



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y
MECÁNICA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN PETROQUÍMICA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO EN PETROQUÍMICA**

**TEMA: ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO DE
SODIO DERIVADO DE MACROALGAS PARDAS Y SU
CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA CATALIZADA A ÁCIDO
LÁCTICO UTILIZANDO DIGESTIÓN POR MICROONDAS**

AUTORA: JESSENIA ESTEFANÍA LÓPEZ ORTEGA

DIRECTOR: ROMÁN RODRÍGUEZ, Ph.D

LATACUNGA

2018



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y MECÁNICA

CARRERA DE INGENIERÍA EN PETROQUÍMICA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el proyecto de investigación, “**ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO DE SODIO DERIVADO DE MACROALGAS PARDAS Y SU CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA CATALIZADA A ÁCIDO LÁCTICO UTILIZANDO DIGESTIÓN POR MICROONDAS**” realizado por **JESSENIA ESTEFANÌA LÓPEZ ORTEGA**, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar a **JESSENIA ESTEFANÌA LÓPEZ ORTEGA** para que lo sustente públicamente.

Latacunga, 06 de marzo de 2018

PhD. Roman Rodríguez

Director



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y MECÁNICA
CARRERA DE INGENIERÍA EN PETROQUÍMICA**

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Jessenia Estefanía López Ortega**, con cedula de ciudadanía N° 1804377347 declaro que el presente proyecto de investigación, **“ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO DE SODIO DERIVADO DE MACROALGAS PARDAS Y SU CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA CATALIZADA A ÁCIDO LÁCTICO UTILIZANDO DIGESTIÓN POR MICROONDAS”** ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existentes, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

Consecuentemente declaro que este trabajo es de mi autoría, en virtud de ello me declaro responsable del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Latacunga, 06 de marzo de 2018



Jessenia Estefanía López Ortega

C.C: 1804377347



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y MECÁNICA
CARRERA DE INGENIERÍA EN PETROQUÍMICA**

AUTORIZACIÓN

Yo, **JESSENIA ESTEFANÍA LÓPEZ ORTEGA**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la Biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación “**ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGINATO DE SODIO DERIVADO DE MACROALGAS PARDAS Y SU CONVERSIÓN HIDROTÉRMICA CATALIZADA A ÁCIDO LÁCTICO UTILIZANDO DIGESTIÓN POR MICROONDAS**” cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad.

Latacunga, 06 de marzo de 2018

A handwritten signature in blue ink is positioned above a horizontal line. The signature is stylized and appears to read 'J. Ortega'.

Jessenia Estefanía López Ortega

C.C: 1804377347

DEDICATORIA

A Dios y a Jesús, por guiarme, cuidarme y escucharme; además; por ser la fuerza en mi vida y mostrarme el camino hacia la superación.

A mi papi Guido y mami Eloísa, que desde el día que nací ya estaban buscando maneras de ofrecerme lo mejor. Han trabajado duro y sin importar el cansancio siempre tenían una sonrisa que ofrecerme, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí.

A mis hermanos Gaby y Julio, por ser cómplices de mis sueños y aventuras.

A Jhoe, quien ha sido mi mano derecha durante todo este tiempo, por brindarme tu hombro cuando lo necesite, por ser una de las principales personas involucradas en esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por protegerme, iluminarme y permitirme culminar esta hermosa etapa de mi vida.

A mi Padre por enseñarme a luchar, enfrentar y perseverar en todas las situaciones complicadas en este recorrido, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi Madre por escucharme en los momentos difíciles, por su comprensión y por el soporte que hace que no me derrumbe en momentos que pareciera no haber solución.

A mis hermanos Gaby y Julio por su apoyo incondicional, por estar pendiente de mí, sacarme sonrisas en días amargos y ser mis amigos para toda la vida.

A Jhoe, que durante estos años de carrera a compartido conmigo alegrías y fracasos; además, por siempre brindarme su mano para levantarme y nunca rendirme, por escucharme, aconsejarme, enseñarme a ser mejor persona y ante todo demostrarme que siempre podré contar el.

Al Dr. Róman Rodríguez por compartir su tiempo y sabiduría que iluminaron mi conocimiento; además, con sus palabras de aliento me dio fuerzas para seguir adelante y ser perseverante en cumplir mis ideales.

Al Dr. Eduardo Vhymeister por la paciencia y constancia; además, por ofrecerme sus sabios conocimientos para la realización del presente trabajo.

Al Ing, David Luna por darme las fuerzas y buenos augurios durante la carrera, además por su tiempo para la revisión de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA	i
CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD.....	iii
AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
ÍNDICE DE ECUACIONES	xix
ÍNDICE DE ANEXOS.	xx
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xxi
RESUMEN.....	xxii
ABSTRACT	xxiii

CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES.....	1
1.1. Introducción	1

1.2.	Descripción del problema	2
1.3.	Propuesta	3
1.4.	Objetivos	4
1.4.1	Objetivo General	4
1.4.2	Objetivos Específicos.....	4

CAPÍTULO II

2.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ESTADO DEL ARTE	5
2.1.	Fundamento teórico.....	5
2.1.1	Algas marinas.....	5
2.1.2	Algas marinas en Ecuador.....	5
2.1.3	Clasificación de las algas.	6
2.1.4	Macroalgas pardas o feofíceas.	7
2.1.5	Alginato.....	10
2.1.6	Hidrotratamiento para la producción de ácidos orgánicos a partir de la biomasa.	13
2.1.7	Hidrotratamiento catalítico.....	14
2.1.8	Ácidos carboxílicos.....	15
2.1.9	Metodología de superficie de respuesta (RSM).	17
2.1.10	Análisis químico.....	23
2.2.	Estado de arte.	31

CAPÍTULO III

3.	METODOLOGÍA	33
3.1.	Equipos, materiales y reactivos.....	33
3.1.1	Equipos:.....	33
3.1.2	Materia prima:.....	33
3.1.3	Materiales:.....	33
3.1.4	Reactivos:.....	34

3.2.	Protocolo de conservación y preservación de macroalgas marinas.	34
3.2.1	Recolección de las algas marinas.	35
3.2.2	Identificación del espécimen.	36
3.2.3	Deshidratar la especie.	36
3.2.4	Conservación.	37
3.3.	Diseño experimental para la extracción del alginato de sodio en el sistema de digestión de microondas.	37
3.4.	Diseño experimental para la producción del ácido láctico en el sistema de digestión por microondas.	41
3.5.	Optimización de las condiciones de los diseños experimentales para la extracción del alginato de sodio y la producción de ácido láctico.	43
3.6.	Análisis químicos.	44
3.6.1	Rendimiento.	44
3.6.2	Análisis de masa molar por viscosimetría capilar.	45
3.6.3	Determinación de la razón M/G del alginato de sodio por análisis de espectroscopia vibracional FT- IR.	47
3.6.4	Calorimetría diferencial de barrido (DSC).	47
3.6.5	Análisis Termogravimétrico (TGA).	48
3.7.	Análisis de la cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de movilidad iónica (GC- IMS).	49

CAPÍTULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	51
4.1.	Protocolo de conservación y preservación de macroalgas marinas	51
4.1.1	Área de estudio.	51
4.1.2	Recolección de las algas marinas.	52
4.1.3	Identificación del espécimen.	52
4.1.4	Preservación de las algas.	53
4.1.5	Conservación del material recolectado	53
4.2.	Optimización de las condiciones del diseño experimental para la extracción del alginato de sodio.	55

4.2.1	Análisis de la varianza.	57
4.2.2	Análisis de los efectos estandarizados.	61
4.2.3	Análisis de la superficie de respuesta.....	63
4.2.4	Optimización de las condiciones de extracción de alginato de sodio.	64
4.3.	Análisis químicos.	69
4.3.1	Análisis de peso molecular promedio por viscosimetría capilar.....	69
4.3.2	Determinación de la razón M/G del alginato de sodio por análisis de espectroscopia vibracional FT- IR.	71
4.3.3	Determinación de la temperatura de transición vítrea y la temperatura de fusión del alginato de sodio mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).	75
4.3.4	Análisis termogravimétrico (TGA).	78
4.4.	Análisis de la cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de movilidad iónica (GC- IMS).	80
4.5.	Optimización de las condiciones del diseño experimental para la producción de ácido láctico.	84
4.5.1	Análisis de la varianza.	85
4.5.2	Análisis de los efectos estandarizados.	87
4.5.3	Análisis de las superficies de respuesta.....	88
4.5.4	Optimización de las condiciones de producción de ácido láctico.....	90

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
5.1.	Conclusiones	95
4.8.	Recomendaciones.....	97

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
----------------------------------------	-----------

ANEXOS 109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Propiedades críticas de algunos fluidos.	13
Tabla 2.	Propiedades del óxido de calcio.....	15
Tabla 3.	Propiedades físicas y químicas del ácido láctico.	17
Tabla 4.	Diseño de Box- Behnken para tres variables.	21
Tabla 5.	Diseño de Box- Behnken para cuatro variables	22
Tabla 6.	Niveles de tratamiento y valores codificados de las variables independientes para la extracción de alginato de sodio.	38
Tabla 7.	Límites de operabilidad del reactor CX100.	39
Tabla 8.	Matriz de diseño experimental de Box- Behnken en el software Statgraphics, para la extracción de alginato de sodio.....	39
Tabla 9.	Niveles de tratamiento y valores codificados de las variables independientes de la producción de ácido láctico.	41
Tabla 10.	Diseño experimental de Box- Behnken para la producción de ácido láctico.	42
Tabla 11.	Ecuaciones para viscometría capilar	46
Tabla 12.	Condiciones de operación del equipo IMS para la visualización del ácido láctico.....	49
Tabla 13.	Datos de marea de la playa de Machalilla.....	52
Tabla 14.	Identificación del espécimen recolectada.....	53
Tabla 15.	Porcentaje promedio en peso del alga tamizada.	55
Tabla 16.	Programas de calentamiento microondas para la solución de alginato.	56
Tabla 17.	Determinación del rendimiento de extracción de alginato de sodio.	57

Tabla 18.	Diseño experimental Box- Becker para la extracción de alginato de sodio.	58
Tabla 19.	Análisis de la varianza (ANOVA) del modelo de metodología de respuesta tipo Box- Bekhen.....	59
Tabla 20.	Comparación de valores observados y ajustados para el rendimiento de la extracción.....	60
Tabla 21.	Efectos estimados en la extracción de alginato.....	62
Tabla 22.	Punto óptimo de la extracción de alginato de sodio.....	64
Tabla 23.	Determinación de la viscosidad intrínseca del Alginato Sigma- Aldrich.	69
Tabla 24.	Determinación de la viscosidad intrínseca del Alginato Optimo.....	70
Tabla 25.	Viscosidad intrínseca y masa molar promedio de los extractos de alginato.	71
Tabla 26.	Asignaciones de IR bandas de absorción para alginato de sodio.....	71
Tabla 27.	Bandas características de las muestras de alginato de sodio.....	72
Tabla 28.	Valores de los ratios M/G de los extractos de alginato.....	75
Tabla 29.	Picos característicos de la curva DSC del alginato de sodio.....	76
Tabla 30.	Temperaturas de los análisis DSC de las muestras de alginato.	76
Tabla 31.	Peldaños característicos del alginato de sodio en las curvas del TGA. .	78
Tabla 32.	Datos termogravimétricos de las muestras de alginato de sodio.....	80
Tabla 33.	Análisis topográfico de los compuestos.....	81
Tabla 34.	Datos de calibración del ácido láctico y ácido acético.....	82
Tabla 35.	Rendimiento de producción del ácido láctico a partir del alginato de sodio.	83

Tabla 36.	Rendimiento de producción del ácido láctico a partir del alga parda. ...	84
Tabla 37.	Análisis de la varianza del modelo de respuesta tipo Box- Bekhen para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio.	85
Tabla 38.	Análisis de la varianza del modelo de respuesta tipo Box- Bekhen para la producción de ácido láctico a partir del alga parda.	86
Tabla 39.	Comparación de valores observados y estimados para la obtención del ácido láctico.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Alga parda.....	7
Figura 2.	Clasificación de las algas pardas.	9
Figura 3.	<i>Fucus serratus L.</i>	9
Figura 4.	<i>Laminaria hiperbórea</i>	10
Figura 5.	<i>Laminaria digitata</i>	10
Figura 6.	<i>Padina Pavonica</i>	10
Figura 7.	<i>Padina Durvillaei</i>	10
Figura 8.	Estructura del alginato.	11
Figura 9.	Estructura química del alginato de sodio.....	12
Figura 10.	Grupo carboxilo.....	16
Figura 11.	Estructuras isómericas del ácido láctico.....	16
Figura 12.	Superficie de respuesta dimensional.....	18
Figura 13.	Superficie de respuesta tridimensional.	19
Figura 14.	Líneas horizontales del plano x_1 y x_2 en la gráfica de superficie de respuesta.	19
Figura 15.	Diseño Box- Behnken de 3 factores	21
Figura 16.	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.....	23
Figura 17.	Gráfica de probabilidad normal de los efectos estandarizados.....	23
Figura 18.	Componentes del instrumento FTIR.	26
Figura 19.	Espectro FT-IR de la apatita hidrotermal, material de partida.	26
Figura 20.	Componentes del equipo de calorimetría diferencial de barrido.	27

Figura 21.	Curva representativa del DSC.	28
Figura 22.	Componentes principales del equipo termogravimétrico.	29
Figura 23.	Análisis termogravimétricos en función del tiempo vs la pérdida de masa de una muestra de carbón bituminoso.	29
Figura 24.	Plasmagrama IMS de una mezcla que contiene 2 principios activos (Etinilestradiol y Desogestrol).....	30
Figura 25.	Fases de producción de alginato de sodio y ácido láctico.	35
Figura 26.	Especie del género Dictyota.	36
Figura 27.	Especie del género Padina.	36
Figura 28.	Sistema de digestión por microondas.	38
Figura 29.	Viscosímetro Cannon-Fenske No. 100.	45
Figura 30.	Espectroscopia infrarroja vibracional FT- IR Frontier.	47
Figura 31.	Equipo de calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	48
Figura 32.	Equipo de análisis termogravimétrico (TGA).	48
Figura 33.	Espectroscopia de movilidad iónica.	50
Figura 34.	Descripción del dispositivo de espectrometría de movilidad iónica	50
Figura 35.	Zona rocosa de la costa de Machalilla- Manabí.	51
Figura 36.	Ubicación de la localidad donde se recolectó el material algal estudiado Machalilla- Manabí (1° 29' 3.99" S; 80° 46' 43.91" W)...	51
Figura 37.	Apariencia de las especies encontradas la playa de Machalilla.....	52
Figura 38.	Algas secadas en el sol.	53
Figura 39.	Arena, esteras y otras algas.....	54
Figura 40.	Partes del alga parda <i>Padina Pavina</i> : bulbo, tallos y hojas.....	54

Figura 41.	Mallado de las hojas de las algas (10, 20 y 40).	54
Figura 42.	Gráficos de los programas de temperatura con sensor IR (°C), presión (Bar) y la posición de los recipientes.....	56
Figura 43.	a) Gráfica normal de los efectos estandarizados con $p=0.05$, b) Esquema de Pareto de los efectos estandarizados con $p =0.05$	62
Figura 44.	Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura de extracción (A), tiempo de reacción (B), concentración alcalina (C) y mallado (D) en el rendimiento de extracción de alginato (R%).	68
Figura 45.	Resultados de viscosimetría capilar para el alginato Sigma- Aldrich.	70
Figura 46.	Resultados de viscosimetría capilar para el alginato óptimo.....	70
Figura 47.	Curvas termogravimétricos de los alginatos de sodios de a) Sigma- Aldrich, b) tratamiento J20, c) el óptimo y el d) tratamiento J13.	80
Figura 48.	Espectro topográfico de calibración del ácido láctico.	81
Figura 49.	Espectro topográfico de calibración del ácido acético.	81
Figura 50.	Curva de calibración del ácido láctico.....	82
Figura 51.	Curva de calibración del ácido acético.	82
Figura 52.	Espectro topográfico de las muestras a) AL13 y b) ALGA 13.	83
Figura 53.	Gráficas de Pareto, para la producción ácido láctico a partir del: a) alginato de sodio y b) alga parda.	88
Figura 54.	Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y la cantidad del catalizador vs el rendimiento de producción de ácido láctico a partir del alginato.	92
Figura 55.	Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de	

un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y la cantidad del catalizador vs el rendimiento de producción de ácido láctico a partir del alga parda. 94

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1.	Relación entre Y y los factores x.....	18
Ecuación 2.	Ecuación polinómica cuadrática de segundo orden.	43
Ecuación 3.	Rendimiento en peso.	44
Ecuación 4.	Ecuación de Mark-Houwink.	46
Ecuación 5.	Relación matemática para la extracción de alginato de sodio.....	59
Ecuación 6.	Modelo cuadrático para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio.....	87
Ecuación 7.	Modelo cuadrático para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio.....	87

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo A. Conservación del alga parda.

Anexo B. Protocolo de conservación y preservación de macroalgas marinas.

Anexo C. Extracción de alginato de sodio a partir del alga *Padina Durvillaei*.

Anexo D. Repeticiones del diseño experimental de la producción del alginato.

Anexo E. Medicion del tiempo (viscosidad).

Anexo F. Valores observados del punto óptimo del alginato de sodio.

Anexo G. Producción de ácido láctico.

Anexo H. Ph vs Constante de disociasion del ácido láctico.

Anexo I. Disminución del ph en las muestras.

Anexo J Espectroscopia de movilidad iónica de la conversión de alginato de sodio a ácido láctico.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

FT-IR. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.

TGA. Análisis termogravimétrico.

DSC. Calorimétrica diferencial de barrido.

IMS. Espectroscopia de movilidad iónica.

Alg- Na. Alginato de sodio.

Pc. Presión crítica.

Tc. Temperatura crítica.

p. Densidad.

Trat. Tratamiento.

PM. Peso molecular.

[η]. viscosidad intrínseca.

nr. Viscosidad relativa.

nsp. Viscosidad específica.

nru. Viscosidad reducida.

ninh. Viscosidad inherente.

RMS. Metodología de superficie de respuesta.

BB. Box- Benken.

R. Rendimiento.

M. Peso molecular.

K y α . Constantes específicas del polímero/ solvente.

seg. Segundos.

mil. Mililitros.

gr. Gramos.

RESUMEN

En el presente trabajo de titulación se determinaron las mejores condiciones para la extracción de alginato de sodio a partir del alga parda del género *Padina Durvillaei* y su transformación a ácido láctico en condiciones hidrotérmicas. Estos procesos son estudiados mediante un análisis de superficie de respuesta de tipo Box- Behnken, las variables evaluadas para la extracción del alginato de sodio fueron: temperatura (80 °C- 100 °C), tiempo de reacción (30 min- 60 min), concentración alcalina (2%- 3% de Na₂CO₃) y el tipo de mallado (10- 40 mesh), la variable de respuesta en este análisis corresponde al rendimiento de extracción de alginato. Para el estudio correspondiente a la producción de ácido láctico se estudiaron las siguientes variables: temperatura (150 °C- 250 °C), tiempo de reacción (30 min- 90 min) y masa del catalizador (0,3 gr- 0,9 gr), como variable de respuesta el rendimiento de producción de ácido láctico. Los modelos estadísticos presentaron un adecuado coeficiente de ajuste de 99.57 %, 99.68% y 99.36% para la extracción del alginato de sodio, la conversión del alginato y del alga parda a ácido láctico respectivamente, indicando un modelo polinomial cuadrático que puede emplearse para describir los datos obtenidos a partir del diseño experimental. Los rendimientos encontrados muestran un amplio rango en función de las variables independientes alcanzando valores de rendimiento de extracción de alginato de sodio y producción de ácido láctico de 29,94% y 23,69%. Para identificar los grupos funcionales del alginato y evaluar la razón M/G, se utilizó Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (IR- FT). Mediante viscosimetría capilar se determinó el peso molecular promedio de los extractos. De igual manera los análisis térmicos se realizaron por escaneo Calorimétrico Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA). El ácido láctico fue cuantificado por Cromatografía de Gases- Espectrometría con Movilidad Iónica (GC- IMS).

PALABRAS CLAVE:

- **ALGAS MARINAS**
- **ALGINATO DE SODIO**
- **ÁCIDO LÁCTICO**
- **METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA**

ABSTRACT

The best conditions for the extraction of sodium alginate from the brown alga of the genus *Padina Durvillaei* and its transformation to lactic acid under hydrothermal conditions were determined, in this present titration work. These processes are studied through a response surface analysis of the Box-Behnken type, the variables evaluated for the extraction of sodium alginate were: temperature (80 ° C- 100 ° C), reaction time (30 min- 60 min), alkaline concentration (2% - 3% Na₂CO₃) and the type of mesh (10- 40 mesh), the response variable in this analysis corresponds to the extraction performance of alginate. For the study corresponding to the production of lactic acid, the following variables were studied: temperature (150 ° C-250 ° C), reaction time (30 min- 90 min) and mass of the catalyst (0.3 gr- 0.9) gr). As a response variable, the yield of lactic acid production. The statistical models presented an adequate coefficient of adjustment of 99.57%, 99.68% and 99.36% for the extraction of sodium alginate, the conversion of alginate and brown algae to lactic acid respectively, indicating a quadratic polynomial model that can be used to describe the data obtained from the experimental design. The fund yields show a wide rank in function of the independent variables reaching values of yield of extraction of sodium alginate and production of lactic acid of 29.94% and 23.69%. To identify the alginate functional groups and evaluate the M/G ratio, Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (IR-FT) was used. The average molecular weight of the extracts was determined by capillary viscosimetry. In the same way, the thermal analyzes were carried out by Scanning Differential Calorimetric Scan (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA). The lactic acid was quantified by Gas Chromatography- Ion Mobility Spectrometry (GC-IMS).

KEYWORDS:

- **SEAWEED**
- **SODIUM ALGINATE**
- **LACTIC ACID**
- **SURFACE RESPONSE METHODOLOGY**

CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES

1.1. Introducción

Las costas ecuatorianas poseen una gran cantidad de biodiversidad como las macroalgas *Padina Durvillaei* que pertenecen al grupo de las algas pardas. Las algas pardas contienen una gran cantidad de alginato con una estructura hetero- lineal compuesta por bloques de ácido manurónico (M) y ácido gulurónico (G), la cantidad y variedad de estos bloques varía de una especie a otra. Este compuesto se extrae en diversas partes del mundo excepto en Ecuador lo que abre una oportunidad industrial para la extracción de este polisacárido (Gacesa, 1988). Para la obtención del alginato se emplean diversas metodologías dependiendo de los posibles polisacáridos encontrados en las algas, el tipo de estructura final deseada y el tipo de fase final que se desea su presencia. Generalmente, estos procesos involucran un pretratamiento ácido, digestión alcalina y una (o varias) etapa de purificación; la reacción de digestión alcalina se lleva a cabo en un reactor tipo bach con agitación interna (Hernández, McHugh, Arvizu, & Rodríguez, 1999).

Por otra parte, la conversión hidrotermal del alginato en diversos ácidos orgánicos como: ácido láctico, ácido fórmico, ácido gálico entre otros, ha sido investigado intensamente; además, el tratamiento hidrotérmico de los carbohidratos derivados de la biomasa es un proceso de conversión para producir compuestos orgánicos de alto valor agregado sostenible con el medio ambiente.

El ácido láctico ha estado en el centro de atención de muchos investigadores debido a su amplia aplicabilidad en diversos campos industriales. En la industria química, el ácido láctico tiene un gran potencial como un precursor químico para la producción de diversas sustancias (ácido pirúvico, propilenglicol, ácido acrílico, acetaldehído y lactida) (García et al., 2010) y en la industria petroquímica en la producción de plásticos biodegradables (PLA) (Pacheco, Flores, & Rodríguez, 2004).

El ácido láctico puede producirse mediante el tratamiento hidrotérmico catalítico. En 1985, Niemela y Sjoström estudiaron la conversión hidrotérmica de alginato en varios ácidos mono- y di-carboxílicos bajo hidróxido de sodio e hidróxido de calcio a

95°C y 135°C. El ácido láctico fue el principal ácido monocarboxílico producido por la reacción hidrotérmica alcalina, indicando que el alginato puede ser utilizado como fuente de hidratos de carbono para la producción de ácido láctico. Sin embargo, el uso de soluciones alcalinas fuertes como medio de reacción genera una costosa separación de catalizadores de los productos en fase homogénea o la corrosión del reactor por agua caliente a elevadas temperaturas y presiones (efecto que se adiciona a la alcalinidad de la solución).

Sin embargo, el hidrotrotamiento de este polisacárido también se da en catálisis heterogénea mediante óxidos metálicos de base sólida (ZnO, ZrO₂, CeO₂, Al₂O₃ Y TiO₂). El rendimiento catalítico propone vías de reacción del alginato al ácido láctico y al ácido α -hidroxiglutarico a 200°C durante 30 minutos de reacción.

En los estudios previos no se determina el efecto del tamaño de partícula durante la extracción del alginato de sodio y su conversión a ácido láctico, ni el sistema de calentamiento para efectuar la reacción. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue optimizar la extracción de este polisacárido y su conversión a ácido láctico cuantificado en el espectrofotómetro de movilidad iónica, los resultados obtenidos se analizaron por metodología de superficie de respuesta tipo Box- Becker.

1.2. Descripción del problema

Las macroalgas se encuentran dentro de los organismos que contribuyen con la producción de casi el 50% de oxígeno de la atmósfera apoyando directamente gran parte de la vida en los océanos (Días, 2017). En Ecuador, existe una gran variedad de macroalgas que no han sido estudiados a profundidad. El cultivo de macroalgas se da en un porcentaje mínimo pese a que podría ser una gran fuente de ingresos económicos para las comunidades. Asimismo, no existen organizaciones que procesen este recurso marino o sus derivados; dicho recurso además de ser procesado a nivel industrial con fines comerciales puede ser utilizado como un fitoremediador (García, Napa, & Mendez, 2014).

En países extranjeros las macroalgas son utilizadas en diferentes tipos de industrias y algunas de esas han sido el foco de realización de trabajos de investigación al ser extraídas racionalmente y cultivadas como materia prima.

La problemática inminente es la sostenibilidad de los recursos derivados del petróleo. El uso extensivo de este recurso no renovable conducirá a su extinción, rompiendo el principio de sostenibilidad económica generando problemas ambientales producidos por las emisiones de gases de invernadero (metano, óxido nitroso y bióxido de carbono).

1.3. Propuesta

Basada en la problemática anteriormente expuesta surge este trabajo de investigación, en el que se propone un proceso para la obtención de ácidos orgánicos a partir del alginato de sodio extraído directamente del alga parda ecuatoriana. Existen pocos estudios relacionados con la producción del ácido láctico; por la tanto, es necesario conseguir un avance significativo en la productividad, eficiencia del sistema, aprovechamiento de los recursos renovables que satisfaga el artículo 385, versículo 3 de la constitución del 2008 de la República del Ecuador en el que se establece “Desarrollar tecnologías e innovaciones que impulsen la productividad nacional, eleven la eficiencia y productividad, mejoren la calidad de vida y contribuyan a la realización del buen vivir”.

Dentro de este marco surge el interés del estudio posterior en utilizar el ácido láctico producido en la elaboración de un polímero a partir de la materia prima no convencional para la industria del plástico, por lo que se incrementaría el incentivo al consumo de las macroalgas pardas ecuatorianas que representaría un insumo de bajo costo, versátil, no contaminante y un atractivo agrícola que generaría empleo y desarrollo en el área rural.

El presente trabajo generará otra posible solución a la falta de diversificación en la investigación y el desarrollo de materia prima para la obtención de productos con valor agregado, a través del aprovechamiento de biomasa no convencional disponible en el país.

1.4. Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Estudiar la producción de alginato de sodio derivado de macroalgas pardas y su conversión hidrotérmica a ácido láctico utilizando digestión por microondas

1.4.2 Objetivos Específicos

- Recolectar muestras de macroalgas pardas de litorales ecuatorianos específicos.
- Estudiar la extracción del alginato de sodio derivado de la macroalga parda en el sistema de microondas variando la temperatura, concentración alcalina, diferentes tipos de mado y tiempo de reacción.
- Estudiar la producción de ácidos orgánicos como: ácido láctico, derivados de la macroalga parda y del alginato de sodio por el sistema de microondas variando temperatura, concentración del catalizador y tiempo de reacción.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ESTADO DEL ARTE

2.1. Fundamento teórico.

2.1.1 Algas marinas.

Las algas marinas provienen del griego: photo = luz, auto = mismo, trop = nutriente; es decir, adquieren sus nutrientes mediante la fotosíntesis a partir del dióxido de carbono y de sustancias inorgánicas disueltas en el agua; además, realizan la mayor aportación de oxígeno; participando con cerca del 50% de la fotosíntesis mundial (Paredes, 2016).

Estos organismos habitan en ambientes acuáticos ya sean lagos, ríos, arroyos o en el océano; aunque también es posible encontrarlas con menos frecuencia, en el aire, en el suelo o en los hielos, por lo que su distribución es cosmopolita (Dreckmanm, Senties, & Núñez, 2013).

Las algas poseen diversos pigmentos: verdes, amarillentos, azules, pardos, rojos, etcétera. Generalmente, la estructura celular de las algas es de tipo eucariótica; es decir, presenta un núcleo cubierto por una doble membrana, mitocondrias, retículo endoplásmico, cloroplastos, complejo de Golgi y lisosomas (Dreckmanm, Senties, & Núñez, 2013).

Existen diferentes aplicaciones de las algas en el ámbito industrial y nutritivo; sin embargo, en el Ecuador no hay consumo de este organismo a pesar de contar con un recurso diverso y fácilmente explotable (Muñoz & Martinez, 2013).

Hay pocos estudios de la estructura química y nutricional de los componentes funcionales de estas especies que yacen en las costas ecuatorianas, pero de una manera general las macroalgas marinas son extremadamente ricas en carbohidratos, sales minerales, proteínas y vitaminas; puede afirmarse que todos los elementos presentes en el océano están en las plantas acuáticas.

2.1.2 Algas marinas en Ecuador.

La zona litoral del Ecuador posee un clima tropical seco que registran lluvias entre

los 600 y 300 mm durante los meses de enero hasta marzo. Generalmente son costas planas con depósitos marinos arenosos y rocas blandas en acantilados subverticales interrumpidos por estrechos valles con cauces de fuertes pendientes, de oleaje moderado, aguas claras donde proliferan una gran diversidad de algas marinas con un total de 15 géneros; donde 7 son rodófitas, 5 clorófitas y 3 feofitas (Muñoz & Martínez, 2013).

En Ecuador se han podido registrar algas pardas durante las prospecciones submarinas a lo largo de la línea costera, en el Parque Nacional Machalilla se verificó un 60 % de macroalgas feofitas, mientras que el grupo menos dominante fueron las algas verdes o clorófitas, con un 5% y el 35% de especies no identificadas (Carvache, 2012). En la zona de Ballenita se identificó las algas rojas o rodófitas la mayor abundancia de especies identificadas con el 51%, seguidas de las clorófitas con el 39% y las feofitas con el 10%, aunque se identificó que la mayor diversidad de algas marinas fue registrada para la región insular, sumando un total del 65% de feofitas (; Muller et al., 1996; Valverde, 1979).

2.1.3 Clasificación de las algas.

Existen diferentes criterios en su clasificación, pero en forma general se las puede clasificar por su tamaño en: algas microscópicas o microalgas y en algas macroscópicas o macroalgas.

a. Algas macroscópicas o macroalgas.

Las macroalgas viven adheridas a algún tipo de sustrato en la orilla del mar o en el fondo del océano, contribuyendo a la formación de arrecifes; además, aportan nutrientes y sirven como alimento y refugio para muchos organismos.

Estos organismos se desarrollan en la franja intermareal del litoral templado y subtropical, constituyen un significativo recurso marino costero, ya que son los principales productores primarios en el medio marino (Velazco, 2008).

