



Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Ingeniería

Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA A ESCALA
LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA
(*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN**

Yoselin Brisset Raxón Matias

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales e

Ing. Mario José Mérida Mére

Guatemala, agosto de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA A ESCALA
LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA
(*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

YOSELIN BRISSET RAXÓN MATIAS

ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES E
ING. MARIO JOSÉ MÉRIDA MÉRE

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, AGOSTO DE 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Carlos Enrique Gómez Donis
VOCAL V	Br. Oscar Humberto Galicia Nuñez
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADOR	Ing. Otto Raúl de León de Paz
EXAMINADOR	Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus
EXAMINADOR	Ing. Pablo Enrique Morales Paniagua
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

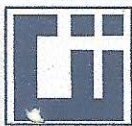
En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA A
ESCALA LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA
MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Química, con fecha de Julio de 2016



Yoselin Brisset Raxon Matias



Guatemala, 06 de abril de 2018

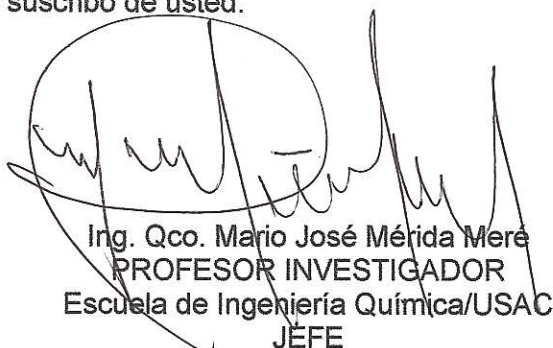
Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Estimado Ingeniero Wong:

Por medio de la presente HACEMOS CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al Informe Final del trabajo de graduación titulado **"EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA A ESCALA LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN"**, de la estudiante de Ingeniería Química Yoselin Brisset Raxón Matias quien se identifica con CUI No. 2520050150101 y registro académico número 2013-13798.

Sin otro particular me suscribo de usted.

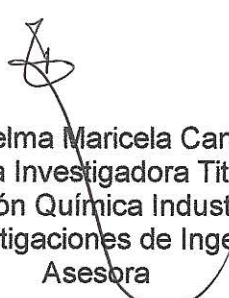
Atentamente,


Ing. Qco. Mario José Mérida Meré
PROFESOR INVESTIGADOR
Escuela de Ingeniería Química/USAC
JEFE

INGENIERO QUÍMICO
Mario José Mérida Meré
Colegiado 1411

Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales -LIEVE
Sección Química Industrial CII / USAC
Asesor




Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales
Profesora Investigadora Titular IX
Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería/USAC
Asesora



INGENIERA QUÍMICA
Telma Maricela Cano M.
Colegiada 433



Guatemala, 24 de mayo de 2018.
Ref. EIQ.TG-IF.017.2018.

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Wong:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **011-2016** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
-Modalidad Seminario de Investigación-

Solicitado por la estudiante universitaria: **Yoselin Brisset Raxón Matias**.
Identificada con número de carné: **2520 05015 0101**.
Identificada con registro académico: **2013-13798**.
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.

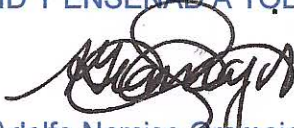
Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA A
ESCALA LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA
MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por los Ingenieros Químicos: **Telma Maricela Cano Morales y Mario José Mérida Meré**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAR A TODOS"


Ing. Adolfo Narciso Gramajo Antonio
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.023.2018

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **YOSELIN BRISSET RAXÓN MATIAS** titulado: **"EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA A ESCALA LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
Director
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, agosto de 2018 **FACULTAD DE INGENIERIA USAC**
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
DIRECTOR

Cc: Archivo
CSWD/ale



Ref. DTG.307.2018

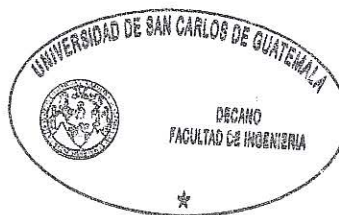
El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA A ESCALA LABORATORIO DE ÁCIDOS GRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLAN**, presentado por la estudiante universitaria: **Yoselin Brisset Raxón Matías**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.

Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
Decano

Guatemala, agosto de 2018

/cc



ACTO QUE DEDICO A:

Dios	Por su sabiduría y ser el guía en cada etapa de mi vida.
Mis padres	Miguel Raxon y Miriam Matias, por su amor, apoyo, por ser el ejemplo y la motivación de mi vida.
Mis hermanos	Anderson y Fernando Raxon Matias por su apoyo incondicional y compañía en toda mi vida.
Mi familia	Por ser ejemplo de perseverancia.
Mis mejores amigos	Cindy Juárez, Giovanna Guarino y Franz Castillo, por su apoyo y estar conmigo en todo momento. Pablo González por ser incondicional, apoyarme y motivarme siempre a cumplir mis metas y sueños.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad de San Carlos de Guatemala	Por ser mi centro de estudios que me ha formado como profesional.
Facultad de Ingeniería	Por darme todos los conocimientos necesarios para mi profesión.
Mis amigos de la facultad	Por recorrer este camino juntos y por cada momento de alegría y tristeza que compartimos.
Mis asesores	Ing. Mario Mérida e Inga. Telma Cano, Por ser un ejemplo de profesionales y por su apoyo.
Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE)	Por todo el apoyo y la confianza de brindarme sus instalaciones para poder realizar mi trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
RESUMEN.....	XV
OBJETIVOS.....	XVII
HIPÓTESIS.....	XIX
INTRODUCCIÓN	XXI
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Lípidos.....	5
2.1.1. Clasificación de lípidos	6
2.1.1.1. Lípidos insaponificables.....	7
2.1.1.2. Lípidos saponificables	7
2.2. Ácidos grasos	8
2.2.1. Propiedades físicas y químicas de los ácidos grasos.....	9
2.2.1.1. Solubilidad y polaridad.....	9
2.2.1.2. Densidad	10
2.2.1.3. Punto de fusión.....	11
2.2.2. Ácidos grasos saturados	13
2.2.2.1. Ácidos grasos saturados en los alimentos	13

2.2.3.	Ácidos grasos insaturados	16
2.2.4.	Ácidos grasos monoinsaturados	17
2.2.4.1.	Importancia de los ácidos grasos monoinsaturados en los alimentos.	18
2.2.4.2.	Ácidos grasos omega 9	18
2.2.5.	Ácidos grasos poliinsaturados.....	20
2.2.5.1.	Importancia de los ácidos grasos monoinsaturados en los alimentos	20
2.2.5.2.	Omega 3.....	20
2.2.5.3.	Omega 6.....	22
2.3.	Microalgas	23
2.3.1.	Chlorella vulgaris	24
2.4.	Saponificación de una grasa	25
2.5.	Método de concentración de AGPI por inclusión de urea	26
2.6.	Cuantificación de los lípidos.....	27
2.6.1.	Cromatografía	27
2.6.2.	Cromatografía de gases y detector de llama de ionización (FID)	28
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	31
3.1.	Localización	31
3.2.	Variables	32
3.2.1.	Contantes	32
3.2.2.	Variables dependientes e independientes.....	33
3.3.	Delimitación de campo de estudio	33
3.4.	Diseño experimental.....	34
3.5.	Recursos humanos disponibles	36
3.6.	Recursos materiales disponibles.....	37
3.6.1.	Equipo	37

3.6.2.	Cristalería	39
3.6.3.	Otros materiales	40
3.6.4.	Reactivos	41
3.7.	Técnica cuantitativa	43
3.8.	Procedimiento	44
3.8.1.	Extracción de ácidos grasos de la biomasa.....	44
3.8.2.	Extracción de ácidos grasos de la biomasa.....	44
3.8.3.	Concentración de AGPI por el método de inclusión de Urea	47
3.8.4.	Análisis de los cristales.....	48
3.8.5.	Análisis del filtrado	49
3.8.6.	Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.	50
3.9.	Diseño de tratamientos	53
3.9.1.	Descripción de la clasificación de muestras	54
3.10.	Recolección y ordenamiento de la información	57
3.11.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de información....	59
3.12.	Análisis estadístico	63
3.12.1.	Media.....	63
3.12.2.	Desviación estándar	64
3.12.3.	Análisis de varianza de un factor (ANOVA)	65
3.12.4.	Resultado análisis ANOVA	66
3.12.5.	Conclusión análisis ANOVA.....	67
4.	RESULTADOS	69
5.	INTERPRETACIÓN.....	79
	CONCLUSIONES	85
	RECOMENDACIONES	87

BIBLIOGRAFÍA.....	89
APÉNDICES.....	95
ANEXOS.....	117

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Estructura de ácidos grasos saturados e insaturados.....	9
2.	Estructura ácido graso saturado e insaturado.....	16
3.	Reacción de saponificación.....	25
4.	Esquema de un cromatógrafo de gases.....	28
5.	Esquema general del detector FID.....	29
6.	Diagrama del diseño experimental.....	35
7.	Diagrama de flujo para la extracción de ácidos grasos de la Biomasa.....	46
8.	Diagrama de flujo para la concentración de AGPI por el método de inclusión de urea	48
9.	Diagrama de flujo para Análisis de los cristales.....	49
10.	Diagrama de flujo para el análisis del filtrado.....	50
11.	Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa	52
12.	Diagrama de clasificación de muestras.....	53
13.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos presentes en la biomasa y los obtenidos por saponificación directa	71
14.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el método de inclusión de urea	73
15.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea.....	75
16.	Comparación del perfil de ácidos grasos obtenido de la biomasa de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> , del extracto obtenido por	

	saponificación directa y del extracto después de aplicar el método de inclusión de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C.	77
17.	Comparación del perfil de ácidos grasos obtenido de la biomasa de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> , del extracto obtenido por saponificación directa y de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C.	78
18.	Informe de resultado del perfil de ácidos grasos de la biomasa <i>Chlorella vulgaris</i>	95
19.	Informe de resultado del perfil de ácidos grasos del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 25 °C)	97
20.	Informe de resultado del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 25 °C.....	99
21.	Informe de resultado del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 25 °C.....	101
22.	Informe del perfil lipídico del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 30 °C).....	103
23.	Informe del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 30 °C.....	105
24.	Informe del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 30 °C.....	107
25.	Informe del perfil lipídico del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 0 °C).....	109
26.	Informe del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 0 °C.....	111
27.	Informe del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 0 °C.....	113
28.	Diagrama de Ishikawa	116

TABLAS

I.	Densidad de ácidos grasos, saturados e insaturados.....	10
II.	Temperatura de fusión de ácidos grasos saturados	11
III.	Temperatura de fusión de ácidos grasos insaturados.....	12
IV.	Fuentes de ácidos grasos saturados	15
V.	Taxonomía de la <i>Chlorella vulgaris</i>	25
VI.	Parámetros contantes	32
VII.	Variables	33
VIII.	Equipo para la extracción y concentracion de ácidos grasos de biomasa y para concentración de AGPI por inclusión de urea.....	37
IX.	Cristalería para la extracción de ácidos grasos de biomasa	39
X.	Cristalería para la concentración de AGPI por inclusión de urea	40
XI.	Otros materiales	40
XII.	Materia prima	41
XIII.	Reactivos para la extracción de ácidos grasos de la biomasa	41
XIV.	Reactivos para la concentración de AGPI por inclusión de urea.....	42
XV.	Datos del procedimiento de saponificación directa	57
XVI.	Datos del procedimiento de obtención de ácidos grasos	57
XVII.	Datos para procedimiento de concentración de AGPI por inclusión de urea	58
XVIII.	Rendimiento de ácidos grasos	59
XIX.	Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos por saponificación directa, promedio y desviación estándar.....	59
XX.	Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en la biomasa y por saponificación directa.....	60

XXI.	Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el métodos de inclusión de urea	61
XXII.	Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea.....	62
XXIII.	Análisis de varianza para la concentración de AGPI linoléico variando la temperatura de cristalización 25, 30 y 0 °C	66
XXIV.	Análisis de varianza para la concentración de AGPI linolénico variando la temperatura de cristalización 25, 30 y 0 °C	66
XXV.	Rendimiento extractivo de ácidos grasos presentes en la microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	69
XXVI.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos presentes en la biomasa y los obtenidos por saponificación directa	70
XXVII.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el métodos de inclusión de urea.....	72
XXVIII.	Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea	74
XXIX.	Resumen: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos totales de la biomasa de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> , del extracto obtenido por saponificación directa y del extracto después de aplicar el método de inclusión de urea y en los cristales de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C.....	76
XXX.	Tabla de requisitos académicos.....	115

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
Z	Confiabilidad
σ	Desviación estándar
E	Error estimado
$F_{\text{Crítica}}$	F crítica
F	F de Fisher
H_1	Hipótesis alternativa
H_0	Hipótesis nula
$\bar{X}$	Media de los datos
n	Número de datos
N	Número de repeticiones
P	Probabilidad de éxito
Q	Probabilidad de fracaso
$\sum X_i$	Sumatoria de valores
X_i	Valor individual de cada dato
σ^2	Varianza

GLOSARIO

Ácidos grasos	Ácidos carboxílicos de cadena larga hidrocarbonada, apolar, acíclica y no ramificada.
Ácidos grasos insaturados	Son aquellos que tienen un solo enlace doble entre los átomos de carbono en su estructura molecular
Ácidos grasos poliinsaturados	Son aquellos que tienen dos o más enlaces dobles entre los átomos de carbono en su estructura molecular (AGPI).
Ácidos grasos saturados	Son aquellos que tienen por lo menos un enlace doble entre los átomos de carbono en su estructura molecular
Biomasa	Materia orgánica de origen vegetal.
Cristalización	Proceso para el cambio del estado de disolución al de cristalizado.

Cromatografía**gaseosa**

Método para la separación, identificación y cuantificación de los esteres metílico de los ácidos grasos.

Etanol

Compuesto químico líquido, incoloro e inflamable. Puede utilizarse como solvente.

Lípidos

Biomoléculas orgánicas formadas principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno.

Lípidos**insaponificables**

Lípidos con los que no es posible llevar a cabo una reacción de saponificación por no tener ácidos grasos en su estructura molecular.

Lípidos**saponificables**

Contienen ácidos grasos en su estructura molecular, capaces de producir reacciones químicas de saponificación.

Maceración dinámica

Método de extracción solido - liquido.

Microalgas

Microorganismos unicelulares fotosintéticos. Son formadoras de biomasa orgánica rica en lípidos, azúcares, proteínas o hidratos de carbono.

Saponificación

Es la síntesis de jabón a partir de la reacción química de aceites o grasas en un medio alcalino.

Urea

Compuesto químico cristalino e incoloro.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó la evaluación y caracterización fisicoquímica a escala laboratorio de ácidos grasos de interés alimentario de la microalga *Chlorella vulgaris* procedente de Amatitlán.

La fracción lipídica se extrajo de la biomasa de la microalga, a partir de maceración dinámica. Se realizó saponificación directa a la fracción lipídica para la extracción de ácidos grasos. Los ácidos grasos poliinsaturados se concentraron por el método de inclusión de urea a 0 °C, 25 °C y 30 °C. Se tomó una muestra de cada solución y de los cristales a diferentes temperaturas y se realizó el perfil de ácidos grasos de cada muestra por cromatografía gaseosa.

La microalga *Chlorella vulgaris* presenta en su perfil de ácidos grasos, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de interés alimentario. Los ácidos grasos mayoritarios presentes en la biomasa son el ácido oleico con 25,273 % y el linoléico con 20,885 %. En la saponificación directa, el ácido graso mayoritario es el linoléico con 66,311 %.

Por el método de inclusión de urea, el ácido graso mayoritario es el ácido linoléico. Se obtuvo un mayor rendimiento del ácido linoléico a temperatura de cristalización de 0 °C con rendimiento de 70,412 % y en los cristales se obtuvo mayor rendimiento del ácido linolénico a 25 °C con rendimiento de 72,668 %.

Se determinó que la temperatura de cristalización (T_c) tiene un efecto significativo sobre el rendimiento los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la microalga.

OBJETIVOS

General

Evaluar el rendimiento y caracterizar fisicoquímicamente ácidos grasos de interés alimentario de la microalga (*Chlorella vulgaris*) procedente de Amatitlán a escala laboratorio.

Específicos

1. Determinar el rendimiento de ácidos grasos de interés alimentario presentes en la microalga (*Chlorella vulgaris*)
2. Caracterizar fisicoquímicamente los ácidos grasos presentes en la biomasa de la microalga (*Chlorella vulgaris*) y los obtenidos por saponificación directa por medio de cromatografía de gases y detector de llama de ionización (FID).
3. Caracterizar fisicoquímicamente los ácidos grasos poliinsaturados obtenidos mediante el método de Urea a diferentes temperaturas de cristalización: 0 °C, 25 °C y 30 °C, por medio de cromatografía de gases y detector de llama de ionización (FID).
4. Dar a Caracterizar fisicoquímicamente los ácidos grasos poliinsaturados presentes en los cristales obtenidos por el método de urea a diferentes

temperaturas de cristalización, 0 °C, 25 °C y 30 °C, por medio de cromatografía de gases y detector de llama de ionización (FID).

5. Comparar el rendimiento de ácidos grasos presentes en el extracto obtenido por saponificación directa y en los AGPI y cristales obtenidos por el método de urea a diferentes temperaturas de cristalización, 0°C, 25°C y 30°C.

