

Proyecto de Investigación
La Alternativa a la "Alternativa"
Producción de biodiesel ecológico a partir de Scenedesmus
quadricauda

1. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento y el empleo de los combustibles fósiles produjo un cambio revolucionario en las tecnologías de producción aplicadas por el hombre. Comenzaron a emplearse a partir de la Revolución Industrial y su uso se ha incrementado sensiblemente.

Si bien esto permitió un desarrollo productivo nunca antes conocido en la historia del hombre, también produjo un alto impacto negativo sobre el medio ambiente. La combustión de este tipo de combustibles genera emisiones de gases tales como dióxido de carbono, monóxido de carbono y otros gases que han contribuido y aún contribuyen a generar y potenciar el efecto invernadero, la lluvia ácida, la contaminación del aire, suelo y agua. Los efectos contaminantes no sólo están vinculados a su combustión sino también al transporte (derrames de petróleo) y a los subproductos que originan (hidrocarburos y derivados tóxicos). La situación se agrava cuando se considera la creciente demanda de energía, bienes y servicios, debido al incremento de la población mundial y las pautas de consumo.

Constantemente en nuestro mundo actual se hace referencia a una inminente crisis energética como consecuencia de una escasez cada vez mayor de combustibles fósiles. Estos recursos resultan invaluable para nuestra sociedad pues dependemos continuamente de los mismos en numerosos aspectos de nuestras vidas. Esta dependencia ha llevado a que ante esta escasez se produjera un aumento de la cotización de los combustibles existentes, generando un consecuente encarecimiento de las industrias derivadas, los servicios y las manufacturas que dependen de los mismos.

Pero esta preocupación no es una nueva. Hasta tal grado fue este un interés vital para los países desarrollados que llegaron a recurrir a conflictos armados con el fin de apropiarse de estos recursos irremplazables en nuestra concepción.

Por otra parte, esta crisis desencadenó una búsqueda de combustibles alternativos, encontrándose el biocombustible como una solución altamente viable. Sin embargo, la elaboración de combustible a partir de las plantas oleaginosas trae aparejada una secuela no buscada que puede ser la causante de una catástrofe mayor: la escasez de alimentos en el mundo debido a la utilización de las tierras para cultivar plantas aptas para la generación de biocombustible en lugar de cereales u otros alimentos capaces de paliar el hambre.

Esto nos enfrenta a un grave dilema moral, ya que si bien la solución lógica (entre otras) a problemáticas tales como el calentamiento global o la escasez de combustibles es la producción de biocombustibles, esta trae aparejado la tala indiscriminada de zonas forestales y selváticas para destinar las tierras a plantaciones, reduciendo los "pulmones verdes" del planeta, fuentes de oxígeno, un agotamiento y destrucción del suelo como consecuencia del monocultivo, puesto que no se realiza la rotación necesaria para preservar los nutrientes de la tierra y, fundamentalmente, un aumento en la utilización de tierras cultivadas con vegetales útiles a tal fin, pero en detrimento de la función principal que debiera tener el suelo: generar alimentos para la población mundial.

¿Cuál es, entonces, la alternativa a esta alternativa? Concreciones a estudios encuentran viable la generación de biodiesel a partir de algas unicelulares a fin de sobrellevar esta crisis alimentaria.

Las microalgas pueden convertirse en muy corto plazo en la principal y más importante materia prima para la producción de biocombustibles, dado que algunas producen almidón capaz de ser convertido en etanol (requerido en el proceso de obtención de biodiesel) y otras producen aceite que se puede transformar en biodiesel, y, a su vez, esta alternativa presenta sus específicas ventajas frente al cultivo de plantas oleaginosas:

- Contribuye a la preservación del medio ambiente al absorber enormes cantidades de dióxido de carbono. No se produciría un aumento de la concentración de dióxido de carbono en la

atmósfera si se regula su producción y consumo, ya que las microalgas utilizan eficientemente un 90% o más del dióxido de carbono que les es inyectado.

- Cada país podría autoabastecerse y se rompería la dependencia actual de los países productores de petróleo.
- No existiría competencia con otras materias primas destinadas a la alimentación debido a que el cultivo de microalgas no requiere de tierra productiva. El mismo puede ser llevado a cabo bajo condiciones agro-climáticas difíciles, con lo cual se deja una mayor superficie libre para la producción de alimentos.
- La productividad es ampliamente mayor en el caso de las microalgas, debido a que, en condiciones favorables, pueden duplicar su masa en cuestión de horas. Así, mientras que una hectárea de soja produce unos 500 litros de biodiesel y una de palma algo más de 5.000 litros al año, una hectárea de algas puede llegar a producir más de 40.000 litros de biocombustible al año; además, las microalgas, a diferencia de los cultivos agroenergéticos tradicionales, se recogen a diario.
- Se obtiene un biodiesel de excelente calidad.

Es en base a las problemáticas mencionadas anteriormente y a las evidentes ventajas que supone el cultivo de microalgas que surge este proyecto de investigación, a fin de comprobar la viabilidad del cultivo de las mismas para producción de biodiesel.

En el presente trabajo se utilizará el alga unicelular *Scenedesmus quadricauda*, perteneciente a la clase Chlorophyceae (algas verdes). Si bien ésta no es una especie de una gran productividad lipídica, presenta una gran resistencia frente a organismos capaces de competir con la misma para desarrollarse, y competitividad, resistencia a bacterias.

De esta manera se obtendrá finalmente el aceite capaz de ser transformado en biodiesel y se evaluará la viabilidad de esta alternativa a la producción de combustibles fósiles y biocombustibles en base a cultivos oleaginosos, en este mundo que nos exige reaccionemos lo antes posible para evitar catástrofes que luego serán irremediables.

1.1 Microalgas

1.1 A Concepto y Características

El término algas abarca un conjunto heterogéneo de plantas simples de gran diversidad en tamaño, pigmentación, mecanismo de reproducción, composición, y hábitat. Clásicamente, las algas han sido asignadas a la más baja división del reino vegetal, la división Thallophyta, distinguido de los grupos de plantas mayores por su falta de diferenciación en tallos y hojas. Pero esta no es una distinción completamente satisfactoria; sin embargo, destaca correctamente el relativo bajo nivel de especialización celular característica del grupo.

El estudio botánico de las algas se ha preocupado principalmente por los problemas descriptivos sobre la morfología, mecanismos de reproducción, clasificación sistemática, y ecología. El más reciente sistema de clasificación, que se basa en siete grandes divisiones, se ha resumido y se presenta en el siguiente cuadro:

División	Pigmentación ^a	Otras características
Chlorophyta	Verde pasto	Unicelulares, multicelulares, algunos macroscópicos; pared celular de celulosa y pectina
Euglenophyta	Verde pasto	Unicelulares, móviles; carentes de pared celular
Chrysophyta	Verde amarillenta a marrón dorado; xantofilas y carotenos pueden cubrir la clorofila	Microscópicas, la mayoría unicelular; incluye el gran grupo de las diatomeas, que poseen una pared celular que contiene sílice
Pyrrophyta	Verde amarillenta a marrón oscuro; predominan las xantofilas	Unicelulares, móviles; pared celular de celulosa

Phaeophyta	Verde oliva a marrón oscuro; predomina la fuco-xantofila y otras xantofilas	Principalmente macroscópicas y marinas; pared celular de celulosa y pectina
Cyanophyta	Verde azulada; ficocianina	Multicelulares pero usualmente microscópicas; algunas de sus formas se vuelven unicelulares en medio turbulento, generalmente con una vaina gelatinosa
Rhodophyta	Roja; ficocianina, ficoeritrina	En su mayoría macroscópicas; marinas; parece celular de celulosa y pectina
ª Clorofila, carotenos y xantofilas presentes en todas las divisiones		

Este cuadro tiene en cuenta los siguientes criterios para llegar a esta clasificación:

1. Pigmentos fotosintetizadores.
2. Estructura del cloroplasto.
3. Naturaleza química de la pared celular.
4. Naturaleza química y almacenamiento de los productos de reserva.
5. Características asociadas al aparato flagelar.
6. Características citológicas.

Las algas son organismos generalmente acuáticos, aunque un número de formas son habitantes normales del suelo y algunas especies se han adaptado a hábitats poco comunes. Se encuentran en forma abundante en ríos y mares, pero cada especie se limita a uno u otro entorno. Su distribución es muy dispersa; pocas especies son endémicas a una región geográfica determinada.

Al igual que las de otras plantas verdes, las células de alga suelen contener un núcleo, uno o más cloroplastos, y otras estructuras poco definidas, suspendidas en un citoplasma líquido o semisólido. Los pigmentos de clorofila y carotenoides se localizan en los cloroplastos. (Una excepción a esta disposición se produce en las algas verde-azuladas [Cyanophyta], en las que no hay presencia de un núcleo u organización de cloroplastos.) La capa exterior del citoplasma se encuentra limitada por una membrana plasmática con características distintivas de permeabilidad que varían ampliamente entre especies. La célula se encuentra rodeada generalmente por una vaina o una pared celular y, a menudo, embebida en una capa gelatinosa de materiales similares a la pectina, de espesor variable. En algunas formas, la motilidad es proporcionada por el accionamiento de uno o dos flagelos, similares a un pelo.

Muchas algas son unicelulares. En otros casos, las células permanecen unidas en una organización colonial. Una colonia puede ser todavía de tamaño microscópico. En otros casos, la colonia puede adoptar la forma de una masa macroscópica o de un largo filamento.

La reproducción sexual, con los cambios cíclicos que marcan la transición de una generación a la siguiente, se lleva a cabo en muchas algas. Otras, como por ejemplo, la microalga verde-azulada, *Chroococcus*, se limitan a los tipos de reproducción asexual, tales como la fisión binaria, la división de una célula en dos células aproximadamente iguales. Entre las variaciones de la reproducción asexual se encuentra la producción de autosporas como en *Chlorella* o *Scenedesmus*; aquí una célula de gran tamaño rompe su pared celular, liberando numerosas células pequeñas.

Factores que intervienen en el crecimiento de microalgas

Muchos factores contribuyen para el desarrollo óptimo de los cultivos de microalgas, algunos de éstos afectan las características del crecimiento.

- Los recipientes de cultivo más comúnmente usados son de materiales no tóxicos como las cajas de Petri, matraces Erlenmeyer, matraces Ferenback, carboys o garrafas, etc., adecuados para cultivos de laboratorio. Para cultivos a gran escala los recipientes de plástico, madera y concreto

son los más recomendables, incluyendo los estanques rústicos en áreas rurales son los sistemas más económicos.

- En cultivos masivos, el flujo turbulento (aereación) es un factor muy importante para la homogenización de los nutrientes y para evitar la sedimentación de las microalgas. Las diatomeas suelen acumularse en lugares donde el agua no se mezcla, esto también depende de la forma del recipiente de cultivo que cuando no es adecuado retarda el crecimiento. A su vez, en el caso en que se suministre la luz en forma continua, el flujo se encargará de brindar ciclos rápidos de exposición-no exposición, de manera que la microalga pueda realizar la respiración celular.

- Otro factor importante es la penetración de la luz en el cultivo; en los cultivos masivos la profundidad es tan grande que la intensidad de la luz incidente no es suficiente para la fotosíntesis, hasta el fondo del tanque. En los cultivos masivos a la intemperie la penetración de la luz es más efectiva, pero se debe reducir la intensidad de la luz fuerte, cubriendo estos estanques con una malla. En cultivos a gran escala es recomendable la inyección de CO₂ (5.0%) para contribuir al proceso fotosintético.

- Para muchas especies de Diatomeas la temperatura óptima oscila entre los 15 y 20°C, pocas especies de esta familia crecen a más de 28°C, las clorofíceas pueden soportar altas temperaturas; un ejemplo es el cultivo masivo a la intemperie de *Chlorella saccharophila*, cuyas temperaturas oscilan entre 12.5 – 30°C.

- El crecimiento y la división celular son afectados por la intensidad de la luz y el fotoperíodo (horas de iluminación y oscuridad) en relación también a la temperatura, por ejemplo en Diatomeas a 20°C y 1,000 lux se obtiene un crecimiento favorable.

Características de algunas especies de algas unicelulares (Coll-Morales J., 1983)

Género	Ciclo	Temperatura óptima	Diámetro medio
<i>Phaeodactylum</i> (diatomea)	10 h	25°C	10.4μ
<i>Skeletonema</i> (diatomea)	13.1 h	18°C	>20μ
<i>Dunaliella</i> (clorofícea)	24 h	16°C	17.8μ
<i>Chlorella</i> (clorofícea)	7.7 h	25°C	5μ
<i>Tetraselmis</i> (clorofícea)	18 h	18°C	18.4μ
<i>Monochrysis</i> (crisofícea)	15.3 h	20–25°C	10μ
<i>Isochrysis</i> (crisofícea)	30.2 h	20°C	10.2μ

Requerimientos principales de los cultivos de microalgas

	Requerimiento	Compuesto químico	Valor
Físico	Luz		2,000 – 4,000 lux
	Temperatura		20 – 28°C
	Salinidad		0.37‰
	pH		5.5 – 7.5
	Redox		
Nutritivo	C	CO ₂ , CO ₃	g/100 ml
	O, H	O ₂ H ₂ O	g/100 ml
	N	N ₂ , NH ₄ ⁺ , NO ₃	g/100 ml

P	PO ₄	g/100 ml
S	SO ₄	g/100 ml
Na, K, Ca, Mg	Sales	g/100 ml
Fe, Zn, Mn, B, Br, Si	Sales	mg/100 ml
Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al, etc.	Sales	µg/100 ml
Vitaminas	B12, tiamina, biotina	µg/100 ml

En esta tabla se exponen los requerimientos principales de los cultivos de microalgas y sus valores aproximados. En cada caso habrá que estudiar los requerimientos particulares de la especie y de la variedad que se vaya a cultivar en las condiciones concretas de cultivo que se van a utilizar, por lo que estos datos son sólo orientación (Kinne, 1979).

El fotoperíodo es un factor que regula la división celular, en diatomeas la reproducción asexual (división) ocurre durante el período de luz y éste es acelerado bajo iluminación continua. En contraste las especies formadoras de auxosporas (esporas sexuales), dan lugar a células del mismo tamaño y esto ocurre en el período de oscuridad. Por lo tanto, el período de iluminación puede ajustarse de acuerdo a los objetivos del cultivo: el fotoperíodo continuo (horas de iluminación prolongada) produce crecimientos rápidos, un fotoperíodo con horas de luz y oscuridad semejante al fotoperíodo solar mantiene un crecimiento normal y saludable.

