



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA DE QUÍMICA**

**CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA ASISTIDA POR MICROONDAS  
PARA LA OBTENCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE  
A PARTIR DE MICROALGAS ANTÁRTICAS**

**Autora:** Yolanda Gabriela Paredes Heredia  
gabbyta\_ph@hotmail.com

**Tesis para optar por el Título Profesional de QUÍMICA**

**Tutor:** Dr. Ronny Flores, PhD  
raflores@uce.edu.ec

Quito, Enero 2016

Paredes Heredia Yolanda Gabriela (2016), Conversión hidrotérmica asistida por microondas para la obtención de biocombustible a partir de microalgas antárticas. Trabajo de investigación para la optar por el grado de Química. Quito: UCE. 91 p.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por su apoyo, amor, dedicación, confianza  
y entrega incondicional. A Maritza, Mónica y Patricio  
muchas gracias.

## **AGRADECIMIENTOS**

Un agradecimiento profundo a Dios, a mis padres y hermanas por ser mi soporte en todo momento.

A todos mis profesores de la Facultad de Ciencias Químicas, que ayudaron en mi formación académica y personal.

Mi gratitud especial y sincera a mi tutor, el Dr. Ronny Flores por haberme guiado y asistido oportunamente, su apoyo y compromiso fueron imprescindibles, a mi tribunal el Ing. Antonio Harnisth y el Quím. Raúl Bahamonde, por sus recomendaciones acertadas, al Dr. Klever Parreño y la Ing. Denisse Molina por su inmensa ayuda desinteresada.

Al Instituto Antártico Ecuatoriano por haber permitido la obtención de las muestras de microalgas antárticas que fueron recolectadas en la XVI Expedición Ecuatoriana a la Antártida en febrero del 2013.

Agradezco a todos mis amigos y compañeros que hicieron de esta etapa algo inolvidable. A Patricio gracias por su ayuda y comprensión.



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA DE QUÍMICA**



Yo, Yolanda Gabriela Paredes Heredia, en calidad de autora del trabajo de investigación realizado sobre “Conversión hidrotérmica asistida por microondas para la obtención de bio-combustible a partir de microalgas antárticas”, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

En la Ciudad de Quito, a los 22 días del mes de diciembre del 2015.

Yolanda Gabriela Paredes Heredia

CI.: 1721816799



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA DE QUÍMICA**



Por la presente, dejo constancia que he leído la tesis presentada por la Señorita Yolanda Gabriela Paredes Heredia para optar por el título profesional de Química cuyo tema es: “Conversión hidrotérmica asistida por microondas para la obtención de biocombustible a partir de microalgas antárticas”, la misma que reúne los requerimientos, y los méritos suficientes para ser sometida a evaluación por el Tribunal calificador.

En la Ciudad de Quito, a los 22 días del mes de diciembre del 2015.

Dr. Ronny Flores, PhD

CI.: 1709556367



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA DE QUÍMICA



INFORME DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Quito, 4 de enero del 2016.

Señora

Dra. Isabel Fierro

DECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Presente.-

Señora Decana:


El Tribunal encargado de calificar la Tesis: CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA ASISTIDA POR MICROONDAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLE A PARTIR DE MICROALGAS ANTÁRTICAS, presentada por Yolanda Gabriela Paredes Heredia, con CI.: 1721816799, estudiante de la Carrera de Química, luego del estudio y la revisión correspondiente, resolvió:

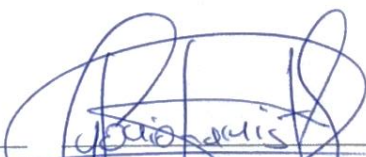
APROBAR ☒ la Tesis con la NOTA de: Veinte (20/20)


REPROBAR ☐ la Tesis

Es cuanto podemos informar.

Atentamente,

  
Nombre: ROXING FLORES  
CI.: 1708556367

  
Nombre: Antonio Hornish  
CI.: 17538579

  
Nombre: Raul Bahamonde  
CI.: 1717676389

## **LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, con ayuda y colaboración de los Laboratorios de Química Ambiental, Química Sostenible, Síntesis Orgánica y Polímeros, Nanoestructuras y Análisis de Alimentos del OSP. Las muestras de microalgas usadas fueron recolectadas durante la XVI Expedición Ecuatoriana a la Antártida en febrero del 2013.

Esta investigación forma parte del Proyecto T-10-13: EVALUACIÓN DE ALGAS PSICRÓFILAS ANTÁRTICAS COMO POSIBLE FUENTE DE ENERGÍA RENOVABLE, que se ejecuta con el apoyo del Instituto Antártico Ecuatoriano.



## CONTENIDO

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Planteamiento del problema .....	1
1.2 Formulación del problema.....	1
1.3 Hipótesis del problema .....	2
1.4 Objetivos de la investigación.....	2
1.4.1 Objetivo general .....	2
1.4.2 Objetivos específicos.....	2
1.5 Importancia y justificación de la investigación .....	2
 CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	 5
2.1 Antecedentes.....	5
2.2 Fundamento teórico .....	7
2.2.1 Microalgas.....	7
2.2.2 Conversión asistida por microondas .....	9
2.2.3 Conversión hidrotérmica .....	18
2.2.4 Catálisis .....	21
2.2.5 Biocombustibles .....	28
2.2.6 Cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (GC-MS) .....	30
2.2.7 Difracción de rayos X .....	31
2.3 Fundamento legal .....	33
 CAPÍTULO III METODOLOGÍA .....	 35
3.1 Tipo de investigación.....	35
3.2 Población y muestra.....	35
3.3 Diseño experimental .....	36
3.4 Materiales y métodos.....	37
3.4.1 Métodos.....	37

3.4.2 Equipos y materiales .....	42
 CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	 43
4.1 Caracterización de la biomasa de microalga <i>Chlorella</i> .....	43
4.1.1 Resultado de la determinación de humedad .....	43
4.1.2 Resultado de la determinación de cenizas .....	44
4.1.3 Resultado de la determinación de lípidos .....	45
4.2 Caracterización de la zeolita natural activada .....	46
4.2.1 Resultados de la determinación de tamaño de partícula .....	47
4.2.2 Resultados del análisis de difracción de rayos X .....	48
4.3 Resultados de la conversión hidrotérmica de microalgas <i>Chlorella</i> asistida por microondas.....	49
4.3.1 Diseño completamente al azar.....	49
4.3.2 Análisis estadístico.....	50
4.4 Resultados de la conversión hidrotérmica de microalgas <i>Chlorella</i> a reflujo abierto .....	56
4.5 Comparación de la conversión hidrotérmica asistida por microondas vs reflujo abierto .....	57
4.6 Compuestos identificados después de la conversión hidrotérmica asistida por microondas y a reflujo abierto de biomasa de microalga <i>Chlorella</i> .....	58
 CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	 61
5.1 Conclusiones.....	61
5.2 Recomendaciones .....	61
 BIBLIOGRAFÍA .....	 62

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2. 1 Principales características de la microalga seca <i>Chlorella vulgaris</i> .....	8
Tabla 2. 2 Constante dieléctrica, factor de pérdida dieléctrica y factor de disipación de varias sustancias a 25°C y 3 GHz. ....	13
Tabla 2. 3 Diferencias entre sistemas microondas con cavidades mono y multimodo. ....	17
Tabla 2. 4 Principales beneficios de los biocombustibles .....	29
Tabla 2. 5 Clasificación de los biocombustibles renovables basadas en sus tecnologías de producción .....	29
Tabla 3. 1 Muestras de microalgas y puntos de muestreo .....	36
Tabla 3. 2 Valores de los niveles para cada factor del diseño .....	37
Tabla 3. 3 Tabla de tratamientos .....	41
Tabla 4. 1 Valores experimentales de la determinación de humedad .....	43
Tabla 4. 2 Valores experimentales de la determinación de ceniza .....	44
Tabla 4. 3 Valores experimentales de la determinación de lípidos .....	45
Tabla 4. 4 Valores del histograma para los tamaños de partícula .....	47
Tabla 4. 5 Resultados de análisis por difracción de rayos X de la zeolita natural activada y no activada.....	48
Tabla 4. 6 Porcentaje de conversión de microalgas <i>Chlorella</i> en biocombustible. ....	49
Tabla 4. 7 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible .....	50
Tabla 4. 8 Prueba de Duncan para los 12 tratamientos .....	51
Tabla 4. 9 Valores de g biocombustible/kg de microalga de la conversión hidrotérmica a reflujo abierto. ....	57
Tabla 4. 10 Prueba F para varianzas de dos muestras. ....	57
Tabla 4. 11 Prueba t para dos muestras con varianzas iguales. ....	58
Tabla 4. 12. Compuestos identificados por GC-MS.....	59

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1 Chlorella vulgaris.....	8
Figura 2.2 Espectro electromagnético.....	10
Figura 2. 3 Onda electromagnética.....	10
Figura 2. 4 Procesos de calentamiento empleando: a) sistema convencional y b) irradiación MO.....	11
Figura 2. 5 Perfil de temperaturas en un proceso de calentamiento: a) MO y b) convencional..	12
Figura 2. 6 Mecanismos de calentamiento por MO: a) interacción de polos y b) conducción iónica. ....	13
Figura 2. 7 Hornos microondas a) monomodo y b) multimodo..	18
Figura 2. 8 Métodos de conversión de biomasa algal en biocombustible..	19
Figura 2. 9 Diagrama de fases del agua.....	20
Figura 2. 10 Catálisis heterogénea.....	22
Figura 2. 11 Unidad estructural primaria.....	23
Figura 2. 12 a) Unidades estructurales secundarias, b) Unidades estructurales terciarias..	23
Figura 2.13 Ejemplo del proceso de formación de la estructura de una zeolita..	24
Figura 2. 14 a) Esquema de cromatógrafo de gases de columna abierta/espectrómetro de masas y b) Esquema de separador de chorro.....	31
Figura 2. 15 Difracción de rayos X producida por un cristal. ....	32
Figura 3. 1 Sitios de muestreo de las microalgas en la Isla Greenwich..	36
Figura 3. 2 Rampas de temperatura. a) 30 min, b) 60 min y c) 120 min de conversión. ....	40
Figura 4. 1 Reacción general de transesterificación. $R_1$ , $R_2$ , $R_3$ y $R'$ son radicales alquilo.	46
Figura 4. 2 Histograma de los tamaños de partícula de la zeolita natural activada.....	47
Figura 4. 3 Influencia del tiempo de irradiación microondas en el porcentaje de obtención de biocombustible, promedio de tres determinaciones.....	53
Figura 4. 4 Influencia del catalizador en el porcentaje obtenido de biocombustible, promedio de tres determinaciones. ....	54
Figura 4. 5 Influencia de la relación microalgas: agua subcrítica en el porcentaje de obtención de biocombustible, promedio de tres determinaciones.....	56

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Equipos y materiales usados en la investigación.....	66
ANEXO 2. Datos experimentales para la determinación del tamaño de partícula de la zeolita activada.....	70
ANEXO 3. Análisis de difracción de rayos X.....	71
ANEXO 4. Compuestos identificados por GC-MS según referencias bibliográficas.....	72
ANEXO 5. Cromatogramas de los productos obtenidos para los diferentes tratamientos..	73
ANEXO 6. Resultados de los análisis GC-MS de los productos obtenidos para los diferentes tratamientos. ....	75
ANEXO 7. Hidrocarburos identificados en el análisis GC-MS de los productos obtenidos para los diferentes tratamientos. ....	76

## **RESUMEN DOCUMENTAL**

La conversión hidrotérmica asistida por microondas para la obtención de biocombustible a partir de microalgas antárticas se investigó a varios tiempos de irradiación microondas (30, 60 y 120 min), a distintas relaciones microalgas: agua (1:10 y 1:30, g de microalga: g de agua), a diferentes masas de zeolita como catalizador (0 y 0.25 g) y a 230°C con una presión autógena de, aproximadamente, 30 bares. Se encontró que a 120 min de irradiación, con una relación 1:30 microalgas: agua y 0.25 g de catalizador dio el mejor porcentaje de obtención de biocombustible, con un valor de  $12.05 \pm 0.09\%$ , mucho mayor que el que se obtuvo con calentamiento convencional a reflujo abierto, que fue de  $3.56 \pm 0.42\%$ , comprobándose que el método de conversión hidrotérmica asistida por microondas es mejor que el calentamiento convencional. Los hidrocarburos obtenidos podrían ser utilizados para reemplazar a los productos petroquímicos usados en la gasolina, ya que quedó demostrado por CG - MS que se obtuvieron hidrocarburos de 8 a 12 átomos de carbonos.

**PALABRAS CLAVES:** CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA, MICROONDAS, MICROALGAS, BIOMASA, BIOCOMBUSTIBLE, ZEOLITA.

## **ABSTRACT**

Hydrothermal conversion assisted by microwave to obtain biofuel from antarctic microalgae it was researched to several times of microwave irradiation (30 min, 60 min and 120 min), in combination microalgae: water 1:10 and 1:30, (g microalgae - g of water), the catalyst used was zeolite in different weight (0 g to 0.25 g), in addition 230°C of temperature and 30 bars of autogenous pressure. The best percentage of obtaining biofuels was  $12.05 \pm 0.09\%$ , in this conditions: 120 min of irradiation, 1:30 (microalgae: water) and 0.25 g of catalyst. This procedure was better than the conventional procedure reflux, it percentage was  $3.56 \pm 0.42\%$ , proving that the method of microwave assisted hydrothermal conversion is better than conventional heating. Hydrocarbons obtained could be used to replace petrochemicals used in gasoline, because it has been demonstrated by GC - MS that it was obtained hydrocarbons of 8 to 12 carbon atoms.

**KEYWORDS:** HYDROTHERMAL CONVERSION, MICROWAVE, MICROALGAE, BIOMASS, BIOFUEL, ZEOLITE.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Planteamiento del problema**

En la actualidad, la industria mundial se desarrolla en completa dependencia de la utilización de combustibles fósiles. Estos al combustionarse generan y emanan dióxido de carbono, entre otros gases nocivos a la atmosfera, ocasionando así serios problemas al ambiente que acrecientan el efecto invernadero. Debido a esto, es innegable la existencia de un cambio climático a nivel planetario, la magnitud de este fenómeno es tal que forma parte de la agenda política de los estados y organismos internacionales. El cambio climático involucra, entre otros, sequías, inundaciones y/o acidificación de los océanos, a nivel local y global y aumento del nivel del mar (Hernández & Labbé , 2014).

Además, el agotamiento de las reservas de combustibles de origen fósil avanza a pasos agigantados y por contraparte la demanda energética crece a diario.

En este contexto, el desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del ambiente, a la reutilización de los residuos y la generación de energías limpias de bajo costo se ha tornado indispensable. Entre estas tecnologías, los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo, al ser considerados eco-amigables, ya que reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos y gaseosos, incorporándolos a su metabolismo para generación de biomasa. Por lo que el uso de microalgas como materia prima para la obtención de biocombustible ha llamado gran atención en estas dos últimas décadas.

La presente investigación busca obtener biocombustible a partir de recursos renovables, de bajo costo y, sobre todo, que no compitan directamente con la producción de alimentos.

### **1.2 Formulación del problema**

¿Es posible obtener biocombustible por conversión hidrotérmica asistida por microondas a partir de microalgas antárticas?



### 1.3 Hipótesis del problema

Puede generarse biocombustible por conversión hidrotérmica asistida por microondas a partir de microalgas antárticas para ser utilizado como fuente de energía alternativa.

### 1.4 Objetivos de la investigación

#### 1.4.1 Objetivo general

- Obtener biocombustible a partir de microalgas antárticas mediante conversión hidrotérmica asistida por microondas.

#### 1.4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar la biomasa de microalgas *Chlorella* mediante la determinación del porcentaje de humedad, cenizas y lípidos.
- Activar y caracterizar una zeolita natural mediante difracción de rayos X que será utilizada como catalizador en la obtención de biocombustible.
- Realizar una conversión hidrotérmica asistida por microondas de biomasa de microalgas *Chlorella* variando tiempos de reacción, masa de zeolita natural y relaciones biomasa: agua.
- Determinar el porcentaje de biocombustible obtenido a partir de microalgas antárticas mediante conversión hidrotérmica asistida por microondas.
- Analizar los productos obtenidos mediante la técnica instrumental analítica de CG-MS
- Comparar la obtención de biocombustible a partir de una conversión hidrotérmica asistida por microondas con una conversión de calentamiento a reflujo abierto.

### 1.5 Importancia y justificación de la investigación

Las microalgas poseen características que las convierten en materia prima renovable ideal para la obtención de un sinnúmero de productos químicos, como los biocombustibles.

Entre ellas se pueden detallar las siguientes:

- Gran cantidad de lípidos en su composición
- No requieren condiciones ni equipos sofisticados para su cultivo

- Rápido crecimiento
- Secuestran CO<sub>2</sub>, reduciendo el efecto invernadero que provoca este gas
- La obtención de su biomasa no compite con cultivos alimenticios

En un futuro muy próximo, el desarrollo de tecnologías amigables con el ambiente para la obtención de biocombustibles que no comprometan la seguridad alimentaria del país se hace necesaria, debido a que los recursos energéticos de origen fósil están próximos a agotarse y la demanda de energía crece, es urgente y necesario buscar nuevas alternativas limpias y de bajo costo.

Actualmente ya existen Artículos dentro de la Constitución Nacional del 2008, Políticas en el Plan Nacional del Buen Vivir 2009-2013 y Decretos Oficiales que destacan el apoyo al cambio de la matriz energética.



## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes

La preocupación por la disminución de combustibles fósiles, el incremento de la demanda energética mundial y el aumento de emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera, están impulsando a muchos países a desarrollar fuentes de energías renovables. En referencia a esto, el uso de biomasa para la producción de biocombustible ofrece una solución sostenible.

A nivel mundial existen numerosas investigaciones que ratifican a la biomasa de microalgas como fuente potencial de biocombustibles, a continuación se resumen algunas de estas investigaciones.

Acerca de las microalgas, estas se destacan como fuente de energía renovable, alternativa y sostenible, ya que tienen un alto potencial para la producción de grandes cantidades de biomasa, que a su vez puede ser utilizada para la producción de diferentes biocombustibles de tercera generación a gran escala (Maity, Bundschuh, Chen, & Bhattacharya, 2014).

Se realizó una conversión térmica (pirólisis) asistida por microondas de *Chlorella vulgaris* bajo diferentes niveles de potencia de microondas, catalizadores y contenido de carbón activado y residuos sólidos. El rendimiento máximo de biocombustible fue de 35.83 % y 52.37 % de gas, que se logró con una potencia de microondas de 1500 W y 2250 W, respectivamente. A 2250 W se alcanzó la potencia óptima para la obtención de biocombustible. Un alto nivel de potencia de microondas y presencia de catalizador pueden mejorar la producción de gas. Los catalizadores pueden promover la pirólisis de *Chlorella vulgaris*, y carbón activado fue el mejor entre los catalizadores ensayados seguido por el residuo sólido. El contenido óptimo de carbón activado fue de 5%, con el máximo rendimiento de biocombustible de 87.47% (Hu, Ha, & Chen, 2012).

En otra investigación, se efectuó una conversión térmica (pirólisis) asistida por microondas de microalgas *Chlorella sp.* Los resultados indicaron que el rendimiento máximo de bioaceite obtenido fue 28.6% a una potencia de microondas de 750 W. Las propiedades del bioaceite se caracterizaron mediante GC-MS, GPC, FT-IR y análisis termogravimétrico. El bioaceite de algas tuvo una densidad de 0.98 kg/L, una viscosidad de 61.2 cP y un valor calorífico de 30.7 MJ/kg. Los resultados GC-MS mostraron que los bio-aceites se componen principalmente de hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos, fenoles, ácidos grasos de cadena larga y compuestos nitrogenados, dentro de los cuales los hidrocarburos alifáticos y aromáticos son compuestos altamente deseables como los de petróleo crudo, gasolina y diésel. Los resultados de este estudio indicaron que las algas de rápido crecimiento son una prometedora fuente de materia prima para la producción de combustibles renovables mediante pirólisis asistida por microondas (Du, et al., 2011).

También, se investigó una pirólisis catalítica de microalgas y claras de huevos para evaluar el rendimiento de diferentes zeolitas para la producción de hidrocarburos aromáticos. Tres zeolitas con diferentes estructuras (H-Y, H-Beta y H-ZSM5) se utilizaron para estudiar el efecto del tipo de catalizador en el rendimiento de producción de aromáticos. Los tres catalizadores aumentaron significativamente los rendimientos de aromáticos a partir de la pirólisis de microalgas y claras de huevo, en comparación con rutas no catalíticas, y la zeolita H - ZSM5 fue la más eficaz, con un rendimiento de 18.13%. Tres zeolitas H-ZSM5 con relaciones de silicato - alúmina de 30, 80 y 280 se utilizaron para estudiar el efecto de relación Si/Al en el rendimiento de aromático. El rendimiento máximo se alcanzó con la relación Si/Al de 80, que proporciona acidez moderada para lograr una producción de aromáticos alta y reducir la formación simultánea de coque. La producción de aromáticos aumentó con la incorporación de cobre o de galio a HZSM-5. Sin embargo, otros metales estudiados o bien no tuvieron influencia significativa o condujeron a un menor rendimiento aromático (Du, et al., 2013).

También se empleó la licuefacción hidrotérmica, un proceso termoquímico, para la obtención de biocombustibles a partir de biomasa de la macroalga *Enteromorpha prolifera*, en un intervalo de temperatura de 220-300°C. Se estudiaron, también, los efectos del tiempo de reacción y uso de catalizador. El máximo rendimiento (23% en peso) se obtuvo a 300°C, 30 min de reacción y con un 5% de carbonato de sodio como catalizador (Zhou, Zhang, Zhang, Fu, & Chen, 2010).

Mediante la licuefacción hidrotérmica algas *Laminaria saccharina* se convirtieron en biocrudo. La conversión fue fuertemente influenciada por la cantidad de biomasa en el reactor, tiempo de reacción, la temperatura y el catalizador (KOH). Se obtuvo un rendimiento máximo de 19.3% en peso de biocrudo cuando se empleó la relación biomasa: agua 1:10, 15 min de reacción, 350°C y sin la presencia del catalizador. El biocombustible obtenido posee un poder calorífico de 36.5 MJ/kg y es de naturaleza similar a un crudo pesado o alquitrán (Anastasakis & Ross, 2011).