HIPÓTESIS

- Hipótesis científica
 1. La composición química de la microalga *Chlorella vulgaris*, es apta para la obtención de ácidos grasos de interés alimentario.
 2. El rendimiento de ácidos grasos poliinsaturados de interés alimentario en la microalga *Chlorella vulgaris*, aumentará al aplicar el método de inclusión de urea a diferentes temperaturas de cristalización.
 3. La composición química de la microalga *Chlorella vulgaris* se ve afectada al variar la temperatura de cristalización por el método de inclusión de urea.

- Hipótesis estadística

Hipótesis nula:

El rendimiento de los ácidos grasos poliinsaturados, %AGPI, presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*, no difieren significativamente entre sí al variar la temperatura de cristalización (T_c). La temperatura de cristalización (T_c) no afecta significativamente a la variable de medición.

$$H_0: \%AGPI_{TC1} = \%AGPI_{TC2} = \%AGPI_{TC3}$$

Hipótesis alternativa:

Hipótesis alternativa (H_a): El rendimiento de los ácidos grasos poliinsaturados, %AGPI, presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*, difieren significativamente entre sí al variar la temperatura de cristalización (T_c). La temperatura de cristalización (T_c) si afecta significativamente a la variable de medición.

$$H_0: \%AGPI_{TC1} \neq \%AGPI_{TC2} \neq \%AGPI_{TC3}$$

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos son biomoléculas formados por largas cadenas de carbono y un grupo carboxilo. Pueden encontrarse en aceites vegetales, alimentos de origen de mar y grasas animales. Los ácidos grasos según su estructura molecular se pueden clasificar en: saturados, cuando solamente tienen enlaces simples entre los átomos de carbono, monoinsaturados, cuando tienen un doble enlace en toda la cadena de carbono, ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), cuando tienen más de un doble enlace en su estructura.

Los AGPI son conocidos como ácidos grasos esenciales, son un tipo de lípidos que son indispensables para el funcionamiento del organismo humano y que éste no puede sintetizar, por lo que es necesario adquirirlos a través de los alimentos. Pueden clasificarse en dos grupos, omega-3 (n-3) y omega-6 (n-6). Las microalgas son consideradas una fuente potencial para la obtención de AGPI.

El presente trabajo de investigación se enfocó en los ácidos grasos de interés alimentario, específicamente en los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Existen diferentes métodos para la obtención de la fracción lipídica de las microalgas, entre ellas la maceración dinámica y estática. Para obtener un mayor rendimiento de los ácidos grasos presentes en la microalga, se puede, aplicar el método de inclusión de urea con etanol.

El presente trabajo de investigación determinó el contenido de ácidos grasos de interés alimentario en la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*. Se utilizó saponificación directa para la extracción de los ácidos grasos y mediante el método de inclusión de urea se concentraron los AGPI y se realizó la cristalización a tres temperaturas, 0 °C, 25 °C y 30 °C.

Se determinó el perfil de ácidos grasos de la biomasa, de la extracción por saponificación directa y del concentrado obtenido utilizando el método de inclusión de urea. Además, se determinó la temperatura de cristalización con la que se obtiene un mayor rendimiento de los AGPI (ácidos grasos poliinsaturados) presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*.

1. ANTECEDENTES

Se han realizado diversos trabajos de investigación enfocados en los temas de extracción de aceites de microalgas, extracción de compuestos bioactivos de microalgas y caracterización del perfil lipídico de aceites de microalgas. Los trabajos de investigación que se presentan a continuación han aportado información relevante a esta investigación.

Lesly Tejeda Benítez, Daniela Henao Argumedo, Mario Alvear Alayón, Carlos Rafael Castillo Saldarriaga (enero de 2015), de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ingeniería, realizaron el trabajo de investigación, caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. Este trabajo abarca desde el cultivo de dos clases de microalgas, *Chlorella* sp y *Dunaliella* salina, hasta la determinación del perfil lipídico de las mismas. Para la extracción de los aceites presentes en la biomasa de las microalgas, se utilizó el método modificado de Bligh & Dyer. Para determinar el contenido de ácidos grasos en los aceites extraídos de las microalgas se usó cromatografía gas-líquido. Los resultados del perfil de ácidos grasos de ambas microalgas tienen en su mayoría dos ácidos grasos insaturados: ácido linolénico y ácido oleico.

Investigadores del centro tecnológico Neiker-Tecnalia (noviembre de 2015), realizaron el estudio, identificación de microalgas con ácidos grasos beneficiosos para la salud. Este estudio busca localizar microalgas que presentan ácidos grasos tipo omega 3, para ser empleadas en alimentos funcionales. Se identificó y aisló varias especies de microalgas marinas pertenecientes a la familia *Thraustochytridae*. Los resultados de los análisis bioquímicos muestran que estas microalgas tienen un 20 % de DHA del total de ácidos grasos que producen. Además, se encontraron otros compuestos de interés para la industria alimentaria, como pigmentos naturales con poder antioxidante, y enzimas como lipasas, celulasas o tereasas.

Eddy Mauricio Viana Ruano (julio de 2014), de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, realizó el trabajo de investigación, obtención de β -caroteno a escala laboratorio a partir de biofactorias fotosintéticas de *spirulina* spp., mediante el uso de mezcla ternaria. Este trabajo de investigación evalúa el rendimiento de obtención de β -caroteno de la microalga *spirulina* spp al variar la relación de biomasa/solvente y evaluarlo mediante un análisis de cromatografía líquida de alta resolución. Se realizó la extracción a escala laboratorio por maceración dinámica y posteriormente hacer la saponificación, extracción y concentracion del β -caroteno. Se determinó que la relación biomasa/solvente con la que se obtiene un mayor rendimiento de β -caroteno es 2:1.

Erick Giovanni Estrada Palencia (mayo de 2011), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, realizó el trabajo de investigación, Evaluación del cultivo de microalgas a nivel de planta piloto para la extracción de aceite como materia prima en la producción de biodiesel. En el presente trabajo, se diseñaron fotobiorreactores para la producción de biomasa de microalgas, siendo el de mangas plásticas con el que se obtuvo un mayor rendimiento.

Raúl Ernesto Olivares (enero de 2010), Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador, realizó el trabajo de investigación: Producción de aceite para usos industriales a partir de la microalga, *scenedesmus Obliquus*. En esta investigación para la obtención del aceite de microalga se siguió el siguiente procedimiento, secaron la biomasa de microalgas y la exprimieron aplicando expresión, usando una prensa de ochenta toneladas. Al tener el aceite de microalga, se realizó la caracterización de los mismos. Para la determinación de ácidos grasos presentes se utilizó saponificación. Para determinar si el aceite de microalga de *scenedesmus Obliquus* es apto para el consumo humano, se siguió la Norma Codex Stan-19-1981, que especifica olor, color, apariencia, impurezas insolubles, humedad y porcentaje de ácidos grasos libres. Los resultados, siguiendo esta norma, muestra que el aceite de microalga de *scenedesmus Obliquus* es muy similar a un aceite vegetal de consumo humano, aunque falta realizar otros análisis para determinar si realmente puede utilizarse para la industria alimentaria.

A. Conchillo, I. Valencia, A. Puente, D. Ansorena e I. Astiasarán (mayo-junio de 2006), departamento de Tecnología de alimentos y toxicología de la Universidad de Navarra, España, realizaron el trabajo de investigación, componentes funcionales en aceites de pescado y de algas. La investigación consistió en la caracterización de la fracción lipídica del aceite de pescado y de

alga, con la finalidad de valorar su potencial uso como ingredientes funcionales, se evaluó el contenido de ácidos grasos de alto peso molecular, esteroides y otros componentes de la fracción insaponificables. Para la determinación de ácidos grasos se utilizó cromatografía gaseosa usando trifluoruro de boro/metanol. Los resultados muestran que los aceites de pescado y de alga tienen una fracción lipídica muy rica en ácidos grasos poliinsaturados ω -3 de alto peso molecular. El aceite de alga presenta un 43,97 % de estos ácidos grasos, siendo el DHA el ácido graso mayoritario. Se llegó a la conclusión que estos aceites pueden ser utilizados como ingredientes funcionales.

A. Robles Medina, A. Giménez, E. Molina Grima y J.L. García Sánchez (junio de 1995), departamento de Ingeniería Química, Facultad de ciencias experimentales de la Universidad de Almería, realizaron el estudio de investigación: Obtención de concentrados de ácidos grasos poliinsaturados por el método de los compuestos de inclusión de urea. Esta investigación consistió en evaluar la influencia de la relación urea/ácidos grasos y de la temperatura en las concentraciones y rendimientos de los ácidos grasos: SA, EPA y DHA de aceite de hígado de bacalao. Se utilizó saponificación para la obtención de ácidos grasos y cromatografía de gases para la determinación de los mismos. Los resultados obtenidos fueron utilizando metanol, una relación U/A de 4:1 a 4 °C, se maximizan las concentraciones y rendimientos en SA y DHA. Para obtener concentración y rendimientos altos de EPA se debe cristalizar a 28 °C. También se determinó que la relación urea/ácidos grasos, es la variable que más afecta la concentración de los AGPI.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Lípidos

Los lípidos son biomoléculas orgánicas presentes en los organismos de los seres vivos. Están formadas principalmente por carbono, hidrógeno y en porcentajes menores oxígeno. Algunos pueden contener en su estructura átomos de fósforo, nitrógeno y azufre.

Los lípidos tienen un elevado peso molecular. Son compuestos apolares e hidrofóbicos, por lo que son insolubles en agua. La baja solubilidad en agua se debe a su estructura química que es hidrocarbonada, formada por enlaces covalentes de C-H y C-C.

Al ser insolubles en agua, un disolvente polar, los lípidos son solubles en disolventes apolares, por ejemplo, etano, éter, cloroformo, benceno, o éter de petróleo. Esta propiedad hace que sea posible su extracción de las células y de los tejidos animales o vegetales, utilizando uno de estos solventes. Los lípidos son la fracción soluble que se extrae de estos tejidos.

Cuando se extraen los tejidos animales o vegetales utilizando uno o más de estos disolventes orgánicos, se disuelve una parte del material. Los lípidos son los componentes que constituyen a la fracción soluble.

2.1.1. Clasificación de lípidos

Como se mencionó anteriormente la fracción lipídica, es la fracción de una materia biológica que se extrae utilizando un disolvente orgánico. Dicha fracción incluye diferentes compuestos, que pueden clasificarse de muchas formas según el criterio que se emplee.

Los lípidos se clasifican según su importancia biológica (White, Handler, Smith, Hill & Lehman, 1983) en:

- II. Ácidos grasos
- III. Lípidos que contienen glicerol
 - Grasas neutras
 - Fosfoglicéridos
- III. Lípidos que no contienen glicerol
 - Esfingolípidos
 - Alcoholes alifáticos y ceras
 - Terpenos
 - Esteroides
- IV. Lípidos combinados con otro material
 - Lipoproteína
 - Proteolípidos
 - Fosfatidopéptidos
 - Lipoaminoácidos
 - Lipopolisacáridos

La clasificación de los lípidos también puede darse según su estructura molecular como sigue:

- I. Lípidos saponificables
- II. Lípidos insaponificables
- III. Lípidos conjugados

Esta última, es una forma más simple de clasificarlos dada la variedad de lípidos que existen.

2.1.1.1. Lípidos insaponificables

Los lípidos insaponificables se caracterizan por no tener ácidos grasos en su estructura molecular. Debido a esto, no es posible llevar a cabo una reacción de saponificación con estos lípidos. Entre esta clasificación se encuentran los isoprenoides, terpenos, esteroides y prostaglandinas. Un ejemplo de lípidos insaponificables son los carotenoides, que son pigmentos vegetales.

2.1.1.2. Lípidos saponificables

Los lípidos saponificables contienen ácidos grasos en su estructura molecular. Estos lípidos son ésteres de ácidos grasos y alcoholes (glicerina, esfingosina, entre otros)

Su nombre se deriva de la capacidad para producir reacciones químicas de saponificación. La formación de estos lípidos se da mediante reacciones de esterificación que se explicará detalladamente más adelante.

Este grupo de lípidos se divide en:

- Simples: ácidos grasos saturados e insaturados, acilglicéridos y céridos
- Compuestos: fosfolípidos y los glucolípidos

Estos lípidos se encuentran en estado líquido a temperatura ambiente. Los aceites vegetales como por ejemplo el aceite de oliva y de girasol, y aceites de animales como el aceite de pescado, son lípidos saponificables.

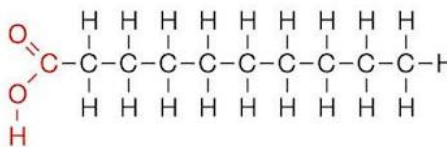
2.2. Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena larga hidrocarbonada, apolar, acíclica y no ramificada. Generalmente poseen un número par de átomos de carbono, entre 12 a 24. Los de 16 y 18 carbonos son los más abundantes. Algunos derivados de los ácidos grasos son los ésteres o amidas.

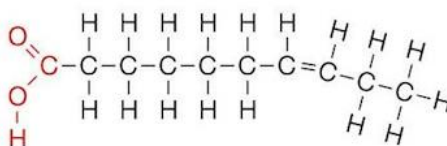
El grupo carboxilo en los ácidos grasos es ionizable, mientras que la cadena hidrocarbonada, como se mencionó anteriormente es apolar. Los ácidos grasos se pueden clasificar en saturados o insaturados. Cuando las cadenas de los ácidos grasos no tienen dobles enlaces a lo largo de su estructura, se clasifican como saturado. Si tienen uno o más dobles enlaces en su estructura, son ácidos grasos insaturados.

Figura 1. **Estructura de ácidos grasos saturados e insaturados**

Saturado



Insaturado



Fuente:

Consejo europeo de información alimentaria.
<http://www.eufic.org/article/es/expid/Datos-sobre-las-grasas-aspectos-basicos/>. Consulta: 12 de abril de 2016

2.2.1. **Propiedades físicas y químicas de los ácidos grasos**

Las propiedades físicas de los ácidos grasos dependen de la longitud y el grado de insaturación de las cadenas.

2.2.1.1. **Solubilidad y polaridad**

Una característica muy importante de los ácidos grasos es que son moléculas anfipáticas. Al ser compuestos anfipáticos, contienen un grupo polar con afinidad por el agua, constituido por el grupo carboxilo y un grupo no polar que carece de afinidad con el agua formado por la cadena hidrocarbonada.

Esta propiedad hace que los ácidos grasos sean insolubles en solventes polares, como el agua y solubles en disolventes orgánicos como, etano, éter, cloroformo, etc. La salubridad de los ácidos grasos disminuye cuanto más larga y menos enlaces dobles tengan la cadena hidrocarbonada, un compuesto con cadena de 12 carbonos o más es insoluble.

2.2.1.2. Densidad

Los ácidos grasos son menos densos que el agua. A continuación, se da un listado de la densidad de algunos ácidos grasos saturados e insaturados.

Tabla I. Densidad de ácidos grasos, saturados e insaturados.

Ácido graso	Densidad (g/cm ³)	Temperatura
Saturados		
Butírico (4:0)	0,959	20°C
Valérico (5:0)	0,939	20°C
Caproico (6:0)	0,928	20°C
Enántico (7:0)	0,918	20°C
Caprílico (8:0)	0,910	20°C
Pelargónico (9:0)	0,907	20°C
Cáprico (10:0)	0,886	40°C
Láurico (12:0)	0,869	50°C
Mirístico (14:0)	0,859	60°C
Palmitico (16:0)	0,849	70°C
Margárico (17:0)	0,840	80°C
Esteárico (18:0)	0,839	80°C
Araquídico (20:0)	0,824	100°C
Behénico (22:0)	0,822	100°C
Monoinsaturados (<i>cis</i>)		
Oleico (18:1 ⁹)	0,895	20°C
	0,863	60°C
Erúxico (22:1 ¹³)	0,861	60°C
Poliinsaturados (<i>cis</i>)		
Linoléico (18:2 ^{9,12})	0,901	20°C
α-Linolénico (18:3 ^{9,12,15})	0,905	20°C

Fuente:

Universidad Complutense Madrid. <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-cap-6-grasas.pdf>. Consulta: 12 de abril de 2016

2.2.1.3. Punto de fusión

El punto de fusión de los ácidos grasos al igual que la solubilidad, depende de la longitud y la cantidad de dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada.

El punto de fusión aumenta al aumentar el número de carbonos de la cadena hidrocarbonada. Esto se debe a que dentro de la cadena se forman más enlaces de Van der Waals. La presencia de dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada reduce los enlaces de Van der Waals dentro de la cadena, disminuyendo el punto de fusión. Por lo tanto, los ácidos grasos insaturados tienen un punto de fusión más bajo que los saturados de igual número de carbono.