En la pared celular de las macroalgas se encuentra polisacáridos como alginatos, agares, fucoloides y carragenanos. La cantidad y variedad de estos varían de un alga a otra (Dreckmann, Senties, & Núñez, 2013). Las macroalgas se pueden clasificar de acuerdo a sus pigmentos en:

- **Algas verdes (Clorofíceas):** Son predominantes acuáticas y unas pocas especies crecen en hábitats terrestres y subaéreos. Poseen polisacáridos como: celulosa, xylan, mannan, heteropolisacáridos sulfatados, almidón y fructa, el contenido de nitrógeno es de 1.98– 3.26% (Dreckmanm, Sentíes, & Núñez, 2013).
- **Algas pardas (Feofíceas):** Son organismos multicelulares acuáticos, poseen una anatomía similar a las plantas terrestres (Dreckmanm, Sentíes, & Núñez, 2013).
- **Algas rojas (Rodofíceas):** Estas especies contienen en sus paredes celulares: xylan, mannan, glicosaminoglicano y almidón de florídea (Muñoz & Martinez, 2013).

2.1.4 Macroalgas pardas o feofíceas.

Estas macroalgas pardas se diferencian de las demás por su color vino o verde oliva, están formadas por filamentos ramificados, su crecimiento es parecido a las plantas terrestres debido que poseen hojas y tallos, son organismos multicelulares, con una anatomía compleja, como se observa en la figura 1.



Figura 1. Alga parda

Fuente: (Avila, Merino, Guissen, & Piel, 2010)

La coloración se considera que está dada por un pigmento llamado fucoxantina, en función de su cantidad pueden ser más oscuras o más claras (Paradis Sphynx, 2017).

Las algas pardas son comunes en costas templadas y frías, en donde numerosos organismos marinos encuentran protección y alimento en su estructura. Además, este espécimen abunda en la orilla de la playa y en el fondo del mar. Pueden emerger

libremente en grandes concentraciones, como es el caso del conocido Mar de los Sargazos en una zona tropical de la corriente del Golfo del Atlántico Norte (León & Núñez, 2012).

Las algas pardas disponen de polisacáridos como: celulosa, citin, fucoidan, laminaran y ácido algínico. Poseen los porcentajes más altos en carbohidratos con relación al resto de las familias siendo de mayor importancia en esta investigación el alginato de sodio que se puede extraer de su estructura.

Generalmente esta especie tiene fuentes de alginato sus propiedades varía de un género a otro, la elección de los cuales se basa tanto en la disponibilidad de las especies particulares y de las propiedades del alginato que contienen (Zajic, 2012).

a. Clasificación de las algas pardas.

Las Phaeophyceae son algas marinas que abundan en aguas frías; además, son importantes productores primarios en ciertos ecosistemas ya que llegan a formar verdaderos bosques submarinos que superan los 100 metros de longitud (Manns, Deutschle, Saake, & Meyer, 2014)

Dentro de este grupo se encuentran desde estructuras microscópicas a grandes algas con una morfología relativamente compleja. Su apariencia varía desde filamentos a abanicos, cintas ramificadas, arbustos o con estructuras similares a una planta con tallos, raíces y hojas (García, Napa, & Mendez, 2014).

Existen 1.500 especies de algas pardas, pero solamente un pequeño número de ellas contienen una cantidad significativa de ácido algínico para su extracción y elaboración de derivados (Martín, 1986; Ashton, 1975).

De acuerdo a la figura 2, la clase feofíceas se clasifican en fucales, laminariales y las dictiotales. Este último grupo ha sido registrado en las playas de la costa ecuatoriana por expediciones realizadas por Flachier en 1997 y el más reciente por Robalino en el mes de enero de 2017. A continuación, se detallará la clasificación de las algas pardas:

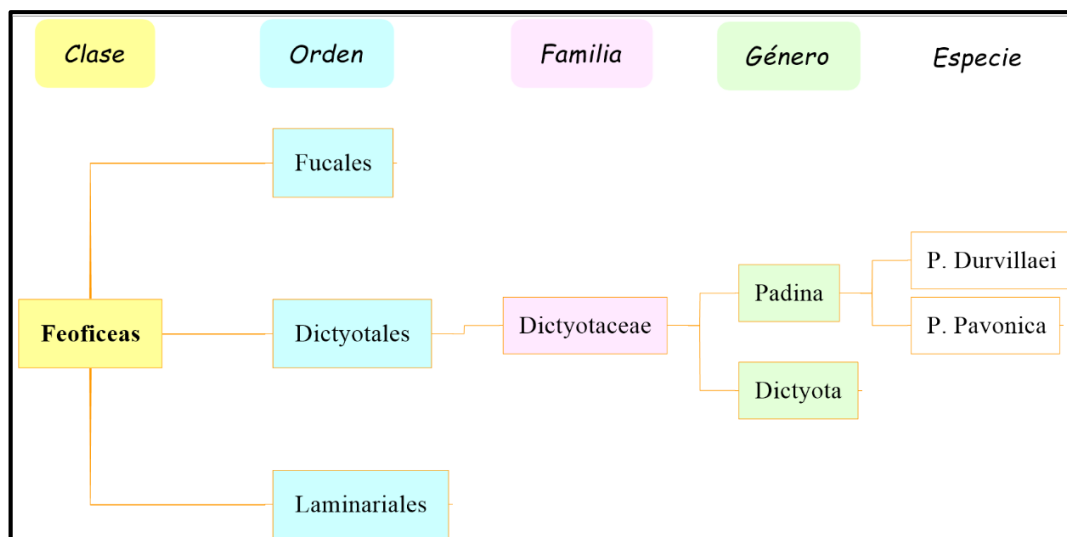


Figura 2. Clasificación de las algas pardas.

Fuente: (Zubia, Payri, & Deslandes, 2008)

- **Fucales.-** Son frecuentes en las costas frías o templadas (Galan, 2009). Las algas de este orden pueden hidratarse y deshidratarse sin morir; además, suelen ser ramificadas, algunos tallos de las especies carecen del nervio central, su base posee una almohadilla que se fija fuertemente a la roca, suelen medir entre 2 m a 300 mm; también, forman frondas grandes en el océano. Una especie característica de este orden se visualiza en la figura 3 (Guiry M. , 2000).



Figura 3. *Fucus serratus* L.

Fuente: (Guiry M. , 2000)

- **Laminariales.** – Abundan en costas frías y polares. Estas macroalgas son las más grandes que existen, aunque también se reportan especies de menor tamaño. Poseen hojas en forma de palmera, con estípite transversal circular, gruesa en la base y estrecho en los tallos, son de color café oscuro brillante, su tamaño varía desde unos centímetros hasta más de 100 metros; además, pueden

vivir de 3 a 8 años, en la figura 4 y 5 se muestran algunas especies de este orden (Tailor, 2000; Ecured, 2014).



Figura 4. Laminaria hiperborea.

Fuente: (Ecured, 2014)



Figura 5. Laminaria digitata.

Fuente: (Tailor, 2000)

- **Dictiotales.-** Estas algas se encuentran distribuidas en aguas tropicales o subtropicales, se caracterizan por tener talos postrados, hojas en forma de cinta frecuentemente desflecados y por medir aproximadamente 13 cm, en la figura 6 y 7 se muestran especies que se han encontrado en el litoral ecuatoriano (Álvarez, 2015).



Figura 6. Padina Pavonica.

Fuente: (Álvarez, 2015)



Figura 7. Padina Durvillaei.

Fuente: (Tailor, 2000)

2.1.5 Alginato.

Los alginatos son polisacáridos provenientes del ácido algínico que se encuentra en forma de sales de alcalinotérreas en las paredes celulares de las algas pardas. Como se observa en la figura 8 este polisacárido es un polímero lineal de dos unidades monoméricas, ácido L- gularónico y D- manurónico, el polímero se compone de tres tipos de zonas o regiones. Los bloques G contienen unidades de ácido L- gularónico, los bloques M poseen monómeros de ácido D- manurónico y los MG bloques se

componen de unidades alternantes de ácido L- gularónico ácido y D- manurónico (McHugh D. , 2014)

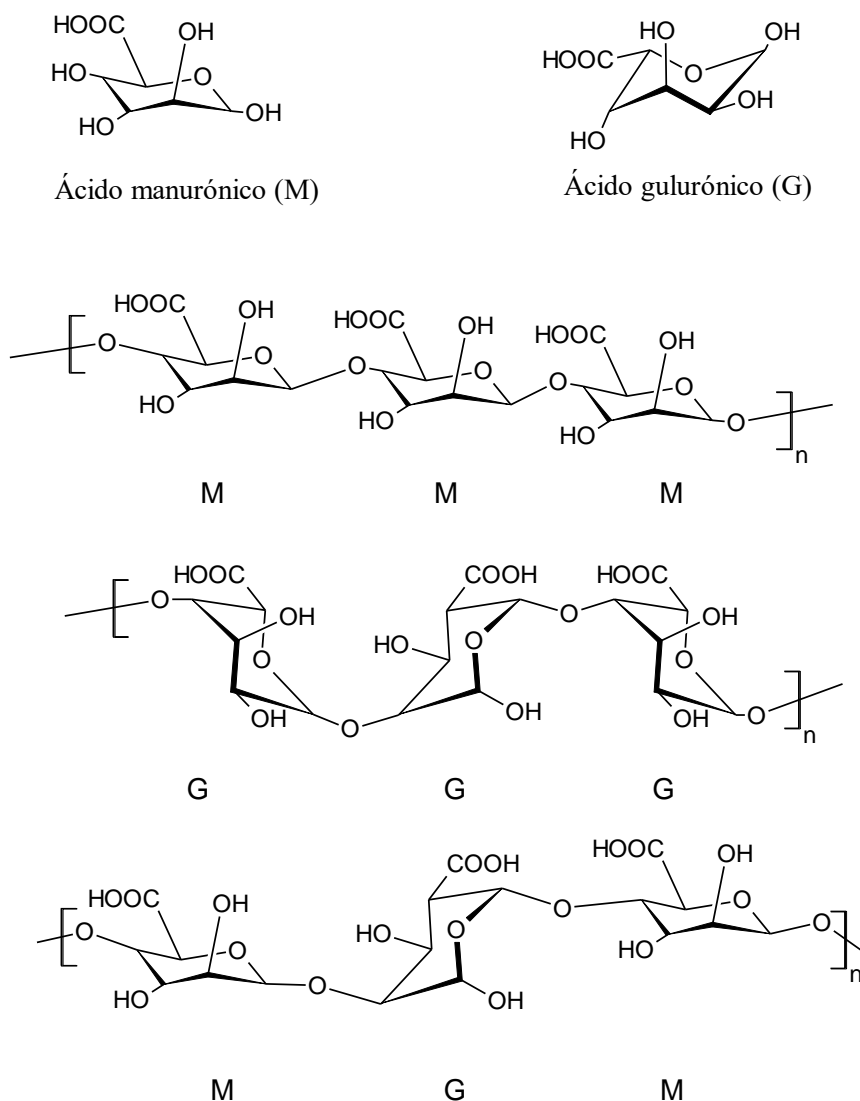


Figura 8. Estructura del alginato.

Fuente: (Matsushima, Minoshima, Kawanami, Nishizawa, & Kawamukai, 2005).

La función natural del alginato es dar elasticidad a las algas; por ello, es frecuente encontrar mayor contenido de este polisacárido en especies que se localizan cerca de los corales.

Los alginatos han sido ampliamente investigados en la industria química y farmacéutica por su compatibilidad en las personas, baja toxicidad, fácil cultivo y por ser un recurso viable en actividades comerciales (Lee & Mooney, 2012).

El polisacárido de las algas de mayor importancia industrial es el alginato de sodio, aunque también se encuentran usos para alginatos de potasio, calcio y amonio, así como el propio ácido algínico (McHugh D. , 2014).

a. Alginato de sodio.

Alginato de sodio es un producto del ácido algínico extraído de la pared celular del alga marrón, fue estudiado por primera vez en 1881 por el químico inglés ECC Stanford, su estructura química se puede observar en la figura 9 (Alvarado, 2015).

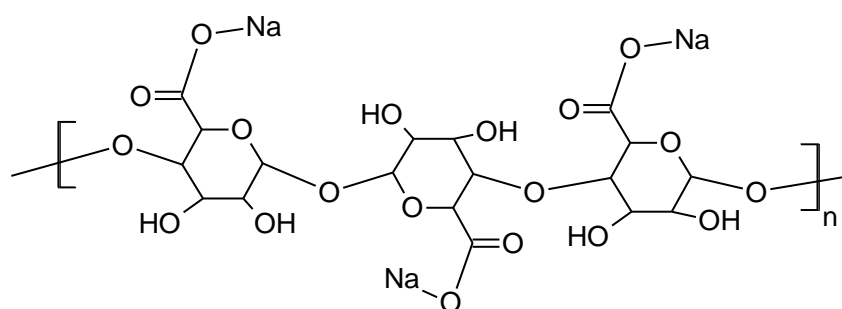


Figura 9. Estructura química del alginato de sodio.

Fuente: (Alvarado, 2015)

b. Aplicaciones industriales de los alginatos.

Los alginatos de calcio, sodio y magnesio son considerados como polímeros naturales más versátiles debido a sus numerosas aplicaciones. Por ejemplo, en el suministro de fármacos, en aplicaciones de ingeniería de tejidos, como agente emulsionante, espesante, estabilizante, en la elaboración de la mayonesa, para la separación del suero en las industrias lácteas, en la impresión textil, en el revestimiento de papel, como agentes de unión en la producción de varillas de soldadura, componente en el sellado de latas, se utilizan en pulimentos y pinturas para automóviles (Lee et al., 2012; Mazumder et al., 2016; Draget et al., 2005).

Los alginatos de cobre y mercurio son un componente útil de las pinturas submarinas. Los alginatos de metales pesados se pueden disolver en amoníaco mediante produciendo una película impermeable que actúa como barniz, por el contrario, el alginato de cobre amoniacal se emplea con éxito para la impregnación y en el mantenimiento de la madera. Los alginatos insolubles producto de la reacción entre los alginatos crudos y los iones metálicos, se utilizan para la construcción de

calderas de calcinación (Wickens, 2001).

2.1.6 Hidrotratamiento para la producción de ácidos orgánicos a partir de la biomasa.

Al utilizar un fluido por encima de su temperatura y presión crítica adquiere la capacidad de difundir y disolver la biomasa cambiando su densidad; además, sustituyen a solventes orgánicos en métodos de transformación. Las propiedades críticas de algunos compuestos que suelen ser usados como fluidos supercríticos se muestra en la Tabla 1 (Velazco, 2008).

Tabla 1
Propiedades críticas de algunos fluidos

Fluido	Temperatura crítica T _c (C)	Presión Crítica P _c (bar)	Densidad ρ (Kg/m ³)
Acetileno	36	62.47	232.14
Acetona	235	47.00	278.00
Agua	374	220.90	322.60
Dióxido de Carbón	31	73.86	467.60
Etano	32	48.71	135.75
Etanol	240.4	61.40	276.00
Etileno	9	50.40	195.80
Metano	-83	45.95	161.43
Metanol	239.4	80.90	272.00
Propano	97	42.47	225.64
Propileno	91.8	46.00	232.00

Fuente: (Velasco et al., 2007).

El tratamiento hidrotérmico de las estructuras orgánicas derivadas de la biomasa es un proceso de conversión respetuoso con el medio ambiente y produce compuestos orgánicos de bajo peso molecular y de alto valor industrial, usando en la reacción agua en condiciones subcríticas, actuando como un disolvente o catalizador.

Similar a la conversión hidrotérmica de la celulosa, los enlaces del alginato se rompen selectivamente a través de reacciones exotérmicas y endotérmicas que se desarrollan en el interior del reactor, usando como solvente agua caliente comprimida para la obtención de diversos compuestos orgánicos, que se producen por la ruptura de

los enlaces covalente (C-C) y enlaces simples (C-O) dentro de los bloques monoméricos.

La conversión hidrotermal de la celulosa en compuestos orgánicos de bajo peso molecular ha sido ampliamente investigada, pero el tratamiento hidrotermal del alginato sólo se ha aplicado recientemente en el rompimiento de enlaces glucosídicos (Wonjin, Chunghyeon, Geonu, Chul, & Do, 2016).

2.1.7 Hidrotratamiento catalítico.

En la reacción hidrotérmica de carbohidratos procedentes de la biomasa, los catalizadores desempeñan un papel importante en el rompimiento de enlaces glucosídicos entre unidades monoméricas aportando reacciones secuenciales tales como deshidratación e isomerización. Un hidrotratamiento catalítico característico es de la celulosa o la hemicelulosa se hidrolizan selectivamente a glucosa o xilosa sobre catalizadores ácidos, seguida de deshidratación produciendo un ácido de alto peso molecular conocido como furfural.

Los catalizadores promueven la conversión de la celulosa al variar la temperatura de reacción, dando lugar a la producción de fructosa o ácido láctico mediante la isomerización de los monosacáridos. Se espera que las vías de reacción sobre los catalizadores ácido y base bajo las condiciones hidrotérmicas para la producción de ácidos carboxílicos de la celulosa sean similares a del alginato, por tener enlaces glucosídicos en sus estructuras.

Los óxidos metálicos son ampliamente utilizados como un soporte catalítico en varios procesos de conversión de biomasa, debido que sus estructuras son porosas y conceden propiedades catalíticas ácido/ base. Además, los óxidos metálicos se pueden combinar con otros metales, lo que promueve la generación de sitios activos o la modificación de las estructuras, dando lugar a una mayor actividad catalítica en la reacción hidrotermal de la biomasa lignocelulósica (Jeon W. B., 2016).

a. Óxido de calcio como catalizador y sus aplicaciones.

El monóxido de calcio es conocido como cal viva y se encuentra en la naturaleza formando parte de rocas tanto en el fondo del océano y en la superficie de la tierra. A continuación, se muestra la tabla 2 las propiedades físicas del compuesto (Hernandez,

2016).

Tabla 2

Propiedades del óxido de calcio

Propiedades físicas del óxido de calcio.
Aspecto y color: Polvo blanco higroscópico. Olor: Inodoro.
Peso molecular: 56.1 gr/mol.
Punto de ebullición: 2850 °C
Punto de fusión: 2570 °C
Densidad relativa (agua=1): 3.3 -3.4
Reacciona con el agua y forma hidróxido de calcio.

Fuente: (Hernandez, 2016).

Entre los óxidos metálicos, el CaO muestra una notable actividad catalítica para la producción de ácido láctico con la mayor basicidad (12,7 mmol g⁻¹), lo que demuestra que la fuerte basicidad de los catalizadores promueve la conversión hidrotérmica de alginato en ácido láctico. Por otra parte, el área superficial y el diámetro de poro de los óxidos metálicos apenas influyen en la conversión del alginato (Jeon, Ban, Park, Woo, & Kim, 2013).

Para mejores conversiones en procesos de hidrotreatmento el óxido de calcio debe ser activado mediante un tratamiento, en el que consiste calentar este compuesto entre 500 a 800 °C (Gómez L. , 2011).

Entre los usos y aplicaciones más comunes del óxido de calcio, se encuentra: en la elaboración de morteros y cementerios, blanqueador doméstico, curtido de pieles y en la neutralización los terrenos ácidos en la agricultura (Hernandez, 2016).

2.1.8 Ácidos carboxílicos.

El grupo carboxilo, -COOH, está formado por la unión del grupo acilo y de un hidroxilo, como se observa en la figura 10. Los compuestos que contienen el grupo carboxilo se les denomina ácidos carboxílicos (Carda, Murga, & Falomir, 2011).

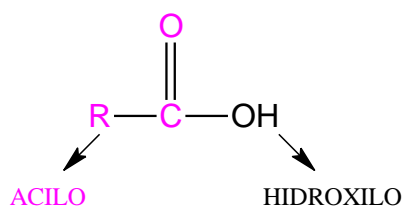


Figura 10. Grupo carboxilo.

Fuente: (Carda, Murga, & Falomir, 2011).

Los compuestos carboxílicos más comunes que se extraen de la biomasa mediante un proceso de hidrotatamiento son: el ácido fórmico, ácido acético, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido málico y el ácido furfural. Estos compuestos orgánicos son considerados como productos de valor añadido en la industria química (Aida, y otros, 2012).

a. Ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanoico).

El ácido láctico también es conocido en su forma ionizada como lactato, es un líquido siruposo, incoloro, soluble en agua y alcohol e insoluble en tricloruro de metilo, bencina y sulfuro de carbono. En tabla 3 se puede observar algunas propiedades del ácido láctico (Serma & Rodríguez, 2005).

Es una biomolécula orgánica presente en la sangre y los músculos de los animales. Fue descubierto por Scheele en 1780. En la figura 11, se puede distinguir los dos isómeros ópticos del ácido láctico, el D (-) láctico y el L (+) láctico, ambas formas isoméricas pueden ser polimerizadas, la diferencia radica en que la configuración L (+) es compatible con el organismo humano y el isómero D (-) es perjudicial al metabolismo humano y puede generar acidosis y descalcificación.

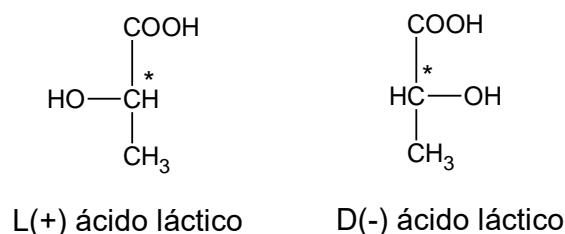


Figura 11. Estructuras isoméricas del ácido láctico.

Fuente: (Serma & Rodríguez, 2005)

Tabla 3**Propiedades físicas y químicas del ácido láctico**

Fórmula	C ₃ H ₆ O ₃
Peso molecular	90,08 g/mol
Índice de refracción	1,4414
Punto de fusión L(+) y D(-)	52,8 °C a 54 °C
Punto de ebullición	125-140 °C
Gravedad específica	1206
Acidez	3,86 pKa
Calor de combustión	3616 cal/g
Viscosidad	40,33 mNsm ⁻²
Densidad	1,249 kg/m ³

Fuente: (Serma & Rodríguez, 2005).

b. Aplicaciones industriales del ácido láctico.

En la actualidad existen muchas aplicaciones del ácido láctico, por lo que se enunciarán las más importantes en las industrias:

- Industria química como agente limpiador, solvente y conservante (Bicker, 2005).
- Industria farmacéutica como electrolito, antimicrobiano, rejuvenecedor de la piel y fuente de minerales (García, Arrozola, & Duranga, 2010).
- Industria alimenticia lo utilizan como solubilizado, neutralizante, preservante y como agente controlador de Ph.
- Industria petroquímica es utilizado en la polimerización del ácido láctico (PLA) por ser un polímero degradable de alta versatilidad, además es usado como un sustituyente de tejidos y órganos debido a su biocompatibilidad con organismo humano (Pacheco, Flores, & Rodríguez, 2004).

2.1.9 Metodología de superficie de respuesta (RSM).

Dicha metodología es una herramienta matemática y estadística que tiene como fin

optimizar las condiciones de interés al modelar y examinar las dificultades en las que una variable es influenciada al cambiar los factores de operación de carácter cuantitativo (Cornell, 1990).

Una vez identificados los factores de operación que afectan a un proceso, usualmente los tratamientos adicionales son necesarias para encontrar la ubicación de las condiciones óptimas del proceso; puesto que, “óptimo” puede ser un mínimo o máximo. Los esquemas para optimización requieren por lo menos tres niveles por cada factor para poder estimar la curvatura (Statgraphics, 2006).

El propósito inicial es generar un experimento que proporcione varias combinaciones de los factores (x_i) y que entregue valores razonables a la variable de respuesta (Y) de este modo obtener una expresión matemática que se ajuste a los datos recolectados. El modelo empírico puede ser de primer, segundo y tercer orden.

La relación entre las variables de la ecuación 1 representan una superficie de respuesta. En la figura 12 se observa un plano de dos dimensiones a la combinación de un factor con la variable deseada y en la figura 13 muestra una superficie tridimensional en función de dos factores y la respuesta analizada.

$$Y = f(x_1, x_2, \dots, x_k)$$

Ecuación 1. Relación entre Y y los factores x.

Fuente: (Cavazzuti, 2013).

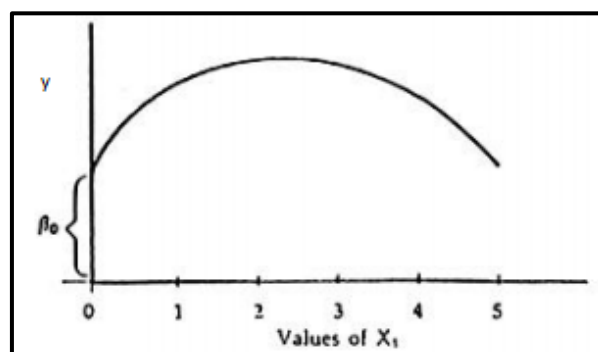


Figura 12. Superficie de respuesta dimensional.

Fuente: (Cornell, 1990)

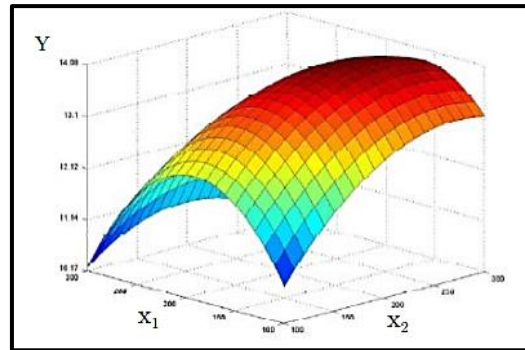


Figura 13. Superficie de respuesta tridimensional.

Fuente: (Montgomery, 2004)

Una forma de visualizar la superficie de respuesta tridimensional y analizar el nivel superior e inferior de los factores, es mediante las gráficas de contornos de la figura 14, en la que se bosquejan líneas horizontales con intervalos constantes a la respuesta sobre el plano x_1 y x_2 , luego los planos son graficados en dos dimensiones y las curvas representan la variable de respuesta. La representación geométrica con más de 3 factores no es posible evaluar en forma gráfica (Cornell, 1990; Montgomery, 2004).

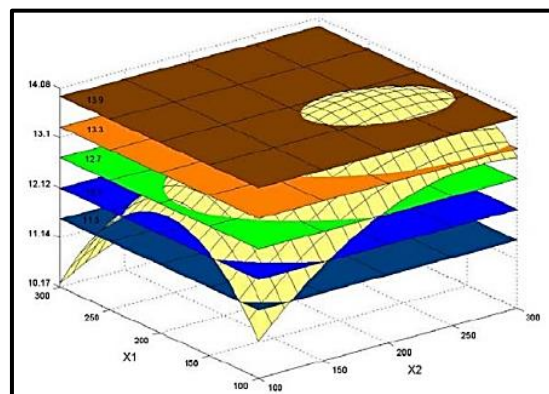


Figura 14. Líneas horizontales del plano x_1 y x_2 en la gráfica de superficie de respuesta.

Fuente: (Montgomery, 2004)

Los diseños experimentales 2^k y 3^k no permiten la estimación del error observado al menos que se hagan réplicas de algunas corridas, al utilizar diseños experimentales para ajustar la superficie de respuesta proporciona una estimación interna del error y no altera la propiedad ortogonal del diseño (Montgomery, 2004).

Diferentes tipos de diseños son populares para la optimización de las variables

deseadas por el observador, siendo de mayor interés el diseño de tipo Box- Behnken para analizar los factores de la producción de alginato de sodio y de ácido láctico. Existen otros diseños que permiten la optimización experimental entre ellos tenemos:

- Diseño Central Compuesto (DCC).
- Diseño Factorial a Tres-Niveles.
- Diseño Draper-Lin.

a. Diseño Box- Behnken (BB).

Este diseño es una opción razonable frente al central compuesto, es un artificio creado por Box y Behnken para escenarios que el experimentador desea correr exclusivamente 3 niveles de los factores, pero requiere que el diseño también sea rotatable. Una diferencia significativa del diseño central compuesto del diseño Box- Behnken es la posición de los puntos de análisis, este se coloca en la mayoría de los tratamientos del investigador, en las esquinas y en punto axiales de la región experimental, si esta región define las condiciones viables para el proceso, el central compuesto con cara centrada es una elección adecuada. Sin embargo, si se está comenzando en una combinación particular de factores y está buscando simplemente las mejores condiciones, un arreglo más esférico de los puntos del diseño sería el más adecuado.

El diseño Box- Behnken consiste en un conjunto de corridas con diferentes combinaciones en los puntos medios de los bordes del espacio experimental y requiere al menos tres factores continuos, donde cada uno de estos es variado entre sus niveles alto, intermedio y bajo (Statgraphics, 2006).

Los diseños resultantes suelen ser muy eficientes en términos del número requerido de corridas, y son rotables o casi rotables (Montgomery D. Y., 2004). Es decir, se ubica los puntos estrella en un intervalo conocido haciendo que la varianza de la respuesta ajustada sea la misma para todos los puntos, debido que la distancia de separación es equidista en todos los lados. Esto es lógico, ya que el investigador comúnmente no conoce la dirección factible de la localización del punto óptimo. El punto central puede repetirse varias veces (3-5 puntos al centro son usualmente deseables) y colocarse en

un bloque por separado si se lo requiere (Statgraphics, 2006).

La figura 15 y la tabla 4 es un ejemplo del diseño de Box-Behnken de tres factores. Los puntos del diagrama representan las corridas experimentales que se realizan en un proceso de optimización (Minitad, 2014):

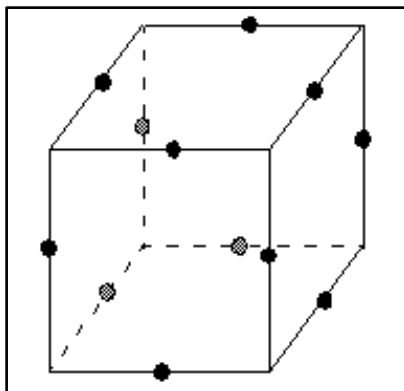


Figura 15. Diseño Box- Behnken de 3 factores

Fuente: (Minitad, 2014)

Tabla 4

Diseño de Box- Behnken para tres variables

Corrida	x1	x2	x3
1	1	1	0
2	1	1	0
3	1	1	0
4	1	1	0
5	1	0	1
6	1	0	1
7	1	0	1
8	1	0	1
9	0	1	1
10	0	1	1
11	0	1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Fuente: (Montgomery, 2004).

En la tabla 5 se muestra un diseño experimental con cuatro factores el gráfico correspondiente suele ser difícil de interpretar.

Tabla 5

Diseño de Box- Behnken para cuatro variables

Corrida	x1	x2	x3	x4
1	0	1	0	-1
2	0	0	1	-1
3	0	1	-1	0
4	0	0	-1	1
5	0	0	1	1
6	0	-1	0	0
7	0	0	0	-1
8	-1	0	1	0
9	1	1	0	0
10	1	0	-1	0
11	0	0	0	0
12	-1	1	0	0
13	1	0	1	0
14	0	-1	0	1
15	0	0	0	0
16	0	1	1	0
17	1	-1	0	0
18	1	0	0	1
19	1	0	0	-1
20	-1	0	-1	0
21	0	-1	0	-1
22	0	1	0	1
23	-1	0	0	1
24	0	-1	1	0
25	0	0	0	0
26	-1	-1	0	0
27	-1	0	0	-1

Fuente: (Montgomery, 2004).

a. **Gráficas de efectos estandarizados para indagar el diseño de superficie de respuesta.**

- **Diagrama de Pareto.** – Este diagrama se construye con los valores absolutos

de los efectos, la línea de color rojo determinar la significancia estadística (α), como se observa en la figura 16. Este esquema se utiliza para comprobar la magnitud y la importancia de los efectos, pero no puede establecer cuáles efectos aumentan o reducen la respuesta (Minitad, 2014).