## **2.2 Fundamento teórico**

### **2.2.1 Microalgas**

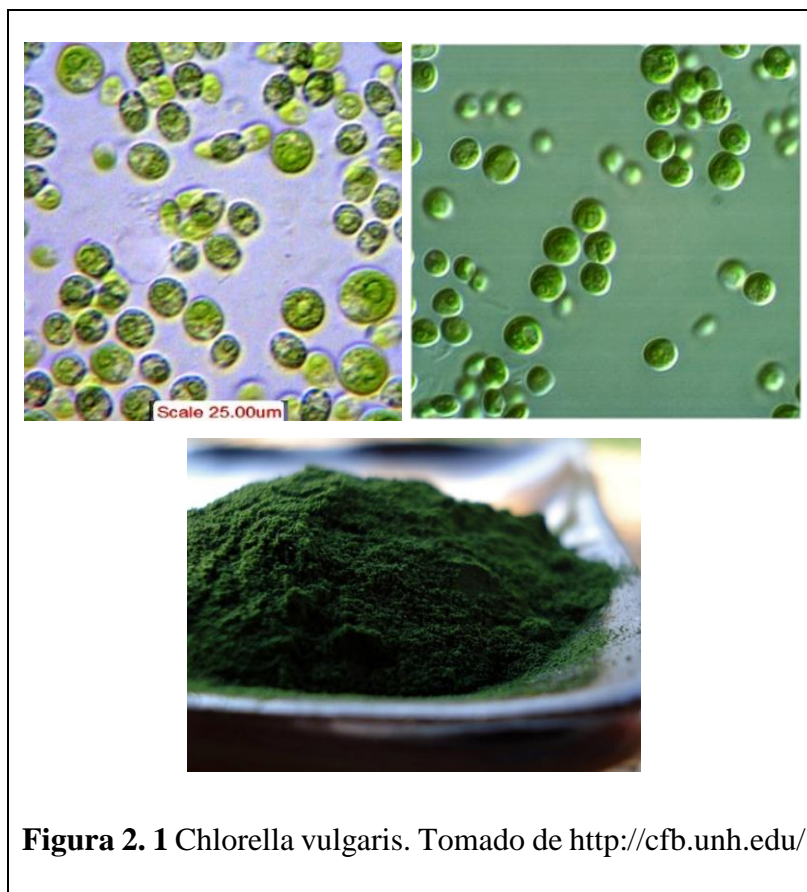
Las microalgas son microorganismos fotosintéticos, procariotas o eucariotas. Estas pueden crecer rápidamente debido a sencillos requisitos de crecimiento (luz, azúcares, CO<sub>2</sub>, N, P y K), producen lípidos, proteínas e hidratos de carbono en grandes cantidades, durante períodos cortos de tiempo. Están presentes en todos los ecosistemas existentes de la Tierra, no sólo de forma acuática sino también terrestre, lo que representa una gran variedad de especies que viven en una amplia gama de condiciones ambientales. Debido a ello, las microalgas poseen una diversidad de aplicaciones, tales como producción de biocombustibles, tratamiento de aguas residuales, uso farmacéutico, elaboración de productos químicos y alimenticios, entre otras; por esta razón las microalgas son de los organismos más útiles a los seres humanos (Mata, Martins, & Caetano, 2010).

Entre las microalgas que tienen gran potencial como materia prima para biocombustibles, ya que pueden convertirse en biodiesel, bioetanol, bio-aceite, biohidrógeno y biometano a través de métodos termoquímicos y bioquímicos, destaca la especie *Chlorella*. Es adaptable tanto a las condiciones de cultivo heterotrófico y fototrófico. Su contenido de lípidos y productividad de biomasa puede ser de hasta un 80% y 7.3 g/L /día (basado en el peso seco de la biomasa) respectivamente, lo que la convierte en candidata ideal para la producción de biocombustibles (Suali & Sarbatly, 2012).

#### **2.2.1.1 Chlorella**

Dentro del extenso grupo de las microalgas se encuentra la especie *Chlorella* (Figura 2.1), una microalga verde, perteneciente al género *Chlorophyta*. Posee forma esférica, su tamaño

está entre 2 y 10  $\mu\text{m}$  de diámetro, y no posee flagelo. Contiene los pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila  $\alpha$  y  $\beta$  en su cloroplasto. A través de la fotosíntesis se multiplica rápidamente, requiriendo sólo dióxido de carbono, agua, luz solar y pequeñas cantidades de minerales (Potter, 1984).



**Figura 2. 1** Chlorella vulgaris. Tomado de <http://cfb.unh.edu/>

### Aplicaciones de la *Chlorella vulgaris*

La *Chlorella vulgaris* debido a su composición química (Tabla 2.1) posee un potencial campo de aplicaciones, como las siguientes:

**Tabla 2. 1** Principales características de la microalga seca *Chlorella vulgaris*

Análisis proximal (% masa)		Análisis elemental (% masa)		Composición química	
Humedad	13.7	C	49.16	Lípidos	12.33
Volátiles	68.4	H	6.28	Proteínas	50.31
Carbono fijo	10.1	N	8.05	Otros	29.76
Cenizas	7.8	O	28.91		

Adaptado de (Du, Z., 2013).

- **Potencial secuestrador de dióxido de carbono**

Las microalgas tienen eficiencias fotosintéticas más altas que las plantas terrestres y son más eficientes en la captura de carbono. Entre las especies de microalgas adecuadas para la fijación de CO<sub>2</sub> destacan *Chlorella*, *Spirulina platensis*, *Emiliania huxley*, entre otras.

- **Tratamientos de aguas residuales**

Debido a la naturaleza de las microalgas, estas requieren una variedad de nutrientes y es posible incorporarlas en el tratamiento de aguas residuales, las cuales poseen un contenido significativamente mayor de los aminoácidos individuales que apoyan el crecimiento de las microalgas (Suali & Sarbatly, 2012).

Se ha demostrado que las microalgas como la *Chlorella*, es capaz de reducir las cantidades de nitrógeno, fósforo, DQO y DBO en aguas residuales (Wang, et al., 2010).

- **Potencial materia prima para la industria farmacéutica**

Las microalgas tienen un alto potencial para proporcionar materias primas farmacéuticas, tales como aminoácidos, carotenoides, ácidos grasos, vitaminas y antioxidantes. La *Chlorella sp.*, rica en cantaxantina, carotenoides y astaxantina, ayuda a prevenir el crecimiento anormal de las células y las enfermedades del corazón mediante el bloqueo de la formación de lipoproteínas de baja densidad (colesterol LDL) (Suali & Sarbatly, 2012).

- **Materia prima para biocombustibles**

Debido a su alto contenido de lípidos, esta especie de microalgas posee una biomasa óptima para la producción de biocombustibles, mediante métodos bioquímicos y termoquímicos, dentro de este último destaca la licuefacción (Suali & Sarbatly, 2012).

## **2.2.2 Conversión asistida por microondas**

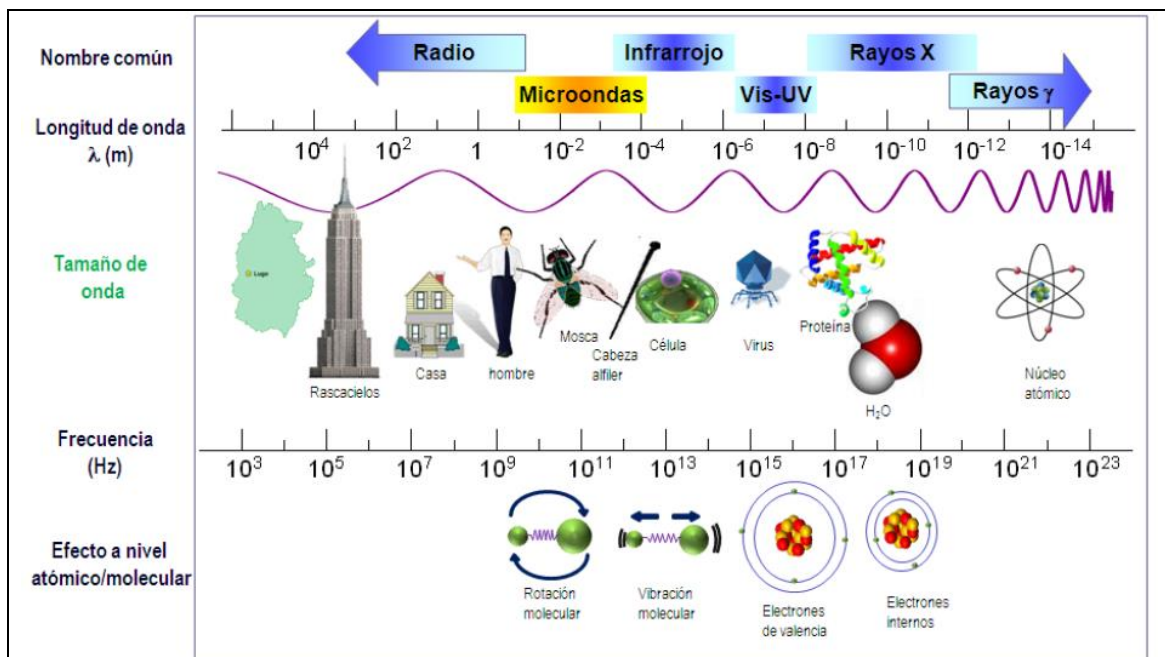
### **2.2.2.1 Espectro electromagnético**

Las microondas (MO) aparecen en el espectro electromagnético en la región entre la radiación infrarroja y la de radiofrecuencias (Figura 2.2). Sus longitudes de onda oscilan entre 1 cm y 1 m y las frecuencias entre 300 GHz y 300 MHz.

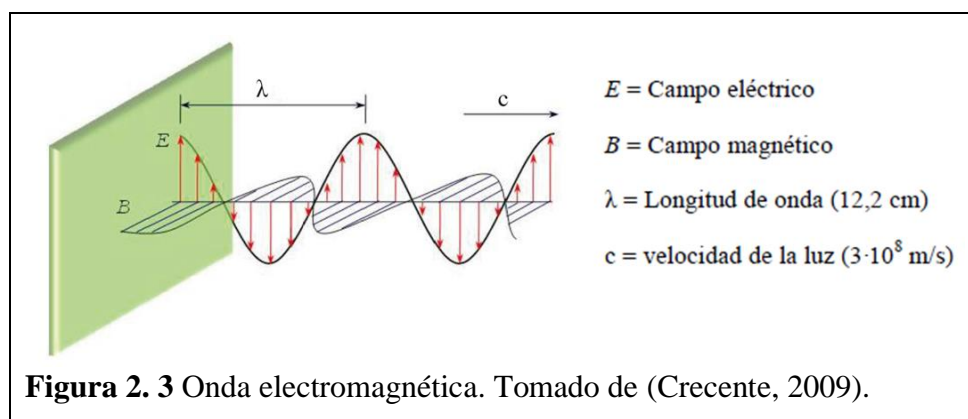


Las radiaciones MO están constituidas por un campo eléctrico y un magnético que se propagan de forma perpendicular (Figura 2.3), aunque sólo el campo eléctrico transfiere la energía que conduce al calentamiento de las sustancias.

Las MO cambian de dirección cuando viajan de un material dieléctrico a otro, de modo similar a los rayos de luz que se refractan cuando pasan del aire al agua. Las MO son reflejadas por objetos metálicos, absorbidas por algunos materiales dieléctricos y transmitidas sin absorción apreciable a través de otros materiales dieléctricos.



**Figura 2. 2** Espectro electromagnético. Tomado de (Crecente, 2009).

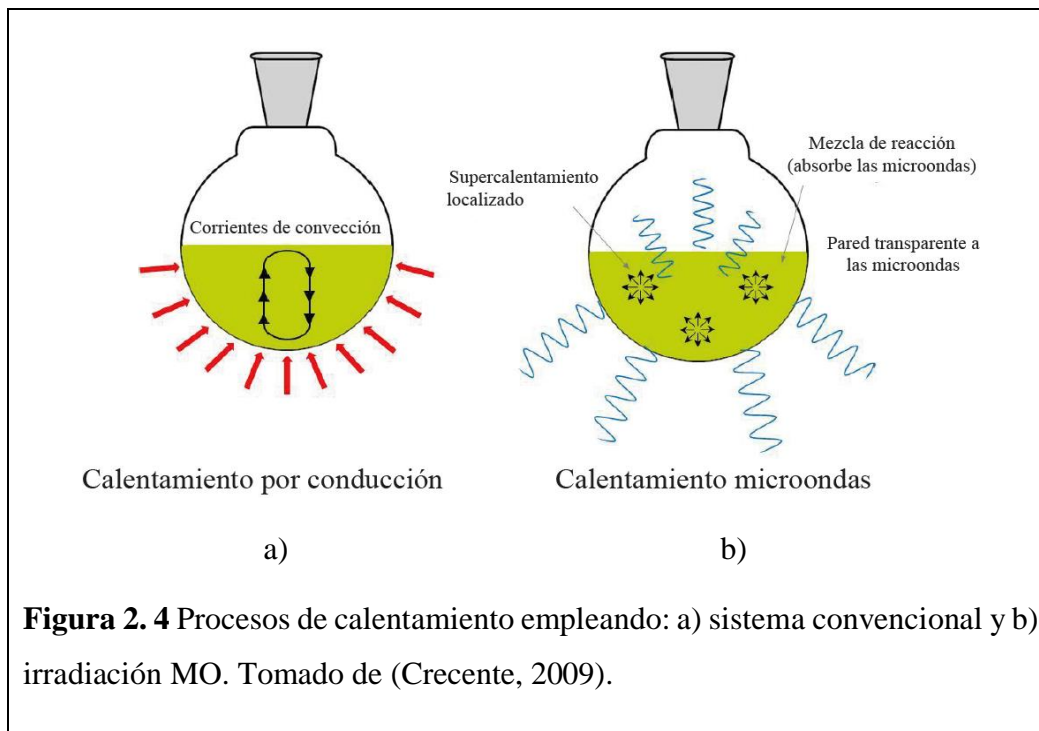


**Figura 2. 3** Onda electromagnética. Tomado de (Crecente, 2009).

El agua y los alimentos con alto contenido en agua son buenos absorbentes de MO mientras que los materiales cerámicos y la mayoría de los termoplásticos absorben las MO sólo ligeramente.

### 2.2.2.2 Calentamiento por microondas

El calentamiento por MO es completamente diferente del que ocurre en un horno de cocina convencional, donde el calentamiento de los alimentos tiene lugar por conducción, irradiación y convección (Figura 2.4).



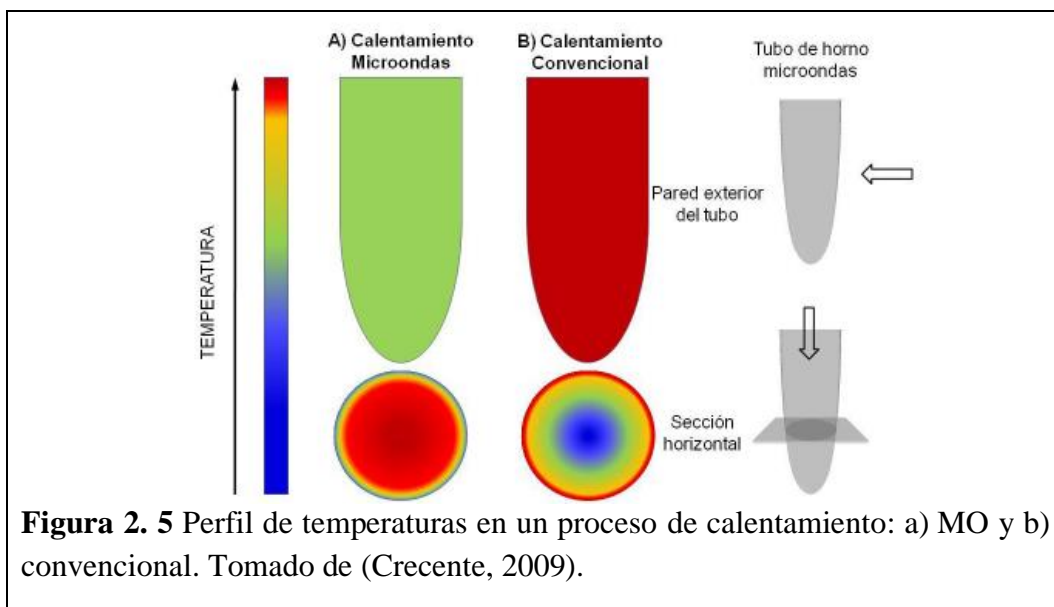
**Figura 2. 4** Procesos de calentamiento empleando: a) sistema convencional y b) irradiación MO. Tomado de (Crecente, 2009).

Los métodos de calentamiento convencionales suelen ser métodos de transferencia de energía lentos e ineficaces, ya que dependen de las corrientes de convección y de la conductividad térmica de los materiales que penetran, lo que provoca que la temperatura del tubo de reacción sea mayor que la de la mezcla de la reacción (Figura 2.5). Además, el gradiente de temperaturas puede llevar a una descomposición de reactivos o productos. En cambio, el calentamiento por irradiación con MO se produce por acoplamiento de las MO con las moléculas del disolvente, reactivos o catalizadores presentes en la mezcla de reacción. Los recipientes empleados son transparentes a las MO, comúnmente recipientes de PTFE (politetrafluoroetileno), por lo que la radiación pasa a través de las paredes directamente a todo el volumen de la reacción, lo que provoca un gradiente de temperaturas inverso con respecto al calentamiento convencional (Figura 2.5).

El calentamiento por MO, también denominado calentamiento dieléctrico, es un fenómeno que depende de la capacidad de un material específico (disolvente o reactivo) para absorber energía MO y convertirla en calor. La componente eléctrica del campo electromagnético provoca el calentamiento por dos mecanismos principales:

- **Interacción de dipolos** (polarización dipolar o rotación de dipolo).

En este mecanismo de calentamiento la irradiación de la muestra con MO resulta en el alineamiento de los dipolos en el campo eléctrico aplicado.

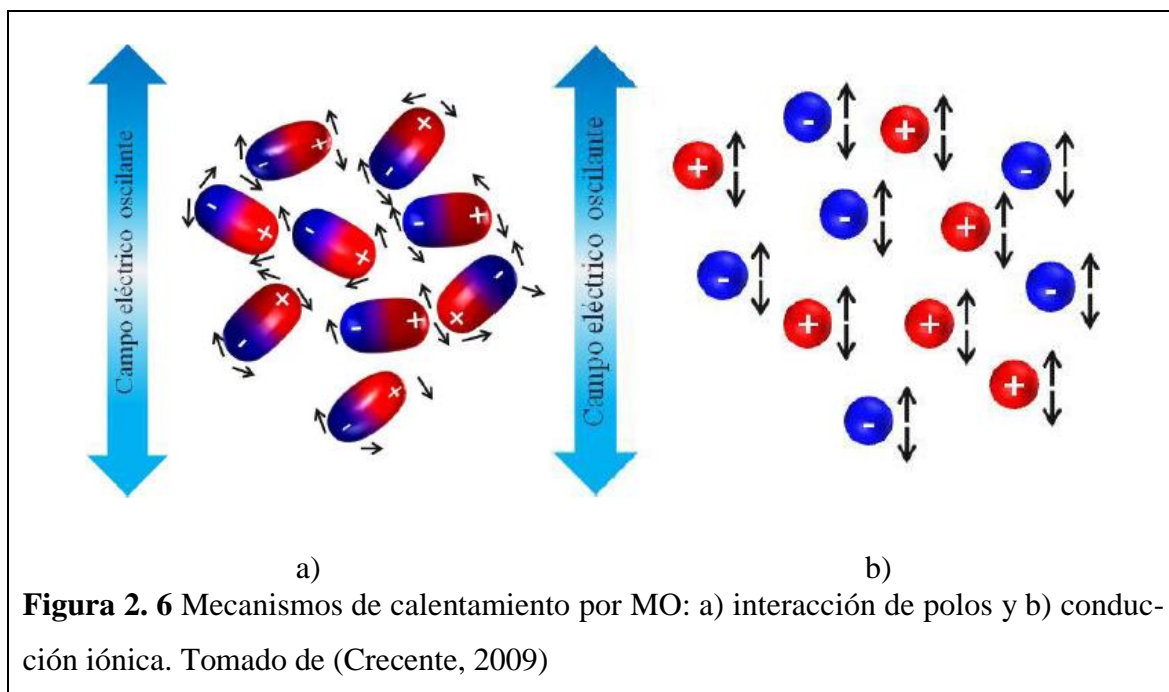


Como el campo aplicado oscila, el campo de los dipolos tiende a realinearse con el campo eléctrico oscilante y, en el proceso, a través de la fricción y de la pérdida dieléctrica, se produce calor. La cantidad de energía generada en este proceso está directamente relacionada con la capacidad de la sustancia de alinearse con la frecuencia del campo aplicado. Tanto si el dipolo no tiene tiempo suficiente para realinearse, como si se reorienta demasiado rápido con el campo aplicado, no tiene lugar el calentamiento. La frecuencia de 2.45 GHz de los sistemas comerciales cae dentro de estos dos extremos y da tiempo a los dipolos moleculares a alinearse con el campo, pero no de seguir el campo eléctrico oscilante de forma precisa. A esta frecuencia el campo eléctrico oscila  $4.9 \times 10^9$  veces por segundo, por lo que tiene lugar un calentamiento rápido de las moléculas (Figura 2.6 a).

- **Conducción iónica**

Mediante este mecanismo el calor se genera a través de pérdidas por fricción, que tienen lugar a través de la migración de los iones disueltos cuando se someten a la acción de un campo electromagnético (Figura 2.6 b). Estas pérdidas dependen del tamaño, carga, conductividad de los iones disueltos y de la interacción de estos últimos con el disolvente (Crecente, 2009).

La eficiencia de la conversión de la energía electromagnética en calor se mide a través del factor de pérdida dieléctrica ( $\epsilon''$ ), mientras que la constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ) de una sustancia es la medida que indica la capacidad de las moléculas para ser polarizadas por un campo eléctrico.



Así, la relación  $\epsilon''/\epsilon'$ , que es numéricamente igual a la tangente de  $\delta$  ( $\tan \delta = \epsilon''/\epsilon'$ ), se denomina factor de disipación y es una medida de la capacidad de una muestra para convertir la radiación electromagnética en calor. Cuanto mayor es este valor la sustancia se calienta más eficazmente por las MO. En la Tabla 2.2 se muestran los valores de estos parámetros para varias sustancias. En general, los disolventes se pueden clasificar según su capacidad de absorber energía microonda en: (1) altamente absorbentes ( $\tan \delta > 0.5$ ), (2) absorbentes medios ( $\tan \delta 0.1-0.5$ ) y (3) absorbentes pobres ( $\tan \delta < 0.1$ ).

**Tabla 2. 2** Constante dieléctrica, factor de pérdida dieléctrica y factor de disipación de varias sustancias a 25°C y 3 GHz.

Sustancia	$\epsilon'$	$\epsilon''$	$\tan \delta \times 10^4$
Hielo	3.2	0.00288	9
Agua	76.7	12.0419	1570
NaCl <sub>(ac.)</sub> 0.1 M	75.5	18.12	2400
NaCl <sub>(ac.)</sub> 0.5 M	67.0	41.875	6250
Propanol	3.7	2.479	6700
Etilenglicol	12.0	12	10000
Heptano	1.9	0.00019	1
CCl <sub>4</sub>	2.2	0.00088	4

Adaptado de (Crecente, 2009).

Conforme a lo anterior, se observa que el hielo prácticamente no sufre calentamiento por MO, pues es una sustancia cristalina y ordenada ( $\tan \delta \times 10^4 = 9$ ). Sin embargo, el agua se calienta rápidamente por MO, mediante el mecanismo de rotación de dipolos. Soluciones acuosas de NaCl (u otro electrolito) sufren los dos mecanismos de calentamiento, y se calientan de forma más rápida que el agua pura. La concentración de la disolución también es importante. Una mayor concentración de NaCl conlleva un mayor calentamiento. Otras sustancias polares como el etilenglicol y el propanol también son rápidamente calentadas por MO. El  $\text{CCl}_4$  posee un momento dipolar nulo y no se calienta mediante MO. El heptano tampoco, ya que es apolar. Sin embargo, no sólo se debe considerar la polaridad de la molécula, como se puede observar para el caso de 1-propanol, que aun teniendo una constante dieléctrica bastante menor que la del agua, es calentado más eficientemente por las MO. Esto se explica por la menor capacidad calorífica del 1-propanol ( $2.45 \text{ J/g}\cdot\text{K}$ ) con respecto al agua ( $4.18 \text{ J/g}\cdot\text{K}$ ) (Crecente, 2009).

De forma general, las sustancias polares absorben bien las MO (como el agua, acetonitrilo, etanol), mientras que sustancias menos polares (hidrocarburos alifáticos o aromáticos) o sustancias con momento dipolar nulo (como  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ) absorben débilmente las MO. Los materiales cristalinos altamente ordenados también se calientan escasamente mediante MO (debido a que hay muy poca o ninguna rotación de dipolos). Sustancias como el PTFE y el vidrio pyrex son transparentes a las MO. Los metales reflejan las MO (Crecente, 2009).