Además del control de los parámetros antes mencionados es necesario considerar que para el establecimiento de un sistema de producción de alimento vivo es importante el dominio de las técnicas de aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas, así como el conocimiento de la fisiología, ciclo de vida, bioquímica, etc. de las especies para determinar su factibilidad de cultivo.

Nutrientes

Las microalgas se desarrollan y multiplican en relación a las condiciones fisicoquímicas del medio. En términos generales son los macronutrientes o factores limitantes del crecimiento el carbono, Nitrógeno, Fósforo, Silicio, Magnesio y Potasio, que se requieren en cantidades relativamente grandes, mientras que los llamados micronutrientes (Hierro, Manganeso, Cobre, Zinc, Sodio, Molibdeno, Cloro y Cobalto) se necesitan en menores cantidades.

Refiriéndonos a la fuente de Nitrógeno, la más utilizada es la urea, puesto que ésta no genera grandes desequilibrios de pH como sí lo hacen otros compuestos, y, al mismo tiempo, trae aparejado un aumento en la productividad del cultivo.

Existen otros medios que incluyen en su composición sustancias orgánicas (vitaminas, aminoácidos) necesarios para aquellas especies de microalgas Auxótrofas, es decir que no sintetizan por medio de la fotosíntesis este tipo de compuestos y resultan factores que pueden limitar su crecimiento; tal es el caso de Platimonas, Chrysophytas y algunas Bacillariophyceas.

Ciclo de Vida - Crecimiento

En condiciones óptimas, sin contaminación, las algas pueden desarrollarse de manera continua, siendo capaces de replicar su población en 24 horas. Sin embargo es necesario suministrar periódicamente cultivos de algas al sistema cuando se lo realice a gran escala. En cuanto a su crecimiento, se ha logrado llegar a la cifra de 50 gramos de materia seca por metro cúbico diariamente en condiciones favorables dentro de bioreactores.

1.1 B Aspectos sobre el cultivo de microalgas para obtención de biodiesel

Es posible obtener bioaceite y biodiesel mediante el cultivo micro-algas. Se requieren microalgas con alto contenido de aceite y de desarrollo rápido.

Las ventajas fundamentales de la utilización de microalgas:

- No requieren suelos agrícolas, al contrario de los cultivos terrestres.
- Su producción de biomasa por unidad de superficie, es hasta 100 veces mayor que la de cultivos agrícolas.
- Su cultivo es posible en regiones templadas y cálidas, así como en desiertos y costas donde los suelos no son adecuados para producción de alimentos (pueden cultivarse microalgas en estanques poco profundos para que la luz pueda penetrar). Así mismo, las microalgas pueden cultivarse en fotoreactores que se mencionarán en este documento.
- Estanques: Los estanques se diseñan de tal manera que dentro ellos sea posible hacer circular agua y nutrientes constantemente, alrededor y conjuntamente con las microalgas. De tal manera las microalgas se mantienen suspendidas en el agua y, con frecuencia regular, son traídas a la superficie. Es decir, el agua y los nutrientes para las microalgas son suministrados constantemente. El agua que contiene algas es recibida al otro lado del estanque. Es necesario un sistema de "cosecha" para separar el agua de las algas que contienen aceite natural.
- Dióxido de Carbono: La habilidad de los cultivos de microalgas para utilizar altos volúmenes de dióxido de carbono (CO_2) es tan grande que, el desarrollo de esta tecnología fue motivado con la idea de mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero, haciendo pasar el CO_2 proveniente de procesos industriales y de generación de energía eléctrica mediante cultivo de micro-algas.
- Para producir biodiesel no únicamente se requiere el bioaceite, sino también alcohol (metanol ó etanol) que constituye alrededor del 10% del volumen total en la producción. Uno de los métodos para producir alcohol es mediante hidrólisis y fermentación de celulosa vegetal.
- Lípidos y carbohidratos se encuentran normalmente almacenados en la biomasa de las células de microalgas. En algunos casos, la composición de los lípidos puede ser regulada mediante la adición o restricción de algunos componentes en su dieta. Restringir las fuentes de nitrógeno o sílice, así como de otros factores de estrés, puede incrementar la producción total de lípidos.
- El tipo y cantidad de lípidos y carbohidratos producidos por microalgas se encuentran relacionados frecuentemente a factores del medio ambiente como luz, temperatura, concentración de iones y PH. No es raro encontrar niveles de lípidos entre 20 y 40% de la materia seca. En ocasiones los niveles de lípidos en micro-algas son extremadamente altos. En la especie denominada *Botryococcus*, la concentración de carbohidratos en materia seca puede exceder de 90% bajo ciertas condiciones.
- La cosecha y manejo de microalgas debe ser conveniente en procesos termoquímicos de licuefacción. Las microalgas pueden ser convertidas en materia aceitosa bajo la influencia de alta temperatura y alta presión. Rendimientos entre 30 y 40% de aceite pesado son posibles de esta forma. Este aceite puede convertirse en biodiesel mediante proceso de transesterificación.

De tal manera, se presenta posibilidad para que el cultivo de micro-algas se efectúe cerca de refinerías y plantas industriales que generan el CO_2 que sirve como alimento a las microalgas. Los estanques para cultivo de microalgas pueden ser altamente eficientes en la utilización de CO_2 . Hasta 90% ó más del CO_2 inyectado en los estanques puede ser utilizado eficientemente por las microalgas.

Las investigaciones sobre cultivos de microalgas se han centrado en:

- Selección de cultivos e ingeniería genética para incrementar la cantidad de lípidos en las microalgas.
- Manipulación genética del mecanismo por el cual las microalgas cambian de su estado normal crecimiento a la producción de lípidos, a fin de mantener mejor producción de ambos (crecimiento y producción de lípidos).
- Optimizar las características de los lípidos producidos por micro-algas para convertirlos en combustibles mediante hidro-procesos.
- Trabajar en conjunto con personal de refinerías de petróleo para mejorar el hidro-proceso, a fin de convertir el aceite de micro-algas en diesel ó gas-avión.

- El mejoramiento de los procesos tecnológicos y diseños de sistemas integrados para el uso de subproductos generados en el cultivo de microalgas, a fin de optimizar la relación costo-beneficio en los proyectos.

Contenido de lípidos en diversos tipos de algas

Clase	% Lípidos (materia seca)
<i>Scenedesmus sp.</i>	12-40
<i>Chlamydomonas sp.</i>	21
<i>Clorella sp.</i>	14-22
<i>Spirogyra sp.</i>	11-21
<i>Dunaliella sp.</i>	6-8
<i>Euglena so.</i>	14-20
<i>Prymnesium sp.</i>	22-38
<i>Porphyridium sp.</i>	9-14
<i>Synechococcus sp.</i>	11

Fuente: Morton Satin, Chief Agro-Industries and Post-Harvest Management Service.

Composición % (base materia seca)

Alga	Proteína	Carbohidratos	Lípido	Ácido Nucleico
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-1	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	2	2	-
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4.5
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	-

Fuente: Becker (1994)

Inversión y Costos

Algunos autores estadounidenses estiman que la inversión por hectárea con estanques podría estar entre 40 mil y 60 mil dólares. En algunas propuestas estadounidenses se mencionan estanques con superficie de 8 hectáreas cada uno. En algunos estudios estadounidenses, los costos de operación incluyendo retorno de la inversión se estiman entre 10 mil y 15 mil dólares por hectárea/año. Sin embargo estos datos no reflejan costos reales en condiciones de países en desarrollo donde los costos de operación e inversión podrían ser menores.

Unidades de cultivo

Las algas, tanto microalgas como macroalgas, pueden ser cultivadas tanto en estanques abiertos como en recipientes cerrados, llamados biorreactores o fotobiorreactores.

El objetivo de todos los biorreactores y de los estanques es aprovechar al máximo la radiación solar incidente, ya que en algunos casos la productividad es directamente proporcional a la radiación captada. A diferencia de en los estanques, en los fotobiorreactores es posible controlar un gran número de variables físicas y químicas.

Recientemente, la investigación se centra principalmente en fotoreactores, en lugar de estanques para producción de microalgas. La razón para este cambio está relacionada con problemas previos encontrados en estanques abiertos como: invasión de algas indeseables con baja producción; vulnerabilidad de las microalgas a fluctuaciones de temperatura; pérdida de microalgas por evaporación de agua en estanques, etc.

Tipo de cultivo a desarrollar

- Cultivo estático: desarrollo del cultivo hasta fase de crecimiento exponencial y la utilización del volumen total del mismo. Generalmente el uso de estos cultivos es para fines de bioensayo o bien para transferencia a volúmenes mayores (ver la Figura 6, que ilustra la secuencia del cultivo).

- Cultivo continuo: de acuerdo a Kubitschek (1970), un cultivo continuo es un sistema de flujo en el cual las células individuales están suspendidas en un volumen constante en un estado de equilibrio dinámico, establecido por una remoción de cultivo y adición de medio nutritivo por unidad de tiempo con tendencia al infinito. Se habla de una diferencia entre un cultivo semicontinuo y un cultivo continuo. Al parecer ésto es incorrecto, ya que la diferencia estriba en el número de períodos de remoción del cultivo y adición del medio nutritivo y en los sistemas continuos este período de remoción y adición es generalmente automático en aparatos llamados turbidostatos y Quimiostatos.

Cuando se requiere de grandes cantidades de células a intervalos frecuentes para alimentar especies en cultivo (peces, crustáceos, moluscos), los cultivos semicontinuos o continuos proveen un gran número con mayor consistencia en forma uniforme y constante. En estos cultivos es importante determinar la concentración óptima de los nutrientes por unidad de tiempo en relación a la tasa de dilución o cosecha del cultivo. Cuando se establece el estadio de equilibrio del sistema, la producción es máxima. En las Figuras 7 y 8 se muestran dos ejemplos de cultivo semicontinuo.

- Cultivo masivo: se considera cultivo masivo a aquellos que se utilizan como alimento vivo de peces crustáceos y moluscos y cuya producción es a gran escala en tanques u otros recipientes de volumen no controlado.

Existen muchas alternativas para la producción de microalgas en cultivo masivo, desde la utilización de tanques de plástico, madera, concreto hasta los estanques rústicos, así como la utilización de fertilizantes minerales de tipo agrícola hasta una gran variedad de excretas de ganado como fuentes de nutrientes.

En relación a la utilización de luz artificial o natural, ésta dependerá del tipo de infraestructura con que se cuente.

El control de la temperatura será necesario en relación del tipo de microalga en cultivo y de la región climática en donde se establezca el mismo.

Métodos de esterilización

Existen diferentes métodos para lograr las mejores condiciones de desarrollo de las microalgas, libres de microorganismos contaminantes, tanto del aire como del agua. A continuación se describen brevemente los métodos más comunes de esterilización que varían en los resultados de eficiencia, costos y tiempo invertido.

1. Esterilización Química

- Hipoclorito de sodio: uno de los métodos más comunes dentro de este tipo de esterilización, es el uso del Hipoclorito de Sodio (Cloro comercial), resulta ser de bajo costo y brinda buenos resultados para desinfectar recipientes de cultivo, material de cristalería y además podemos esterilizar el agua de mar con la que preparamos el medio de cultivo utilizando Tiosulfato de Sodio.

- Formol: se recomienda su uso en los casos en que exista una contaminación en las instalaciones o laboratorio por hongos y otros microorganismos. Se utiliza una concentración de 0.1% al 10% (no se utilice para material de cristalería o recipiente de cultivo).

- Solución de alcohol etílico al 70%: se recomienda para material de cristal (pipeta, cajas de Petri, tubos de ensayo, etc.). Se pueden utilizar otro tipo de alcoholes (Isopropanol, o Propanol e incluso el Fenol, pero éste último es muy tóxico).

2. Esterilización Física

- Esterilización por calor húmedo: utilizando difusores de vapor a una temperatura de 120°C, se recomienda para estanques y tuberías de agua y de aire, destruye microorganismos vivos e incluso destruye esporas. Se recomienda utilizarlo por tres días consecutivos. Este método recibe el nombre de Tindarización.

- Autoclave: se recomienda para la esterilización de medios de cultivo, vitaminas, material de cristal. Tiene la desventaja del tiempo que se invierte y el volumen que se puede esterilizar.

- Filtración: se utiliza para separar partículas orgánicas o microorganismos en los medios de cultivo o instalaciones del sistema de aereación. Existen diferentes tipos de los que podemos mencionar: filtros milipore (membranas, vidrio, celulosa, etc), filtros de fibra (algodón, vidrio, materiales sintéticos), filtros de tierra de diatomeas, geles de acrilamida (esferas de diferentes tamaños en micras), empaques de algodón y carbón activado, y finalmente existen unidades comerciales de esterilización con cartuchos sintéticos (0.45 μ , 3 μ , 5 μ , 20 μ) etc.

- Esterilización por U.V.: los efectos de la irradiación ultravioleta son bacteriostáticos y fungicidas en longitudes de onda menores de 500 NM (Jerlov, 1970). Se recomienda para estos fines las longitudes de onda de 240 a 280 NM las máximas eficiencias se obtienen cerca de los 254 NM (Kinne, 1976). Los rayos ultravioleta desinfectan el agua. El dato más importante y preciso sobre un tratamiento con rayos U.V. es la dosis de U.V. (normalmente expresada en μ W seg/cm²) requerida para matar a un determinado porcentaje de la población de organismos contaminantes.

Determinación de densidad de población

Cuando el plancton es utilizado para alimentar larvas u organismos filtroalimentadores como los moluscos, el suministro constante y la concentración de estos alimentos son factores que determinan la supervivencia y desarrollo de los organismos en cultivo. A continuación se hace una descripción breve de los métodos que se utilizan para determinar el número de células presentes en una muestra de plancton.

