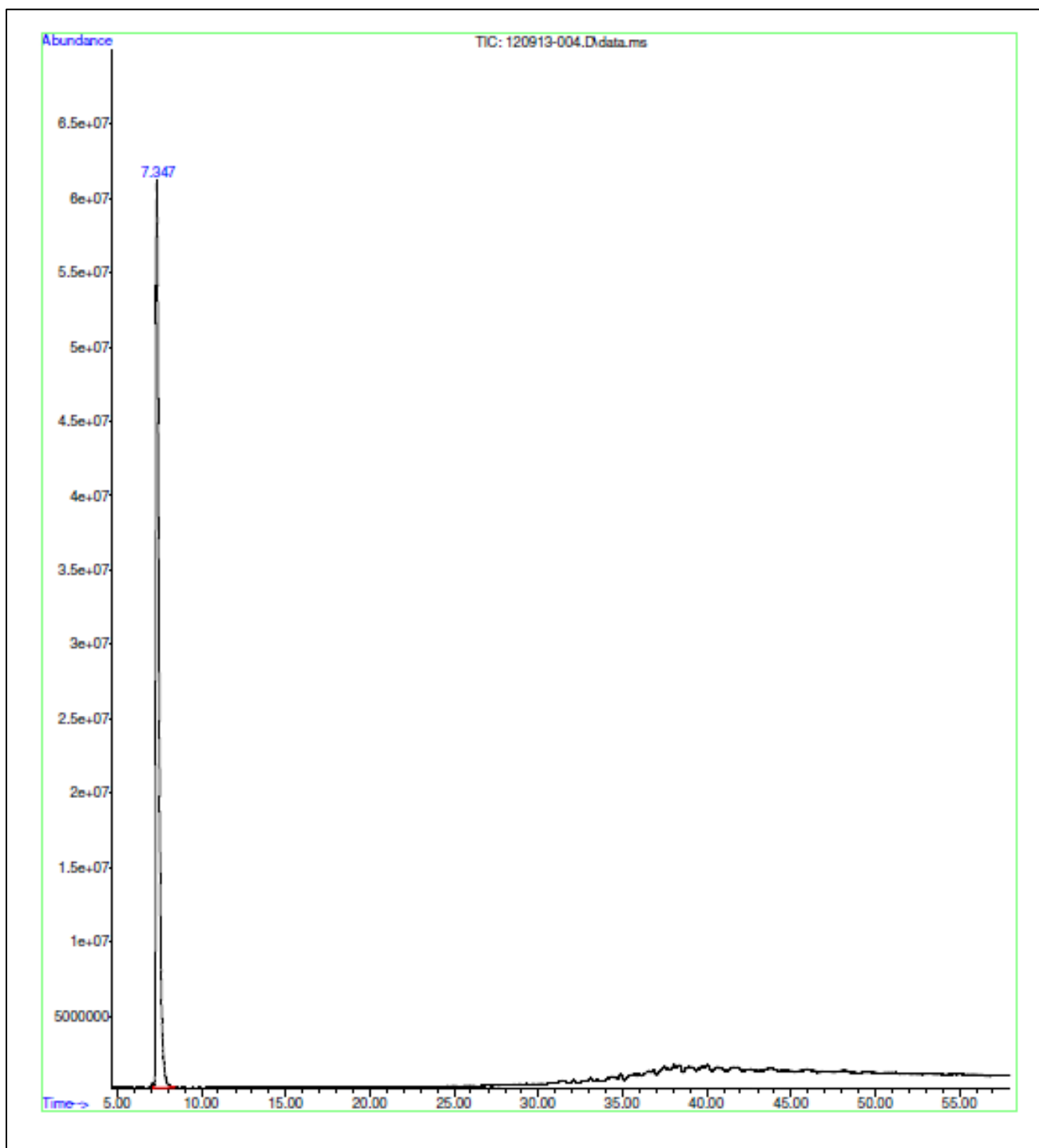
Tabla No. 160 Costos de agua, electricidad y solvente de cada corrida

Corrida	Solvente	Costo agua (Q)	Costo eléctrico (Q)	Costo solvente (Q)
1	éter diisopropil	0.614 ± 0.062	4.414 ± 0.074	27.5 ± 7.6
2	hexano	0.388 ± 0.044	3.805 ± 0.040	17.5 ± 4.4
3	éter diisopropil	0.560 ± 0.057	4.128 ± 0.046	24.5 ± 7.6
4	éter diisopropil	0.517 ± 0.053	5.125 ± 0.043	21.4 ± 7.6
5	hexano	0.454 ± 0.046	4.104 ± 0.032	8.8 ± 4.4
6	hexano	0.454 ± 0.054	4.137 ± 0.039	10.5 ± 4.4

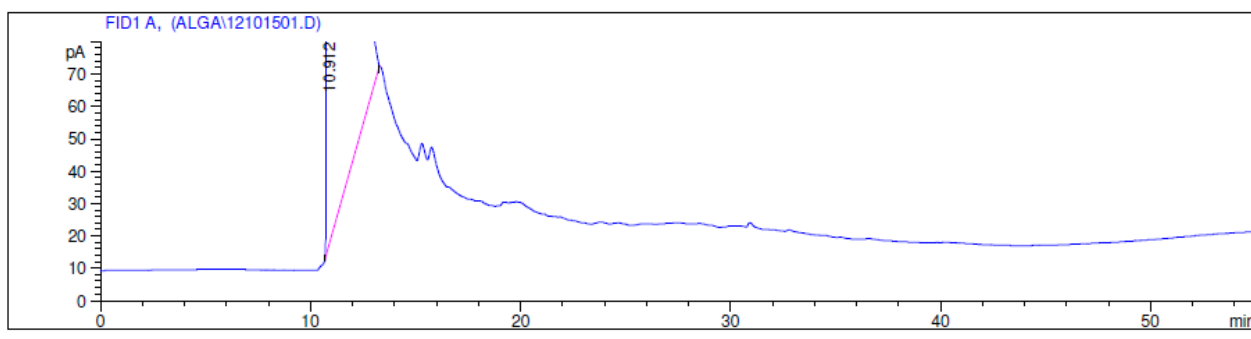
Tabla No. 161 Costo de operación y Costo unitario obtenido

Alga	Corrida	Solvente	Costo de operación (Q)	Costo unitario (Q/g extracto)	Costo unitario promedio (Q/g)
Iago	1	éter diisopropil	32.6 ± 7.6	8.44 ± 2.35	84.7 ± 3.4
	2	hexano	21.7 ± 4.4	4.86 ± 1.22	
<i>Scenedesmus sp</i>	3	éter diisopropil	29.2 ± 7.6	82.28 ± 25.7	84.7 ± 3.4
	4	éter diisopropil	27.1 ± 7.6	87.05 ± 31.1	
<i>Scenedesmus sp</i>	5	hexano	13.3 ± 4.4	3.07 ± 1.53	4.55 ± 2.09
	6	hexano	15.1 ± 4.4	6.03 ± 2.51	

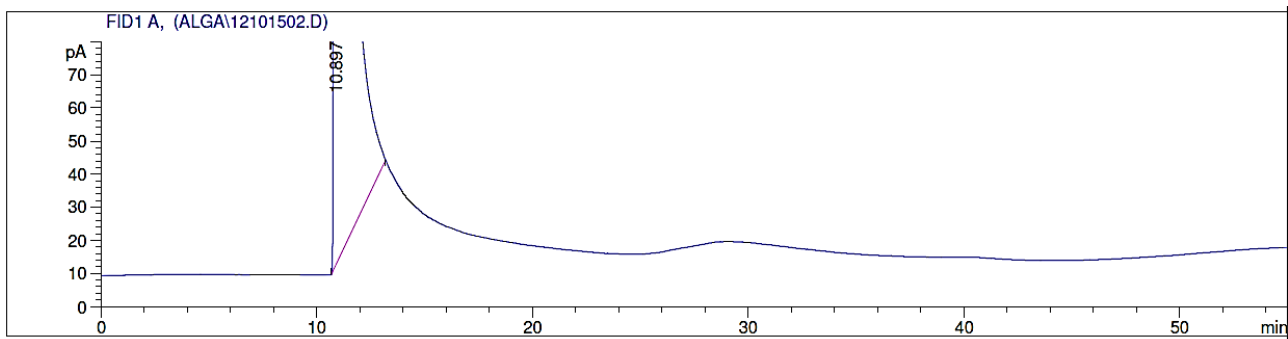
7. Apéndice G. Cromatogramas

Cromatograma No. 11 Obtenido del análisis del extracto de algas del lago de Amatitlán

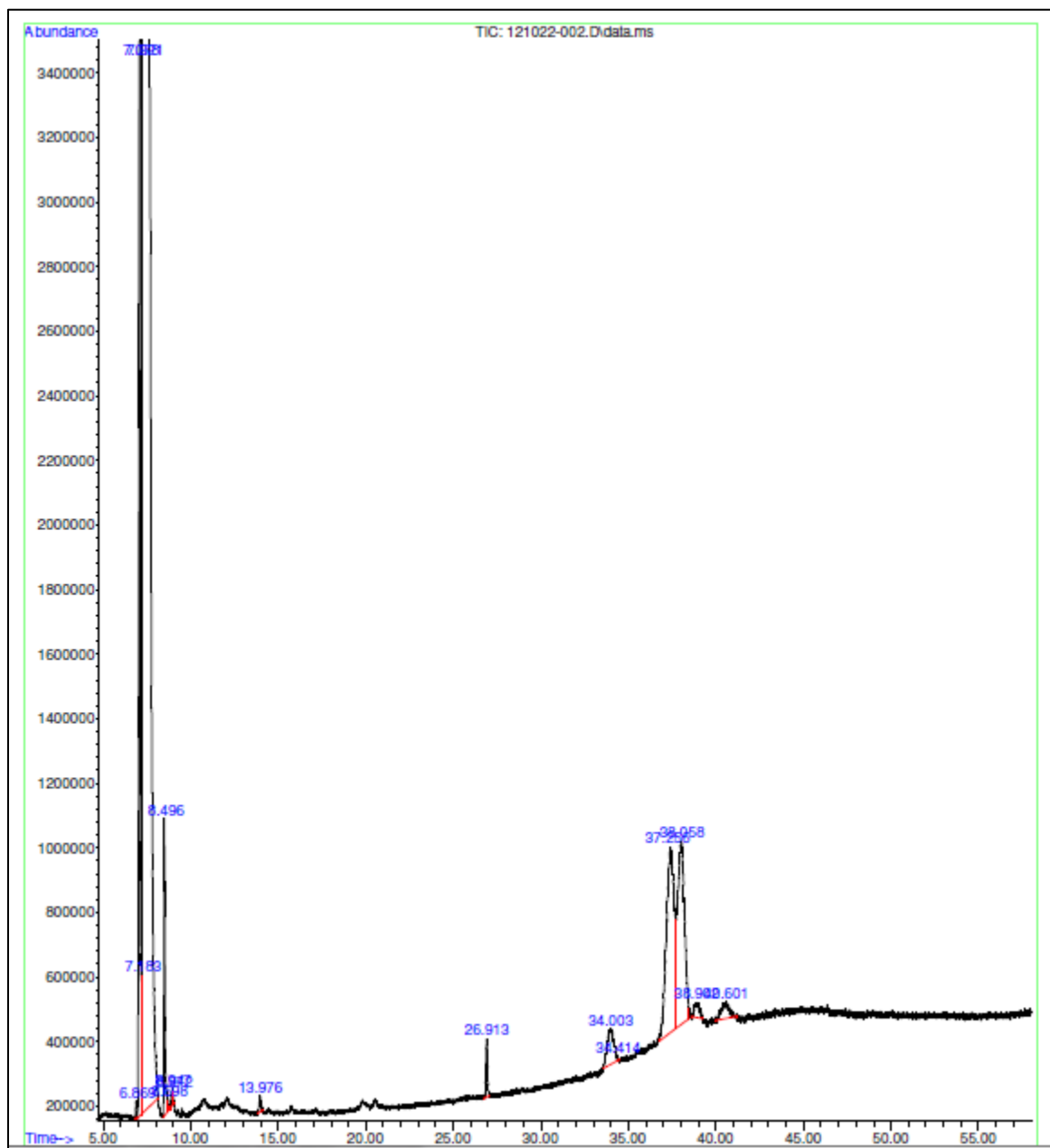
Cromatograma No. 12 Obtenido del análisis del extracto de *Scenedesmus* sp
utilizando hexano como solvente



Cromatograma No. 13 Cromatograma obtenido del análisis del extracto de
Scenedesmus sp utilizando éter diisopropil como solvente



Cromatograma No. 14 Obtenido del análisis del extracto de higuierillo
utilizando hexano como solvente



8. Apéndice H. Procedimiento de extracción Soxhlet

MATERIALES:

- Equipo Soxhlet
- Beaker de 20 y 100mL
- Balón 100mL de 3 boquillas
- Balón aforado de 100mL
- Camisa de Calentamiento para balón de 100mL
- Agitador magnético tamaño pequeño
- Mangueras
- 2 Pinzas
- Base universal
- Anillo metálico
- Guantes
- Mascarilla
- Papel Filtro

REACTIVOS

- Éter diisopropil
- Hexano

EQUIPO

- Balanza Analítica
- Estufa de calentamiento
- Reóstato

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra

- a. Colocar en una manta la muestra seca y hacer una bolsita con la misma, asegurándose que la muestra no se salga.

Preparación del equipo

- a. Verificar que la estufa esté apagada y desconectada. Colocarla en la base universal y conectarla a la toma corriente.
- b. Colocar el anillo metálico en el soporte (base universal), encima de la estufa.
- c. Colocar sobre el aro la camisa térmica y conectarla al reóstato. Verificar que el reóstato este apagado y luego conectarlo a la toma corriente.
- d. Colocar el balón de 100mL sobre la camisa y asegurarlo al soporte mediante una pinza. La pinza se coloca en la parte de la boquilla del balón. Agregar el agitador magnético.
- e. Preparación del tubo extractor
 - 1) Insertar la bolsa con muestra al final del tubo.
 - 2) Colocar el tubo en el soporte mediante el uso de una pinza. La pinza se colocan en la boquilla superior del tubo.
- f. Preparar el tubo condensador colocando las mangueras de entrada y salida de agua en el lugar correspondiente. La manguera correspondiente a la entrada de agua se conecta a la fuente de la misma. Se coloca un tapón en la parte superior del tubo condensador.
- g. Agregar el solvente al balón. *Utilizar guantes y mascarilla
- h. Cerrar todo el sistema mediante la colocación del tubo extractor con el balón y el tubo condensador con el tubo extractor.
- i. Activar la estufa con agitación en grado 4, encender el reóstato y fijar la temperatura. Abrir la válvula de la fuente de agua.
- j. Cuando ya se tengan 5 extracciones o reflujos, se extrae la muestra del tubo extractor y se procede a recuperar el solvente.
- k. Cuando la mayor parte del solvente esté dentro de la cámara Soxhlet, pero aún haya una pequeña cantidad en el balón, recuperar el solvente en el balón aforado y verter el aceite en el beaker de 50 ml.
- l. Colocar el beaker en la estufa de calentamiento y evaporar el solvente.
- m. Se deja enfriar el aceite extraído y se pesa para calcular el rendimiento de la extracción.