Un valor bajo de  $\tan \delta$  no excluye al disolvente de ser usado en una reacción realizada con MO. Si alguno de los reactivos o catalizadores son polares, las propiedades dieléctricas globales del medio de reacción permitirán, en la mayoría de los casos, suficiente calentamiento por MO. Además, se pueden añadir aditivos polares como líquidos iónicos a mezclas de reacción que absorban poco para incrementar el nivel de absorción del medio.

Las principales ventajas del empleo de calentamiento con MO frente al convencional son tres: (1) drástica reducción de los tiempos de reacción, (2) aumento del rendimiento y (3) diferencias en la selectividad. Estos efectos no se dan siempre a la vez. De hecho, la principal característica del calentamiento con MO respecto al calentamiento convencional es la reducción del tiempo de reacción (Crecente, 2009).

### 2.2.2.3 Efectos de MO

Desde los inicios de la síntesis con MO, los incrementos en la velocidad de reacción observados y, a veces, la distinta distribución de productos obtenidos comparados con los experimentos en baño de aceite, llevaron a la especulación de la existencia del llamado efecto microondas específico, o no-térmico. Así, tales efectos fueron propuestos cuando el resultado de una reacción por MO era distinto a los obtenidos con el calentamiento convencional a la misma temperatura.

Actualmente, muchos científicos coinciden en que una gran parte de los casos, la razón de observar incrementos en las velocidades de reacción se debe a efectos puramente térmicos/cinéticos, como consecuencia de las altas temperaturas de reacción que se alcanzan rápidamente cuando se irradian con MO sustancias polares. Así, un disolvente que absorbe altamente las MO, como el metanol ( $\tan \delta = 0.659$ ) puede ser rápidamente supercalentado a temperaturas de más de 100°C por encima de su punto de ebullición cuando es irradiado con MO en un recipiente cerrado. El incremento tan rápido en la temperatura puede ser más acusado para medios con factores de pérdida más extremos, como los líquidos iónicos, donde la temperatura puede alcanzar los 200°C en unos pocos segundos. Naturalmente, estos perfiles de temperatura son muy difíciles, sino imposibles, de reproducir con calentamiento convencional. Por lo tanto, las comparaciones entre los procesos de calentamiento convencional y MO son problemáticos de forma inherente.

Se han observado mejoras sustanciales en la velocidad de reacciones llevadas a cabo a temperatura ambiente o en condiciones estándares de calentamiento en baño de aceite (calentamiento a reflujo) cuando son sometidas a MO. Como Baghurst y Mingos señalaron, aplicando simplemente la ley de Arrhenius [ $k(T) = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$ ], una transformación que requiere 68 días en alcanzar el 90% de conversión a 27°C mostrará el mismo grado de conversión con 1.61 segundos cuando se lleve a cabo a 227°C. El calentamiento tan rápido y las temperaturas extremas observadas empleando MO pueden explicar que buena parte de los incrementos en las velocidades de reacción puedan explicarse simplemente por efectos térmicos/cinéticos (Crecente, 2009).

Además de los efectos térmicos/cinéticos, también se deben considerar los efectos provocados por los mecanismos únicos de calentamiento dieléctrico de las MO. Estos efectos deberían denominarse *efecto microondas específico* y podría definirse como aceleraciones que

no pueden lograrse o reproducirse con calentamiento convencional pero que esencialmente son también efectos térmicos. En esta categoría se encuadrarían, por ejemplo, el efecto de supercalentamiento de los disolventes a presión atmosférica, el calentamiento selectivo de, por ejemplo, reactivos o catalizadores heterogéneos altamente absorbentes de radiación MO en un medio de reacción menos polar, la formación de “radiadores moleculares” por acoplamiento directo de la energía MO con reactivos específicos en una disolución homogénea (puntos calientes microscópicos), y la eliminación de los efectos de pared causados por los gradientes de temperatura invertidos. Debería enfatizarse que los incrementos de velocidad que caen en esta categoría son esencialmente resultado de un efecto térmico (un cambio en la temperatura comparado con el calentamiento en sistemas convencionales), aunque puede ser difícil medir experimentalmente la temperatura exacta de la reacción.

Algunos autores han sugerido la posibilidad de un *efecto microondas no térmico*, que serían aceleraciones que no pueden explicarse por efectos microondas puramente térmico/cinético o el que acabamos de denominar específico. Los efectos no térmicos resultan de una interacción directa del campo eléctrico con moléculas específicas en el medio de reacción. Se ha propuesto que la presencia de un campo eléctrico conduce a una orientación de las moléculas dipolares y por tanto cambia el factor pre-exponencial A o la energía de activación (térmico entrópico) en la ecuación de Arrhenius. Un efecto similar debería observarse para mecanismos de reacción polares, donde la polaridad se incrementa desde el estado fundamental al estado excitado, resultando en un incremento en la reactividad al disminuir la energía de activación (Crecente, 2009).

#### **2.2.2.4 Diseño de reactores MO**

Las radiaciones MO se generan en tubos de electrones especiales llamados magnetrones.

Un magnetrón es una válvula de vacío en donde los electrones sometidos a un campo eléctrico y magnético describen órbitas circulares en cavidades metálicas, y esa circulación genera oscilaciones de alta frecuencia.

Otra parte importante de los equipos de microondas es la guía de ondas que es un dispositivo formado por un conducto de lámina de hierro que dirige las MO desde el magnetrón a la cavidad para irradiar la muestra. Las paredes del microondas son reflectoras, esta propiedad es necesaria para permitir incrementar la eficacia de radiación del horno, de tal forma que se consigue que al rebotar las MO en las paredes atraviesen la muestra más veces. Para evitar

dañar el magnetrón si se refleja demasiada energía, los microondas que se comercializan actualmente vienen equipados con un sistema automático de apagado (Crecente, 2009).

El compartimento donde los materiales se exponen a las MO se denomina cavidad, resonador, etc. Las cavidades son muy variables en tamaños y formas, dependiendo del fabricante y de la aplicación.

A pesar de la variedad de cavidades disponibles, hay dos tipos básicos: (1) monomodo y (2) multimodo (Tabla 2.3 y Figura 2.7).

- **Cavidades monomodo**

La principal característica es la creación de un patrón de onda estática; para ello las dimensiones de la cavidad deben ser cuidadosamente controladas para coincidir de forma sistemática con la longitud de onda de las MO.

- **Cavidades multimodo**

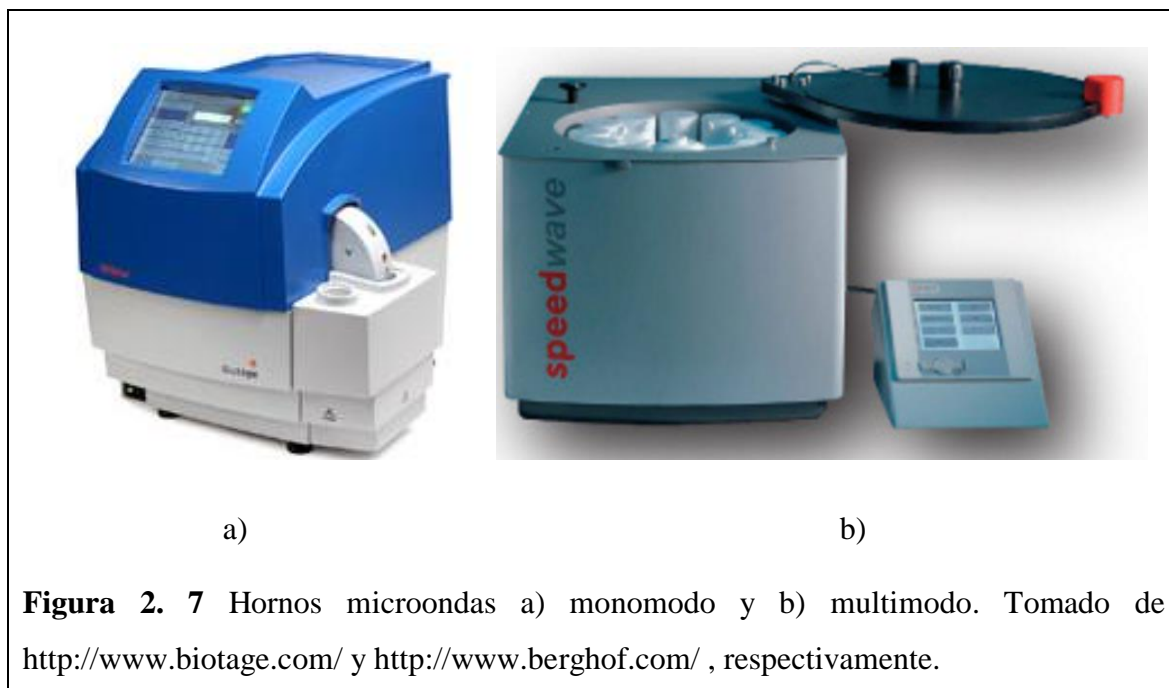
A diferencia de las cavidades monomodo, las multimodo evitan los patrones de onda estática dentro de la cavidad del microondas. En realidad se busca producir el mayor caos posible en el interior de la cavidad.

**Tabla 2. 3** Diferencias entre sistemas microondas con cavidades mono y multimodo.

<b>Cavidades monomodo</b>	<b>Cavidades multimodo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Controla la intensidad del campo eléctrico, el calentamiento de los materiales dentro de la cavidad también puede ser controlado.</li> <li>• Hay posiciones específicas dentro de la cavidad donde se deben colocar los recipientes para la irradiación.</li> <li>• Puede producir un calentamiento no adecuado de las muestras como consecuencia de la variación en la forma física de aquellas.</li> <li>• La presencia de un objeto en la cavidad puede desactivar el patrón de onda estática.</li> <li>• Los sistemas monomodo no son empleados en el escalado de procesos, aunque se pueden emplear en sistemas robotizados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Controla la velocidad de calentamiento mediante la regulación de la potencia irradiada, o mediante ciclos rápidos de encendido y apagado</li> <li>• Las muestras se pueden colocar en cualquier parte de la cavidad para la irradiación.</li> <li>• Al ser un campo homogéneo, la radiación y el calentamiento de las muestras no vendrá influenciado por el tamaño ni la forma de los objetos.</li> <li>• En la cavidad se puede colocar más de un objeto y la eficacia del proceso será la misma que si dentro de la cavidad solo hubiera uno.</li> <li>• Los sistemas multimodo permiten un fácil escalado de los procesos, para producir a niveles de planta piloto.</li> </ul>

Adaptado de (Crecente, 2009).





### 2.2.3 Conversión hidrotérmica

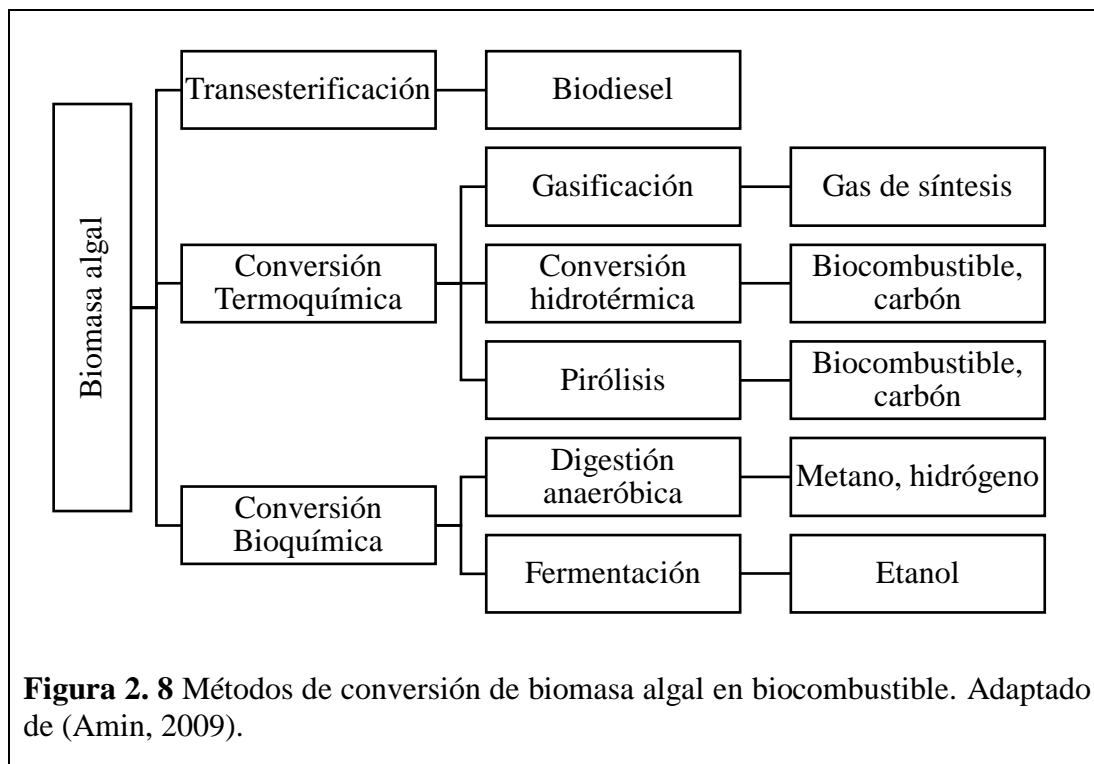
Los métodos para conversión de biomasa en productos químicos o combustibles son variados, estos dependen de la forma deseada del producto final.

A continuación se presentan métodos de conversión usados actualmente para la obtención de biocombustible a partir de biomasa algal (Figura 2.8).

Las conversiones hidrotérmicas (HT) se definen como reacciones termoquímicas en medio acuoso a altas temperaturas (por encima de 200°C) y altas presiones (lo suficientemente alta para mantener el agua en fase líquida o estado supercrítico).

Estas han ganado mucha atención en las últimas décadas debido a sus ventajas sobre otros métodos de conversión de biomasa, incluyendo el uso de agua como medio de reacción barato y ecológico con propiedades únicas, y la capacidad para utilizar biomasa húmeda heterogénea como materia prima (residuos, aguas residuales, lodos, etc.) sin deshidratación previa (secado) u otro proceso de tratamiento previo.

Además, las reacciones HT de materia prima de biomasa compleja ofrecen la posibilidad de producir productos versátiles, desde sólidos, líquidos hasta gases, a través de diferentes procesos HT (por ejemplo, la carbonización, licuefacción y gasificación).



La verdadera ventaja de los procesos HT radica en las propiedades únicas del agua subcrítica y supercrítica, significativamente diferentes en comparación con agua en condiciones ambientales (Pavlovic, Knez, & Skerget, 2013).

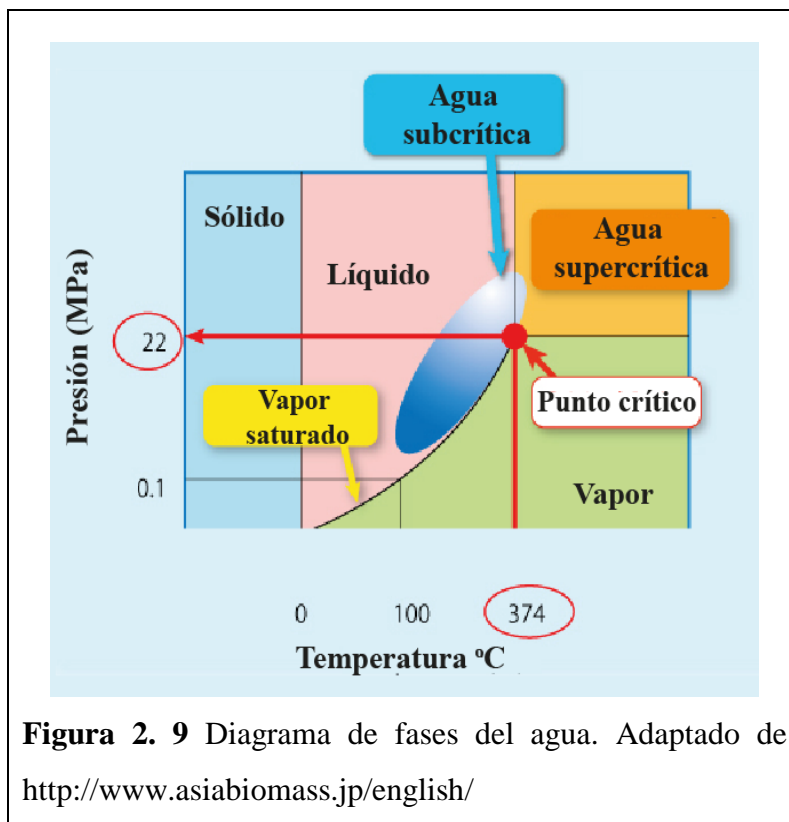
### 2.2.3.1 Agua subcrítica

El agua subcrítica es agua presurizada a temperaturas mayor a su punto de ebullición ( $T_e = 100^\circ\text{C}$ , presión ambiente y  $\rho = 999.97 \text{ kg/m}^3$ ) y menor a su punto crítico ( $T_c = 373^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 22.1 \text{ MPa}$  y  $\rho_c = 320 \text{ kg/m}^3$ ) (Figura 2.9). Dentro de una región cercana a las condiciones críticas, las propiedades del agua se vuelven más sensibles a los cambios de presión y temperatura.

Por encima del punto crítico, el agua se denomina agua supercrítica y sus propiedades varían entre el líquido y gas, sin ninguna fase de transición con los cambios de temperatura y presión (Toor, Rosendahl, & Rudolf, 2011).

Las propiedades más relevantes del agua subcrítica como medio de reacción son: miscibilidad, disminución de la constante dieléctrica, producto iónico, solvente con poder electrolítico, propiedades de transporte (viscosidad, coeficientes de difusión y de movilidad de iones), enlaces de hidrógeno, etc. Estas propiedades son fuertemente influenciadas por la temperatura y densidad del agua, debido a ello podrían ser manipulados como parámetros para

mejorar la selectividad de la reacción de los productos deseados (Pavlovic, Knez, & Skerget, 2013).



La disminución de la constantes dieléctrica por parte de la temperatura se debe a la reducción del número de enlaces de hidrógeno, por lo que el agua subcrítica es más similar a los disolventes de hidrocarburos. Por esta razón, la solubilidad de compuestos orgánicos hidrófobos y gases ligeros en el agua subcrítica se incrementa y por lo tanto se puede extraer y posteriormente separar fácilmente de la mezcla de reacción al enfriar. El producto iónico del agua subcrítica ( $K_{\text{agua}} = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$ ) aumenta con la temperatura y es mayor de 1 a 2 órdenes de magnitud que a temperaturas ambiente, por lo que el agua subcrítica tiene un papel importante en las reacciones de catálisis ácido - base (por ejemplo, hidrólisis de biomasa).

Además, las buenas propiedades de transporte (alto coeficiente de difusión y conductividad térmica, y baja viscosidad) hacen que el agua subcrítica sea más similar a un gas que a un líquido y permiten altas velocidades de reacción.

Todas estas propiedades del agua subcrítica generan un gran impacto en la descomposición de la biomasa, principalmente a través de reacciones de solvólisis, despolimerización, deshidratación, descarboxilación, desaminación y reordenamientos de fragmentos reactivos (Pavlovic, Knez, & Skerget, 2013).

La biomasa y el agua destacan como materias primas clave en la producción sostenible de combustibles y energía. El agua a ciertas condiciones (temperaturas por encima de ebullición y por debajo del punto crítico) se convierte en agua subcrítica, volviéndose un solvente verde, barato, no tóxico para la conversión de biomasa en valiosos productos químicos.

#### **2.2.4 Catálisis**

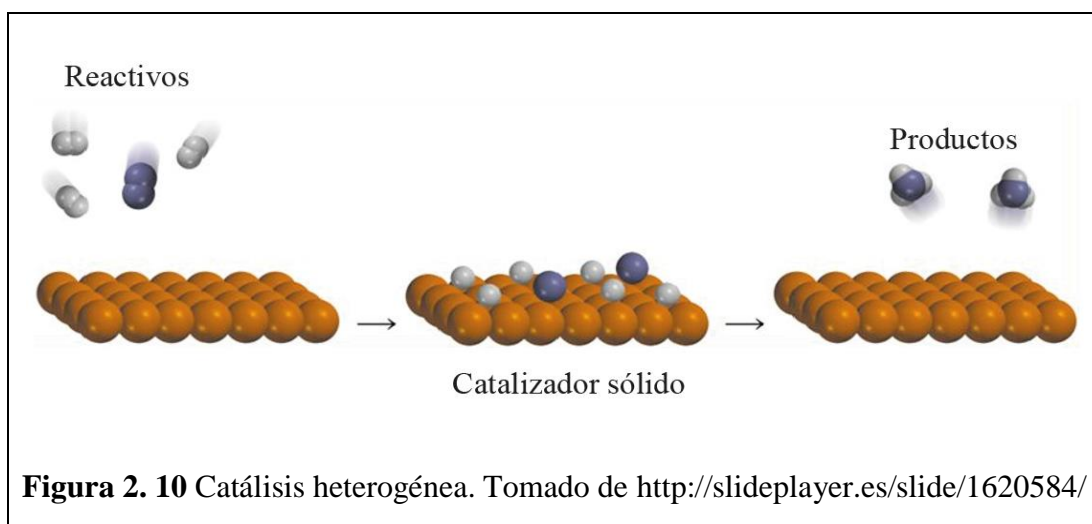
La catálisis es proceso a través del cual una sustancia llamada catalizador aumenta la velocidad de una reacción y puede recuperarse al final, sin sufrir modificación. Si una sustancia disminuye la velocidad de una reacción, se denomina inhibidor o catalizador negativo (Atkins & De Paula, 2006).

La velocidad de una reacción está determinada por las velocidades de las diversas reacciones que componen el mecanismo. La función general del catalizador consiste en suministrar un mecanismo adicional, por medio del cual los reactivos puedan transformarse en productos. Este mecanismo alterno tiene una energía de activación menor que la energía de activación del mecanismo en ausencia del catalizador, de manera que la reacción catalizada es más rápida (Castellan, 1987).

Según la fase en la que se encuentran los reactivos y el catalizador, la catálisis se clasifica en dos: (1) homogénea: tiene lugar cuando los reactivos y el catalizador se encuentran en la misma fase, ya sea sólida o líquida y (2) heterogénea: se produce cuando los reactivos y el catalizador se encuentran en la diferente fase, por ejemplo: líquido – sólido o sólido – gas.

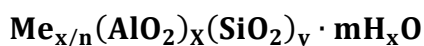
La catálisis heterogénea es un fenómeno interfacial en una interface sólido – líquido o sólido – gas, que implica la adsorción de uno de los reactivos en el catalizador sólido poroso. La mayoría de catalizadores heterogéneos actúan mediante un mecanismo en dos etapas, adsorbiéndose uno de los reactivos en los llamados sitios activos y posteriormente, desprendiéndose de dichos sitios el producto formado (House, 2007) (Figura 2.10).

Dentro de los catalizadores heterogéneos más usados destacan las zeolitas, en un gran campo de aplicación.