1. Hematocitómetro o Cámara de Neubauer

Mediante una pipeta Pasteur se toma una muestra de plancton y se desliza en la cámara que previamente tiene adherido el cubreobjetos, se deja pasar 5~10 minutos para que la muestra se estabilice; se procede a contar mediante un contador de mano, en algunos casos es necesario diluir la muestra cuando la densidad es alta y también fijada cuando el plancton es móvil, siguiendo los siguientes pasos:

1. Se toma un milímetro de la muestra.
2. Se añade un mililitro de agua de mar filtrada ya preparada con formaldehído todo al 4%.
3. Se deja reposar por tres minutos.
4. La muestra se homogeniza con una Pipeta Pasteur.
5. Se cuentan las células de cada una de las cámaras.

Una vez que se tiene el promedio de células de las cámaras, el cálculo total de células por mililitro se lleva a cabo

2. Densidad Óptica

Mediante un espectrofotómetro se determina la concentración celular de la muestra por densidad óptica (calibrando con anterioridad el aparato, siguiendo las instrucciones del manual correspondiente), se determina la transmitancia (Nm), que se extrapola con la recta patrón antes determinada que corresponda a la especie problema (se construye graficando transmitancia vs. num. de células/ml). Así en la intersección de la recta conociendo la concentración (Nm) se puede calcular la cantidad de microalgas de la muestra problema. Por otro lado, conociendo la ecuación de la recta de cada gráfica, según la especie, se determina directamente la concentración de células de la muestra sustituyendo el valor de la transmitancia en esta ecuación.

3. Volumen Celular

Por centrifugación, se obtiene "un paquete o pastilla celular" que desechando el sobrenadante, puede ser pesado y determinado en unidades de peso W/v, la cantidad de células o biomasa de la muestra problema en peso húmedo o peso seco.

4. Composición Química

En algunos estudios se puede determinar la concentración de clorofila A,B y otros pigmentos presentes en la muestra. Debe considerarse que la composición química del fitoplancton varía de acuerdo al tipo de cultivo usado, medio nutritivo y otros factores por lo que es necesario realizar el estudio de la composición química (análisis proximal) de la especie de estudio en relación al tipo de cultivo desarrollado.

Cosecha

La cosecha de alga (separación de agua y algas) puede efectuarse mediante centrifugación o filtrado. En condiciones óptimas es posible cosechar cada 3,5 ó 4 horas.

Agua Residual

No es necesario tratar los excedentes de agua después de su uso en el cultivo de alga, sino que se usa nuevamente en el flujo continuo del sistema. Esta agua contendrá en ocasiones residuos útiles de algas. Sin embargo, habrá que añadir CO₂ en cantidad proporcional a la cantidad de agua residual re-utilizada.

Pulpa de Algas

La pulpa de algas (post-extracción del aceite) contiene diversos compuestos nutritivos como, ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga; vitaminas y antioxidantes como los betacarotenos. Puede utilizarse en las industrias alimenticias y farmacéuticas porque contienen también esteroides que pueden utilizarse como elementos de construcción de hormonas. Además la cianobacteria es elemento potencial en aplicaciones bio-médicas en compuestos anti-virales, anti-microbiales y anti-cancerígenos. El precio de la pulpa de alga en Holanda oscila entre 1.00 y 3.00 Euros por kilogramo (*Juschin 2007*).

1.1 C Scenedesmus quadricauda

Microalga perteneciente a la clase Chlorophyceae (algas verdes). Es un individuo colonial, constituido por 2, 4 u 8 células dispuestas en forma lineal. Presenta un cuerpo celular alargado y elipsoide, y una pared celular suave. 11-18 μm de largo, 3.5-7 μm de ancho. Las células centrales son alargadas y sin apéndices; las terminales, se abomban en el centro y presentan dos espinas que se proyectan hacia el exterior (10-17 μm de largo). Requiere de las condiciones óptimas de su clase para lograr una alta productividad: temperatura 25°C; flujo luminoso 2000 lux; turbulencia; suministro de 5% CO_2 - 95% aire; adición de medio de cultivo nuevo; agua dulce.



Scenedesmus quadricauda - "The Japanese Fresh-water Algae", 1977

1.2 Análisis de los factores intervinientes en la problemática

1.2 A Agotamiento de los recursos naturales

Los recursos naturales pueden estar constituidos por cualquiera de los componentes de la materia existente en la naturaleza que puedan ser potencialmente utilizados por el hombre. Pueden ser renovables o no, dependiendo este carácter de la exploración y explotación de los mismos y de su capacidad de reposición.

No es renovable el recurso que no se regenera a corto plazo después de su uso y que se agota. Es renovable, en cambio, aquél que se recupera luego de su utilización, típicamente por reciclado (p.e. el agua) o por reproducción (p.e. recursos biológicos vegetales y animales). De acuerdo con este concepto clásico de categorización de los recursos naturales, los yacimientos minerales como fuente de materias primas son recursos no renovables y el agua para consumo humano o la madera de un bosque, renovables. Sin embargo, es cada vez más complicado y costoso potabilizar agua para beber debido a la calidad y cantidad de contaminantes presentes en los ambientes acuáticos superficiales y subterráneos de donde se extrae. La tala indiscriminada de bosques también se produce a mayor velocidad que la de reproducción o recuperación de los árboles que lo componen. Cuando la existencia futura de un recurso natural está condicionada a su reposición se habla de *recursos hipotéticamente renovables*.

Un recurso es tal si existe la posibilidad de aprovecharlo, de lo contrario no lo es. Por otro lado, el concepto de recurso natural es dinámico si se tiene en cuenta la relación entre el consumo que la cultura de una sociedad genera con su situación socioeconómica y la tecnología necesaria para satisfacer dicho consumo. Así, "algo" es recurso cuando la sociedad así lo identifica y lo solicita. De este modo, cada cultura desarrolla en el tiempo y el espacio una relación propia con los recursos naturales. El hecho de resolver necesidades individuales y colectivas respecto de la utilización de los recursos naturales como fuentes de energía o de materias primas, puede conducir a su agotamiento, limitando el desarrollo sustentable. Si la tasa de renovabilidad es menor que la tasa de explotación existe depredación del recurso, cuando el aprovechamiento del mismo supera al crecimiento o acopio y el recurso se agota. Esa tasa de renovabilidad depende de las leyes de la naturaleza, mientras que la de explotación se rige por factores sociales.

1.2 B Deforestación

La deforestación es una de las modalidades más drásticas de las alteraciones de la cobertura de la Tierra que se producen por acción humana. La tala continua ha reducido la superficie cubierta por los bosques a una cantidad estimada a 40 millones de km² de los cuales 12 millones son bosques abiertos.

De los dos grandes componentes forestales de la Tierra, los bosques tropicales y los extratropicales, particularmente en los primeros la silvicultura comercial descontrolada y la agricultura, han y están provocando una deforestación masiva. En los últimos 50 años, la mayoría de los bosques tropicales han sido incorporados a la producción en gran escala. Las pluviselvas ecuatoriales (cuenca del río Amazonas, África central y sudeste asiático) soportan una tasa de deforestación anual de 120.000 km² y 100.000 km² se ven afectados por una destrucción parcial. A la actual velocidad de destrucción, se calcula que todos los bosques tropicales habrán desaparecido en la segunda mitad del siglo XXI. Los suelos de este tipo de bosque tienen sistemas particulares de retención de nutrientes que dependen de la existencia del bosque mismo. Con la tala desaparecen estos mecanismos y se produce en un corto tiempo (1 a 3 años) el lixiviado de nutrientes y el terreno se convierte en poco apto para la agricultura, reiniciándose el proceso de tala y ocupación. En estas zonas se realiza una agricultura itinerante de cultivos rozados a fuego. La quema de residuos ulterior a la tala libera enormes cantidades de dióxido de carbono; el aumento de la concentración de este gas en la atmósfera es una de las causas del llamado efecto invernadero. Si bien la cantidad de dióxido de carbono absorbido por la vegetación es reducida si se la compara con la transferida a los océanos, las masas boscosas tropicales cumplen un importante rol como productores de oxígeno atmosférico y reguladores de los ciclos hidrológicos.

Los bosques tropicales tienen una diversidad en número de especies animales y vegetales mayor que en cualquier otro sistema de la Tierra; por ejemplo, se estiman para la pluviselva unos 2

millones de especies, de las cuales sólo una sexta parte es conocida. A causa del proceso de deforestación muchas especies y poblaciones genéticamente diferentes se han perdido.

En la Argentina, la selva misionera o paranense, con características muy similares a la pluviselva, cubría más del 80% del territorio de la provincia de Misiones. En extensas áreas ha sido objeto de una destrucción total o parcial intensa como consecuencia de la expansión de la actividad agrícola y la explotación forestal. Similar proceso se ha producido en las yungas, formación selvática de las laderas orientales de las sierras subandinas (Jujuy, Salta y Tucumán) y en el bosque chaqueño.

1.2 C Cambio climático global

Cambio global significa, en el uso restringido que se le da hoy al término, un calentamiento global de la atmósfera producido por el aumento de la concentración de los gases de invernadero en la misma. Este aumento de temperatura trae aparejado un cambio en las otras variables climáticas, es decir, un "cambio climático global".

Cambios cualitativamente y cuantitativamente diferentes se han producido con cierta frecuencia durante todos los períodos geológicos y mucho antes de la aparición del hombre. Si hablamos de un posible cambio global actual pensamos en un cambio provocado por las actividades globales del hombre, que abarcan la sobreexplotación de los bosques, el uso indiscriminado de las reservas energéticas, la producción de alimentos y la actividad industrial en general. Asimismo, el crecimiento desmedido de la población mundial, en un planeta que podría absorber tal vez, los desechos de una población de mil millones de habitantes humanos, y ha llegado a un estado de crisis al casi sextuplicar la cifra.

Las actividades mencionadas están cambiando paulatinamente la atmósfera terrestre, reforzando el efecto invernadero. En la cercanía del suelo, la atmósfera contiene en el momento actual: 0,035% de CO₂, 20,95% de O₂, 78,08% de N₂ y 0,3% de N₂O (Datos de la Organización Meteorológica Mundial, 1986).

1.2 D Efecto invernadero

Los gases de mayor concentración que se encuentran presentes en la atmósfera (oxígeno y nitrógeno) no muestran efectos significativos sobre el clima. Si estos gases fueran los únicos componentes atmosféricos, la Tierra sería un planeta inhóspito debido a que la temperatura media sobre su superficie sería de aproximadamente -18°C.

Sin embargo, algunos gases minoritarios actúan en forma tal que permiten que la radiación solar penetre hasta la superficie terrestre y atrapan la radiación infrarroja ascendente emitida por la Tierra, que de otro modo escaparía al espacio. De esta manera se genera un fenómeno denominado efecto invernadero, por analogía a lo que ocurre en los invernaderos, en los que el vidrio actúa permitiendo el paso de la radiación solar y retiene la radiación infrarroja emitida dentro del invernadero.

Por lo tanto este comportamiento selectivo de algunos gases atmosféricos frente a la radiación solar y terrestre produce calentamiento del aire próximo a la superficie terrestre, elevando la temperatura media del planeta a +15°C.

El efecto invernadero es un fenómeno que ocurre en forma natural en la atmósfera. No obstante, su efecto beneficioso puede ser modificado por actividades humanas que aumentan la concentración en la atmósfera de muchos de los gases que lo producen.

El fuerte aumento observado desde la época industrial en la concentración de la mayoría de los gases de invernadero, estaría altamente vinculado con el aumento registrado en la temperatura media global del último siglo. Por lo tanto, el hombre a través de sus actividades, es capaz de alterar un fenómeno beneficioso como es el efecto invernadero y provocar modificaciones en el clima, generando múltiples efectos en el equilibrio de los ecosistemas.

Gases de efecto invernadero

Los gases de invernadero más importantes son: vapor de agua, dióxido de carbono (CO₂) metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), compuestos clorofluorcarbonados (CFC) y ozono (O₃).

En la tabla se enumeran los fenómenos naturales y actividades antropogénicas que dan origen a estos gases, su concentración y tasa de crecimiento anual en la atmósfera.

Gas	Fuente	Concentración actual (ppm*)	Crecimiento anual (%)
Vapor de agua	- Evaporación	Variable	-
Dióxido de carbono	- Combustión de carburantes fósiles (petróleo, gas, hulla) y madera - Erupciones volcánicas	353	0.5
Metano	- Descomposición anaeróbica de vegetales en tierras húmedas (pantanos, ciénagas, arrozales) - Combustión de biomasa - Venteo de gas natural	1.7	0.9
Óxido nitroso	- Prácticas agrícolas (uso de fertilizantes nitrogenados) - Combustión de carburantes fósiles	0.31	0.8
Clorofluocarbonos	- Origen sintético (propelentes de aerosoles, refrigeración, espumas)	0.00028 - 0.00048	4.0
Ozono troposférico	- Combustión de carburantes fósiles	0.02 - 0.04	0.5 - 2.0

*ppm partes por millón (en volumen)

El incremento en la concentración de los gases de invernadero debido a actividades humanas, y la consecuente potenciación del efecto invernadero, es una de las causas probables del aumento de 0.6°C de la temperatura media global observado en el período 1910 - 1995.

Dado que aún no se conocen mecanismos dentro del sistema Tierra-atmósfera, que contrarresten el efecto de calentamiento asociado al aumento de la concentración de los gases de invernadero, es importante establecer controles sobre las emisiones antropogénicas de estos gases y la búsqueda de sustancias alternativas que permitan su reemplazo en algunas actividades.

Dióxido de carbono

El dióxido de carbono (CO₂) es un gas incoloro, denso y poco reactivo. Forma parte de la composición de la tropósfera (capa de la atmósfera más próxima a la Tierra) actualmente en una proporción de 350 ppm. (partes por millón). Su ciclo en la naturaleza está vinculado al del oxígeno.

El balance del dióxido de carbono es sumamente complejo por las interacciones que existen entre la reserva atmosférica de este gas, las plantas que lo consumen en el proceso de fotosíntesis y el transferido desde la tropósfera a los océanos.

El aumento del contenido de dióxido de carbono que se verifica actualmente es un componente del cambio climático global, y posiblemente el mejor documentado. Desde mediados del siglo XIX hasta hoy, el aumento ha sido de 80 ppm.