9. Apéndice I. Procedimiento de análisis de Ácidos Grasos(Colmenares, 2005)

Soluciones a preparar:

- Solución Babcock 17.5 g hexametáfosfato de sodio en 150 ml de H₂O. Agregar 8 ml de triton x 100 y 1 ml metanol. Aforar a 250 ml.
- 50 ml. De NaOH 0.5N disuelto en metanol.
- 50 ml. Trifluoruro de boro al 20% en metanol.
- 150 ml. Solución saturada de cloruro de sodio en agua.

a. Preparación de las muestras:

- Colocar 20 gotas del aceite en un balón de 25 ml.
- Agregar 5 ml de NaOH 0.5N aforado con metanol.
- Colocar en una estufa y calentar a 70°C por 10 minutos hasta que se saponifique totalmente.
- Agregar 3 ml de BF₃ en metanol al 20%.
- Agregar 5 ml de heptano.
- Agregar solución saturada de NaCl hasta el aforo.
- Trasvasar la capa superior (heptano + ácidos grasos) a un vial de 4 ml que contenga 0.5 g de sulfato de sodio anhidro.

b. Determinación por cromatografía:

Se trabaja con temperatura programada. Se utiliza una columna semicapilar.

- Ajustar el equipo a las siguientes condiciones:
 - Columna SPB-5 (30m x 0.53mm di X 1 microm)
 - Nitrógeno (43 psi) con split 94:1, acarreador 2.4 ml/min, 2 psi in col
 - Inyector 245°C, Detector FID, Ionización de Llama 260 °C (H₂ 13 psi, Aire 36 psi)
 - Horno 100°C, 10°C/min hasta 250°C, 10 min.
 - Sistema cromatográfico HP 5890II/ ChemStation.
- Inyectar 0.4 µl de las muestras a analizar.

10. Apéndice J. Fotografías del proyecto

Fotografía No. 57 Algas recuperadas del lago de Amatitlán**Fotografía No. 58 Separación de algas en la centrífuga IEC HN-SII del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG**

Fotografía No. 59 Alga centrifugada



Fotografía No. 60 Secado de algas en secador de bandejas del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG



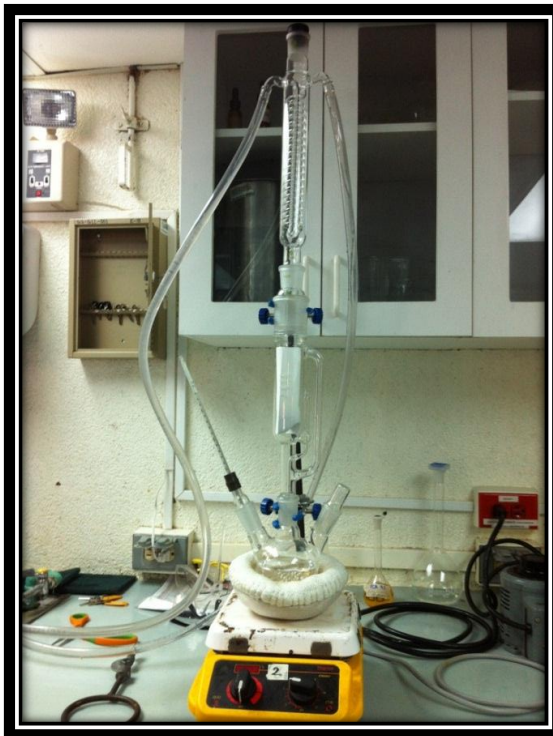
Fotografía No. 61 *Scenedesmus sp* seca



Fotografía No. 62 Muestra de microalgas en filtro para la extracción



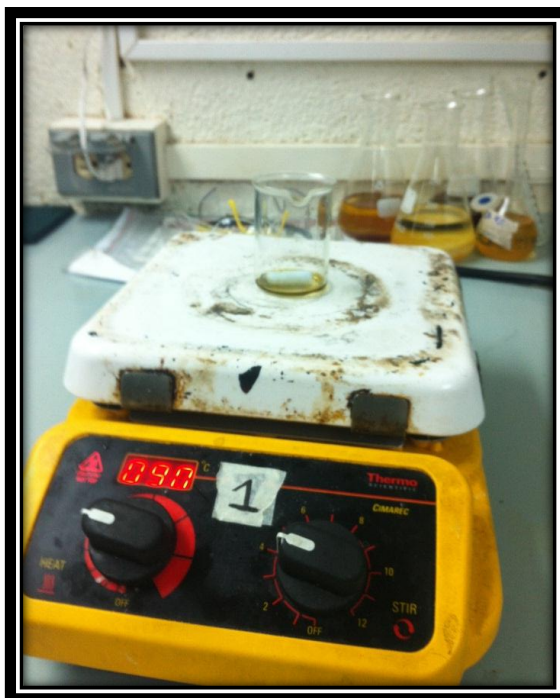
Fotografía No. 63 Sistema de extracción Soxhlet del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 64 Cámara de extracción Soxhlet del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala



Fotografía No. 65 Evaporación del solvente en estufa CIMAREC del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la UVG



Fotografía No. 66 Extracto de algas *Scenedesmus sp*



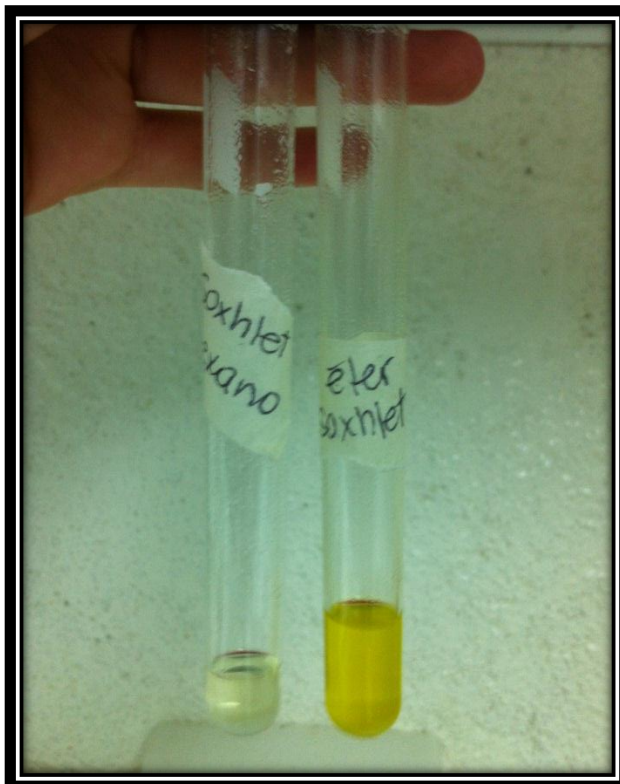
Fotografía No. 67 Saponificación en proceso de análisis de ácidos grasos



Fotografía No. 68 Separación de ácidos grasos




Fotografía No. 69 Heptano y ácidos grasos separados




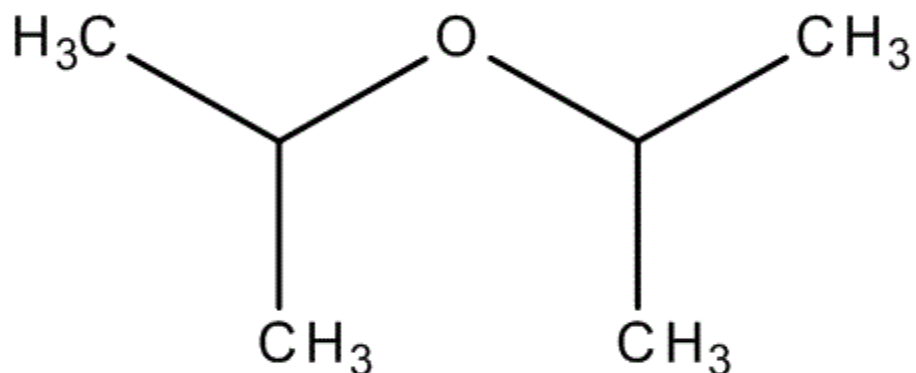
11. Apéndice K. Hoja de seguridad de éter diisopropil

(Merck, 2012)

IX. Información sobre producto	
Sinónimos	Isopropyl ether, 2,2'-Oxybis[propane], 2,2-Propoxypropane
Fórmula empírica (según Hill)	C ₆ H ₁₄ O
Fórmula química	[(CH ₃) ₂ CH] ₂ O
Masa molar	102.18 g/mol
Datos químicos y físicos	
Temperatura de ignición	405 °C
Solubilidad en agua	12 g/l (20 °C)
Concentración de saturación (aire)	751 g/m ³ (20 °C) Aire
Punto de fusión	-86 °C
Masa molar	102.18 g/mol
Densidad	0.72 g/cm ³ (20 °C)
Valor de pH	(H ₂ O, 20 °C) neutro
Punto de ebullición	67 - 70 °C (1013 hPa)
Presión de vapor	175 hPa (20 °C)
Limite de explosión	1.0 - 21 %(V)
Temperatura de inflamabilidad	-28 °C

Información de seguridad de acuerdo a GHS	
Indicadores de peligro	H225: Líquido y vapores muy inflamables. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. EUH019: Puede formar peróxidos explosivos. EUH066: La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.
Indicadores de precaución	P210: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. P403 + P235: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.
Aviso	Peligro
Pictogramas	 
Clase de almacenamiento	3 Líquidos inflamables
Contaminación de agua	WGK 1 contamina ligeramente el agua
Disposición	3 Los reactivos orgánicos líquidos relativamente no reactivos desde el punto de vista químico se recogen en la categoría A. Si contienen halógenos se les asigna la categoría B. Residuos sólidos: categoría C.


Información de seguridad	
Frase R	R 11-19-66-67 Fácilmente inflamable. Puede formar peróxidos explosivos. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel. La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo.
Frase S	S 9-16-29-33 Consérvese el recipiente en lugar bien ventilado. Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar. No tirar los residuos por el desagüe. Evítese la acumulación de cargas electrostáticas.
Características de peligrosidad	fácilmente inflamable
Símbolo de peligro	 Inflamable





12. Apéndice L. Hoja de seguridad de hexano

(Merck, 2012)




Información sobre producto	
Fórmula empírica (según Hill)	C ₆ H ₁₄
Fórmula química	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃
Masa molar	86.18 g/mol
Datos químicos y físicos	
Temperatura de ignición	240 °C
Solubilidad en agua	0.0095 g/l (20 °C)
Punto de fusión	-94.3 °C
Masa molar	86.18 g/mol
Densidad	0.66 g/cm ³ (20 °C)
Valor de pH	(H ₂ O) no aplicable
Punto de ebullición	69 °C (1013 hPa)
Presión de vapor	160 hPa (20 °C)
Límite de explosión	1.0 - 8.1 %(V)
Temperatura de inflamabilidad	-22 °C
Índice de refracción	1.375
Viscosidad cinemática	0.50 mm ² /s (20 °C)
Información de seguridad de acuerdo a GHS	
Indicadores de peligro	H225: Líquido y vapores muy inflamables.

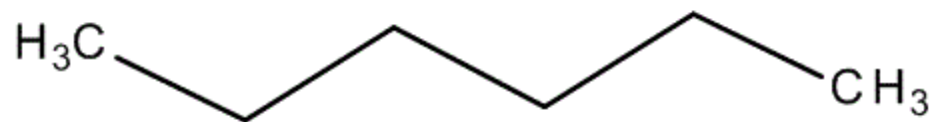
		<p>H304: Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.</p> <p>H315: Provoca irritación cutánea.</p> <p>H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.</p> <p>H361f: Se sospecha que perjudica a la fertilidad.</p> <p>H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.</p> <p>H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p>
Indicadores de precaución	de	<p>P210: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar.</p> <p>P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción.</p> <p>P273: Evitar su liberación al medio ambiente.</p> <p>P301 + P310: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.</p> <p>P331: NO provocar el vómito.</p> <p>P403 + P235: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.</p>
Aviso		Peligro
Pictogramas		

		 
Clase de almacenamiento	de	3 Líquidos inflamables
Contaminación de agua		WGK 2 contamina el agua
Disposición		1Disolventes exentos de halógenos y soluciones de sustancias orgánicas fuertemente impurificados: categoría A.

Información de seguridad

Frase R	<p>R</p> <p>11-38-48/20-62-65-67-51/53</p> <p>Fácilmente inflamable.Irrita la piel.Nocivo: riesgo de efectos graves para la salud en caso de exposición prolongada por inhalación.Posible riesgo de perjudicar la fertilidad.Nocivo: si se ingiere puede causar daño pulmonar.La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo.Tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.</p>
Frase S	<p>S</p> <p>9-16-29-33-36/37-61-62</p> <p>Consérvese en lugar bien ventilado.Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar.No tirar residuos por el desagüe.Evítese la acumulación de cargas electroestáticas.Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.Evítese su liberación al ambiente.En caso de ingestión no provocar vómito: acúdase al médico y muéstresele la etiqueta.</p>
Características de peligrosidad	fácilmente inflamable, irritante, nocivo, tóxico para la reproducción, peligroso para el medio ambiente

Símbolo de peligro			Inflamable
			Dañino
			Peligroso para el ambiente



F. MÓDULO DE FACTIBILIDAD DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1. Apéndice A: Datos calculados

Tabla No. 162 Costos de los materiales utilizados para la construcción del estanque abierto

Cantidad	Descripción	Costo
1	Plancha Plexiglás	Q.56.25
1	Motor armable	Q.125.00
1	Placa para adaptar el motor a corriente continua	Q.6.88
1	Cargador de celular	Q.40.18
3	Bisagras	Q.6.70
1	Cubo Madera	Q.32.14
1	Pecera	Donación

Tabla No. 163 Inversión inicial para el cultivo de microalgas, a distintas escalas

Dato	Escala 1	Escala 2	Escala 3
C1	Q26,083.10	Q26,083.10	Q26,083.10
T1 (Litros)	170	170	170
T2 (Litros)	823.99	8,239.95	31,188.21
C2	Q 75,097.61	Q351,259.35	Q856,903.72

Tabla No. 164 Inversión Inicial para el pre-tratamiento ultrasónico de microalgas a distintas escalas

Dato	Escala 1	Escala 2	Escala 3
C1	Q23,100.1	Q23,100.1	Q23,100.1
T1 (Litros)	10,137.6	10,137.6	10,137.6
T2 (Litros)	20,171.4	201,713.96	763,487.4
C2	Q36,637.8	Q171,320.9	Q417,940.6

Con base en estos valores, se pudo calcular tanto los costos de operación anuales, así como el costo que este proceso le agregaba a la unidad de aceite. Esto con el fin de determinar, y poder medir y evaluar el manejo y administración de los recursos en este proceso.