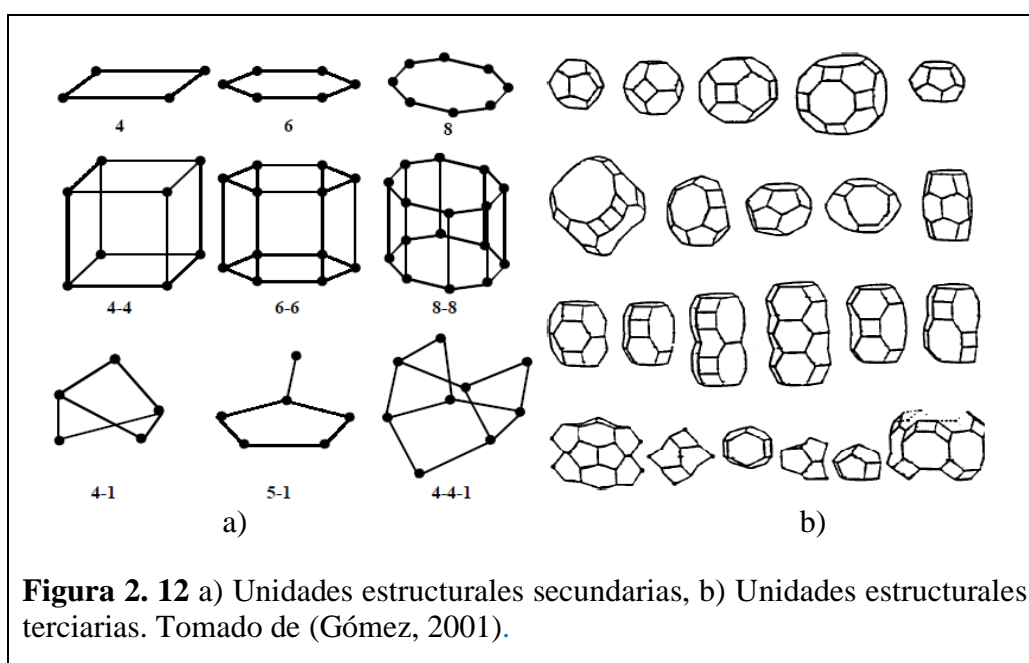
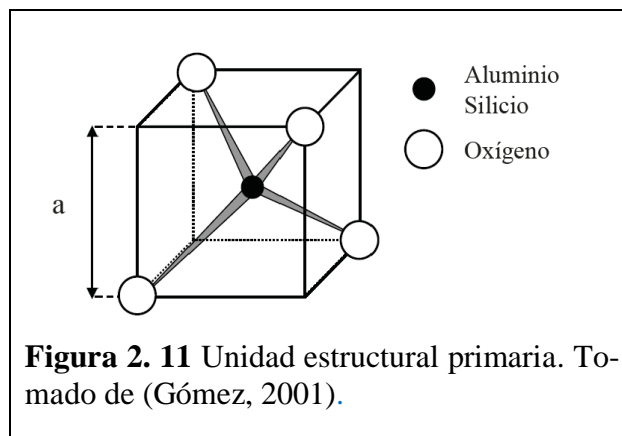


#### 2.2.4.1 Zeolitas

Las zeolitas son tamices moleculares microporosos cristalinos, compuestas de minerales aluminosilicatos cristalinos, su fórmula general es:



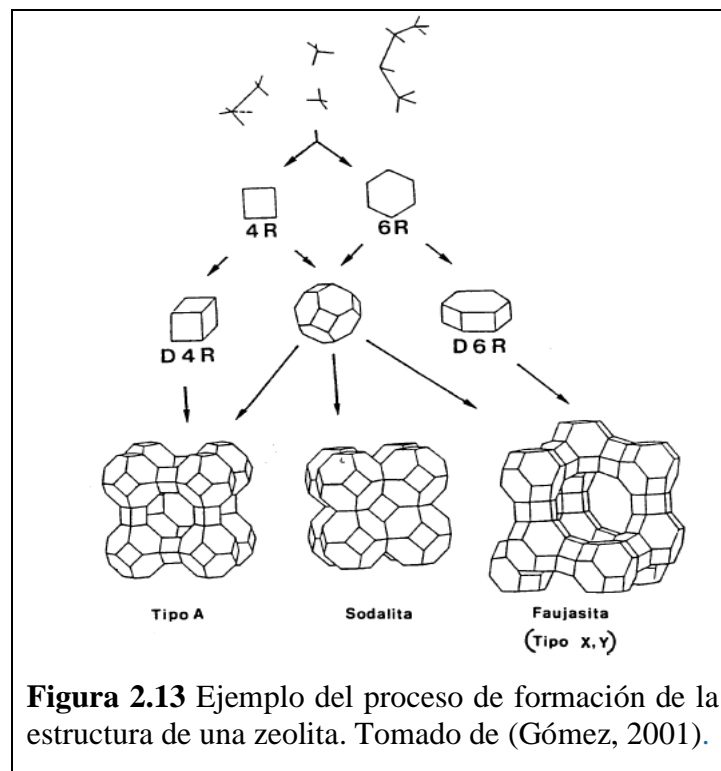
Donde x, m y n son números enteros correspondientes a la celdilla unidad y Me es un catión metálico de valencia n. La estructura tiene una relación de oxígeno a metal de 2, con tetraedros de composición neta  $[\text{SiO}_2]$  y  $[\text{AlO}_2]$  y una carga negativa igual al número de átomos de aluminio en posiciones estructurales. La estructura consiste en una red tridimensional de tetraedros  $\text{SiO}_4$  y  $\text{AlO}_4^-$ , con los átomos de silicio o aluminio en el centro y oxígenos en los vértices (Figura 2.11). Estos tetraedros (unidad fundamental) se enlazan por sus átomos de oxígeno originando estructuras poliédricas (poliedros simples) que constituyen estructuras secundarias (Figura 2.12 a). Posteriormente, estos poliedros se unen formando estructuras terciarias más o menos complejas (Figura 2.12 b). Las diferentes formas de coordinación de los tetraedros ( $\text{TO}_4$ , en el que T es  $\text{Si}^{4+}$ ,  $\text{Ge}^{4+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{B}^{3+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , etc.), así como la relación silicio/aluminio originan los distintos tipos de zeolitas (Figura 2.13). En este proceso, se van formando cavidades o canales de distinto tamaño, donde se alojan cationes y moléculas de agua, y que están conectados entre sí por medio de aberturas o poros de dimensiones constantes. Cada átomo de aluminio que sustituye isomórficamente a uno de silicio proporciona una carga negativa, la cual se neutraliza con las cargas positivas que aportan los cationes (Gómez, 2001).



En las zeolitas los tetraedros  $TO_4$ , en el que T es  $Si^{4+}$ ,  $Ge^{4+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $B^{3+}$ ,  $Ga^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ , etc., se organizan de tal manera que generan microporos (diámetros menores de 2 nm) con dimensiones uniformes (Corma, 2011).

### Propiedades y aplicaciones de las zeolitas

Las aplicaciones industriales de las zeolitas son consecuencia de sus propiedades físico-químicas. Muchas de estas propiedades resultan tan ventajosas que han motivado la sustitución de otros productos convencionales por zeolitas en numerosos procesos industriales. De estas propiedades, podemos distinguir como más importantes la adsorción, el intercambio iónico y la actividad catalítica.



## Adsorción

Es la característica común de las zeolitas que al ser calentadas a vacío o en corriente de gas ( $N_2$ , He, aire) pierden el agua de hidratación que alojan en sus cavidades, sin que se modifique su estructura. En este estado de deshidratación, y dada la gran superficie interna creada ( $300\text{-}800\text{ m}^2/\text{g}$ ), las zeolitas presentan una gran capacidad para la adsorción selectiva de cualquier molécula que pueda penetrar en sus cavidades (Gómez, 2001).

## Intercambio iónico

La capacidad de las zeolitas para intercambiar sus cationes hace de estas un medio excelente para estudiar los fenómenos de intercambio iónico, pero su importancia radica en que pueden modificar sus propiedades de adsorción (variando el tamaño de poro o la fuerza de interacción con los adsorbatos) y sus propiedades catalíticas.

La mayor o menor capacidad de intercambio de una zeolita depende fundamentalmente de la mayor o menor proporción de aluminio en su estructura, mostrando cada tipo de zeolita una selectividad diferente hacia determinados cationes.

La capacidad de intercambio va a depender de:

- Naturaleza, tamaño (tanto anhidro como hidratado) y carga del catión.
- Temperatura a la cual se realiza el intercambio.
- Concentración de las especies catiónicas en disolución.
- Especies aniónicas asociadas con las catiónicas en disolución.
- Naturaleza del disolvente (acuoso u orgánico).
- Características estructurales de cada zeolita en particular.

La posibilidad de las zeolitas de actuar como tamiz iónico ha encontrado sus aplicaciones en operaciones de separación de cationes por intercambio iónico, sustituyendo a los intercambiadores convencionales de tipo orgánico y resinas cambiadoras. Sin embargo, aunque tienen la ventaja de poseer mayor capacidad de intercambio, presentan el inconveniente de ser inestables en medios fuertemente ácidos o básicos. Por ello, se aplican principalmente en procesos tales como la desalinización del agua, formulación de detergentes, eliminación de residuos radiactivos, preparación de abonos de acción retardada, etc., aunque la capacidad de intercambio iónico de las zeolitas se ha utilizado fundamentalmente en la preparación de catalizadores específicos (Gómez, 2001).

### **Actividad catalítica**

Las zeolitas son los catalizadores más utilizados a nivel mundial. Han recibido una atención especial debido a sus propiedades (estructura microporosa, composición química muy variada y facilidad de intercambio de los cationes compensadores de carga) lo que hace de ellas un grupo de materiales muy extensamente usados en procesos catalíticos como la conversión de hidrocarburos (alquilación, craqueo, hidrocraqueo, isomerización, hidrodeshidrogenación, reformado selectivo, deshidratación, conversión de metanol a gasolina); reacciones inorgánicas de oxidación de  $\text{H}_2\text{S}$ , oxidación de monóxido de carbono (CO), disociación de agua; y en reacciones de química orgánica para la obtención de intermedios y productos de elevado poder añadido.

Los factores que influyen en la actividad catalítica de las zeolitas son:

- La estructura de la zeolita, determinada por la forma y tamaño de sus poros.
- El tipo, tamaño y carga del catión de la red.
- La localización de los cationes en la zeolita y el grado de intercambio.



- La relación silicio/aluminio, que puede afectar a la actividad y selectividad.
- La cantidad de protones donadores presentes en la estructura.
- La presencia de elementos metálicos activados en estado de dispersión.

Una ventaja que presentan las zeolitas, en su uso como catalizadores heterogéneos, es que al generar centros activos en los tamices moleculares, además de la selectividad debida a la fuerza de los centros, existe una selectividad de forma. Esta consiste en que el tamaño y la forma de los reactivos, los intermedios de reacción y los productos debe coincidir con la estructura de la zeolita.

La actividad catalítica es la propiedad más sobresaliente de las zeolitas en la actualidad, sobre todo si se tiene en cuenta que estas representan más del 95% de los catalizadores utilizados en la industria petroquímica (Gómez, 2001).

#### **2.2.4.2 Activación de la zeolita**

La activación de una zeolita tiene la función de liberar los espacios dentro de sus cavidades al intercambiar los cationes (Na, Ca, K y Mg) que posee de forma natural por otros de menor tamaño, en consecuencia permite controlar el tamaño y la distribución de los poros en la estructura de las zeolitas (Mendoza, Flores, Flores, Vidal, & Paz, 2014). La activación puede realizarse en medio ácido o básico, según su aplicación.

- **Activación en medio ácido**

En este proceso se trata a la zeolita con ácidos inorgánicos, tales como  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{HNO}_3$ , logrando remover iones octaédricos, principalmente  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Na}^+$ , y algunos iones tetraédricos que estén sustituidos. La remoción de los iones depende de la temperatura, la fuerza del ácido usado y principalmente de la relación en masa ácido/zeolita. El ácido ataca tanto al mineral como las impurezas asociadas con la zeolita en su estado original, provocando cambios químicos en su estructura que trae como consecuencia la disminución de la capacidad de intercambio catiónico, aumento del área superficial, volumen de poro y promueve la acidez de superficie (Núñez, 2009).

- **Activación en medio básico**

En este proceso se trata a la zeolita con sales inorgánicas como  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  o  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , logrando el intercambio iónico entre los cationes (Na, Ca, K, Mg) de la zeolita con el ión  $\text{NH}_4^+$ , el

cación  $\text{NH}_4^+$  se descompone en  $\text{NH}_3$  y el ion  $\text{H}^+$ . El  $\text{NH}_3$  se evapora para dar lugar a la zeolita con  $\text{H}^+$  y así producir el intercambio de los cationes por el  $\text{H}^+$  (Mendoza, Flores, Flores, Vidal, & Paz, 2014).

La activación térmica de zeolitas con amonio se utiliza ampliamente para producir catalizadores ácidos. Los materiales obtenidos de este modo, sin embargo, rara vez consisten en zeolitas protónicas puras. De hecho, además de la descomposición de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NH}_3$  y  $\text{H}^+$ , el tratamiento puede inducir a algunas deshidroxilaciones y desaluminaciones de la estructura, en la medida de que depende de las condiciones experimentales (temperatura, atmósfera de purga, el tiempo, la geometría del lecho de catalizador). En algunos casos, la desaluminación parcial tiene un efecto beneficioso sobre las propiedades del catalizador. Para los sistemas Y y ZSM-5, por ejemplo, se ha demostrado que mejoraba para varias transformaciones de hidrocarburos.

Por otro lado, las estabilidades térmicas e hidrotermales pueden mejorarse significativamente por desaluminación. La naturaleza de los sólidos resultantes es mucho más compleja que la de las zeolitas sin tratar. Las zeolitas desaluminadas parcialmente constituyen los catalizadores reales. Sus propiedades catalíticas han sido evaluadas para el craqueo e hidrocrqueo de gasóleo, alquilación e isomerización de aromáticos, e hidratación de alquenos (Pascale, Chauvin, Fajula, & Figueras, 1988).

#### **2.2.4.3 Desaluminización y zeolitas ácidas.**

El  $\text{H}^+$  es móvil dentro de la estructura en una zeolita común. Los sitios activos donadores de protones más fuertes (sitios ácidos) se presentan en zeolitas con las concentraciones más bajas de tetraedros  $\text{AlO}_4$ , tales como HZSM-5 y HY llamadas zeolitas superácidas, capaces de protonar incluso parafinas a altas temperaturas (Jurado, 2004).

La preparación y el uso de los catalizadores sólidos fuertemente ácidos es, actualmente, un área activa del desarrollo para una gran cantidad de procesos, tales como la isomerización, cracking, hidrogenación de hidrocarburos, hidratación, alquilación, nitración, condensación, eterificación, esterificación, entre otros; aunque su uso es aún limitado. En el desarrollo de un catalizador sólido de carácter ácido se concluye la posibilidad de utilizar este tipo de materiales en reacciones tradicionalmente llevadas a cabo por catalizadores líquidos (Jurado, 2004).

La acidez de las zeolitas juega un papel importante en su desempeño como materiales catalíticos y como sorbentes. Por otro lado, la relación Si/Al describe la densidad de sitios ácidos, dando información de la naturaleza del Al en estos sitios, por ejemplo, como especies dentro de la red o extra red, y la distribución de las cargas. La naturaleza y distribución de las cargas puede variar significativamente con el contenido de aluminio y el método de desaluminización (Jurado, 2004) .

En la desaluminización de zeolitas siguiendo la secuencia de pasos: intercambio iónico y calcinación, los átomos de aluminio dentro de la estructura porosa se mantienen virtualmente intactos. En el proceso se recomienda el reflujo para la desaluminización y de igual manera una sal de amonio para la forma protonada final. También en la producción de compuestos aromáticos alquílicos se usan catalizadores desaluminizados (Jurado, 2004).

La zeolita desaluminizada presenta mayor selectividad en reacciones que involucran transformación de derivados del petróleo y del tipo Friedels-Kraft. Aunque las propiedades que confieren el carácter general a una zeolita están bien determinadas, algunas de ellas como la acidez y morfología pueden variar dentro de ciertos límites. Factores tan importantes como la relación Si/Al y la naturaleza del átomo central de los grupos  $TO_4$  (o del catión que compensa la carga negativa de la red cristalina), pueden ser controlados o modificados a través de la síntesis o por transformaciones posteriores realizadas sobre el material (Jurado, 2004).

### **2.2.5 Biocombustibles**

La creciente demanda energética, la disminución de los recursos para la obtención de combustibles fósiles y gran contaminación que estos generan hacen urgente e imprescindible la búsqueda de fuentes de energías limpias y sostenibles, encontrándose con los llamados biocombustibles.

Los biocombustibles son sustancias sólidas, líquidas o gaseosas capaces de liberar energía cuando se oxidan desprendiendo calor, se obtienen principalmente de materias primas renovables. La mayor diferencia entre los biocombustibles y las materias primas del petróleo, es el contenido de oxígeno. Los biocombustibles son no contaminantes, ampliamente disponibles, accesibles y sostenibles. Los biocombustibles poseen más beneficios que los combustibles del origen fósil (Tabla 2.4).

**Tabla 2. 4** Principales beneficios de los biocombustibles

Aspectos	Beneficios
Impactos económicos	Sostenibilidad
	Diversidad de combustibles
	Incremento del empleos de manufactura rural
	Desarrollo agrícola
	Competitividad internacional
Impactos ambientales	Reducción de la dependencia al petróleo importado
	Reducción de gases de efecto invernadero
	Reducción de la polución en el aire
	Biodegradabilidad
	Alta eficiencia de combustión
	Mejora de la tierra y el uso del agua
Seguridad energética	Secuestro de carbono
	Objetivos nacionales
	Fiabilidad del suministro
	Reducción del uso de combustibles fósiles
	Disponibilidad inmediata
	Distribución doméstica
	Renovabilidad

Tomado y adaptado de (Demirbas & Demirbas, 2010).

#### 2.2.5.1 Clasificación de los biocombustibles

Los biocombustibles se pueden clasificar según sus tecnologías de producción: biocombustibles de primera (BPGs), segunda (BSGs), tercera (BTG) y cuarta generación (Tabla 2.5) (Demirbas & Demirbas, 2010).

**Tabla 2. 5** Clasificación de los biocombustibles renovables basadas en sus tecnologías de producción

Generación	Materia prima	Ejemplo
<b>Primera</b>	Azúcar, almidón, aceite vegetal, grasas animales.	Bioalcoholes, aceite vegetal, biodiesel, biogás de síntesis, biogás.
<b>Segunda</b>	Cultivos no alimenticios, paja de trigo, maíz, madera, basura sólida, cultivos energéticos.	Bioalcoholes, bio-aceites, bio-DMF, biohidrógeno, biodiésel Fischer-Tropsch, diésel de madera.
<b>Tercera</b>	Algas.	Aceite vegetal, biodiesel.
<b>Cuarta</b>	Aceite vegetal, biodiésel.	Biogasolina.

Tomado y adaptado de (Demirbas & Demirbas, 2010)

#### 2.2.5.2 Métodos de obtención de los biocombustibles

Muchos artículos describen las ventajas de usar microalgas para la producción de biocombustibles en comparación con otras materias primas, entre ellas están la facilidad de cultivo y reproducción, el corto tiempo de crecimiento y que se adaptan en una variedad de condiciones ambientales.

Los procesos de conversión de las microalgas en biocombustibles pueden ser clasificados en bioquímicos y termoquímicos. Los procesos de conversión bioquímicos incluyen la transesterificación y la fermentación, que producen biodiesel y etanol como los principales productos, respectivamente; mientras que los procesos termoquímicos contienen a la pirólisis, la gasificación, la hidrogenación y la licuefacción. Los procesos de pirólisis y licuefacción producen biocombustible líquido como producto principal, mientras que la gasificación produce gas de síntesis e hidrogenación, un proceso para mejorar las propiedades de biocarburante o materias primas (Demirbas, 2011).

### **2.2.6 Cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (GC-MS)**

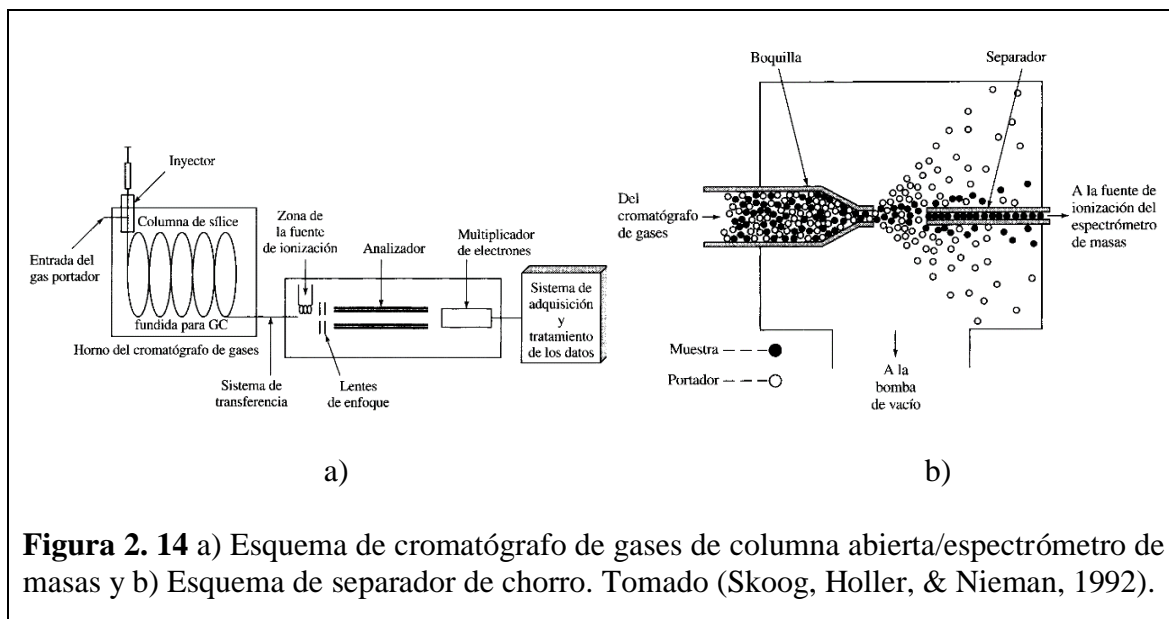
La cromatografía es un método físico de separación e identificación de sustancias químicas en mezclas complejas. Se basa en las diferencias de las conductas partitivas de una fase móvil y de una fase estacionaria para separar los componentes en una mezcla.

Su clasificación es amplia, siendo la cromatografía de gases una de las más destacadas por sus aplicaciones; ampliamente usada para análisis cuantitativos y cualitativos de mezclas, entre otras.

En la cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, a diferencia de la mayoría de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, su única función es la de transportar el analito a través de la columna (Figura 2.14).

La GC de gases a menudo se combina con otras técnicas selectivas como la espectroscopia, resultando un método acoplado que proporciona una potente herramienta para la identificación de los componentes de una mezcla compleja (Skoog, Holler, & Nieman, 1992).

La espectrometría de masas (MS) utiliza el movimiento de iones en campos eléctricos y magnéticos para clasificarlos de acuerdo a su relación masa carga. De esta manera la espectrometría de masas es una técnica analítica por medio de la cual las sustancias químicas se identifican separando los iones gaseosos en campos eléctricos y magnéticos. La MS brinda información cualitativa y cuantitativa acerca de la composición atómica y molecular de materiales inorgánicos y orgánicos.



**Figura 2. 14** a) Esquema de cromatógrafo de gases de columna abierta/espectrómetro de masas y b) Esquema de separador de chorro. Tomado (Skoog, Holler, & Nieman, 1992).

### 2.2.7 Difracción de rayos X

Es un método físico empleado en el análisis de materiales, basado en el fenómeno de la difracción de los rayos X por sólidos en estado cristalino.

Al igual que con otros tipos de radiación electromagnética, la interacción entre el haz de rayos X y los electrones que rodean a los átomos del cristal que atraviesa, dan lugar a una dispersión. Cuando los rayos X son dispersados por el entorno ordenado del cristal, tienen lugar a interferencias (constructivas como destructivas) entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación, resultando así la difracción.

Cuando un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal formando un ángulo  $\theta$ , una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde, de nuevo una fracción es dispersada y la que queda pasa a la tercera capa (Figura 2.16). El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz. Los requisitos para la difracción de rayos X son: (1) que el espaciado entre las capas de átomos se aproxime al mismo que la longitud de onda de la radiación y (2) que los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de una manera muy regular.