El análisis de gases retenidos en muestras de hielo obtenidas a distintas profundidades en Antártida y Groenlandia, ha permitido conocer la concentración de dióxido de carbono atmosférico, y de otros gases del llamado efecto invernadero, durante por lo menos los últimos 150.000 años. Estas concentraciones han variado en la escala temporal de las glaciaciones, con concentraciones bajas durante los períodos glaciales (temperaturas bajas) y relativamente altas durante los períodos interglaciales (temperaturas altas), con transiciones rápidas tanto en la variación de la temperatura como de la concentración de dióxido de carbono. Se ha discutido si este aumento del contenido de dióxido de carbono atmosférico corresponde o no a estas fluctuaciones naturales, dado que transitamos por un período postglacial. A partir de la misma fuente de información, las burbujas de gas retenidas en hielos de diferentes edades, se ha comprobado que el actual incremento de la concentración de dióxido de carbono se superpone

a la variación esperada del mismo y los niveles alcanzados superan a los registrados en el pasado, siendo el aumento sustancial y acelerado durante los últimos 160 años e indudablemente causado por la actividad humana.

Se estima que este aumento es causado por una concurrencia de factores entre los cuales el uso de combustibles fósiles (carbón, petróleo y derivados, gas) y las quemadas con fines agrícolas pueden señalarse como los más significativos. Se calcula que este aumento del nivel de dióxido de carbono ocasione cambios climáticos considerables.

1.2 E Población mundial

La población mundial actual es de aproximadamente *6.000 millones de personas* y las estimaciones más recientes de la Naciones Unidas indican que para el año 2025 será de 8.500 millones. Si se analiza desde una perspectiva histórica su ritmo de crecimiento, se observa que después de la Segunda Guerra Mundial se produce una *explosión demográfica* sin precedentes, producto de un aumento de la tasa de crecimiento. Una forma de percibir este efecto es observar como ha ido disminuyendo el tiempo transcurrido para que la población mundial se *duplique*.

Año	Población Mundial (millones)	Tiempo transcurrido para duplicarse (años)
600	500 millones	
		1200
1800	1.000 millones	
		130
1930	2.000	
		46
1976	4.000	

Los motivos de este incremento están vinculados principalmente a un mejoramiento en las condiciones sanitarias y alimentarias básicas; progresos en el campo de la medicina tales como el descubrimiento de los antibióticos y vacunas fueron decisivos para el aumento de la expectativa de vida, las condiciones de reproducción y sobre todo para la disminución de la tasa de mortalidad infantil. El índice de natalidad y supervivencia superó ampliamente al índice de mortalidad, y mejoraron sustancialmente las perspectivas de vida.

El incremento poblacional aumentó paralelamente el "*consumo humano*" en términos energéticos, alimentarios y en general de productos y servicios.

Debido a las características de los sistemas socioeconómicos y políticos adoptados, histórica y actualmente, las condiciones de vida de la población mundial son muy desparejas sobre todo en lo que se refiere a necesidades básicas: acceso a la salud, alimentos, vivienda, educación, trabajo y servicios. Las últimas estimaciones de las Naciones Unidas indican que aproximadamente el 20% de la humanidad vive en condiciones de *pobreza absoluta*, y es este sector de la población el que crece más rápido. En el año 1950, en los países industrializados (desarrollados) vivía el 34% de la población mundial; 25 años después, en 1975, esa cifra era de 28%, y en el año 2000 los países "ricos" alojan aproximadamente el 21% de la población mientras que en los más pobres reside el 79%.

El incremento demográfico implica también un mayor impacto negativo sobre el ambiente, producto de las actividades humanas de todos los sectores: del industrial, del energético, del agropecuario y del de la producción de residuos.

Otros dos factores críticos están representados por el aumento del consumo de materias primas, sobre todo aquellas provenientes de recursos naturales, y el consumo energético, que para las últimas cuatro décadas mientras que el crecimiento demográfico fue de 1,5% por año, el consumo energético creció el 5% por año.

Este crecimiento ilimitado de la población mundial conduce inexorablemente al deterioro del ambiente, que sí es limitado en tiempo y espacio y produce, como nos muestra la realidad, profundas asimetrías sociales en cuanto a condiciones y calidad de vida que son cada día más graves e inaceptables éticamente.

1.2 F Contaminación por la industria petrolera

La contaminación por petróleo se produce por su liberación accidental o intencionada en el ambiente, provocando efectos adversos sobre el hombre o sobre el medio, directa o indirectamente.

La contaminación involucra todas las operaciones relacionadas con la explotación y transporte de hidrocarburos, que conducen inevitablemente al deterioro gradual del ambiente. Afecta en forma directa al suelo, agua, aire, y a la fauna y la flora.

- Efectos sobre el suelo: las zonas ocupadas por pozos, baterías, playas de maniobra, piletas de purga y red caminera comprometen una gran superficie del terreno que resulta degradada.

Esto se debe al desmalezado y alisado del terreno, y al desplazamiento y operación de equipos pesados. Por otro lado los derrames de petróleo y los desechos producen una alteración del sustrato original en que se implantan las especies vegetales dejando suelos inutilizables durante años.

- Efectos sobre el agua: en las aguas superficiales el vertido de petróleo u otros desechos produce disminución del contenido de oxígeno, aporte de sólidos y de sustancias orgánicas e inorgánicas.

En el caso de las aguas subterráneas, el mayor deterioro se manifiesta en un aumento de la salinidad, por contaminación de las napas con el agua de producción de petróleo de alto contenido salino.

- Efectos sobre el aire: por lo general, conjuntamente con el petróleo producido se encuentra gas natural. La captación del gas está determinada por la relación gas/petróleo, si este valor es alto, el gas es captado y si es bajo, es venteado y/o quemado por medio de antorchas.

El gas natural está formado por hidrocarburos livianos y puede contener dióxido de carbono, monóxido de carbono y ácido sulfhídrico. Si el gas producido contiene estos gases, se quema. Si el gas producido es dióxido de carbono, se lo ventea. Si bien existen reglamentaciones, el venteo y la quema de gases contaminan extensas zonas en la dirección de los vientos.

- Efectos sobre la flora y la fauna: la fijación de las pasturas depende de la presencia de arbustos y matorrales, que son los más afectados por la contaminación con hidrocarburos. A su vez estos matorrales proveen refugio y alimento a la fauna adaptada a ese ambiente. Dentro de la fauna, las aves son las más afectadas, por contacto directo con los cuerpos de agua o vegetación contaminada, o por envenenamiento por ingestión. El efecto sobre las aves puede ser letal.

Si la zona de explotación es costera o mar adentro el derrame de hidrocarburos produce daños irreversibles sobre la fauna marina.

- Efectos del transporte de petróleo: el transporte de hidrocarburos es el que ha producido los mayores accidentes con graves consecuencias ecológicas.

1.2 G Consideraciones sobre la Producción de Biodiesel

La producción de biodiesel puede representar en algunos casos una alternativa económica y social en la reducción de la contaminación. Además, representa una solución a nuestra actual dependencia de los combustibles fósiles derivados del petróleo. Así, el metiléster, el bioetanol y el biobutanol de origen biológico se pueden usar de dos maneras: al 100% o mezclados en ciertos porcentajes variables con el gasóleo (dando lugar al combustible llamado biodiesel) o la gasolina.

El biodiesel es un biocombustible considerado "ecológico" por algunos autores, es renovable, pero no ilimitado. Se obtiene al mezclar gasóleo con un metiléster o etiléster a partir de un

proceso de transesterificación, al combinar aceite más alcohol (metanol) y un catalizador (hidróxido de sodio). Este aceite puede ser de origen vegetal o animal.

Algunas de las ventajas del uso del biodiesel son las siguientes:

- No se necesitan grandes cambios en el motor. Se precisan algunos cambios, no muy grandes, en las partes del motor que tengan caucho o gomas que son atacadas por algunos tipos de metilésteres que las estropean o llegan a disolverlas.
- Es biodegradable e inócua para el ambiente. El biodiesel, a diferencia del petróleo y del gasóleo, es un combustible biodegradable. Por ello, si hay derrames en el transporte marítimo de biodiesel, no aparecen los problemas que aparecen con el petróleo.
- Genera empleo en zonas rurales. El biodiesel puede obtenerse a partir de aceites vegetales puros o de aceites vegetales usados. Si se hace a partir de aceites vegetales puros, la generación de estos aceites provoca la creación de empleo en zonas rurales, en el cultivo de las especies vegetales empleadas para producir aceites (colza, girasol, soja, palma, jatrofa o piñón manso, ricino, higuera...).
- Diversifica las fuentes de energía. Al utilizarse el biodiesel, como ocurre con el empleo de cualquier otro biocombustible sólido (paja de cereales, leñas, astillas, pellets, briquetas, carbón vegetal, etc.), líquido (bioetanol, biobutanol, e-diesel, bio-oil, etc.) o gaseoso (biogás de vertedero, biogás de residuo ganadero, etc.), la matriz energética se diversifica. Ello es una gran ventaja, pues permite también una diversificación de la dependencia económica en los países que no tienen petróleo ni gas natural.
- Reconocimiento de los derechos de CO₂. Como ocurre con el empleo de otras fuentes de energías renovables, pueden venderse derechos de CO₂.

Como contrapartida, debemos considerar que:

- La producción de biocombustibles se hace en detrimento de los cultivos de plantas comestibles utilizando las reservas de agua, desviando tierras y capitales, lo que origina un aumento de precios de los productos alimenticios, y «pondrá en peligro el acceso a los víveres a los sectores más desfavorecidos. Las desastrosas consecuencias sociales de esta política son fácilmente previsibles cuando se sabe que la inseguridad alimentaria ya afecta a 854 millones de personas.
- Sustituye a los cultivos alimentarios y fomenta el alza de los precios. La creciente demanda de materias primas tales como maíz o caña de azúcar para la producción de combustibles de origen vegetal, ha influido de manera determinante en el alza mundial de los precios de los alimentos. Así, el precio del arroz aumentó en un 75% entre febrero y abril de 2008 mientras que el precio del trigo explotó en un 120% durante el mismo periodo (9). Lo mismo ocurrió con otros productos básicos como la soja, el maíz, el aceite, la leche, la carne y otros.
- La pobreza y la indigencia aumentará de no tomarse medidas urgentes para aminorar los efectos de estas alzas

Estados Unidos ha sido el principal promotor, con Brasil, de la política de los biocombustibles, los llamados "combustibles verdes", para hacer frente al alza de los precios del petróleo, ignorando las consecuencias dramáticas y previsibles de semejante producción. Así, para satisfacer sus necesidades energéticas, se promueve una estrategia que va a llevar a gran parte de la humanidad a una catástrofe. No hay ninguna duda al respecto y las grandes instituciones internacionales son unánimes en cuanto a este asunto, incluso el Fondo Monetario Internacional.

Lejos de aprender las lecciones del drama social y humano que atraviesa el planeta, Estados Unidos ha ratificado su intención de duplicar las enormes superficies que ya dedica a la producción de biocombustibles (que junto con Brasil alcanza cerca del 90% del mercado mundial). Europa también ha hecho alarde de su intención de desarrollar estos productos de sustitución.

La FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, subrayó que el aumento mundial de la producción de biocombustibles amenaza el acceso a los productos alimenticios de las poblaciones pobres del Tercer Mundo. A corto plazo, es muy probable que la expansión rápida de combustibles verdes, a nivel mundial, tenga efectos importantes en la agricultura de América Latina.

En los últimos nueve meses el precio de los alimentos ha subido en un 45 por ciento, según datos de la FAO. En el 2007 los cereales subieron el 41 por ciento, los aceites vegetales el 60 por ciento y los lácteos el 83 por ciento. Entre marzo de 2007 y marzo de 2008 el precio del trigo aumentó en un 130 por ciento. Uno de los elementos que ha influido en esas alzas de la producción agrícola es el precio del petróleo. Eso, a su vez, estimula la producción de aquellos productos que se pueden transformar en biocombustibles y eso determina que disminuya la siembra de otros alimentos, lo que crea un círculo vicioso con alzas en otros artículos básicos.

La gravedad de la situación tuvo que ser admitida cuando ya en 37 países se habían registrado disturbios por la carestía de los alimentos. Desde Egipto hasta Haití se registraron protestas porque no era posible siquiera comprar harina para hacer pan. La situación amenazaba también a los países desarrollados, especialmente de los que viven del comercio con sus ex colonias, como Gran Bretaña, cuyo primer ministro llamó al Grupo de los 8 a tomar medidas para frenar las alzas.

Los estimados del Banco Mundial indican que los precios de los alimentos incrementan el riesgo de llevar a 100 millones de personas a una mayor pobreza, pero también esconden una realidad más oscura: 35 millones de niños y niñas estarán en mayor riesgo de desnutrición, y de ellos 10 millones son menores de 5 años. A nivel mundial, 146 millones de niños y niñas menores de 5 años en países en desarrollo (uno de cada cuatro), no cuentan con el peso adecuado. Además, uno de cada tres sufre de crecimiento inadecuado o atrofia, impidiendo su desarrollo físico e intelectual, y por ende atentando contra su futuro y, potencialmente, contra el progreso de sus comunidades y naciones.

El presidente del Banco Mundial, Robert Zoellick, ha denunciado que mientras todos nos preocupamos por llenar los depósitos de gasolina, millones de personas se preocupan sólo por llenar su estómago. Zoellick ha clamado ante la prensa por el precio del arroz y del trigo, que se lleva todos los ingresos de las familias pobres. Y es que los precios de los cereales se han inflado porque los cultivos se dedican ahora a cereales para biocombustibles que dan más beneficios. Según el presidente del Banco Mundial, la situación es crítica en Centroamérica y el Caribe. En Haití llevan una semana de protestas porque no tienen qué comer, y en Perú, el precio del trigo está obligando hacer pan con masa de patata. Para qué hablar de África, donde la dramática situación no cambia. Las sequías de los últimos años han asfixiado las tierras fértiles y en Egipto, las protestas se suceden por el racionamiento de la comida. En el sur de Asia y el Pacífico, la demanda cada vez mayor de países emergentes, como La India o China han disparado los precios.

Para agencias de la ONU y expertos como el director del Fondo Monetario Internacional (FMI), Dominique Strauss-Kahn, la actual problemática alimentaria pondrá en tela de juicio a la democracia. *"La historia está llena de guerras que comenzaron por problemas de este tipo"*, dijo Strauss-Kahn y al respecto está el caso de Haití donde hubo ya disturbios graves precisamente por la carestía y escasez de alimentos.