Tabla No. 165 Maquinaria y equipo para el montaje del método de extracción Soxhlet con sus respectivos costos

Maquinaria y equipo	Costo Unitario (Quetzales)
Equipo Soxhlet	Q1,334.82
Beaker de 20 ml	Q27.68
Beaker de 100 ml	Q27.68
Balón 100 ml de 3 boquillas	Q157.14
Balón aforado de 100 ml	Q157.14
Camisa de calentamiento para balón 100 ml	Q1,778.13
Reostato	Q165.18
Estufa de calentamiento	Q1,574.06
Mangueras (metro)	Q25.00
Agitador magnético pequeño	Q130.80
Pinzas	Q16.47
Base Universal	Q100.09
Anillo Metálico	Q32.99
Tapón de Hule	Q115.85

Tabla No. 166 Costos de mano de obra por métodos de extracción

Rubro	Costo (Quetzales)/mes	Costo (Quetzales)/hora
Salario Bruto ⁴	Q2, 074.00	Q8.50
Bonificación Incentivo	Q250.00	Q1.025
- IGSS Laboral (4.83%)	Q100.17	Q0.41
IGSS Patronal (12.67%)	Q.262.78	Q.1.08
Aguinaldo (8.33%)	Q172.76	Q0.71
Indemnización (8.33%)	Q172.76	Q0.71
Bono 14 (8.33%)	Q172.76	Q0.71
Vacaciones (4.17%)	Q86.49	Q0.35
Sueldo Líquido	Q2, 223.82	Q9.11
Costo de Mano de Obra TOTAL	Q3, 091.38	Q12.67

⁴ El salario bruto equivale al salario mínimo. Esto aplica para todos los puestos requeridos por los métodos.

Dichos rubros están basados en los requisitos establecidos por el Ministerio de Trabajo de Guatemala, y utilizando como base el salario mínimo para el año 2012, establecido en el acuerdo gubernativo No. 520-2011.

Tabla No. 167 Costo de los materiales directos para Bligh and Dyer y Bligh and Dyer Modificado

Método	Materiales directos	Costo/ Litro	Costo por corrida
Ambos	Agua Destilada	Q2.17	Q0.013
Bligh and Dyer	Cloroformo	Q685.18	Q4.11
Bligh and Dyer	Metanol	Q10.62	Q.0.064
Bligh and Dyer modificado	Hexano	Q312.50	Q.1.88
Bligh and Dyer modificado	Alcohol isopropílico	Q.412.50	Q2.47

Tabla No. 168 Maquinaria y equipo para el montaje de los métodos de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado, con sus respectivos costos

Maquinaria y equipo	Costo Unitario (Quetzales)
Beaker de 100 mL	Q.27.68
Pipeta Pasteur	Q.16.96
Tubos para centrífuga	Q4.14
Agitador	Q2,423.37
Máquina centrífuga	Q1857.97

Para los cálculos de inversión inicial se utilizará nuevamente, el método de Williams. Es importante mencionar que C1 es el costo actual (escala laboratorio) del método de extracción. T1 representa la capacidad máxima de procesamiento anual de masa seco de microalgas, establecido por el tamaño del equipo utilizado. Dicha capacidad máxima está relacionada con el volumen de algas procesado en el equipo de ultrasonido, en una relación de volumen de algas vs. masa húmedo y masa húmedo vs. masa seco; establecida en base a los resultados obtenidos a escala laboratorio. Y, T2 representa la cantidad de masa seco que debe ser procesada, para obtener la cantidad de aceite establecida según las escalas.

El párrafo anterior, aplica para los tres métodos de extracción evaluados en esta investigación, haciendo la aclaración, que la capacidad, C1, de los métodos no es necesariamente igual para todos.

Tabla No. 169 Inversión Inicial para el método de extracción Soxhlet, a distintas escalas

Dato	Escala 1	Escala 2	Escala 3
C1	Q6,320	Q6,320	Q6,320
T1 (kilogramos)	13.2	13.2	13.2
T2(kilogramos)	288	2,880	10,900.8
C2	Q49,859	Q233,206	Q568,910

Al igual que en el análisis técnico, debido a que el equipo utilizado por los métodos de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado, son los mismos, su inversión inicial será idéntica y por tanto son presentados a continuación dentro del mismo cuadro. Ver Cuadro No.24.

Tabla No. 170 Inversión Inicial para el método de extracción Bligh and Dyer y Bligh and Dyer modificado, a distintas escalas

Dato	Escala 1	Escala 2	Escala 3
C1	Q11,002	Q11,002	Q11,002
T1 (kilogramos)	5.44	5.44	5.44
T2(kilogramos)	288	2,880	10,900.8
C2	Q155,203	Q725,937	Q1,770,937

Tabla No. 171 Costos de operación anuales para el método de extracción Soxhlet a distintas escalas

Costo	Escala Laboratorio	Escala 1	Escala 2	Escala 3
Materiales directos	Q382.31	Q58,657.66	Q586,085.06	Q2,218,340.97
Insumos	Q527.11	Q1,314.38	Q5,693.84	Q19, 245.85
Mano de obra	Q532.12	Q74,193.12	Q74,193.12	Q74,193.12
Consumo de energía eléctrica	Q33.52	Q5,142.31	Q51,380.03	Q194,474.20
Costo anual de operación	Q1, 475.06	Q139,307.47	Q717,352.05	Q2,506,254.14

Tabla No. 172 Costos de operación anuales para el método de extracción Bligh and Dyer a distintas escalas

Costo	Escala Laboratorio	Escala 1	Escala 2	Escala 3
Materiales directos	Q454.36	Q73,878.16	Q738,740.33	Q2,796,127.00
Insumos	Q843.78	Q3,128.87	Q5,198.87	Q7,268.87
Mano de obra	Q760.18	Q37, 096.56	Q37, 096.56	Q37, 096.56
Consumo de energía eléctrica	Q6.74	Q1, 096.64	Q10,965.83	Q41, 505.59
Costo anual de operación	Q2,065.06	Q115,200.23	Q792,001.59	Q2,879,928.02

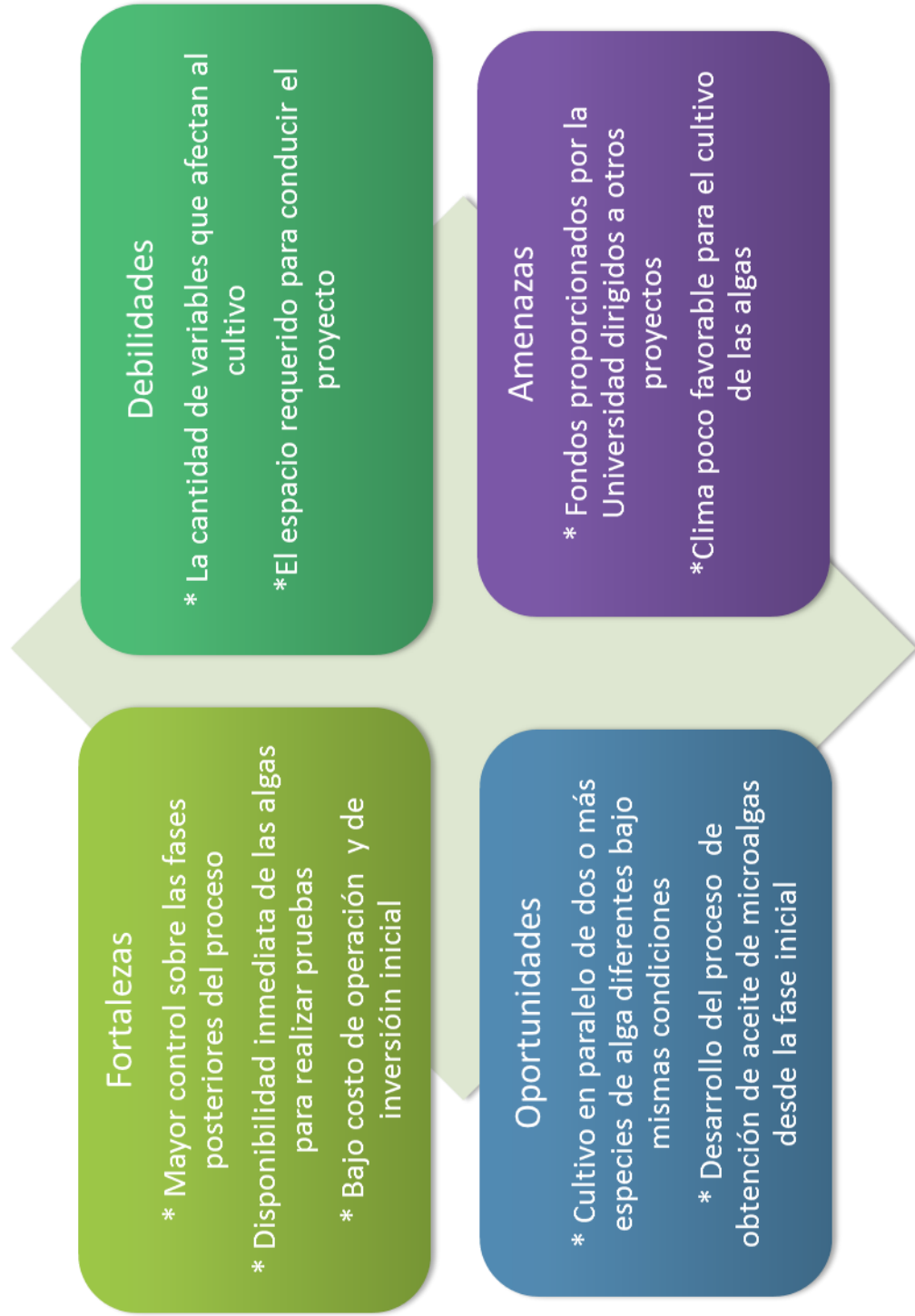
Tabla No. 173 Costos de operación anuales para el método de extracción Bligh and Dyer Modificado, a distintas escalas

Costo	Escala Laboratorio	Escala 1	Escala 2	Escala 3
Materiales directos	Q478.61	Q77,821.92	Q778,175.71	Q2,945,389.63
Insumos	Q.843.78	Q3,128.87	Q5,198.87	Q7,268.87
Mano de obra	Q760.18	Q37, 096.56	Q37, 096.56	Q37,096.56
Consumo de energía eléctrica	Q6.74	Q1,096.64	Q10,965.83	Q41,505.59
Costo anual de operación	Q2,089.31	Q119,143.99	Q831,436.97	Q3,031,260.65

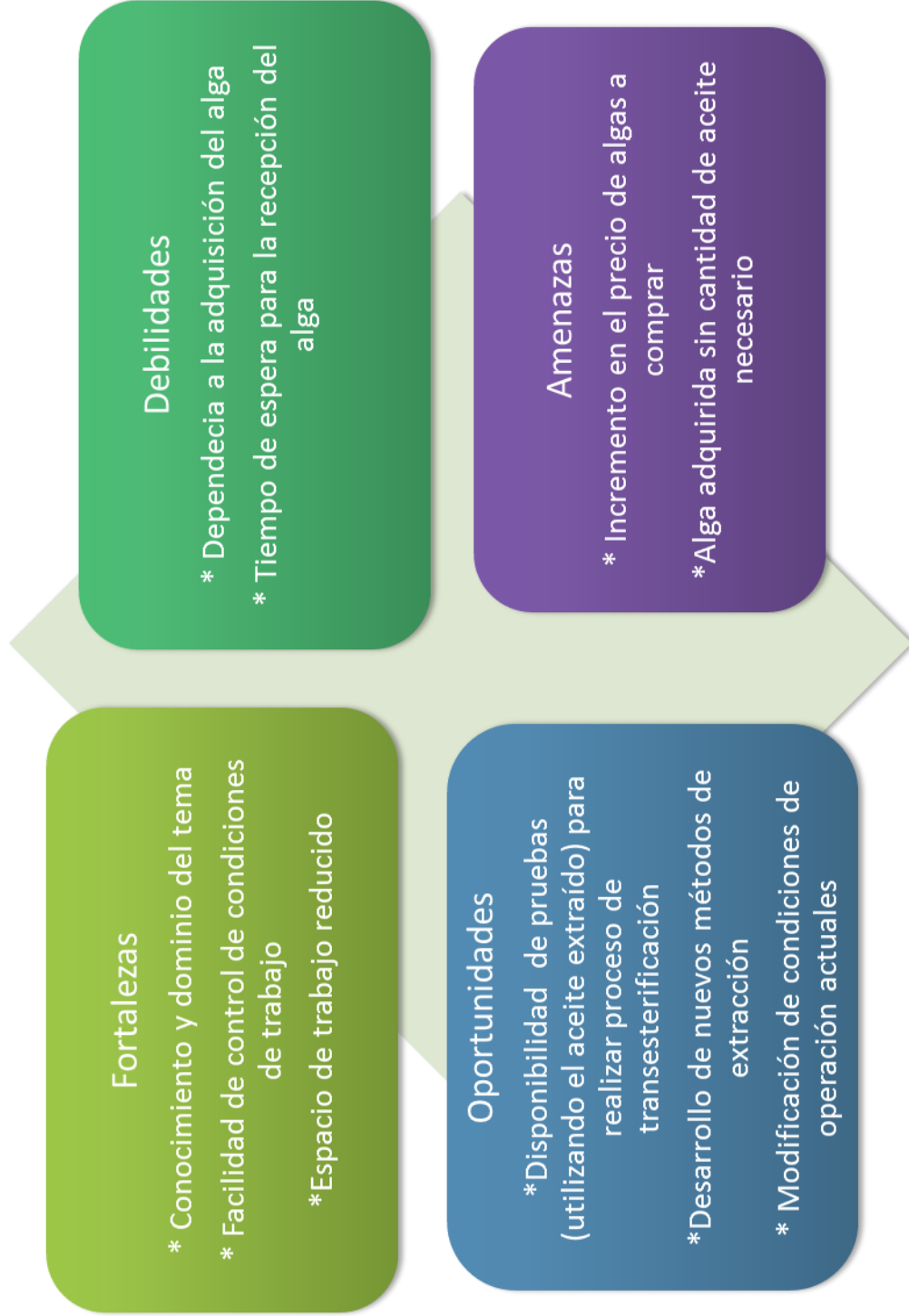
Tabla No. 174 Análisis económico para los métodos de extracción a Escala Laboratorio

Método de extracción	Multi		
Soxhlet	Q2,000.70	16%	7
Bligh and Dyer	-Q5,797.33	-6%	>20
Bligh and Dyer modificado	-Q5,935.87	-7%	>20

Gráfica No. 37 Análisis FODA. Enfoque en el cultivo de las microalgas



Gráfica No. 38 Análisis FODA. Enfoque en los métodos de extracción



2. Apéndice B

Tabla No. 175 Sistema de medición de desarrollo

Plantilla de Evaluación JLM

Método a evaluar: _____ Fecha: _____

Foco Estratégico			Medida				
Nivel	Indicador (KPI)	Aspecto	Rango del KPI	Unidad de Medida	Valor real del KPI	Valor Teórico estimado del KPI	Resultado
Económico							
Operativo							
Técnico							

Meta					Calificación					
Nivel	Valor de la meta	ROJO	AMARILLO	VERDE	Valor Ponderado según la meta	Nivel	Por Rangos de KPI			TOTAL por NIVEL
							10	5	1	
Económico						Económico				
Operativo						Operativo				
Técnico						Técnico				
RESULTADO FINAL DEL MÉTODO										

3. Apéndice C

Figura No. 37 Código de trabajo de Guatemala**Título III, Capítulo III, “Jornadas de Trabajo”****Capítulo tercero**

CIAGS: Art. 12
 CPRG: Art.102.g)
 COIT 1: Arts. 1, 2 y
 3; y 4:
 COIT 30: Arts.
 1, 2, 3
 COIT 90: Arts. 1, 2
 y 3 (revisado)
 DADDH: Art. XV
 PIDES: Art. 7.d)
 Jornada diurna y
 semanal máxima
 Jornada nocturna
 diaria y semanal
 máxima

Jornadas de trabajo**Clases y sus límites**

Artículo 116. La jornada ordinaria de trabajo efectivo diurno no puede ser mayor de ocho horas diarias, ni exceder de un total de cuarenta y ocho horas a la semana.