En la difracción de rayos X por cristales, un haz estrecho de radiación choca contra la superficie del cristal formando un ángulo  $\theta$ ; la dispersión tiene lugar como consecuencia de la interacción de la radiación con los átomos localizados en O, P y R. Si la distancia

$$AP + PC = n\lambda$$

donde  $n$  es un número entero, la radiación dispersada estará en fase en OCD y el cristal parecerá reflejar la radiación X. Pero

$$AP = PC = d \sin \theta$$

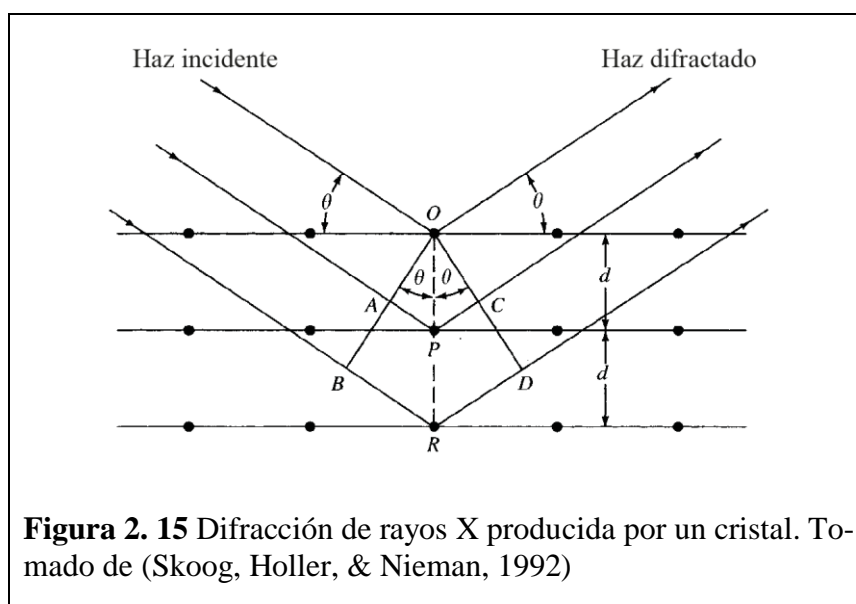
donde  $d$  es la distancia interplanar del cristal. Así, se puede escribir que las condiciones para que tenga lugar una interferencia constructiva del haz que forma un ángulo  $\theta$  con la superficie del cristal son:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

La anterior expresión es conocida como la ecuación de Bragg. Los rayos X son reflejados por el cristal sólo si el ángulo de incidencia satisface la condición:

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

Para todos los demás ángulos, tienen lugar a interferencias destructivas (Skoog, Holler, & Nieman, 1992).



## **2.3 Fundamento legal**

- Constitución Nacional del Ecuador, 2008.

### **Naturaleza y ambiente**

**Art. 395.-** La Constitución reconoce los siguientes principios ambientales:

1. El Estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas, y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presentes y futuras.
2. Las políticas de gestión ambiental se aplicarán de manera transversal y serán de obligatorio cumplimiento por parte del Estado en todos sus niveles y por todas las personas naturales o jurídicas en el territorio nacional.
3. El Estado garantizará la participación activa y permanente de las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades afectadas, en la planificación, ejecución y control de toda actividad que genere impactos ambientales.
4. En caso de duda sobre el alcance de las disposiciones legales en materia ambiental, éstas se aplicarán en el sentido más favorable a la protección de la naturaleza.

### **Derechos del buen vivir**

**Art. 15.** “Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.”

### **Biosfera, ecología urbana y energías alternativas**

**Art. 413.** “El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua.”



**Art. 414.** “El Estado adoptará medidas adecuadas y transversales para la mitigación del cambio climático, mediante la limitación de las emisiones de gases de efecto invernadero, de la deforestación y de la contaminación atmosférica; tomará medidas para la conservación de los bosques y la vegetación, y protegerá a la población en riesgo.”

- Plan Nacional del Buen Vivir 2009-2013, Anexo 1, Objetivo 4, Política 4.3.

Diversificar la matriz energética nacional, promoviendo la eficiencia y una mayor participación de energías renovables sostenibles.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1 Tipo de investigación**

La investigación realizada fue de tipo exploratoria, la cual busca indagar sobre un tema poco explorado o que no ha sido abordado, con el objetivo de obtener un conocimiento respecto a la materia objeto de investigación.

Este tipo de investigación requiere de suficiente información teórica y empírica que permita la formulación precisa de problemas y sus prioridades en futuras investigaciones; así como el desarrollo de teorías e hipótesis, con la finalidad de proporcionar una visión específica o general de una determinada realidad.

En general, se tratan temas poco abordados, con pocas nociones o ningunas hipótesis anticipadas, y por eso se comienza con incursiones ligeras para dar el primer paso e intentar puntualizar una investigación.

El proceso de definición del problema se inicia considerando los trabajos publicados, el conocimiento preliminar que tiene el investigador, la información no escrita que puedan relatar las personas a partir de sus experiencias y los avances predominantes que el tema ha tenido en un lapso determinado. De esta manera, el investigador, logra obtener conocimientos sobre el tema, alcanzar una investigación más precisa sobre un problema poco estudiado, aclarar conceptos y posibilitar la creación de instrumentos (Landeau, 2005).

#### **3.2 Población y muestra**

La población usada en la presente investigación fue un conjunto de microalgas que se encuentran en los alrededores de la Isla Greenwich, en la Antártida, en las inmediaciones de la Estación Científica Ecuatoriana Pedro Vicente Maldonado (Figura 3.1). Las muestras empleadas corresponden a los consorcios 13IGa1 y 13IGa2 recolectados en febrero del 2013, durante la XVI Expedición Ecuatoriana a la Antártida. Los puntos de muestreo georreferenciados por GPS se muestra en la Tabla 3.1.



**Figura 3. 1** Sitios de muestreo de las microalgas en la Isla Greenwich, Antártida. Tomado de Google Earth.

**Tabla 3. 1** Muestras de microalgas y puntos de muestreo

Nombre de la muestra	Ambiente	Puntos de muestreo (UTM)
13IGa1	Nieve	21E 0359236 3073246
13IGa2	Nieve	21E 0359236 3073246

El significado de los códigos de las muestras es: los dos primeros dígitos hacen referencia al año de recolección 2013, las dos iniciales siguientes indican el lugar de recolección: Isla Greenwich (IG), la letra minúscula a continuación, indica el sector donde fue tomada la muestra y el dígito al final es el número de la réplica.

### 3.3 Diseño experimental

El diseño experimental escogido para la investigación fue un diseño factorial completamente al azar de tres variables con dos y tres niveles, y tres repeticiones por tratamiento (Tabla 3.2).

**Tabla 3. 2** Valores de los niveles para cada factor del diseño

Factor	Niveles
Relación microalga: agua destilada (g:g)	1:10 y 1:30
Catalizador zeolita (g)	0 y 0.25
Tiempo de conversión (min)	30, 60 y 120

#### **Variables independientes**

- Relación de gramos de microalgas: gramos de agua destilada
- Masa de catalizador (zeolita activada)
- Tiempo de conversión con irradiación de microondas

#### **Variable dependiente**

- Porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible.

### **3.4 Materiales y métodos**

#### **3.4.1 Métodos**

##### **3.4.1.1 Obtención de la muestra**

La muestra empleada corresponde a la mezcla de los consorcios de 13IGa1 y 13IGa2. Después de la toma de las muestras en la Antártida se identificaron los diferentes géneros que forman parte del consorcio. Los dos consorcios se encuentran constituidos por microalgas pertenecientes al género *Chlorella*, posterior a su identificación se realizó el proceso de aislamiento, mediante la técnica de siembra en caja Petri. Con los microorganismos aislados, se inició el proceso de masificación en medio de cultivo M1, desarrollado en el laboratorio, para obtener un volumen final de 6 L por cada reactor de producción. A partir de la masificación se realizó la cosecha, empleado sulfato de aluminio como floculante, la biomasa obtenida se secó 50°C en estufa eléctrica (Molina, 2014).

##### **3.4.1.2 Tratamiento previo de la muestra**

La biomasa seca de microalgas *Chlorella* se molió y pulverizó, hasta un tamaño de partícula uniforme, con la ayuda de una licuadora eléctrica y se conservó en refrigeración, en un frasco ámbar hasta su posterior utilización.

#### **3.4.1.3 Método para determinar humedad**

Se determinó el contenido de humedad de la biomasa en una estufa a 105°C (Método AOAC 935.29). Se pesó en un crisol previamente tarado 1 g de muestra de biomasa de microalgas *Chlorella*, se introdujo en la estufa y se mantuvo en ella hasta peso constante, posteriormente se transfirió el crisol al desecador y se pesó. El proceso se realizó por triplicado.

#### **3.4.1.4 Método para determinar cenizas**

Se determinó el contenido de cenizas por calcinación en una mufla a 550°C (Método AOAC 920.153). Se pesó en un crisol previamente tarado 1 g de muestra de biomasa de microalgas *Chlorella*, se calcinó durante dos horas en la mufla hasta presencia de cenizas blancas, se pre-enfrió en la mufla apagada, posteriormente se transfirió el crisol al desecador y se pesó. El proceso se realizó por triplicado.

#### **3.4.1.5 Método para determinar lípidos**

Se pesó 2 g de muestra de biomasa de microalgas *Chlorella* seca y se colocó en un dedal de papel filtro, y este a su vez en la cámara del equipo Söxhlet. Posteriormente se armó el equipo para extracción Söxhlet y se añadió 200 mL de hexano en la cámara. A continuación el sistema fue sometido a calentamiento. Desde que empezó la primera condensación y reflujo se esperó 4 horas. Luego se destiló el exceso de solvente dejando aproximadamente 50 mL en el balón. Se enfrió y evaporó el solvente en cajas Petri previamente taradas (Salas, 2015). El proceso se realizó por triplicado.

#### **3.4.1.6 Activación de la zeolita**

Se pesó 6 g de zeolita natural previamente micronizada en un molino de bolas Retsch MM400 (finura final ~ 5µm) y se colocó en un matraz erlenmeyer que contenía 500 mL de nitrato de amonio 1 mol/L. Se tapó el sistema y se sometió a agitación magnética constante durante 16 h. Luego se filtró y se lavó el sólido con varias porciones de agua destilada. Finalmente, el sólido se calcinó a 500°C por 4 h (Núñez, 2009). El proceso se realizó por triplicado y los productos fueron mezclados para obtener cantidad suficiente de catalizador.

#### **3.4.1.7 Caracterización de la zeolita**

Las muestras de zeolita natural activada y no activada se caracterizaron mediante análisis de difracción de rayos X según manual del equipo.

La determinación de los compuestos con cristalización definida presente en las muestras se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Diffrac plus (EVA y TOPAS) para la cualificación y cuantificación. El límite de detección del equipo es del 1%.

Para determinar el tamaño de partícula, se preparó una placa con partículas de zeolita natural activada y mediante el uso del microscopio óptico AmScope B120C, adaptado a una cámara digital AmScope MU 1400 y el programa AmScope 3.7 se capturaron imágenes de las partículas de la zeolita natural activada. El software permitió medir los diámetros de las partículas observadas con un aumento de 40X.

Se tomaron alrededor de 60 mediciones y se definió el tamaño de partícula a través de un histograma.

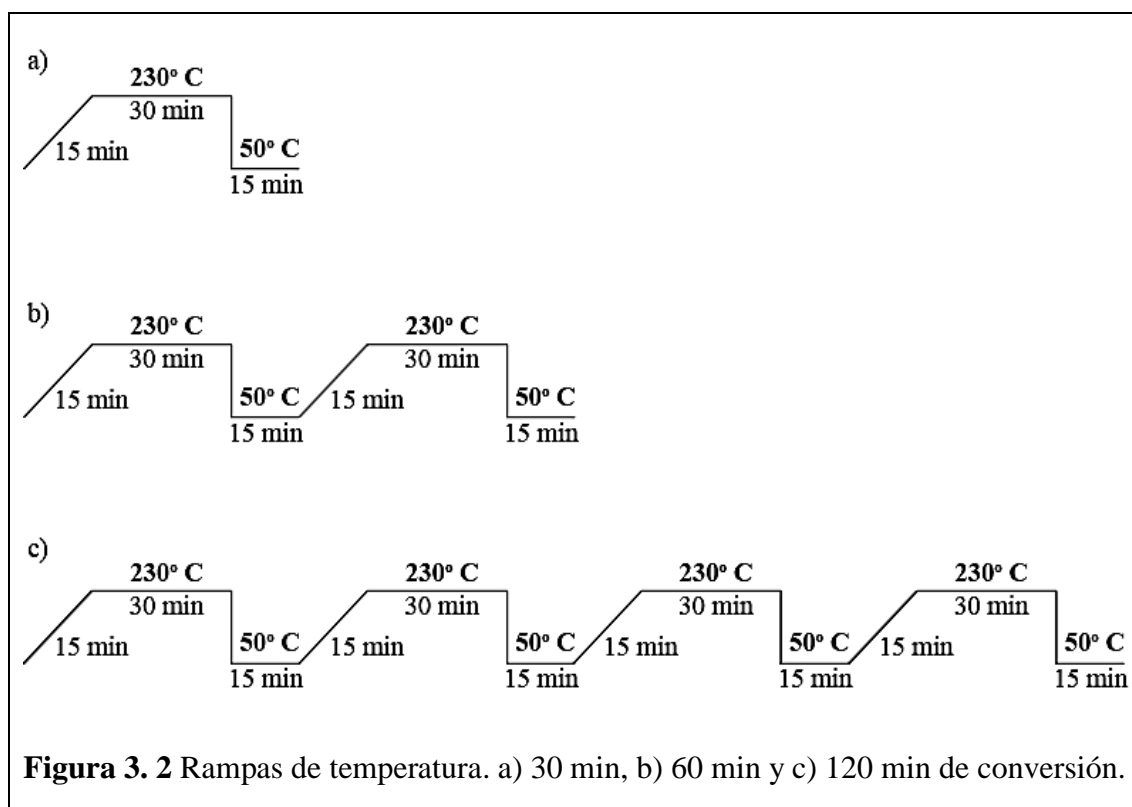
La determinación de los compuestos con cristalización definida presente en las muestras se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Diffrac plus (EVA y TOPAS) para la cualificación y cuantificación. El límite de detección del equipo es del 1%.

#### **3.4.1.8 Conversión hidrotérmica asistida por microondas de microalgas *Chlorella***

Se pesó 1 g de biomasa de microalga *Chlorella*, 0.25 g de catalizador (Biller, Riley, & Ross, 2011) y 10 g o 30 g de agua destilada en el vaso de teflón (reactor del microondas), según los diferentes tratamientos (Tabla 3.3). Para homogenizar la mezcla, se agitó magnéticamente durante 1 min, posteriormente se tapó herméticamente, y se introdujo en el equipo para iniciar la irradiación de microondas de acuerdo a parámetros establecidos según los tratamientos a realizar.

La conversión se llevó a cabo a 230°C y con una potencia de 80 %, en todos los tratamientos, en periodos de 30 minutos para no sobrecalentar el equipo, según el manual del instrumento (Figura 3.2). La presión autógena generada por el sistema para 10 g y 30 g de agua fue, aproximadamente, 30 bares, esta se determinó mediante la interpolación en un esquema de un sistema hidrotermal presión, temperatura y volumen de llenado (Quintero, 2012).

Después de la irradiación de microondas, el reactor se enfrió a temperatura ambiente durante 1 h en la campana de gases, seguido de ello, 15 min en el refrigerador a aproximadamente 2°C. En la mezcla de reacción enfriada se agregó 20 mL de agua destilada y 20 mL de diclorometano, se cerró nuevamente el sistema y se lo dejó en reposo durante 15 min (Biller & Ross, 2011).



A continuación, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación, donde permaneció alrededor de 40 min, durante ese tiempo se realizaron varias agitaciones con liberación de presión. Fue visible la formación de tres fases: acuosa, sólida y orgánica. La fase orgánica se transfirió del embudo de separación a un vial de 50 mL y se refrigeró, aproximadamente, a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se concentró con la ayuda de un equipo rotavapor IKA HB 10 acoplado al controlador IKA RV 10, en modo automático, en el cual solo se selecciona en la librería electrónica el solvente a separar ( $60^{\circ}\text{C}$  y 1013 mBar). Para la concentración del producto, los balones usados fueron previamente tarados, después de concentrar el producto, se colocaron en el desecador hasta peso constante. La masa del producto concentrado se obtuvo por diferencia de masas. El producto fue disuelto en 2 mL de diclorometano. Finalmente, la muestra se transvasó a un vial de 1.5 mL y se conservó en refrigeración, aproximadamente, a  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta su posterior análisis. Las fases sólida y acuosa no fueron consideradas, ya que se consideró que los productos de interés se extrajeron con el diclorometano.

**Tabla 3. 3** Tabla de tratamientos

Tiempo de conversión (min)	Catalizador (g)	Microalgas (g):agua destilada (g)					
		1:10			1:30		
30	0	T1 <sub>1</sub>	T1 <sub>2</sub>	T1 <sub>3</sub>	T3 <sub>1</sub>	T3 <sub>2</sub>	T3 <sub>3</sub>
	0.25	T2 <sub>1</sub>	T2 <sub>2</sub>	T2 <sub>3</sub>	T4 <sub>1</sub>	T4 <sub>2</sub>	T4 <sub>3</sub>
60	0	T5 <sub>1</sub>	T5 <sub>2</sub>	T5 <sub>3</sub>	T7 <sub>1</sub>	T7 <sub>2</sub>	T7 <sub>3</sub>
	0.25	T6 <sub>1</sub>	T6 <sub>2</sub>	T6 <sub>3</sub>	T8 <sub>1</sub>	T8 <sub>2</sub>	T8 <sub>3</sub>
120	0	T9 <sub>1</sub>	T9 <sub>2</sub>	T9 <sub>3</sub>	T11 <sub>1</sub>	T11 <sub>2</sub>	T11 <sub>3</sub>
	0.25	T10 <sub>1</sub>	T10 <sub>2</sub>	T10 <sub>3</sub>	T12 <sub>1</sub>	T12 <sub>2</sub>	T12 <sub>3</sub>

#### 3.4.1.9 Conversión hidrotérmica de microalgas *Chlorella* a reflujo abierto

En un balón de 50 mL previamente lavado y seco a 110°C se pesó 1 g de biomasa de microalga *Chlorella*, 0.25 g de catalizador y 30 g de agua destilada. Se armó el equipo de reflujo ayudado de una plancha térmica con agitación magnética, iniciado el reflujo el tiempo de conversión hidrotérmica fue de 120 min. Transcurrido el tiempo de reacción, se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente por alrededor de 30 min. Posteriormente en la mezcla de reacción enfriada se agregó 20 mL de agua destilada y 20 mL de diclorometano, se cerró nuevamente el sistema y se lo dejó en reposo durante 15 min.

La separación de fases se realizó en un embudo con el mismo procedimiento anterior. El proceso se realizó por triplicado.

#### 3.4.1.10 Caracterización de los productos obtenidos

- **Cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (GS – MS)**

Los productos obtenidos, hidrocarburos en fase líquida, se analizaron mediante un cromatógrafo de gases Agilent Technologies GS 7890C acoplado a un detector selectivo de masas Agilent Technologies 5975C Inert MSD. Los parámetros y condiciones del equipo fueron:

Inyección: 1µL

Horno: 35°C durante 10 min, a continuación, 5°C/min hasta 80°C durante 0 min, luego 40°C/min a 280°C durante 10 min.

Tiempo de corrida: 34 min

Columna # 1

DB-TPH: 2876, 37544; 320°C: 30 m x 320 µm x 0,25µm

Entrada: frente de SS Inlet He. Salida: frente al detector FID

Presión 4.7074 psi y flujo 0.96837 mL min



Columna # 2

Thermo Scientific: 2571,37322; 330°C: 30 m x 250 µm x 0.25 µm

Entrada: detrás de SS Inlet He. Salida: Vacío.

Presión 3.7517 psi y flujo de 0.7 mL min

### 3.4.2 Equipos y materiales

- Balanza analítica Mettler Toledo. Apreciación 0,0001 g
- Digestor microondas Berghof Speed Wave four, 1450 W
- Cromatógrafo de gases Agilent Technologies GS 7890C acoplado a un detector selectivo de masas Agilent Technologies 5975C Inert MSD.
- Microscopio AmScope B120C adaptado a una cámara digital AmScope MU 1400
- Rotavapor IKA HB 10 acoplado al controlador IKA RV 10
- Difractómetro D8 ADVANCE
- Aparato de reflujo
- Aparato de extracción Söxhlet

#### 3.4.2.1 Reactivos

- Muestra seca de microalgas antárticas *Chlorella*.
- Agua destilada, tipo 2
- Catalizador (zeolita comercial zeolife)
- Nitrato de amonio, grado técnico
- Diclorometano, grado HPLC
- Hexano, grado HPLC

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Caracterización de la biomasa de microalga *Chlorella*

##### 4.1.1 Resultado de la determinación de humedad

El contenido de humedad en la biomasa de microalgas *Chlorella* se efectuó por triplicado y se determinó por la pérdida de masa que sufren las muestras después de estar expuestas a cierta temperatura y tiempo. El porcentaje de humedad es  $6.74 \pm 0.22$  %. La Tabla 4.1 muestra los resultados.

- Cálculo para el contenido de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(m_1 + m_2) - m_3}{m_2} \times 100$$

**Tabla 4. 1** Valores experimentales de la determinación de humedad

Muestra	m <sub>1</sub> (g)	m <sub>2</sub> (g)	m <sub>3</sub> (g)	% de humedad
1	15.6498	1.0088	16.5907	6.73%
2	18.9678	1.0040	19.9019	6.96%
3	16.9668	1.0492	17.9475	6.53%
				<b>6.74 ± 0.22 %</b>

Nota: m<sub>1</sub> es la masa del crisol, m<sub>2</sub> masa de biomasa, m<sub>3</sub> masa del crisol con biomasa después del secado.

El contenido de humedad en las algas secas y molidas está relacionado con la técnica de secado empleada, así como con su conservación. Para que un producto pueda ser almacenado por largo tiempo, y disminuir la posible presencia de bacterias y hongos que podrían alterar su calidad a través de la descomposición, el contenido de humedad debe ser bajo. En este caso, el valor de humedad que se obtuvo (6.74%), fue menor a 7% que se considera apropiado para la preservación de las microalgas (Carrillo, Casas, Ramos, Pérez, & Sánchez, 2002).

La literatura menciona porcentajes de 5.9% (Biller, Riley, & Ross, 2011) y 13.70 % (Du Z., 2013) para biomasa de microalgas *Chlorella*. Estas diferencias podría relacionarse a factores

como las condiciones ambientales donde se desarrollaron y principalmente el medio de cultivo y secado de las microalgas.

#### 4.1.2 Resultado de la determinación de cenizas

El contenido de cenizas en la biomasa de microalgas *Chrorella* se efectuó por triplicado y se llevó a cabo por la incineración total de la muestra a 550°C y se determinó su masa. El porcentaje de ceniza es  $5.06 \pm 0.01$  %. La Tabla 4.2 muestra los resultados.

- Cálculo para el contenido de ceniza.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \times 100$$

**Tabla 4. 2** Valores experimentales de la determinación de ceniza

Muestra	m <sub>1</sub> (g)	m <sub>2</sub> (g)	m <sub>3</sub> (g)	% de cenizas
1	15.8735	1.0017	15.9243	5.07
2	20.8837	1.0003	20.9343	5.06
3	19.2699	1.0170	19.3214	5.06
				<b>5.06 ± 0.01 %</b>

Nota: m<sub>1</sub> es la masa del crisol, m<sub>2</sub> masa de biomasa, m<sub>3</sub> masa del crisol con ceniza.

El contenido de cenizas en las algas está formado por el residuo inorgánico que queda después de que la materia orgánica se ha quemado. Las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en la biomasa original, ya que pudieron haber existido pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes.