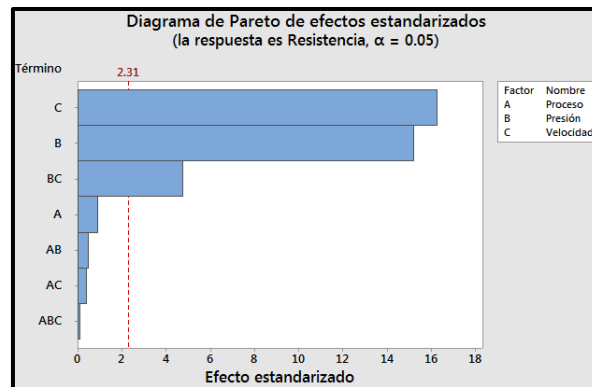


Figura 16. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.

Fuente: (Minitad, 2014)

- **Diagrama de probabilidad normal de los efectos estandarizados.** – Esta gráfica muestra los efectos estandarizados frente a la línea de ajuste de distribución, las interacciones que están alejadas del valor 0 son estadísticamente significantes como se indica en la figura 17, permitiendo interpretar la dirección e importancia de los efectos (Statgraphics, 2006).

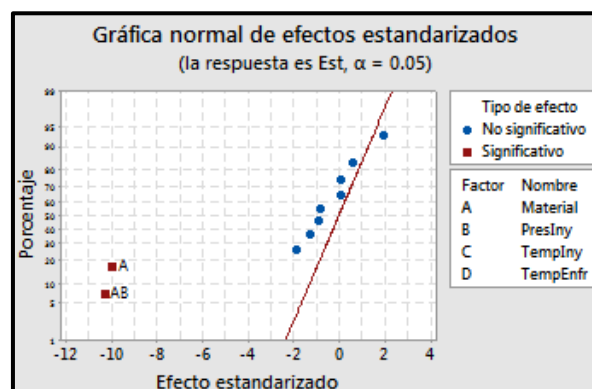


Figura 17. Gráfica de probabilidad normal de los efectos estandarizados.

Fuente: (Minitad, 2014)

2.1.10 Análisis químico.

Son varias técnicas analíticas que ayuda a determinar la composición química de una muestra tanto en forma cuantitativa o cualitativa.

- **Análisis químico cualitativo.** – Identifica la presencia o ausencia de compuestos químicos en una muestra.
- **Análisis químico cuantitativo.** – Determina la cantidad de los compuestos en una muestra.

Las técnicas analíticas utilizan métodos químicos, instrumentales y de separación que son efectuados en una serie de pasos específicos para poder identificar y cuantificar algún compuesto. A continuación, se detallará los métodos instrumentales a utilizar en la presente investigación (Skoog, 2002).

a. Peso molecular promedio por viscometría capilar.

Este método mide el tiempo necesario que una cantidad definida de líquido fluya a través de un capilar con un diámetro y una longitud conocida (Zajic, 2012).

La aplicación de los polisacáridos está limitada por su alto o bajo peso molecular en medios acuosos, aunque este no es un método absoluto y requiere la determinación de constantes entrega información semicualitativa de la masa molar (Martinsen et al., 1991; Vauchel et al., 2008).

Para algunas aplicaciones se descubrió que productos de bajo peso molecular son mucho más útiles en el mercado. Existe varios métodos de degradación tales como: química (Hasegawa et al., 1993), enzimática (Ilyina et al., 2000) o de radiación (Won-Seok et al., 2002).

La degradación por radiación es sencilla y respetuosa con el medio ambiente, libre de iniciadores y productos secundarios siendo una alternativa de reducir el peso molecular de un polisacárido (Charlesby, 1981).

b. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Esta técnica utiliza interferometría para registrar información sobre un material colocado en el haz IR, cuando este haz pasa a través del analito este absorbe parte de la radiación con la ayuda de la Transformada de Fourier la señal resultante en el

detector es transformada en un espectro que representa una "huella dactilar" molecular de la muestra. La utilidad de la espectroscopía infrarroja surge porque diferentes estructuras químicas producen diferentes huellas dactilares espectrales (ThermoFisher Scientific, 2010). Además, la espectroscopia infrarroja es considerada una herramienta fiable y eficaz en la indagación de productos de origen natural, no requiere muestras de gran tamaño (Pereira & Neto, 2013).

El instrumento FTIR presenta los siguientes componentes (figura 18):

- **Fuente:** La energía infrarroja se emite desde un cuerpo negro. Este rayo pasa a través de una abertura que controla la cantidad de energía presentada a la muestra.
- **Interferómetro:** El haz entra al interferómetro donde tiene lugar la "codificación espectral".
- **Muestra:** El rayo entra al compartimento de la muestra donde se transmite o se refleja a través de la superficie de la muestra, según el tipo de análisis que se realice.
- **Detector:** El rayo finalmente pasa al detector para la medición final. Los detectores utilizados están especialmente diseñados para medir la señal especial del interferograma.
- **Computadora:** La señal medida se digitaliza y se envía a la computadora donde tiene lugar la transformación de Fourier. El espectro infrarrojo final se presenta al usuario para la interpretación y cualquier manipulación posterior (Thermo Nicolet, 2001).

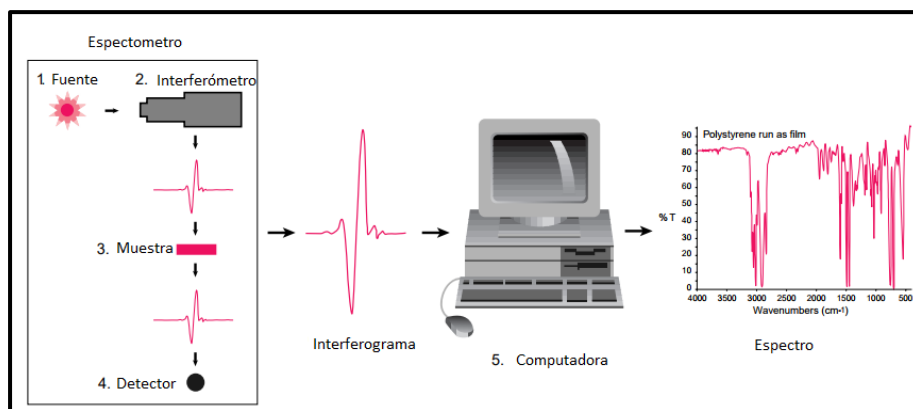


Figura 18. Componentes del instrumento FTIR.

Fuente: (Thermo Nicolet, 2001)

El espectro representa las bandas de grupos funcionales de compuestos inorgánicos u orgánicos desconocidos que se encuentran en una muestra a analizar en un rango espectral de 4000 a 600 cm^{-1} como se muestra en la figura 19.

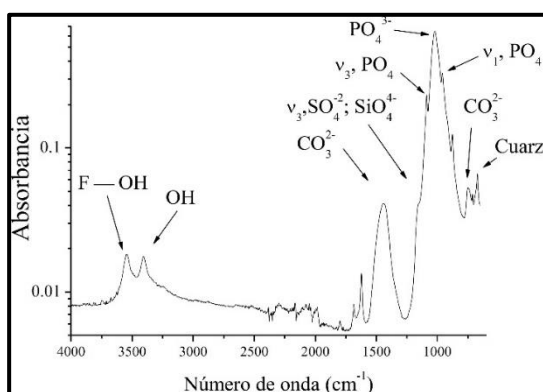


Figura 19. Espectro FT-IR de la apatita hidrotermal, material de partida.

Fuente: (Pesentí, Ríos, Leoni, Matto, & Scardi, 2014).

En el presente estudio esta técnica ayuda a identificar los grupos funcionales y la estimación semi-cuantitativa de la relación M/G de los alginatos. Estos polisacáridos muestran bandas características, que se asigna al ácido manurónico (M) y ácido gulurónico (G), en las intensidades de banda de absorción en aproximadamente 1100 y 1030 cm^{-1} . Sin embargo, este método carece de una precisión de cuantificación (Usov, 1999; Gómez et al., 2011; Sellimi et al., 2015).

Las propiedades físicas de los alginatos son determinados en gran medida por la cantidad relativa de los bloques M y G que se encuentra en el copolímero (Sari et al.,

2016). Las características gelificantes de los mismo están muy influenciados por la composición del monómero y secuencia (Gacesa, 1988). Gran parte de las aplicaciones de alginatos se basan en su capacidad de formación de geles a través de la unión de un catión: por ejemplo, la transición del sodio en la molécula hace que esta sea soluble en agua; mientras que la incorporación del catión calcio lo hace insolubles en ella (Fertah, Belfkira, Dahmane, Taourirte, & Brouillette, 2014).

Los alginatos con baja relación M/G (<1) corresponden a proporciones mayores de ácido gulurónico (G) que bloques de ácido manurónico (M), formando geles fuertes y rígidos, por otro lado, la alta relación M/G (> 1) produce geles suaves y elásticos (Sellimi , y otros, 2015).

La composición del monómero y la secuencia en alginatos de *M. pyrifera* ha sido intensamente estudiado (Stokke et al., 1991; Smidsrød y Draget 1996). Sin embargo, no se encontró información en la literatura sobre la composición de alginatos de algas pardas *P. Durvillaei*.

c. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Esta técnica monitorea el calor que absorbe o libera una sustancia durante un procedimiento térmico en función de la temperatura (figura 20), revelando una curva representativa de la muestra analizada como se indica en la figura 21 (Suñirach, Baro, & Bordas, 1992).

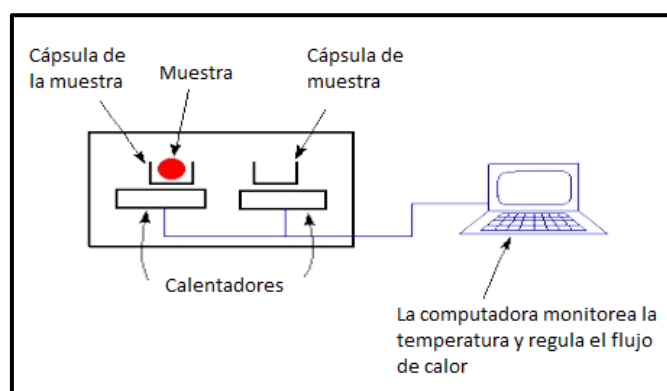


Figura 20. Componentes del equipo de calorimetría diferencial de barrido.

Fuente: (Polymer Science Learning Center, 2017)

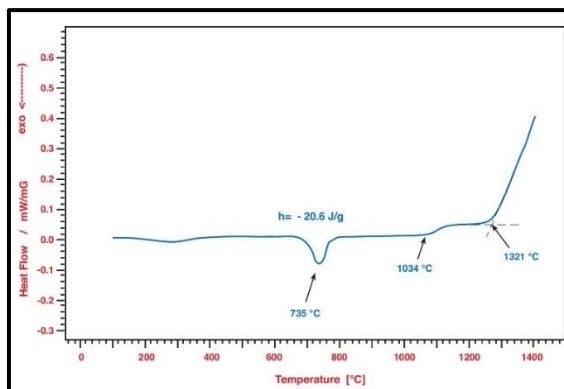


Figura 21. Curva representativa del DSC.

Fuente: (Linseis, 2016)

El método consiste en colocar la muestra y una referencia inerte en una cámara de calentamiento, el computador mide y controla la transferencia de calor requerida para conservar la cámara a una misma temperatura.

Esta técnica permite determinar la entalpia específica, temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión, cinética de cristalización de los materiales entre otros (Suñirach, Baro, & Bordas, 1992).

La temperatura de transición vítrea (T_g) es el cambio reversible de un compuesto amorfo o semi- amorfo cristalino desde una estructura rígida o viscosa a una frágil.

La Temperatura de fusión (T_m) es el cambio al que una estructura cristalina pasa a la estructura similar al del vidrio (Sachan, Ghosh, & Bhattacharya, 2012).

d. Análisis termogravimétrico (TGA).

Es una técnica estudia la descomposición y la estabilidad térmica de los polímeros. Este ensayo implica el calentamiento progresivo de la muestra en una atmósfera inerte (N_2) o aire a temperaturas constantes, mientras mide la pérdida de peso en función de la temperatura (figura 22), el resultado es una curva térmica que permite determinar características tales como la evaporación, desintegración o formación de varios compuestos. Las pérdidas de peso deben ser inferidas para cada tipo de muestras de acuerdo a literatura (Daoub et al., 2016 ; Koerner, 1990. Los factores operacionales como la velocidad de calentamiento presentan una influencia importante en la resolución de la curva (Wendlandt, 1995).

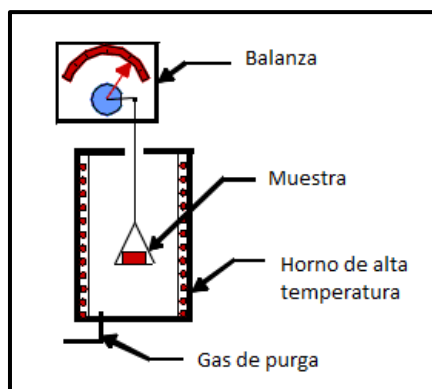


Figura 22. Componentes principales del equipo termogravimétrico.

Fuente: (Anderson Materials Evaluation, Inc., 2015)

El análisis termogravimétrico se puede graficar mediante peldaños donde su pendiente es el porcentaje de pérdida de masa versus la temperatura, como se indica en la figura 23.

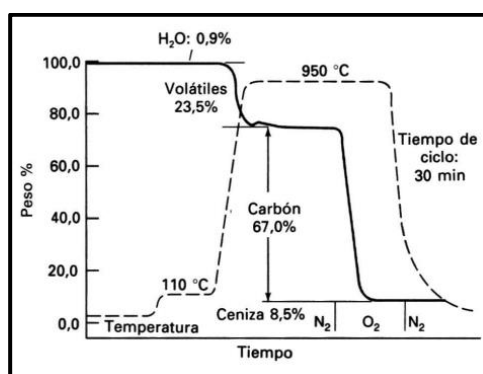


Figura 23. Análisis termogravimétricos en función del tiempo vs la pérdida de masa de una muestra de carbón bituminoso.

Fuente: (Skoog, 2002)

Cada polímero sintético o natural contiene grupos hidrófilos que presentan una fuerte interacción con el agua. La cantidad de humedad puede influir en sus propiedades y características que se desean determinar de su estructura (Hatakeyama, Hatakeyama, & Nakamura, 2000).

e. Espectrometría de movilidad iónica (IMS).

Es una técnica ampliamente utilizada en la separación de iones en fase gaseosa en función de las diferencias en las áreas de la sección transversa como se muestra en la

figura 21. Además, de ser una técnica que entrega información cualitativa y cuantitativa de compuestos volátiles es un recurso de bajo costo (Garrido, 2011).

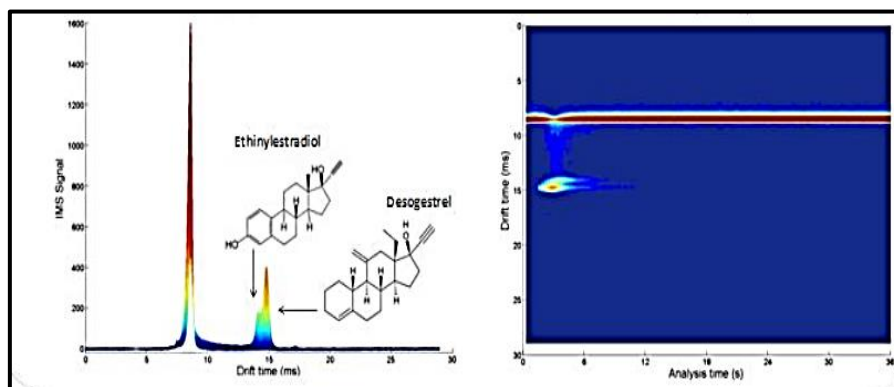


Figura 24. Plasmagrama IMS de una mezcla que contiene 2 principios activos (Ethinylestradiol y Desogestrel).

Fuente: (Zamora, 2012)

Las aplicaciones de esta técnica son numerosas, entre ellas tenemos: el monitoreo de armas químicas, detección de explosivos, control ambiental, análisis de calidad de los alimentos, seguridad aeroportuaria, análisis biológico, detección de drogas y examen forense. La lista de aplicaciones continúa expandiéndose. Además, las futuras aplicaciones IMS surgen de forma rutinaria y son un área activa de investigación (Cumeras, Figueras, Davis, Baumbach, & Gràciaa, 2015).

Para el análisis de mezclas complejas esta técnica probablemente no será suficiente para la identificación de cada analito, debido que estos frecuentemente tienen movilidad iónica similar o incluso la misma. La solución a este inconveniente es aislar los analitos de la muestra antes de ingresar al IMS, por lo que se utiliza técnicas de separación como cromatografía de gases (GC), las columnas multicapilares (MCC) o incluso la cromatografía líquida (LC).

Al agregar estas técnicas de acoplamiento con IMS, aumenta la capacidad de identificar productos químicos específicos en mezclas complejas. Por lo tanto, cada analito puede estar relacionado con dos parámetros, un valor específico de movilidad iónica (o tiempo de difusión) y el tiempo que lleva deducir de la columna de separación previa (o tiempo de retención). Este valor es muy característico del analito particular a una temperatura, presión, longitud de columna, polaridad y caudal específicos. Proporcionar estos dos valores para analitos relevantes en cada análisis permite la

identificación de compuestos en una muestra desconocida (Cumeras, Figueras, Davis, Baumbach, & Gràciaa, 2015). A continuación, se detallará el acoplamiento a utilizar en el presente trabajo.

- **Cromatografía de gases acoplado al espectrómetro de movilidad iónica de gases (GC-IMS).** - Proporciona una alternativa versátil para la detección sensible y selectiva de compuestos después de la separación cromatografía. Esta técnica se puede dividir en cinco pasos individuales: introducción de muestras, separación de compuestos, generación de iones, separación de iones y detección de iones. La ventaja significativa de una detección GC-IMS es que la interfaz resultante se puede sintonizar para controlar los tiempos de deriva / movilidades de iones, por lo tanto, adaptar las características de respuesta para adaptarse a la necesidad de un problema de separación dado (Kanu & Hill,, 2008).

2.2. Estado de arte.

Las macroalgas marinas constituyen una importante fuente de ingresos económicos al ser usadas como productos alimenticios y en la extracción de subproductos de alto valor agregado para las industrias. En Ecuador, la extracción de estos recursos está muy poco desarrollada pese que podría constituir una importante fuente de ingresos para comunidades locales (García, Napa, & Mendez, 2014).

El alginato es el mayor carbohidrato que contiene las macroalgas pardas en su pared celular, la calidad y la cantidad de este recurso varia de una especie a otra y su producción ha sido investigado variando los distintos factores de extracción (Torres, y otros, 2007). El procedimiento básicamente consiste al someter las muestras a un pretratamiento con HCl, CH₃OH o H₂SO₄ para liberar los iones de calcio en la estructura del polisacárido; posteriormente, se utiliza carbonato de sodio o hidróxido de sodio durante 1 a 5 horas a diferentes temperaturas con el fin de sustituir los protones por iones sodio y finalmente la purificar de los extractos por precipitación con etanol o metanol (Mazumder, y otros, 2016).

Para identificar los grupos característicos y la razón M/G del alginato extraído se utiliza espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (Fu, Toyoda, & Ihara, 2014). Los análisis térmicos del polisacárido se llevan a cabo mediante técnicas

termogravimétricos (TGA) (Taratra, Guina, Cedric, Celine, & Emmanuel, 2010) y calorimétricas (DSC) (Linseis, 2016) en una atmosfera de nitrógeno o de aire. La determinación del peso molecular se determina por viscosimetría capilar a diferentes disoluciones (Donna & Rose, 1950).

Las algas es uno de los recursos marinos que se puede extraer una gran variedad de compuestos, existen el reporte de la producción de ácidos en el trabajo realizado por Niemela & Siostrom, en este estudio el alginato fue tratado con hidróxido de sodio a temperaturas de 95°C a 135°C e identificaron la producción de ácidos monocarboxílicos y ácidos dicarboxílicos. El ácido láctico fue el principal ácido monocarboxílico por la reacción hidrotérmica alcalina; sin embargo, el uso de soluciones alcalinas como medio de reacción tiene la desventaja de corroer el reactor y una costosa recuperación del catalizador. Por otro lado, la adición de catalizadores sólidos tales como MgO, Mg-Al, ZnO, ZrO₂, CeO₂, Al₂O₃, CaO y TiO₂ juegan un rol importante en la despolimerización de la estructura del alginato a ácidos orgánicos, siendo el óxido de calcio el que exhibe mayor producción de ácido láctico a 200 C durante una hora.

Sin embargo, existen estudios que no utilizan catalizadores, soluciones básicas o ácidas para la producción de ácidos carboxílicos, en el trabajo realizado por Aida en el 2012 utiliza a condiciones subcríticas y supercríticas logrando la despolimerización del ácido algínico para formar monómeros glucoricos y manuronicos aunque no se reporta la producción de ácidos, pero en el estudio realizado por mediante un tratamiento hidrotermal del alginato de sodio a temperaturas entre 180°C y 250°C se detecta la producción de ácido glicólico y láctico.

El presente trabajo está enfocado a evaluar y optimizar la producción de ácido láctico utilizando como materia el alginato de sodio producido a partir de la macroalga parda tratada mediante la conversión hidrotermal catalizada con oxido de calcio en un sistema de digestión por microondas.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. Equipos, materiales y reactivos.

En el presente trabajo de investigación se utilizará los equipos, materiales y reactivos disponibles en el laboratorio de petroquímica de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE- Belisario, detallándolos a continuación los más importantes:

3.1.1 Equipos:

- Balanza analítica digital Denver Instrument Company® Modelo AAA 250LE, Máx. 250 mg \pm 0,1 mg.
- Sistema de digestión por microondas, Analytick Jena, modelo Topwave.
- Espectrómetro infrarrojo FT-IR accesorio de muestreo universal ATR-PerkinElmer, modelo Frontier.
- Analizador Termogravimétrico– Perkin Elmer, modelo Pyris 1 TGA.
- Centrifugadora-Boeco, modelo C-28A.
- Calorimetría diferencial de barrido Dsc- Perkin Elmer
- Espectroscopia con movilidad iónica (Ims)
- Estufa – Boeco Isotherm OFA.
- Mufa.
- Viscosímetro Cannon Fensken N° 100.

3.1.2 Materia prima:

- Alga parda seca procedente de Machalilla- Manabí.

3.1.3 Materiales:

- Pipetas graduadas de 1 ml, 5 ml, 10 ml.
- Probetas de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml.

- Varilla de agitación.
- Vasos de precipitación de 10, 50, 100 ml.
- Papel filtro.
- Envases de centrifuga de 50 ml.
- Envases de cristal de 50 ml.
- Viales de 50 ml.

3.1.4 Reactivos:

- Sigma Aldrich ®
 - Alginato de sodio.
 - Ácido láctico 98%
- Merck®
 - Ácido clorhídrico 37%
 - Carbonato de sodio.
- **Otros.**
 - Formol.
 - Cloruro de sodio.
 - Etanol.
 - Agua destilada.
 - Óxido de calcio.
 - Ácido fórmico.
 - Ácido acético.

3.2. Protocolo de conservación y preservación de macroalgas marinas.

Para el estudio de la producción de compuestos derivados de las macroalgas pardas es necesario seguir un protocolo de conservación para su debida conversión.

El protocolo se realizó para homogenizar la producción de alginato de sodio y ácido láctico con diferentes fuentes de polisacáridos como se observa en la figura 25.

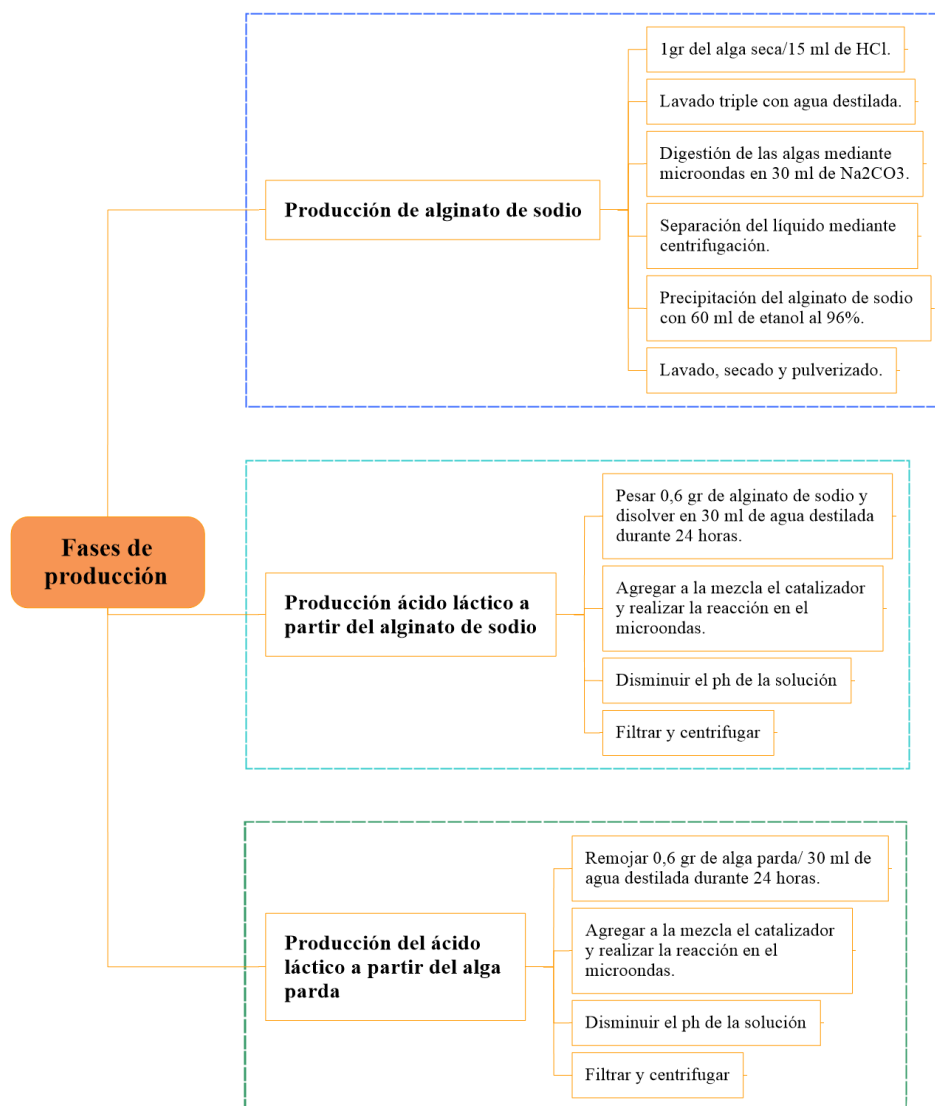


Figura 25. Fases de producción de alginato de sodio y ácido láctico.

3.2.1 Recolección de las algas marinas.

El área de estudio usualmente comprende de una estación de muestreo en la zona intermareal rocosa de la costa de Machalilla- Manabí.

Se debe realizar un muestro intermareal en forma manual por lo menos una hora antes de la marea baja, y desde la zona más alta hasta la más baja. Para la recolección de las macroalgas en zona submareal es necesario licencia o entrenamiento de buceo.

Finalmente, es importante luego de la recolección registrar en la libreta de campo

el nombre y características del lugar.

3.2.2 Identificación del espécimen.

La identificación de las algas Feofíceas se efectúa en el lugar de la recolección de acuerdo a la clasificación taxonómica realizada por Flachier y por Robalino en la playa de Machalilla, donde se reporta dos géneros característicos de la zona tales como: *Dictyota* y *Padina*, que pertenecen al orden de las Dictyotales, de la familia Dictyotaceae.

Refiriéndose a la morfología de las algas de la familia Dictyotaceae son plantas de tamaño moderado con una estructura similar a una planta terrestre, con hojas en forma de abanico y terminaciones de tipo correa, rectangulares o redondas (Taylor, 2000).

Las terminaciones de la especie *Dictyota* son triangulares a diferencia de la especie *Padina* que son de forma redondeada, como se muestra en la figura 23 y 24 respectivamente (Dawes, 2016). Las terminaciones de la especie *Dictyota* son triangulares a diferencia de la especie *Padina* que son de forma redondeada.

La caracterización taxonómica se identifica de acuerdo a la clase, orden, familia, género y especie.



Figura 26. Especie del género Dictyota.

Fuente: (Dawes, 2016)



Figura 27. Especie del género Padina.

Fuente: (Diaz, 2008)

3.2.3 Deshidratar la especie.

Cuando se requiere una gran cantidad de algas es recomendable transportarlas secas hasta el lugar de tratamiento; por ello, una vez que se haya realizado la recolección es necesario eliminar cualquier sustancia no deseada que se encuentre en

el alga, mediante un primer lavado de agua común y un segundo lavado con agua destilada. Con el fin de conservar las características del espécimen, el alga se debe tratar al 5% de formol durante una noche, luego las algas húmedas se dispersen sobre una red; de esta manera, las especies serán expuesta directamente al sol durante dos días.

Posteriormente, las algas se almacenan en un lugar seco evitando la exposición del sol. Los recipientes más adecuados para su conservación y transporte son los de polipropileno ya que estos no absorben agua de la atmosfera en comparación con sacos de yute.

Una vez transportada el alga a las instalaciones del laboratorio de Petroquímica, el material recolectado se debe secar dentro de un horno convectivo (estufa) a 50 °C durante 24 horas hasta alcanzar un peso constante de la muestra.

3.2.4 Conservación.

Es necesario reducir el tamaño de las algas para favorecer las reacciones químicas del proceso por lo que es recomendable alcanzar un peso constante de la muestra y separarlo en tres partes basándose en su morfología: en tallos, bulbos y hojas. Solamente las hojas del material recolectado serán trituradas en un procesador marca UMCO durante 10 minutos.

Para homogenizar la muestra se emplea un tamizador analítico RESTCH gM8h con 4 niveles (incluida la base), con diferentes tamaños de mallado (10, 20 y 40). Es necesario usar esferas de homogenización para mejorar la distribución del material durante las vibraciones del tamizaje. En el primer nivel se utiliza 4 esferas de homogenización, mientras que en los dos niveles restantes se emplea 3 esferas, cada ensayo se realiza con una masa 50 gramos, que representa el 100% de la muestra.

Finalmente, las muestras son almacenadas en bolsas plásticas ziploc hasta posteriores análisis, este método permite su conservación y almacenamiento hasta 3 años a temperatura ambiente.

3.3. Diseño experimental para la extracción del alginato de sodio en el sistema de digestión de microondas.

Con el fin de investigar la interacción de los parámetros para la extracción del alginato de sodio, se debe establecer un diseño experimental de metodología de respuesta del tipo de Box- Behnken.

Los factores en el proceso de extracción del alginato de sodio son: temperatura (A), tiempo (B), concentración alcalina (C) y tipo de mado (D). Los valores de los parámetros correspondientes de cada factor se expresan como nivel inferior, central y superior (-1; 0; 1) respectivamente, como se observa en la tabla 6. En este diseño se estableció como punto central 80°C en la etapa de calentamiento, 90 min en el sistema de digestión por microondas que se observa en la figura 28, a 2.5 % Na_2CO_3 y con un mado de 20 (0,85 mm). El tamizado se representa por niveles: 1, 2 y 3 que corresponde al mado 40 (425 μm), 20 (850 μm) y 10 (2mm) respectivamente.

En el manejo de los reactores CX100 no deben pasar los límites de operabilidad que se muestran en la tabla 7.

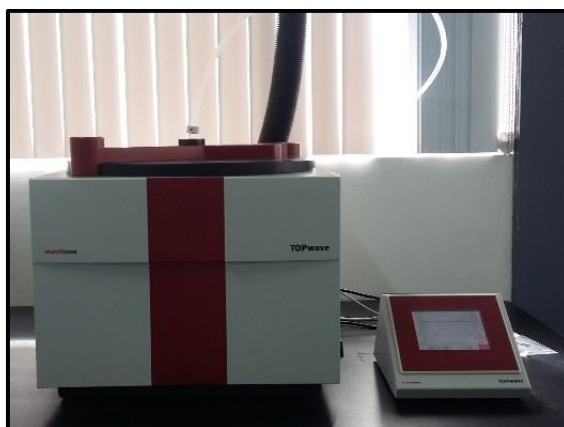


Figura 28. Sistema de digestión por microondas.