Tabla II. **Temperatura de fusión de ácidos grasos saturados**

Ácidos grasos	Temperatura de fusión °C
SATURADOS	
Butírico (4:0)	-6
Caproico (6:0)	-3
Caprílico (8:0)	17
Cáprico (10:0)	32
Láurico (12:0)	44
Mirístico (14:0)	54
Palmítico (16:0)	63
Esteárico (18:0)	69
Araquídico (20:0)	77
Behénico (22:0)	80
Lignocérico (24:0)	84
Cerótico (26:0)	88

Fuente:

Centro de información de lípidos. <http://www.cyberlipid.org/fa/acid0001.htm>. Consulta: 15 de abril de 2016

Tabla III. **Temperatura de fusión de ácidos grasos insaturados**

INSATURADOS (<i>cis</i>)	
Monoinsaturados	
Miristoleico (14:1 Δ^9)	4°C ⁻
Palmitoleico (16:1 Δ^9)	1°C
Oleico (18:1 Δ^9)	13°C
Gadoleico (20:1 Δ^9)	23°C
Poliinsaturados	
Linoléico (18:2 $\Delta^{9,12}$)	5°C ⁻⁻
α -Linolénico (18:3 $\Delta^{9,12,15}$)	-11°C
Araquidónico (20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$)	50°C ⁻
Insaturados (<i>trans</i>)	
Elaídico (18:1 $\Delta^{9[t]}$)	46°C
Vaccénico (18:1 $\Delta^{11[t]}$)	40°C
Linoelaídico (18:2 $\Delta^{9,12[t]}$)	28°C

Fuente: Centro de información de lípidos.

<http://www.cyberlipid.org/fa/acid0001.htm>. Consulta: 17 de abril de 2016

La cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos saturados es lineal debido a los enlaces sencillos que la conforman. Lo que hace posible que este tipo de ácidos grasos tenga una estructura casi cristalina.

En los ácidos grasos insaturados *cis*, la presencia de doble enlaces provoca quiebres en la linealidad de la cadena. A diferencia de los ácidos grasos saturados, los insaturados no pueden tener una estructura casi cristalina. Esto provoca que estos ácidos grasos sean líquidos a temperatura ambiente y que sus puntos de fusión sean menores a los de un saturado de la misma longitud.

Los ácidos grasos insaturados *trans*, tienen propiedades distintas a sus equivalente *cis*, ya que su configuración de dobles enlaces hace que tengan estructuras lineales similares a los ácidos grasos saturados, dándoles puntos de fusión más altos.

2.2.2. Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados como se mencionó anteriormente son aquellos que solo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono. Estos ácidos grasos son muy poco reactivos y en su mayoría son sólidos a temperatura ambiente.

El ácido palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0) son los ácidos grasos saturados más abundantes. Muchas de sus propiedades se mencionaron anteriormente, por ejemplo, que tienen puntos de fusión altos dependiendo la longitud de la cadena y que a partir de 12 carbonos son sólidos a temperatura ambiente e insoluble en agua.

2.2.2.1. Ácidos grasos saturados en los alimentos

Como se mencionó anteriormente las grasas que contienen este tipo de ácidos grasos son sólidos a temperatura ambiente y son muy estables por lo que

es difícil que se combinen con otras moléculas. Los ácidos grasos saturados son considerados nutricionalmente como grasas malas. Se ha comprobado que el consumo de estas grasas saturadas aumenta los niveles de colesterol en la sangre y provocan problemas circulatorios.

Los diferentes ácidos grasos saturados tienen distintos comportamientos sobre los niveles de colesterol:

- El Ácido Palmítico (C16:0): Está presente en alimentos de origen animal. Es el responsable de incrementar los niveles de colesterol total en la sangre.

- El Ácido Mirístico (C14:0): Está presente en la mantequilla. También es el responsable de aumentar la concentración de colesterol total, aunque en menor proporción.

- El Ácido Esteárico (C18:0): A diferencia de los dos anteriores, este no eleva los niveles de colesterol en la sangre. Por el contrario este ácido tiende a metabolizarse a ácidos oleico.

- Ácido Láurico (C12:0): Está presente en grandes proporciones en el aceite de coco. Se ha comprobado que el consumo de este aceite aumenta los niveles de colesterol.

- Ácidos grasos saturados de cadena corta de 10 carbonos o menos, no aumentan de forma significativa el colesterol.

Estos ácidos grasos se encuentran principalmente en las grasas de tipo animal que son altamente saturadas, a excepción de las de pescado y mariscos,

por ejemplo, en la carne de cerdo, leche, crema, quesos, yema de huevo, mantequilla, etc. También pueden encontrarse en algunos aceites vegetales como el aceite de coco y el de palma.

Tabla IV. **Fuentes de ácidos grasos saturados**

Nomenclatura química	Nombre común	No de átomos de C	Formula química	Punto de fusión C	Origen típico
Etanoico	Acético	2	CH_3COOH	-	-
Butanoico	Butírico	4	C_3H_7COOH	-7.9	Mantequilla
Hexanoico	Caproico	6	$C_5H_{11}COOH$	-3.4	Mantequilla
Octanoico	Caprílico	8	$C_7H_{15}COOH$	16.7	Aceite de coco
Decanoico	Cáprico	10	$C_9H_{19}COOH$	31.6	Aceite de coco
Dodecanoico	Laúrico	12	$C_{11}H_{23}COOH$	44.2	Aceite de coco
Tetradecanoico	Mirístico	14	$C_{13}H_{27}COOH$	54.4	Mantequilla, aceite de coco
Hexadecanoico	Palmitico	16	$C_{15}H_{31}COOH$	62.9	La mayoría de las grasas y aceites
Octadecanoico	Esteárico	18	$C_{17}H_{35}COOH$	69.6	La mayoría de las grasas y aceites
Eicosanoico	Araquídico	20	$C_{19}H_{39}COOH$	75.4	Aceite de cacahuete
Docosanoico	Behénico	22	$C_{21}H_{39}COOH$	80.0	

Fuente:

Fundación española de a nutrición.

http://www.fen.org.es/anibes/archivos/paginas/macronutrientes/6_Contribucion-MUFA-grupos-y-subgrupos_ES.pdf. Consulta: 13 de abril de 2016

2.2.3. Ácidos grasos insaturados

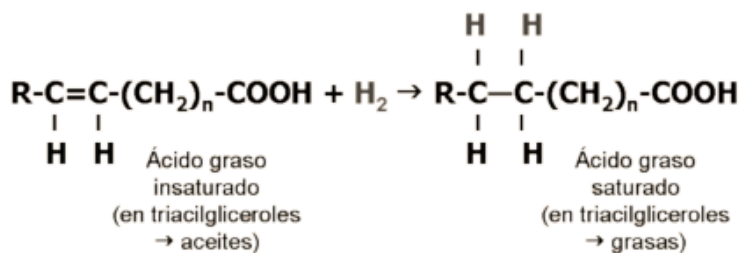
Las propiedades físicas de los ácidos grasos insaturados ya se mencionaron anteriormente. Tienen puntos de fusión menores a los saturados debido a la presencia de los dobles enlaces en la cadena de carbono.

Dentro de las reacciones químicas de los ácidos grasos poliinsaturados debido a los dobles enlaces se pueden mencionar las siguientes:

- Pueden adicionar hidrógeno a su estructura. Esta reacción es conocida como hidrogenación catalítica de los ácidos grasos insaturados. Se utiliza en la industria para transformar aceites en grasas sólidas (ácidos grasos saturados), con la finalidad de prevenir la oxidación de los ácidos grasos insaturados.

Por ejemplo:

Figura 2. Estructura ácido graso saturado e insaturado



Fuente: Biomodel. <http://biomodel.uah.es/model2/lip/acgr-prop.htm>. Consulta: Mayo 2016

- Son susceptibles a la oxidación. La tendencia a oxidarse aumenta con el número de dobles enlaces de la cadena hidrocarbonada. Esta reacción provoca el enranciamiento de las grasas.

Los ácidos grasos saturados pueden dividirse en:

- Ácidos grasos monosaturados
- Ácidos grasos poliinsaturados

Las grasas insaturadas son consideradas nutricionalmente como grasas buenas ya que ayudan al control del colesterol en la sangre. Son grasas líquidas a temperatura ambiente, y se pueden encontrar en aceites vegetales como el aceite de girasol y ajonjolí y en aceites de origen animal como el pescado, entre otros.

2.2.4. Ácidos grasos monoinsaturados

Se caracterizan por poseer solamente un doble enlace en toda la cadena hidrocarbonada. Los lípidos provenientes de fuentes vegetales o animales que contienen ácidos grasos monoinsaturados son líquidos a temperatura ambiente y son estables en presencia del calor.

Los ácidos grasos monoinsaturados no son ácidos grasos esenciales, ya que el organismo a partir de otros sustratos es capaz de sintetizar estas grasas monoinsaturadas.

2.2.4.1. Importancia de los ácidos grasos monoinsaturados en los alimentos.

Los ácidos grasos monoinsaturados tienen muchos beneficios para la salud. Por ejemplo, el aceite de oliva tiene entre 60 y un 80 % de ácido oleico.

Las principales propiedades de las grasas monoinsaturadas son:

- Previenen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.
- Disminuyen la tensión arterial.
- Disminuyen los niveles de colesterol en la sangre.
- Recomendadas en la alimentación de pacientes con cáncer de mama.

Se aconseja que el consumo de grasas por día se divida en la siguiente forma:

- Saturadas: 25 %.
- Monoinsaturadas: 50 %
- Poliinsaturadas: 25 %.
- Colesterol: menos de 300 mg al día.

Los ácidos grasos monoinsaturados que se encuentran en mayor abundancia en los alimentos son el ácido palmitoleico (16 carbonos) y ácido oleico (18 carbonos).

2.2.4.2. Ácidos grasos omega 9

La palabra omega indica que la molécula tiene un doble enlace en su estructura. Al decir omega 9, el número indica que el doble enlace se encuentra en el carbono 9.

Existen tres tipos de ácidos grasos omega 9 que se enumeran a continuación:

- Ácido oleico

Es un ácido graso de 18 carbonos. Es el más conocido y abundante de los ácidos grasos monoinsaturados, ya que se ha encontrado que su consumo en la alimentación tiene muchos beneficios para la salud.

- Ácido gadoleico

Se trata de un tipo de ácido graso de 20 átomos de carbono.

- Ácido erúcico

Es un ácido graso de 22 carbonos. Se ha considerado como una grasa tóxica por lo que los aceites ricos en ese componente no son aptos para el consumo humano.

Algunas fuentes naturales de este ácido es el aceite de mostaza y el aceite de canola. Desde 1949 se ha establecido que el ácido erúcico es perjudicial para la salud, ya que causa la formación de depósitos de grasas en el corazón.

Actualmente, se han desarrollado técnicas de refinado para la obtención de aceites con menos de un 2 % de ácido erúcico. Con este porcentaje organismos de seguridad alimentaria como la EFSA (European Food Safety Authority) consideran a este alimento como seguro.

2.2.5. Ácidos grasos poliinsaturados

Son los ácidos grasos que tienen más de un enlace doble en la cadena hidrocarbonada. Existen algunos ácidos grasos poliinsaturados como el linoléico, linolénico y araquidónico que el organismo humano no puede sintetizar, por lo que deben ser suministrados en la dieta. Por este motivo reciben el nombre de ácidos grasos esenciales.

2.2.5.1. Importancia de los ácidos grasos monoinsaturados en los alimentos

Como se mencionó anteriormente los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) no pueden ser sintetizados por el organismo humano y forman parte de muchas funciones importantes. Los ácidos grasos esenciales una vez son metabolizados se convierten en prostaglandinas, las cuáles ejercen un poderoso efecto sobre la salud.

Existen dos grupos de AGPI:

2.2.5.2. Omega 3

Son una familia de ácidos grasos insaturados. Dentro de este grupo se encuentra el ácido alfa linolénico (ALA, 18:3, ω -3), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5, n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6, ω -3). El término omega-3, se utiliza para indicar que el primer doble enlace está el tercer carbono.

Las propiedades y beneficios de los tres ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 se describen a continuación:

- Ácido alfa-linolénico (ALA)

Es un ácido graso de 18 carbonos con tres dobles enlaces de configuración cis. El primer doble enlace está ubicado en la posición n-3. Este ácido puede encontrarse en la canola, soja, nueces y semillas de lino.

El consumo de ALA, reduce los niveles de colesterol y triglicéridos e impide la acumulación de depósitos grasos en las arterias ayudando a prevenir enfermedades coronarias y accidentes cerebrovasculares. La falta de este ácido en el organismo puede provocar anormalidades neurológicas y déficit de crecimiento.

- Ácido eicosapentaenoico (EPA)

Es un ácido graso de 20 carbonos con cinco dobles enlaces de configuración cis. El primer doble enlace está ubicado en la posición n-3. Este ácido puede encontrarse en pescados aceitosos como el arenque, caballa, salmón y sardina.

El EPA es un componente necesario para el correcto funcionamiento del sistema inmunológico de los sistemas de inflamación y coagulación sanguínea y en la salud cardiovascular.

- Ácido docosahexaenoico (DHA)

Es un ácido graso de 22 carbonos con seis dobles enlaces de configuración cis; el primer doble enlace está ubicado en la posición n-3. Este

ácido se encuentra en pescados aceitosos y también se obtienen mediante fermentación de algas.

Cerca de un 30 % de los ácidos grasos en la materia gris del cerebro son DHA, y en la zona central de la retina el DHA es mayor al 50 %. El consumo de DHA, ayuda a la protección contra los procesos degenerativos de la retina y previene el deterioro anatomofuncional de las neuronas. Las fórmulas de leche para niños contienen suplementos de DHA, ya que ayuda al desarrollo del cerebro.

2.2.5.3. Omega 6

Son una familia de ácidos grasos insaturados. Dentro de este grupo se encuentra el ácido gama-linoléico (18:2, ω -6), y ácido araquidónico (20:4, ω -6). El término omega-6, se utiliza para indicar que el primer doble enlace está el sexto carbono.

Las propiedades y beneficios de estos dos ácidos grasos poliinsaturados Omega 6 se describen a continuación:

- Ácido linoléico (AL)

Es un ácido graso formado por una cadena de 18 carbonos. El primer doble enlace está ubicado en la posición n-6. Este ácido puede encontrarse en el aceite de soja, maíz, cártamo, girasol, maní, semilla de algodón y fibra de arroz. La falta del mismo en el organismo puede ocasionar reducción del crecimiento.

- Ácido araquidónico (AA)

Es un ácido graso formado por una cadena de 20 carbonos. El primer doble enlace se encuentra ubicado en la posición n-6. Este ácido puede encontrarse en el aceite de maní, carnes rojas, huevos, productos lácteos.

2.3. Microalgas

Las microalgas son microorganismos unicelulares fotosintéticos. Son formadoras de biomasa orgánica rica en lípidos, azúcares, proteínas o hidratos de carbono, a partir de dióxido de carbono y luz solar. Son microscópicas y de varios tamaños, pueden ir de 2 a 200 µm en promedio. Las condiciones de cultivo como la temperatura, luz, salinidad, pH, nutrientes como fósforo, azufre, nitrógeno, vitaminas y otros, varían de una especie a otra.

A nivel comercial las microalgas son de gran interés, se han utilizado para la producción de diversos compuestos químicos como biocombustibles, biofertilizantes, carotenos, tratamiento de aguas residuales y aditivos para alimentos.

Algunos de los compuestos de gran interés que se pueden obtener a partir de microalgas son los carotenoides, biodiesel, lípidos, polisacáridos, entre otros. Dentro de las cinco cepas de mayor interés para uso en alimentos se encuentra: *Spirulina máxima*, *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Diatronema vikianum* e *Isochrysis galbana* (Batista, Gouveia, Bandarra Franco y Raymundo (2013) P. 164–173).

En la industria las investigaciones por conocer las propiedades y componentes de las diversas microalgas, es cada vez es mayor, al ser los mercados cada vez más exigentes.

Se ha introducido biomasa de microalgas a productos alimenticios ya que aportan un valor agregado por los antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados omega-3 o proteínas presentes en la misma.

2.3.1. *Chlorella vulgaris*

Chlorella significa pequeña verde. *Chlorella vulgaris* es un alga unicelular de color verde, de forma esférica que tiene un tamaño de 5-10µm. Esta microalga se reproduce muy rápidamente y de forma asexual. Habita en ríos, arroyos de agua dulce y suelos encharcados.

Es utilizada principalmente para suplementos alimenticios, productos cosméticos, para estimular el sistema inmune y para la desintoxicación de metales pesados. Contiene grandes cantidades de proteínas, vitamina C, betacaroteno y vitaminas B (B1, B2, B6 y B12). Se cree que es un alimento viable cuando se deshidrata. Se ha demostrado que el consumo de esta microalga impulsa la salud humana. Adicional producen lípidos, contenido de lípidos por biomasa es de aproximadamente 42 %.

Tabla V. **Taxonomía de la *Chlorella Vulgaris***

Reino:	Protista (Primoplantae)
División:	Chlorophyta
Clase:	Trebouxiophyceae
Orden:	Chlorellales
Familia:	Chlorellaceae
Género:	<i>Chlorella</i>

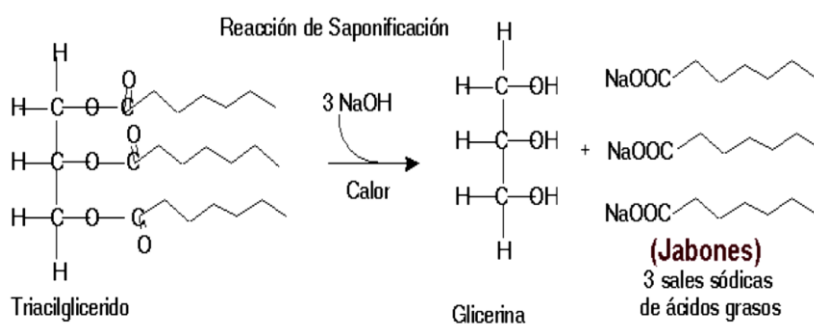
Fuente:

<https://sites.google.com/site/espemicroalgae/taxonomia-microalgal>. Consulta: 1 mayo 2016.