El porcentaje de cenizas obtenido es 5.06 % mientras que la bibliografía menciona un porcentaje de 7.00 % (Biller, Riley, & Ross, 2011) y 7.80 % (Du Z., 2013), también para biomasa de microalgas *Chlorella*. Esta diferencia podría relacionarse con alto contenido de compuestos inorgánicos minerales y su capacidad de acumularlos según las condiciones ambientales, la temporada y la localización geográfica (Frikha, et al., 2011).

### 4.1.3 Resultado de la determinación de lípidos

La determinación de lípidos en la biomasa de microalgas *Chlorella* se llevó a cabo de forma gravimétrica. El porcentaje de lípidos fue  $0.68 \pm 0.04$  %. La Tabla 4.3 muestra los resultados.

- Cálculo del porcentaje de lípidos

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \times 100$$

**Tabla 4. 3** Valores experimentales de la determinación de lípidos

Muestra	m <sub>1</sub> (g)	m <sub>2</sub> (g)	m <sub>3</sub> (g)	m <sub>4</sub> (mg)	% de lípidos
1	35.9382	2.0012	35.9514	13.2	0.66%
2	37.3115	2.0046	37.3244	12.9	0.64%
3	29.9952	2.0080	30.0097	14.5	0.72%
				<b>13.5 ± 0.8</b>	<b>0.68 ± 0.04</b>

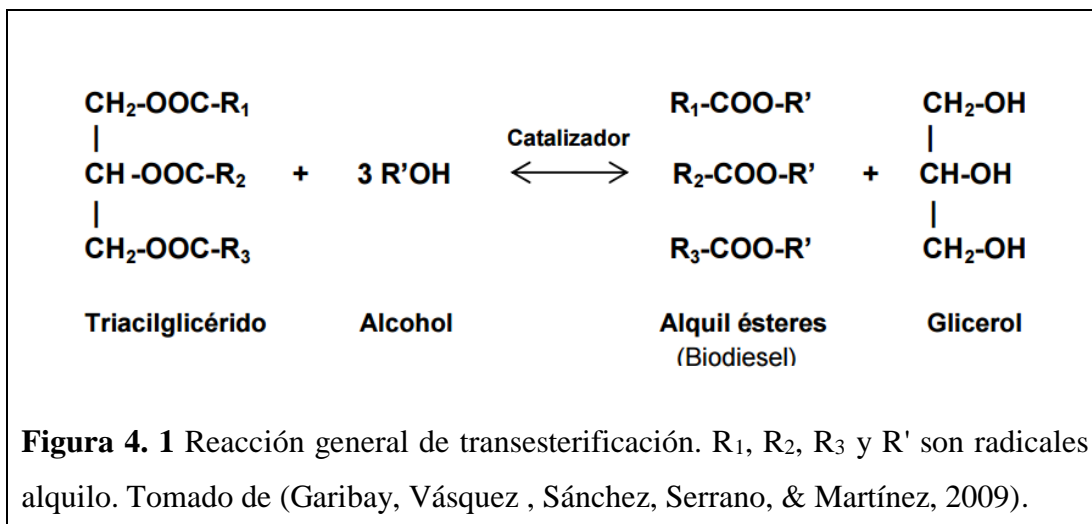
Nota: m<sub>1</sub> es la masa de la caja Petri tarada, m<sub>2</sub> masa de biomasa, m<sub>3</sub> masa de la caja Petri con lípidos, m<sub>4</sub> masa de lípidos extraídos.

El contenido de lípidos obtenidos fue de 0.68%, mientras que la bibliografía menciona porcentajes de 12.33 % (Du Z., 2013) y 11.7% (Salas, 2015). Esta diferencia en la composición lipídica, se relaciona a factores como la especie, condiciones ambientales donde se desarrollaron las algas, medios de extracción usados (Salas, 2015), medios de cultivo y nutrientes empleados, ya que la biomasa de microalgas *Chlorella* utilizada fue escasamente tratada para una mejor obtención de lípidos (Molina, 2014).

#### 4.1.3.1 Biodiesel a partir de los lípidos extraídos

Debido a la poca masa de aceite obtenido se procedió a calcular la cantidad teórica de biodiesel que podría sintetizarse del aceite extraído.

En la actualidad, la mayoría del biodiesel se produce mediante transesterificación alcalina, por su rapidez y condiciones moderadas que la caracterizan. La transesterificación (Figura 4.1) es la reacción química entre los ácidos grasos (triglicérido) y un alcohol (comúnmente metanol, etanol, propanol o butanol), para producir glicerol y alquil ésteres de ácidos grasos, los cuales son conocidos como biodiesel (Garibay, Vásquez, Sánchez, Serrano, & Martínez, 2009).



Para calcular la masa de biodiesel que se puede obtener a partir de los 13.5 mg de lípidos extraídos de la biomasa de microalgas *Chlorella*, se asumirá un índice de saponificación de 189.3 mg KOH g<sup>-1</sup> (Xu, Miao, & Wu, 2006) y metanol como reactivo:

$$\text{mmoles}_{\text{KOH}} = 189.3 \text{ mg KOH} \times \frac{1 \text{ mmol KOH}}{56.1 \text{ mg KOH}} = 3.37 \text{ mmoles KOH}$$

$$\text{mmoles}_{\text{aceite}} = 3.37 \text{ mmoles KOH} \times \frac{1 \text{ mmol aceite}}{3 \text{ mmoles KOH}} = 1.12 \text{ mmoles aceite}$$

$$\text{PM}_{\text{aceite}} = \frac{1000 \text{ mg aceite}}{1.12 \text{ mmoles aceite}} = 892.86 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}$$

$$\text{mg}_{\text{biodiesel}} = 13.5 \text{ mg aceite} \times \frac{(892.86 + 4) \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}}{892.86 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}} = 13.6 \text{ mg biodiesel}$$

Los 13.6 mg de biodiesel calculados, corresponden al 0.68 % de biodiesel o 6.8 g de bio-combustible por kg de biomasa.

## 4.2 Caracterización de la zeolita natural activada

La muestra de zeolita natural usada para la activación y posterior utilización como catalizador fue la zeolita comercial Zeolife, originaria de las minas de zeolita de la provincia del Cañar.

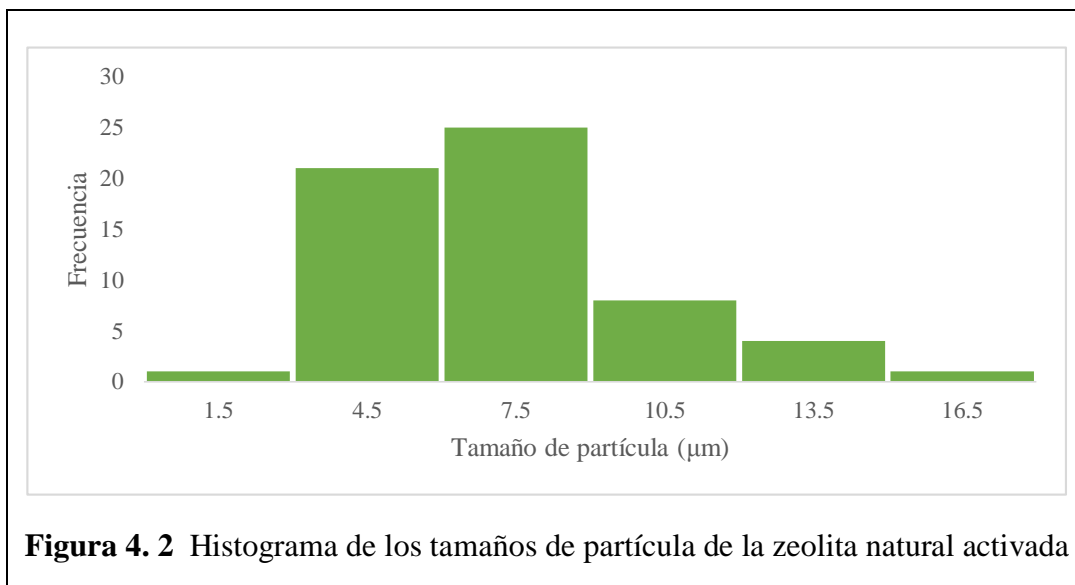
#### 4.2.1 Resultados de la determinación de tamaño de partícula

Los tamaños de partícula de la zeolita fueron obtenidos a través del microscopio AmScope B120C adaptado a una cámara digital AmScope MU 1400. Los datos se muestran en el Anexo 2. La representación e interpretación de los datos de los tamaños de partícula de la zeolita natural activada se realizó mediante el uso de un histograma.

Para la elaboración del histograma se realizaron cálculos previos para determinar las clases y las frecuencias de los tamaños de partículas. Los resultados se muestran en la Tabla 4.4.

**Tabla 4. 4** Valores del histograma para los tamaños de partícula

Clases	Punto medio	Frecuencia
0 a 3 $\mu\text{m}$	1.5	1
3 a 6 $\mu\text{m}$	4.5	21
6 a 9 $\mu\text{m}$	7.5	25
9 a 12 $\mu\text{m}$	10.5	8
12 a 15 $\mu\text{m}$	13.5	4
15 a 18 $\mu\text{m}$	16.5	1
Total		60



**Figura 4. 2** Histograma de los tamaños de partícula de la zeolita natural activada

El histograma (Figura 4.2) muestra que existe mayor probabilidad de que el tamaño de la zeolita activada esté dentro del rango de 6 a 9  $\mu\text{m}$ , tamaño que se obtuvo al triturar la muestra en un molino de bolas que arroja partículas de, aproximadamente, 5  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Dentro de las propiedades físicas de los catalizadores heterogéneos, mientras menor sea el tamaño de partícula, mayor área superficial posee lo que a su vez aumenta la actividad del catalizador, ya que es mayor el área disponible para la reacción (Izquierdo, Cunill, Tejero, Iborra, & Fité, 2004).

Comparando el tamaño de partícula obtenido (6 a 9  $\mu\text{m}$ ) con el de la zeolita sintética ZSM-5, ampliamente usada en la industria del petróleo como catalizador heterogéneo de reacciones de isomerización de hidrocarburos, que es de 1.2  $\mu\text{m}$  (Kim & Chung, 2003), se observa que es mayor, lo que probablemente le resta actividad catalítica con respecto a la zeolita ZSM-5 por disminución del área superficial.

#### 4.2.2 Resultados del análisis de difracción de rayos X

La determinación de los compuestos con cristalización definida presente en las muestras se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Diffrac plus (EVA y TOPAS) para la cualificación y cuantificación. La Tabla 4.5 detalla los resultados obtenidos en el análisis.

Muestra 1: zeolita comercial

Muestra 2: zeolita comercial activada

**Tabla 4. 5** Resultados de análisis por difracción de rayos X de la zeolita natural activada y no activada

Mineral	Fórmula	Muestra 1 Contenido (%)	Muestra 2 Contenido (%)
Cuarzo	$\text{SiO}_2$	2	5
Cristobalita	$\text{SiO}_2$	26	48
Grupo zeolita	$\text{X}(\text{YO}_2)_n \cdot m\text{H}_2\text{O}$ Con X: Na, Ca, Ba, Sr, K, Mg, Li Y: Si, Al	72	47

Nota: El límite de detección del equipo es del 1% para compuestos con cristalización definida.

Las muestras presentaron altos contenidos de fases amorfas por lo que los resultados presentados son semicuantitativos debido a la calidad de los difractogramas obtenidos.

Los resultados muestran que la zeolita al ser activada con nitrato de amonio seguida de una calcinación a 550°C por 4 horas, disminuye en su composición el grupo zeolita, debido a un probable proceso de desaluminización.

Con la activación se produjo un intercambio iónico entre los cationes (Na, Ca, K, Mg) de la zeolita con el ión  $\text{NH}_4^+$ , que a su vez se descompuso en  $\text{NH}_3$  y  $\text{H}^+$ . El  $\text{NH}_3$  se evaporó para dejar una zeolita cargada con  $\text{H}^+$  (Mendoza, Flores, Flores, Vidal, & Paz, 2014).

La activación térmica de zeolitas, además de producir un catalizador ácido puede inducir a desaluminaciones de la estructura que puede tener un efecto beneficioso sobre las propiedades del catalizador, ya que se ha demostrado que mejora varias transformaciones de hidrocarburos (Jurado, 2004).

La activación térmica de la zeolita para ser usada como catalizador en la obtención de hidrocarburos puede mejorar el rendimiento de los procesos.

### 4.3 Resultados de la conversión hidrotérmica de microalgas *Chlorella* asistida por microondas.

#### 4.3.1 Diseño completamente al azar

El diseño experimental que se utilizó en la investigación fue un diseño completamente aleatorio, en donde las unidades experimentales fueron asignadas de forma aleatoria a los diferentes tratamientos. Todas las unidades elegidas al azar tuvieron la misma probabilidad de ser asignadas a un tratamiento (Reyes, 2013).

La masa del producto concentrado se consideró como porcentaje de obtención de biocombustible (Tabla 4.6), no se consideraron los gases ni compuestos volátiles producidos.

$$\% \text{ Conversión} = \frac{\text{masa del producto concentrado}}{\text{masa de biomasa}} \times 100$$

**Tabla 4. 6** Porcentaje de conversión de microalgas *Chlorella* en biocombustible.

Tiempo (min)	Catalizador (g)	Relación microalgas: agua (g/g)							
		1:10				1:30			
		Repeticiones		$\bar{X} \pm \text{SD}$		Repeticiones		$\bar{X} \pm \text{SD}$	
30	0	6.12	6.73	6.31	<b>6.39</b> $\pm$ 0.31	4.54	4.68	4.13	<b>4.45</b> $\pm$ 0.29
	0.25	7.03	7.07	6.99	<b>7.03</b> $\pm$ 0.04	5.87	5.46	5.27	<b>5.53</b> $\pm$ 0.31
60	0	7.29	7.45	7.10	<b>7.28</b> $\pm$ 0.18	7.08	7.20	6.97	<b>7.08</b> $\pm$ 0.12
	0.25	7.98	7.51	7.33	<b>7.61</b> $\pm$ 0.34	9.27	9.63	9.70	<b>9.53</b> $\pm$ 0.23
120	0	8.61	8.96	8.52	<b>8.70</b> $\pm$ 0.23	10.25	10.30	9.98	<b>10.17</b> $\pm$ 0.17
	0.25	9.15	9.34	9.08	<b>9.19</b> $\pm$ 0.13	12.02	12.15	11.97	<b>12.05</b> $\pm$ 0.09



### 4.3.2 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos durante la investigación fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). Los datos experimentales fueron analizados mediante el programa estadístico IBM SPSS Statistic, versión 22.

#### 4.3.2.1 Análisis de varianza factorial del porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible

La Tabla 4.7 muestra que los grupos definidos por las variables: tiempo, relación microalga: agua y masa de catalizador poseen datos medios significativamente diferentes (Sig = 0.000 y 0.026 siendo menores que 0.05). Se rechaza la hipótesis nula, por lo que hay variación entre los diferentes tratamientos, no todos los tratamientos obtuvieron el mismo porcentaje de obtención de biocombustible.

**Tabla 4. 7** Resumen del análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible

Origen	Suma de cuadrados	g.l	Media cuadrático	F	Sig.
Modelo corregido	147.18	11	13.380	271.693	0.000
Interceptación	2257.834	1	2257.834	45846.923	0.000
Tiempo	104.994	2	52.497	1065.990	0.000
Catalizador	11.719	1	11.719	237.967	0.000
Relación	1.707	1	1.707	34.670	0.000
Tiempo * Catalizador	0.418	2	0.209	4.240	0.026
Tiempo * Relación	23.353	2	11.677	237.103	0.000
Catalizador * Relación	3.920	1	3.920	79.607	0.000
Tiempo * Catalizador * Relación	1.069	2	0.535	10.856	0.000
Error	1.182	24	0.049		
Total	2406.197	36			
Total corregido	148.363	35			

Nota: alfa = 0.05

Debido a que el ANOVA arrojó datos significativamente diferentes se procedió a realizar una prueba *post hoc* para evaluar las diferencias entre las medias específicas. Se utilizó la prueba de Duncan (Tabla 4.8) para confirmar que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio.

**Tabla 4. 8** Prueba de Duncan para los 12 tratamientos

Tratamientos	Medias	N	Categorías		
T12	12.05	3	A		
T11	10.18	3	B		
T8	9.53	3		C	
T10	9.19	3		C	
T9	8.72	3		D	
T6	7.61	3			E
T5	7.28	3			E F
T7	7.08	3			F
T2	7.03	3			F
T1	6.39	3			G
T4	5.53	3			H
T3	4.45	3			I

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ )

La *Prueba de Duncan* es una prueba estadística que clasifica en orden los tratamientos efectuados y los posiciona en categorías de acuerdo al valor Duncan.

Del ordenamiento de las medias de los 12 tratamientos (Tabla 4.8) empleados para obtención de biocombustible a partir de microalgas antárticas por conversión hidrotérmica asistida por microondas se definieron nueve categorías. La categoría A que pertenece al tratamiento T12, presentó el mayor porcentaje de biocombustible, usando 120 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua. Le sigue la categoría B con el tratamiento T11, usando 120 min de irradiación microondas, 0 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua. Ambos están asociados a una irradiación de 120 min y una relación 1:30, obteniendo los dos porcentajes más alto. La presencia de catalizador aumenta la conversión.

A continuación está la categoría C, esta se encuentra formada por los tratamientos T8 y T10 que utilizaron 60 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua y 120 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua, respectivamente. Ambos tratamientos están asociados a la masa del catalizador, en esta categoría destaca el uso de 0.25 g de catalizador.

En la cuarta categoría D aparece el tratamiento T9 usando 120 min de irradiación microondas, 0 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua. En la quinta categoría E, se posicionan los tratamientos T6 y T5 que utilizaron 60 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua y 60 min de irradiación microondas,

0.0 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua, respectivamente. En estos tratamientos se destaca la relación 1:10.

La categoría F se encuentra formada, mayoritariamente, por los tratamientos T5, T7 y T2 que utilizaron 60 min de irradiación microondas, 0.0 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua; 60 min de irradiación microondas, 0.0 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua y 30 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua, respectivamente. En esta categoría se puede observar que el tiempo de irradiación puede ser compensado con la presencia de catalizador para la obtención de biocombustible.

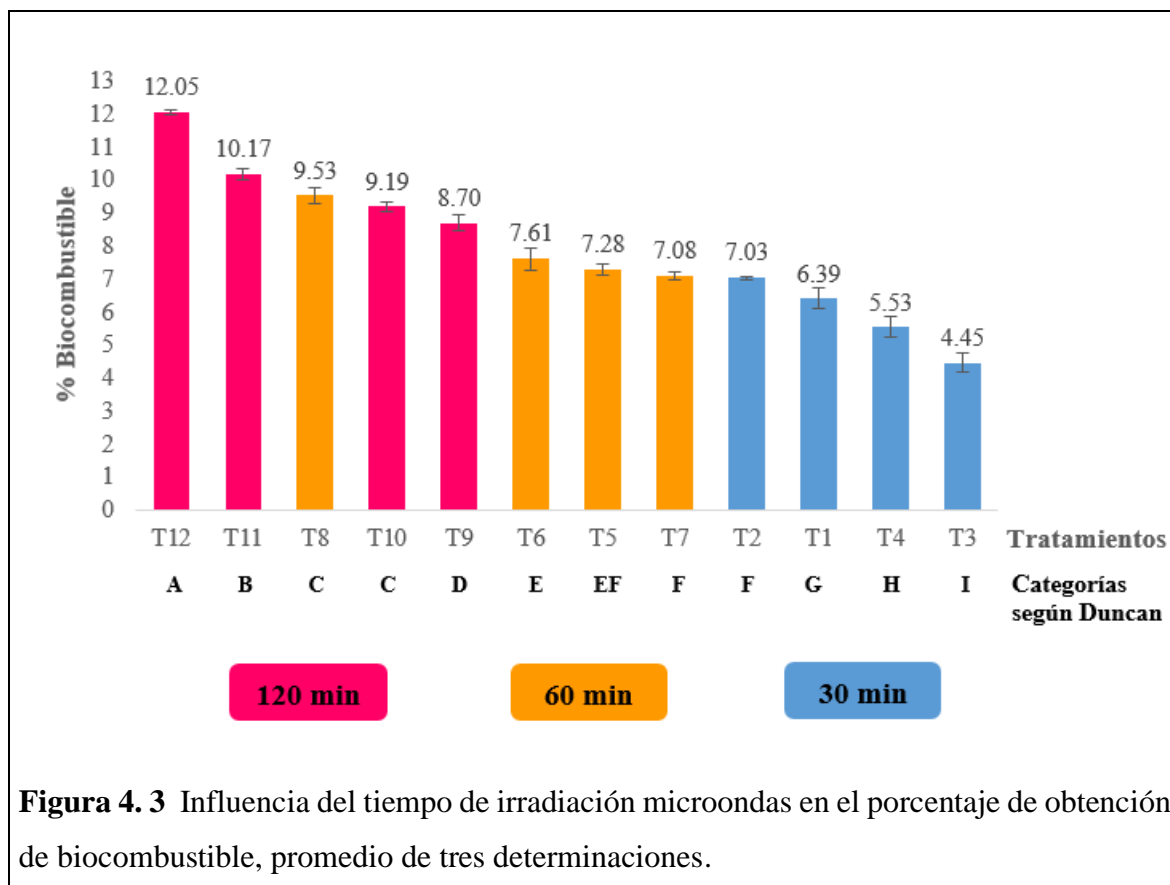
En la categoría G figura el tratamiento T1, que utiliza 30 min de irradiación microondas, 0 g de catalizador con una relación 1:10 microalga: agua. En la penúltima categoría, H se encuentra el tratamiento T4, que usa 30 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua. Y finalmente en la categoría I se encuentra el tratamiento T3, que presentó el menor porcentaje de biocombustible, usando 30 min de irradiación microondas, 0 g de catalizador con una relación 1:30 microalga: agua. En estas tres últimas categorías se observa que el tiempo de irradiación microondas es uno de los principales factores en la obtención de biocombustible, ya que a 30 min de irradiación se obtiene valores bajos de porcentajes de biocombustible, a diferencia de las dos primeras categorías, en la cuales a 120 min de irradiación se obtiene los porcentajes más altos de biocombustible.

#### **4.3.2.2 Influencia del tiempo de irradiación sobre el porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible**

Para entender la influencia del tiempo de conversión hidrotérmica asistida por microondas en la obtención de biocombustibles a partir de microalgas antárticas se utilizaron tres tiempos de irradiación 30, 60 y 120 min. Las conversiones hidrotérmicas en función del tiempo de irradiación microondas se llevaron a cabo a 1:10 y 1:30 como relaciones microalgas: agua, y con presencia y ausencia de catalizador 0 y 0.25 g de zeolita.

La Figura 4.3 muestra que, a mayor tiempo de irradiación microondas (120 min) se obtiene un mayor porcentaje de biocombustible, por el contrario, conforme disminuye el tiempo de irradiación (60 y 30 min) el porcentaje de biocombustible obtenido también disminuye.