La jornada ordinaria de trabajo efectivo nocturno no puede ser mayor de seis horas diarias, ni exceder de un total de treinta y seis horas a la semana.

83

Código de Trabajo de Guatemala

Trabajo efectivo. Definición	Tiempo de trabajo efectivo es aquel en que el trabajador permanezca a las órdenes del patrono.
Trabajo diurno: Definición	Trabajo diurno es el que se ejecuta entre las seis y las dieciocho horas de un mismo día.

4. Apéndice D

Figura No. 38 Cotización de equipo de extracción Sonhlet

PROINCA S.A.
 3a Avenida 13-61 Zona 1
 Tels.: 2251-7251 Fax:2232-4719
 Website: www.proinca.com.gt Email: ventas@proinca.com.gt

PROFORMA # : 00022625
 FECHA DE PROFORMA : 06/08/2012
 ATENCION : ALEJANDRA ITEN
 CODIGO CLIENTE : . NIT :
 TELEFONO : VENDEDOR : 1-SALA DE VENTAS PROINCA
 NOMBRE CLIENTE : ALEXANDRA ITEN
 DIRECCION : CIUDAD
 DIAS DE CREDITO : 0 DIAS TIEMPO DE ENTREGA : INMEDIATA
 TIEMPO DE VALIDEZ : 8 DIAS REQUISICION :

CODIGO	DESCRIPCION	CANTID.	P/UNIT	TOTAL
188VR028	EXTRACTOR SOXHLET COMPLETO BALON 500 ML	1	1,495.00	1,495.00
			A Pagar Q.	1,495.00

PROINCA, S.A
 3ª Avenida 13-61 zona 1
 Tels.: 2251-7251, 2251-7270
 Fax: 2232-4719
 Guatemala, C. A.

5. Apéndice E: Reglament del ISR sobre la depreciación

ARTICULO 16. Regla general. Las depreciaciones y amortizaciones cuya deducción admite esta ley, son las que corresponde efectuar sobre bienes de activo fijo e intangibles, propiedad del contribuyente y que son utilizados en su negocio, industria, profesión, explotación o en otras actividades vinculadas a la producción de rentas gravadas.

Cuando por cualquier circunstancia no se deduce en un período de imposición la cuota de depreciación de un bien, o se hace por un valor inferior al que corresponda, el contribuyente no tendrá derecho a deducir tal cuota de depreciación en períodos de imposición posteriores.

ARTICULO 17. Base de cálculo. El valor sobre el cual se calcula la depreciación es el de costo de adquisición o de producción o de revaluación de los bienes y, en su caso, el de las mejoras incorporadas con carácter permanente. El valor de costo incluye los gastos incurridos con motivo de la compra, instalación y montaje de los bienes y otros similares, hasta ponerlos en condición de ser usados. Sólo se admitirán depreciaciones y amortizaciones sobre el aumento en valores de activos que fueren activos fijos depreciables y que se hubieren revaluado y se hubiera pagado el impuesto correspondiente, de acuerdo con lo establecido en el artículo 14 de esta ley.

Para determinar la depreciación sobre bienes inmuebles estos se toman por su costo de adquisición o construcción. En ningún caso se admite depreciación sobre el valor de la tierra. Cuando no se precise el valor del edificio y mejoras, se presume salvo prueba en contrario, que éste es equivalente al 70% del valor total del inmueble, incluyendo el terreno.

Cuando se efectúen mejoras a bienes depreciables, cualquiera sea el origen de su financiamiento, la depreciación se calcula sobre el saldo no depreciado más el valor de las mejoras, y se considera para sus efectos la parte pendiente de la nueva vida útil, establecida para el bien.

ARTICULO 18. Forma de calcular la depreciación. La depreciación se calcula anualmente, previa determinación del período de vida útil del bien a depreciar, mediante la aplicación de los porcentajes establecidos en esta ley.

En general, el cálculo de la depreciación se hará usando el método de línea recta, que consiste en aplicar sobre el valor de adquisición o producción del bien a depreciar, el proporciónfijo y constante que corresponda, conforme las normas de este artículo y el siguiente.

A solicitud de los contribuyentes, cuando estos demuestren que no resulta adecuado el método de línea recta, debido a las características, intensidad de uso y otras condiciones especiales de los bienes amortizables empleados en el negocio o actividad, la Dirección puede autorizar otros métodos de depreciación.

Una vez adoptado o autorizado un método de depreciación para determinada categoría o grupo de bienes, regirá para el futuro y no puede cambiarse sin autorización previa de la Dirección.

***ARTICULO 19.** Porcentajes de depreciación. Se fijan los siguientes porcentajes anuales máximos de depreciación:

- a) Edificios, construcciones e instalaciones adheridas a los inmuebles y sus mejoras. 5%
- b) Árboles, arbustos, frutales, otros árboles y especies vegetales que produzcan frutos o productos que generen rentas gravadas, con inclusión de los gastos capitalizables para formar las plantaciones. 15%
- c) Instalaciones no adheridas a los inmuebles; mobiliario y equipo de oficina; buques - tanques, barcos y material ferroviario marítimo fluvial o lacustre. 20%
- d) Los semovientes utilizados como animales de carga o de trabajo, maquinaria, vehículos en general, grúas, aviones, remolques, semiremolques, contenedores y material rodante de todo tipo, excluyendo el ferroviario. 20%
- e) Equipo de computación, incluyendo los programas. 33.33%
- f) Herramientas, porcelana, cristalería, mantelería, y similares; reproductores de raza, machos y hembras. En el último caso, la depreciación se calcula sobre el valor de costo de tales animales menos su valor como ganado común. 25%
- g) Para los bienes no indicados en los incisos anteriores. 10%

6. Apéndice F: Flujos de efectivo, por escala por método de extracción

Tabla No. 176 Escala Laboratorio: Método Soxhlet

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)
+Depreciación		Q11,100.64	Q11,100.64	Q11,100.64	Q11,100.64	Q11,100.64
(-)Inversión Inicial	(Q55,503.20)					
FEDI	(Q55,503.20)	Q,7842.14	Q,7842.14	Q,7842.14	Q,7842.14	Q,7842.14

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07

Tabla No. 177 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)
+Depreciación		Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04
(-)Inversión Inicial	(Q60,185.20)					
FEDI	(Q60,185.20)	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97

Tabla No. 178 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer modificado

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)
+Depreciación		Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04	Q12,037.04
(-)Inversión Inicial	(Q60,185.20)					
FEDI	(Q60,185.20)	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24	Q4,987.24

Tabla No. 179 Escala 1: Método Soxhlet

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)
+Depreciación		Q32,318.88	Q32,318.88	Q32,318.88	Q32,318.88	Q32,318.88
(-)Inversión Inicial	(Q161,594.41)					
FEDI	(Q161,594.41)	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06	Q10,769.06

Tabla No. 180 Escala 1: Método Bligh and Dyer

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)
+Depreciación		(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)
(-)Inversión Inicial	(Q266,938.41)					
FEDI	(Q266,938.41)	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05

Tabla No. 181 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)
+Depreciación		(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)
(-)Inversión Inicial	(Q266,938.41)					
FEDI	(Q266,938.41)	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86

Tabla No. 182 Escala 2: Método Bligh and Dyer

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q51,711.83)	(Q51,711.83)	(Q51,711.83)	(Q51,711.83)	(Q51,711.83)
+Depreciación		Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45
(-)Inversión Inicial	(Q1,248,517.25)					
FEDI	(Q1,248,517.25)	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22

Tabla No. 183 Escala 2: Método Bligh and Dyer modificado

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)
+Depreciación		Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45	Q249,703.45
(-)Inversión Inicial	(Q1,248,517.25)					
FEDI	(Q1,248,517.25)	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81

Tabla No. 184 Escala 3: Método Bligh and Dyer

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)
+Depreciación		Q368,750.86	Q368,750.86	Q368,750.86	Q368,750.86	Q368,750.86
(-)Inversión Inicial	(Q3,045,781.32)					
FEDI	(Q3,045,781.32)	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70

Tabla No. 185 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado

Flujo de Efectivo	0	1	2	3	4	5
Utilidad (pérdida) neta		(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)
+Depreciación		Q609,156.26	Q609,156.26	Q609,156.26	Q609,156.26	Q609,156.26
(-)Inversión Inicial	(Q3,045,781.32)					
FEDI	(Q3,045,781.32)	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76

Flujo de Efectivo	6	7	8	9	10
Utilidad (pérdida) neta	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48
+Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
(-)Inversión Inicial					
FEDI	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48

7. Apéndice G: Estado de resultados por escala por método de extracción

Tabla No. 186 Escala Laboratorio: Método Soxhlet

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
-Gastos de Operación	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)
-Depreciación	(Q11,100.64)	(Q11,100.64)	(Q11,100.64)	(Q11,100.64)	(Q11,100.64)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)	(Q3,258.50)

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
Gastos de Operación	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)	(Q76,544.63)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q7,842.14	Q7,842.14	Q7,842.14	Q7,842.14	Q7,842.14
-Impuestos	(Q2,431.06)	(Q2,431.06)	(Q2,431.06)	(Q2,431.06)	(Q2,431.06)
Utilidad Neta	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07	Q5,411.07

Tabla No. 187 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
-Gastos de Operación	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)
-Depreciación	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)	(Q4,784.90)
Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
Gastos de Operación	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)	(Q77,134.63)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14	Q7,252.14
-Impuestos	(Q2,248.16)	(Q2,248.16)	(Q2,248.16)	(Q2,248.16)	(Q2,248.16)
Utilidad Neta	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97

Tabla No. 188 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer modificado

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
-Gastos de Operación	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)
-Depreciación	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)	(Q12,037.04)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)	(Q4,809.15)
Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77	Q84,386.77
Gastos de Operación	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)	(Q77,158.88)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89	Q7,227.89
-Impuestos	(Q2,240.64)	(Q2,240.64)	(Q2,240.64)	(Q2,240.64)	(Q2,240.64)
Utilidad Neta	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97	Q5,003.97

Tabla No. 189 Escala 1: Método Soxhlet

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
-Gastos de Operación	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)
-Depreciación	(Q32,318.88)	(Q32,318.88)	(Q32,318.88)	(Q32,318.88)	(Q32,318.88)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)	(Q16,711.55)
Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
Gastos de Operación	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)	(Q297,192.67)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33	Q15,607.33
-Impuestos	(Q4,838.27)	(Q4,838.27)	(Q4,838.27)	(Q4,838.27)	(Q4,838.27)
Utilidad Neta	Q10,796.06	Q10,796.06	Q10,796.06	Q10,796.06	Q10,796.06

Tabla No. 190 Escala 1: Método Bligh and Dyer

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
-Gastos de Operación	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)
-Depreciación	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)	(Q13,673.11)
Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
-Gastos de Operación	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)	(Q273,085.43)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57	Q39,714.57
-Impuestos (31%)	(Q12,311.52)	(Q12,311.52)	(Q12,311.52)	(Q12,311.52)	(Q12,311.52)
Utilidad Neta	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05	Q27,403.05

Tabla No. 191 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
-Gastos de Operación	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)
-Depreciación	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)	(Q53,387.68)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)	(Q17,616.87)
Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00	Q312,800.00
-Gastos de Operación	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)	(Q277,029.19)
-Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81	Q35,770.81
-Impuestos (31%)	(Q11,088.95)	(Q11,088.95)	(Q11,088.95)	(Q11,088.95)	(Q11,088.95)
Utilidad Neta	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86	Q24,681.86

Tabla No. 192 Escala 2: Método Bligh and Dyer

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00
-Gastos de Operación	(Q1,366,008.38)	(Q1,366,008.38)	(Q1,366,008.38)	(Q1,366,008.38)	(Q1,366,008.38)
- Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62	Q197,991.62
-Impuestos (31%)	(Q61,377.40)	(Q61,377.40)	(Q61,377.40)	(Q61,377.40)	(Q61,377.40)
Utilidad Neta	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22	Q136,614.22

Tabla No. 193 Escala 2: Método Bligh and Dyer modificado

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00
-Gastos de Operación	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)
- Depreciación	(Q249,703.45)	(Q249,703.45)	(Q249,703.45)	(Q249,703.45)	(Q249,703.45)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)	(Q91,147.21)

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00	Q1,564,000.00
-Gastos de Operación	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)	(Q1,405,443.76)
- Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24	Q158,556.24
-Impuestos (31%)	(Q49,152.43)	(Q49,152.43)	(Q49,152.43)	(Q49,152.43)	(Q49,152.43)
Utilidad Neta	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81	Q109,403.81

Tabla No. 194 Escala 3: Método Bligh and Dyer

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50
-Gastos de Operación	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)
- Depreciación	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)	(Q108,708.87)

Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50
-Gastos de Operación	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)	(Q4,743,670.11)
- Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39	Q500,447.39
-Impuestos (31%)	(Q155,138.69)	(Q155,138.69)	(Q155,138.69)	(Q155,138.69)	(Q155,138.69)
Utilidad Neta	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70	Q345,308.70

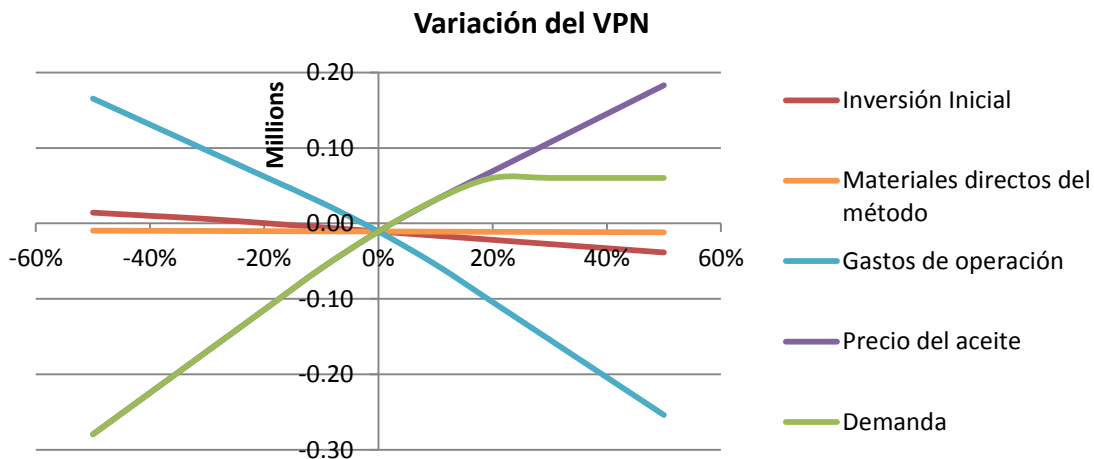
Tabla No. 195 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado

Año	1	2	3	4	5
Ingresos	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50
-Gastos de Operación	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)
- Depreciación	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)	(Q609,156.26)
Utilidad Neta Antes de Impuestos	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)
-Impuestos (31%)	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)	(Q257,971.50)

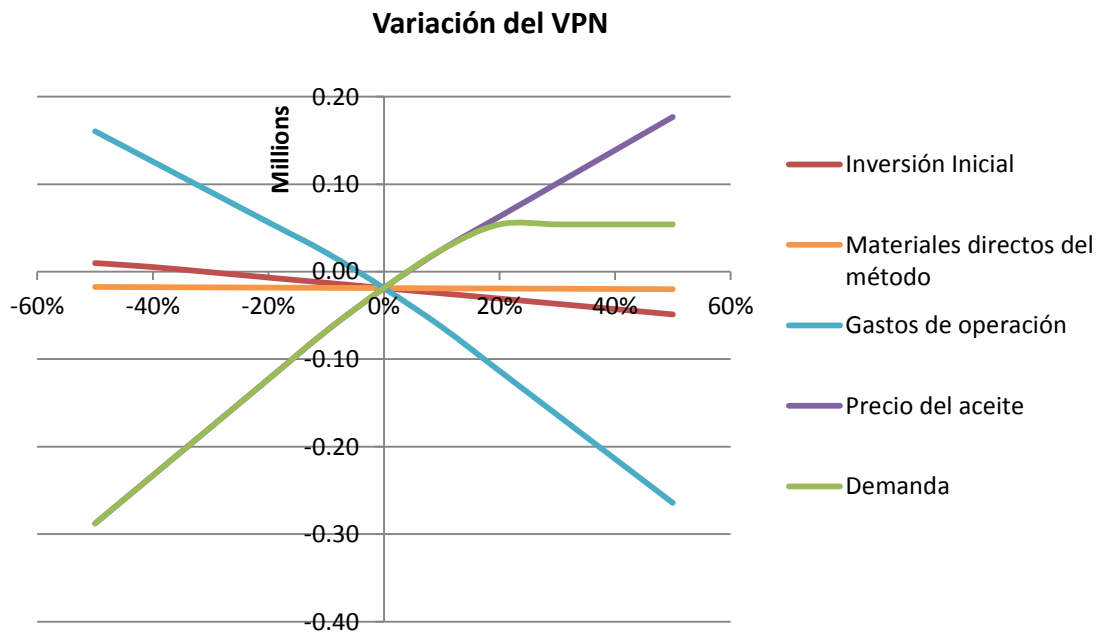
Año	6	7	8	9	10
Ingresos	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50	Q5,244,117.50
-Gastos de Operación	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)	(Q4,892,932.74)
- Depreciación	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00	Q0.00
Utilidad Neta Antes de Impuestos	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76	Q351,184.76
-Impuestos (31%)	(Q108,867.28)	(Q108,867.28)	(Q108,867.28)	(Q108,867.28)	(Q108,867.28)
Utilidad Neta	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48	Q242,317.48

8. Apéndice H: Gráficas de análisis de sensibilidad por escala, por método de extracción para el VPN

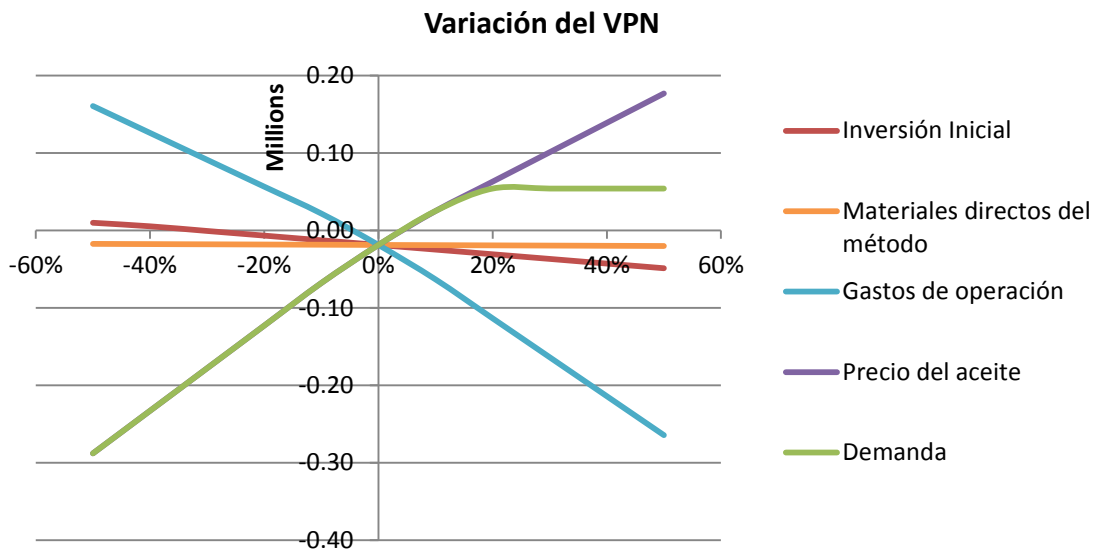
Gráfica No. 39 Escala Laboratorio: Método Soxhlet



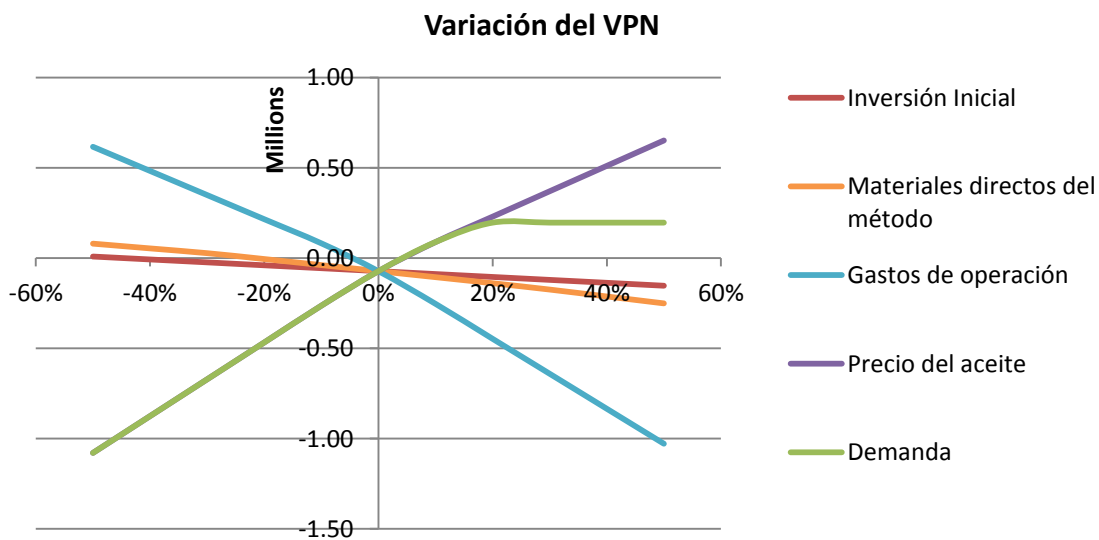
Gráfica No. 40 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer



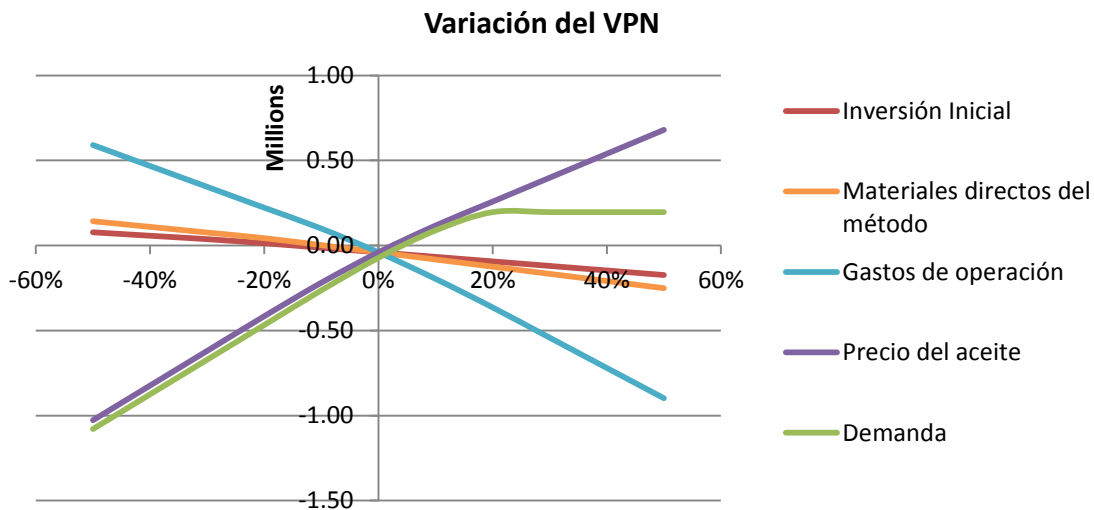
Gráfica No. 41 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer Modificado



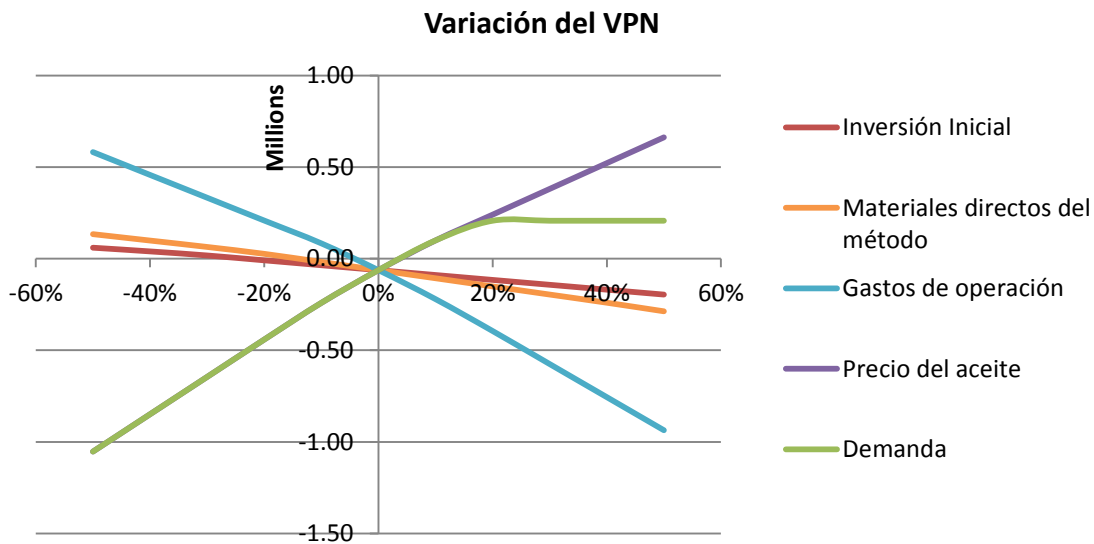
Gráfica No. 42 Escala 1: Método Soxhlet



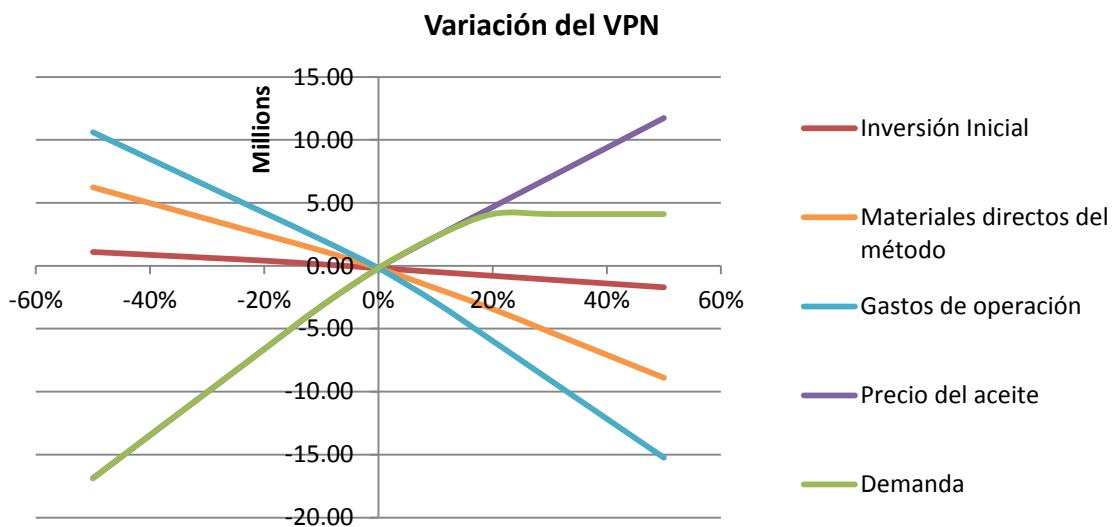
Gráfica No. 43 Escala 1: Método Bligh and Dyer



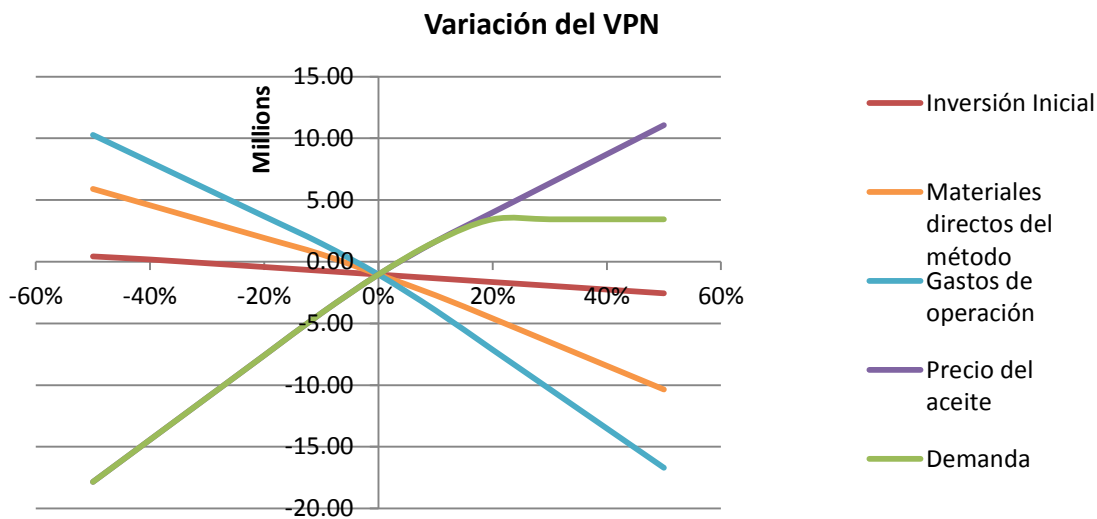
Gráfica No. 44 Escala 1: Método Bligh and Dyer modificado