2.4. Saponificación de una grasa

La saponificación es una reacción química y exotérmica, principalmente de un ácido graso o un lípido saponificable con compuesto alcalino, en la que se obtiene como producto la sal del ácido y la sal del compuesto alcalino. Las grasas se disuelven en un medio alcalino, separándose en glicerina y en sales que contienen ácidos grasos. A continuación, se ejemplifica esta reacción:

Figura 3. **Reacción de saponificación**



Fuente:

https://www.academia.edu/9772248/Extracci%C3%B3n_de_%C3%81cidos_Grasos_insaturados_y_obtenci%C3%B3n_del_Omega_3_de_los_residuos_industriales_pesqueros_utilizando_tecnolog%C3%ADas_mas_limpias?. Consulta: 15 de abril 2016

El compuesto alcalino es indispensable para que se produzca esa reacción. Las bases más utilizadas para esta reacción son el hidróxido de sodio (NaOH) y el hidróxido de potasio (KOH).

2.5. Método de concentración de AGPI por inclusión de urea

El método de inclusión de urea es la técnica más utilizada para la concentración de AGPI. Este método consiste en aislar los ácidos grasos poliinsaturados de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Esto lo logra al cristalizarse, atrapa a los ácidos grasos saturados y monoinsaturados dentro de la estructura cristalina, dejando a los ácidos grasos poliinsaturados en la disolución.

La constante de estabilidad y los calores de formación son parámetros llamados UAV (urea adductability values) son utilizados para determinar la tendencia de distintos ácidos grasos para formar compuestos de inclusión de urea.

A partir de estos parámetros se ha encontrado que hay ácidos grasos que no forman compuesto de inclusión de urea a temperatura ambiente, pero que pueden formarlos a 0°C. Los AGPI de cadena larga como el EPA y DHA, tienen muy poca tendencia a formar compuestos por inclusión de urea.

Este método consiste en agregar a los ácidos grasos soluciones de urea/metanol, para que se dé la cristalización de los compuestos de inclusión de urea. Se ha establecido que las variables más significativas son la temperatura de cristalización y la relación urea/ácidos grasos.

Al aumentar la relación urea/ácidos grasos favorece la formación de los compuestos de inclusión. Se recomienda que la relación en peso, urea/ ácidos grasos debe ser aproximadamente 3:1.

En general, al disminuir la temperatura de cristalización, la formación de compuestos de inclusión de urea también aumenta, aunque la temperatura óptima varía dependiendo de cada ácido graso. Por ejemplo para conseguir un rendimiento alto de EPA, la cristalización se debe de realizar a temperaturas entre 20 a 28 °C (Belarbi Hassa, E, 1999).

El método de inclusión de urea es el método más utilizado debido a que es de es un método de bajo costo y tiene rendimientos más altos en comparación con otros métodos de separación.

2.6. Cuantificación de los lípidos

Evaluar químicamente los lípidos en los alimentos es muy importante para medir la calidad nutricional de los alimentos. Existen distintos métodos para la extracción y cuantificación de lípidos, ya sea usando solventes o con métodos instrumentales.

2.6.1. Cromatografía

La cromatografía es un método muy utilizado para la separación y análisis de gases o líquidos en una mezcla. Es muy utilizada para el análisis de lípidos. La cromatografía se utiliza cuando se desea separar componentes muy similares entre sí. Es utilizada para la caracterización cualitativa y para la cuantificación de las especies presentes en la mezcla analizada. Para la separación por

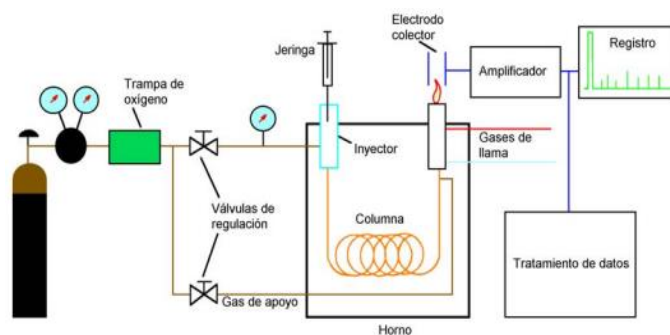
cromatografía, los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una fase móvil y otra estacionaria.

2.6.2. Cromatografía de gases y detector de llama de ionización (FID)

La cromatografía de gases se utiliza para la separación, identificación y cuantificación de los esteres metílico de los ácidos grasos, se basa en la diferencia de los puntos de ebullición y de la diferencia de la polaridad de los diferentes componentes en la muestra problema.

Como se explicó para la cromatografía se tienen dos fases, una móvil y otra estacionaria. La muestra se volatiliza y avanza a través de la columna y se verifica el reparto de los componentes entre la fase móvil y la estacionaria. La polaridad es la propiedad más importante ya que esta determina la capacidad de la columna para separar los compuestos de la muestra.

Figura 4. Esquema de un cromatógrafo de gases



Fuente:

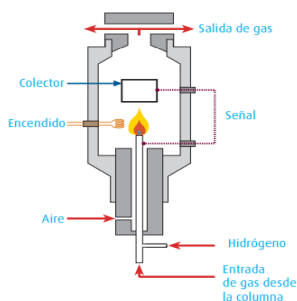
Museo Nacional de Ciencias Naturales.

http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf. Consulta 2 de julio de 2016

El detector de ionización de llama (FID) es un detector muy utilizado más utilizando en la cromatografía de gases. Es un quemador y su funcionamiento consiste en que el efluente de la columna se mezcla con H_2 y aire para luego encenderse eléctricamente.

Al descomponerse los compuestos orgánicos, con la temperatura de una llama, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Cuando se aplica una diferencia de potencial entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, la corriente que resulta ($\sim 10^{-2}$ A) se dirige para su medida hacia un amplificador operacional de alta impedancia. En la ionización de la llama de compuestos que contienen carbono se observa que el número de iones que se producen es relativamente proporcional al número de átomos de carbono reducidos en la llama. El detector de ionización de llama responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, por ello, es más un detector sensible a la masa (Abelló Linde, 2017).

Figura 5. **Esquema general del detector FID**



Fuente:

Abelló Linde.

http://www.abellolinde.es/internet.lg.lg.esp/es/images/Cromatograf%C3%ADa%20de%20Gases%20Ionizaci%C3%B3n%20y%20Termoi%C3%B3nico%2019007-01316_120153.pdf?v=1.0,

consulta, enero 2018

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Localización

La fase experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales (LIEXVE), Sección de Química Industrial, Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.

La microalga proviene del lago de Amatitlán ubicado en el municipio de Amatitlán, del departamento de Guatemala. Fue obtenida y secada por liofilización a través de una empresa de agricultura.

El análisis fisicoquímico se realizó por cromatografía gaseosa en el Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez de Guatemala.

3.2. Variables

Se definieron las variables independientes, dependientes y los parámetros que se mantuvieron constantes durante el desarrollo de la investigación.

En el trabajo de investigación se hizo una comparación entre el contenido de AGPI obtenido por saponificación directa y el contenido de AGPI obtenido después de aplicar el método de concentración de urea al variar la temperatura de cristalización.

3.2.1. Contantes

Tabla VI. Parámetros constantes

Variable	Especificación	Constante
Materia prima	Microalga Chlorella Vulgaris	X
Cantidad de materia prima	g	X
Temperatura de saponificación	°C	X
Presión	atm	X
Solvente para la extracción de ácidos grasos	Etanol	X
Método de extracción de ácidos grasos	Saponificación directa	X
Método de concentracion de AGPI	Inclusión de urea	X
Relación urea/ácidos grasos	4:01	X
Solvente método de urea	Etanol	X

Fuente: elaboración propia

3.2.2. Variables dependientes e independientes

Tabla VII. Variables

Parámetro	Especificación	Variable independiente	Variable respuesta
Temperatura de cristalización	°C	X	
Caracterización fisicoquímica por cromatografía gaseosa	%		X

Fuente: elaboración propia

3.3. Delimitación de campo de estudio

El trabajo de investigación se limitó a realizar el estudio a escala laboratorio. Se estudió la fracción lipídica de la microalga marina, *Chlorella vulgaris* proveniente del lago de Amatitlán.

De la fracción lipídica de la microalga *Chlorella vulgaris* se estudiaron los lípidos saponificables de interés alimentario presentes en la misma. Se aplicó el método de saponificación directa para la obtención de ácidos grasos y el método de urea para la concentración de los ácidos grasos poliinsaturados a diferentes temperaturas de cristalización 0 °C, 25 °C y 30 °C. Se realizó la caracterización fisicoquímica mediante cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID).

3.4. Diseño Experimental

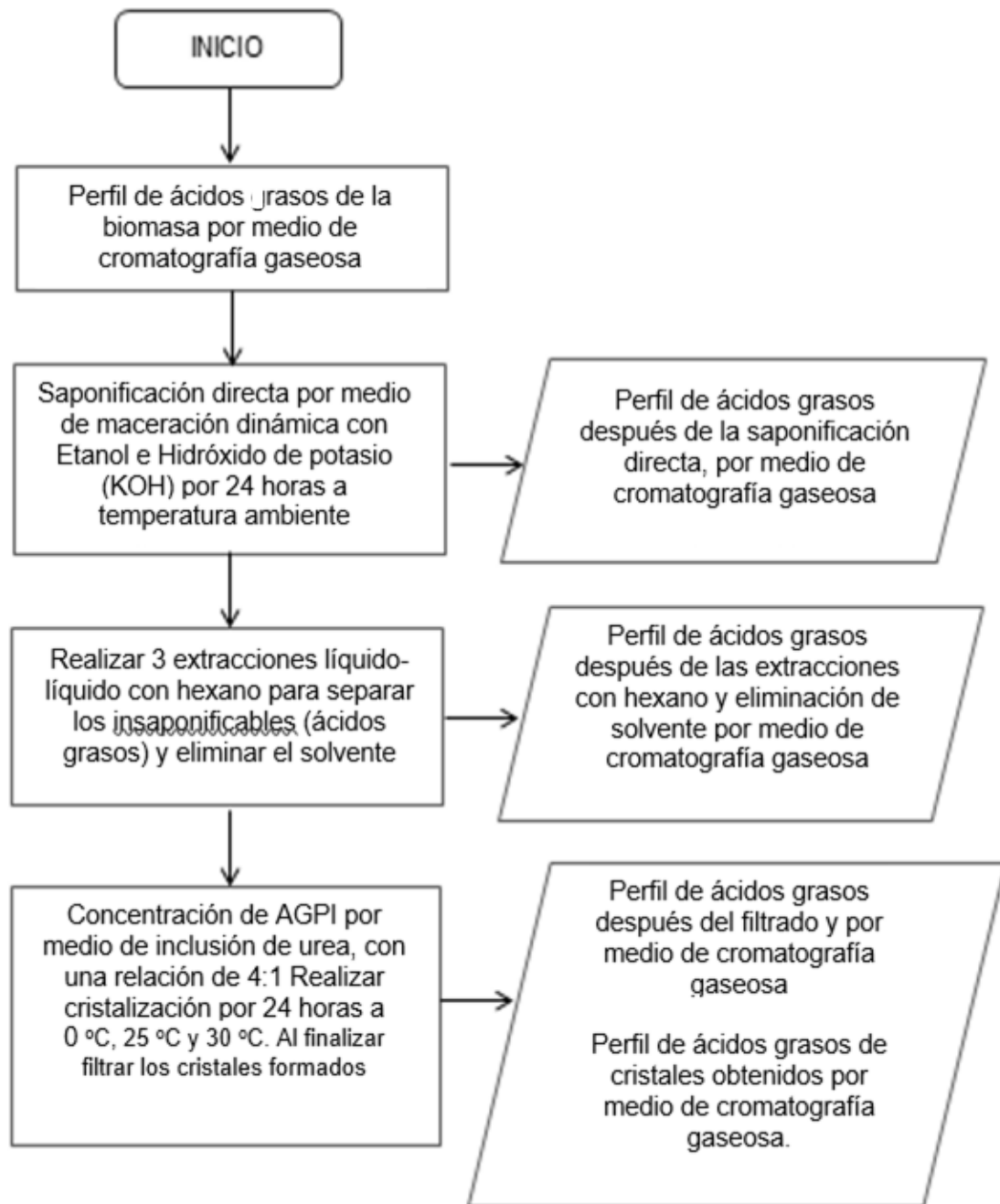
El estudio se realizó para una especie de microalga marina *Chlorella vulgaris*. Se utilizó la biomasa liofilizada y se determinó el perfil lipídico de la biomasa antes de los tratamientos, realizándose 3 repeticiones.

Se realizó la saponificación por medio de maceración dinámica por 24 horas, a temperatura ambiente, utilizando etanol al 96 % e hidróxido de potasio (KOH). Se extrajo una muestra para realizar el perfil de ácidos grasos, este procedimiento se realizó 9 veces. Al tener la fracción lipídica, se realizó el procedimiento para la extracción de ácidos grasos, utilizando hexano y ácido clorhídrico y se volvió a sacar una muestra para realizar el perfil de ácidos grasos, este procedimiento se repitió 9 veces.

Para aumentar el rendimiento de los ácidos grasos presentes se realizó el método de inclusión de urea en una relación 4:1. Se evaluaron 3 tratamientos, variando la temperatura de cristalización de 0 °C, 25 °C y 30 °C. Para cada temperatura se realizaron 3 repeticiones, haciendo un total de 9 tratamientos. Se tomaron muestras de los cristales obtenidos y del filtrado de los cristales para cada repetición.

Para determinar el perfil de ácidos grasos de cada muestra, se realizó por medio de cromatografía gaseosa. En total se obtuvieron 39 muestras.

Figura 6. Diagrama del diseño experimental



Fuente: elaboración propia

3.5. Recursos humanos disponibles

Se detalla de manera resumida el perfil de los recursos humanos disponibles para la realización del presente trabajo de investigación.

- Investigador: Yoselin Brisset Raxon Matias

Profesión: estudiante de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Asesor: Inga. Telma Maricela Cano Morales

Profesión: Ingeniera Química. Profesora titular IX e investigadora del Centro de Investigaciones de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, USAC.

- Asesor: Ing. Mario José Mérida Meré

Profesión: Ingeniero Químico. Profesor Investigador, Escuela de Ingeniería Química, USAC. Jefe del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales – LIEXVE, Sección Química Industrial, Centro de investigaciones de la Facultad de Ingeniería, USAC.

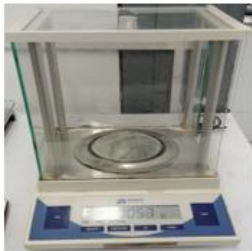
3.6. Recursos materiales disponibles

A continuación se describirán todos los materiales que se utilizaron para la elaboración de la fase experimental.

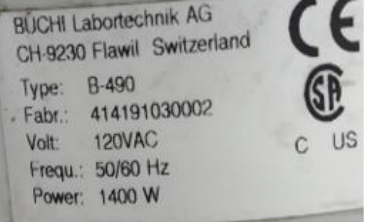
3.6.1. Equipo

A continuación se enumera y describe el equipo que se utilizó para cada procedimiento

Tabla VIII. **Equipo para la extracción y concentración de ácidos grasos de biomasa y para concentración de AGPI por inclusión de urea**

Equipo	Descripción	Cantidad	Especificaciones	Foto del equipo
Agitador magnético	Marca VWR	1	 Hz: 60 - W: 630 - V: 115	
Balanza analítica	Marca BOECO	1	d=0.1 mg Tensión de entrada: 11V-21V	
<u>Rotavapor</u>	Marca BÜCHI modelo R-200/205 con graduación de 0 a 10	1	 V: 100-240 VAC Hz: 50/60 W: 60	

Continación de la tabla VIII

Equipo	Descripción	Cantidad	Especificaciones	Foto del equipo
Bomba de vacío	Marca BÜCHI modelo R-5000	1	 V: 100-240 VAC Hz: 50/60 W: 210	
Bomba de agua	Sistema de enfriamiento	1	 V/Hz: 120/1/60	
Baño calefactor	Marca BÜCHI de 0 a 100	1	 Hz: 50/60 - W: 1400 - V: 120VAC	

Fuente: elaboración propia

3.6.2. Cristalería

A continuación se enumera y describe la cristalería que se utilizará en cada procedimiento

Tabla IX. **Cristalería para la extracción de ácidos grasos de biomasa**

Extracción de ácidos grasos de la biomasa			
Cristalería	Dimensiones	Descripción	Cantidad
Ampolla de decantación	2 000 mL	vidrio	1
Balón aforado de fondo redondo	250 mL	vidrio	1
<i>Beacker</i>	100 mL	vidrio	2
<i>Beacker</i>	500 mL	vidrio	3
<i>Beacker</i>	1 000 mL	vidrio	1
Embudo	Grande	vidrio	1
Pipeta	1 mL	Vidrio	1
Probeta	500 mL	vidrio	1
Probeta	200 mL	vidrio	1
Varillas de agitación		vidrio	3

Fuente: elaboración propia

Tabla X. **Cristalería para la concentración de AGPI por inclusión de urea**

Concentración de AGPI por el método de inclusión de urea			
Cristalería	Dimensiones	Descripción	Cantidad
Balón de fondo redondo	250 mL	vidrio	1
Balón de fondo redondo	100mL	vidrio	1
<i>Beacker</i>	100 mL	vidrio	2
<i>Beacker</i>	500 mL	vidrio	5
Kitasato	500 mL	vidrio	1
pipeta	1 mL	vidrio	1
Probeta	100 mL	vidrio	2
Probeta	200 mL	vidrio	1
Varillas de agitación	15 cm	vidrio	1

Fuente: elaboración propia

3.6.3. Otros materiales

Tabla XI. **Otros materiales**

Materiales	Descripción	Cantidad
Mangueras	Plásticas	2
Embudo Büchner	Cerámica	1
Papel filtro	Cortado en círculos	8
Magnetos	Medianos	1

Fuente: elaboración propia

3.6.4. Reactivos

A continuación se enumeran y describen los reactivos que se utilizarán en cada procedimiento

Tabla XII. **Materia prima**

Materia prima					
Materia prima	Descripción	Cantidad por repetición y tratamiento	Número de tratamiento	Número de repeticiones	Total reactivo
Microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	Masa seca	38 g	3	3	342 g

Fuente: elaboración propia

Tabla XIII. **Reactivos para la extracción de ácidos grasos de la biomasa**

Extracción de ácidos grasos de biomasa de microalga					
Reactivo	Descripción	Cantidad por repetición y tratamiento	Número de tratamiento	Número de repeticiones	Total reactivo
Etanol	Concentración al 96%	570 mL	3	3	5,13 L
Hidróxido de potasio	KOH	15,2 g	3	3	136,8 g
Agua	H ₂ O	220 mL	3	3	1,98 L
Hexano	C ₆ H ₁₄	11218 mL	3	3	11 L
Ácido clorhídrico	Concentración al 36%	275 mL	3	3	2,50 L

Fuente: elaboración propia

Tabla XIV. **Reactivos para la concentración de AGPI por inclusión de urea**

Concentración de AGPI por el método de inclusión de urea					
Reactivo	Descripción	Cantidad por repetición y tratamiento	Número de tratamiento	Número de repeticiones	Total reactivo
Urea		15,2 g	3	3	136,8 g
Etanol	Concentración al 96 %	91,5 mL	3	3	824 mL
Ácido clorhídrico	Concentración 0,1 N	150 mL	3	3	1,35 L
Hexano	C ₆ H ₁₄	375 mL	3	3	3,40 L

Fuente: elaboración propia

3.7. Técnica cuantitativa

El presente trabajo de investigación es de carácter experimental y se trabajó con una técnica cuantitativa, para determinar la cantidad de ácidos grasos de interés alimentación presentes en la biomasa de la microalga por medio de cromatografía gaseosa. Se analizó la influencia de la temperatura de cristalización en el método de inclusión de urea sobre el rendimiento de ácidos grasos de las muestras de biomasa.