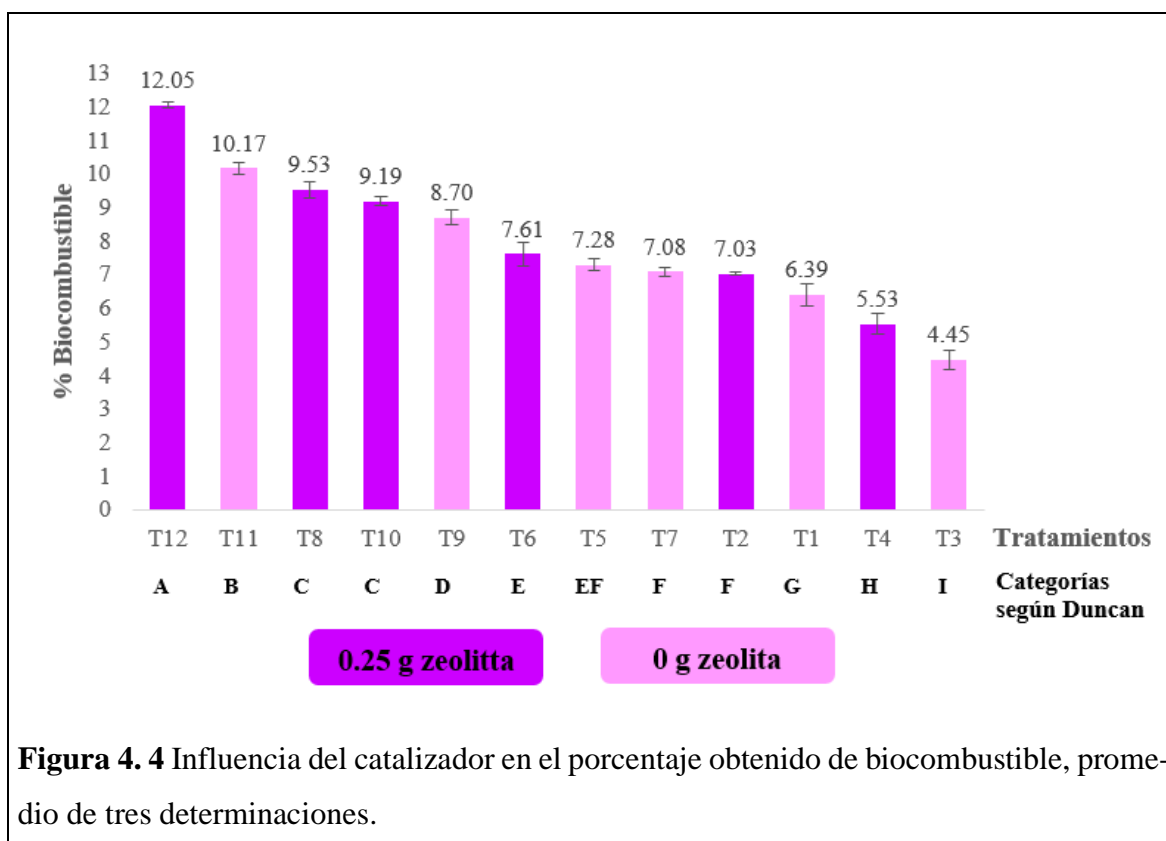
Para las mismas condiciones de obtención de biocombustible: 0.25 g de catalizador, 1:30 relación microalgas: agua, pero con 120 min de irradiación microondas se obtuvo 12.05%, mientras que con 60 min fue de 9.53%. De los tiempos de irradiación estudiados, se encontró que 120 min fue el tiempo óptimo para la obtención de biocombustible a partir de microalgas.



#### 4.3.2.3 Influencia del catalizador sobre el porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible

Para investigar la influencia del catalizador en la obtención de biocombustible a partir de una conversión hidrotérmica asistida por microondas, se seleccionaron dos masas diferentes de catalizador 0 g y 0.25 g de catalizador (Figura 4.4).

Las conversiones hidrotérmicas asistidas por microondas se llevaron a cabo a 1:10 y 1:30 como relaciones microalgas: agua, y con 30, 60 y 120 min de irradiación.



La Figura 4.4 muestra que el porcentaje de biocombustible obtenido aumenta con la presencia de catalizador. Para las mismas condiciones de conversión hidrotérmica asistida por microondas, 120 min de irradiación, relación 1:30 pero con 0.25 g de catalizador se obtuvo un porcentaje de 12.05% mientras que con 0 g de catalizador se alcanzó 10.17%.

De tratamientos similares con ausencia y presencia de catalizador se encontró que, en general, la presencia de catalizador aumenta el porcentaje de biocombustible obtenido.

#### 4.3.2.4 Influencia de la relación microalgas: agua sobre el porcentaje de conversión de microalgas en biocombustible

Para estudiar la influencia de la cantidad de agua subcrítica en el porcentaje de biocombustible obtenido a partir microalgas en una conversión hidrotérmica asistida por microondas se ensayaron dos diferentes relaciones microalgas: agua, 1:10 y 1:30.

Las conversiones hidrotérmicas asistidas por microondas se llevaron a cabo a 30, 60 y 120 min de irradiación, y con presencia y ausencia de catalizador 0 y 0.25 g de zeolita.

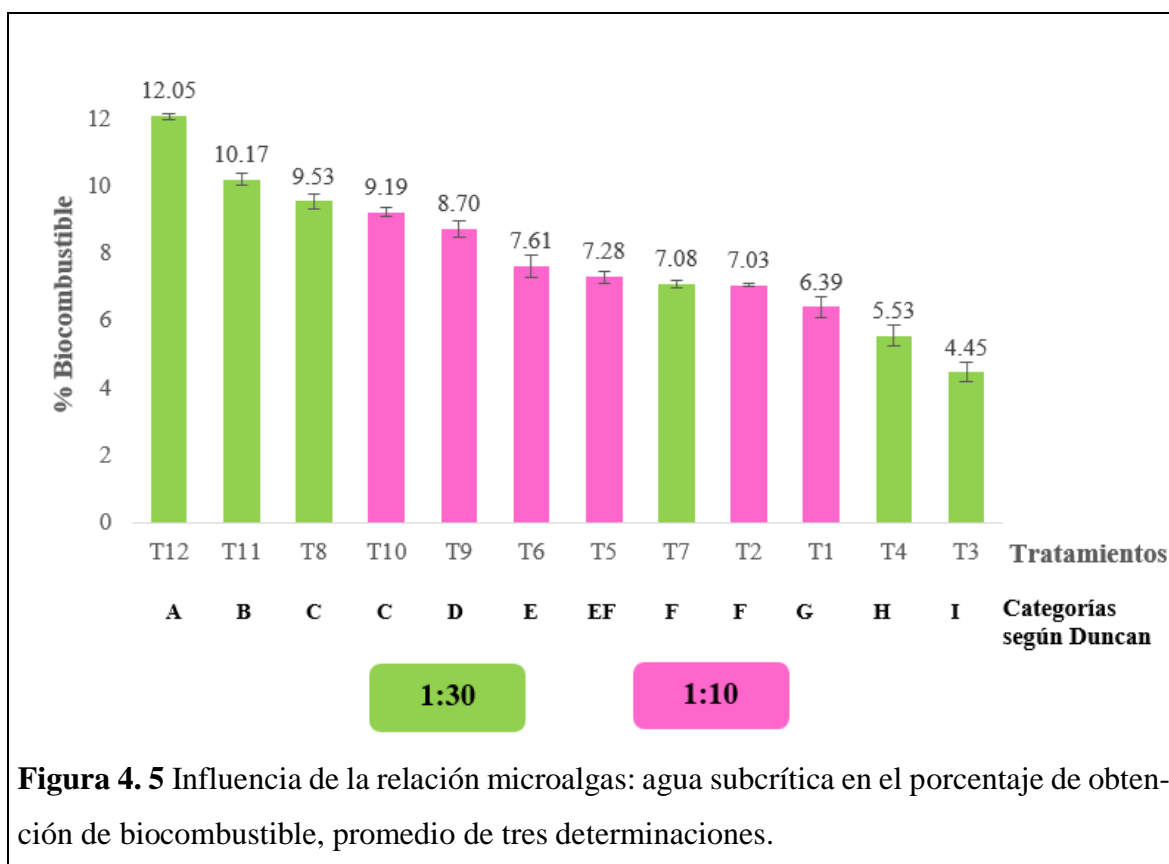
La Figura 4.5 muestra una marcada diferencia en los porcentajes de biocombustible obtenidos a partir de las relaciones 1:10 y 1:30. El mayor porcentaje fue de 12.05% a una relación

de 1:30, 0.25 g de catalizador y 120 min de irradiación microondas, mientras a las mismas condiciones de masa de catalizador, tiempo de irradiación pero a una relación 1:10 se obtuvo 9.19%. Una mayor cantidad de solvente (30 g de agua) genera un mayor porcentaje de biocombustible, mientras que por el contrario, con una menor cantidad de solvente (10 g de agua) se obtiene menor porcentaje de biocombustible.

El agua se caracteriza por ser un solvente altamente absorbente de irradiación microondas, lo que hace que se caliente rápidamente el sistema. Al existir mayor cantidad de agua en la reacción habrá mayor calentamiento, mejorando el rendimiento de la conversión (Crecente, 2009). Por ello una relación 1:30 microalgas: agua genera un mayor porcentaje de biocombustible que una relación 1:10.

El agua posee excelentes características cuando se encuentra en su estado subcrítico, como en esta investigación (230°C y 30 bares). La disminución de su constante dieléctrica a causa de la temperatura hace que esta, sea más parecida a los disolventes de hidrocarburos; por esta razón, la solubilidad de compuestos orgánicos hidrófobos y gases ligeros en el agua subcrítica se incrementa y por lo tanto se puede extraer y posteriormente separar fácilmente de la mezcla de reacción al enfriar. Además, sus propiedades de transporte (alto coeficiente de difusión y conductividad térmica, y baja viscosidad) hacen que el agua subcrítica sea más similar a un gas que a un líquido y permiten altas velocidades de reacción. Estas propiedades del agua subcrítica generan un gran impacto en la descomposición de la biomasa, principalmente a través de reacciones de solvólisis, despolimerización, deshidratación, descarboxilación, desaminación, entre otras (Pavlovic, Knez, & Skerget, 2013).

Las mejores condiciones para la conversión hidrotérmica asistida por microondas para la obtención de biocombustible a partir de microalgas son 120 min de irradiación, 0.25 g de catalizador y una relación 1:30 microalgas: agua, a 230°C y, aproximadamente, 30 bares; condiciones bajas en comparación a otras investigaciones de conversión hidrotérmica para la obtención de biocombustible, que no utilizan radiación de microondas, en donde, generalmente se trabaja con temperaturas mayores o iguales a 350°C y presiones mayores a 100 bares, por ejemplo: 60 min de conversión, relación 1:9 microalgas: solución catalítica a 350° y ~200 bares produce rendimientos de 25% (Biller & Ross, 2011); 60 min de conversión, 0.20 g de catalizador heterogéneo, relación 1:9 microalgas: agua a 350° y 150 - 200 bares (Biller, Riley, & Ross, 2011) y 60 min de conversión, relación 1:9 microalgas: solución catalítica a 350°C y ~200 bares da rendimientos de 23.0 a 27.3 % (Ross, *et al.*, 2010).



La temperatura (230°C) y presión autógena (30 bares) bajas del presente estudio en comparación con la literatura probablemente afectan el rendimiento, disminuyendo su valor. La principal diferencia fue el uso de radiación microondas como fuente de energía. Con estas condiciones experimentales se obtuvo 12.05%, que corresponde a  $120.5 \pm 0.9$  g biocombustible/kg de microalgas.

La obtención de biocombustible a partir de microalgas por medio de una conversión hidrotérmica asistida por microondas es afectada, principalmente, por factores como el tiempo de conversión e irradiación, relación microalgas: solvente, en este caso agua y la presencia de catalizador, además de la temperatura y presión del sistema.

#### 4.4 Resultados de la conversión hidrotérmica de microalgas *Chlorella* a reflujo abierto

Para comparar la conversión hidrotérmica asistida por microondas con una conversión hidrotérmica con calentamiento convencional se realizó un reflujo abierto. Se pesó 1 g de biomasa de microalgas *Chlorella*, 30 g de agua destilada, 0.25 g de catalizador y se llevó a reflujo por 120 min. Se determinó la masa del producto concentrado y se calculó el porcentaje de obtención de biocombustible.

$$\% \text{ Conversión} = \frac{\text{masa del producto concentrado}}{\text{masa de biomasa}} \times 100$$

La masa de biocombustible obtenido fue de  $35.6 \pm 4.2$  g biocombustible/kg de microalgas. Los resultados se muestran en la Tabla 4.9.

**Tabla 4. 9** Valores de g biocombustible/kg de microalga de la conversión hidrotérmica a reflujo abierto.

Muestra	Microalga (g)	Biocombustible (g)	% biocombustible	g biocombustible/ kg microalga
R-1	1.0220	0.0325	3.18	31.8
R-2	1.0409	0.0362	3.48	34.8
R-3	1.0411	0.0417	4.01	40.1
			$3.56 \pm 0.42$	$35.6 \pm 4.2$

#### 4.5 Comparación de la conversión hidrotérmica asistida por microondas vs reflujo abierto

La comparación entre los dos métodos se realizó escogiendo al mejor tratamiento de la conversión hidrotérmica asistida por microondas, que fue el tratamiento 12 (120 min de irradiación, 0.25 g de catalizador y 1:30 relación microalgas: agua), frente a una conversión hidrotérmica a reflujo abierto.

Se realizó una *Prueba F para varianzas de dos muestras*, mediante Excel 2013, para determinar si las varianzas de los métodos son iguales o diferentes (Tabla 4.10). El análisis determinó que se tratan de varianzas iguales.

**Tabla 4. 10** Prueba F para varianzas de dos muestras.

	T12	Reflujo
Media	12.05	3.56
Varianza	0.008633	0.1766
Observaciones	3	3
Grados de libertad	2	2
F	0.04888	
P(F<=f) una cola	0.04660	
Valor crítico para F (una cola)	0.05263	

Nota: alfa = 0.05

Se utilizó la *Prueba t* para evaluar si dos grupos difieren de manera significativa respecto a sus medias en una variable, en este caso para comparar dos métodos en función de una variable dependiente que es el porcentaje de biocombustible obtenido.



La herramienta estadística que usó fue una *Prueba t para dos muestras con varianzas iguales*, mediante Excel 2013 y los datos de las Tablas 4.6 y 4.9. Los resultados de la *Prueba t* se muestra en la Tabla 4.11.

**Tabla 4. 11** Prueba t para dos muestras con varianzas iguales.

	<b>T12</b>	<b>Reflujo</b>
Media	12.05	3.56
Varianza	0.008633	0.1766
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	0.09263	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	<b>34.16</b>	
P(T<=t) una cola	2.190E-06	
Valor crítico de t (una cola)	2.132	
P(T<=t) dos colas	4.379E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	<b>2.776</b>	

La *Prueba t para dos muestras con varianzas iguales* detectó una diferencia significativa al 5% entre los tratamientos (T12 y calentamiento convencional a reflujo abierto), ya que la  $t$  calculada  $> t$  tabulada al 5% (**34.16**  $>$  **2.776**), lo que indica que sí existe divergencia entre los métodos para obtener biocombustible a partir de microalgas mediante una conversión hidrotérmica asistida por microondas y un calentamiento convencional a reflujo abierto. Si se comparan las medias, se puede observar que el T12 supera al calentamiento a reflujo abierto con una diferencia de 8.49 % de biocombustible obtenido.

Por lo tanto, se obtiene mayor cantidad de biocombustible mediante una conversión hidrotérmica asistida por microondas que por medio de una conversión hidrotérmica a reflujo abierto. Inclusive, si se hubiera utilizado el proceso convencional para obtención de biodiesel: extracción del aceite de las microalgas con solvente y luego transformación a biodiesel se hubiera obtenido solamente 0.68 % de biocombustible (ver 4.1.3.1).

#### **4.6 Compuestos identificados después de la conversión hidrotérmica asistida por microondas y a reflujo abierto de biomasa de microalga *Chlorella***

La identificación de los compuestos para los diferentes tratamientos fue realizada por GC-MS. A continuación, se enlistan los compuestos mayoritarios presentes en las muestras (Tabla 4.12).

**Tabla 4. 12.** Compuestos identificados por GC-MS.

Compuesto probable	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	R
o-xileno	X	X	X	X	X	X	X	X		X			
2,2,3,3-tetrametil-butano	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
2,2,4-trimetil-pentano												X	X
etilbenceno	X	X	X	X	X	X	X	X					
p-xileno	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
fitol	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno	X	X	X	X	X	X	X	X					X
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	X	X	X	X	X	X	X	X					X
isofitol	X	X				X			X	X	X	X	
ácido 2-propenóico-2-etil hexil éster	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
hexahidro-3- (fenil metil) pirrolo [1,2-a] pi- razina-1,4-diona	X	X			X		X		X	X	X	X	
2-acetilciclopentanona			X	X			X		X				
4-isopropil-1,3-ciclohexanadiona			X	X				X					X
1,2,4-trimetil-ciclohexano				X				X					X
hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrolo [1,2-a] pirazina-1,4-diona					X				X	X	X	X	
1,2-dipropil-ciclopentano						X							
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona									X				
3-bencil-6-isopropil-2,5-piperazinadiona									X	X	X	X	
3,6-bis(2-metilpropil)- 2,5-piperazinadiona										X	X	X	
3-metil-1,2-ciclopentanadiona										X		X	
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona											X		
1,2-dietil-3-metil- ciclohexano													X
9-metil- nonadecano													X
4-metil-octano													X

Ti son los tratamientos y R reflujo abierto

En la Tabla 4.12 se observa que los diferentes biocombustibles obtenidos contienen compuestos aromáticos como xilenos, etilbenceno y fenoles, además de alifáticos ramificados, que podrían ser constituyentes de un biocombustible, que es lo que buscaba la presente investigación. Hay algunos compuestos como el o-xileno, el etilbenceno y el 2,2,3,3-tetrametil-butano que no se obtuvieron por calentamiento convencional.

1,2-dietil-3-metil- ciclohexano, 9-metil- nonadecano y 4-metil-octano solo se identificaron en el tratamiento a reflujo abierto. Todos los tratamientos, con excepción de T4 y reflujo, presentan fitol que proviene de la degradación de la clorofila.

Los tratamientos, en su mayoría, están formados por compuestos alifáticos, aromáticos, fenólicos, oxigenados y nitrogenados similares a los que citan las referencias (Anexo 4) para conversiones hidrotérmicas.

La diferente coloración en los productos obtenidos se debe principalmente a la presencia de compuestos nitrogenados como el hexahidro-3-(fenil metil) pirrolo [1,2-a] pirazina-1,4-diona; hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrolo[1,2-a]pirazina-1,4-diona; 3-bencil-6-isopropil-2,5-piperazinadiona; 6-bis(2-metilpropil)-2,5-piperazinadiona, 6-bis(2-metilpropil)- 2,5-piperazinadiona; por esta razón tratamientos como el 3, 4, 6, 8 y el a reflujo abierto no presentan mayor coloración (Anexo 1, Figura 11).

Al comparar los tratamientos según su composición, se observa (Anexo 7) que el tratamiento 4 es el mejor, ya que alrededor del 50% de su composición está formada por hidrocarburos de 8 a 12 carbonos, entre alcanos, cicloalcanos ramificados y aromáticos.

Al comparar los compuestos presentes en los biocombustibles obtenidos a partir de los tratamientos 12 y a reflujo abierto la Tabla 4.12 muestra que únicamente tienen tres compuestos en común, el 2,2,4-trimetil-pentano, p-xileno y ácido 2-propenóico-2-etil hexil éster. Pero según su composición (Anexo 7), el producto del T12 tiene un 21.58 % de 2,2,4-trimetil-pentano mientras que el producto obtenido a reflujo abierto posee un 17.81%.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se caracterizó la biomasa de microalgas *Chlorella* mediante la determinación del porcentaje de humedad, cenizas y lípidos, siendo  $6.74 \pm 0.22$  %,  $5.06 \pm 0.01$  % y  $0.68 \pm 0.04$ , respectivamente.
- Se activó la zeolita natural con una solución 1 mol/L de nitrato de amonio y se caracterizó mediante difracción de rayos X, mostrando que la activación disminuyó el porcentaje de grupo zeolita en su composición de 72 a 47%.
- Se realizó una conversión hidrotérmica asistida por microondas de biomasa de microalgas *Chlorella* variando tiempos de reacción (30, 60 y 120 min), masa de zeolita natural como catalizador (0 g y 0.25 g) y relaciones biomasa: agua (1:10 y 1:30), determinándose que el mejor tratamiento fue el 12, a 120 min de irradiación microondas, 0.25 g de catalizador y 1:30 microalgas: agua. Se determinó que el porcentaje de biocombustible obtenido fue de  $12.05 \pm 0.09$  %.
- Se analizaron los productos obtenidos mediante GC-MS mostrando que están formados básicamente de hidrocarburos alifáticos, aromáticos, fenoles, oxigenados y compuestos nitrogenados, entre otros.
- Se comparó la obtención de biocombustible a partir de una conversión hidrotérmica asistida por microondas con una conversión de calentamiento convencional a reflujo, demostrándose que la primera es mucho más efectiva que la segunda, ya que por medio de la conversión asistida por microondas se obtiene  $12.05 \pm 0.09$  % de biocombustible mientras que con reflujo abierto  $3.56 \pm 0.42$  %.

#### 5.2 Recomendaciones

- Las fases sólida, acuosa y gaseosa, después de la conversión, no fueron consideradas, resultaría importante investigar sobre su composición y posibles usos.
- Para determinar la viabilidad del uso del biocombustible a partir de los tratamientos estudiados sería conveniente realizar pruebas que comprueben su calidad como combustible.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Amin, S. (Julio de 2009). Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 50(7), 1834-1840.
2. Anastasakis, K., & Ross, A. (Enero de 2011). Hydrothermal liquefaction of the brown macro-alga *Laminaria Saccharina*: Effect of reaction conditions on product distribution and composition. *Bioresource Technology*, 102(7), 4876-4883.
3. Atkins, P., & De Paula, J. (2006). *Química Física*. Madrid: Oxford University Press.
4. Biller, P., & Ross, A. (2011). Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content. *Bioresource Technology*, 102(1), 215-225.
5. Biller, P., Riley, R., & Ross, A. (2011). Catalytic hydrothermal processing of microalgae: Decomposition and upgrading of lipids. *Bioresource Technology*, 102(7), 4841-4848.
6. Carrillo, S., Casas, M., Ramos, F., Pérez, F., & Sánchez, I. (2002). Algas marinas de Baja California Sur, México: Valor nutrimental. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(4), 400-405.
7. Castellan, G. W. (1987). *Fisicoquímica*. Wilmington: Addison Wesley Iberoamericana S.A.
8. Corma, A. (2011). Catálisis con zeolitas: Desde el laboratorio a su aplicación industrial. *Arbor*(187), 83-102.
9. Crecente, J. (Abril de 2009). Síntesis orgánica asistida por microondas. Obtención del enol carbamatos, tetrahidroisoquinolinas, benzoazepinas, tiazolinas, sulfuros de fosfoles, isoflavonas, arilcumarinas, cumarinocumarinas y núcleos de dendímeros. Aplicaciones. Tesis de doctorado, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
10. Demirbas, A., & Demirbas, M. F. (2010). *Algae Energy*. Trebisonda. Springer.
11. Demirbas, F. (2011). Biofuels from algae for sustainable development. *Applied Energy*, 88(10), 3473-3480.
12. Du, Z. (2013). Thermochemical conversion of microalgae for biofuel production. Tesis de doctorado, University of Minnesota, Minnesota, Estados Unidos.
13. Du, Z., Li, Y., Wang, X., Wan, Y., Chen, Q., Wang, C., . . . Ruan, R. (2011). Microwave assisted pyrolysis of microalgae for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102 (7), 4890-4896.