Tabla 6

Niveles de tratamiento y valores codificados de las variables independientes para la extracción de alginato de sodio.

Variables	Valores para las variables		
	-1	0	1
Temperatura (C)	90	100	110
Concentración alcalina (%)	2	2,5	3
Tiempo (min)	60	90	120
Mallado (mesh)	1 (40)	2 (20)	3 (10)

Tabla 7**Límites de operabilidad del reactor CX100**

Volumen máximo	100 ml
Presión operacional	100 Bar
Temperatura máxima	250 °C

La tabla 8 establece el diseño experimental de Box- Behnken que es generado por un software estadístico, que consta de un bloque con un total de veintinueve corridas, de las cuales veinticuatro experimentaciones son combinaciones diferentes y cinco son puntos centrales. Las filas explican el arreglo a seguir con el nivel de cada parámetro y el resultado del rendimiento (R_i) se obtendrá después del tratamiento.

Tabla 8**Matriz de diseño experimental de Box- Behnken en el software Statgraphics, para la extracción de alginato de sodio**

Trat.	VARIABLES NATURALES				VARIABLES MODIFICADAS				RESULTADO
	Temperatura (A)	Alcalina (B)	Tiempo (C)	Mallado (D)	Temperatura (°C)	Alcalina (%Na ₂ CO ₃)	Tiempo (min)	Mallado (mesh)	Rendimiento (gr Al-Na/gr Alga seca)
J1	0	1	0	-1	90	3	90	1	Y1
J2	0	0	1	-1	90	2,5	120	1	Y2
J3	0	1	-1	0	90	3	60	2	Y3
J4	0	0	-1	1	90	2,5	60	3	Y4
J5	0	0	1	1	90	2,5	120	3	Y5
J6	0	-1	0	0	90	2	60	2	Y6
J7	0	0	0	-1	90	2,5	60	1	Y7
J8	-1	0	1	0	80	2,5	120	2	Y8
J9	1	1	0	0	100	3	90	2	Y9
J10	1	0	-1	0	100	2,5	60	2	Y10
J11	0	0	0	0	90	2,5	90	2	Y11
J12	-1	1	0	0	80	3	90	2	Y12
J13	1	0	1	0	100	2,5	120	2	Y13
J14	0	-1	0	1	90	2	90	3	Y14
J15	0	0	0	0	90	2,5	90	2	Y15
J16	0	1	1	0	90	3	120	2	Y16
J17	1	-1	0	0	100	2	90	2	Y17
J18	1	0	0	1	100	2,5	90	3	Y18
J19	1	0	0	-1	100	2,5	90	1	Y19
J20	-1	0	-1	0	80	2,5	60	2	Y20
J21	0	-1	0	-1	90	2	90	1	Y21
J22	0	1	0	1	90	3	90	3	Y22
J23	-1	0	0	1	80	2,5	90	3	Y23
J24	0	-1	1	0	90	2	120	2	Y24
J25	0	0	0	0	90	2,5	90	2	Y25
J26	-1	-1	0	0	80	2	90	2	Y26
J27	-1	0	0	-1	80	2,5	90	1	Y27
J28	0	0	0	0	90	2,5	90	2	Y28
J29	0	0	0	0	90	2,5	90	2	Y29

Una vez definido los parámetros de diseño experimental, se emplea únicamente las hojas trituradas y previamente tamizadas en el proceso de extracción de alginato de sodio que se detalla a continuación:

- Pesar un gramo de las algas pardas previamente tratadas (lavado, secado, molido y tamizado).
- Luego, remojar las algas secas en 15 ml de ácido clorhídrico (HCl 2 M) durante 24 horas para promover la conversión del alginato de calcio y de magnesio a ácido algínico.
- Realizar un lavado triple de las algas acidificadas con agua destilada para eliminar los restos ácidos provenientes del HCl agregado en exceso.
- Añadir 30 ml de carbonato sódico a la biomasa y colocar en un reactor CX100 para microondas de 50 ml, durante cierto tiempo y temperatura. En general, se emplea un tiempo de rampa de 10 min para llegar a la temperatura deseada, la extracción se realizará en el sistema de digestión por microondas, con el fin de transformar el ácido algínico en alginato de sodio.
- Se recolecta el líquido producto de la digestión, y se realiza un doble lavado de las algas procesadas en 10 ml con el fin de remover la mayor cantidad de alginato producido.
- El líquido recolectado se centrifuga durante 15 minutos a 4.000 rpm, con el fin de eliminar el líquido de los sólidos.
- Precipitar el líquido con etanol al 96% (1:2 v/v) y recoger la pasta de alginato resultante.
- Secar el alginato durante 24 horas en un horno convectivo a 50°C.
- Finalmente, el alginato de sodio previamente secado se pulveriza con la ayuda de un mortero y se colocará en un envase cerrado en un lugar seco hasta su debido análisis.

3.4. Diseño experimental para la producción del ácido láctico en el sistema de digestión por microondas.

Se emplea diferentes fuentes de materia prima en la producción de ácido láctico, una es el alga parda y la otra el alginato de sodio óptimo deducido en el diseño experimental.

Se utiliza en ambos casos el mismo diseño experimental con el fin de comparar los rendimientos de producción que se obtendrán.

Para indagar la influencia de los parámetros en la producción de ácido láctico, se estable el diseño experimental del tipo Box- Behnken con 3 factores como se observa en la tabla 9: temperatura (A), tiempo (B) y concentración del catalizador (C). Los valores de cada factor se expresan como nivel inferior, central y superior (-1; 0; 1).

La matriz de diseño experimental del tipo Box- Behnken de la tabla 10 se genera mediante un software estadístico. Esta matriz consta de un bloque de quince corridas, de las cuales doce experimentaciones son combinaciones diferentes y tres son centrales. Las filas explican el arreglo a seguir con el nivel de cada parámetro y el resultado del rendimiento del ácido láctico ($R_{\text{ácido}}$) que se obtiene después del tratamiento.

Tabla 9

Niveles de tratamiento y valores codificados de las variables independientes de la producción de ácido láctico

Variables	Valores para las variables		
	-1	0	1
Temperatura (C)	180	200	220
Gramos CaO (gr)	0	0.4	0.6
Tiempo (min)	30	60	90

Tabla 10

Diseño experimental de Box- Behnken para la producción de ácido láctico

Trat.	VARIABLES NATURALES			VARIABLES MODIFICADAS			RESULTADO
	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	CAO (gr)	Temperatura (A)	Tiempo (B)	CAO (C)	Rácido
1	0	1	1	200	90	0,6	AL 1 o Alga 1
2	-1	0	-1	180	60	0	AL 2 o Alga 2
3	1	0	1	220	60	0,6	AL 3 o Alga 3
4	1	1	0	220	90	0,3	AL 4 o Alga 4
5	1	0	-1	220	60	0	AL 5 o Alga 5
6	-1	1	0	180	90	0,3	AL 6 o Alga 6
7	1	0	0	220	30	0,3	AL 7 o Alga 7
8	0	-1	1	200	30	0,3	AL 8 o Alga 8
9	0	1	-1	200	90	0	AL 9 o Alga 9
10	-1	-1	0	180	30	0,3	AL 10 o Alga 10
11	-1	0	1	180	60	0,6	AL 11 o Alga 11
12	0	0	0	200	60	0,3	AL 12 o Alga 12
13	0	0	0	200	60	0,3	AL 13 o Alga 13
14	0	0	0	200	60	0,3	AL 14 o Alga 14
15	0	0	-1	200	30	0	AL 15 o Alga 15

Como se observa la tabla 10, los experimentos se llevan a cabo de acuerdo al diseño experimental propuesto para obtener el rendimiento de producción de ácido láctico se realiza diferentes etapas como se especifica a continuación:

- **Pretratamiento del catalizador.**
 - Mediante un tamiz recolectar el óxido de calcio de menor tamaño de mallado.
 - Calentar del óxido de calcio a 500 °C en la mufa durante cinco horas.
- **Conversión alginato de sodio a ácido láctico.**
 - Pesar 0,6 gr de alginato de sodio y disolver en 30 ml de agua destilada en un agitador magnético, durante una hora.
- **Conversión alginato de sodio a ácido láctico.**
 - Pesar 0,6 gr de alga seca y colocar en 30 ml de agua destilada durante 24 horas.

- **Para ambos casos**

- Pesar el óxido de calcio y agregar a la mezcla con agitación magnética durante diez minutos.
- Colocar la mezcla en el sistema de digestión por microondas de acuerdo al tiempo y temperatura requerida.
- Una vez realizado la digestión disminuir el ph a 1,05 mediante HCl a 2 Molar.
- Luego, el producto acidificado centrifugar durante 25 minutos a 4.000 rpm.
- Finalmente, recolectar el líquido en un frasco de cristal sellado en un lugar oscuro a temperatura ambiente.

3.5. Optimización de las condiciones de los diseños experimentales para la extracción del alginato de sodio y la producción de ácido láctico.

La optimización se realiza al terminar cada diseño experimental. Los diseños se expresarán mediante la ecuación 2, que representa la regresión polinómica de segundo orden con un ajuste de superficie de respuesta de Box- Benhken que permite aproximar la curvatura de la superficie:

$$R_{alginato} \text{ ó } R_{ácido} = \beta_0 + \sum x_i + \sum \beta_{ii}x_i^2 + \sum \sum \beta_{ij}x_ix_j + e$$

Ecuación 2. Ecuación polinómica cuadrática de segundo orden.

Fuente: (Montgomery, 2004).

Donde:

$R_{alginato}$ ó $R_{ácido}$ es el rendimiento estimado de alginato o ácido.

x_i es el valor natural de una variable independiente.

$\beta_i, \beta_{ij}, \beta_{ii}$ son los coeficientes de regresión individuales, lineales y cuadráticos, respectivamente.

ε es el error aleatorio.

Se utiliza un software estadístico para determinar el análisis de la varianza, el diagrama de Pareto, diagramas de probabilidad normal de residuales, Tabla Anova, falta de ajuste y coeficiente de correlación R^2 , tomando en cuenta que el modelo de esta naturaleza se considera aceptable si alcanza el 95% de significancia (valor $p < 0,05$) (Lorbeer et al., 2015) (Montgomery, 2004).

Para deducir las condiciones óptimas operables, el punto estacionario máximo, mínimo o punto de silla, gráficas de contorno y la caracterización de la naturaleza de la superficie de respuesta, se utiliza el análisis de superficie de respuesta que proporciona el mismo software.

3.6. Análisis químicos.

Una vez determinado el alginato óptimo se debe caracterizar, para ello se emplean diversas técnicas analíticas que se especificará a continuación.

Para cualificar y cuantificar el ácido láctico se utiliza espectrometría de movilidad iónica.

3.6.1 Rendimiento.

Después de culminar todos los tratamientos establecidos en el diseño experimental se debe determinar el rendimiento de producción mediante la ecuación 3.

$$R (gr\%) = \frac{P_A}{P_o} * 100$$

Ecuación 3. Rendimiento en peso.

Fuente: (Soto, 2011).

Donde:

R es el rendimiento de la extracción del alginato de sodio o ácido láctico.

P_A es el peso del alginato extraído o el ácido.

P_o es el peso inicial de la muestra de alga seca o del alginato de sodio.

3.6.2 Análisis de masa molar por viscosimetría capilar.

Para determinar la masa molar promedio se utiliza el viscosímetro Cannon-Fenske No. 100 de la figura 29.

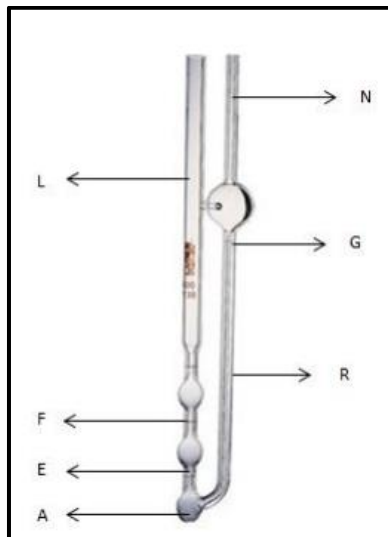


Figura 29. Viscosímetro Cannon-Fenske No. 100.

Fuente: (Moyano, 2017)

Al alginato óptimo deducido en el diseño experimental y el adquirido de casa comercial se debe determinar la viscosidad a distintas disoluciones, usando como solvente NaCl 0,1 M (Martinsen, Skjefik-br, Smidsrod, & Paoletti, 1991). Además, se debe realizar la medición del tiempo que fluye el solvente en el viscosímetro.

Para efectuar la medición se invierte el viscosímetro, el tubo N se sumerge en la solución y al brazo L se aplica succión hasta que el líquido alcance la marca G, se coloca el instrumento en su posición vertical normal permitiendo que el líquido fluya a través del tubo capilar R hasta aproximadamente la mitad del bulbo A; entonces, se coloca un tapón en L para evitar que el líquido siga fluyendo.

Luego, el viscosímetro se sumerge en un baño maría a 22 °C en forma vertical durante 30 minutos para alcanzar la temperatura del baño. Entonces, se retira el tapón y se toma el tiempo (t_1) que transcurre mientras el líquido fluye desde la marca E hasta F. Se debe repetir el procedimiento para efectuar una segunda medición de tiempo de flujo (t_2).

Para determinar la viscosidad intrínseca de la muestra se utiliza las ecuaciones de

la tabla 11.

Tabla 11

Ecuaciones para viscometría capilar

Viscosidad relativa	$n_r = \frac{t}{t_0}$
Viscosidad específica	$n_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0}$
Viscosidad reducida	$n_{re} = \frac{n_{sp}}{C}$
Viscosidad inherente	$n_{inh} = \frac{\ln(n_{re})}{C}$
Método de Huggis	$[n] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{n_{sp}}{C} \right)$
Método de Kramer	$[n] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\ln(nr)}{C} \right)$

Fuente: (Ayarza, 2015).

Donde:

t_0 el tiempo que fluye la solución de la marca E hasta la F.

t el tiempo que fluye el solvente de la marca E hasta la F.

C concentración de la solución.

La viscosidad intrínseca es el promedio viscosidades cuando la concentración tiende a cero en las ecuaciones de Huggis y Kramer (Ayarza, 2015).

Una vez determinada la viscosidad intrínseca de la solución se relaciona con la ecuación de Mark-Houwink para determinar el peso molecular promedio de la muestra.

$$[n] = K * M^\alpha$$

Ecuación 4. Ecuación de Mark-Houwink.

Fuente: (Martinsen, Skjvik-br, Smidsrod, & Paoletti, 1991).

Donde:

$[\eta]$ (cm^3/gr) es la viscosidad intrínseca.

M (gr/mol) es la masa molar promedio de viscosidad.

K es $0,073 \text{ cm}^3/\text{gr}$ y α es $0,92$ constantes específicas polímero/ solvente (Martinsen et al., 1991).

3.6.3 Determinación de la razón M/G del alginato de sodio por análisis de espectroscopia vibracional FT- IR.

Previo al análisis, las muestras de alginato de sodio se deben secar a 50°C durante 3 horas en un horno convectivo. Todos los espectros se registran a temperatura ambiente (20°C), con un número total 64 escaneos resolución espectral de 4 cm^{-1} y una velocidad de desplazamiento de los espejos de $0.2 \text{ cm}/\text{s}$. Se utiliza el software Quant para el procesamiento de los espectros en la región de 4000 a 600 cm^{-1} por espectroscopía infrarroja vibracional FT- IR Frontier (Perkin Elmer, USA) de la figura 30.



Figura 30. Espectroscopia infrarroja vibracional FT- IR Frontier.

3.6.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Los termogramas DSC de las muestras de alginato de sodio se determinan mediante el equipo calorimétrico diferencial de barrido del fabricante Mettler Toledo de la figura 31.



Figura 31. Equipo de calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Los alginatos se colocan en cápsulas de aluminio que se sellan cuidadosamente para evitar problemas de dilatación o descomposición de la muestra fuera de la cápsula durante el proceso de calentamiento constante. Luego se pesa el recipiente sellado para obtener la masa de la muestra y se utiliza como referencia una cápsula sellada de aluminio vacía (40 μ l). La muestra se calentará de 25 °C a 550 °C a una velocidad de 10 °C / min, con un flujo de nitrógeno de 90 ml/min.

3.6.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Los análisis térmicos se realizan en el equipo Pyris 1 TGA de la figura 32, con muestras entre 1 y 3 mg.



Figura 32. Equipo de análisis termogravimétrico (TGA).

Las muestras se calientan desde 25°C hasta los 50 °C con un flujo de nitrógeno de 20 ml/min, luego de 0,5 minutos la muestra se calentará hasta 900 °C con un flujo de nitrógeno de 20 ml/min; finalmente, se mantiene la muestra a temperatura isotérmica durante 3 minutos con un flujo de aire a un caudal de 20 ml/min. Todas las muestras se llevan a cabo con a una tasa de calentamiento de 10 °C/min.

3.7. Análisis de la cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de movilidad iónica (GC- IMS).

Después de realizar todas las reacciones de producción del ácido láctico, el producto se debe identificar y cuantificar en el equipo de espectrometría de movilidad iónica (IMS) que se muestra en la figura 33, para ello es necesario realizar una curva de calibración del ácido láctico a distintas concentraciones. Se coloca 500 ul de la muestra en un vial de 50 ml herméticamente cerrado mediante el sellador adquirido por el fabricante- Las condiciones de operación se observan en la tabla 12 de acuerdo a la descripción del equipo de espectrometría de movilidad iónica de la figura 34.

Tabla 12

Condiciones de operación del equipo IMS para la visualización del ácido láctico

Columna	DB5
Gas	N ₂
T1	75 °C
T2	40 °C
T3	75 °C
T4	75 °C
T5	55 °C
EPC1	100 ml/min
EPC2	10 ml/min



Figura 33. Espectroscopia de movilidad iónica.

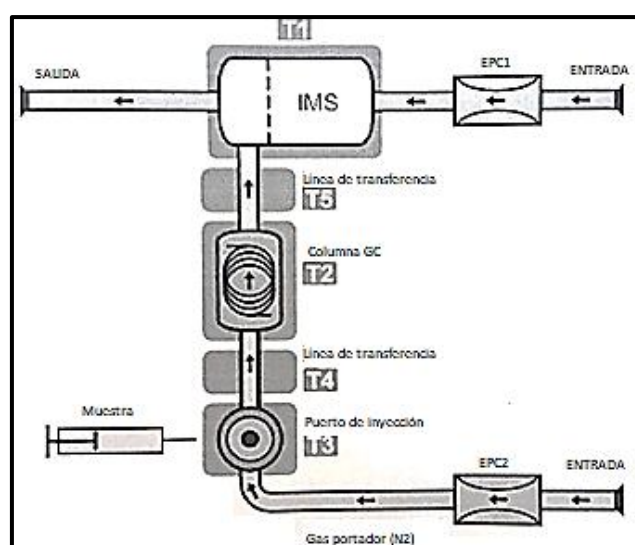


Figura 34. Descripción del dispositivo de espectrometría de movilidad iónica

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Protocolo de conservación y preservación de macroalgas marinas

Para la conservación de la macroalga parda es necesario seguir un protocolo de preservación que se especifica a continuación (Anexo A y Anexo B):

4.1.1 Área de estudio.

Como se ilustra en la figura 35, el área de estudio es la zona rocosa intermareal de la costa de Machalilla- Manabí perteneciente a las coordenadas $1^{\circ} 29' 3.99''$ S; $80^{\circ} 46' 43.91''$ W que se observa en la figura 36.



Figura 35. Zona rocosa de la costa de Machalilla- Manabí.

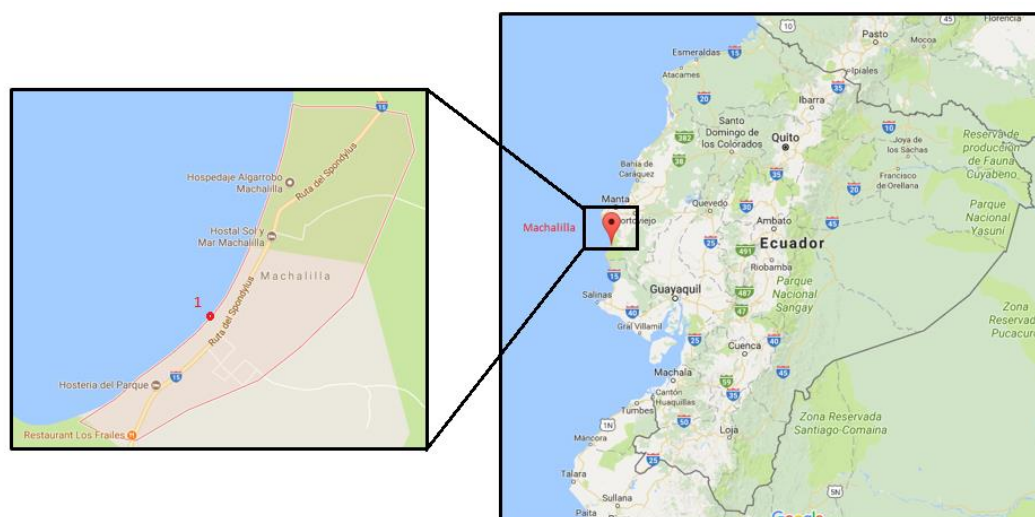


Figura 36. Ubicación de la localidad donde se recolectó el material algal estudiado 1. Machalilla- Manabí ($1^{\circ} 29' 3.99''$ S; $80^{\circ} 46' 43.91''$ W).

Fuente: (Google maps, 2017)

4.1.2 Recolección de las algas marinas.

El muestreo se realiza en forma manual al largo de la playa usando la predicción de la marea del INOCAR de la tabla 13, la recolección se efectúa una hora antes de lo de la marea baja (9:00 am) (Anexo 1).

Tabla 13

Datos de marea de la playa de Machalilla

Playa de Machalilla	
27/5/2017	Sábado
Hora (hh: mm)	Altura (m)
04:52	3.24 P
10:51	0.26 B
17:15	3.19 P
23:10	0.05 B

Fuente: (Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR), 2017).

4.1.3 Identificación del espécimen.

De acuerdo a la morfología que presentan las especies pertenecen a la división Feofitas debido a su color marrón oscuro, a la familia Dictyotaceae por sus ramificaciones, son del género *Padina* de especie *Padina Durvillae* porque sus terminaciones son de tipos redondas en forma de abanico con segmentos estrechos las especies de este orden suelen medir entre 10 a 15 cm como se muestra en la figura 37 y en la tabla 14.



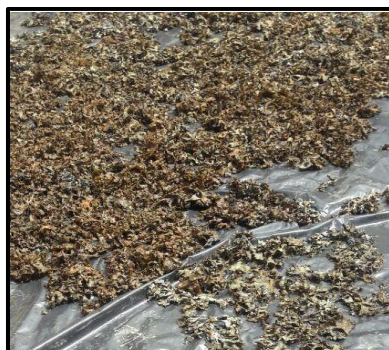
Figura 37. Apariencia de las especies encontradas la playa de Machalilla.

Tabla 14**Identificación del espécimen recolectada**

Clase	Feofitas
Orden	Dicyotales
Familia	Dictocoeae
Género	Padina
Especie	Durvillaei

4.1.4 Preservación de las algas.

La especie recolectada se debe lavar con agua común para retirar las impurezas sólidas; además, se realiza un pretratamiento al 0,5% de formol durante una noche, para homogenizar la muestra se hace un segundo lavado con agua destilada, luego las algas húmedas se esparcen sobre una red de esta forma se secan directamente en el sol durante dos días como se indica en la figura 38.

**Figura 38. Algas secadas en el sol.**

Las algas se almacenan en un lugar seco y en recipientes sellados de polipropileno hasta su previo análisis.

4.1.5 Conservación del material recolectado

El material recolectado se seca dentro de un horno conectivo a 50 °C durante 24 horas, se retira las impurezas sólidas (arena, residuos orgánicos, etc.) y se separa en tres partes basándose en su morfología: en tallos, bulbos y hojas como se indica en la figura 39 y 40 respectivamente.



Figura 39. Arena, esteras y otras algas.



Figura 40. Partes del alga parda *Padina Pavina*: bulbo, tallos y hojas.

Los ensayos de tamizaje se llevan a cabo por triplicado, cada ensayo se realiza con una masa que represente la tercera parte del material recolectado. En la tabla 15 se muestra el peso promedio del material triturado expresado en tres niveles. Se observa en la figura 41 las algas pardas pertenecientes a la playa de Machalilla, la mayor cantidad de material (77,43%) se acumula en el mallado 20, mientras el material de menor acumulación (4,96 %) fue en el mallado 10.

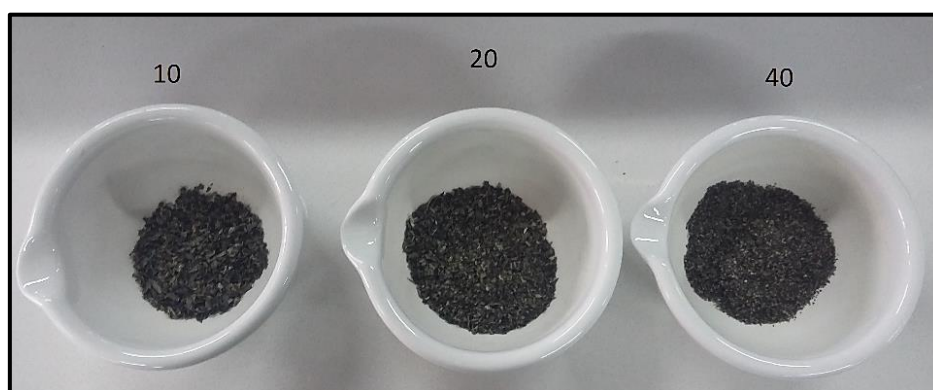


Figura 41. Mallado de las hojas de las algas (10, 20 y 40).

Tabla 15**Porcentaje promedio en peso del alga tamizada**

Muestras	Tamiz N°	Abertura de malla (um)	% Retenido	
			Parcial	Acumulado
Algas trituradas	10	2 mm	4,96	4,96
	20	850	77,43	82,39
	40	425	10,09	92,48
	Base	Pasa 170	7,53	100

El material tamizado se recolecta y se guarda por separado según el mallado en un lugar seco y en bolsas plásticas.

4.2. Optimización de las condiciones del diseño experimental para la extracción del alginato de sodio.

La extracción del polisacárido a partir del alga parda (Anexo C) consta de cuatro pasos:

- Pretratamiento con ácido clorhídrico.
- Extracción en medio alcalino con programas de calentamiento en el digestor de microondas como se observa en la figura 39 y en la tabla 16, empleando una rampa de calentamiento de 10 minutos para llegar a la temperatura deseada. Después de la reacción en el biodigestor el reactor se enfría a temperatura ambiente durante una hora.
- Recolección, centrifugación y precipitación del contenido del reactor (alginato de sodio en solución).
- Finalmente, purificación y secado del polisacárido.

El sistema de calentamiento de muestras por radiación de microondas es cuidadosamente monitoreado en el interior del recipiente de digestión, asegurando la temperatura requerida en cada tratamiento, favoreciendo la extracción del polisacárido y la disminución del error experimental. Además, no es necesario la utilización del

recipiente de medición de presión en este trabajo debido que no se utiliza condiciones críticas de producción, otro punto a considerar es el fácil manejo de descarga y carga de los microreactores garantizando la seguridad del operador.

Tabla 16

Programas de calentamiento en microondas para la solución de alginato

	Temperatura	Presión	Rampa	Tiempo	Poder
1	100	----	5	0	99
2	100	----	5	20	99
3	100	----	0	20	99
4	100	----	0	20	99
5	50	----	0	0	0

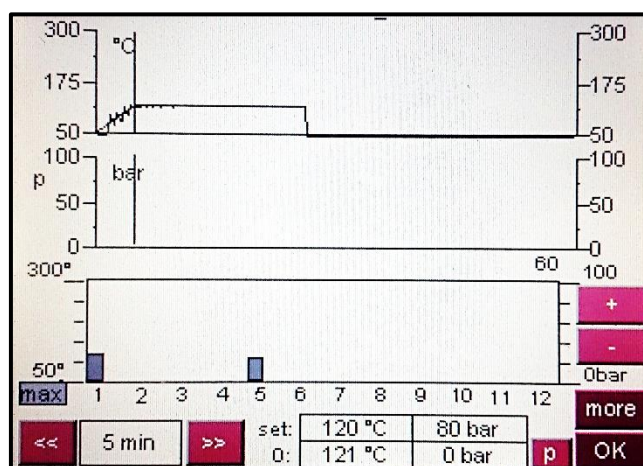


Figura 42. Gráficos de los programas de temperatura con sensor IR (°C), presión (Bar) y la posición de los recipientes.

Luego de realizar los diferentes tratamientos por duplicado (Anexo D) se determina el rendimiento de extracción mediante la ecuación 5, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 17. Estos resultados se pueden considerar como aceptables, en el trabajo realizado por Robalino en el 2017 reportó para esta misma especie de alga similares rendimientos, pero usando diferente método de extracción del polisacárido.

Tabla 17

Determinación del rendimiento de extracción de alginato de sodio

Trat.	Alga seca (gr)	Alginato de sodio (gr)	R alginato (%)
J1	1,006	0,285	28,360
J2	1,016	0,289	28,407
J3	1,050	0,261	24,889
J4	1,013	0,229	22,623
J5	1,006	0,235	23,345
J6	1,047	0,201	19,173
J7	1,022	0,249	24,397
J8	1,012	0,220	21,765
J9	1,010	0,178	17,606
J10	1,015	0,144	14,221
J11	1,011	0,277	27,437
J12	1,040	0,238	22,940
J13	1,083	0,195	17,978
J14	1,006	0,215	21,376
J15	1,018	0,284	27,873
J16	1,014	0,255	25,125
J17	1,039	0,148	14,213
J18	1,015	0,155	15,233
J19	1,019	0,199	19,544
J20	1,011	0,210	20,753
J21	1,022	0,246	24,081
J22	1,010	0,245	24,212
J23	1,011	0,215	21,267
J24	1,005	0,238	23,706
J25	1,002	0,279	27,873
J26	1,051	0,202	19,198
J27	1,009	0,256	25,370
J28	1,034	0,296	28,632
J29	1,000	0,288	28,754

4.2.1 Análisis de la varianza.

Una vez determinado el rendimiento de extracción de alginato de sodio se debe utilizar un software estadístico para evaluar el diseño experimental de la tabla 18, el cual está conformado por cuatro variables independientes (Temperatura, tiempo,

concentración alcalina y el tipo de mallado) y una variable de respuesta (R_{alginato}).

Tabla 18

Diseño experimental Box- Becker para la extracción de alginato de sodio

Trat.	Variables independientes				Variable de respuesta
	Temperatura	Tiempo	Concentración	Mallado	R_{alginato}
J1	90	3	90	1	28,360
J2	90	2,5	120	1	28,407
J3	90	3	60	2	24,889
J4	90	2,5	60	3	22,623
J5	90	2,5	120	3	23,345
J6	90	2	60	2	19,173
J7	90	2,5	60	1	24,397
J8	80	2,5	120	2	21,765
J9	100	3	90	2	17,606
J10	100	2,5	60	2	14,221
J11	90	2,5	90	2	27,437
J12	80	3	90	2	22,940
J13	100	2,5	120	2	17,978
J14	90	2	90	3	21,376
J15	90	2,5	90	2	27,873
J16	90	3	120	2	25,125
J17	100	2	90	2	14,213
J18	100	2,5	90	3	15,233
J19	100	2,5	90	1	19,544
J20	80	2,5	60	2	20,753
J21	90	2	90	1	24,081
J22	90	3	90	3	24,212
J23	80	2,5	90	3	21,267
J24	90	2	120	2	23,706
J25	90	2,5	90	2	27,873
J26	80	2	90	2	19,198
J27	80	2,5	90	1	25,370
J28	90	2,5	90	2	28,632
J29	90	2,5	90	2	28,754

El análisis de varianza del rendimiento de extracción del alginato de sodio (ANOVA), se encuentra en la tabla 19, todos los efectos e interacciones que presentaron una probabilidad menor que 0,05 fueron significativos (A, B, C, D, AA, AC, BB, BC, CC, CD, DD), excepto las interacciones AB, AD y BD que fueron no significativos a un nivel de probabilidad del 95%; además, el modelo representa un coeficiente R^2 ajustado de 99,14% indicando un alto grado de correlación entre los valores experimentales y predichos. Además, se observa valores de $p=0,000$,

demostrando que puede existir curvatura cuando se pasa del nivel bajo (-) al nivel alto (+) de los factores, a través del punto central (0).