Para determinar la cantidad de ácidos grasos de interés alimentario en la microalga (*Chlorella vulgaris*), se procedió a realizar la extracción de los ácidos grasos por saponificación directa. Se obtuvieron muestras iguales de biomasa a las cuales se les aplicaron los siguientes tratamientos: caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos presentes en la biomasa, caracterización fisicoquímica de ácidos grasos obtenidos por saponificación directa, caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por el método de inclusión de urea a 3 temperaturas diferentes y caracterización fisicoquímica de ácidos grasos presentes en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 3 temperaturas diferentes.

3.8. Procedimiento

Se describirá el procedimiento para la saponificación directa, la extracción de ácidos grasos y la concentración de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) por el método de inclusión de urea.

3.8.1. Extracción de ácidos grasos de la biomasa

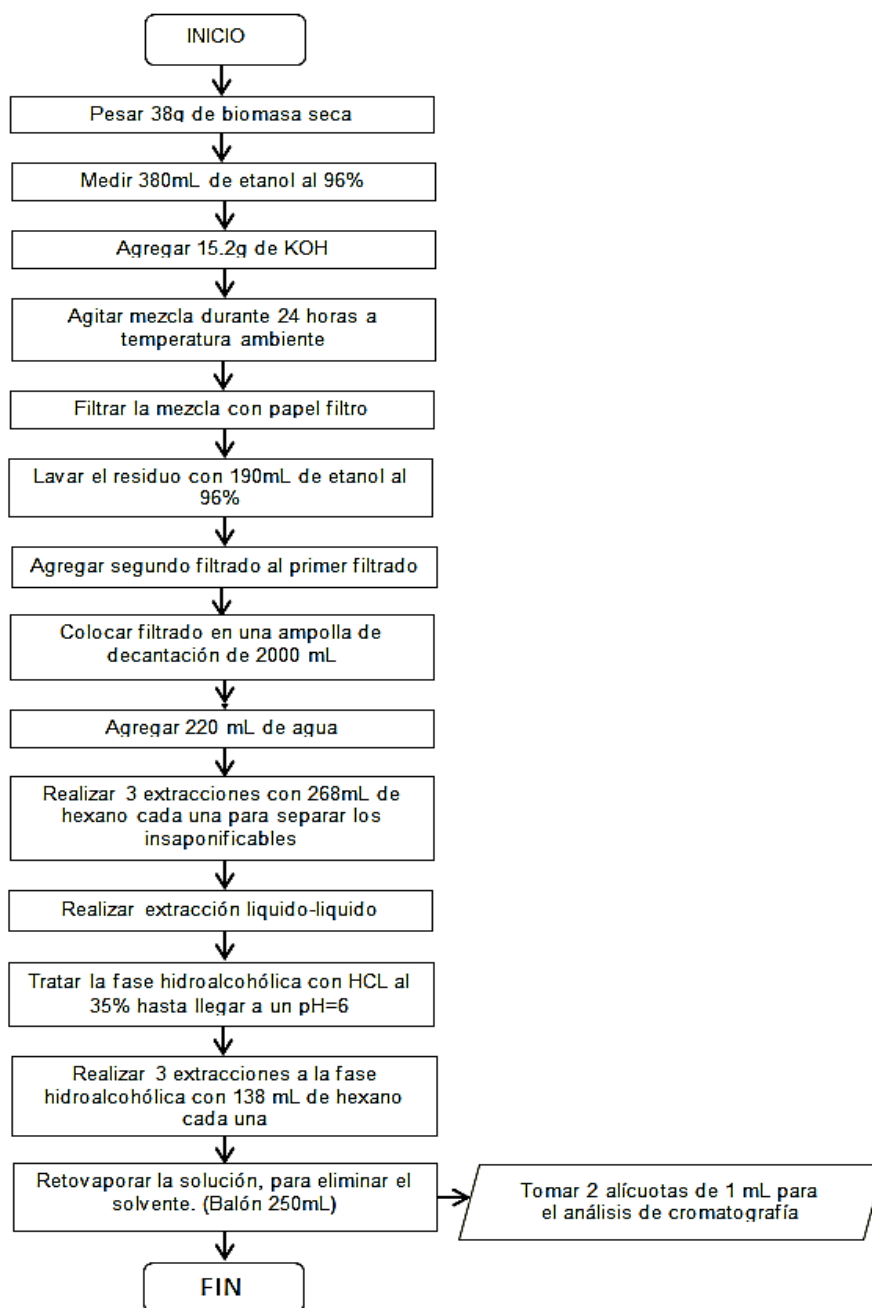
El proceso de preparación de las muestras consiste en secar la biomasa de la microalga por medio del método de liofilización.

3.8.2. Extracción de ácidos grasos de la biomasa

- Tomar una muestra de 38 g de biomasa seca.
- Colocar en un *beacker*, 380 mL de solución de etanol al 96 %.
- Agregar 15,2 g de KOH.
- Mezclar solución etanol/KOH con la biomasa.
- Dejar en agitación constante durante 24 horas a temperatura ambiente.
- Filtrar la mezcla con papel filtro.
- Lavar el residuo con 190 mL de etanol al 96 %.
- Agregar segundo filtrado al primero.
- Colocar filtrado total en una ampolla de decantación de 2 000 mL.
- Agregar 220 mL de agua.
- Realizar 3 extracciones con 268 mL de hexano cada una para separar los insaponificables.

- Realizar extracción líquido-líquido.
- Tratar la fase hidroalcohólica con HCl al 35 % hasta llegar a un pH=6.
- Realizar 3 extracciones con 138 mL de hexano cada una, a la fase hidroalcohólica.
- Colocar en un balón de 250 mL las 3 extracciones con hexano
- Retovaporar la solución que contiene ya los ácidos grasos, para eliminar el solvente (Hexano).
- Tomar 2 alícuotas de 1 mL para el análisis de cromatografía gaseosa.

Figura 7. **Diagrama de flujo para la extracción de ácidos grasos de la Biomasa**

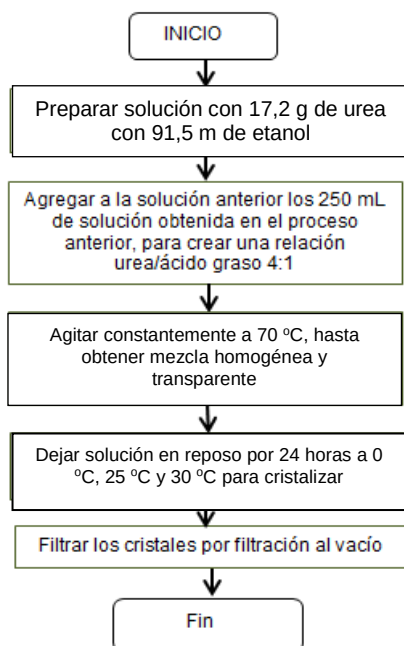


Fuente: elaboración propia

3.8.3. Concentración de AGPI por el método de inclusión de Urea

- Preparar una solución con 17,2 g de urea y 91,5 mL de etanol.
- Adicionar esta solución a los 250 mL de solución, obtenida en el proceso anterior, para crear una relación urea/ácidos grasos 4:1.
- Agitar constantemente a 70 °C, hasta tener una mezcla homogénea y transparente.
- Dejar la solución en reposo por 24 horas a temperatura de 0 °C, 25 °C 35 °C, según sea el caso para que se realice la cristalización.
- Filtrar los cristales por filtración al vacío.

Figura 8. **Diagrama de flujo para la concentración de AGPI por el método de inclusión de urea**

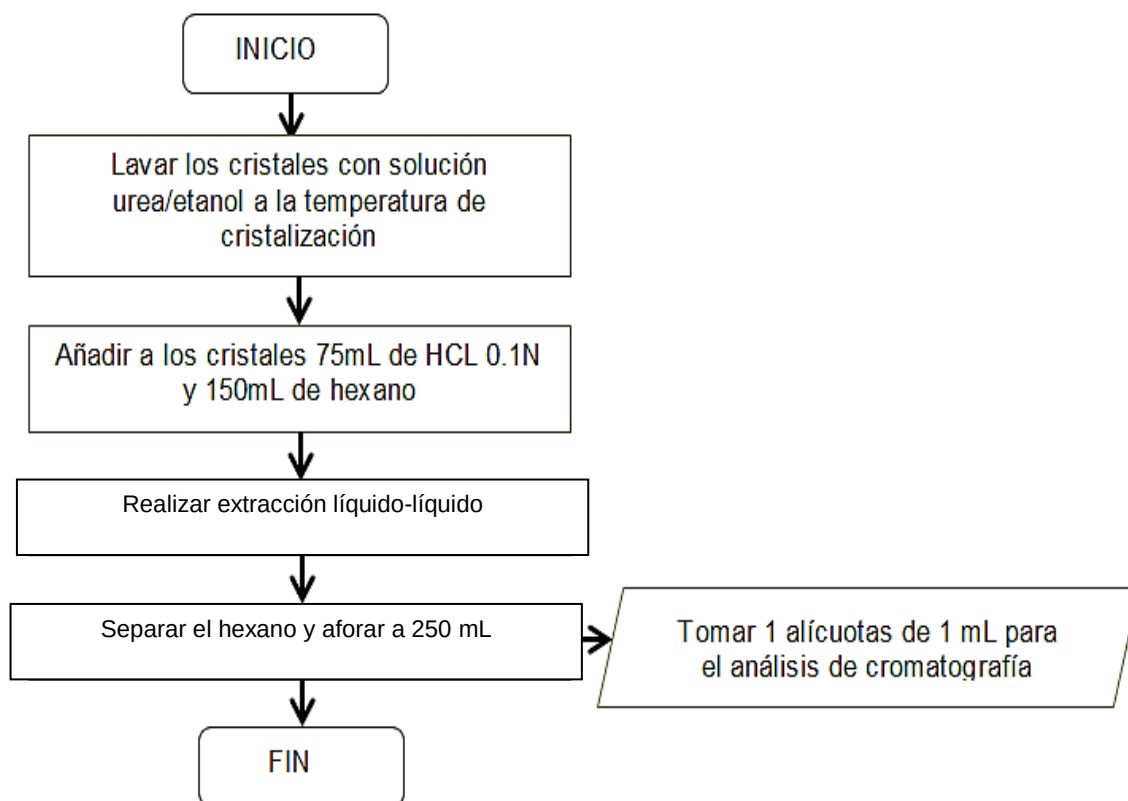


Fuente: Elaboración propia

3.8.4. Análisis de los cristales.

- Lavar los cristales con una solución de urea/etanol a la temperatura de cristalización.
- Añadir a los cristales 75 mL de HCl 0,1 N y 150 mL de Hexano.
- Realizar extracción líquido-líquido.
- Separar el Hexano y aforar a 250 mL
- Tomar 1 alícuota de 1 mL para el análisis de cromatografía gaseosa.

Figura 9. Diagrama de flujo para Análisis de los cristales.

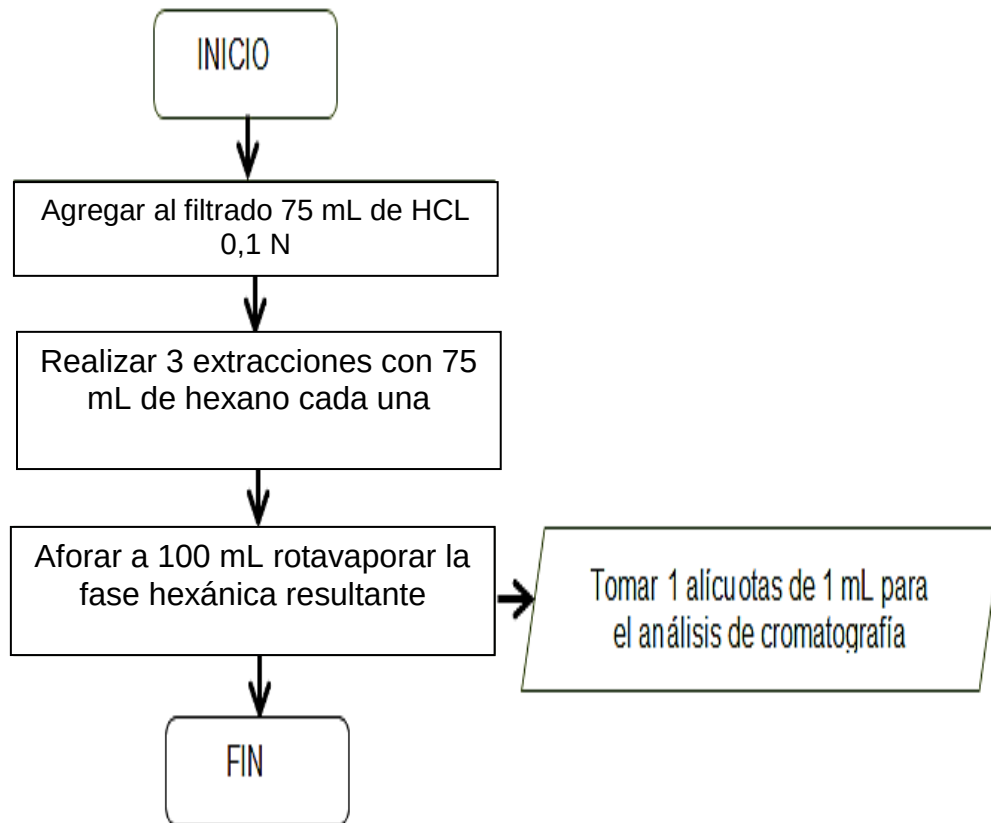


Fuente: elaboración propia

3.8.5. Análisis del filtrado

- Agregar al filtrado, 75 mL de HCl 0,1 N
- Realizar 3 extracciones con 75 mL de Hexano cada una
- Aforar a 100 ml y retovaporar la fase hexánica resultante.
- Tomar una alícuota de 1 mL para el análisis cromatográfico.