Gráfica No. 45 Escala 3: Método Bligh and Dyer

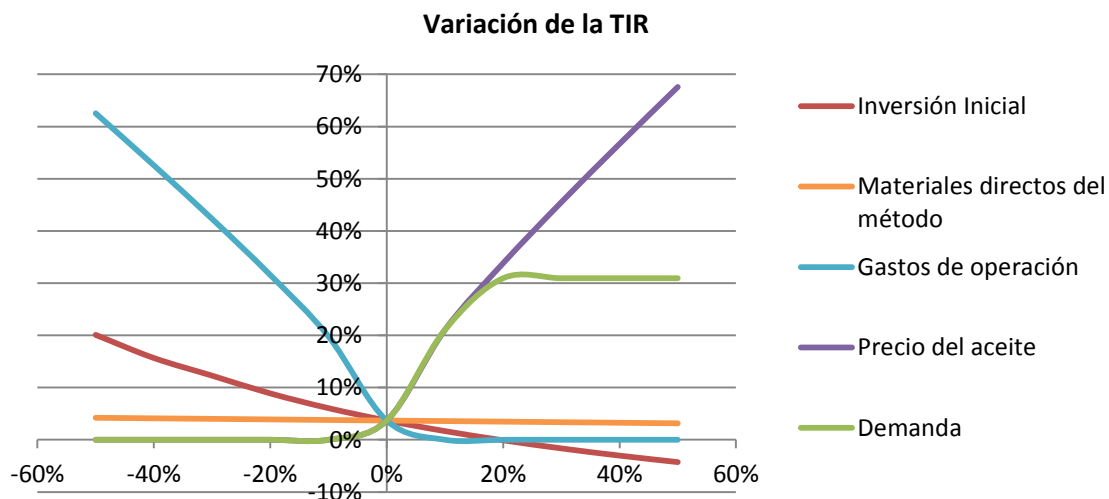


Gráfica No. 46 Escala 3: Método Bligh and Dyer modificado

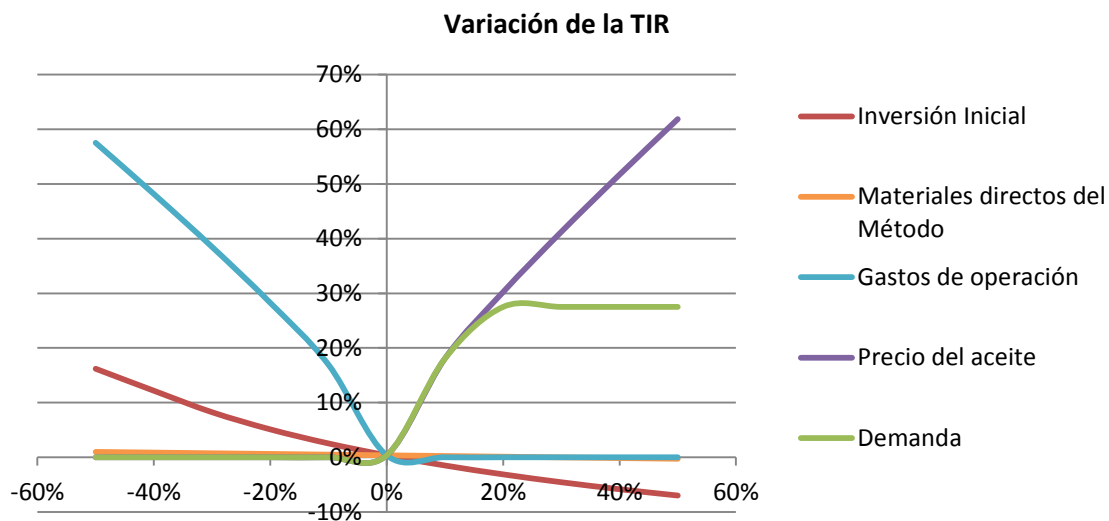


9. Apéndice I: Gráficas de análisis de sensibilidad por escala, por método de extracción para la TIR

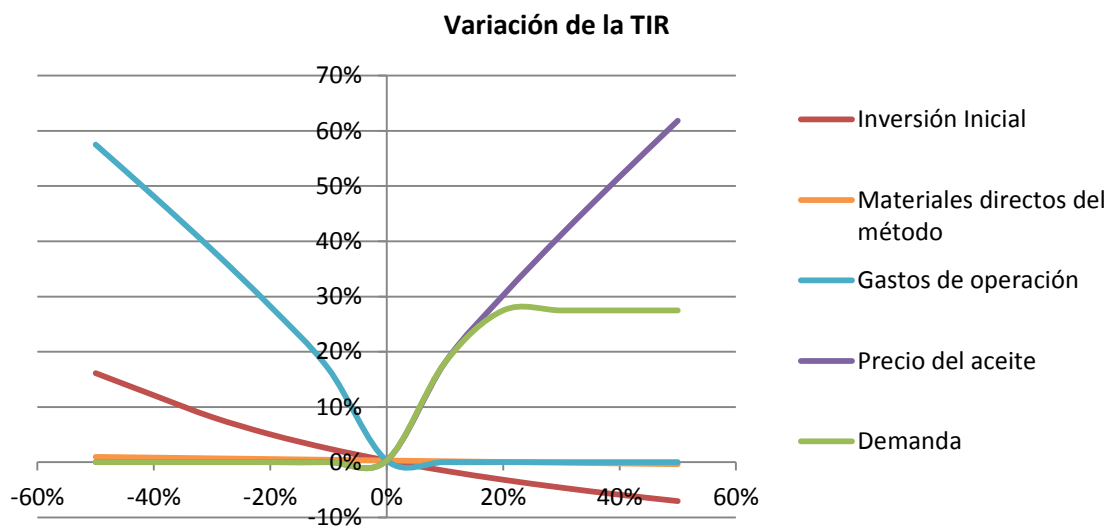
Gráfica No. 47 Escala Laboratorio: Método Soxhlet



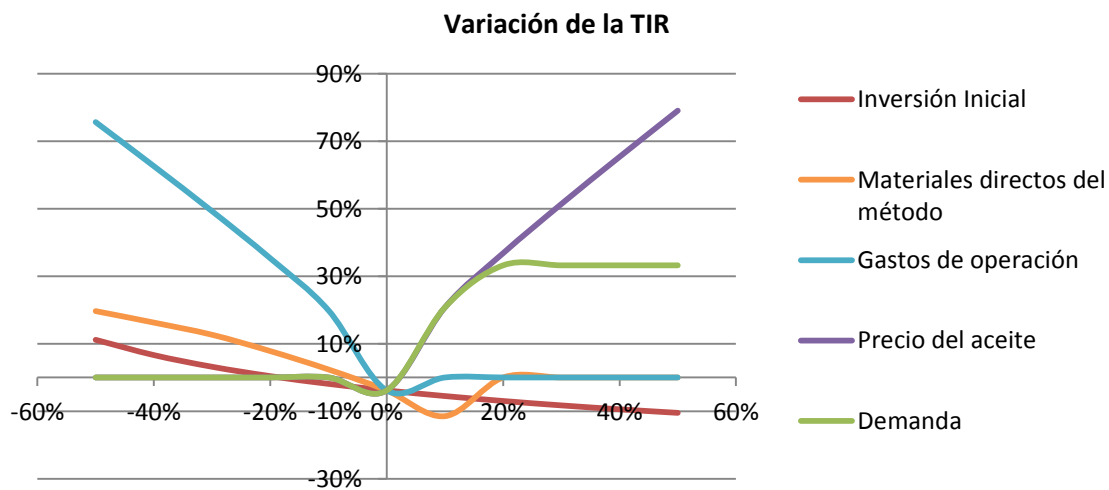
Gráfica No. 48 Escala Laboratorio: Método Bligh and Dyer



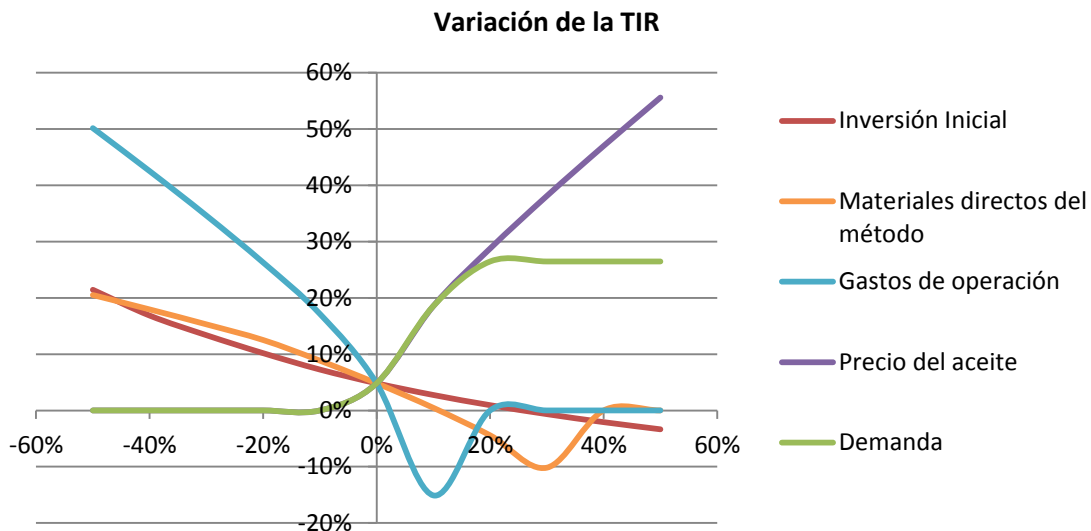
Gráfica No. 49 Escala Laboratorio: Bligh and Dyer odificado



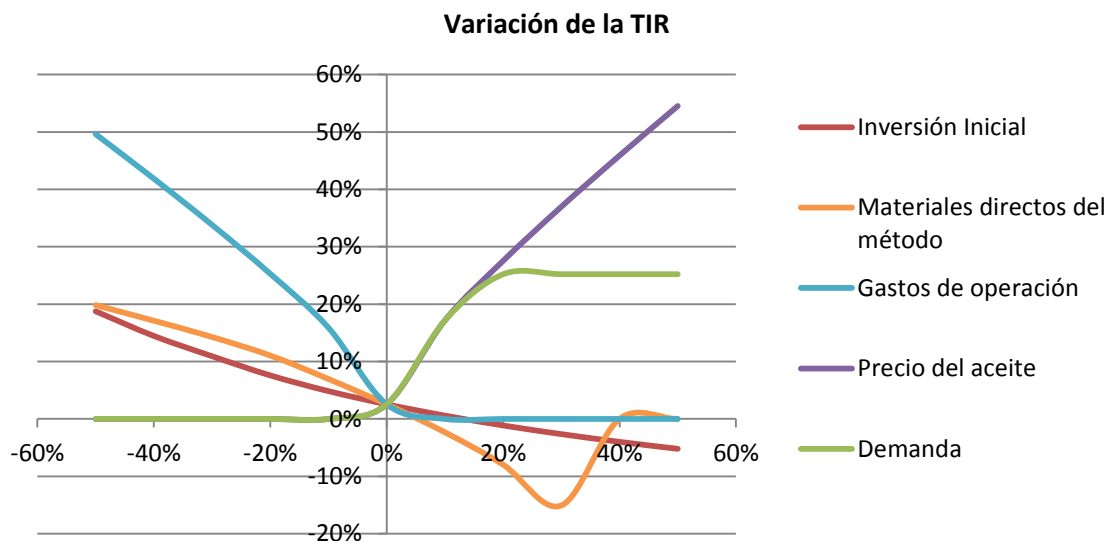
Gráfica No. 50 Escala 1: Método Soxhlet



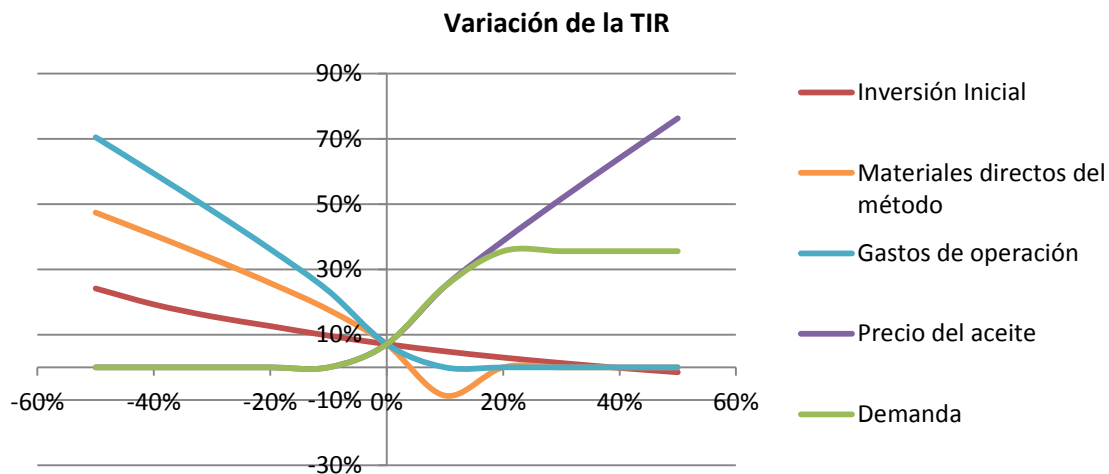
Gráfica No. 51 Escala 1: Método Bligh and Dyer



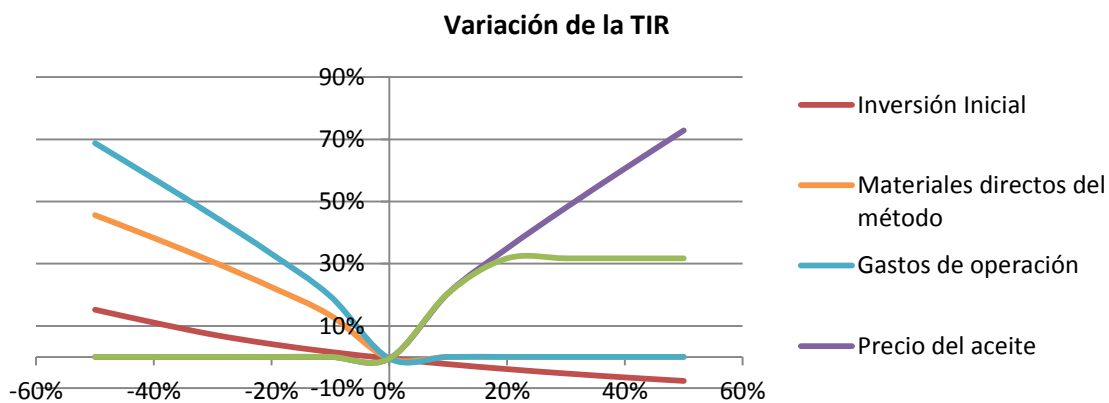
Gráfica No. 52 Escala 1: Método Bligh and Dyer Modificado