Tabla 19

Análisis de la varianza (ANOVA) del modelo de metodología de respuesta tipo Box- Bekhen

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
A:Temperatura	88,01	1	88,010	544,14	0,0000
B:Concentración	38,1099	1	38,110	235,62	0,0024
C:Tiempo	16,9694	1	16,969	104,92	0,0015
D:Mallado	40,7119	1	40,712	251,71	0,0006
AA	313,628	1	313,628	1939,07	0,0004
AB	0,0304502	1	0,031	0,19	0,6710
AC	1,88376	1	1,884	11,65	0,0042
AD	0,010816	1	0,011	0,07	0,7997
BB	44,0042	1	44,004	272,07	0,0003
BC	4,61605	1	4,616	28,54	0,0001
BD	0,520562	1	0,521	3,22	0,0944
CC	37,885	1	37,885	234,23	0,0000
CD	2,70274	1	2,703	16,71	0,0011
DD	5,70233	1	5,702	35,26	0,0000
Error total	2,26438	14	0,162		
Total (corr.)	529,685	28			

$R^2 = 99,57 \%$
 R^2 ajustado = 99,14 %
 Error estándar del estándar = 0,402171
 Error absoluto medio = 0,214209
 Estadístico Durbin-Watson = 1,28698 (P=0,0147)

La relación matemática para la extracción del alginato de sodio se expresa en la ecuación 6:

$$R_{\text{alginato}}\% = -621,142 + 12,093 * A + 65,115 * B + 0,550 * C + 6,646 * D - 0,069 * A^2 - 0,017 * A * B + 0,002 * A * C - 0,005 * A * D - 10,418 * B^2 - 0,071 * B * C - 0,722 * B * D - 0,003 * C^2 - 0,0274 * C * D - 0,938 * D^2$$

Ecuación 5. Relación matemática para la extracción de alginato de sodio.

Esta ecuación permite realizar predicciones de la superficie de respuesta para cada nivel de extracción del polisacárido, como se encuentran en la tabla 20, los valores residuales (diferencia entre los valores observados con los valores ajustados) señalan

que el modelo presenta una desviación mínima entre el valor ajustado y observado.

Tabla 20

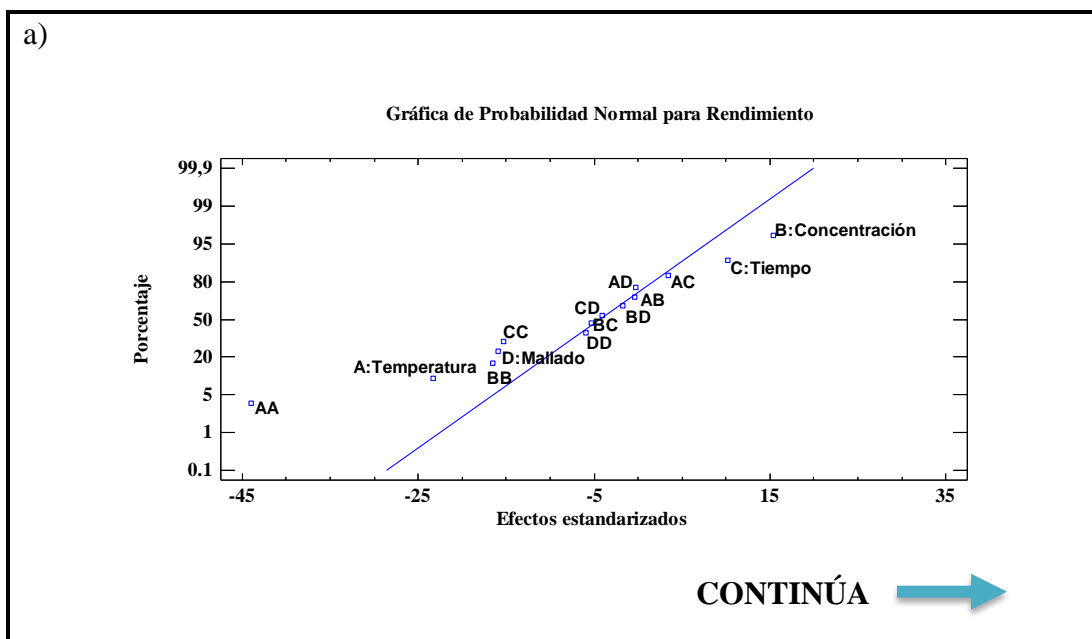
Comparación de valores observados y ajustados para el rendimiento de la extracción

Trat.	Valores Observados	Valores Ajustados	Residuos
1	28,360	28,556	0,196
2	28,407	28,613	0,206
3	24,889	24,760	0,129
4	22,623	22,550	0,073
5	23,345	23,285	0,060
6	19,173	19,047	0,126
7	24,397	24,590	0,193
8	21,765	21,955	0,190
9	17,606	17,542	0,064
10	14,221	14,160	0,061
11	27,437	28,114	0,677
12	22,940	23,133	0,193
13	17,978	17,911	0,067
14	21,376	21,308	0,068
15	27,873	28,114	0,241
16	25,125	24,990	0,136
17	14,213	14,153	0,060
18	15,233	15,621	0,388
19	19,544	19,409	0,136
20	20,753	20,949	0,196
21	24,081	24,271	0,190
22	24,212	24,151	0,061
23	21,267	21,141	0,126
24	23,706	23,574	0,132
25	27,873	28,114	0,241
26	19,198	19,395	0,197
27	25,370	24,721	0,649
28	28,632	28,114	0,518
29	28,754	28,114	0,640

4.2.2 Análisis de los efectos estandarizados.

Con el fin de evaluar cada factor y su interacción, en la figura 43 a) se encuentra la gráfica de probabilidad normal de los efectos estandarizados para la extracción de alginato de sodio, donde los efectos por debajo de la región del 0 tendrán valores negativos (A, D, AA, AB, AD, BB, BC, BD, CC, CD y DD) y conducen a una disminución de la respuesta cuando sus niveles son aumentados. Por lo contrario, en la región sobre el 0 los efectos tendrán valores positivos (B, C y AC) y exponen que un incremento en sus niveles conlleva a un aumento en el porcentaje de extracción de alginato. De igual forma, los factores e interacciones que se encuentran apartados de la línea son significativos, mientras los que se encuentran sobre la línea son menos significativos, este efecto se puede visualizar en el diagrama de Pareto de la figura 39 b) que representa los efectos estandarizados con $p = 0,05$ y se observa que los factores A: Temperatura, AA, B: Concentración son los más significativos.

Al analizar la figura 43 b) y los valores de la tabla 20, puede establecerse que la concentración B es la variable más importante en el proceso de extracción del polisacárido. El valor positivo del efecto B señala que la extracción fue favorecida con altas concentraciones del carbonato de sodio. Resultados similares donde la concentración fue la variable más significativa ha sido reportado en investigaciones previas (Robalino, 2017; Ayarza, 2015).



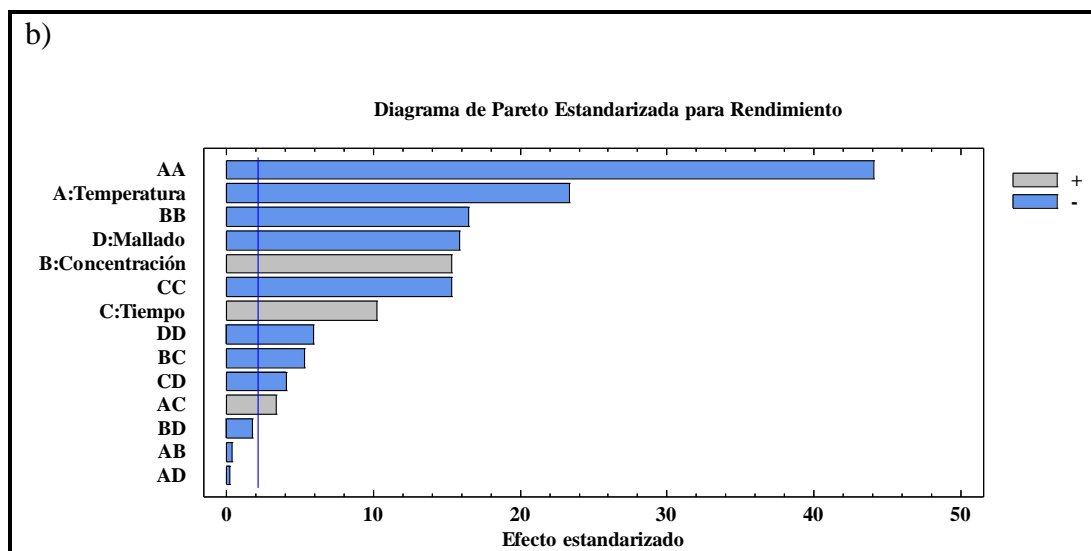


Figura 43. a) Gráfica normal de los efectos estandarizados con $p=0.05$, b) Esquema de Pareto de los efectos estandarizados con $p=0.05$.

Haciendo referencia a la Tabla 21, se concluye que los niveles analizados fueron los más adecuados. A modo de comparación, el coeficiente del factor B (3,564) es mayor que el coeficiente del factor C (2,378), lo que indica que la temperatura de digestión (A) tiene un mayor efecto en la extracción que la concentración del álcali (C) utilizada durante el proceso de digestión. A su vez, el valor del coeficiente del factor AC (1,373), indica que la interacción tiene menor efecto en la producción del polisacárido en comparación a los dos otros factores.

Tabla 21

Efectos estimados en la extracción de alginato

Efecto	Estimado
Promedio	28,114
A:Temperatura	-5,416
B:Concentración	3,564
C:Tiempo	2,378
D:Mallado	-3,684
AA	-13,907
AB	-0,175
AC	1,373
AD	-0,104

CONTINÚA

Efecto	Estimado
BB	-5,209
BC	-2,1489
BD	-0,722
CC	-4,833
CD	-1,644
DD	-1,875

4.2.3 Análisis de la superficie de respuesta.

Las figuras 44 a-f) presentan las graficas de superficie de respuesta con relación de los factores hacia el rendimiento de extracción de alginato, estas curvas se construyen manteniendo constante el nivel intermedio (0) de un factor que no se involucra en la gráfica; mientras, los dos factores independientes van variando desde nivel inferior hasta el superior (-1, +1).

En la figura 44 a) se muestra el efecto de la temperatura y la concentración alcalina con dos factores intermedios (tiempo y molido) sobre el rendimiento de extracción del polisacárido, esta curva revela un máximo rendimiento en la región de 84 a 92°C y 2,5 a 3% Na₂CO₃. Al aumentar la concentración alcalina y la temperatura los rendimientos de alginato disminuyen, esto se debe que a temperaturas elevadas provoca la conversión del alginato de sodio en otros compuestos, por lo que no se recomienda trabajar con temperaturas mayores a 92°C (figura 44 b-c). Del mismo modo la concentración no debe superar el 3% pues satura los compuestos que se desea extraer (figura d-e). Estos resultados concuerdan con la investigación de Hernández-Carmona et al. (1999a, b), en donde la temperatura y la concentración de extracción juega un papel importante en la tasa de transferencia de masa de alginato de la matriz de las hojas de las algas.

Por otro lado, en la figura 44 f) se observa los efectos tiempo y molido versus el rendimiento, la gráfica muestra un efecto cuadrático poco revelante; sin embargo, estos resultados resaltan la influencia del tiempo de reacción y molido, cuando el uno aumenta y el otro disminuye favorecen el intercambio iónico del ácido algínico a alginato de sodio y el aumento de la superficie de reacción con el solvente respectivamente; además, sugiere una región máxima de extracción en 85- 115 min usando el molido 40. Estos efectos son similares a investigaciones previas (Vauchel,

et al., 2008; Ayarza, 2015).

4.2.4 Optimización de las condiciones de extracción de alginato de sodio.

El análisis del software estadístico sugiere el punto óptimo para la maximización de extracción con la combinación de los factores a 88 °C, 2,6% Na₂CO₃, 99 min, y con el mallado de 40 para obtener el máximo rendimiento del 29,94%.

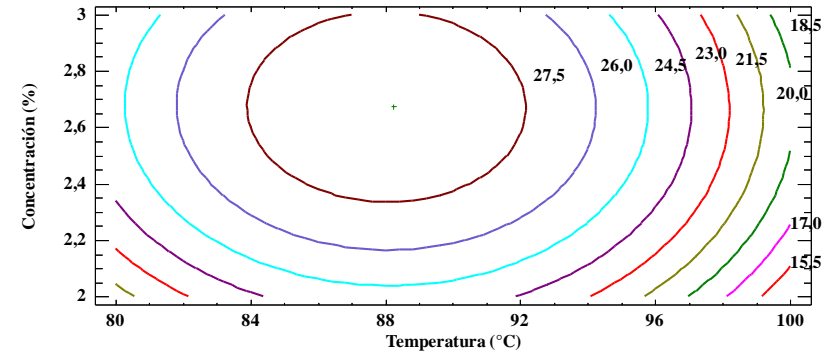
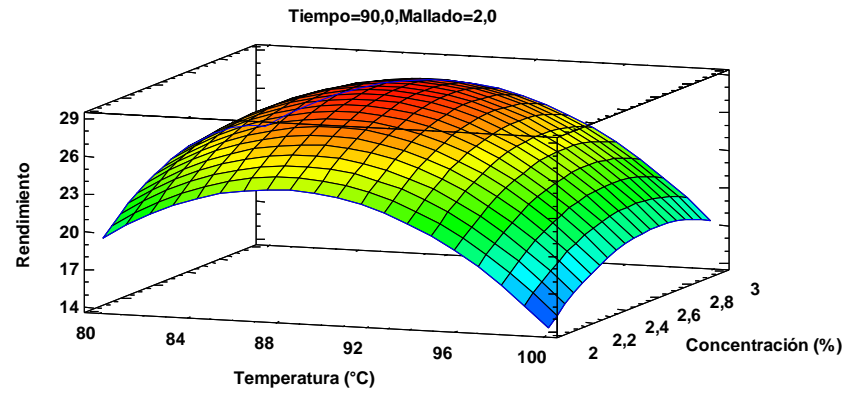
Al extraer el polisacárido por triplicado (Anexo F), utilizando las condiciones óptimas deducidas en el diseño experimental se puede constatar la veracidad de la optimización, como se observa en la tabla 22.

Tabla 22

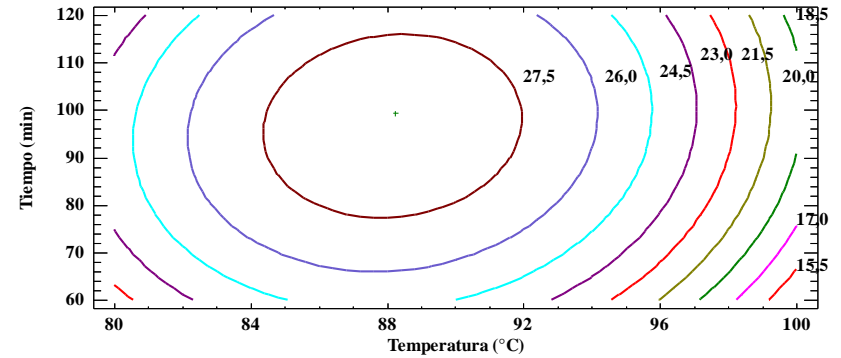
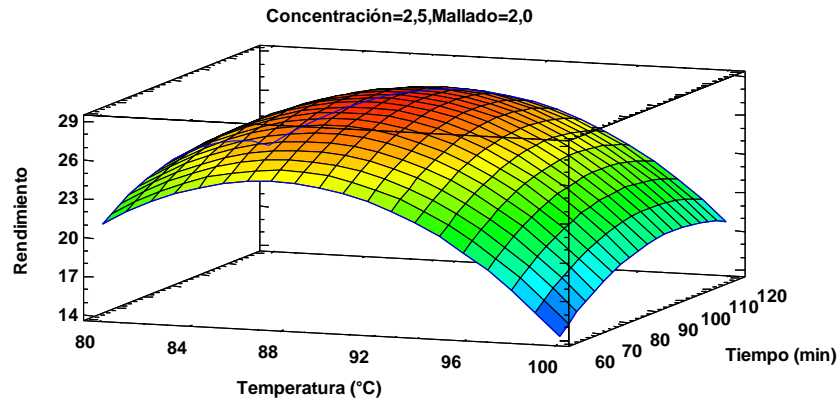
Punto óptimo de la extracción de alginato de sodio

Rendimientos obtenidos a condiciones óptimas	
Rendimiento sugerido	Rendimiento observado
29,940	29,917

a)

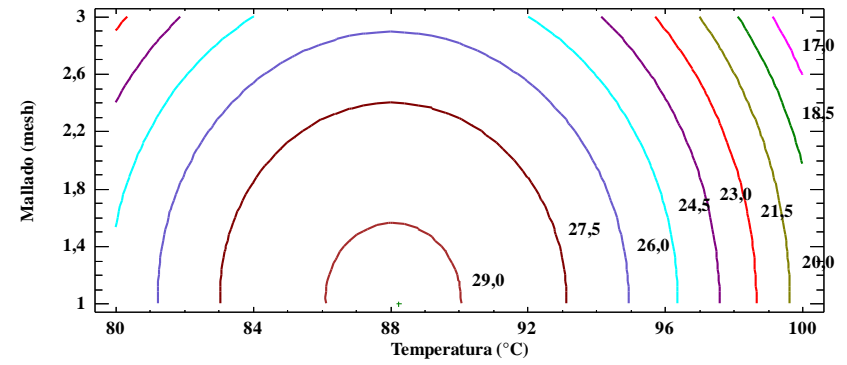
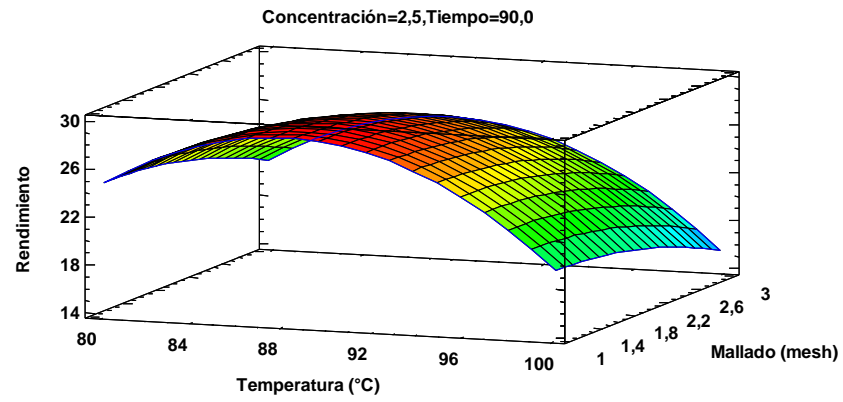


b)

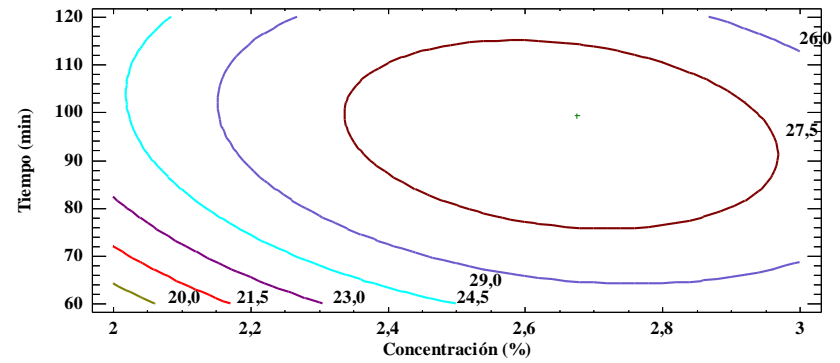
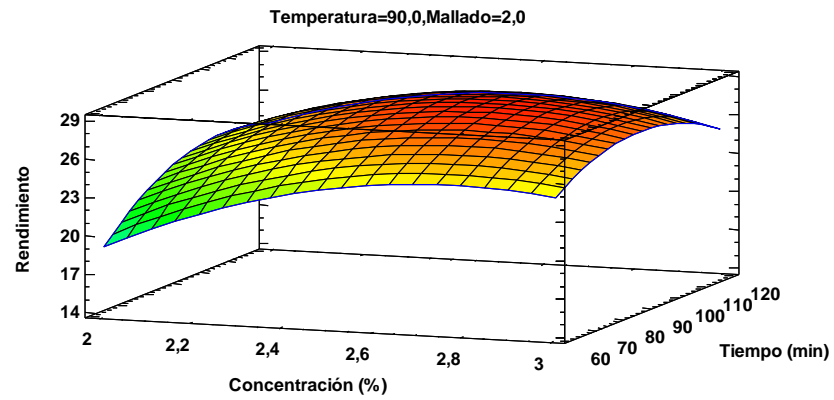


CONTINÚA →

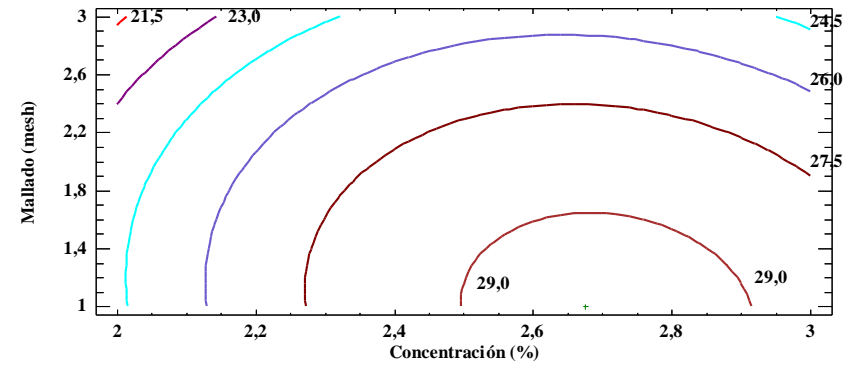
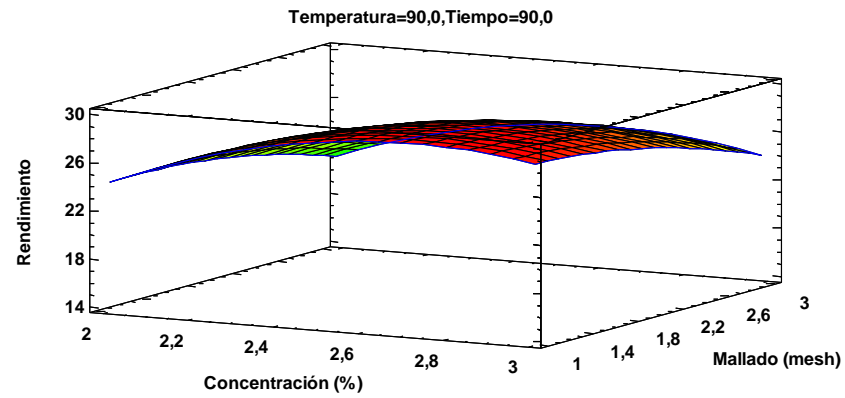
c)



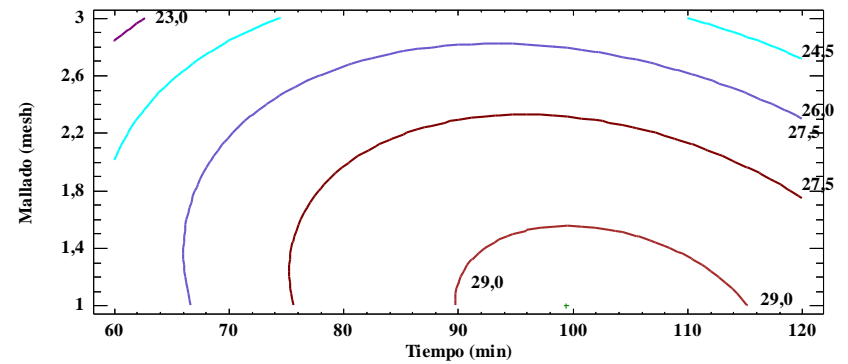
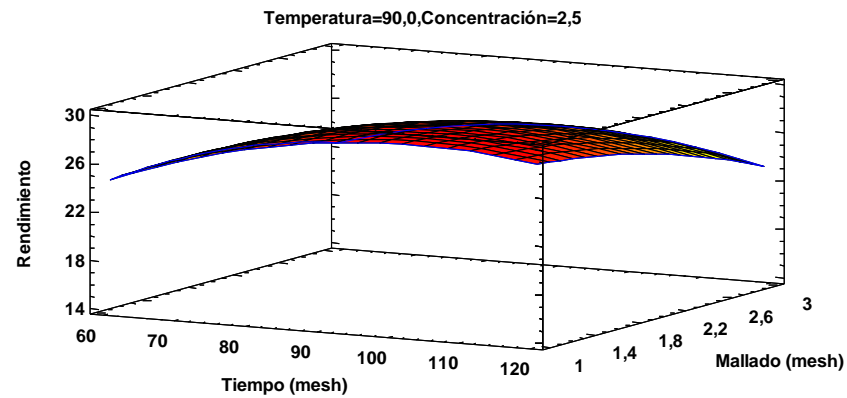
d)

CONTINÚA 

e)



f)



CONTINÚA →

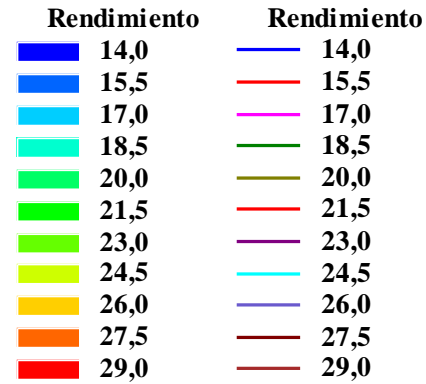


Figura 44. Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura de extracción (A), tiempo de reacción (B), concentración alcalina (C) y molido (D) en el rendimiento de extracción de alginato (R%).

4.3. Análisis químicos.

Para identificar las características del alginato óptimo deducido en el diseño experimental, se lleva a cabo los análisis químicos para la determinación de su composición y comportamiento térmico.

El ácido láctico se identifica y cuantifica mediante espectrometría de movilidad iónica.

4.3.1 Análisis de peso molecular promedio por viscosimetría capilar.

A continuación, en la tabla 23 y 24 se reportan los tiempos de caída promedio de tres lecturas de cada solución (Anexo E) y los valores de las medidas viscosimétricas obtenidos a partir de las ecuaciones de la tabla 11. La viscosidad intrínseca es el promedio de la viscosidad reducida e inherente a una concentración de cero y esta se relaciona con el peso molecular promedio del polisacárido de acuerdo a la ecuación 5.

En las figuras 45 y 46 se observa las gráficas de Huggins y Kraemer con una buena correlación lineal entre la solución versus la viscosidad tanto para el alginato de Sigma- Aldrich y el alginato óptimo deducido en el diseño experimental.

Tabla 23

Determinación de la viscosidad intrínseca del Alginato Sigma- Aldrich

Alginato Sigma- Aldrich							
C (g/ml)	Solvente	0,00085	0,0017	0,0025	0	[n] prom	Pm (gr/mol)
T _{prom} (seg)	68	98	132	166			
n _r		1,441	1,941	2,441			
n _{sp}		0,441	0,941	1,441		477,43	140,40
N _{red} (ml/gr)		519,031	553,633	576,471	488		
N _{inh} (ml/gr)		429,953	390,173	356,992	466,850		

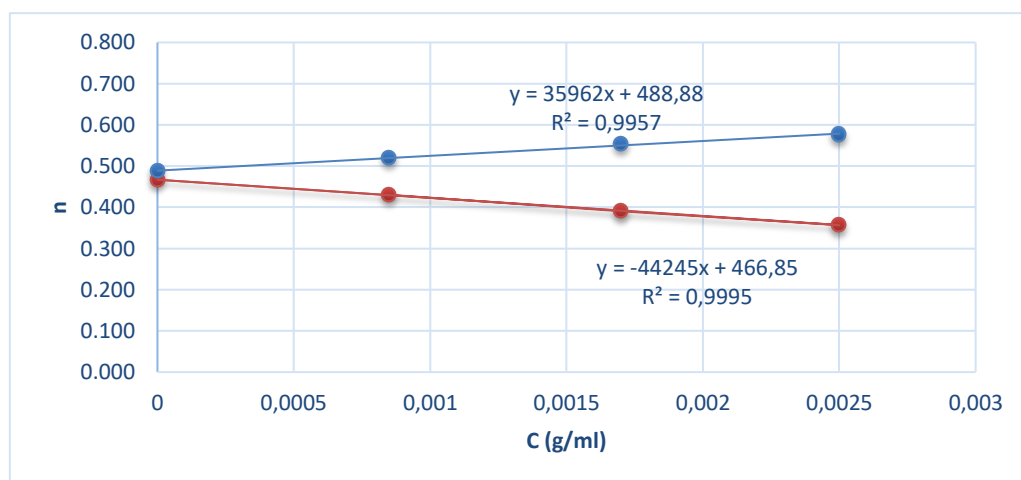


Figura 45. Resultados de viscosimetría capilar para el alginato Sigma- Aldrich.

Tabla 24

Determinación de la viscosidad intrínseca del Alginato óptimo

Optimo							
C (g/ml)	Solvente	0,00085	0,00185	0,00265	0	[n] prom	Pm (gr/mol)
T _{prom} (seg)	68	94	126	154			
n _r		1,382	1,853	2,265			
n _{sp}		0,382	0,853	1,265		424,54	123,58
n _{red} (ml/gr)		449,827	461,049	477,248	436		
n _{inh} (ml/gr)		380,926	333,391	308,470	413,250		

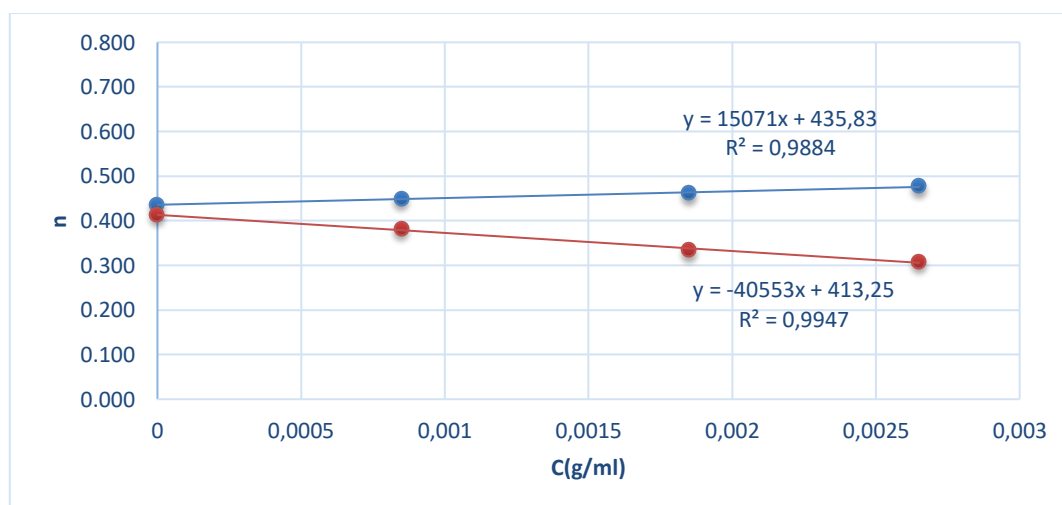


Figura 46. Resultados de viscosimetría capilar para el alginato óptimo.