Figura 10. **Diagrama de flujo para el análisis del filtrado**



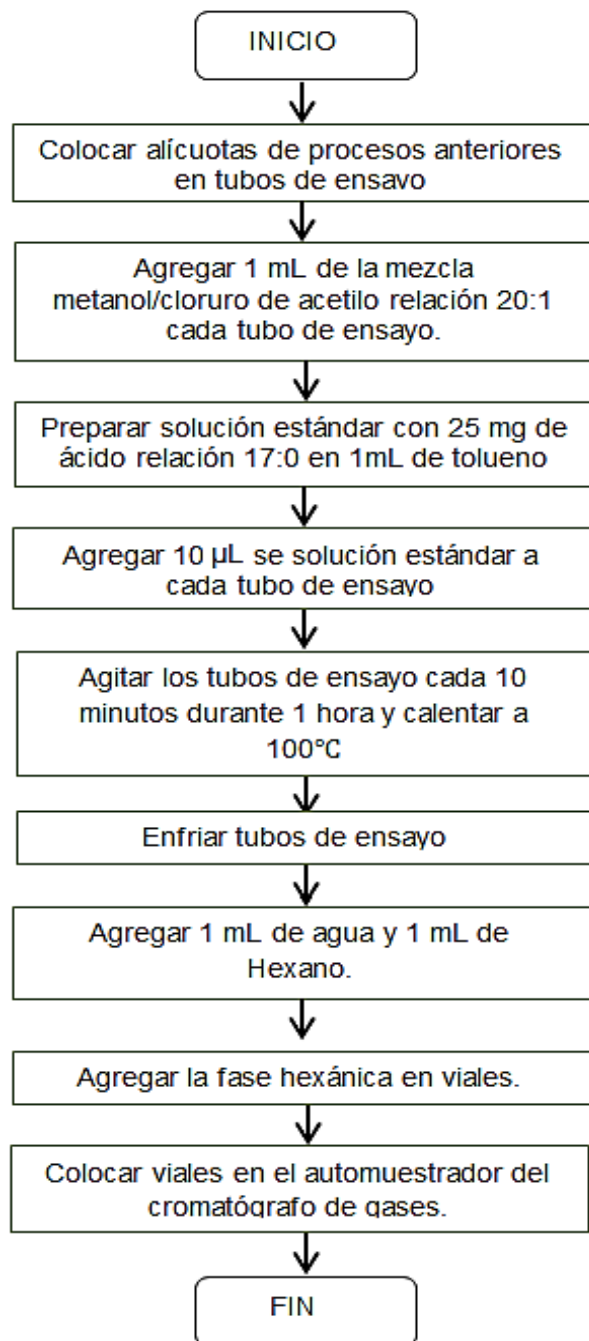
Fuente: elaboración propia

3.8.6. **Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.**

- Colocar las alícuotas de los procesos anteriores en tubos de ensayo
- Agregar 1 mL de la mezcla metanol/cloruro de acetilo relación 20:1 cada tubo de ensayo.
- Preparar solución estándar con 25 mg de ácido relación 17:0 en 1mL de tolueno.
- Agregar 10 μ L de solución estándar a cada tubo de ensayo.

- Agitar los tubos de ensayo cada 10 minutos durante 1 hora y calentar a 100 °C.
- Enfriar los tubos de ensayo.
- Agregar 1 mL de agua y 1 mL de Hexano.
- Agregar la fase hexánica en viales.
- Colocar viales en el automuestrador del cromatógrafo de gases.

Figura 11. **Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa**



Fuente: elaboración propia

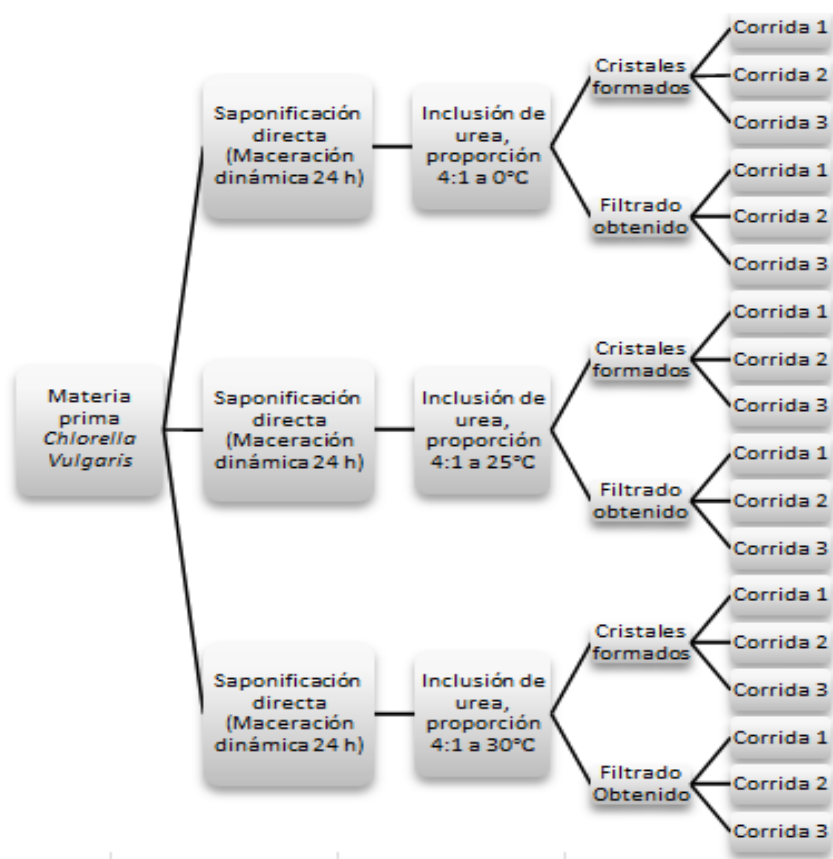
3.9. Diseño de tratamientos

El método de inclusión de urea se aplicó a tres temperaturas:

- 0 °C
- 25 °C
- 30 °C

De cada tratamiento se realizaron 3 corridas

Figura 12. Diagrama de clasificación de muestras



Fuente: elaboración propia

3.9.1. Descripción de la clasificación de muestras

Muestra 1: materia prima, microalgas base seca

- Muestra 1.1: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en la biomasa
- Procedimiento: Extracción de ácidos grasos por saponificación directa
 - Muestra 1.2: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por saponificación directa
 - Procedimiento: concentración de AGPI en el extracto de ácidos grasos por medio del método de inclusión de Urea a 0 °C.
 - Muestra 1.3: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por el método de inclusión de urea a 0 °C.
 - Muestra 1.4: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 0 °C.

Muestra 2: materia prima, microalgas base seca

- Muestra 2.1: Caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en la biomasa
- Procedimiento: Extracción de ácidos grasos por saponificación directa
- Muestra 2.2: Caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por saponificación directa
- Procedimiento: Concentración de AGPI en el extracto de ácidos grasos por medio del método de inclusión de Urea a 25 °C.
 - Muestra 2.3: Caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por el método de inclusión de urea a 25 °C.
 - Muestra 2.4: Caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 25 °C.

Muestra 3: materia prima, microalgas base seca

- Muestra 3.1: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en la biomasa
- Procedimiento: extracción de ácidos grasos por saponificación directa
 - Muestra 3.2: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por saponificación directa
 - Procedimiento: concentración de AGPI en el extracto de ácidos grasos por medio del método de inclusión de Urea a 30°C.
 - Muestra 3.3: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa obtenidos por el método de inclusión de urea a 30 °C.
 - Muestra 3.4: caracterización fisicoquímica de ácidos grasos por cromatografía gaseosa presentes en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 30 °C.

Como se pueden observar se tomarán 3 muestras de biomasa debido a que se realizará a 3 temperaturas diferentes de cristalización de las cuales se tomaran 4 submuestras para realizar la comparación entre ácidos grasos en la biomasa en la extracción por saponificación, después de aplicar el método de urea y los ácidos grasos presentes en los cristales de urea. Se harán 3 repeticiones, dando un total de 36 muestras.

3.10. Recolección y ordenamiento de la información

Tabla XV. Datos del procedimiento de saponificación directa

Corrida	Tara Beacker (g)	Materia prima (g)	Cantidad de solvente (mL)	Cantidad de KOH (g)	Tiempo de maceración dinámica (h)	Cantidad de filtrado de saponificación (mL)	Cantidad de segunda filtración (lavado con etanol) (mL)	Filtrado total (mL)
1	298,2312	38,0021	380,000	15,2000	24	376	185	561
	298,2534	38,0001	380,000	15,2040	24	370	180	550
	298,2222	38,0023	380,000	15,2021	24	377	183	560
2	298,2256	38,0001	380,000	15,2002	24	370	186	556
	298,2330	38,0045	380,000	15,2010	24	372	187	559
	298,2391	38,0010	380,000	15,2002	24	376	183	559
3	298,2503	38,0022	380,000	15,0024	24	379	186	565
	298,2517	38,0001	380,000	15,0015	24	369	180	549
	298,2533	38,0003	380,000	15,0007	24	375	181	556

Fuente: elaboración propia

Tabla XVI. Datos del procedimiento de obtención de ácidos grasos

Corrida	Filtrado total (mL)	Cantidad de Hexano utilizado para las extracciones (mL)	pH fase hidro-alcohólica	Cantidad de solución después de rotavaporar (mL)	Alícuota para cromatografía (mL)
1	561,0	138,0	6,2	250,0	4,7
	550,0	138,0	6,1	250,0	5,3
	560,0	138,0	6,0	250,0	6,2
2	556,0	138,0	5,9	250,0	4,4
	559,0	138,0	6,2	250,0	3,5
	559,0	138,0	6,0	250,0	6,2
3	565,0	138,0	6,0	250,0	5,3
	549,0	138,0	5,9	250,0	5,1
	556,0	138,0	6,1	250,0	5,0

Fuente: elaboración propia

Tabla XVII. Datos para procedimiento de concentración de AGPI por inclusión de urea

Corrida	Tara Beacker (g)	Relación urea/ácido graso	Temperatura de agitación (°C)	Tiempo de reposo para cristalización (h)	Temperatura de cristalización (°C)	Peso de cristales (g)	Filtrado (mL)	Cantidad de solución después de retovaporar (mL)	Alicuota para cromatografía (mL)	Extracto total (g)
1	298,2311	4:1	70	24	0	5,0641	226	100	5,2	0,7025
	298,2533	4:1	65	24	25	4,5610	230	100	4,3	0,8265
	298,2220	4:1	75	24	30.3	4,6420	235	100	3,8	0,7548
2	298,2251	4:1	69	24	0.5	4,3411	233	100	6,1	0,7774
	298,2337	4:1	65	24	25.5	6,0942	223	100	5,6	0,6897
	298,2393	4:1	68	24	29.8	6,3210	239	100	5,4	0,8591
3	298,2509	4:1	66	24	0	4,2304	240	100	4,8	0,5128
	298,2512	4:1	69	24	25.5	5,8902	224	100	4,6	0,4365
	298,2534	4:1	70	24	30	4,9378	229	100	5,9	0,9825

Fuente: elaboración propia

3.11. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de información

Tabla XVIII. Rendimiento de ácidos grasos

Corrida	Materia prima (g)	Extracto total (g)	% de rendimiento	Promedio %	Desviación estándar %
1	38,0021	0,7025	1,85	2,01	0,17
	38,0001	0,8265	2,18		
	38,0023	0,7548	1,99		
2	38,0001	0,7774	2,05	2,04	0,22
	38,0045	0,6897	1,82		
	38,0010	0,8591	2,26		
3	38,0022	0,5128	1,35	2,57	1,22
	38,0001	0,4365	3,78		
	38,0003	0,9825	2,59		

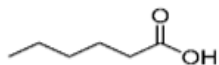
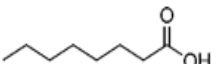
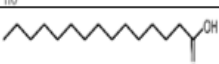
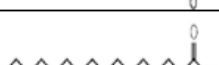
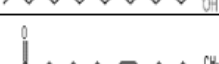
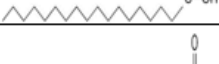
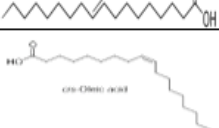
Fuente: elaboración propia

Tabla XIX. Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos por saponificación directa, promedio y desviación estándar

Ácido graso	Saponificación directa corrida 1	Saponificación directa corrida 2	Saponificación directa corrida 3	Saponificación directa promedio	Desviación estándar
Palmitico (C16:0)	25,577 %	25,449 %	24,722 %	25,249 %	0,461 %
Palmitoleico (C16:1)	3,310 %	1,000 %	1,450 %	1,920 %	1,225 %
Margarico (C17:0)	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
Esteárico (C18:0)	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %	0,000 %
Trans-Oleico (trans C18:1)	1,730 %	1,910 %	0,000 %	1,213 %	1,055 %
Oleico (cis C18:1)	3,930 %	2,800 %	2,420 %	3,050 %	0,785 %
Linoléico (cis C18:2)	62,120 %	68,850 %	67,964 %	66,311 %	3,657 %
Linolénico (C18:3)	3,330 %	0,000 %	3,440 %	2,257 %	1,955 %

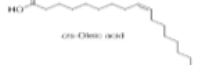
Fuente: elaboración propia

Tabla XX. **Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en la biomasa y por saponificación directa**

Componente químico	Biomasa	Saponificación directa	Familia	Estructura química
	Porcentaje de área	Porcentaje de área		
Caproico (C6:0)	0,900 %	-	Ácido graso saturado	
Caprílico (C8:0)	0,200 %	-	Ácido graso saturado	
Mirístico (C14:0)	1,770 %	-	Ácido graso saturado	
Miristoleico (C14:1 n9)	1,550 %	-	Omega 5	
Pentadecanoico (C15)	0,700 %	-	Ácido graso saturado	
Palmitico (C16:0)	26,932 %	25,249 %	Ácido graso saturado	
Palmitoleico (C16:1)	4,170 %	1,920 %	Omega 7	
Margárico (C17:0)	1,010 %	-	Ácido graso saturado	
Estearico (C18:0)	12,780 %		Ácido graso saturado	
Trans-Oleico (trans C18:1)	2,720 %	1,213 %	Omega 9	
Oleico (cis C18:1, AO)	25,273 %	3,050 %	Omega 9	
Linoléico (cis C18:2, AL)	20,885 %	66,311 %	Omega 6	
Linolénico (C18:3, ALA)	1,200 %	2,257 %	Omega 3	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla XXI. **Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el método de inclusión de urea**

Componente químico	Método de inclusión de urea 0 °C	Método de inclusión de urea 25 °C	Método de inclusión de urea 30 °C	Familia	Estructura química
	Porcentaje de área	Porcentaje de área	Porcentaje de área		
Láurico (C12:0)	0,400 %	-	-	Ácido graso saturado	
Palmitico (C16:0)	18,021 %	24,366 %	24,174 %	Ácido graso saturado	
Palmitoleico (C16:1)	2,330 %	3,280 %	3,110 %	Omega 7	
Trans-Oleico (trans C18:1)	1,870 %	2,170 %	1,660 %	Omega 9	
Oleico (cis C18:1)	3,760 %	3,920 %	3,690 %	Omega 9	
Linoléico (cis C18:2)	70,412 %	62,375 %	64,141 %	Omega 6	
Linolénico (C18:3, ALA)	3,260 %	3,900 %	3,23 %	Omega 3	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXII. Datos de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) de ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea

Componente químico	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 0 °C	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 25 °C	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 30 °C	Familia
	Porcentaje de área	Porcentaje de área	Porcentaje de área	
Láurico (C12:0)	1,700 %	-	-	Ácido graso saturado
Palmítico (C16:0)	41,045 %	27,332 %	28,686 %	Ácido graso saturado
Palmitoleico (C16:1)	-	-	-	Omega 7
Trans-Oleico (trans C18:1)	-	-	-	Omega 9
Oleico (cis C18:1)	2,380 %	-	5,750 %	Omega 9
Linoléico (cis C18:2)	54,867 %	72,668 %	65,565 %	Omega 6
Linolénico (C18:3)	-	0,000 %	0,000 %	Omega 3

Fuente: elaboración propia.

3.12. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de datos se utilizarán los siguientes métodos

3.12.1. Media

La siguiente ecuación indica el promedio de una medición. Indica el valor alrededor del cual se agrupan los datos, dando una idea de cómo están centrados los datos y proporciona mayor facilidad para realizar comparaciones

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{N}$$

Ecuación Núm. 2

$\bar{X}$	Media de los datos
$\sum X_i$	Sumatoria de valores
N	Número de datos

3.12.2. Desviación estándar

Es una medida de dispersión, indica cuánto pueden alejarse los valores respecto a la media

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

Ecuación Núm. 4

σ Desviación estándar

$\bar{X}$ Media de los datos

X_i Valor individual de cada dato

N Número de datos

3.12.3. Análisis de varianza de un factor (ANOVA)

Para un análisis experimental de resultados, el análisis de la varianza permite aprobar hipótesis, ya sea la hipótesis nula o hipótesis alternativa. Un ANOVA consiste en determinar si el factor que se va a estudiar (tratamiento) influye sobre la variable respuesta (variable dependiente). Para ello, compara la varianza entre las medias de los grupos y la varianza dentro de los grupos para determinar si los grupos forman parte una misma población o son poblaciones separadas con características distintas. La hipótesis nula (H_0) indica que, al aplicar tratamientos, las variables respuesta son iguales, mientras que la hipótesis alternativa (H_1) describe que por lo menos una de las variables respuesta difiere de las demás.

$$H_0: y_1 = y_2 = y_3 \dots$$

$$H_1: y_1 \neq y_2 \neq y_3 \dots$$

Un ANOVA para el presente trabajo de investigación se realizó en el programa, Microsoft Excel. Para el presente trabajo de investigación, los factores serán las temperaturas de cristalización del método de inclusión de urea y la variable respuesta será el rendimiento de los ácidos grasos. Para aceptar o rechazar una hipótesis estadística, se hizo basándose en la distribución de Fisher. Se utilizó una confiabilidad del 95 % y se comparó la F crítica con la F calculada a partir de los siguientes criterios para el análisis de varianza:

Si $F > F_{Crítica}$, se rechaza la hipótesis nula.

Si $F < F_{Crítica}$, se acepta la hipótesis nula.