Gráfica No. 53 Escala 3: Método Bligh and Dyer



Gráfica No. 54 Escala 3: Método Bligh and Dyer Modificado



10. Apéndice J: Sistema de medición completo por método de extracción

Plantilla de Evaluación ILM		Fecha:														
Método a evaluar: SOXHLET																
Foco Estratégico		Medida			Meta			Ponderación			Calificación					
Nivel	Indicador (KPI)	Aspecto	Rango del KPI	Unidad de Medida	Valor real del KPI	Valor Teórico Estimado del KPI	Resultado	Nivel	Valor de la meta	ROJO	AMARILLO	VERDE	Valor Ponderado según la meta	Nivel	Por Rangos de KPI	TOTAL por NIVEL
Económico	Costo de Inversión Inicial	Financiero	5	Q.	6,320	9441	149%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%		10	
	Tiempo de Recuperación de la Inversión	Financiero	5	Años	7	5	71%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	36%		5	
	Precio del Aceite	Financiero	1	Q.	4.87	5.45	112%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%	Económico	100.0%	67.9%
	Valor Presente Neto	Financiero	10	Q.	2000.7	N/A	Q2,000.70		> 8.65	0.00	0		0.00	100%	100%	88.8%
	Tasa Interna de Retorno	Financiero	10	%	16.0%	8.65%	16%		(TMAR)	8.65%	8.65%		8.65%	100%		
Operativo	Tiempo por corrida de Producción	Producción	5	Horas	3	2	67%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	33%			
	Cantidad de aceite extraído (del % de peso seco)	Producción	10	%	30	30	100%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Costo de Mano de Obra por corrida de producción	Financiero	1	Q.	76.02	25.34	33%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	8%	Operativo	100%	56%
	Costo por Litro de Materiales Directos	Financiero	5	Q.	546.16	657.01	120%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			8%
	Costo de consumo de energía eléctrica por corrida de producción	Financiero	5	Q.	4.79	3.19	67%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	33%			
Técnico	Tiempo de Preparación inicial	Organización	10	Minutos	45	30	67%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	33%			
	Costo de equipo de seguridad	Financiero	5	Q.	519.64	580.03	112%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Complejidad del manejo de materiales	Organización	1	Escala de 1-10	5	N/A	5		1	7	Entre 7 y 3	3	50%	Técnico	33%	100%
	Dificultad relativa del método	Organización	1	Escala de 1-10	3	N/A	3		1	7	Entre 7 y 3	3	100%			83%
	Necesidad de Control de Condiciones Ambientales	Organización	1	Escala de 1-10	3	N/A	3		1	7	Entre 7 y 3	3	100%			
RESULTADO FINAL DEL MÉTODO													74.54%			

Plantilla de Evaluación JLM

Método a evaluar: BLIGH AND DYER MODIFICADO

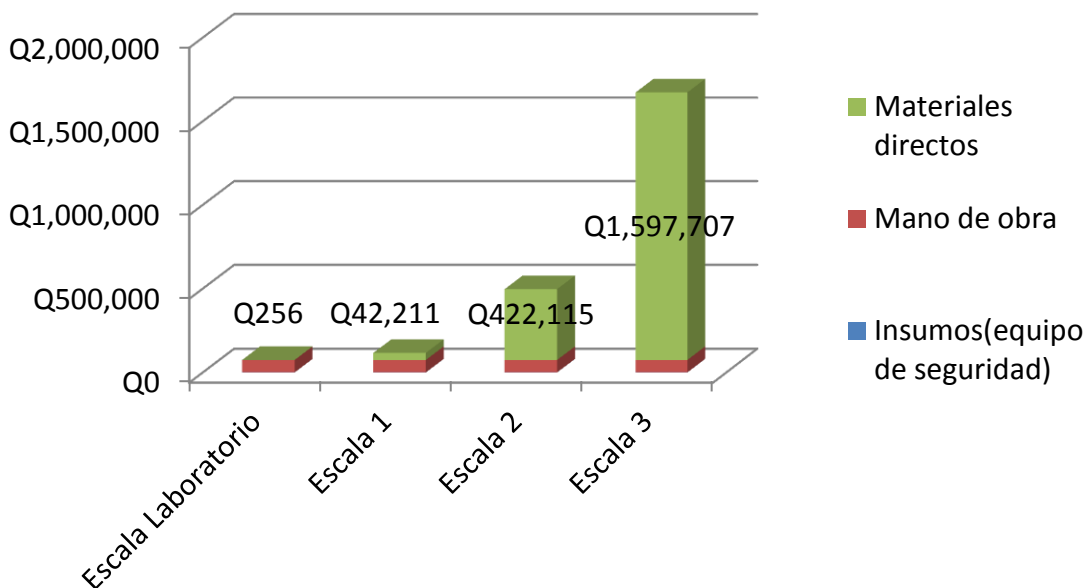
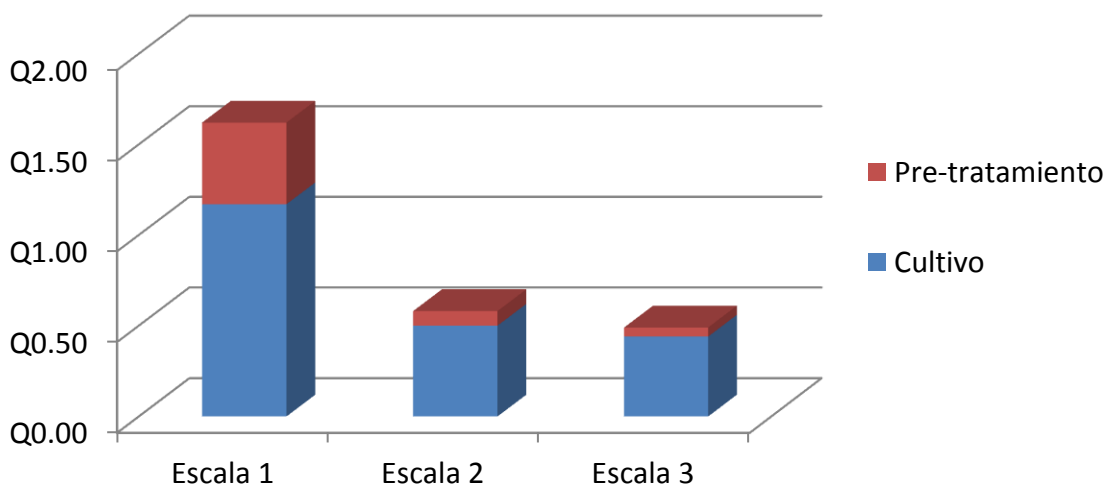
Fecha:

Nivel	Foco Estratégico	Medida					Meta			Ponderación			Calificación				
		Aspecto	Rango del KPI	Unidad de Medida	Valor real del KPI	Valor Teórico Estimado del KPI	Resultado	Nivel	Valor de la meta	ROJO	AMARILLO	VERDE	Valor Ponderado según la meta	Nivel	Por Rangos de KPI	TOTAL por NIVEL	
Económico	Costo de Inversión Inicial	Financiero	5	Q.	11,002	9441	86%		100%	Entre 60 y 90	90%	43%		10	5	1	22.5%
	Tiempo de Recuperación de la Inversión	Financiero	5	Años	10000	5	0%		100%	Entre 60 y 90	90%	0%					
	Precio del Aceite	Financiero	1	Q.	5.77	5.45	94%	Económico	100%	Entre 60 y 90	90%	100%	Económico	0.0%	21.5%	100%	
	Valor Presente Neto	Financiero	10	Q.	-5935.87	N/A	-05,935.87		> 0	0	0.00	0%					
	Tasa Interna de Retorno	Financiero	10	%	-7.0%	8.65%	-7%		> 8.65 (TMAR)	8.65%	8.65%	0%					
Operativo	Tiempo por corrida de Producción	Producción	5	Horas	1.083	0.833	77%		100%	Entre 60 y 90	90%	38%				79.7%	
	Cantidad de aceite extraído (del % de peso seco)	Producción	10	%	30	30	100%		100%	Entre 60 y 90	90%	100%					
	Costo de Mano de Obra por corrida de producción	Financiero	1	Q.	25.34	12.67	50%	Operativo	100%	Entre 60 y 90	90%	13%	Operativo	100%	79%		13%
	Costo por Litro de Materiales Directos	Financiero	5	Q.	726.9	657.01	90%		100%	Entre 60 y 90	90%	100%					
	Costo de consumo de energía eléctrica por corrida de producción	Financiero	5	Q.	0.12	0.12	100%		100%	Entre 60 y 90	90%	100%					
Técnico	Tiempo de Preparación inicial	Organización	10	Minutos	5	5	100%		100%	Entre 60 y 90	90%	100%				95.0%	
	Costo de equipo de seguridad	Financiero	5	Q.	610.23	580.03	95%		100%	Entre 60 y 90	90%	100%					
	Complejidad del manejo de materiales	Organización	1	Escala de 1-10	5	N/A	5	Técnico	1	7	Entre 7 y 3	50%	Técnico	100%	100%		67%
	Dificultad relativa del método	Organización	1	Escala de 1-10	6	N/A	6		1	7	Entre 7 y 3	50%		100%	100%		
	Necesidad de Control de Condiciones Ambientales	Organización	1	Escala de 1-10	1	N/A	1		1	7	Entre 7 y 3	100%					
RESULTADO FINAL DEL METODO												65.74%					

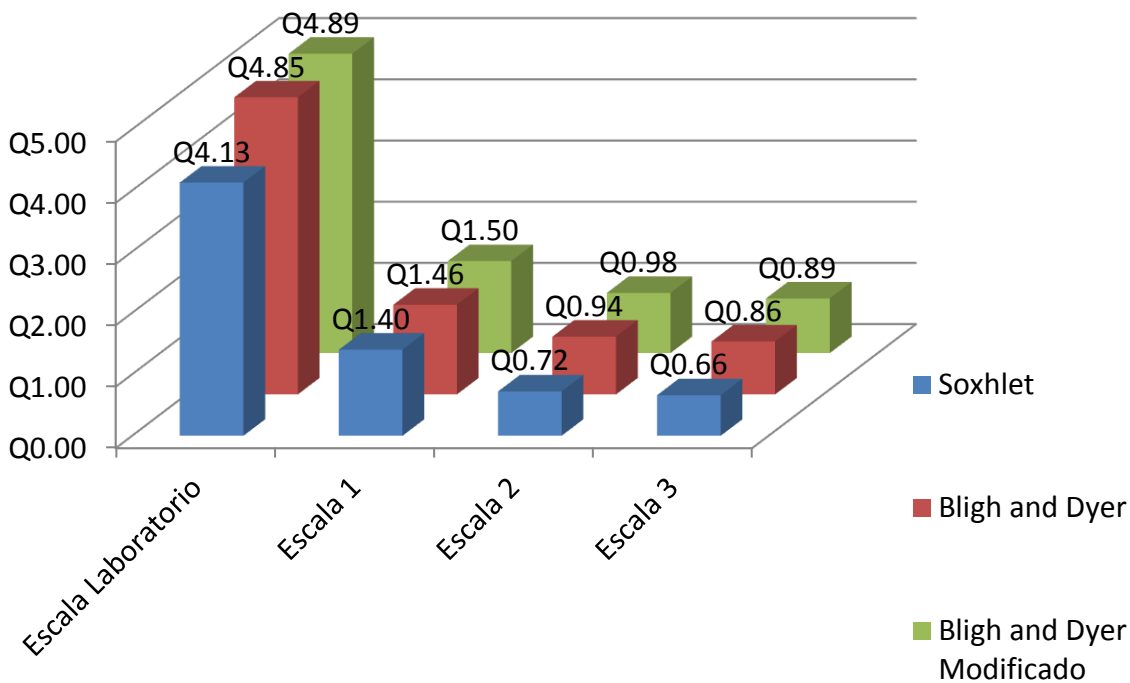
Plantilla de Evaluación ILM
 Método a evaluar: BLIGH AND DYER
 Fecha:

Nivel	Foco Estratégico		Medida				Meta			Ponderación			Calificación			
	Indicador (KPI)	Aspecto	Rango del KPI	Unidad de Medida	Valor real del KPI	Valor Teórico estimado del KPI	Resultado	Nivel	Valor de la meta	ROJO	AMARILLO	VERDE	Valor Ponderado según la meta	Nivel	Por Rangos de KPI	TOTAL por NIVEL
Económico	Costo de Inversión Inicial	Financiero	5	Q.	11,002	9441	86%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	43%		10	22.5%
	Tiempo de Recuperación de la Inversión	Financiero	5	Años	10000	5	0%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	0%		5	
	Precio del Aceite	Financiero	1	Q.	5.72	5.45	95%	Económico	100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%	Económico	100%	
	Valor Presente Neto	Financiero	10	Q.	-5797.33	N/A	-05,797.33		>0	0.00	0	0.00	0%		1	
	Tasa Interna de Retorno	Financiero	10	%	-6.0%	8.65%	-6%		>8.65 (TVMAR)	8.65%	8.65%	8.65%	0%			
Operativo	Tiempo por corrida de Producción	Producción	5	Horas	1.08	0.83	77%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	38%			
	Cantidad de aceite extraído (del % de peso seco)	Producción	10	%	30	30	100%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Costo de Mano de Obra por corrida de producción	Financiero	1	Q.	25.34	12.67	50%	Operativo	100%	60%	Entre 60 y 90	90%	13%	Operativo	100%	
	Costo por Litro de Materiales Directos	Financiero	5	Q.	697.96	657.01	94%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Costo de consumo de energía eléctrica por corrida de producción	Financiero	5	Q.	0.12	0.12	100%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
Técnico	Tiempo de Preparación inicial	Organización	10	Minutos	5	5	100%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Costo de equipo de seguridad	Financiero	5	Q.	610.23	580.03	95%		100%	60%	Entre 60 y 90	90%	100%			
	Complejidad del manejo de materiales	Organización	1	Escala de 1-10	5	N/A	5	Técnico	1	7	Entre 7 y 3	3	50%	Técnico	100%	
	Dificultad relativa del método	Organización	1	Escala de 1-10	6	N/A	6		1	7	Entre 7 y 3	3	50%		100%	
	Necesidad de Control de Condiciones Ambientales	Organización	1	Escala de 1-10	1	N/A	1		1	7	Entre 7 y 3	3	100%			
RESULTADO FINAL DEL MÉTODO												65.74%				