Jacques Diouf, director de la FAO, advirtió que hay gente muriendo por hambre y que *"naturalmente, la gente reaccionará porque no esperará sentada la muerte por inanición"*.

Por su parte, el portavoz especial de la ONU para el Derecho a la Alimentación, Jean Ziegler, ha advertido que se está produciendo un verdadero "crimen contra la humanidad". Y es que aunque para los más ricos el gasto alimentario supone el 10% de los ingresos, para los más pobres puede llegar a suponer el 80% de la renta disponible. Si tenemos en cuenta que el alza de los alimentos en los últimos 3 años ha sido del 83% (120% sólo en el último año en el caso del trigo) nos daremos cuenta de la magnitud de la catástrofe. Según el Banco Mundial, el arroz alcanzó el precio más alto en 19 años y el trigo casi duplicó su precio promedio de 25 años.

- En India el 60 por ciento de los ingresos de las familias está destinado a los alimentos.
- En China es el 33 por ciento por los subsidios estatales al arroz y otros alimentos básicos.
- En Alemania el gasto familiar para alimentos representa menos del 10 por ciento del ingreso.
- En Reino Unido el 10 por ciento, en Canadá el 16 y en Japón el 22 por ciento.

Según el informe elaborado por 400 expertos internacionales bajo la protección de la UNESCO y titulado *"Evaluación internacional de las ciencias y tecnologías agrícolas para el desarrollo"*

(IAASTD,) “la agricultura moderna deberá cambiar radicalmente para servir mejor a los pobres y hambrientos si el mundo debe sobrellevar una creciente población y el cambio climático, al tiempo que evita una explosión social y un desastre ambiental”. Según el informe, “Mantener las tendencias actuales en producción y distribución (agrícola) agotaría nuestros recursos y pondría en peligro el futuro de la humanidad”.

La soberanía alimentaria es un derecho inalienable de los pueblos. No existe otro más importante. La pobreza y el hambre no son fatalidades sino consecuencias directas de un sistema económico inhumano y destructor que viola el derecho a la vida de los desheredados del planeta. Por esta razón, es urgente establecer una moratoria inmediata sobre los biocombustibles so pena de hacer frente a un auténtico genocidio. Esta producción es insostenible desde el punto de vista moral, político y social. La especie humana está en vías de autodestruirse.

1. 3 Definiciones y estudios de de los diferentes procesos intervinientes.

1.3 A Combustibles

El combustible es toda aquella sustancia que sea capaz de arder. Por lo tanto se debe de poder combinar con el oxígeno de manera rápida.

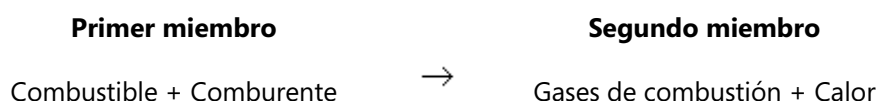
Teoría del proceso de combustión

Se entiende por combustión a la combinación química violenta del oxígeno (o comburente) con determinados cuerpos llamados combustibles, que se produce con notable desprendimiento de calor. La reacción de un elemento químico con el oxígeno sabemos que se llama *oxidación*. La combustión no es más que una reacción de oxidación, en la que normalmente se va a liberar una gran cantidad de calor.

Reacción de combustión

Se trata de una reacción de oxidación con la particularidad de que se realiza *muy rápidamente*, es *exotérmica*. Esta reacción se produce entre los elementos combustibles de un combustible y el oxígeno del comburente. Para que un combustible sufra la combustión, es necesario que alcance su temperatura de ignición. Se define el punto de ignición de un combustible como la temperatura a la cual, una vez iniciada la llama, esta ya no se extingue. Es esta temperatura de 20 a 60°C más alta que la temperatura de *inflamación*.

En una reacción de oxidación tendremos:



A fin de que se produzca esta reacción, debe haber una combinación química: los productos finales, una vez producida la combustión, deben ser químicamente distintos a los productos iniciales. Ésta, a su vez, debe producirse violenta e instantáneamente. (Ej.: Una lámina de hierro colocada en la intemperie se va a oxidar lentamente, luego de cierto tiempo, al combinarse con el oxígeno del aire. Pero esto no es combustión sino oxidación, porque el desprendimiento de calor se produce muy lentamente después de un tiempo).

Poder calorífico

La unidad que se emplea para medir la cantidad de calor desarrollada en la combustión se denomina poder calorífico.

Se entiende por poder calorífico de un combustible, la cantidad de calor producida por la combustión completa de un kilogramo de esa sustancia. Tal unidad se mide en cal/kg de combustible.

- *Poder calorífico inferior* del combustible (N_i): si la temperatura de los productos finales de combustión es tal que el vapor de agua que se ha formado continúe en ese estado.

- *Poder calorífico superior* del combustible (N_s): si la temperatura de los productos finales es suficientemente baja como para que aquella se condense. La diferencia entre ellos será igual el calor desprendido por la condensación del agua.

De la diferencia entre el poder calorífico superior (N_s) y el poder calorífico inferior (N_i) se obtendría uno u otro según el estado de agregación que forma parte de los productos de combustión.

Productos resultantes de la reacción de combustión

En general, los productos de combustión se llaman humos. Se definen éstos como la masa de compuestos que resultan de un proceso de combustión. Mayoritariamente están formados por óxidos de los elementos combustibles de un combustible, además de por los elementos del combustible que no sufren reacción, donde hay que incluir el N_2 del aire que no va a reaccionar con el oxígeno.

Otros elementos que pueden aparecer en los humos pueden ser pequeñas proporciones de elementos en suspensión, como *carbón* u *hollín* (que se define como una sustancia alquitranosa de coquización).

Los humos pueden clasificarse en *secos* (sin agua) o *húmedos* (con agua).

1.3 B Combustible industrial

El combustible industrial es toda aquella sustancia capaz de arder, siempre que en esa reacción no sea necesario realizar un proceso complicado y costoso, y que además el combustible no sea útil para otro uso más rentable o noble.

Estos combustibles se caracterizan por ser mezclas o combinaciones de pocos elementos, en general. La mayor parte de un combustible industrial lo constituyen los elementos combustibles, es decir, *carbono*, *hidrógeno* y *azufre*. El resto son considerados impurezas. Las impurezas siempre originan problemas tecnológicos, y por lo tanto económicos.

- El *carbono* es el elemento que constituye el mayor porcentaje volumétrico del combustible, constituyendo el 80 a 90 % volumen del mismo. No arde directamente, sino que es llevado al estado de incandescencia por el hidrógeno.

- El *hidrógeno* constituye el 5 o 6 % de los combustibles sólidos y el 8 al 15 % de los líquidos. La presencia del oxígeno en la molécula de combustible le resta al mismo poder calorífico, ya que se va a combinar con parte del hidrógeno que tiene para formar agua.

- El *azufre* se puede encontrar también en el combustible, desde 0.5 % en combustible líquidos hasta 1 o 1.5 % en carbones, y el nitrógeno (en carbones) de 0.7 hasta 9.3 %.

Clasificación de los combustibles

Los combustibles se pueden clasificar según su *origen*, *grado de preparación*, *estado de agregación*.

Origen:

- *Fósiles*: proceden de la fermentación de los seres vivos.

- *No fósiles*: los restantes.

Grado de Preparación:

- *Naturales*: se utilizan tal y como aparecen en su origen.

- *Elaborados*: antes de ser consumidos se someten a determinados procesos de transformación.

Estado de Agregación:

- *Sólidos*: se encuentran en tal estado en la naturaleza o una vez transformados. Por ejemplo, la madera, el carbón.

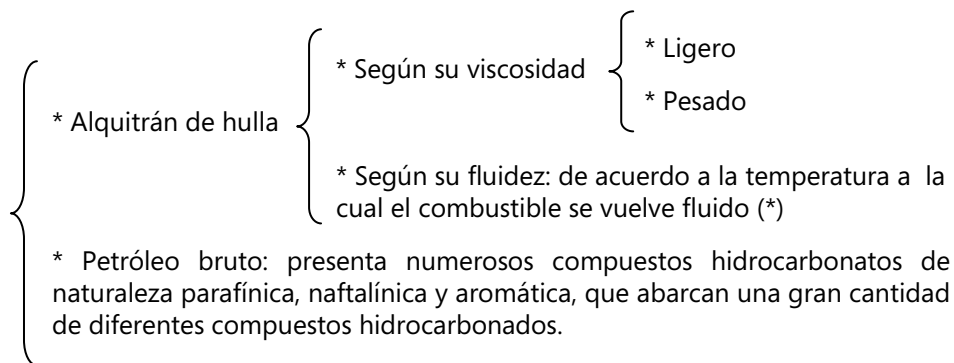
- *Líquidos*: cualquier líquido que pueda ser usado como combustible y que pueda ser vertido y bombeado.

- *Gaseosos*: se encuentran en estado gaseoso. Se incluye el gas natural y todas sus variedades. También el gas de carbón, de petróleo, de altos hornos, gas ciudad y diversas mezclas.

Debido a que el presente trabajo girará en torno a un combustible de tipo líquido, se detallarán las características propias de este tipo de combustibles, sin hacer una referencia detallada a los demás tipos de combustibles.

Combustibles líquidos

Los combustibles líquidos, desde el punto de vista industrial, son aquellos productos que provienen del petróleo bruto o del alquitrán de hulla. Se clasifican de la siguiente manera:



(*) La composición de éstos serán las sustancias menos volátiles que obtendremos en la rectificación primaria de la hulla

Características más importantes de los combustibles líquidos

Como derivados que son del petróleo crudo, los combustibles líquidos están formados básicamente por compuestos hidrocarbonados. Pueden contener, además, O₂, S, N.

Las principales características que caracterizan a un combustible líquido son:

- *poder calorífico*: energía liberada cuando se somete el combustible a un proceso de oxidación rápido, de manera que el combustible se oxida totalmente y que desprende una gran cantidad de calor que es aprovechable a nivel industrial.

- *densidad específica*: los combustibles se comercializan en volumen, por ello es importante saber la densidad que tienen a temperatura ambiente.

- *viscosidad*: mide la resistencia interna que presenta un fluido al desplazamiento de sus moléculas. Esta resistencia viene del rozamiento de unas moléculas con otras.

- *volatilidad*: se determina con la curva de destilación. Un combustible líquido es una fracción de la destilación del crudo de petróleo. Se tendrá una u otra cosa dependiendo de donde se corte en la destilación, es decir, de las temperaturas donde se recoja en el intervalo de destilación.

- *punto de inflamación*: se define como la mínima temperatura a la cual los vapores originados en el calentamiento a una cierta velocidad de una muestra de combustible se inflaman cuando se ponen en contacto con una llama piloto de una forma determinada.

- *punto de enturbiamiento y congelación*: el punto de enturbiamiento sólo se aplica a los gasóleos, y es la temperatura mínima a la que sometiendo el combustible a un enfriamiento controlado se forman en el seno del mismo los primeros cristales de parafina. Los de cadenas carbonadas lineales, alcanos, son los de mayor punto de congelación y los más pesados. En esta prueba, el termómetro utilizado toca el fondo del tubo de ensayo. En cambio, en la prueba del *punto de congelación*, no se toca el fondo del tubo de ensayo, ya que aquí se mide la temperatura a la cual se ha solidificado toda la muestra.

- *contenido de azufre*: el azufre que se encuentra en un combustible líquido deriva del crudo de petróleo del que procede el combustible y a veces puede derivar de algún proceso al que ha sido sometido en el fraccionamiento. Interesa que el contenido en azufre sea el menor posible debido a problemas tales como corrosiones en equipos, contaminación ambiental, variaciones y pérdida en el poder calorífico del combustible.

- *punto de anilina*: es la temperatura mínima a la cual una mezcla de anilina y muestra al 50% en volumen son miscibles - temperatura de solubilidad de la anilina y la muestra. Este punto caracteriza muy bien a los productos petrolíferos, pues tanto éstos como la anilina son compuestos aromáticos, y como lo semejante disuelve a lo semejante, resulta que si el punto de anilina es bajo, el contenido de aromáticos es mayor, y si es alto, el contenido de parafinas será entonces mayor. De este modo podemos determinar si un petróleo tiene un carácter más parafínico o más aromático.

- *presión vapor Reid*: mide la tendencia que presenta el combustible a pasar a fase vapor. Esta prueba se emplea para saber qué ocurrirá en el almacenamiento de los productos en la refinería.

Al calentarse un combustible líquido, existe un período de destilación en el cual el líquido se descompone en diversos componentes volátiles.

Se debe distinguir dos casos según la forma en que se queman:

- Si son suficientemente volátiles para que al calentarse emitan vapores en suficiente cantidad como para continuar ardiendo, se comporta como un combustible gaseoso.

- En cambio, en los líquidos menos volátiles no es necesario efectuar una vaporización para que se produzca la combustión. En tal caso se forma una mezcla de aire combustible, conservándose este último en estado líquido todavía, aunque finalmente pulverizado, constituyendo una mezcla carbónica. Por ejemplo esta mezcla se produce en un carburador de un motor a explosión.

Cuando la temperatura y la presión alcanza determinado valor la propagación del frente de combustión se hace más rápida que en condiciones normales.

Los combustibles líquidos presentan, en general, mejores condiciones que los sólidos para entrar en combustión.

- *punto de combustión*: se produce por encima del punto de inflamación, es la temperatura a la cual el combustible es capaz de proseguir por sí solo la combustión, una vez que este se ha iniciado en un punto de su masa.

- *punto de inflamación espontáneo*: se produce a aquella temperatura a la cual el combustible es capaz de entrar por sí solo en combustión, sin necesidad de un foco exterior que la produzca. Este punto depende de la presión a la que se halle sometido el líquido. Si la presión es mayor, menor será la temperatura de inflamación.

Petróleo

Es un mineral, combustible líquido, que se encuentra en la envoltura sedimentaria de la tierra. Se ha formado en épocas muy remotas. Su origen responde a restos fósiles, depositados en las profundidades. La palabra proviene del latín *petra* (piedra) y *oleum* (aceite). Presenta un calor de combustión superior al de los minerales sólidos (carbón), y es de 42 KJ/Kg.

El petróleo presenta las siguientes propiedades físicas:

- líquido oleoso, fluorescente a la luz.