Tabla 25**Viscosidad intrínseca y masa molar promedio de los extractos de alginato.**

Alginato de sodio	Viscosidad intrínseca (ml/gr)	Peso molecular (gr/mol)
Sigma-Aldrich	477,43	14040
Óptimo	424,54	12358

En los resultados obtenidos, el alginato de referencia posee mayor peso molecular que el extracto óptimo del alga parda *Padina Durvillaei*, pero el productor del alginato de Sigma-Aldrich no reporta el alga parda de extracción y el método de medición del peso molecular. Otro punto a considerar, es el hecho que el extracto fue purificado previamente y es posible una variación en la masa molar. Sin embargo, este resultado está entre las especificaciones del fabricante que reporta un valor entre 120000 a 190000 gr/mol clasificándolo como alginato de bajo peso molecular.

4.3.2 Determinación de la razón M/G del alginato de sodio por análisis de espectroscopia vibracional FT- IR.

Con referencia a estudios previos en la tabla 26 se reporta asignaciones detalladas de las bandas características de absorción del alginato de sodio, esto sin duda servirá para identificar la señal de los espectros IR- FT de las muestras obtenidas (Ayarza, 2015; Sartori et al., 2008).

Tabla 26**Asignaciones de IR bandas de absorción para alginato de sodio**

#	Longitud de onda (cm ⁻¹)	Intensidad	Asignación
1	3360- 3380	Muy fuerte	Estiramiento del OH
2	2962- 2932	Débil	Estiramiento del C-H
3	1608- 1611	Muy fuerte	Estiramiento simétrico del COO-
4	1413- 1414	Medianamente	Estiramiento asimétrico del COO-
5	1124- 1126	Medianamente	Estiramiento del C-C, debido a la presencia del ácido manurónico.
6	1087- 1088	Medianamente	Estiramiento del C-O, debido a la presencia del ácido gulurónico.
7	947- 950	Débil	Estiramiento del C-C-H
8	781	Débil	Residuos de ácido manurónico.

Fuente: (Sartori, Finch, & Ralph, 2008).

El espectro infrarrojo del alginato de Sigma- Aldrich sirve como referencia frente a los espectros de los alginatos extraídos, en la figura 47 a) se observa la primera señal muy fuerte del enlace O-H a $3227,27\text{ cm}^{-1}$, seguido por la señal débil de estiramiento C-H a $2928,66\text{ cm}^{-1}$, el tercer y cuarto pico a $1598,08\text{ cm}^{-1}$ y a $1407,13\text{ cm}^{-1}$ corresponden al estiramiento simétrica y asimétrico O-C-O del grupo carboxilato respectivamente, el quinto pico a $1082,42\text{ cm}^{-1}$ que se asigna de las vibraciones del estiramiento C-O, la sexta banda a $1025,98\text{ cm}^{-1}$ al estirado C-C, y finalmente el sexto y octavo pico a $949,50\text{ cm}^{-1}$ y a $811,94\text{ cm}^{-1}$ se atribuye a los estiramientos del C-C-H y los residuos del ácido manurónico respectivamente.

En la figura 47 b-d), se muestran los espectros de los alginatos: del tratamiento J20 (extraído a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2.5% Na_2CO_3 , 60 min y mesh 20), el óptimo ($88\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2,6% Na_2CO_3 , 99 min, y con el mesh de 40) y el tratamiento J13 (extraído a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2.5% Na_2CO_3 , 120 min y mesh 20).

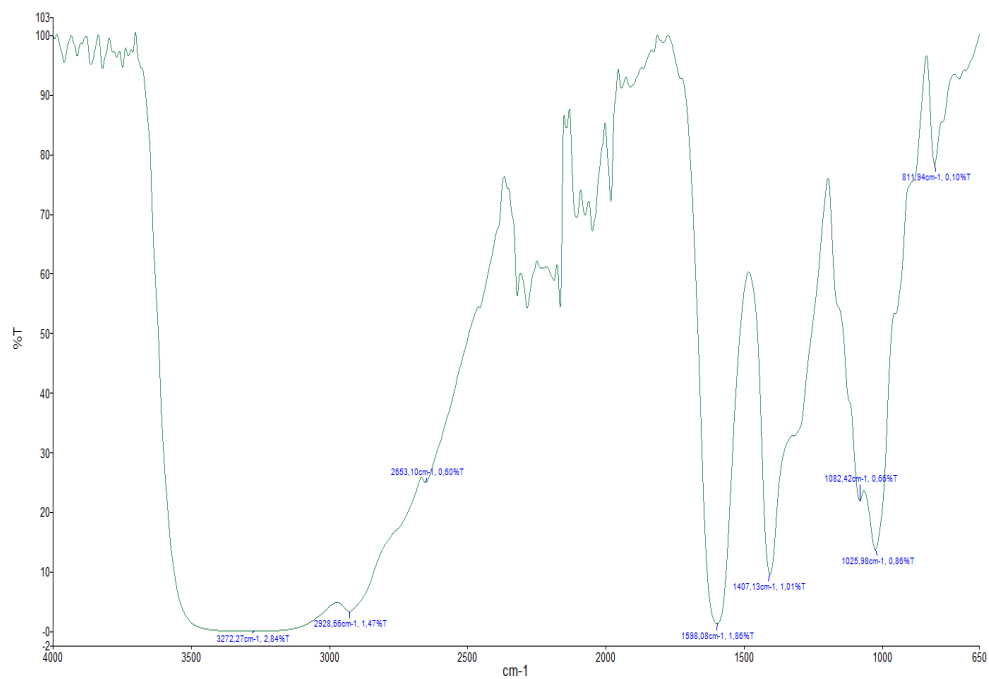
Las bandas de absorción de los espectros de los alginatos extraídos son similares a las del alginato Sigma-Aldrich, los picos representativos se resumen en la tabla 27.

Tabla 27

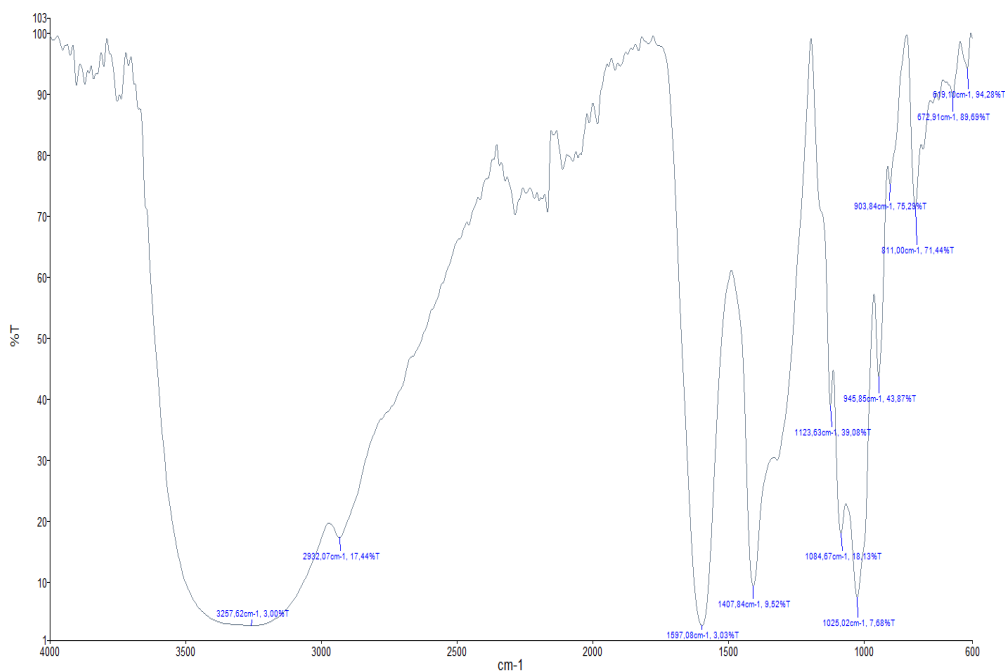
Bandas características de las muestras de alginato de sodio

Asig.	Longitud de onda (cm^{-1})			
	J20	Óptimo	J13	Sigma-Aldrich
1	3257,62	3261,42	3307,72	3227,27
2	2932,07	2930,53	2988,46	2928,66
3	1597,08	1597,23	1600,19	1598,08
4	1407,84	1408,38	1397,47	1407,13
5	1084,67	1084,50	1080,00	1082,42
6	1025,02	1025,47	1024,83	1025,98
7	945,85	946,43	946,60	949,50
8	811,00	810,58	810,93	811,94

a)



b)



CONTINÚA



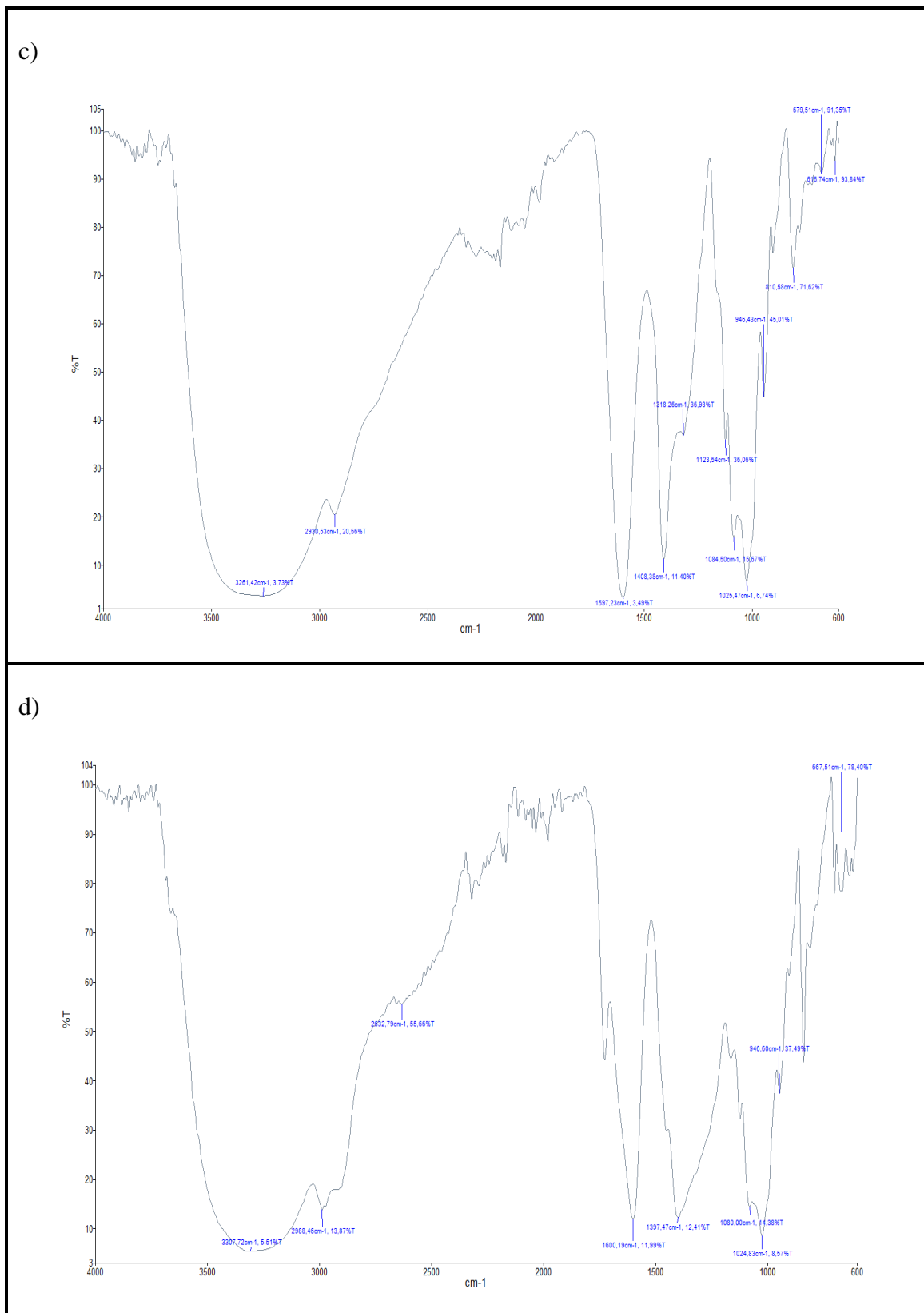


Figura 47. Espectros infrarrojos en el intervalo de 4000-600 cm⁻¹ en modo de transmitancia de los alginatos: a) de referencia, b) del tratamiento J20; c) el óptimo deducido en el diseño experimental y d) del tratamiento J13.

Las bandas características del ácido manurónico y ácido gulurónico se asignan a 1025- 1030 cm^{-1} y 1080 cm^{-1} respectivamente; además, en algunas extractos de alginato de distintos algas exhiben la presencia de grupos éster de sulfato ($\text{S} = \text{O}$) en 1220-1260 cm^{-1} , debido a que es un componente característico del fucoídano y polisacáridos sulfatados (Gómez & Rupérez, 2011).

En la figura 48 d), se observa menor intensidad de la banda en la zona de 1030-1200 cm^{-1} con respecto a las demás espectros, lo cual tendría sentido puesto que a 100 °C se produce una mayor degradación y disminución de la cantidad de enlaces glicosídicos.

En la tabla 28, se muestran los resultados de la razón M/G de los extractos de alginato, el valor del extracto J20 es relativamente superior a los tres restantes. Además, los resultados predichos son mayor a uno lo que sugieren que los extractos obtenidos son más ricos en residuos manurónicos que en los residuos de gulurónicos y formarían geles suaves- elásticos, pero el valor de la razón M/G del alginato de Sigma- Aldrich es menor a uno lo que formaría geles fuertes- rígidos.

Tabla 28

Valores de los ratios M/G de los extractos de alginato

Alginato de sodio	Intensidad de bandas		Absorbancia		Radio M/G
	M	G	M	G	
Estándar	1025,98	1082,42	2,06	2,18	0,94
J20	1025,02	1084,67	1,11	0,74	1,50
Óptimo	1025,47	1084,50	1,17	0,80	1,46
J13	1024,83	1080,00	1,07	0,84	1,27

4.3.3 Determinación de la temperatura de transición vítrea y la temperatura de fusión del alginato de sodio mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

En la tabla 29 se hace referencia a los picos característicos del termograma DSC del alginato de sodio, el primero y el segundo pico representan la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de fusión (T_m) respectivamente (Mruthyunjaya, Ramaraj, & Siddaramaiah, 2010).

Tabla 29**Picos característicos de la curva DSC del alginato de sodio**

Gas	Velocidad de calentamiento °C/min	Picos	°C	Atribución
N ₂	10	Endotérmico	70-110	Deshidratación
		Exotérmico	240-260	Descomposición del biopolímero
		Exotérmico	340- 410	Formación del carbono

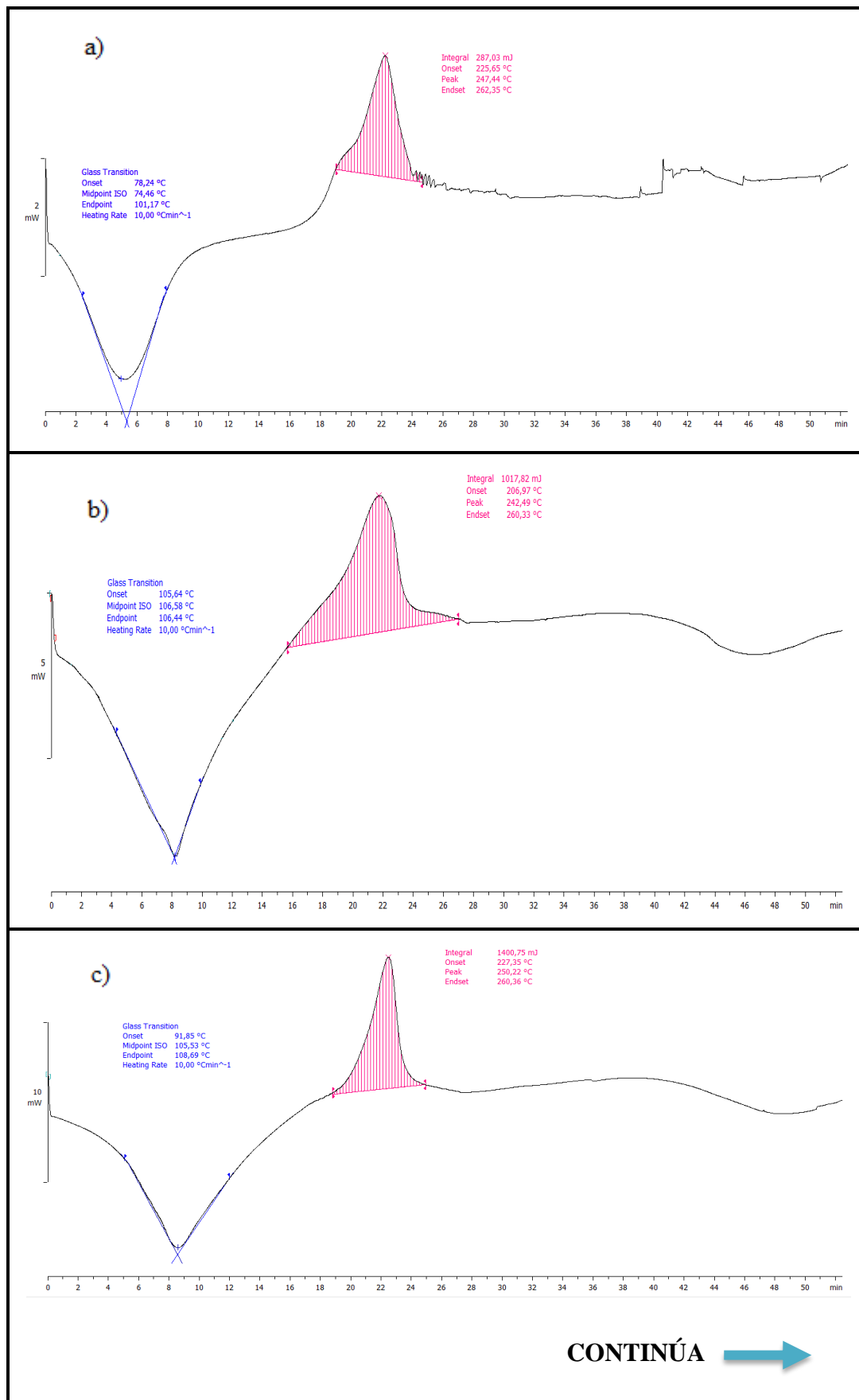
Fuente: (Santos et al., 2004).

En la tabla 30 y en la figura 48 se muestran las temperaturas de los termogramas DSC que se obtuvieron de los alginatos de: referencia (Sigma Aldrich), el óptimo deducido en el diseño experimental, del tratamiento J20 y J13 (extraídos a condiciones máximas y mínimas).

Tabla 30**Temperaturas de los análisis DSC de las muestras de alginato**

Muestra	Temperatura (°C)	
	Tg	Tm
Sigma-Aldrich	74,46	247,77
J20	106,58	242,49
Óptimo	105,53	250,22
J13	77,46	251,49

En la figura 43 a) el alginato de Sigma- Aldrich exhibió un pico endotérmico correspondiente al proceso de deshidratación a 74.46 °C y un pico exotérmico que implica el proceso de descomposición del polímero a 247.44°C; mientras que, en la figura 43 b- d) para los extractos J13, óptimo y J20 el pico endotérmico se presentó entre 106.58, 105.53 y 196,50°C, y un pico exotérmico a 251.49, 250.22 y 247.49°C respectivamente.



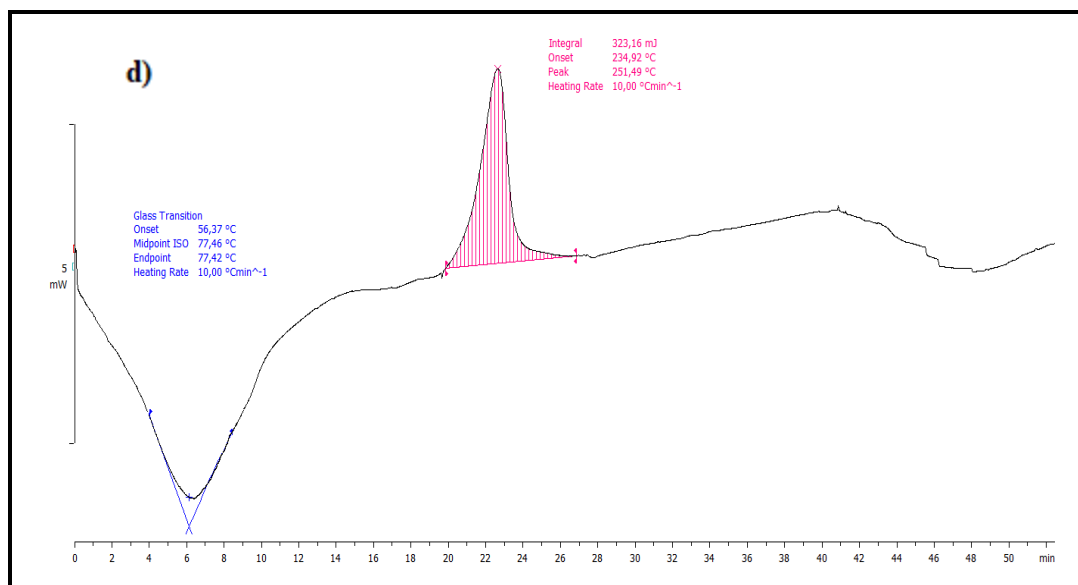


Figura 43. Curvas calorimétricas de los alginatos de sodios de a) Sigma-Aldrich, b) tratamiento J20, c) el óptimo deducido en el diseño experimental y el d) tratamiento J13.

4.3.4 Análisis termogravimétrico (TGA).

En la tabla 31, se muestra los cinco peldaños característicos del alginato de sodio. En el primero peldaño se atribuye a la disminución del peso por deshidratación del polímero (Martins et al., 2013; Siddaramaiah et al., 2008). El segundo y tercer peldaño se produce dos etapas de degradación del alginato de sodio (Tripathi & Mishra, 2012). El cuarto y el quinto peldaño ocurre la formación y descomposición del carbonato de sodio respectivamente, debido a la fragmentación y conversión del polisacárido (Soares, Santos, Chierice, & Cavalheiro, 2004).

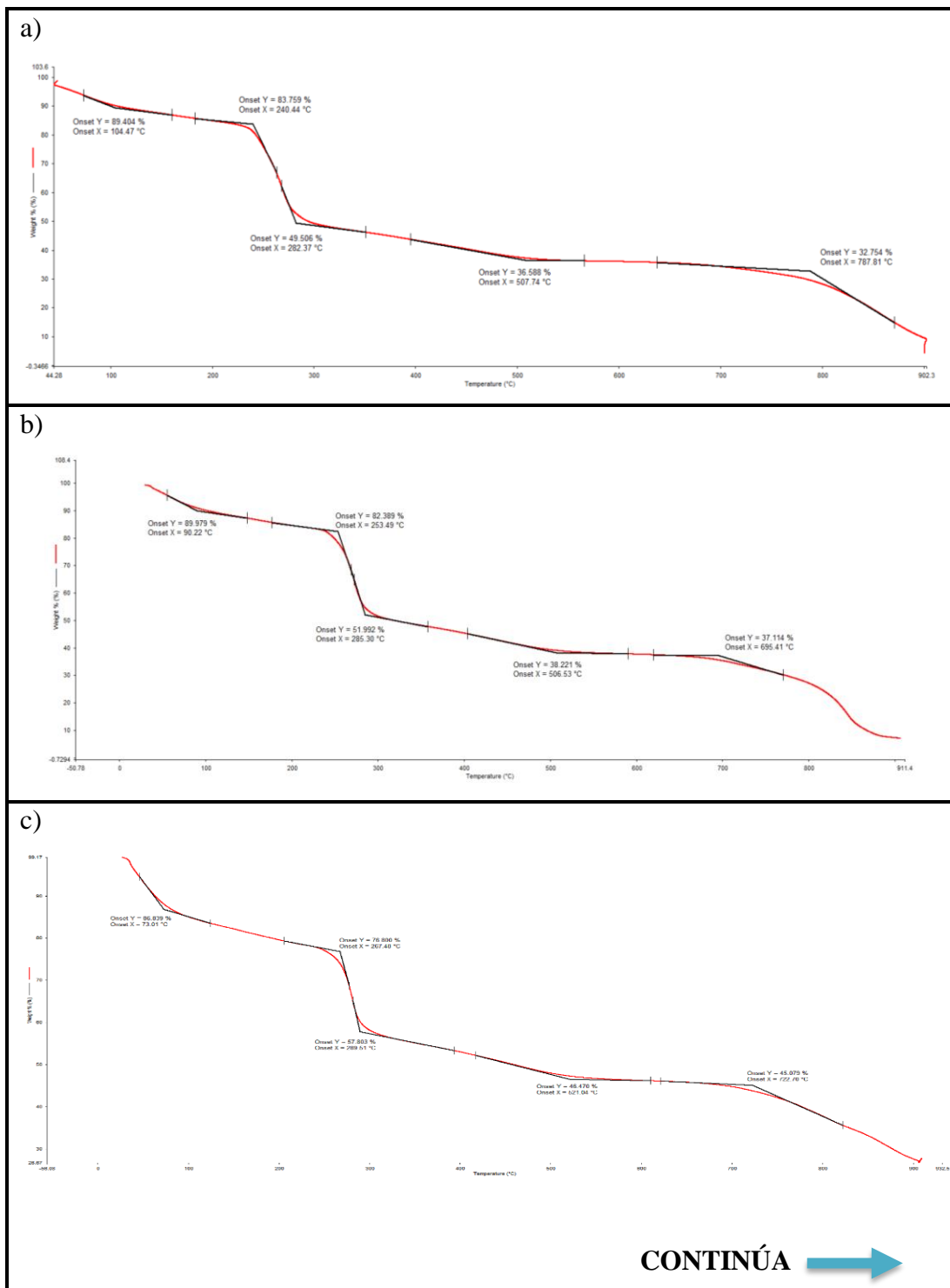
Tabla 31

Peldaños característicos del alginato de sodio en las curvas del TGA

Gas	ΔT (°C)	Atribución
	55-180	Pérdida de humedad
N ₂	195-275	Descomposición del biopolímero
	280-375	
	380-550	Formación del Na ₂ CO ₃
	560-750	Descomposición del Na ₂ CO ₃

Fuente: (Molina, 1992).

La curva TGA presentada en la figura 44 c) sugieren que, bajo calentamiento el alginato de sodio óptimo presenta un proceso de deshidratación, el 51,99% de la muestra se ha degradado a 285°C, posteriormente la termodegradación ocurre a 506°C hasta 695°C, el porcentaje de masa residual es del 37,11% y el residuo de la muestra posee un aspecto grisáceo.



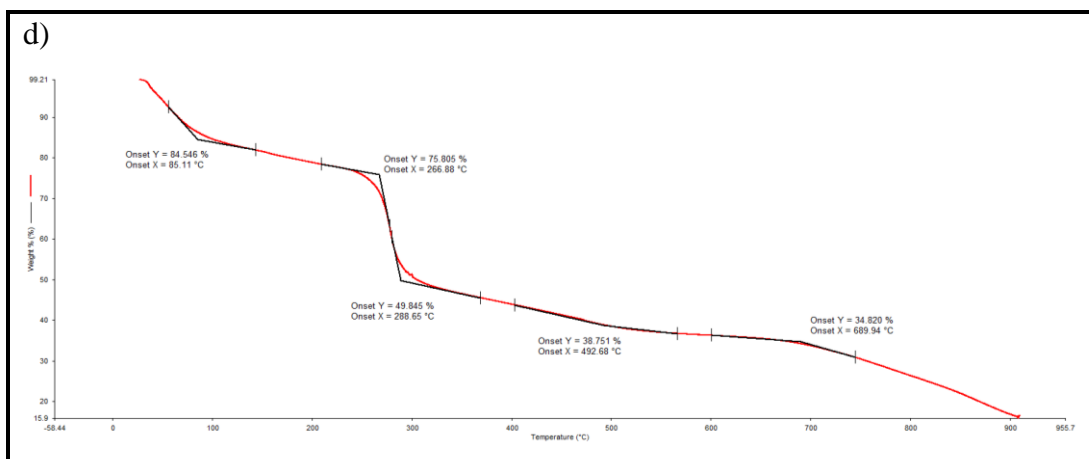


Figura 47. Curvas termogravimétricas de los alginatos de sodios de a) tratamiento J20, b) el óptimo, c) tratamiento J13 y d) Sigma-Aldrich.

A partir de las curvas termogravimétricas de la figura 44 se ha extraído los datos representados en la tabla 32, relativos al porcentaje de masa final con su temperatura correspondiente. Los datos obtenidos son similares entre sí, pero el alginato de sodio extraído J13 posee mayor cantidad de residuo de carbón en la muestra.

Tabla 32

Datos termogravimétricos de las muestras de alginato de sodio

Muestra	Estándar		J20		Óptimo		J13	
	T(°C)	% masa	T(°C)	% masa	T(°C)	% masa	T(°C)	% masa
Perdida de humedad	85,11	84,546	104,47	89,404	90,22	89,979	73,01	86,839
Descomposición del polímero	266,88	75,805	240,44	83,759	253,49	82,389	267,40	78,800
	288,65	49,854	282,37	49,506	285,30	51,992	289,61	57,803
Formación Na₂CO₃	492,68	38,751	507,74	36,588	506,53	38,221	621,04	46,470
Descomposición Na₂CO₃	689,94	34,820	787,81	32,754	695,41	37,114	722,70	45,079

4.4. Análisis de la cromatografía de gases acoplado al espectrómetro de movilidad iónica (GC- IMS).

Las variables operacionales del equipo se ajustan de acuerdo a la sensibilidad y selectividad de los analitos para su identificación y cuantificación.

Para la identificación de los analitos se usaron compuestos puros y se varió la concentración por triplicado para obtener información confiable sobre el tiempo de retención y el RIP de cada compuesto. Para este fin, se inyectaron cantidades conocidas de cada ácido en el sistema analítico, se controló la temperatura de desadsorción y se compararon los espectros resultantes como se observa en las figuras 48 y 49. Los tiempos de retención y RIP de desorción de los compuestos se muestra en la tabla 33.

Tabla 33

Análisis topográfico de los compuestos

Compuesto	Tiempo de retención (seg)	RIP
Ácido láctico	15	1,137
Ácido acético	80	1,712

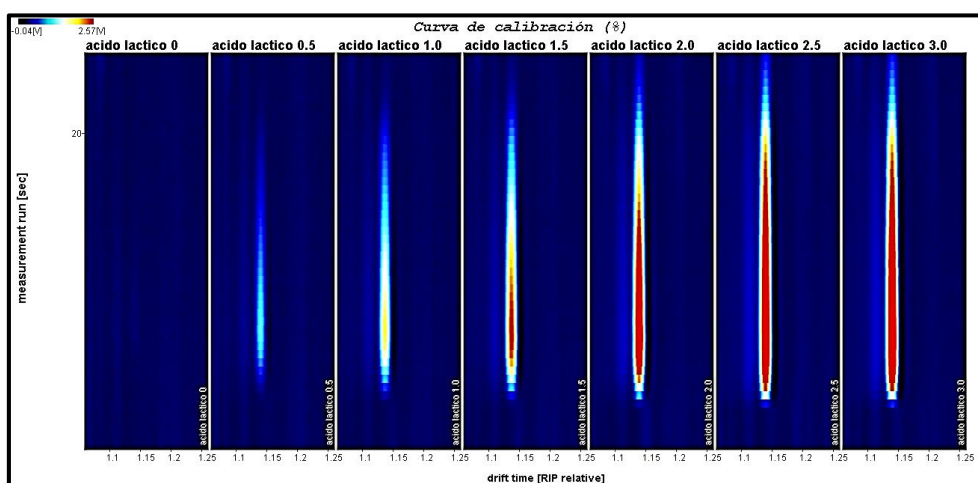


Figura 48. Espectro topográfico de calibración del ácido láctico.