3.12.4. Resultado análisis ANOVA

Tabla XXIII. **Análisis de varianza para la concentración de AGPI linoléico variando la temperatura de cristalización 25, 30 y 0 °C**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	107,039	2	53,5195	81,905	4,411E-05	5,143
Dentro de los grupos	3,920	6	0,653			

Fuente: elaboración propia

Tabla XXIV. **Análisis de varianza para la concentración de AGPI linolénico variando la temperatura de cristalización 25, 30 y 0 °C**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,859	2	0,429	4687,07	2,617E-10	5,143
Dentro de los grupos	0,00055	6	9,168E-05			

Fuente: elaboración propia

3.12.5. Conclusión análisis ANOVA

Utilizando una confiabilidad del 95 %. Dado que F experimental es mayor que F crítica, ($F > F_c$), y la probabilidad $< \alpha$, se rechaza la hipótesis nula para el ácido linoléico (AL) y para el ácido linolénico (ALA). Esto infiere que el rendimiento de los ácidos grasos poliinsaturados, %AGPI presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*, difieren significativamente entre sí al variar la temperatura de cristalización (T_c). La temperatura de cristalización (T_c) si afecta significativamente el rendimiento del ácido linoléico (AL) y linolénico (ALA).

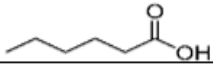
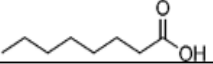
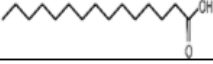
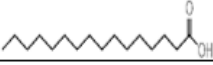
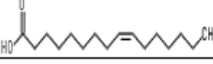
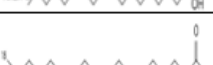
4. RESULTADOS

Tabla XXV. Rendimiento extractivo de ácidos grasos presentes en la microalga *Chlorella Vulgaris*

Corrida	Materia prima (g)	Extracto total (g)	% de rendimiento	Promedio %	Desviación estándar %
1	38,0021	0,7025	1,85	2,01	0,17
	38,0001	0,8265	2,18		
	38,0023	0,7548	1,99		
2	38,0001	0,7774	2,05	2,04	0,22
	38,0045	0,6897	1,82		
	38,0010	0,8591	2,26		
3	38,0022	0,5128	1,35	2,57	1,22
	38,0001	0,4365	3,78		
	38,0003	0,9825	2,59		

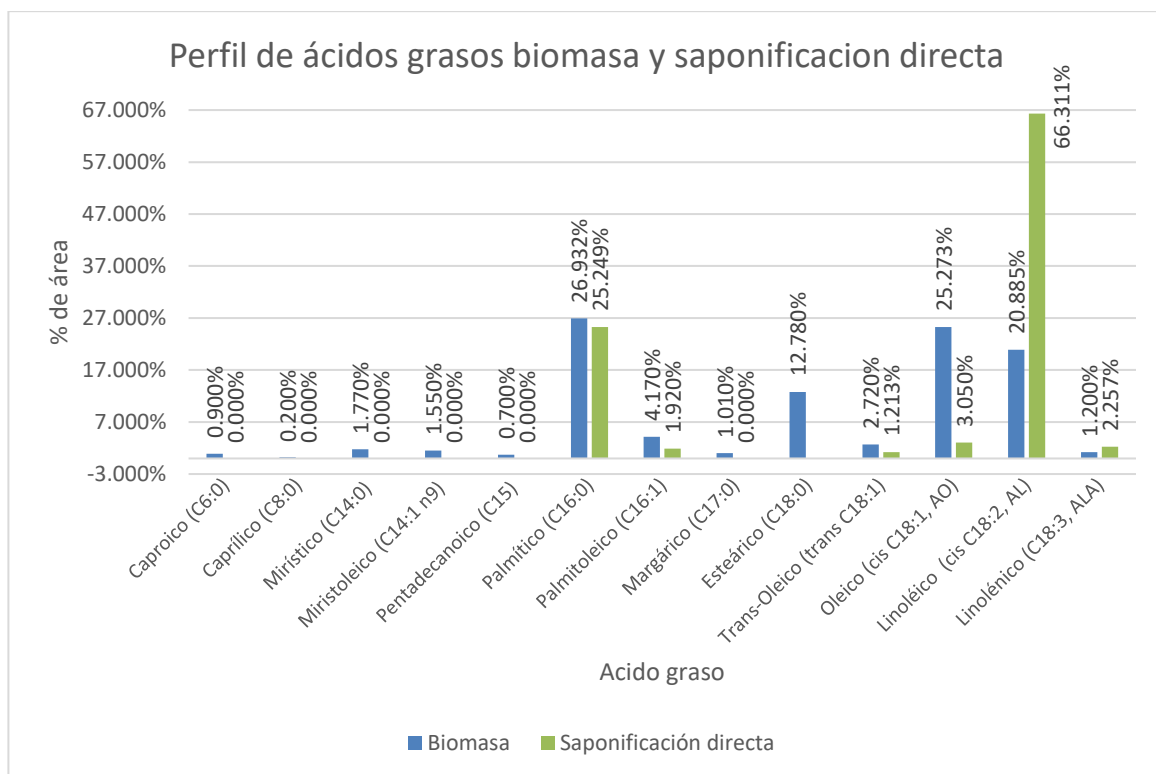
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVI. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos presentes en la biomasa y los obtenidos por saponificación directa**

Componente químico	Biomasa	Saponificación directa	Familia	Estructura química
	Porcentaje de área %	Porcentaje de área %		
Caproico (C6:0)	0,900	-	Ácido graso saturado	
Caprílico (C8:0)	0,200	-	Ácido graso saturado	
Mirístico (C14:0)	1,770	-	Ácido graso saturado	
Miristoleico (C14:1 n9)	1,550	-	Omega 5	
Pentadecanoico (C15)	0,700	-	Ácido graso saturado	
Palmítico (C16:0)	26,932	25,249	Ácido graso saturado	
Palmitoleico (C16:1)	4,170	1,920	Omega 7	
Margárico (C17:0)	1,010	-	Ácido graso saturado	
Esteárico (C18:0)	12,780		Ácido graso saturado	
Trans-Oleico (trans C18:1)	2,720	1,213	Omega 9	
Oleico (cis C18:1, AO)	25,273	3,050	Omega 9	
Linoléico (cis C18:2, AL)	20,885	66,311	Omega 6	
Linolénico (C18:3, ALA)	1,200	2,257	Omega 3	

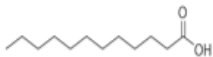
Fuente: elaboración propia.

Figura 13. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos presentes en la biomasa y los obtenidos por saponificación directa**



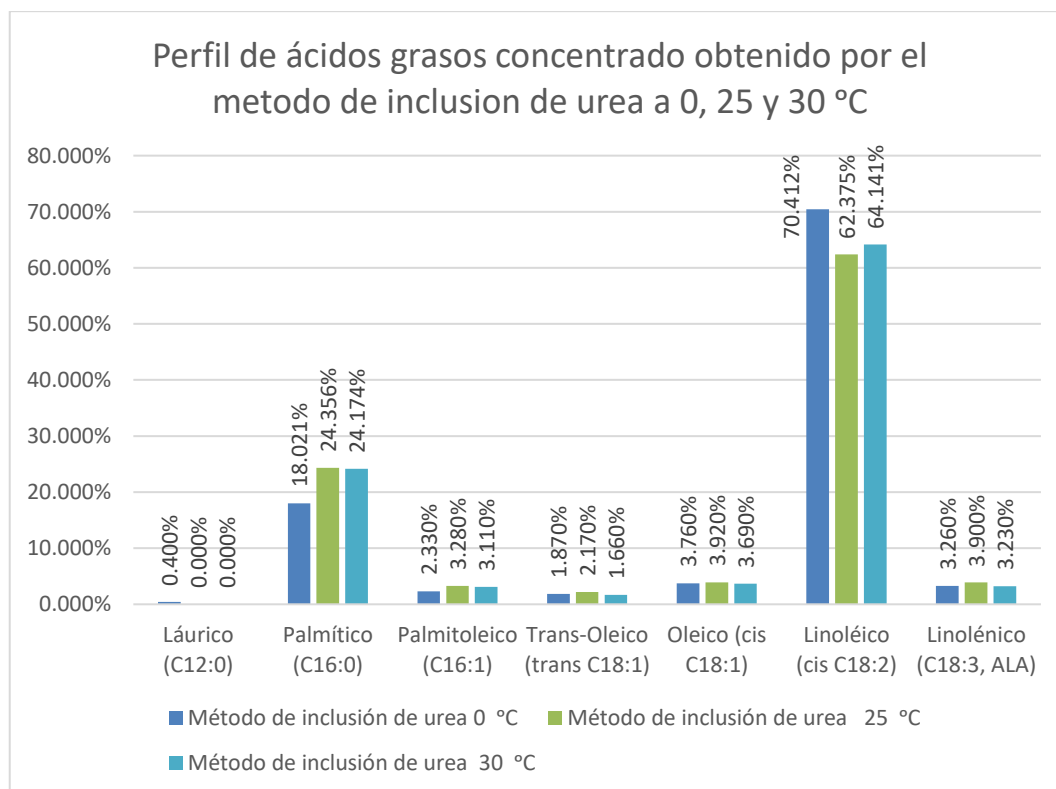
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVII. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el método de inclusión de urea**

Componente químico	Método de inclusión de urea 0 °C	Método de inclusión de urea 25 °C	Método de inclusión de urea 30 °C	Familia	Estructura química
	Porcentaje de área %	Porcentaje de área %	Porcentaje de área %		
Láurico (C12:0)	0,400	-	-	Ácido graso saturado	
Palmítico (C16:0)	18,021	24,366	24,174	Ácido graso saturado	
Palmitoleico (C16:1)	2,330	3,280	3,110	Omega 7	
Trans-Oleico (trans C18:1)	1,870	2,170	1,660	Omega 9	
Oleico (cis C18:1)	3,760	3,920	3,690	Omega 9	
Linoléico (cis C18:2)	70,412	62,375	64,141	Omega 6	
Linolénico (C18:3, ALA)	3,260	3,900	3,230	Omega 3	

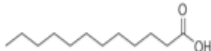
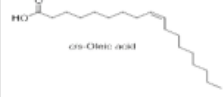
Fuente: elaboración propia.

Figura 14. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en el concentrado obtenido por el método de inclusión de urea**



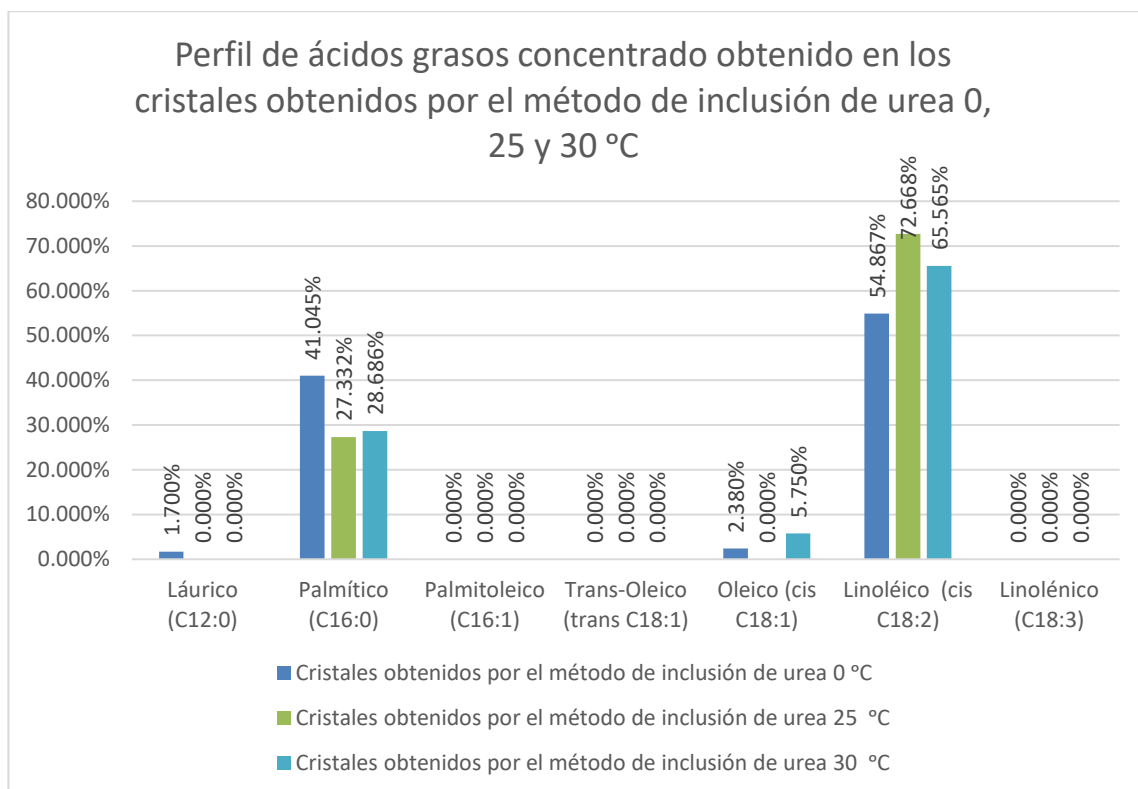
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVIII. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea**

Componente químico	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 0 °C	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 25 °C	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 30 °C	Familia	Estructura química
	Porcentaje de área %	Porcentaje de área %	Porcentaje de área %		
Láurico (C12:0)	1,700	-	-	Ácido graso saturado	
Palmítico (C16:0)	41,045	27,332	28,686	Ácido graso saturado	
Palmitoleico (C16:1)	-	-	-	Omega 7	
Trans-Oleico (trans C18:1)	-	-	-	Omega 9	
Oleico (cis C18:1)	2,380	-	5,750	Omega 9	
Linoléico (cis C18:2)	54,867	72,668	65,565	Omega 6	
Linolénico (C18:3)	-	-	-	Omega 3	

Fuente: elaboración propia.

Figura 15. **Caracterización fisicoquímica de los ácidos grasos obtenidos en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea**



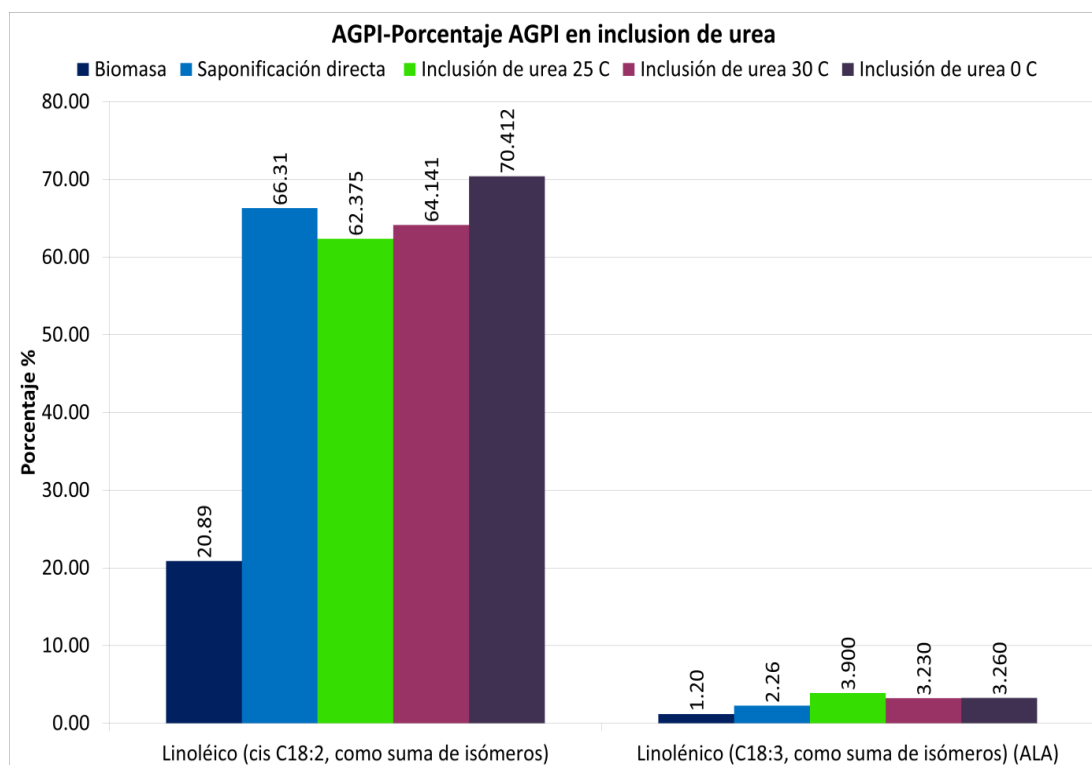
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIX. Resumen: Caracterización fisicoquímica de ácidos grasos totales de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*, del extracto obtenido por saponificación directa y del extracto después de aplicar el método de inclusión de urea y en los cristales de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C

Perfil lipídico	Biomasa	25 °C			30 °C			0 °C		
	Fracción lipídica %	Saponificación directa %	Método de Inclusión de urea %	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea %	Saponificación directa %	Método de Inclusión de urea %	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea %	Saponificación directa %	Método de Inclusión de urea %	Cristales obtenidos por el método de inclusión de urea %
Caproico (C6:0)	0,900	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Caprílico (C8:0)	0,200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Láurico (C12:0)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.400	1.700
Mirístico (C14:0)	1,770	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Miristoleico (C14:1 n9)	1,550	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pentadecanoico (C15)	0,700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palmitico (C16:0)	26,932	25.577	24.356	27.332	25.449	24.174	28.686	24.722	18.021	41.045
Palmitoleico (C16:1)	4,170	3.310	3.280	-	1.000	3.110	-	1.450	2.330	-
Margarico (C17:0)	1,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esteárico (C18:0)	12,780	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trans-Oleico (trans C18:1)	2,720	1.730	2.170	-	1.910	1.660	-	-	1.870	-
Oleico (cis C18:1)	25,273	3.930	3.920	-	2.800	3.690	5.750	2.420	3.760	2.380
Linoléico (cis C18:2)	20,885	62.120	62.375	72.668	68.850	64.141	65.565	67.964	70.412	54.867
Linolénico (C18:3)	1,200	3.330	3.900	0.000	-	3.230	0.000	3.440	3.260	-