- su color depende del contenido y estructura de las sustancias resinosas. De este modo tendremos petróleos *negros, oscuros, pardos, claros, incoloros*.

Existen 5 condiciones limitativas para que se pueda formar petróleo:

1. Tiene que estar asociado con una roca sedimentaria.
2. Casi exclusivamente, todo el petróleo parece haberse originado en agua marina o salobre.
3. No parece necesario que haya existido una alta presión en el proceso de formación.
4. No se requieren altas temperaturas.
5. Se ha formado en los periodos cábrico u ordovicense.

El petróleo es menos denso que el agua, por lo que se va a encontrar nadando sobre ella. Este crudo va a estar formado por elementos hidrocarbonados. Además, había otros elementos de naturaleza inorgánica que se habían depositado con la microflora y microfauna.

La composición del petróleo dependerá del yacimiento, de la zona donde se haya formado. Tiene menos cenizas que las que pueden tener un sólido fósil. El crudo tiene cantidades apreciables de *sales* como ClNa, Ca, Mg, debido a su formación en aguas marinas o salobres. Esto es un problema, porque los cloruros van a provocar corrosión, sobre todo los de Mg. Para ello, al entrar en el proceso de refinado se va a realizar antes que nada un proceso de desalado.

La composición de un crudo de petróleo es bastante uniforme en cuanto al contenido de C, H, S, N. La composición del gas es más variable. Dependerá del petróleo del que proceda, de su composición.

El crudo de petróleo presenta una parte de naturaleza orgánica y una de naturaleza inorgánica. La mayoría de los compuestos del petróleo son los *hidrocarburos* (parte orgánica). Existen toda clase de hidrocarburos en el petróleo: hidrocarburos *parafínico*, *nafténicos* y *aromáticos*. Dentro de estos pueden ser *lineales* o *ramificados*.

- Parafínicos à alcanos: C_nH_{2n+2} : CH_4 , C_2H_6 , C_3H_8 , C_4H_{10} , C_5H_{12} e isómeros correspondientes
- Cicloalcanos
- Aromáticos

Dependiendo de la zona donde se forma el crudo tendremos más proporción de unos compuestos u otros. Es importante conocer la composición del crudo, puesto que según su composición someteremos al crudo a uno u otro tratamiento, y podremos obtener unos productos u otros del crudo.

Sin embargo, sea cual sea la procedencia del crudo, se va a mantener constante el contenido en C y H₂, aunque tengan distintos compuestos hidrocarbonados (siempre dentro de una familia de crudos).

Los compuestos de naturaleza inorgánica son los que contienen N, S, O₂ y elementos metálicos. Se encuentran en menores proporciones, las cuales van a depender de la naturaleza del crudo.

Algunos ejemplos de compuestos inorgánicos son:

- compuestos sulfurados mercaptano
- compuestos de O₂
- compuestos de N₂
- compuestos de metales (Li, Na, V, (va unido a compuestos nitrogenados))

Fraccionamiento del Petróleo

El petróleo en estado crudo tiene muy poco uso como combustible, pues desprende vapores sumamente inflamables.

El fraccionamiento del crudo de petróleo consiste en efectuar un proceso mediante el cual, aplicando temperatura a una fracción del crudo, se separan los distintos componentes según el punto de ebullición de cada uno, el cual depende del número de átomos de C que tenga el componente, junto con su naturaleza.

Una vez que llega el crudo a la refinería, se deben efectuar las siguientes operaciones:

1. Desalado: se trata de eliminar la mayor parte de sal posible y a su vez la mayor parte de contenido en H₂O.
2. Se introduce el crudo en la torre de destilación a presión atmosférica. Por la cabeza de la torre se obtienen los gases licuados (que son los más ligeros: naftas ligeras, kerosenos, etc.). Después, los componentes más pesados, que se denomina *residuo atmosférico*.

A partir del crudo de petróleo podemos obtener un gran número de combustibles líquidos. El petróleo resulta ser la fuente por antonomasia de combustibles líquidos. Los principales combustibles líquidos son:

- Gasolinas: Abarcan compuestos hidrocarbonados que van desde C₄ a C₁₀.

- Kerosenos: C_{10} a C_{14} : cadenas hidrocarbonadas de 10 a 14 átomos de C
- Turboreactores: C_{10} - C_{18}/C_{14}
- Gasóleos: C_{15} - C_{18}
- Fuel-oil: Van a ser lo que tengan un punto de destilación más altos; es decir, los de mayor número de átomos de carbono y los más pesados.

De la destilación primaria y secundaria a la que se somete el petróleo se obtiene una gran diversidad de subproductos, de los cuales, a continuación se indican los principales, conjuntamente con el uso al que se los destina.

- *Nafta*: es un combustible altamente volátil, muy inflamable y es utilizado, sobre todo, como combustible para motores a explosión. Su poder calorífico es 11000 cal / Kg. Debe poseer dos características muy importantes:

- Combustibilidad en el aire
- Volatilidad

- *Kerosene*: constituye un derivado menos volátil e inflamable que la nafta. Su poder calorífico es de 10500 cal / Kg. Se utiliza en calefacción y en las turbohélices y reactores de las turbina de gas de los motores de aviación.

- *Gas-oil*: es denso, menos volátil que el petróleo. Su poder calorífico es igual a 10250 cal / Kg. Se lo utiliza mucho en calefacción y para hornos industriales y metalúrgicos.

- *Diesel-oil*: es un subproducto obtenido de los derivados más pesados del petróleo. Se quema más lentamente que el gas-oil. Se utiliza sólo en motores Diesel lentos en los cuales el combustible dispone más tiempo para quemar. Su poder calorífico es de 11000 cal / Kg.

- *Fuel-oil*: es un subproducto obtenido de los derivados más pesados del petróleo. Se quema con dificultad. Su poder calorífico es igual a 10000 cal / Kg.

- *Alquitrán de hulla*: es un subproducto obtenido de la fabricación del coque. Puede quemar directamente pero se lo utiliza poco como combustible, usándolo sólo en hogares especiales para este, que puedan vencer la viscosidad del mismo. Su poder calorífico es de 9100 cal /Kg.

- *Alquitrán de lignito*: se lo obtiene de la destilación del lignito. Su poder calorífico es 9600 cal / Kg. Es muy similar al gas-oil, pero al utilizarlo en motores diesel, su comportamiento es muy inferior del de los derivados del petróleo.

- *Alcoholes*: pueden quemarse muy fácilmente. Tienen diversos orígenes (derivaciones de: petróleo, vino, papas, etc.), los alcoholes puros, como combustibles tienen muy poco uso. Su mayor empleo esta en la fabricación de mezclas con benzol, bencina o naftas con objeto de mejorar la calidad de las mismas.

1.3 C Biodiesel

La ASTM (American Society for Testing and Materials) define el Biodiesel como *"el éster monoalquílico de cadena larga de ácidos grasos derivados de recursos renovables, como por ejemplo aceites vegetales o grasas animales, para utilizarlos en motores Diesel"*.

Se presenta en estado líquido y se obtiene a partir de recursos renovables como aceites vegetales de soja, colza/canola, girasol, palma y otros, como así también de grasas animales, a través de un proceso denominado transesterificación.

La transesterificación básicamente consiste en el mezclado del aceite vegetal o grasas con un alcohol (generalmente Metanol) y un álcali (soda cáustica). Al cabo de un tiempo de reposo, se separa por decantación el BIODIESEL de su subproducto Glicerol.

Se refiere cada vez más a los ésteres alquílicos de aceites vegetales o grasas animales y no a los aceites o grasas solas, utilizados como combustible en los motores Diesel.

Materias primas actuales

La fuente de aceite vegetal suele ser aceite de colza, ya que es una especie con alto contenido de aceite, que se adapta bien a los climas fríos. Sin embargo existen otras variedades con mayor rendimiento por hectárea, tales como la palma, la *Jatropha curcas* etc. También se pueden utilizar aceites usados (por ejemplo, aceites de fritura), en cuyo caso la materia prima es muy barata y, además, se reciclan lo que en otro caso serían residuos.

Además, existen otras materias primas en las cuales se pueden extraer aceite para utilizarlas en el proceso de producción de biodiesel. Las materias primas más utilizadas en la selva amazónica son la *Jatropha curcas* (piñón en portugués), *Sacha inchi*, el ricino (mamona en portugués) y la palma aceitera.

Procesos industriales

En la actualidad existen diversos procesos industriales mediante los cuales se pueden obtener biodiesel. Los más importantes son los siguientes:

1. Proceso base-base, mediante el cual se utiliza como catalizador un hidróxido. Este hidróxido puede ser hidróxido de sodio (sosa cáustica) o hidróxido de potasio (potasa cáustica).
2. Proceso ácido-base. Este proceso consiste en hacer primero una esterificación ácida y luego seguir el proceso normal (base-base), se usa generalmente para aceites con alto índice de acidez.
3. Procesos supercríticos. En este proceso ya no es necesario la presencia de catalizador, simplemente se hacen a presiones elevadas en las que el aceite y el alcohol reaccionan sin necesidad de que un agente externo como el hidróxido actúe en la reacción.
4. Procesos enzimáticos. En la actualidad se están investigando algunas enzimas que puedan servir como aceleradores de la reacción aceite-alcohol. Este proceso no se usa en la actualidad debido a su alto coste, el cual impide que se produzca biodiesel en grandes cantidades.
5. Método de reacción Ultrasónica. En el método reacción ultrasónica, las ondas ultrasónicas causan que la mezcla produzca y colapse burbujas constantemente. Esta cavitación proporciona simultáneamente la mezcla y el calor necesarios para llevar a cabo el proceso de transesterificación. Así, utilizando un reactor ultrasónico para la producción del biodiesel, se reduce drásticamente el tiempo, temperatura y energía necesaria para la reacción. De ahí que el proceso de transesterificación puede correr en línea en lugar de utilizar el lento método de procesamiento por lotes. Los dispositivos ultrasónicos de escala industrial permiten el procesamiento de varios miles de barriles por día.

Luego de esta introducción teórica, es entonces posible plantear el problema que se analizará: ¿será posible y viable la utilización de la microalga *Scenedesmus quadricauda* para la obtención de aceites capaces de ser transesterificados para obtener biodiesel?

A fin de responder a esta pregunta, este trabajo se propone aplicar las condiciones óptimas de crecimiento planteadas en "Laboratory Experiments on Chlorella Culture at the Carnegie Institution of Washington - Department of Plant Biology" por E. A. Davis, Jean Detric, C. S. French, H. W. Milner, Jack Myers, J. H. C. Smith y H. A. Spoehr, 1953. Las mismas se contrastarán con un cultivo bajo condiciones no óptimas, para así determinar el grado de importancia del control de estas condiciones a la hora de emprender un cultivo de microalgas de la clase Chlorella. Al mismo tiempo, una vez concluida la etapa de cultivo se procederá a la extracción de los ácidos grasos para comprobar el rendimiento de la microalga como fuente de aceite para la síntesis de biodiesel.

2. HIPÓTESIS

En base al problema planteado, se planteó la siguiente hipótesis:

“Si contamos con las condiciones óptimas para el cultivo de la microalga *Scenedesmus quadricauda*, entonces se obtendrá una productividad elevada, y un consecuente aceite capaz de ser transesterificado para obtener biodiesel”.

3. VARIABLES

3.1 Variables independientes

- Especie de microalga: *Scenedesmus quadricauda*
- Medio de cultivo: Solución de microelementos A4 de Arnon, macronutrientes
- Intensidad de la luz: 1800 lux
- Horas de luz: 24hs
- Turbulencia - Agitación
- Técnica de cultivo: Foto-biorreactor
- Tipo de cultivo: Estático
- Temperatura de incubación: $25 \pm 2^\circ \text{C}$
- Flujo de dióxido de carbono: 5%
- Tiempo de incubación: 20 días
- Condiciones de esterilidad
- Densidad del cultivo
- Cantidad inicial de células
- pH inicial
- Traspaso del cultivo a volumen mayor con medio nuevo
- Salinidad
- Testigo: medio de cultivo inoculado, mantenido bajo las mismas condiciones que el cultivo principal pero sin traspasar el cultivo a volúmenes mayores. A su vez, a fin de corroborar que la esterilización de los materiales se realizó correctamente, medio de cultivo sin inocular.
- Réplica: se replicará el testigo.

3.2 Variables dependientes

Las variables independientes mencionadas determinarán la productividad del cultivo, como así también el contenido de proteínas, hidratos de carbono y lípidos, este último determinando a su vez cuán apropiado será el cultivo para obtener aceites capaces de ser procesados para sintetizar biodiesel. Estas son las variables dependientes.

4. MATERIALES

Medio

Scenedesmus quadricauda

5000 ml Agua destilada

Macronutrientes

- EDTA (Ácido Etilendiamino tetraacético)
- KOH (Hidróxido de Potasio) 1 Normal
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato Ferroso)
- $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (Urea)
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de Magnesio)
- KH_2PO_4 (Fosfato diácido de Potasio)

Micronutrientes

- B como H_3BO_3 (Ácido Bórico)
- Mn como $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de Manganeseo)
- Zn como $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de Zinc)
- Cu como $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de Cobre)

4 Erlenmeyer 200ml

Balanza analítica

Probeta 1000 ml

1 Jeringa 20 ml

Esterilización

Alcohol 96° (marca "Purocol")

Desinfectante en aerosol (marca "Lisoform")

Algodón

Papel de aluminio

Olla a presión

Agua de red

Mechero de Bunsen

Fuente de Luz

Lámpara fluorescente 24w - 2000 lux (marca "General Electric", modelo "Biax L")

Balasto electromagnético para lámparas fluorescentes (marca "General Electric", modelo BEM18-26F)

Arrancador

Cable

Portalámparas 4 pines

Soporte para tubo fluorescente

Pelacables

Reflector de luz

Suministro de CO₂

Garrafa CO₂ 350 gr (marca "Sifones Drago")
Válvula reguladora para CO₂ (marca "Aqua Garden")
Manguera 4 mm diámetro interno
2 Conectores T
Válvula antirretorno
2 Difusores (marca "Aqua Garden")
Aireador (marca Atlas 6000")
Pipeta pasteur

Cutivo

Termómetro
Cinta de ph
Cilindro de vidrio con base - 35 cm (alto) x 13 cm (diámetro)
Cilindro de vidrio con base - 35 cm (alto) x 7 cm (diámetro)
Tapa cilíndrica metálica 5 cm (alto) x 7 cm (diámetro)
Tapa cilíndrica metálica 5 cm (alto) x 13 cm (diámetro)
2 Apósitos estériles
Jeringas 20 ml (cantidad dependiente de periodicidad de recuentos)
Parafilm
Tubo plástico 3 mm diámetro interno

Extracción

Erlenmeyer 500 ml
Papel de filtro
Embudo
Balanza (equiparar masas)
Macrocentrifuga (4 x 50 g)
Secador a vacío
Evaporador rotatorio
Sonicador
200 ml Ciclohexano
50 ml Metanol

Recuento

Cámara de Neubauer

5. PROCEDIMIENTOS

5.1 Procedimientos previos

Previo a realizar cualquier manipulación, debido a que la competencia frente a otros microorganismos podría perjudicar la productividad del cultivo, es preciso llevar a cabo los siguientes procedimientos a fin de disminuir el riesgo de adquirir infecciones:

1. Limpiar la mesada de trabajo con un trozo de algodón saturado en alcohol.
2. Reducir la carga bacteriana difundiendo Lisoform en el ambiente.