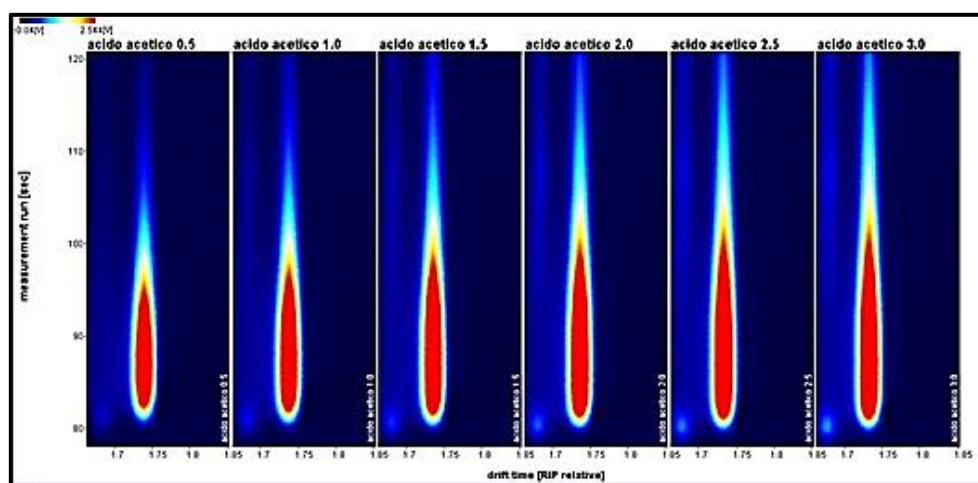


Figura 49. Espectro topográfico de calibración del ácido acético.

Para cuantificar los compuestos se realizaron curvas logarítmicas de calibración de acuerdo a la concentración y al voltaje que entrega el instrumento (área mínima sobre área máxima) como se observa en la figura 50 ,51 y en la tabla 34.

Tabla 34

Datos de calibración del ácido láctico y ácido acético

Ácido Láctico		Ácido Acético	
Concentración % (ml _{ácido} /ml _{agua})	Voltaje	Concentración % (ml _{ácido} /ml _{agua})	Voltaje
0,5	0,083	0,5	0,298
1	0,183	1	0,353
1,5	0,256	1,5	0,381
2	0,303	2	0,408
2,5	0,347	2,5	0,42
3	0,382	3	0,437

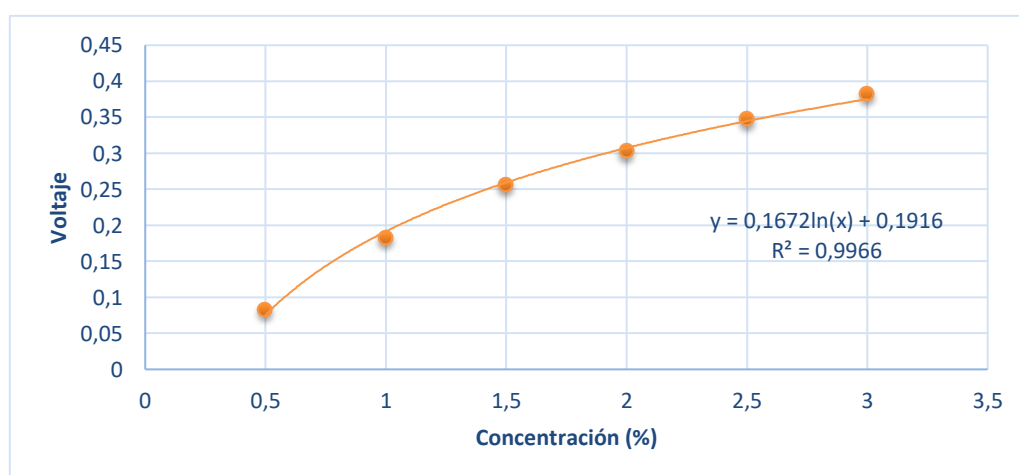


Figura 50. Curva de calibración del ácido láctico.

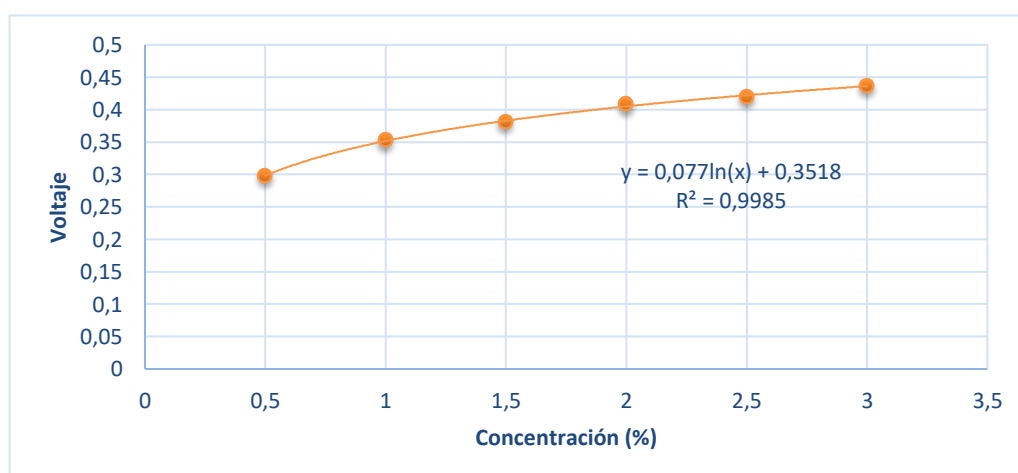


Figura 51. Curva de calibración del ácido acético.

Como se observa en la figura 52 cada muestra posee distinto espectro topográfico (Anexo J), pero mediante la relación voltaje versus concentración de las curvas de calibración se puede conocer el rendimiento de producción del ácido de interés en esta investigación como se muestra en la tabla 35.

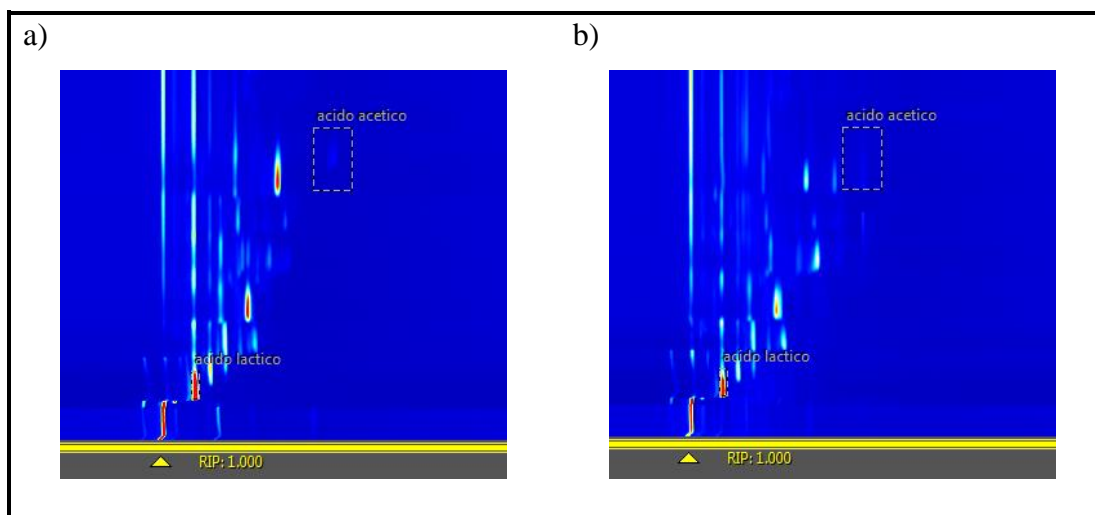


Figura 52. Espectro topográfico de las muestras a) AL13 y b) ALGA 13.

Tabla 35

Rendimiento de producción del ácido láctico a partir del alginato de sodio

Trat.	Voltaje ácido acético	Voltaje ácido láctico	Concentración del ácido acético (%)	Concentración del ácido láctico (%)	Rendimiento ácido láctico	Rendimiento ácido acético
AL1	0,128	0,002	0,055	0,322	13,948	2,061
AL2	0,024	0,003	0,014	0,324	14,013	0,534
AL3	0,087	0,003	0,431	0,324	13,827	6,022
AL4	0,239	0,026	0,231	0,371	15,557	8,444
AL5	0,190	0,004	0,122	0,326	13,520	4,417
AL6	0,085	0,065	0,031	0,468	18,854	1,097
AL7	0,120	0,074	0,049	0,495	20,891	1,811
AL8	0,018	0,037	0,013	0,397	16,647	0,479
AL9	0,140	0,006	0,064	0,330	13,621	2,294
AL10	0,106	0,057	0,041	0,447	18,768	1,501
AL11	0,089	0,025	0,033	0,370	15,509	1,204
AL12	0,099	0,085	0,038	0,529	21,237	1,312
AL13	0,100	0,078	0,038	0,508	21,693	1,409
AL14	0,093	0,076	0,035	0,500	21,098	1,282
AL15	0,028	0,025	0,015	0,369	15,170	0,534

Tabla 36

Rendimiento de producción del ácido láctico a partir del alga parda

Trat.	Voltaje ácido acético	Voltaje ácido láctico	Concentración del ácido acético (%)	Concentración del ácido láctico (%)	Rendimiento ácido láctico	Rendimiento ácido acético
ALGA 1	0,018	0,048	0,013	0,424	18,336	0,494
ALGA 2	0,025	0,001	0,014	0,320	13,837	0,541
ALGA 3	0,067	0,065	0,025	0,469	20,014	0,920
ALGA 4	0,051	0,055	0,020	0,442	18,534	0,735
ALGA 5	0,033	0,011	0,016	0,340	14,098	0,575
ALGA 6	0,069	0,017	0,025	0,352	14,185	0,891
ALGA 7	0,059	0,044	0,022	0,414	17,472	0,820
ALGA 8	0,042	0,039	0,018	0,402	16,857	0,654
ALGA 9	0,025	0,011	0,014	0,340	14,003	0,515
ALGA 10	0,064	0,019	0,024	0,357	14,991	0,870
ALGA 11	0,033	0,008	0,016	0,333	13,985	0,582
ALGA 12	0,054	0,040	0,021	0,404	16,235	0,731
ALGA 13	0,05	0,038	0,020	0,398	16,988	0,738
ALGA 14	0,048	0,034	0,019	0,390	16,476	0,711
ALGA 15	0,064	0,023	0,024	0,364	14,985	0,853

Estos rendimientos son superiores al trabajo realizado por Aida, ,2012 esto se debe a que el ácido láctico se produjo sobre el catalizador, mientras que en el otro trabajo utiliza condiciones supercríticas que promueven la producción de otros compuestos como el fufural. Sin embargo, los rendimientos del ácido de interés son notablemente más bajos que los de la biomasa lignocelulósica (García et al., 2010), las diferencias estructurales entre las unidades monoméricas de los carbohidratos derivados de la biomasa, debido a que es difícil eliminar los grupos carboxílicos de los monómeros de alginato en condiciones hidrotérmicas, lo que conduce a rendimientos relativamente bajos del ácido láctico y acético (Jeon W. B., 2016).

4.5. Optimización de las condiciones del diseño experimental para la producción de ácido láctico.

La producción del ácido láctico a partir del alginato de sodio y del alga *Padina Durvillaei*, comprende de cuatro procedimientos (Anexo G):

- Reacción del alginato de sodio o del alga parda con o sin óxido de calcio en el

sistema de digestión por microondas.

- Disminución del ph (Anexo I).
- Separación del líquido de la reacción de los residuos.
- Análisis cualitativo y cuantitativo mediante espectroscopia de movilidad iónica.

Los diseños experimentales Box- Becker para la producción de ácido láctico están conformados por tres repeticiones del punto central (13, 14 y el 15) con doce combinaciones diferentes y una variable de respuesta (rendimiento). El programa de calentamiento por microondas es similar al control de la tabla 16 y la figura 38, pero varía en las condiciones de acuerdo a los tratamientos predichos en el diseño.

4.5.1 Análisis de la varianza.

Una vez determinado el rendimiento de producción de ácido láctico se utiliza un software estadístico para evaluar las variables independientes (temperatura, tiempo y cantidad del catalizador) y la variable dependiente (rendimiento de ácido láctico).

El análisis de la varianza de los diseños experimentales, se encuentra en la tabla 37 y 38, todos los efectos e interacciones que presentaron una probabilidad menor que 0,05 fueron significativos, excepto las interacciones AC y BC para la transformación de alginato de sodio a ácido láctico, el factor B y la interacción BB para la conversión de alga parda a ácido láctico.

Tabla 37

Análisis de la varianza del modelo de respuesta tipo Box- Bekhen para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	1,402	1	1,401	15,79	0,0106
B:Tiempo	11,272	1	11,272	126,93	0,0001
C:CaO	1,626	1	1,626	18,31	0,0079
AA	11,015	1	11,015	124,04	0,0001
AB	7,344	1	7,3441	82,70	0,0003

CONTINÚA 

AC	0,353	1	0,353	3,98	0,1026
BB	4,451	1	4,451	50,12	0,0009
BC	0,331	1	0,331	3,72	0,1116
CC	107,596	1	107,596	1211,64	0,0000
Error total	0,444	5	0,089		
Total (corr.)	138,057	14			
R² = 99,687%					
R² ajustado = 98,0587 %					
Error estándar del estándar = 0,261511					
Error absoluto medio = 0,100256					
Estadístico Durbin-Watson = 3,19513 (P=0,9757)					

Tabla 38

Análisis de la varianza del modelo de respuesta tipo Box- Bekhen para la producción de ácido láctico a partir del alga parda

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	21,5168	1	21,5168	314,63	0,0000
B:Tiempo	0,0708761	1	0,0708761	1,04	0,3554
C:CaO	18,816	1	18,816	275,14	0,0000
AA	0,639872	1	0,639872	9,36	0,0281
AB	0,872356	1	0,872356	12,76	0,0160
AC	8,31746	1	8,31746	121,62	0,0001
BB	0,0781223	1	0,0781223	1,14	0,3340
BC	1,51413	1	1,51413	22,14	0,0053
CC	1,64041	1	1,64041	23,99	0,0045
Error total	0,34194	5	0,068388		
Total (corr.)	53,7702	14			
R² = 99,364%					
R² ajustado= 99,099%					
Error estándar del estándar = 0,297997					
Error absoluto medio = 0,146778					
Estadístico Durbin-Watson = 2,75617 (P=0,7318)					

Los modelos de obtención de ácido láctico a partir del alginato de sodio y del alga parda representan un coeficiente R² ajustado de 98,05% y 99,09% respectivamente, indicando un alto grado de correlación entre los valores experimentales y predichos.

Las ecuaciones 7 y 8 representan las relaciones matemáticas para obtención de ácido láctico a partir de alginato de sodio y del alga parda respectivamente.

$$R_{\text{ácido}} \% = -185,706 + 1,857 * A + 0,568 * B + 149,316 * C - 0,004 * A^2 - 0,002 * A *$$

$$B - 0,050 * A * C - 0,001 * B^2 - 0,032 * B * C - 59,980 * C^2$$

Ecuación 6. Modelo cuadrático para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio.

$$R_{\text{ácido}} \% = -18,278 + 0,379 * A - 0,192 * B - 42,612 * C - 0,001 * A^2 + 0,001 * A * B + 0,240 * A * C + 0,0002 * B^2 + 0,068 * B * C - 7,406 * C^2$$

Ecuación 7. Modelo cuadrático para la producción de ácido láctico a partir del alginato de sodio.

Estas ecuaciones permiten evaluar los valores residuales de la tabla 39, donde los modelos presentan una desviación mínima entre el valor ajustado y el valor observado.

Tabla 39

Comparación de valores observados y estimados para la obtención del ácido láctico

Trat.	CONVERSIÓN					
	Alginato de sodio a ácido láctico			Alga parda a ácido láctico		
	Valores Observados	Valores Ajustados	Residuo	Valores Observados	Valores Ajustados	Residuo
1	13,948	13,8229	0,1251	18,336	18,2883	0,0477
2	14,013	13,8878	0,1252	13,837	13,7519	0,0851
3	13,827	13,9522	0,1252	20,014	20,0991	0,0851
4	15,557	15,5569	1E-04	18,534	18,4966	0,0374
5	13,52	13,645	0,125	14,098	14,1479	0,0499
6	18,854	19,1041	0,2501	14,185	14,2826	0,0976
7	20,891	20,6409	0,2501	17,472	17,3744	0,0976
8	16,647	16,7719	0,1249	16,857	16,8695	0,0125
9	13,621	13,4961	0,1249	14,003	13,9905	0,0125
10	18,768	18,7681	1E-04	14,991	15,0284	0,0374
11	15,509	15,384	0,125	13,985	13,9351	0,0499
12	21,237	21,3427	0,1057	16,235	16,5663	0,3313
13	21,693	21,3427	0,3503	16,988	16,5663	0,4217
14	21,098	21,3427	0,2447	16,476	16,5663	0,0903
15	15,170	15,2951	0,1251	14,985	15,0328	0,0478

4.5.2 Análisis de los efectos estandarizados.

En la figura 53 se encuentran las gráficas de Pareto de los efectos estandarizados, el factor C para la obtención del ácido a partir del polisacárido, de igual forma las

interacciones CC y AA para la producción de ácido láctico a partir del alga parda, tendrán coeficientes negativos en los efectos, mientras que los demás coeficientes serán positivos.

Analizando estas gráficas de Pareto se puede establecer que el catalizador y la temperatura fueron las variables de mayor importancia de todo el proceso de extracción de ácido láctico a partir del alginato de sodio y del alga parda respectivamente. El valor positivo de su coeficiente señala que el rendimiento fue favorecido con valores altos de concentración del catalizador y temperatura de reacción.

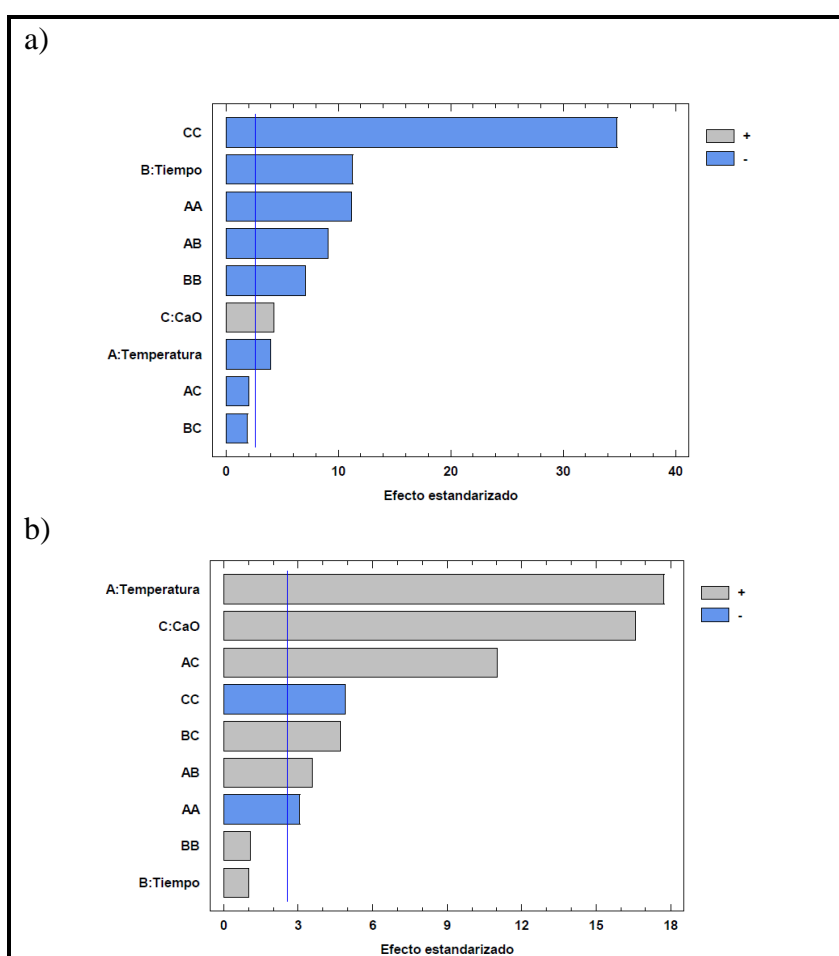


Figura 53. Gráficas de Pareto, para la producción ácido láctico a partir del: a) alginato de sodio y b) alga parda.

4.5.3 Análisis de las superficies de respuesta.

En las figuras 54 y 55 se muestran las gráficas de superficie de respuesta tridimensional y las gráficas de contorno con relación a los factores y el rendimiento

de producción de ácido láctico.

La gráfica 54 a) se observa el efecto de la temperatura y tiempo de reacción versus el rendimiento de producción de ácido láctico a partir del polisacárido de sodio. Cuando la temperatura incrementa favorece la conversión del alginato a ácido láctico, pero a temperaturas superiores de 210°C la producción de éste disminuye y aumenta ligeramente el rendimiento del ácido acético. El incremento de rendimientos de ácidos orgánicos puede explicarse por la energía térmica inducida que acelera la reacción de disociación de las moléculas de agua a iones H^+ y OH^- promoviendo la reacción catalítica, además el catalizador de CaO hidratado podría acelerar aún más la reacción al proporcionar bases de Bronsted en el medio de reacción acuoso a medida que la temperatura de la reacción aumentaba, efectos similares se reportaron en los trabajos realizados por Wonjin, Chunghyeon, Geonu, Chul, & Do, 2016 y Niemela & Siostrom, 1985.

En la gráfica de contorno temperatura y cantidad de óxido de calcio (figura 54 a) se revela un punto estacionario máximo en la región de 180- 215 °C y 0,2 -0,4 gr del catalizador, afirmando que el rendimiento de conversión alginato de sodio a alga parda es más sensible a los cambios de concentración del catalizador que a los cambios en la temperatura.

La variación en los rendimientos obtenidos a partir de la reacción del alginato sobre el catalizador en diferentes tiempos de reacción se muestra en la figura 54 c). La cantidad de catalizador añadido en la reacción hidrotermica influye en la producción de los ácidos y en la disminución del tiempo de reacción, pero cuando la carga del CaO es mayor a 0,6 gr no es efectiva la conversión del polisacárido hacia el ácido deseado, semejantes efectos se evidenciaron en el trabajo realizado por Jeon et al., 2013.

Adicionalmente se observa un constante aumento del rendimiento en la figura 55 b), la optimización de la producción de ácido láctico a partir del alga parda está muy apartado a la región de análisis para el ajuste del modelo de segundo orden. Sin embargo, la exploración adicional para mejorar el proceso está garantizada al aumentar la temperatura, tiempo de reacción y la concentración del catalizador (figuras 55 a-c), una manera de mejorar este proceso es utilizando un reactor que soporte condiciones críticas de operación, además el catalizador aumento el rendimiento del ácido láctico

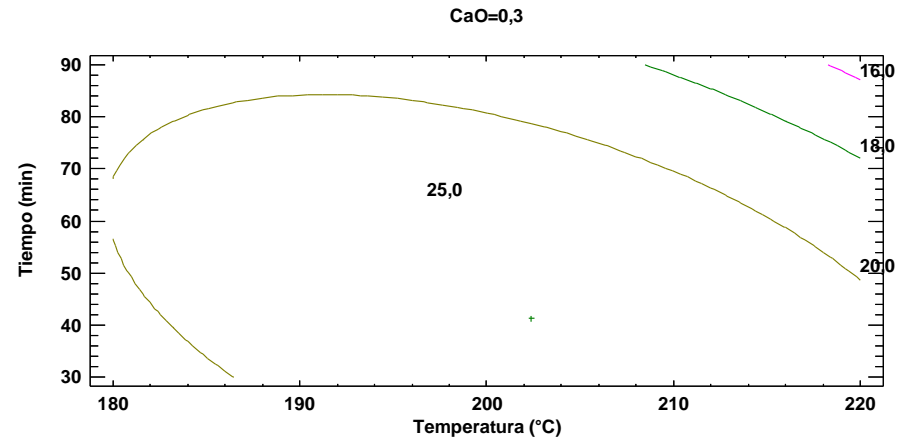
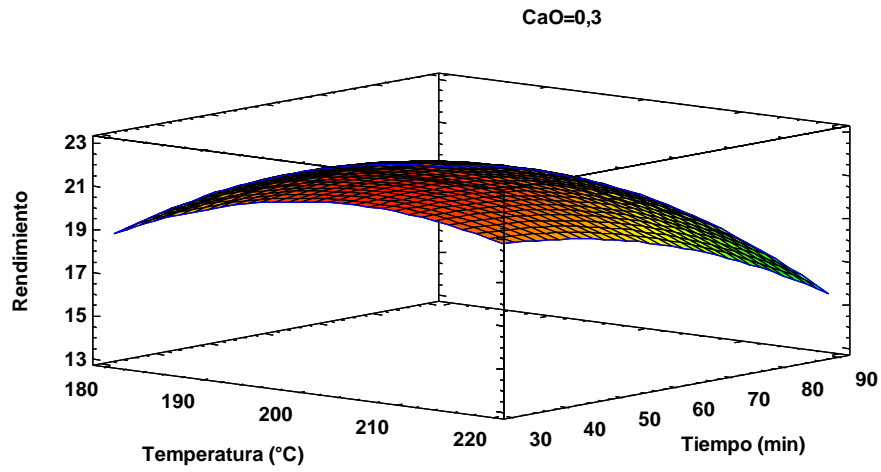
a temperaturas inferiores del punto crítico del agua.

Otro punto a considerar es la transformación directa del alga parda a ácido láctico, no se ha encontrado información pertinente de la misma, siendo un nuevo método de obtención de ácidos carboxílicos sin necesidad de pre- tratamientos. Cabe señalar que este método químico tiene como ventajas, un impacto ambiental favorable, tanto por el aprovechamiento de las algas marinas y por ser un proceso económico sustentable.

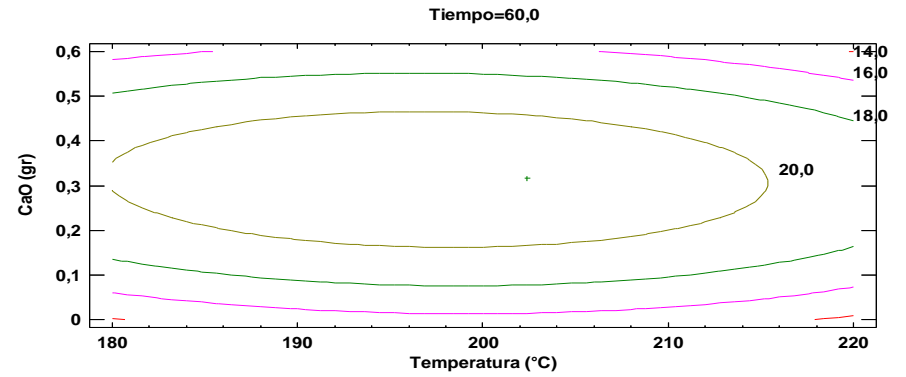
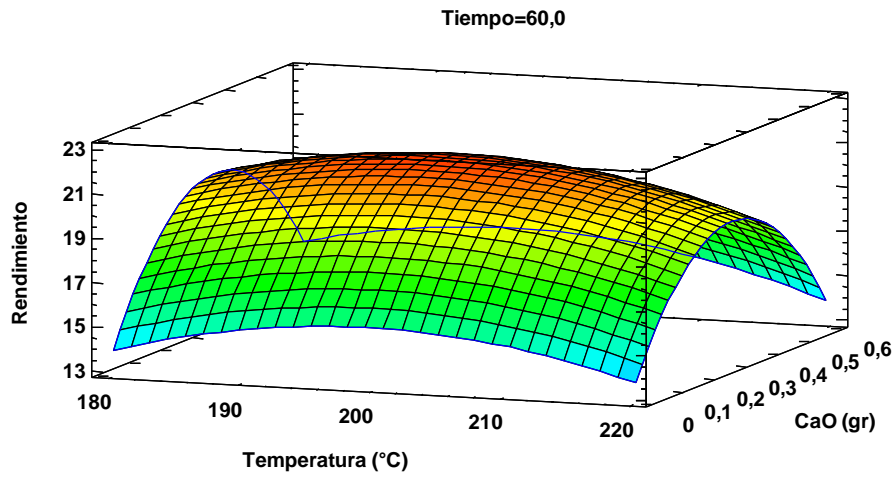
4.5.4 Optimización de las condiciones de producción de ácido láctico.