14. Du, Z., Ma, X., Li, Y., Chen, P., Liu, Y., Lin, X., . . . Ruan, R. (2013). Production of aromatic hydrocarbons by catalytic pyrolysis of microalgae with zeolites: Catalyst screening in a pyroprobe. *Bioresource Technology*, 13 397-401.
15. Frikha, F., Kammoun, M., Hammami, N., Mchirgui, R., Belbahri, L., Gargouri, Y., . . . Ben-Rebah, F. (2011). Composición química y algunas actividades biológicas de algas marinas recolectadas en Túnez. *Ciencias Marinas*, 37(2), 113-124.
16. Garibay, A., Vásquez, R., Sánchez, M., Serrano, L., & Martínez, A. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología*, 13(3), 38-61.
17. Gómez, J. (2001, Mayo). Síntesis, caracterización y aplicaciones catalíticas de zeolitas básicas. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid.
18. Hernández, A., & Labbé, J. (2014, Agosto). Microalgas, cultivo y beneficios. *Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173.
19. House, J. (2007). Principles of chemical kinetics. San Diego: Elsevier.
20. Hu, Z., Ha, X., & Chen, C. (2012). A study on experimental characteristic of microwave-assisted pyrolysis of microalgae. *Bioresource Technology*, 107, 487-493.
21. Izquierdo, J., Cunill, F., Tejero, J., Iborra, M., & Fité, C. (2004). Cinética de las reacciones químicas. Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona.
22. Jurado, M. (2004, Diciembre). Estudio de la desaluminización post síntesis de una zeolita tipo A. Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
23. Kim, D., & Chung, H. (2003). Synthesis and characterization of ZSM-5 zeolite from serpentine. *Applied Clay Science*, 24(1-2), 69-77.
24. Landeau, R. (2005). Elaboración de trabajos de investigación. Caracas: Alfa.
25. Leonelli, C., & Veronesi, P. (2015). Microwave Reactors for Chemical Synthesis and Biofuels Preparation. *Biofuels and biorefineries*, 3, 17-40.
26. Maity, J. P., Bundschuh, J., Chen, C.-Y., & Bhattacharya, P. (2014). Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: Present and future perspectives - A mini review. *Energy*, 78, 104-103.
27. Mata, T., Martins, A., & Caetano, N. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.
28. Mendoza, A., Flores, J., Flores, M., Vidal, J., & Paz, F. (2014). Estudio sobre la incorporación y retención de plomo en zeolita natural. *Epistemos*, 17(8), 16-22.

29. Molina, D. (2014). *Proyecto: Síntesis de biodiesel a partir de aceite producido por algas antárticas*. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
30. Núñez, Y. (2009). Estudio de una zeolita natural del tipo clinoptilolita activada y no activada y su actividad en la deshidratación de alcoholes. Tesis de grado. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
31. Pascale, M., Chauvin, B., Fajula, F., & Figueras, F. (1988). Activation of Zeolite  $\Omega$ . *Applied Catalysis*, 42(1), 105-120.
32. Pavlovic, I., Knez, Z., & Skerget, M. (Febrero de 2013). Subcritical Water a Perspective Reaction Media for Biomass Processing to Chemicals: Study on Cellulose Conversion as a Model for Biomass. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 27(1), 78-82.
33. Potter, B. A. (1984). *Chlorella The Emerald Food*. Berkeley: Ronin Publishing Inc.
34. Quintero, K. (2012). Síntesis de cordierita a partir de hidroxihidrogeles bajo tratamiento hidrotermal. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
35. Reyes, J. (Marzo de 2013). Reacción asistida por microondas para la obtención de hidrocarburos a partir de aserrín de madera. Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
36. Ross, A., Biller, P., Kubacki, M., Li, H., Lea-Langton, L., & Jones, J. (2010). Hydrothermal processing of microalgae using alkali and organic acids. *Fuel*, 89(9), 2234-2243.
37. Salas, M. (2015). Perfil lipídico de microalgas antárticas recolectadas en febrero 2013 en el archipiélago schetland del sur. Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
38. Skoog, D. A., Holler, J. J., & Nieman, T. A. (1992). *Principios de Análisis Instrumental*. Madrid: Mc Graw Hill.
39. Suali, E., & Sarbatly, R. (2012). Conversion of microalgae to biofuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(6), 4316-4342.
40. Toor, S. S., Rosendahl, L., & Rudolf, A. (2011). Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies. *Energy*, 36(5), 2328-2342.
41. Vidal, A., Fallarero, A., De Andrade, E., Oliveira, A., De Lima, A., Pavan, R., . . . Mancini, J. (2006). Composición química y actividad antioxidante del alga marina roja *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) Howe. *Revista Brasileira de Ciencias Farmacéuticas*, 42(4), 589-600.

42. Wang, L., Min, M., Li, Y., Y. C., Liu, Y., Wang, Y., & Ruan, R. (2010). Cultivation of green algae chlorella sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4), 1174-1186.
43. Xu, H., Miao, X., & Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga Chlorella protothecoides by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*, 126(4), 499-507.
44. Zhou, D., Zhang, L., Zhang, S., Fu, H., & Chen, J. (Noviembre de 2010). Hydrothermal Liquefaction of Macroalgae Enteromorpha prolifera to Bio-oil. *Energy & Fuels*, 24(7), 4051-4061.



## ANEXOS

### ANEXO 1. Equipos y materiales usados en la investigación.



**Figura 1.** Equipo microondas



**Figura 2.** Accesorios del digestor microondas Berghof Speed Wave four.



**Figura 3.** Rotavapor IKA HB 10 acoplado al controlador IKA RV 10



**Figura 4.** Cromatógrafo de gases Agilent Technologies GS 7890C acoplado a un detector selectivo de masas Agilent Technologies 5975C Inert MSD.



**Figura 5.** Activación de zeolita



**Figura 6.** Zeolita vs. zeolita activada

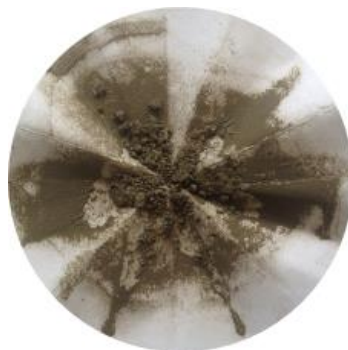


irradiación con microondas



reflujo abierto

**Figura 7.** Mezcla de reacción después de la conversión hidrotérmica

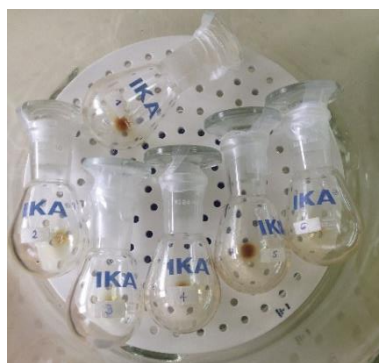


irradiación con microondas



reflujo abierto

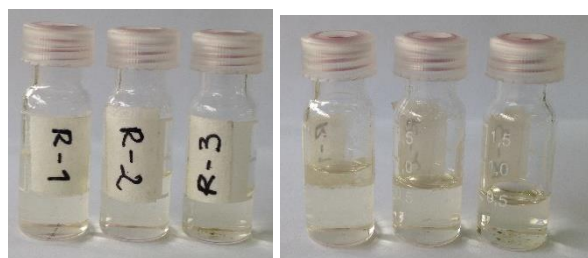
**Figura 8.** Microalgas después de la conversión hidrotérmica



**Figura 9.** Productos concentrados.



**Figura 10.** Productos obtenidos a través de una conversión hidrotérmica asistida por microondas en viales de 1.5 mL



**Figura 11.** Productos obtenidos por medio de conversión a reflujo en viales de 1.5 mL



**ANEXO 2.** Datos experimentales para la determinación del tamaño de partícula de la zeolita activada



**Figura 12.** Zeolita activada a 40 X

**Tabla 1.** Tamaños de partícula de la zeolita activada

#	μm	#	μm	#	μm	#	μm	#	μm	#	μm
1	2.94	11	5.07	21	5.90	31	7.22	41	8.41	51	10.49
2	3.05	12	5.07	22	5.93	32	7.60	42	8.49	52	10.60
3	3.54	13	5.07	23	6.40	33	7.64	43	8.49	53	11.03
4	3.63	14	5.46	24	6.46	34	7.81	44	8.50	54	11.06
5	3.98	15	5.50	25	6.46	35	7.81	45	8.53	55	11.10
6	4.20	16	5.58	26	6.72	36	7.90	46	8.76	56	12.11
7	4.56	17	5.60	27	6.76	37	7.91	47	8.84	57	12.18
8	4.59	18	5.65	28	6.78	38	8.13	48	9.30	58	14.45
9	4.71	19	5.69	29	6.84	39	8.15	49	9.34	59	15.79
10	4.77	20	5.86	30	6.87	40	8.29	50	9.39	60	16.53

### ANEXO 3. Análisis de difracción de rayos X



## ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL DEPARTAMENTO DE METALURGIA EXTRACTIVA

### Resultados de Análisis

**Solicitante:** Gabriela Paredes

**Referencia:** ST- 7043

**Fecha:** 12/11/2015

**Muestras recibidas:** Dos muestras sólidas denominadas:

**Muestra 1\*:** ZEOLITA COMERCIAL (*Código cliente*)

**Muestra 2\*:** ZEOLITA COMERCIAL ACTIVADA (*Código cliente*)

### Resultados Análisis Difracción de Rayos X

La determinación de los compuestos con cristalización definida presentes en la muestra se realizó empleando el Difractómetro D8 ADVANCE y el programa Diffrac plus (EVA y TOPAS) para cualificación y cuantificación. A continuación se detallan los resultados obtenidos del análisis:

Mineral	Formula	Muestra 1 Contenido (%)	Muestra 2 Contenido (%)
Cuarzo	SiO <sub>2</sub>	2	5
Cristobalita	SiO <sub>2</sub>	26	48
Grupo zeolita (Mordenita, Heulandita, stilbita)	X(YO <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> · mH <sub>2</sub> O Con X: Na, Ca, Ba, Sr, K, Mg, Li Y: Si, Al	72	47


Nota: El límite de detección del equipo empleado es del 1% para compuestos con cristalización definida.

\*Las muestras presentan altos contenidos de fases amorfas por lo que los resultados presentados son semicuantitativo debido a la calidad de los difractogramas obtenidos.

  
Ing. Ernesto de la Torre PhD.  
Jefe de Departamento



  
M.Sc. Evelyn Criollo  
Jefe de Laboratorios

  
Ing. Diana Endara PhD.  
Responsable

#### ANEXO 4. Compuestos identificados por GC-MS según referencias bibliográficas

Categories	Compounds	Area/ %	Bio-crude condition	Chlorella
Aliphatics	Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	15.19		
	2-Hexadecene, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	2.02		
	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-1-Tridecene	1.83		
Aromatics	Toluene	0.55		
	Ethylbenzene	0.49		
	Styrene	6.99		
	o-Xylene	2.34		
	Benzene	1.02		
Nitrogenated compounds		0.91		
		0.72		
		0.52		
		28.39		
Phenols	Indole	2.24		
	Hexadecanamide	1.81		
	Pentadecanenitrile	1.72		
	1H-Pyrrole, 3-methyl-	1.11		
	Phenol, 4-methyl-	6.20		
	Phenol	2.59		
	Phenol, 2-ethyl-	1.67		
PACs		0.55		
		3.38		
	Naphthalene	0.61		
	Anthracene	0.48		
Others		17.90		
	n-Hexadecanoic acid	5.04		
	Oleic Acid	4.73		
	Hexadecenoic acid, Z-11-	2.09		
	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	0.11		
Unidentified		21.95		

GC-MS Identified Compound	H <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	HCOOH
Phenols	x	x	x
Phytol		x	
Indole	x		x
Pyrrols	x		
Piperidine	x	x	
Hexadecamide	x		x
Cyclohexylamine			
Hexadecane			
Heptadecane		x	x
Pentadecene	x		
Octanoic acid	x		x
Cyclohexanone			
Cyclopentanone			
Benzene			
Indenone			
Ethanone			
Tetradecanoic Acid			
Oleic Acid			
Hexadecanoic Acid			x

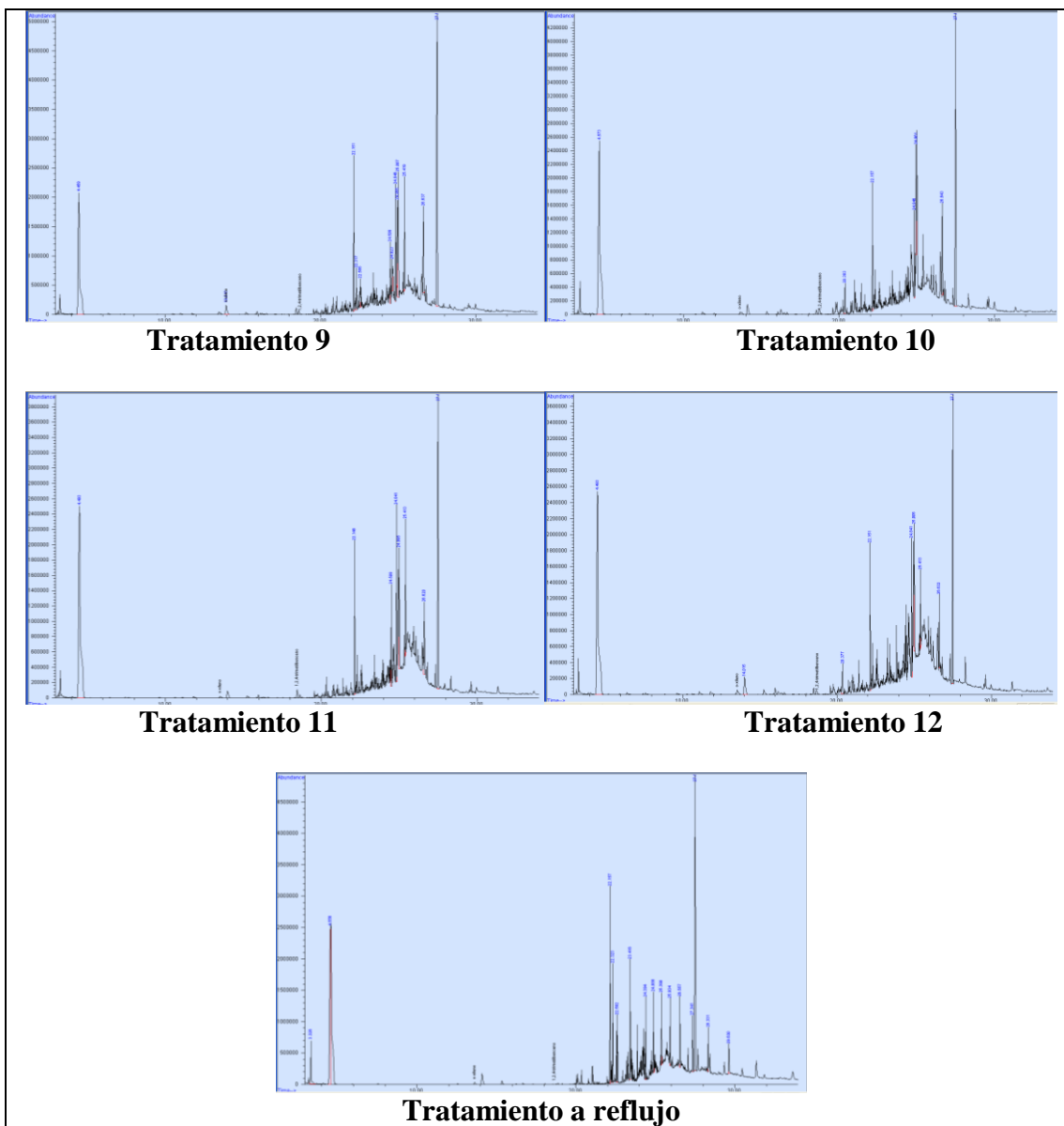
  

No.	Compound	No.	Compound
1	1, Butyl pyrrolidine	14	Heptadecane
2	1, Pentyl piperidine	15	2, Phenylethyl acetamide
3	Phenol	16	3,7,11 Trimethyl 1-docadanol
4	Acetamide	17	Hexadecane tetramethyl
5	Phenylethyl alcohol	18	1,3 Heptadecyn-1-ol
6	4, Methyl phenol	19	Piperidine derivative
7	Piperidine-2,5-dione	20	n-Heaxadecanoic acid
8	n-Methyl butylacetamide	21	Phytol
9	4, Ethyl phenol	22	Indole derivative
10	1, Pentadecene	23	Hexadecanamide
11	1, Butyl 2-pyrrolidinone	24	Unknown aliphatic amide
12	Hydroxyl ethyl succinimide	25	Fatty acid derivative
13	1, Methyl indole	26	Stearic acid derivative

**Figura 13.** Compuestos identificados en conversiones hidrotérmicas de microalgas Chlorella. Tomado de (Du, et al., 2011), (Biller & Ross, 2011) y (Ross, et al., 2010), respectivamente.







**Figura 14.** Cromatogramas de los productos obtenidos para los diferentes tratamientos

## ANEXO 6. Resultados de los análisis GC-MS de los productos obtenidos para los diferentes tratamiento, media de tres tratamientos.

Compuestos identificados GC-MS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	R
o-xileno	16.11 ± 4.87	17.71 ± 3.93	17.55 ± 0.99	12.00 ± 0.68	11.42 ± 0.90	10.10 ± 1.08	12.44 ± 1.24	2.91 ± 0.24		1.22 ± 0.02			
2,2,3,3-tetrametil-butano	9.78 ± 0.77	10.45 ± 1.95	14.18 ± 1.58	25.90 ± 2.29	15.74 ± 1.61	12.32 ± 1.81	20.31 ± 1.12	18.01 ± 1.14	24.11 ± 4.51	24.92 ± 1.89	29.63 ± 1.71		
2,2,4-trimetil-pentano												21.58 ± 8.85	17.81 ± 0.72
etilbenceno	6.39 ± 0.37	5.29 ± 0.60	3.95 ± 0.29	2.35 ± 0.43	2.11 ± 0.39	2.53 ± 0.22	2.87 ± 0.20	2.77 ± 0.35					
p-xileno	4.58 ± 0.15	4.34 ± 0.67	3.39 ± 0.26	2.46 ± 0.37	2.59 ± 0.36	1.98 ± 0.16	2.66 ± 0.22	13.86 ± 1.25	1.18 ± 0.15		0.96 ± 0.08	1.87 ± 0.24	1.51 ± 0.08
fitol	4.36 ± 0.15	3.29 ± 0.46	1.97 ± 0.52		2.58 ± 0.14	1.19 ± 0.75	2.32 ± 0.01	2.86 ± 0.55	3.84 ± 0.19	1.04 ± 0.12	4.32 ± 0.48	1.31 ± 0.20	
1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno	3.08 ± 0.14	2.88 ± 0.18	3.33 ± 0.24	3.62 ± 0.42	3.00 ± 0.40	1.99 ± 0.18	2.79 ± 0.31	2.86 ± 0.28					2.74 ± 0.19
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	2.97 ± 0.48	1.98 ± 0.12	2.43 ± 0.30	1.98 ± 0.20	2.77 ± 0.45	2.17 ± 0.49	2.51 ± 0.40	2.53 ± 0.09					3.52 ± 0.29
isofitol	2.41 ± 0.09	2.53 ± 0.02				1.01 ± 0.19			2.93 ± 0.35	1.72 ± 0.17	3.29 ± 0.26	2.65 ± 0.32	
ácido 2-propenóico-2-etil hexil éster	1.76 ± 0.06	1.69 ± 0.09	2.08 ± 0.27	2.22 ± 0.30	1.89 ± 0.11	1.33 ± 0.07	2.49 ± 0.24	2.89 ± 0.21	3.31 ± 0.71	2.93 ± 0.08	4.36 ± 0.67	3.22 ± 0.41	5.83 ± 0.57
hexahidro-3- (fenil metil) pirrolo [1,2-a] pirazina-1,4-diona	1.75 ± 0.60	1.89 ± 0.49			2.09 ± 0.30		2.25 ± 0.31		4.36 ± 0.36	3.99 ± 0.35	3.01 ± 0.64	3.00 ± 0.48	
2-acetilciclopentanona			2.02 ± 0.20	1.94 ± 0.24			1.42 ± 0.31		5.72 ± 0.75				
4-isopropil-1,3-cyclohexanadiona			1.61 ± 0.20	1.48 ± 0.23				1.39 ± 0.08					1.12 ± 0.09
1,2,4-trimetil-cyclohexano				1.54 ± 0.21				1.75 ± 0.11					1.55 ± 0.06
hexahidro-3-(2-metilpropil)-pirrolo [1,2-a] pirazina-1,4-diona					4.16 ± 0.84				7.95 ± 0.91	7.15 ± 0.51	5.99 ± 0.28	5.45 ± 0.93	
1,2-dipropil-ciclopentano						1.08 ± 0.08							
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona									1.46 ± 0.18				
3-bencil-6-isopropil-2,5-piperazinadiona									1.06 ± 0.07	1.34 ± 0.10	1.54 ± 0.32	1.28 ± 0.20	
3,6-bis(2-metilpropil)- 2,5-piperazinadiona										7.13 ± 0.57	4.15 ± 0.14	6.32 ± 1.29	
3-metil-1,2-ciclopentanadiona										1.43 ± 0.66		1.77 ± 0.35	
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona											2.01 ± 0.19		
1,2-dietil-3-metil- ciclohexano													1.16 ± 0.15
9-metil- nonadecano													1.01 ± 0.09
4-metil-octano													1.18 ± 0.08

Nota: el porcentaje corresponde al área de los picos de cada compuesto.

**ANEXO 7. Hidrocarburos C8-C12 identificados en el análisis GC-MS de los productos obtenidos para los diferentes tratamientos.**

Compuestos identificados GC-MS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	R
o-xileno	16.11 ± 4.87	17.71 ± 3.93	17.55 ± 0.99	12.00 ± 0.68	11.42 ± 0.90	10.10 ± 1.08	12.44 ± 1.24	2.91 ± 0.24		1.22 ± 0.02			
2,2,3,3-tetrametil-butano	9.78 ± 0.77	10.45 ± 1.95	14.18 ± 1.58	25.90 ± 2.29	15.74 ± 1.61	12.32 ± 1.81	20.31 ± 1.12	18.01 ± 1.14	24.11 ± 4.51	24.92 ± 1.89	29.63 ± 1.71		
2,2,4-trimetil-pentano												21.58 ± 8.85	17.81 ± 0.72
etilbenceno	6.39 ± 0.37	5.29 ± 0.60	3.95 ± 0.29	2.35 ± 0.43	2.11 ± 0.39	2.53 ± 0.22	2.87 ± 0.20	2.77 ± 0.35					
p-xileno	4.58 ± 0.15	4.34 ± 0.67	3.39 ± 0.26	2.46 ± 0.37	2.59 ± 0.36	1.98 ± 0.16	2.66 ± 0.22	13.86 ± 1.25	1.18 ± 0.15		0.96 ± 0.08	1.87 ± 0.24	1.51 ± 0.08
1,3-bis(1,1-dimetiletil)- benceno	3.08 ± 0.14	2.88 ± 0.18	3.33 ± 0.24	3.62 ± 0.42	3.00 ± 0.40	1.99 ± 0.18	2.79 ± 0.31	2.86 ± 0.28					2.74 ± 0.19
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	2.97 ± 0.48	1.98 ± 0.12	2.43 ± 0.30	1.98 ± 0.20	2.77 ± 0.45	2.17 ± 0.49	2.51 ± 0.40	2.53 ± 0.09					3.52 ± 0.29
1,2,4-trimetil-ciclohexano				1.54 ± 0.21				1.75 ± 0.11					1.55 ± 0.06
1,2-dipropil-ciclopentano						1.08 ± 0.08							
9-metil- nonadecano													1.01 ± 0.09
4-metil-octano													1.18 ± 0.08
<b>Total hidrocarburos</b>	<b>42.91 ± 6.78</b>	<b>42.66 ± 7.45</b>	<b>44.83 ± 3.66</b>	<b>49.84 ± 4.60</b>	<b>37.62 ± 4.12</b>	<b>32.16 ± 4.01</b>	<b>43.57 ± 3.49</b>	<b>44.69 ± 3.47</b>	<b>25.29 ± 4.67</b>	<b>26.14 ± 1.91</b>	<b>30.59 ± 1.79</b>	<b>23.45 ± 9.08</b>	<b>29.31 ± 1.51</b>

Nota: el porcentaje corresponde al área de los picos de cada compuesto.