5.2 Medio de cultivo:

- Preparación de la solución de microelementos A4 de Arnon:

1. Colocar 250 ml de agua destilada dentro de un matraz aforado.
2. Pesar con la balanza analítica y colocar dentro del mismo 715 mg H_3BO_3 ; 450 mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; 55 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 20 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$.
3. Agitar la solución, asegurándose que las sales se disuelvan en forma completa.

- Preparación de la solución EDTA fosfato férrico

1. Colocar 100 ml de agua destilada dentro de un matraz aforado
2. Pesar con la balanza analítica y colocar dentro del mismo 5,6 g KOH.
3. Agitar la solución, asegurándose que el hidróxido de potasio se disuelva en forma completa.
4. Utilizar la probeta para colocar 26,5 ml de esta solución dentro de otro matraz aforado y disolver en la misma 2,61 g EDTA.
5. Introducir 2,49 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en la solución de hidróxido de potasio y EDTA, y diluir a 100 ml introduciendo 73,5 ml de agua destilada con la ayuda de la probeta.
6. Agitar la solución, de manera que los compuestos se disuelvan en forma completa.

- Preparación del medio de cultivo

1. Verter 5000 ml de agua destilada dentro del bidón de 5000 ml de capacidad.
2. Utilizando la balanza analítica, colocar 5,25 g $CO(NH_2)_2$; 12,3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 6,1 g KH_2PO_4 ; 5 ml solución de microelementos A4 de Arnon; 5 ml solución EDTA fosfato férrico.
3. Agitar la solución, de manera que los compuestos se disuelvan en forma completa.

5.3 Unidades de cultivo

- Esterilización

1. Colocar 100 ml de medio de cultivo en 4 matraces Erlenmeyer de 200 ml.
2. Para cada Erlenmeyer, formar un capuchón a partir de algodón, de manera que cumpla su función sin desplazarse fácilmente al colocarlo en la boca del mismo y que permita un manejo óptimo al tapar y destapar.
3. Recubrir el capuchón de algodón ya colocado con un segundo capuchón de papel de aluminio.
4. Llenar de agua de red la olla a presión hasta cubrir unos centímetros desde la base y colocar los matraces Erlenmeyer dentro de la misma. Tapar la olla y someter los Erlenmeyer a $121^\circ C$ durante 20 minutos, utilizando un mechero de Bunsen (una vez que la olla comience a liberar vapor de agua, cronometrar los 20 minutos).

5. Retirar de la olla los matraces y dejar enfriar.

- Inoculación

1. Agitar previamente el recipiente que contiene la solución concentrada de microalgas, a fin de homogeneizar la misma.
2. Remover el capuchón de una jeringa de 20 ml estéril, flamear el sector de metal de la punta de la misma, destapar el recipiente que contiene la solución concentrada de microalgas, e introducir 14 ml de esta solución en la jeringa. Tapar el recipiente.
3. Sostener el primer Erlenmeyer a inocular con la mano derecha y destaparlo con el meñique de la mano izquierda; sostener el tapón con el dedo meñique todo el tiempo.
4. Flamear la boca del Erlenmeyer y colocar 4 ml de la solución concentrada de microalgas dentro del mismo. Tapar rápidamente el matraz con el capuchón de algodón y el de papel de aluminio.
5. Volver a flamear el sector de metal de la punta de la jeringa y colocar la solución en otro de los matraces Erlenmeyer, repitiendo el punto 3.
6. Repetir el punto 4 para el matraz restante, flamear el sector de metal de la punta de la jeringa y tapar la jeringa con su capuchón. Estos 2 ml restantes serán utilizados para realizar recuento celular.
7. Quedarán tres matraces inoculados, de los cuales dos son controles y uno el que luego se le aplicarán las condiciones óptimas, y un matraz sin inocular para comprobar las condiciones de esterilidad.

5.4 Cultivo

- Cultivo en matraz Erlenmeyer de 100 ml

1. Incubar los cultivos durante 7 días bajo las mismas condiciones de luz (flujo luminoso de 2000 lux, 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad) y temperatura ($25 \pm 2^\circ \text{C}$). Registrar diariamente y en un mismo horario temperatura de los cultivos.
2. Una vez concluida esta etapa, proceder a traspasar el contenido de uno de los Erlenmeyer al biorreactor de 1000 ml de volumen.

- Cultivo en biorreactor de 1000 ml

A fin de esterilizar el recipiente y los componentes del biorreactor, los mismos fueron tratados con hipoclorito de sodio. Se detallan los pasos a seguir:

1. Utilizando la probeta, verter 120 ml de lavandina en 2000 ml de agua de red.
2. Colmar de hipoclorito de sodio en forma completa el biorreactor de 1000 ml y dejar actuar durante 30 minutos.
3. Pasados los 30 minutos, lavar el recipiente y los componentes del biorreactor utilizando agua destilada estéril y proceder inmediatamente al traspaso de uno de los cultivos al biorreactor y a su posterior sellado.

- Sellado de los biorreactores

1. Tomar un apósito estéril de 20 cm x 20 cm y realizar dos perforaciones del diámetro de los tubos de descarga por donde pasarán los tubos plásticos por donde ingresará la mezcla de aire - 5% CO_2 y por donde se realizará la descarga de los gases que no se disuelvan en el medio de cultivo. Realizar las mismas perforaciones en la tapa metálica.
2. Insertar el tubo plástico con su conector T, mangueras y difusores y el tubo de descarga en los agujeros.

3. Colocar el apósito en el lado abierto del cilindro de vidrio, y taparlo en su totalidad, situando el apósito lo más centrado posible al eje del cilindro, y fijarlo con Parafilm al cilindro de vidrio.
4. Tapar el apósito con la tapa metálica, de manera que la tapa ejerza presión sobre el apósito, y éste a su vez sobre el cilindro de metal. Fijar la tapa metálica al cilindro de vidrio.

5.5 Suministro de mezcla de aire - 5% CO₂ y turbulencia

1. Asegurar que la válvula reguladora para CO₂ se encuentre completamente cerrada.
2. Quitar el precinto de la garrafa de CO₂ y enroscar la misma a la válvula reguladora para CO₂.
3. Conectar el extremo de una línea al lugar de salida de CO₂ de la válvula reguladora y el otro extremo a la válvula anti-retorno, de forma que el CO₂ pueda fluir en un único sentido.
4. Tomar una jeringa de 20 ml y retirar el sello de goma negra del émbolo. Practicar un orificio al sello, de diámetro ligeramente inferior al diámetro de la válvula anti-retorno. Pasar la válvula a través del sello de goma con el orificio y volver a posicionar el sello más la válvula dentro de la jeringa, sin incluir el émbolo.
5. Llenar la jeringa de agua y conectar el extremo libre de la válvula anti-retorno a un extremo superior de un conector T. Regular la cantidad de burbujas por minuto a 60.
6. Conectar el otro extremo superior del conector T a la línea que proviene del aireador. Ésta presentará un filtro de aire a base de algodón en el comienzo de la línea.
7. Conectar el extremo inferior del conector T al tubo plástico por el cual la mezcla de aire - 5% CO₂ descenderá hasta los difusores, ubicados en la base del biorreactor. El tubo plástico presentará en su extremo inferior libre otro conector T, al cual se deberán conectar mangueras de 5 cm de longitud. En los extremos libres de estas mangueras se conectarán los difusores.

Centrifugación y secado

Concluido el período de cultivo, se debe proceder al centrifugado para obtener la materia seca:

1. Retirar el sello efectuado al realizar el pasaje al biorreactor y llenar los contenedores de la macrocentrífuga.
2. Colocar los contenedores que formarán parte del mismo eje en la balanza, y equiparar las masas a fin de evitar dañar la macrocentrífuga utilizando una pipeta pasteur (puesto que permite un alto grado de control del volumen agregado o removido).
3. Centrifugar durante 7 minutos, a 3500 rpm. Una vez terminado el centrifugado, retirar la parte líquida de los contenedores, sin descartarla por el desagüe puesto que contiene metales pesados (aunque en ínfimas cantidades). Dejar la parte sólida dentro del contenedor.
4. Repetir los pasos 2 y 3 hasta haber centrifugado la totalidad del medio de cultivo.
5. Una vez obtenido la masa húmeda de algas, colocar en secador a vacío durante 24 horas.
6. Registrar el peso de la materia seca y calcular los gramos de materia por litro.

Sonicado y tratamiento con ciclohexano

1. Registrar coloración del ciclohexano.
2. Introducir la materia seca dentro de un Erlenmeyer de 500 ml y colocar 200 ml de ciclohexano.
3. Sonicar durante 60 minutos con la mayor intensidad posible y dejar en reposo por 24 horas en heladera, cubriendo la boca con Parafilm.
4. Registrar si se observa un cambio en la coloración del ciclohexano.
5. Filtrar la parte líquida (en este caso, ciclohexano con ácidos grasos disueltos en él).

6. Someter esta parte líquida a un evaporador rotatorio, calentando el balón en que se encuentra la misma hasta los 85°C.
7. Una vez finalizado el proceso, cuya duración media es de 30 minutos puesto que el evaporador debe hacer vacío, el remanente que se encuentre en el balón lo constituirán ácidos grasos, mientras que el líquido evaporado y condensado, almacenado en el otro balón, es el ciclohexano.

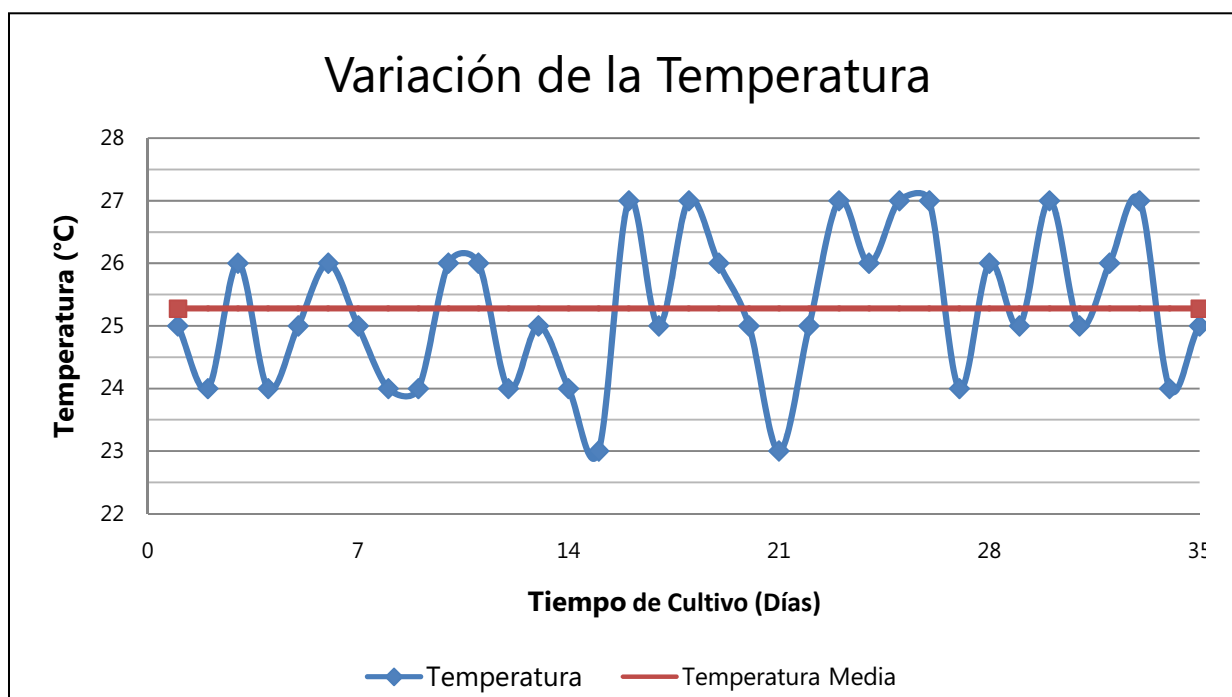
Tratamiento con metanol

1. Colocar la masa previamente tratada con ciclohexano y filtrada en un Erlenmeyer de 500 ml.
2. Verter 40 ml de metanol en el matraz y agitar.
3. Filtrar el contenido, extrayendo la pulpa que ahora se ha deshecho.
4. Someter esta parte líquida a un evaporador rotatorio, calentando el balón en que se encuentra la misma hasta los 70°C.
5. Una vez finalizado el proceso, cuya duración media es de 30 minutos puesto que el evaporador debe hacer vacío, el remanente que se encuentre en el balón lo constituirán los compuestos líquidos presentes en la microalga y una pequeña cantidad restos sólidos, mientras que el líquido evaporado y condensado, almacenado en el otro balón, es el metanol.
6. Tratar el remanente con ciclohexano y filtrar nuevamente la solución.
7. Diluir en agua destilada la solución, de manera que los compuestos solubles en agua y no solubles en el ciclohexano