Los análisis de las superficies de respuesta y los gráficos de contorno de la conversión de alginato de sodio a ácido láctico, muestra el punto óptimo de producción a 202°C, 41 min y 0,3 gr de CaO obteniendo un rendimiento de 23,69%, mientras que en la transformación de alga parda a ácido láctico el análisis es poco relevante en toda la región del espacio; sin embargo, muestra otra área de análisis que debe ser mayor 220°C, 90 min y 0,6 gr CaO para producir un rendimiento de ácido superior al $\leq 19,06$ % , lo cual tendría sentido puesto que el alga parda posee varios polisacáridos en su estructura y por ende necesita mayor temperatura para romper los enlaces glicosídicos y obtener mayor conversión a ácidos carboxílicos.

a)



b)



CONTINÚA

c)

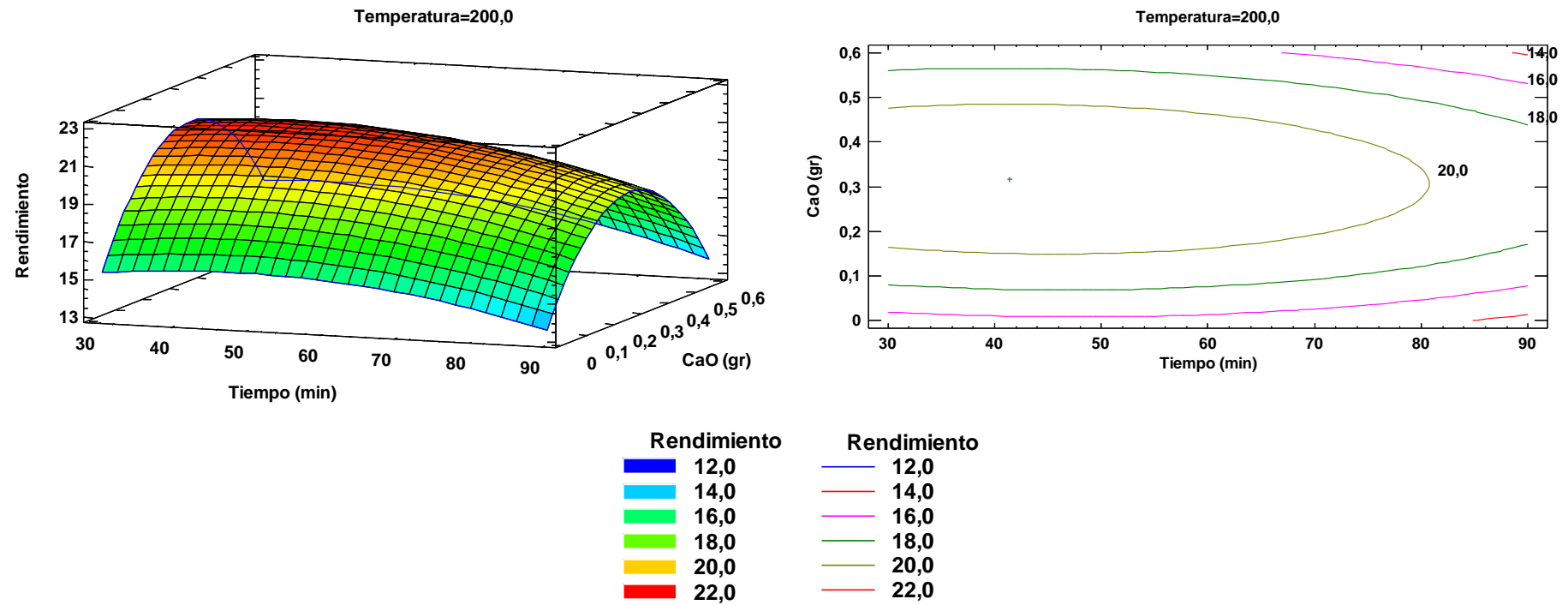
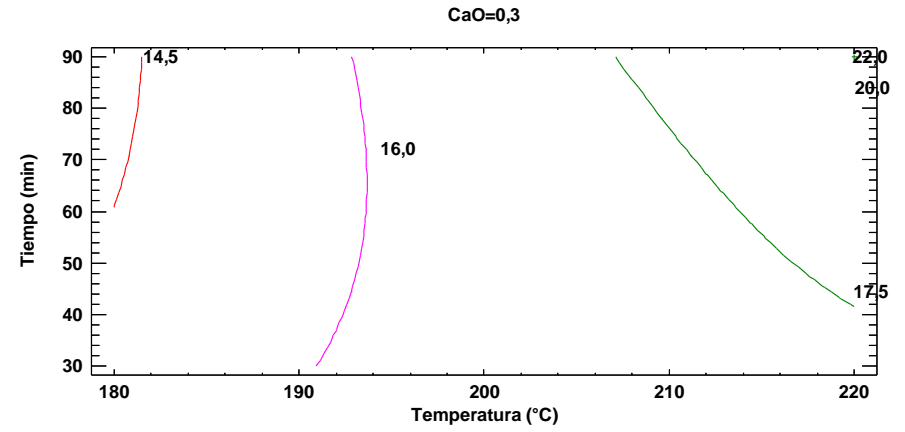
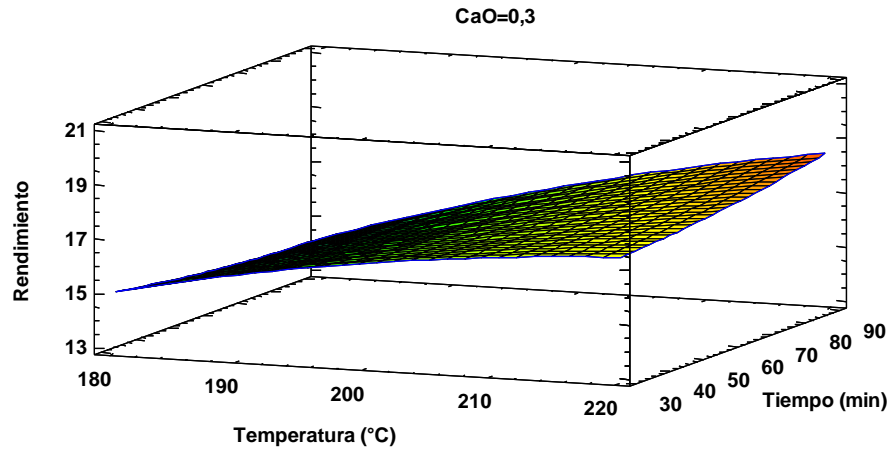
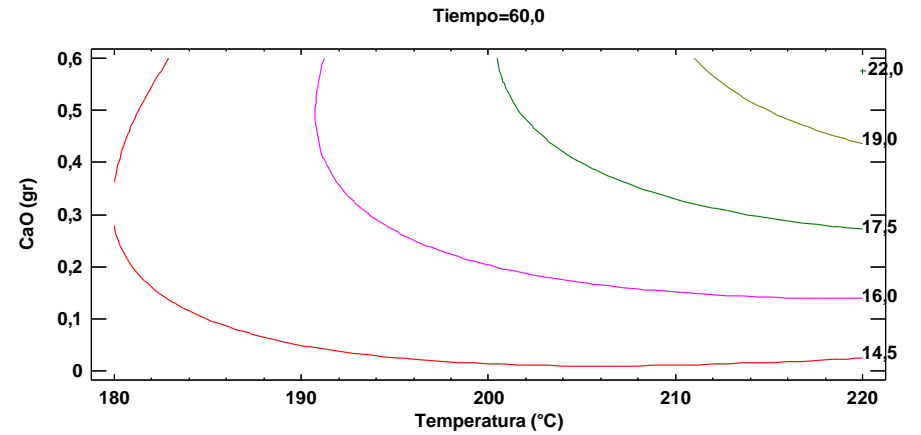
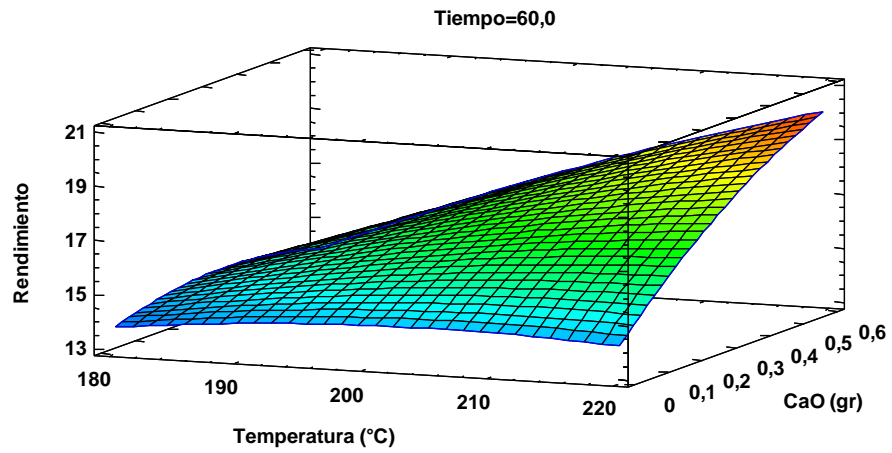


Figura 54. Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y la cantidad del catalizador vs el rendimiento de producción de ácido láctico a partir del alginato.

a)



b)



CONTINÚA

c)

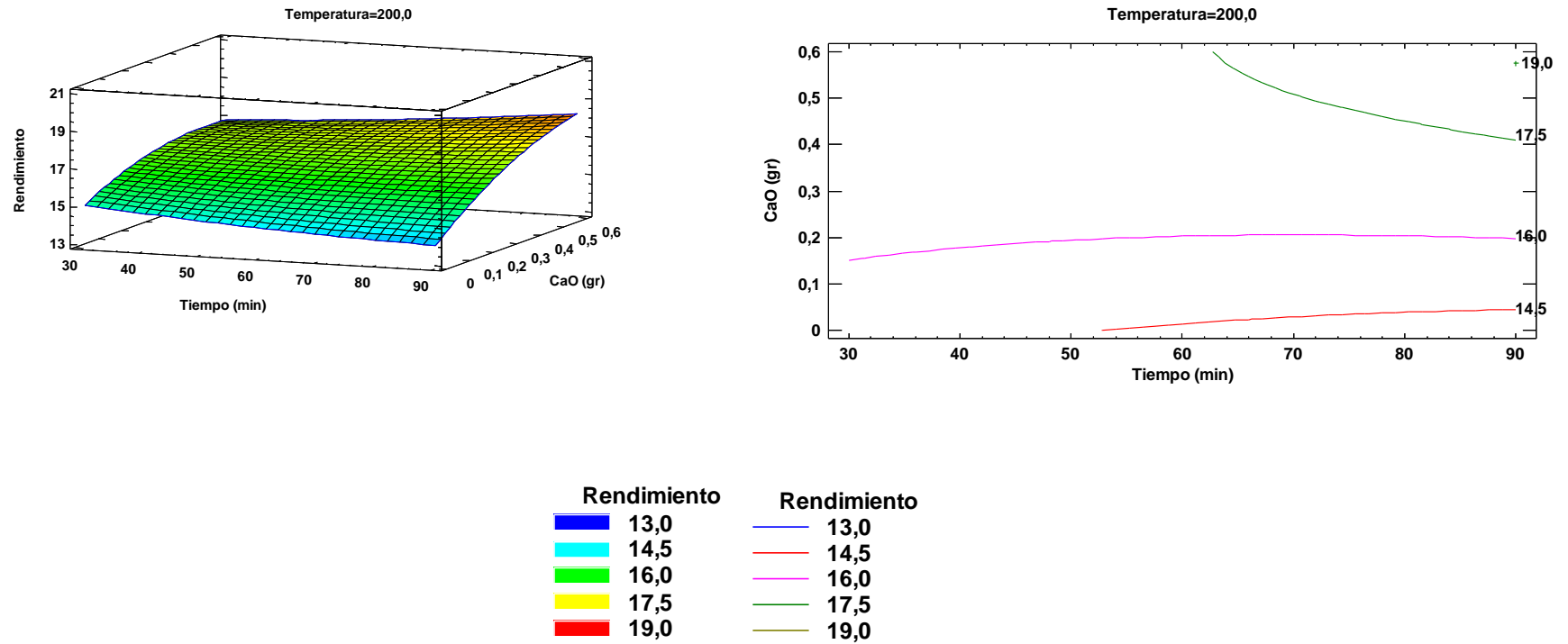


Figura 55. Superficie de respuesta y graficas de contorno generadas a partir de un modelo cuadrático que muestra el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y la cantidad del catalizador vs el rendimiento de producción de ácido láctico a partir del alga parda.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se empleó satisfactoriamente el diseño experimental de Box-Behnken para identificar las variables del proceso que influyen en el rendimiento de alginato. El análisis de varianza determinó una expresión matemática de segundo orden con un alto valor de determinación ($R^2=99,57\%$), a través del Valor P (prueba de hipótesis), se determinó la significancia de la interacción de los factores de extracción. Las condiciones establecidas como óptimas fueron a 88°C , durante 99 minutos, 2,6% de Na_2CO_3 , y mesh 40 para lograr un rendimiento de extracción de 29,94%. Los resultados obtenidos en la producción del alginato de sodio son similares al trabajo realizado por Ayarza, 2015; sin embargo, su materia prima y método de extracción es diferente.
- La caracterización el alginato óptimo obtenido a condiciones óptimas de extracción fue identificado mediante sus grupos funcionales, el valor de razón M/G, la viscosidad intrínseca, el peso molecular promedio, la temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión, temperatura y el porcentaje de pérdida de masa en deshidratación y descomposición del polisacárido. Se obtuvo como resultado valores semejantes a los reportados por Robalino, 2017 y Soares et al., 2004.
- El análisis de varianza determinó dos expresiones matemáticas de segundo con un alto factor de determinación de $R^2=99,68\%$ y $99,36\%$ de la conversión del alginato y del alga respectivamente. Las condiciones establecidas como óptimas fueron a 202°C , 41 min y 0,3 gr de CaO obteniendo un rendimiento de 23,69% de ácido láctico, para la conversión del alginato de sodio a ácido láctico, mientras la transformación del alga parda a ácido láctico muestra las condiciones óptimas a 220°C , 90 min y 0,6 gr CaO para producir 19,06 % del ácido.
- Se obtuvo un 23,69% de rendimiento de ácido láctico; siendo, superior a la producción en el trabajo realizado por Aida ,2012 que fue solo del 17% ; pero,

es inferior a los que se obtiene a partir de la biomasa lignocelulósica que superan 50% (García et al., 2010), debido a las diferencias estructurales entre las unidades monoméricas de los carbohidratos derivados de la biomasa, lo que conduce a rendimientos relativamente bajos del ácido láctico y acético.

- Se demuestra la conversión del alga parda a ácido láctico sin necesidad de pretratamientos, del mismo modo el aumento de la temperatura de reacción y la utilización del catalizador mejoró la conversión de la materia prima no convencional a ácidos orgánicos.
- El cromatógrafo de gases acoplada al espectrómetro de movilidad iónica permitió el análisis cualitativo y cuantitativo del ácido láctico y ácido acético en las muestras. Este método propuesto no requiere pretratamiento antes del análisis; por lo tanto, ofrece una investigación en tiempo real.

5.2 Recomendaciones

- Elegir adecuadamente la estación y la época del año para la recolección de las macroalgas pardas, de estos factores depende la variación del contenido de polisacáridos; por lo que, la expresión matemática varía.
- Se debe establecer los niveles de los factores del diseño experimental de acuerdo a las limitaciones de operación del equipo para evitar problemas en el manejo del mismo.
- Se propone realizar un estudio de la conversión del alga parda a ácido láctico a condiciones supercríticas variando los factores de: temperatura, concentración de catalizadores, el pH de solución y el tiempo de reacción, utilizando la planta piloto de las Universidad de las Fuerzas Armadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aida, T. M., Yamagata, T., Abe, C., Kawanami, H., Watanabe, M., & Smith Jr., R. L. (2012). Producción de ácidos orgánicos a partir de alginato en agua a alta temperatura. *The Journal of Suoercritical Fluids*, 65, 39-44.
- Alvarado, M. (08 de Febrero de 2015). *Alginato de sodio*. Recuperado el 10 de Mayo de 2017, Obtenido de <http://www.molecularrecipes.com/hydrocolloid-guide/sodium-alginate-alginate-algin/>
- Álvarez, D. (2015). *Morfología Vegetativa y Reproductora de Stypopodium zonale (Dictyotales, Phaeophyceae) en las Islas Canarias*. Lima: Asesorandina.
- Anderson Materials Evaluation, Inc. (23 de Mayo de 2015). *Análisis termogavimétrico*. Recuperado el 13 de Diciembre de 2018, Obtenido de <http://targer.golden-dragon.co/thermogravimetric-analysis/>
- Avila, M., Merino, C., Guissen, K., & Piel, M. (2010). *Manual de cultivo de macroalgas pardas*. Tarapacá: Andes & Mares.
- Ayarza, J. (2015). *Extracción y caracterización de alginato de sodio procedente del alga parda Macrocystis sp*. Lima: Arsam.
- Bicker, M. E. (2005). Conversión catalítica de carbohidratos en agua subcrítica: un nuevo proceso químico para la producción de ácido láctico. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 239, 151-159.
- Carda, M., Murga, J., & Falomir, E. (2011). *Sinorg- Acidos carboxílicos y derivados*. Recuperado el 08 de Mayo de 2017, de Química organica: <http://www.sinorg.uji.es/Docencia/QO/tema11QO.pdf>
- Carvache, K. R. (2012). Tesis de Grado para la obtención del título de Magíster en Ciencias con Énfasis en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y Medio Ambiente. “*Diversidad, abundancia y distribución de las macroalgas en la zona intermareal rocoso en las playas de salinas, la libertad y ballenita (península de santa elena – ecuador octubre – noviembre 2009)*”. Guayaquil,

Ecuador.

- Cavazzuti, M. (2013). *Métodos de optimización: teoría para diseñar*. Modena: Springer Science+Business Media.
- Cornell. (1990). Metodología de superficie de respuestas. México D.F.: Cenid A.C.
- Cumeras, R., Figueras, E., Davis, E., Baumbach, I., & Gràciaa, I. (7 de Marzo de 2015). Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 1: Current Instrumentation. *140(5)*, 1376- 1390.
- Daoub, R. M., Elmubarak, A. H., Misran, M., Hassan, E. A., & Osman, M. E. (2016). Caracterización y propiedades funcionales de algunas gomas de Acacia naturales. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Dawes, C. (2016). Sistemática de macroalgas. En J. Fleurence, & I. Levine, *Seaweed in Health and Disease Prevention* (págs. 122-124). Tampa: Academic Press.
- Días, T. (27 de Enero de 2017). *Usos y beneficios de las Algas*. Recuperado el 26 de Agosto de 2017, de <https://elproductor.com/2017/01/27/usos-y-beneficios-de-las-algas/>
- Diaz, G. (2008). Macroalga. En P. Hutchings, M. Kingsford, & O. Hoegh-Guldberg, *La Gran Barrera de Coral: Biología, Medio Ambiente y Gestión* (págs. 146-156). New Zeland: CSIRO Publishing.
- Díaz-Martínez, S., Zuccarello, G. C., Salazar Chávez, G. A., Pedroche, F. F., & Avila-Ortiz, A. G. (2016). Especies de Padina (Dictyotales, Phaeophyceae) en aguas tropicales mexicanas basadas en la taxonomía molecular asistida. *Phycology*, *55(6)*, 673-687.
- Dinjus, E., & Kruse, A. (2004). Agua comprimida caliente: ¿un solvente y medio de reacción adecuado y sostenible? *Journal of Physics: Condensed Matter*, *16(14)*, 1161-1169.

- Donna, F., & Rose, F. (1950). Presion osmotica, peso molecular, y viscosidad de alginato de sodio. *28(2)*, 10- 113.
- Draget, K. I., & Taylor, C. (2011). Propiedades químicas, físicas y biológicas de los alginatos y sus implicaciones biomédicas. *Food Hydrocolloids*, *25(2)*, 251-256.
- Dreckmanm, K., Sentíes, A., & Núñez, M. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio. Biología de Algas*. México, D.F.: Printed in México.
- Ecured. (13 de Marzo de 2014). *Laminaria hyperborea*. Recuperado el 16 de Julio de 2017, de https://www.ecured.cu/Laminaria_hyperborea
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E., Taourirte, M., & Brouillette, F. (2014). Extraction and characterization of sodium alginates from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Flachier, A., Sonnenholzer, J., Pérez, D., Jaramillo, L., & Espinoza, E. (Septiembre de 1997). Evaluacion del Área marina del Parque Nacional Machalilla- Parte I. *Diagnóstico Ecológico Y Socioeconómico Del Área Marino-Costera Del Parque Nacional Machalilla*. Quito, Ecuador.
- Fu, Y., Toyoda, K., & Ihara, I. (2014). Aplicación de espectroscopia ATR-FTIR y análisis de componentes principales en la caracterización de 15-acetildeoxinivalenol en aceite de maíz. *Ingeniería en Agricultura, Medio Ambiente y Alimentación*. *7(4)*, 163- 168.
- Gacesa, P. (1988). Alginates. *Polímeros de carbohidratos*. *8*, 161- 182.
- Galan, C. (4 de Septiembre de 2009). *Fucales*. Recuperado el 06 de Junio de 2017, Obtenido de <http://www.taxateca.com/ordenfucales.html>
- García, Arrozola, & Duranga. (20 de Mayo de 2010). Producción del ácido láctico por vía biotecnológica.
- García, C., Arrázola, G., & Durango, A. (2010). Producción de ácido láctico por vía tecnológica. *15(2)*, 9- 26.

- García, M. L., Napa, E. J., & Mendez, N. K. (2014). Caracterización Bromatológica de Macroalgas Marinas de la división "Rodafitas, Clorofitas y Feofitas" en la Zona Intermareal Rocosa del Puerto de Manta. 1-2.
- Garrido, R. (2011). *Uso de espectroscopía de movilidad iónica como técnica de vanguardia en los laboratorios analíticos*. Córdoba.
- Gómez, E., & Rupérez, P. (2011). Espectroscopía FTIR-ATR como una herramienta para la identificación de polisacáridos en algas marinas y rojas comestibles. *Hidrocoloides de alimentos*, 25, 1514-1520.
- Gómez, L. (2011). *Evaluación del óxido de calcio en la transesterificación del aceite de palma*. Bucaramanga.
- Google maps. (01 de Mayo de 2017). *Machallila*. Recuperado el 10 de Enero de 2018, Obtenido de <https://www.google.com.ec/maps/place/Machalilla/@-1.7942976,-80.5475092,7z/data=!4m5!3m4!1s0x902c1fa714a349c3:0xef38779159b33f46!8m2!3d-1.4760749!4d-80.7643952>
- Guiry, M. (2000). *Algae base- Fucus serratus L*. Recuperado el 16 de Julio de 2017, de http://www.seaweed.ie/descriptions/fucus_serratus.php
- Hatakeyama, H., Hatakeyama, K., & Nakamura, T. (2000). *Termoquímica*.
- Hernández, G., McHugh, D. J., Arvizu, D., & Rodríguez, E. (1999). Extracción a escala piloto de alginato de *Macrocystis pyrifera*. 1. Efecto de los tratamientos previos a la extracción en el rendimiento y la calidad del alginato. *Journal of Applied Phycology*, 10(6), 507-513.
- Hernandez, Y. (2016). *Evaluación de óxido de calcio y óxido de magnesio promovidos con cobre para la absorción de dióxido de carbono*. México D.F.
- Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR). (27 de Mayo de 2017). *Tablas de mareas puertos del Ecuador*. Recuperado el 28 de Diciembre de 2017, de <http://www.inocar.mil.ec/web/index.php/productos/tabla-mareas>

- Jana, S., Trivedi, K. M., Tallapragada, M. R., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., & Mishra, R. K. (2015). Caracterización de propiedades fisicoquímicas y térmicas de quitosano y alginato de sodio después del tratamiento con Biofield. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 430.
- Jeon, W. B. (2016). Catalytic conversion of macroalgae-derived alginate to useful chemicals. *20*(4).
- Jeon, W., Ban, C., Park, G., Woo, C. H., & Kim, D. H. (2013). Conversion hidrotérmica del alginato derivado de las macroalgas a ácido láctico catalizado por óxidos metálicos. 1-12.
- Kanu, A., & H. H. (12 de Noviembre de 2008). Ion mobility spectrometry detection for gas chromatography. *1177*(1), 12- 27.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. (2012). Alginato: propiedades y aplicaciones biomédicas. *37*(1), 106-126.
- León, D., & Núñez, M. (2012). Género de algas marinas tropicales en México. En *II. Algas pardas*.
- Linseis. (06 de Junio de 2016). *Calorimetría Diferencial de Barrido*. Recuperado el 18 de Agosto de 2017, de <https://www.linseis.com/es/nuestros-productos/calorimetria-diferencial-de-barrido/dsc-pt1000/>
- Lorbeer, A. J., Lahnstein, J., Bulone, V., Nguyen, T., & Zhang, W. (2015). Optimización de respuesta múltiple del tratamiento ácido de la alga parda *Ecklonia radiata* para la extracción secuencial de fucoidan y alginato. *Biosource Technology*, *197*, 302-309.
- Manns, D., Deutschle, A. L., Saake, B., & Meyer, A. (2014). Methodology for quantitative determination of the carbohydrate composition of brown seaweeds (Laminariaceae). *The Royal Society of Chemistry*, *4*, 25736–25746.
- Martín, G. (1986). *Sciences des Aliments*. *1*(6), 473- 486.
- Martinsen, A., Skjefvik-br, G., Smidsrod, O., & Paoletti, S. (1991). Comparison

of different methods for determination of molecular weight distribution of alginates. (15), 171-193.

- Matsushima, K., Minoshima, H., Kawanami, H., Nishizawa, M., & Kawamukai, A. (2005). Decomposition reaction of alginic acid using subcritical and supercritical water. *Ind. Eng. Chem.*, 44, 9626-9630.
- Mazumder, A., Holdt, S. L., De Francisci, D., Alvarado-Morales, M., Mishra, H. N., & Angelidaki, I. (2016). Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: process optimization and study of its functional activities. *Journal of Applied Phycology*.
- McHugh, D. (06 de Enero de 2014). *Producción, propiedades y uso de los alginatos*. Recuperado el 15 de Marzo de 2017, Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/x5822e/x5822e04.htm>
- McHugh, D. J., Hernández-Carmona, G., Arvizu-Higuera, D. L., & Rodríguez-Montesinos, Y. E. (2001). Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera* 3. Precipitation, bleaching and conversion of calcium alginate to alginic acid. *Journal of Applied Phycology*, 13(6), 471-479.
- Minitab. (01 de Enero de 2014). *Análisis de superficie de respuesta*. Recuperado el 07 de Mayo de 2017, Obtenido de <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/doe/supporting-topics/response-surface-designs/response-surface-central-composite-and-box-behnken-designs/>
- Molina, M. (1992). *Estudio de la estabilidad térmica del ácido algínico y derivados en diversas atmosferas*. Madrid.
- Montgomery, D. Y. (2004). Diseños experimentales para ajustar superficies de respuesta. En Montgomery, *Diseño y análisis de experimentos* (Segunda ed., págs. 455- 489).
- Moyano, K. (2017). *Obtención de biodiesel a partir de aceite de palma mediante catálisis heterogénea*. Latacunga.

- Mruthyunjaya, T., Ramaraj, B., & Siddaramaiah, C. (2010). Sodium Alginate and Poly(ethylene glycol) Blends: Thermal and Morphological Behaviors. 877- 881.
- Muller, H., Ycaza, G., & Salazar, M. (1996). *Algas Marinas del Ecuador*. Instituto Nacional de Pesca , Guayaquil.
- Muñoz, S., & Martinez, C. (2013). *International Bio Power Corporation- Algas marinas de las costas ecuatorianas de la República del Ecuador*.
- Niemela, K., & Siostrom, E. (1985). Degradation alkaline of the alginates to carboxilic acids. (144), 241- 249.
- Pacheco, G., Flores, N., & Rodríguez, R. (2004). Bioplásticos. *18*(2), 27- 36.
- Paradis Sphynx. (25 de Abril de 2017). *Algas: características, tipos o especies representativas*. Recuperado el 04 de Septiembre de 2017, Obtenido de <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/algas/algas-caracteristicas-tipos.htm>
- Paredes, K. (2016). *Algas*. Recuperado el 29 de Junio de 2017, de Biodiversidad Mexicana, Obtenido http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/plantas/algas/algas.html
- Pereira, L., & Neto, J. (2013). Analysis by Vibrational Spectroscopy of Seaweed Polysaccharides with Potential Use in Food, Pharmaceutical, and Cosmetic Industries. 1-7.
- Pérez, J., & Gardey, A. (2017). *Definición de algas*. Recuperado el Junio 29 de 2017, de <http://definicion.de/algas/>
- Pesentí, H., Ríos, R., Leoni, M., Matto, A., & Scardi, P. (02 de Septiembre de 2014). Re-Ingeniería de apatita natural para soporte de tejidos óseos. *19*(3).
- Polymer Science Learning Center. (25 de Junio de 2017). *Calorimetría diferencial de barrido*. Recuperado el 10 de Enero de 2018, Obtenido de <http://pslc.ws/macrog/dsc.htm>

- Robalino, M. (2017). *Extracción y caracterización de alginatos derivados de algas pardas, para la producción del ácido láctico.*
- Sachan, N. K., Ghosh, S. K., & Bhattacharya, A. (2012). Análisis calorimétrico de barrido diferencial de interacción fármaco-polímero en microglóbulos glutinosos basados en arroz. *Asian Journal of Chemistry*, 24(5), 2207-2209.
- Santos, J., Chierice, G., & Cavalheiro, E. J. (2004). Comportamiento térmico del ácido algínico y su sal sódica. 2(29), 53- 56.
- Sari, N., Taha, S., Mawlawi, H., Guégan, J.-P., Jeftić, J., & Benvegna, T. (2016). Alginatos extraídos y despolimerizados de algas pardas *Sargassum vulgare* de origen libanés: propiedades químicas, reológicas y antioxidantes. *Revista de Fisiología Aplicada*, 28(3), 1915-1929.
- Sartori, C., Finch, D., & Ralph, B. (2008). Determinación del contenido de cación de películas delgadas de alginato por espectroscopía FTIR. 38(1), 43-51.
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2013). *Buen Vivir*. Recuperado el 28 de Enero de 2017, de <http://www.buenvivir.gob.ec/>
- Sellimi, S. I., Ayed, B., Maaleej, H., Montero, V., Riaudo, M., Dahia, M., . . . Nasri, M. (2015). Propiedades estructurales, fisicoquímicas y antioxidantes del alginato de sodio aislado de un alga marrón tunecina. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1358-1367.
- Serma, L., & Rodríguez, A. (13 de Abril de 2005). Producción biotecnológica del ácido láctico. 5(1), 54- 65. Obtenido de *Ácido láctico*.
- Sharma, O. P. (2007). *Libro de texto de algas*. New Delhi: Tata McGraw-Hill.
- Siddaramaiah, Mruthyunjaya Swamy, T. M., Ramaraj, B., & Hee Lee, J. (2008). Alginato de sodio y sus mezclas con almidón: propiedades térmicas y morfológicas. *Journal of Applied Polymer Science*(109), 4075-4081.
- Skoog, D. (2002). Métodos de análisis térmicos. En P. d. instrumental.

- Soares, J. P., Santos, J. E., Chierice, G. O., & Cavalheiro, E. T. (2004). Comportamiento térmico del ácido alginico y su sal sódica. *ECLÉTICA Química*, 29(2), 53-59.
- Soto, T. (13 de Abril de 2011). *Macrocystis Pyrifera*. Obtenido de <http://algasmilagrosas.blogspot.com/2011/04/macrocystis-pyrifera.html>
- Statgraphics. (2006). *Diseño de Experimentos – Diseño*. México D.F.: Limusa S.A. de C.V.
- Suñirach, Baro, & Bordas. (1992). La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación en ciencia de los materiales. *31*(1), 11- 17.
- Tailor. (2000). *Laminario digitata*. Recuperado el 28 de Junio de 2017, Obtenido de Thalgo La Beaute Marine: <http://www.thalgo.es/algues/laminaria-digitata.20-L.html>
- Taratra, A., Guina, A., Cedric, D., Celine, L., & Emmanuel, P. (2010). La extracción y la caracterización del alginato del alga marrón *Sargassum turbinarioides* Grunow. *22*, 131- 137.
- Thermo Nicolet. (24 de Mayo de 2001). *FTIR*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2017, Obtenido de https://www.niu.edu/analyticallab/_pdf/ftir/FTIRintro.pdf
- ThermoFisher Scientific. (Febrero de 2010). *Fundamentos FT-IR*. Recuperado el 04 de Enero de 2018, de Introducción a la espectroscopía FTIR, Obtenido de <https://www.thermofisher.com/us/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-basics.html>
- Torres, M. R., Sousa, A. P., Silva Filho, E. A., Melo, D. F., Feitosa, J. P., De Paula, R. C., & Lima, M. G. (2007). Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil. *Carbohydrate Research*, 324, 2067-2074.
- Tripathi, R., & Mishra, B. (2012). Desarrollo y evaluación de hidrogeles de

famotidina dirigidos contra el estilema de poliacrilamida con alginato de sodio y poliacrilamida sódica. *AAPS PharmSciTech*, 13(4), 1091-1102.

- Usov, A. I. (1999). Ácidos algínicos y alginatos: métodos analíticos utilizados para su estimación y caracterización de la composición y estructura primaria. *Russian Chemical Reviews*, 68(11), 957.
- Valverde, F. (1979). *Vegetación Marina de Ballenita Provincia del Guayas*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- Vauchel, P., Arhaliass, A., & Legrand, J. (2008). Decrease in dynamic viscosity and average molecular weight of alginate from laminaria digitata during alkaline extraction1. 515- 517.
- Velazco, M. (2008). *Introduccion al estudio de las algas*. Universidad de Guayaquil.
- Wendlandt, W. (1995). *Análisis de métodos térmicos*. New York.
- Wickens, G. E. (2001). *Botánica económica: principios y prácticas*. New York: Springer Science+Business Media.
- Wonjin, J., Chunghyeon, B., Geonu, P., Chul, W., & Do, K. (2016). Conversión hidrotérmica catalítica de alginato derivado de macroalgas en furfural y ácidos orgánicos en agua caliente comprimida. *Revista de Catálisis Molecular: Química*, 106-113.
- Zajic, J. E. (2012). *Propiedades y Productos de Algas*. New York: Springer Science & Business Media.
- Zamora, D. (2012). *Desarrollo de nuevas metodologías para el control de procesos y productos industriales: Aplicación de la espectroscopía NIR y la espectroscopía de movilidad iónica IMS*. Barcelona: AEA S.A.
- Zubia, M., Payri, C., & Deslandes, E. (2008). Alginato, manitol, compuestos fenólicos y actividades biológicas de dos algas pardas extendidas en rango, *Sargassum mangarevense* y *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), de Tahití

(Polinesia Francesa). *Revista de Fisiología Aplicada*, 20(6), 1033-1043.

ANEXOS



ESPE
 UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
 INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA


DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y MECÁNICA
CARRERA DE INGENIERÍA PETROQUÍMICA

CERTIFICACIÓN


Se certifica que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita: Jessenia Estefanía López Ortega

En la ciudad de Latacunga a los 06 días del mes de marzo de 2018.

Aprobado por:



PhD. Roman Rodriguez.
DIRECTOR DEL PROYECTO



PhD. Roman Rodriguez
DIRECTOR DE CARRERA.



Certificado por:




Dr. Freddy Jaramillo Checa.
SECRETARIO ACADÉMICO.