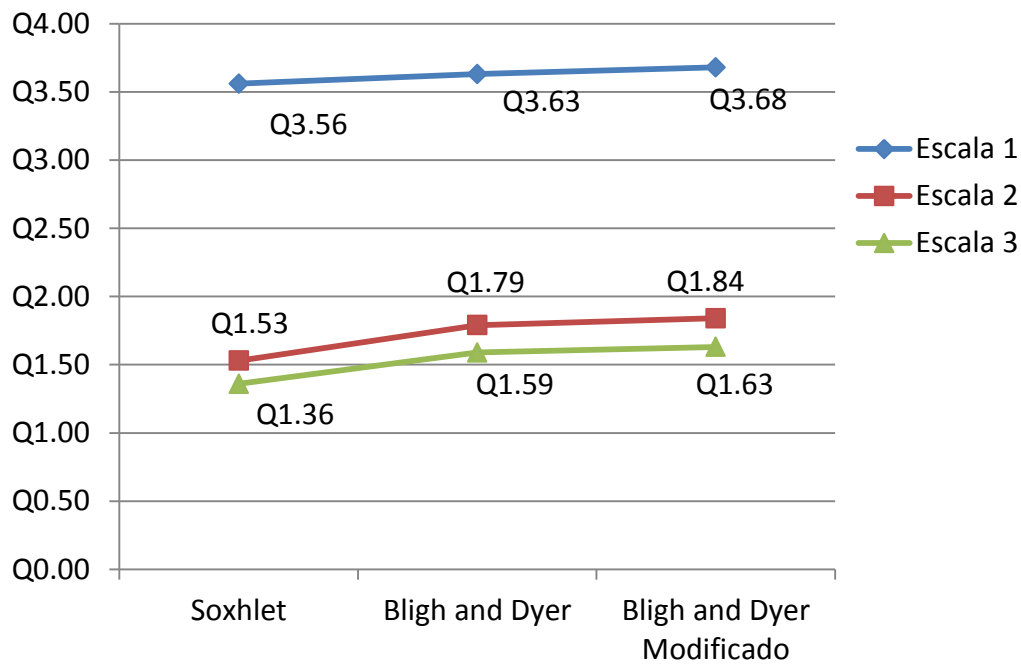
11. Apéndice K: Gráficas de resultados principales

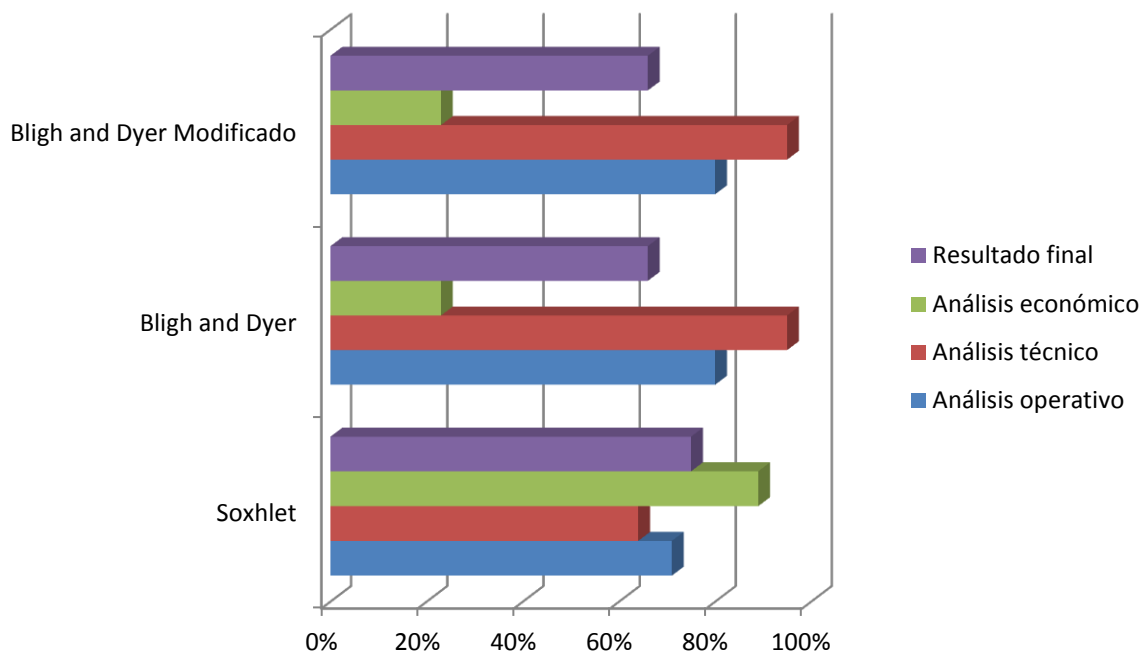
Gráfica No. 55 Costos de Operación anuales para el cultivo de microalgas a distintas escalas**Gráfica No. 56 Costos por unidad agregados por los procesos de cultivo y pre-tratamiento**

Gráfica No. 57 Costo por unidad agregado por los distintos métodos de extracción



Gráfica No. 58 Precio del aceite por mililitro, según el método de extracción utilizado



Gráfica No. 59 Resultados de los métodos de extracción en el sistema de medición

G. GLOSARIO

Agar:	Es utilizado como medio nutritivo utilizado para cultivar bacterias, hongos, algas y así observar su crecimiento.
Agitación:	Forzar un fluido por medios mecánicos para que adquiera un movimiento circulatorio en el interior de un recipiente. Esto se consigue con un agitador, que crea un cierto tipo de flujo dentro del sistema, dando lugar a que el líquido circule por todo el recipiente
Alga unicelular:	Organismo autótrofo formado por una sola célula, que hacen fotosíntesis a través de distintos pigmentos, y que viven en el agua o en ambientes muy húmedos. Algunas especies de algas son oleogénicas, es decir que son productoras de aceite.
Análisis de correlación:	Medición de la relación entre dos variables
Análisis de Sensibilidad:	El análisis de sensibilidad es un término financiero, que consiste en calcular nuevos flujos de caja, además de un nuevo valor presente neto, o tasa interna de retorno, al momento de cambiar una variable. De esta forma, se puede calcular o mejorar las estimaciones sobre el proyecto que se vaya a iniciar en el caso que las variables cambien o existan errores iniciales de apreciación.
Anóxico:	Que está privado de oxígeno.
Autoclave:	Dispositivo que sirve para esterilizar, utilizando vapor de agua a alta presión y temperatura, evitando a altas presiones que el agua llegue a ebullición a pesar de su alta temperatura.

Balanced ScoreCard:	Una Balanced ScoreCard o Tarjeta de ponderación balanceada pretende medir y proveer retroalimentación a una organización, entidad o persona, con el fin de asistir en la implementación de estrategias y objetivos
Biomasa:	Materia orgánica de origen vegetal o animal, incluyendo residuos y desechos orgánicos, susceptibles de ser aprovechados energéticamente.
Biorreactor:	Recipiente o sistema que mantiene activamente un ambiente biológico. En este sistema, se lleva a cabo un proceso químico (fotosíntesis) donde se involucran organismos y sustancias activas.
Cámara de Neubauer:	Instrumento utilizado para realizar el recuento de células en un medio líquido.
Cepa:	Conjunto de organismos de una misma especie o cultivo, con características particulares que los diferencian de otros.
Colonias:	Es un grupo de células con similares características que actúan en conjunto, con la excepción de que su función no es formar una unidad estructural.
Costos de operación:	Los costos de operación, también conocidos como gastos de producción son los gastos necesarios para mantener un proyecto, línea de procesamiento o un equipo en funcionamiento. La diferencia entre los ingresos y los costos de operación indican para una compañía, el beneficio bruto.

Cromatografía gases:	Es una técnica de separación analítica, en donde se hace pasar el analito en forma gaseosa a través de la columna, arrastrado por una fase móvil gaseosa, llamada gas portador.
Cromatografía líquida:	Es una técnica de separación donde se utiliza una alta presión para incrementar la velocidad lineal y reducir la difusión de los compuestos en el interior de las columnas.
Cultivo:	Método para la multiplicación de microorganismos, consiste en la preparación del medio óptimo para favorecer el proceso deseado.
Curva de crecimiento:	Gráfica en la que se registra el número de organismos en función del tiempo. Esta curva se divide en cuatro fases denominadas: fase de latencia, fase exponencial o fase logarítmica, fase estacionaria y fase de muerte
Densidad celular:	Cantidad de células en un determinado volumen de solución
Derivatización:	Es el proceso mediante el cual se transforma el analito por una reacción química a un derivado más fácil de analizar.
Diagrama de Gantt:	El diagrama de Gantt, gráfica de Gantt o carta de Gantt, es una herramienta gráfica cuyo objetivo es mostrar el tiempo de dedicación que se tiene previsto para las diferentes actividades o tareas durante un tiempo total determinado.

Dispersión:	Indica qué tan alejados están los datos en un valor. Cuanto mayor sea la dispersión, mayor es la variabilidad, cuanto más menor sea, más homogénea será al valor central.
Eficiencia:	Es la relación entre los recursos utilizados en un proyecto y los logros conseguidos con el mismo.
Estado de resultados:	El estado de resultados, estado de rendimiento económico o estado de pérdidas y ganancias, es un estado financiero que muestra de forma ordenada y detallada la forma de cómo se obtuvo el resultado del ejercicio durante un período determinado.
Esterificación:	Reacción que se realiza a partir de ácidos carboxílicos y alcoholes para obtener ésteres.
Esterilización:	Método de control del crecimiento microbiano que involucra la eliminación de todas las formas de vida microscópicas. Es un término que indica la viabilidad mediante la destrucción de todos los microorganismos contenidos en un objeto, área o sustancia.
Experimento:	Proceso o prueba que se emplea para comprobar una teoría científica.
Extracción:	Es la separación de una mezcla de compuestos aprovechando diferencias de solubilidad de los mismos en un determinado solvente.

Extracto:	Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima.
Fase acuosa:	Es una capa que suele ser la que contiene el soluto o mezcla de solutos a separar, así como ácidos y sales orgánicas e incluso alguna sustancia orgánica.
Fase de latencia:	Representa un periodo de transición para los microorganismos cuando son transferidos a una nueva condición. En esta fase no hay incremento en el número de células.
Fase exponencial:	Período de crecimiento en el cual el microorganismo crece exponencialmente, es decir que cada vez que pasa un tiempo de generación la población se duplica.
Fase orgánica:	Es la que permite la separación de solutos mediante contacto directo con la fase acuosa que inicialmente contiene, fase inmiscible con el agua.
Fertilizante Foliar:	Abono que sirve de complemento para nutrir con nitrógeno, fósforo y potasio. También es utilizado para corregir dproporcións específicas en el período de desarrollo del cultivo con nutrientes secundarios tales como Calcio, magnesio y azúfre; así como con micronutrientes que podrían ser zinc, hierro, cobre, manganeso, boro, molibdeno.
Gastos Indirectos de Fabricación (GIF):	Se refiere a todos aquellos gastos que no pueden ser aplicados directamente a los costos de una mercancía. En otras palabras, son importes de los gastos que se incurren en actividades asociadas a la producción, los cuales no son identificables con un producto o servicio determinado.

Homogeneización:	Mezcla de forma uniforme de sustancias con similares fases.
Inóculo:	Suspensión de microorganismos que se transfieren a un medio de cultivo a través de forma accidental o voluntaria.
Key Performance Indicators (KPI):	Los “key performance indicators” o indicadores de desempeño clave son utilizados comúnmente por una organización para evaluar sus logros o los logros de una actividad en particular en la cual se encuentra involucrada.
Lípidos:	Moléculas orgánicas que se encuentran en la naturaleza, conformadas por triésteres de glicerol con tres ácidos carboxílicos de cadena larga.
Longitud de onda:	Es la distancia de un máximo de onda a la siguiente, describiendo cuán larga es la onda.
Metil ésteres:	Son productos oleoquímicos derivados de materias primas vegetales, tras un proceso de esterificación.
Microalgas:	Conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares procariontes y eucariontes.
Molécula apolar:	Son moléculas que no tienen dipolo eléctrico, los centro de carga positiva, de los núcleos, y de carga negativa, de electrones.

Molécula polar:	Son moléculas donde la disposición de los electrones está desviada y por eso los centros de carga positiva y negativa no coinciden.
Número de Reynolds:	Número adimensional utilizado para caracterizar el movimiento de un fluido. Menor a 2000 es flujo laminar y mayor a 4000 es flujo turbulento
Porcentaje de crecimiento:	Cantidad de células capaces de reproducirse
Productividad:	Medición del producto bioconvertido por el volumen del reactor, por unidad de tiempo
Rendimiento:	Medición del producto bioconvertido por el volumen del reactor.
Solvente:	Sustancia que permite la dispersión de otra sustancia (llamada soluto) para la formación de una disolución.
Tasa Interna de Retorno (TIR):	La tasa interna de retorno o tasa interna de rentabilidad se refiere al promedio de los rendimientos futuros esperados, que implica por tanto, la opción de realizar o no una inversión. Asimismo, es un indicador de la rentabilidad de un proyecto.
Tasa Mínima Atractiva de Retorno (TMAR):	La tasa mínima atractiva de retorno representa el proporción utilizado para hacer las equivalencias entre dinero de diferentes períodos. El dinero no debe invertirse en alguna alternativa si no puede tener el rendimiento al menos tan grande como la TMAR.

Técnica ultrasónica:	Consiste en la exposición de la materia a ondas acústicas de una frecuencia determinada, la utilización de ondas acústicas para la destrucción de la pared celular de la materia.
Valor Presente Neto (VPN):	El valor presente neto o valor actual neto se refiere a un procedimiento que posibilita calcular el valor presente de número de flujos de caja futuros, originados por una inversión. Permite conocer el valor, al día de hoy, de una inversión.
Velocidad de crecimiento:	Velocidad total de toda la serie de reacciones, en las cuales se sintetizan las sustancias celulares (biomasa).

H. NOMENCLATURA

-	Área	mm ² , cm ² , m ² , ha
-	Costos	Q (quetzales)
-	Crecimiento celular	unidades de células/mL (cel/mL), u/mL
-	Frecuencia	kHz, MHz
-	Intensidad de Luz	Lux
-	Masa	g, kg, ton
-	Temperatura	°C
-	Tiempo	s, min, h
-	Volumen	mL, L, gal, m ³
-	Presión	atm
-	Potencia	W, hp
-	Longitud	m, cm, “
-	Voltaje	V
-	Velocidad	cm/s, m/s, rpm
-	Velocidad de crecimiento	$\frac{kg}{m^3 \cdot s}$
-	Densidad	$\frac{kg}{m^3}$
-	Flujo volumétrico	$\frac{m^3}{s}$

ASE	Accelerated Solvent Extraction Extracción acelerada con solventes	
ASTM	American Society for Testing and Materiales	
CV	Coeficiente de Variación	u/mL
ρ	Densidad	g/mL
FD	Factor de dilución	-
HIFU	High Intense Focus Ultrasound Ultrasonido de alta intensidad enfocado	
NaOH	Hidróxido de sodio	
N	Cantidad de células contadas en la muestra, por microscopio	unidades de células
NPR	Período de Recuperación	años
S	Desviación estándar de la muestra	u/mL
Sm	Desviación estándar de la media	u/mL

S_y	Desviación estándar de una suma o resta	Unidades a la que corresponde el cálculo
Sp.	Perteneceiente al género pero aún no se conoce la especie	
SWE	Subcritic water extraction Extracción con agua subcrítica	
TIR	Tasa Interna de Retorno	%
UV	Ultra-violeta	
VPN	Valor Presente Neto	Q (quetzales)
W	dispersión	u/mL
\bar{X}	Media	u/mL