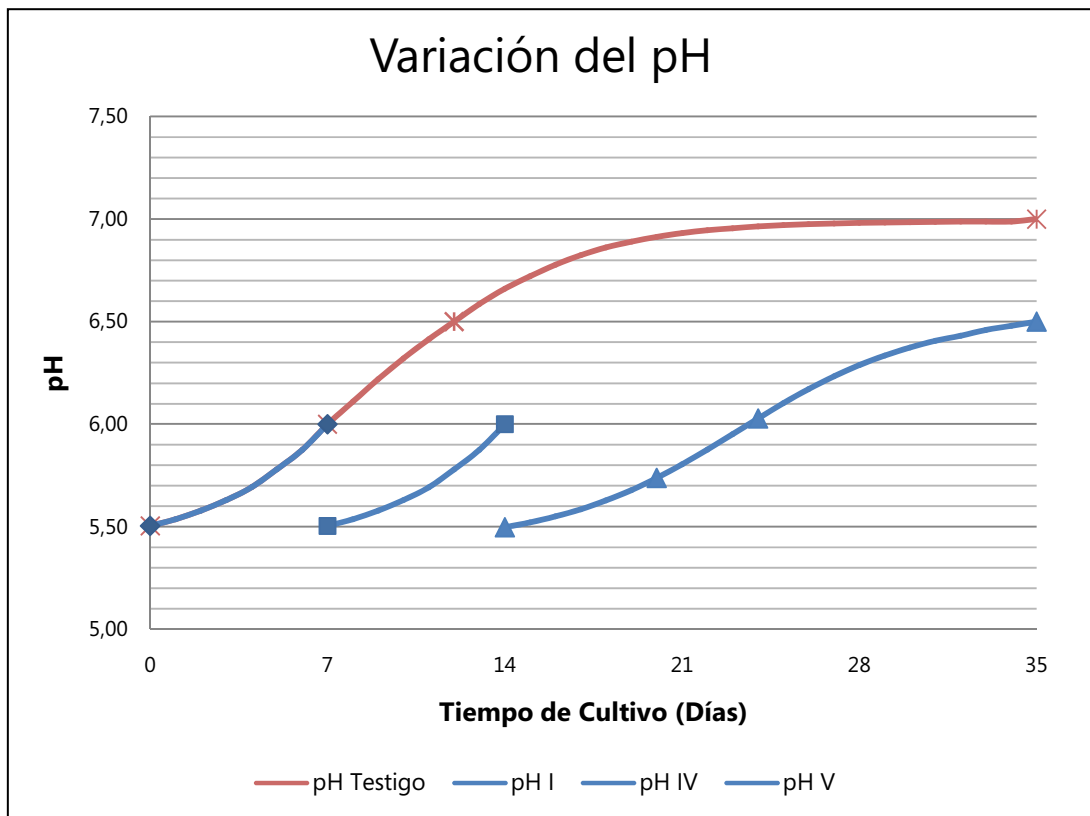
6. RESULTADOS

6.1 Cultivo

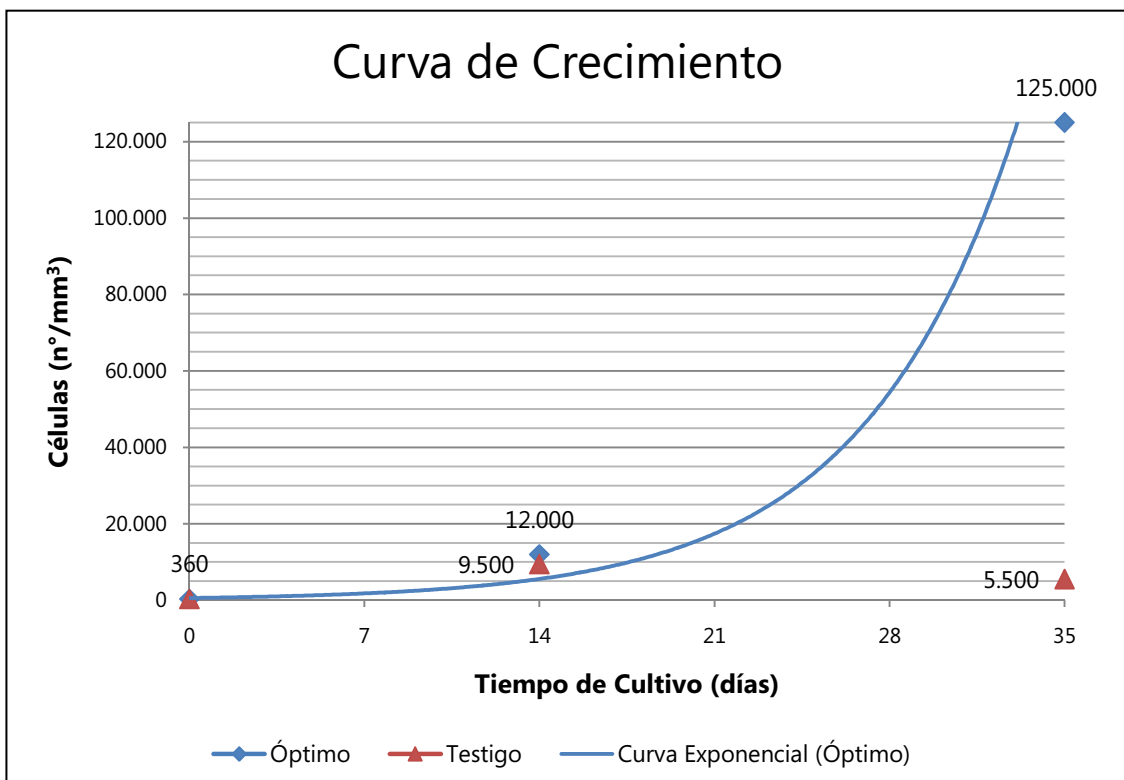
Concluida la etapa de cultivo, se grafica a continuación la variación de la temperatura en función del tiempo, como así también la temperatura media que afectó al cultivo:



Aquí, se presenta la variación del pH en función del tiempo de cultivo:



A continuación, se grafica la curva de crecimiento para ambos cultivos:



Nota: Debido a la falta de datos, no fue posible realizar la curva de crecimiento correspondiente al testigo.

6.2 Centrifugado y secado

Luego de centrifugar la totalidad del medio de cultivo, se obtuvieron los siguientes resultados:

Masa de *Scenedesmus quadricauda* en seco: 59,133 g *

* Los datos son de gran precisión puesto que se utilizó una balanza analítica.

6.3 Extracción de Aceite

Luego de aplicar los procedimientos detallados, se extrajo un volumen total de 1 ml de aceite de la microalga *Scenedesmus quadricauda*.

7. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, es posible elaborar las siguientes conclusiones:

- Corroborando la hipótesis planteada, la microalga *Scenedesmus quadricauda* es sensible en forma drástica a su desarrollo bajo condiciones óptimas y no óptimas. Si bien fue posible graficar la curva de crecimiento del cultivo bajo condiciones óptimas, no sucedió lo mismo con el cultivo testigo. Esto se debe a la carencia de una metodología o dispositivo adecuado para tomar muestras a lo largo de diferentes estadíos, sin realizar el experimentador una intervención que pudiera exponer el cultivo a agentes externos, de manera que las muestras fueron tomadas únicamente en los momentos de pasaje a volumen mayor.
- Si bien se comprobó que bajo condiciones óptimas la productividad es muy elevada en comparación a su contraparte, se debería analizar cada factor capaz de alterar la productividad, independientemente uno del otro, para así identificar cuáles de estas condiciones óptimas son las cruciales a aplicar. Por otro lado, dado que se emplearon los resultados de trabajos preexistentes, se conocían previamente los factores que modificaban positivamente el crecimiento por separado, de manera que se procedió a la puesta en práctica de esas condiciones en el cultivo efectuado. La información sobre estos trabajos fue recopilada y conjugada en el protocolo para esta experiencia.
- A fin de evaluar el máximo potencial de la cepa *Scenedesmus quadricauda* como productora de aceites para biodiesel, se debería limitar el suministro de nitrógeno al medio, puesto que en ausencia de este compuesto, el metabolismo se ve alterado, aumentando de esta manera la síntesis de ácidos grasos.
- Cabe destacar también que el método empleado para desinfectar los recipientes de gran capacidad resultó efectivo, en lo que se refiere al análisis de la curva de crecimiento, al evidenciarse tal productividad. Por otro lado, se debería realizar un análisis bacteriológico sobre ambos cultivos, a fin de dar con una respuesta certera. Cabe tener en cuenta que el control sin inocular, no evidenció presencia alguna de turbidez, velo o sedimentación, descartando la posibilidad de crecimiento bacteriano en los cultivos testigo.
- Refiriéndonos a la modificación del pH en el tiempo, se logró constatar la efectividad de la urea como regulador del pH del medio, no elevándose el mismo más allá de un pH 7.
- Si bien se realizó una réplica para el cultivo control, no fue posible de hacerlo para el cultivo sobre grandes volúmenes, puesto que los costos excedían las proyecciones iniciales. De esta manera se evitó afrontar gastos excesivos. Al mismo tiempo, los costos también imposibilitaron continuar la experiencia a una escala mayor (ej: 10 l).
- Inicialmente, se había planteado realizar la extracción del aceite mediante prensado, para luego tratarlo. Debido a la dificultad de acceder a dicho elemento, se decidió sonicar la masa seca de algas suspendida en ciclohexano. Una vez realizada la extracción, se comprobó que esta metodología constituye un método efectivo para tal fin, llevando a la extracción de 1 ml de aceite por cada 59,133 g de alga (peso seco). Esto, si bien puede considerarse como un bajo rendimiento, puede atribuirse a las características intrínsecas de la cepa utilizada para el cultivo. Además, el valor obtenido se encuentra en concordancia con el valor teórico de porcentaje de lípidos en relación al peso seco (1.9 %). A fin de evaluar la eficacia absoluta y no relativa del

sonicado, se debería repetir la experiencia pero utilizando una prensa hidráulica u otro método de extracción que pudiera haberse desarrollado a la fecha.

- Como resultado del escaso volumen de aceite obtenido, no se pudo realizar la transesterificación, de manera que no fue posible evaluar el rendimiento final y global de la producción de biodiesel.

- A fin de comprobar la viabilidad real de esta alternativa a la alternativa, se deberían efectuar cultivos diversificados (con diversas cepas de gran productividad -*Scenedesmus dimorphus*, *Botryococcus braunii*-) a gran escala. Para ese fin, se debería contar con un cepario, cuyas características hayan sido previamente determinadas.

8. AGRADECIMIENTOS

- REZZANO, Irene A. - Dra. en Química
- ALBARRACÍN, Juana Isabel - Profesora en Ciencias Naturales
- CARMONA, Claudia - Profesora de la materia "Proyectos de Investigación"
- CAMPIONI, Daniel Horacio - Estudiante de Licenciatura en Química
- HAMER, Mariana - Farmacéutica
- BERTELLO, Luis F. - Dr. en Bioquímica
- POCH, Juan - Ayudante de Laboratorio

9. COSTOS

Se detallan los costos de los materiales cruciales para la realización del proyecto:

Válvula	\$150
Garrafa	\$30
Tubo	\$30
Luz	\$40
Erlenmeyer	\$20
Cilindro Vidrio 35 x 13	\$30
Cilindro Vidrio 35 x 7	\$20
Total	\$320

NOTA: los consumibles (jeringas, apósitos, etc.) no se incluyeron en el detalle, pero deben ser contemplados a la hora de abordar el mismo.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Algal Culture - From Laboratory to Pilot Plant. John S. Burlew. Carnegie Institution of Washington. Publication N° 600. Washington, D. C.. 1993.
- A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program - Biodiesel from Algae, John Sheehan, Terri Dunahay, John Benemann, Paul Roessler, 1998.
- Renewable Biological Systems for Alternative Sustainable Energy Production (FAO Agricultural Services Bulletin - 128), Chapter 6 - Oil Production, FAO, 1997.
- <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/chlorophyta/scenedesmus/quadracauda/index.html>
- Instituto Argentino del Petróleo, 1991. Guía de recomendaciones para proteger el medio ambiente durante el desarrollo de la exploración y explotación de hidrocarburos. Buenos Aires.
- LOVELOCK, J., 1993. Las edades de Gaia. Una Biografía de nuestro planeta vivo. Ed. Tusquets. Barcelona.
- World Meteorological Organization (WMO), International Council of Scientists Unions (ICSU) and United Nations Environment Programme (UNEP): International 1986. Conference on the Assessment of the Role of Carbon Dioxide and of Other Greenhouse Gases in Climate Variations and Associated Impacts. WMO Publication N° 661. Ginebra.
- MORAN, J.M. AND MORAN, M.D.. 1994. *Meteorology: The atmosphere and the science of weather*. Macmillan College Publishing Co.. New York.
- KELLY, M., 1996. Global Warming and the Third World. Univ. of East Anglia, UK.
- Raynaud, D., J. Jouzel, J.M. Barnola, J. Chappellaz, R.J. Delmas & C. Lorius, 1993. *The ice core record of greenhouse gases*. Science, 259:926-934.
- BRAILOVSKY, A.E.y FOGUELMAN, D. 1995. Memoria Verde. Historia ecológica de la Argentina. Ed. Sudamericana, Bs.As.
- COLOMBO,U & TURANI,G.. 1987. El Segundo Planeta. El problema del aumento de la Población Mundial. Biblioteca Científica Salvat. SALVAT. -UNESCO.1992. El Correo de la UNESCO. Enero 1992.Año XLV. El Desafío Demográfico.
- CAMPBELL,B.. 1983. Ecología Humana. Biblioteca Científica Salvat. No.15. Ed. SALVAT.
- ASHWORTH, W. 1995. Limits. págs. 97-134 in *The Economy of Nature: Rethinking the Connections Between Ecology and Economics*. Houghton Mifflin Co. Editors, Boston- New York.
- <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/CombustFos.htm>
- <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S02.htm>
- http://news.bbc.co.uk/hi/spanish/business/newsid_7355000/7355821.stm
- http://news.bbc.co.uk/hi/spanish/business/newsid_7344000/7344941.stm
- http://news.bbc.co.uk/hi/spanish/latin_america/newsid_7344000/7344749.stm
- <http://alainet.org/active/23689>
- http://www.visionmundial.org/noticias.php?id_noticia=262&id_idioma=1
- http://www.biodiesel.com.ar/?page_id=3
- <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?wo=2001029160>
- <http://www.wipo.int/pctdb/images4/PCT-PAGES/2001/172001/01029160/01029160.pdf>