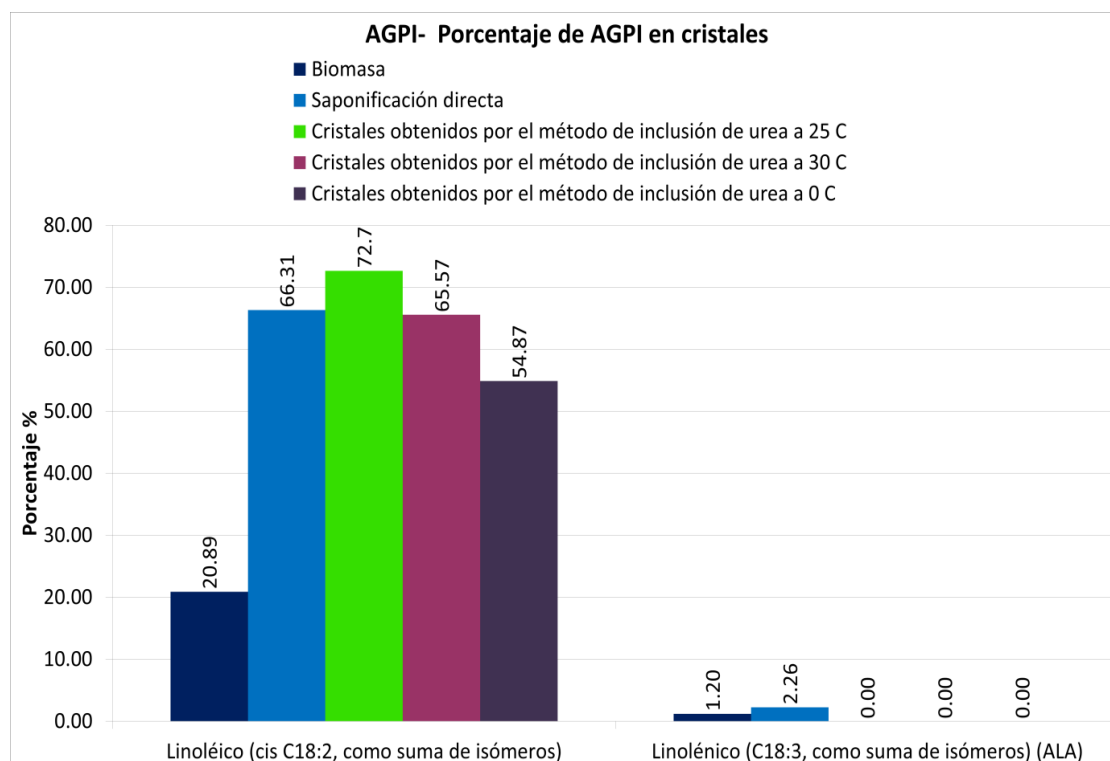
Fuente: elaboración propia

Figura 16. Comparación del perfil de ácidos grasos obtenido de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*, del extracto obtenido por saponificación directa y del extracto después de aplicar el método de inclusión de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C.



Fuente: elaboración propia

Figura 17. **Comparación del perfil de ácidos grasos obtenido de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*, del extracto obtenido por saponificación directa y de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a 25 °C, 30 °C y 0 °C.**



Fuente: elaboración propia

5. INTERPRETACIÓN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el contenido de ácidos grasos de interés alimentario presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*. Se realizó un análisis directo a la biomasa para conocer el perfil de ácidos grasos. Para determinar los ácidos grasos presentes, se utilizó el método de saponificación directa. Con el objetivo de concentrar los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presentes, se aplicó el método de inclusión de urea para aumentar el rendimiento de los AGPI a tres temperaturas y evaluar si existe un aumento en el rendimiento y si la temperatura es una variable que influye en el rendimiento de los AGPI presentes.

En la tabla XXV se muestra el resultado del rendimiento de ácidos grasos obtenidos después de realizar la saponificación directa y la separación de ácidos grasos, en promedio se obtuvo un rendimiento de 1,91 % de extracción de ácidos grasos de la microalga *Chlorella vulgaris*.

En la tabla XXVI y 13 se puede observar el perfil de ácidos grasos de la biomasa de la microalga, se muestra la presencia de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados de interés alimentario como, caproico, caprílico, mirístico, miristoleico, pentadecanoico, palmítico, palmitoleico, margárico, esteárico, oleico (cis y trans) (AO), linoléico (AL) y linolénico (ALA). Se obtuvo que los ácidos grasos mayoritarios presentes en la biomasa fue el ácido palmítico con 26,931 %, ácido oleico-cis (AO) con 25,273 % y linoléico (AL) con 20,885 % respectivamente.

Para realizar la saponificación directa de la microalga, se utilizó maceración dinámica con etanol e hidróxido de potasio. Después de la aplicación de este tratamiento, se analizó una muestra por medio de cromatografía gaseosa y detector de llama de ionización (FID) para analizar el perfil de ácidos grasos. En la tabla XXVI y 13, se muestra el perfil de ácidos grasos obtenidos en la saponificación directa, se muestra la presencia de los siguientes ácidos grasos: palmítico, palmitoleico, trans-oleico, oleico (Cis, AO), linoléico (AL) y linolénico (ALA), siendo el linoléico (AL) el mayoritario con 66,311 %, seguido por el palmítico con 25,249 %. Algunos ácidos grasos saturados ya no fueron detectados después de realizar el tratamiento de saponificación.

Al extracto obtenido por saponificación directa se le aplicó el método de inclusión de urea, que tiene como objetivo concentrar los ácidos grasos poliinsaturados, también conocidos como ácidos grasos esenciales ya que el cuerpo humano no puede sintetizarlos y por eso son de gran importancia en la industria alimentaria. El procedimiento se realizó a 0 °C, 25 °C y 30 °C y se determinó si la temperatura es una variable que afecta al proceso de concentración de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).

En la tabla XXVII y en la 14, se puede observar el resultado del análisis del perfil de ácidos grasos al concentrado obtenido después de aplicar el método de inclusión de urea, se detectaron los siguientes ácidos grasos: láurico, palmítico, palmitoleico, trans-oleico, oleico (cis, AO), linoléico (AL) y linolénico (ALA). En este procedimiento los ácidos grasos de interés son el linoléico (AL) y linolénico (ALA), por ser ácidos grasos poliinsaturados, siendo el linoléico (AL) el mayoritario en las tres temperaturas, a 25 °C se obtuvo 62,375 %, a 30 °C, 64,141 % y 0 °C, 70,412 %.

En la tabla XXVIII y en la 15, se puede observar el resultado del análisis del perfil de ácidos grasos a los cristales obtenidos después de aplicar el método de inclusión de urea, se detectaron los siguientes ácidos grasos: láurico, palmítico, palmitoleico, tras-oleico, oleico (cis, AO) y linoléico (AL), siendo este último el mayoritario en las tres temperaturas, a 25 °C se obtuvo 72,668 %, a 30 °C, 65,565 % y 0 °C, 54,867 %. El ácido linolénico (ALA) ya no se detectó en los cristales de urea.

Según el análisis de la varianza de un factor (ANOVA) se determinó que la temperatura de cristalización (T_c) si afecta significativamente la obtención de los ácidos grasos poliinsaturados, presentes en la microalga *Chlorella vulgaris*, % de detección del ácido linoléico (AL) y del ácido linolénico (ALA). Por lo que la temperatura de cristalización es una variable muy importante para la obtención de estos ácidos grasos.

En la tabla XXIX se muestran un resumen de los resultados del perfil de ácidos grasos de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* del extracto obtenido por saponificación directa, del extracto obtenido al aplicar el método de inclusión de urea y de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea

En la 16 se hace una comparación entre la concentración de los AGPI presentes en la biomasa, los obtenidos por saponificación directa y los obtenidos en el extracto después de realizar el procedimiento de inclusión de urea a tres temperaturas diferentes, 0 °C, 25 °C y 30 °C, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) que se detectaron después de realizar este procedimiento fueron el linoléico (AL) y linolénico (ALA) siendo los mayoritarios.

El ácido linoléico (AL) está presente en la biomasa en un 20,89 %, después de realizar la saponificación directa para obtener los ácidos grasos saponificables, el porcentaje de ácido linoléico aumentó a 66,31 % como era de esperarse. Después se aplicó el método de inclusión de urea para aumentar el rendimiento del ácido linoléico (AL). Se obtuvo el mayor rendimiento a 0 °C siendo este de 70,412 %. Se puede observar que las otras dos temperaturas, 25 °C y 30 °C, el rendimiento de ácido linoléico (AL) disminuyó al compararlo con el rendimiento en el extracto por saponificación directa.

El ácido linolénico (ALA) está presente en la biomasa en un 1,2 %, se encontró presente en la extracción por saponificación directa con un 2,26 % y se obtuvo el mayor rendimiento a 25 °C, siendo este de 3,90 %.

En la 17 se realiza la comparación entre la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presente en la biomasa, en el extracto por saponificación directa y en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea.

En los cristales se detectó el ácido linoléico (AL). El ácido linoléico (AL) sigue siendo el mayoritario. Se puede observar que se obtuvo mayor rendimiento de este ácido graso en los cristales a 25 °C, siendo de 72,67 %. El ácido linolénico (ALA) ya no se detectó en los cristales de urea.

El ácido graso linoléico (AL) y linolénico (ALA) son muy importantes en la industria de alimentos. Como se mencionó al inicio son ácidos grasos esenciales y de ahí proviene la importancia de encontrar fuentes que provean estos ácidos grasos.

El ácido linoléico (AL) que fue el de mayor rendimiento, pertenece al grupo de los omega 6 y tiene funciones esenciales para el ser humano. Este ácido mejora el sistema inmunológico al incrementar las defensas, ayuda al funcionamiento de las neuronas y reduce los niveles de colesterol. Además, a partir del AL puede sintetizarse el ácido araquidónico (AA). El AA tiene 20 carbonos y es importante para la función del sistema nervioso central.

El ácido graso linolénico (ALA) es un omega 3 que ayuda a reducir la inflamación, a la integridad celular, la salud de la piel y del corazón. Además, el cuerpo humano puede sintetizar otros ácidos grasos de cadena más larga a partir del ALA como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) que son dos ácidos grasos omega 3 de gran importancia para el ser humano.

El EPA es necesario para la producción de prostaglandinas, sustancia que controla la coagulación de la sangre. Adicional a esto ayuda a la reducción del colesterol y los triglicéridos. EL DHA por su parte, es indispensable para la formación de los componentes estructurales del cerebro y del sistema nervioso.

La presencia de los ácidos grasos y el porcentaje en el que se detectan dependen del procedimiento y de las condiciones en las que se realice para su extracción. Para este trabajo de investigación, se utilizó maceración dinámica por 24 horas para la extracción de la fracción lipídica y la saponificación directa utilizando hidróxido de potasio y etanol. Para el método de inclusión de urea se realizó la cristalización a 25 °C, 30 °C y 0 °C por 24 horas.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvo un rendimiento de 1,91 % de ácidos grasos obtenidos de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*, con una desviación de 0,44 %.
2. Los ácidos grasos presentes en la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* muestra la presencia de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de interés alimentario como caproico (0,900 %), caprílico (0,200 %), mirístico (1,770 %), miristoleico (1,550 %), pentadecanoico (0,700 %), palmítico (26,932 %), palmitoleico (4,170 %), margárico (1,010 %), esteárico (12,780 %), trans-oleico (2,720 %), oleico cis (25,273 %), linoléico (AL) (20,885 %) y linolénico (ALA) (1,200 %).
3. Los ácidos grasos presentes en el extracto obtenido por saponificación directa de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* muestra la presencia de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de interés alimentario como el ácido palmítico (25,249 %), palmitoleico (1,920 %), trans-oleico (1,213 %), oleico cis (3,050 %), linoléico (AL) (66,311 %) y linolénico (ALA) (2,257 %).
4. Los ácidos grasos poliinsaturados de interés alimentario obtenidos por el método de inclusión de urea a diferentes temperaturas de cristalización de la microalga *Chlorella vulgaris*, muestra la presencia del ácido linoléico (AL) con rendimiento a 25 °C de 62,375 %, a 30 °C de 64,141 % y a 0 °C de 70,412 % y el ácido linolénico (ALA) a 25 °C de 3,900 %, a 30 °C con 3,230 %, y a 0 °C con 3,260 %.

5. Los ácidos grasos poliinsaturados de interés alimentario presentes en los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea a diferentes temperaturas de cristalización, de la microalga *Chlorella vulgaris* muestra la presencia del ácido linoléico (AL) con rendimiento a 25 °C de 72,668 %, a 0 °C de 65,565 % y a -20 °C de 54,867 %.
6. La temperatura de cristalización para el método de inclusión de urea, tiene un efecto significativo sobre el rendimiento de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presentes en microalga *Chlorella vulgaris*. Se obtuvo un mayor rendimiento del ácido linoléico a -20 °C de 70,412 %, mientras que para el ácido linolénico se obtuvo mayor rendimiento a 25 °C de 3,900 %.

RECOMENDACIONES

1. Realizar extracciones de la biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris*, variando el tiempo y temperatura de maceración dinámica.
2. Realizar extracciones de otras especies de microalga.
3. Aplicar el método de inclusión de urea a temperaturas por debajo de 0 °C y mayores a 40 °C para determinar la temperatura que da el rendimiento máximo y mínimo para la obtención de cada AGPI presente en la biomasa.
4. Aplicar el método de inclusión de urea, variando el tiempo de cristalización para determinar el tiempo óptimo de cristalización para la obtención de cada AGPI presente en la biomasa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia SINC, la ciencia es noticia (Fecha). Identifican microalgas con ácidos grasos beneficiosos para la salud. España. Recuperado de <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Identifican-microalgas-con-ácidos-grasos-beneficiosos-para-la-salud>. [Consulta 20 de marzo de 2016].
2. Asturnatura. (2016). Ácidos Grasos. Recuperado de <http://www.asturnatura.com/articulos/lipidos/ácidos-grasos.php>. Consulta [11 de abril de 2016].
3. Bailey E. Alton. (2002). *Aceites y grasas industriales*. España: Editorial Reverte. En línea <https://books.google.com.gt/books?id=xFjGDCmLuKQC&pg=PA33&dq=ácidos+grasos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi2k9Ddp5LMAhUGXB4KHQwPBb8Q6AEIOTAG#v=onepage&q=ácidos%20grasos&f=false>. Consulta: 9 de julio de 2016
4. Belarbi Hassa, E. (1999). *Extracción y purificación del ácido eicosapentaenoico a partir de microalgas (Tesis de doctorado)*. Universidad de Almería, España. En línea <https://books.google.com.gt/books?id=3U8PAQAAQBAJ&pg=PA36&lpg=PA36&dq=concentraci%C3%B3n+de+pufas+por+inclusion+e+urea&source=bl&ots=kIL3zleUQX&sig=RHrIKq8dOeqU3VUZpNvUclcp6t4&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi->

kNrSrabMAhXHKCYKHUIrAvEQ6AEINTAG#v=onepage&q=conce
ntraci%C3%B3n%20de%20pufas%20por%20inclusion%20e%20ur
ea&f=false. Consulta: 22 de julio de 2016

5. Botánica Online. (SF). Propiedades de las grasas monoinsaturadas omega 9. Recuperado de <http://www.botanical-online.com/omega9.htm>. [Consulta 20 de marzo de 2016].
6. Conchillo, Andrés., Valencia. Ivan, Puente, Alberto, Ansorena, Daniel & Astiasaran, Araceli. *Componentes funcionales en aceite de pescado y de alga*. Universidad de Navarra, España. Vol 21, Num.3. En línea http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000300013. Consulta: 5 de julio de 2016
7. Contenidos Ceibal (2014). *Chlorella vulgaris*. Recuperado de http://contenidos.ceibal.edu.uy/fichas_educativas/_pdf/ciencias-naturales/reino-protista/002-chlorella-vulgaris.pdf. [Consulta 3 de abril de 2016].
8. Cuamatzi, Oscar. (2007). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. México: Editorial Reverte. En línea https://books.google.com.gt/books?id=KHec9weY8Y0C&pg=PA124&dq=ácidos+grasos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjhh4CN14_MAhWLND4KHSyXAcQQ6AEISzAJ#v=onepage&q=ácidos%20grasos&f=false. Consulta: 4 de julio de 2016

9. Food and Organization of the United Nation (FAO). (SF). Composición de las grasas alimentarias. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/v4700s/v4700s06.htm>. [Consulta 20 de marzo de 2016].
10. Garrido, A, Teijón, J, Blanco, D, Villaverde, C, Mendoza, C & Ramírez, Jesús. A. (2006). *Fundamentos de bioquímica* estructural. Madrid: Editorial Tebal. En línea https://books.google.com.gt/books?id=avt8LFmp8q4C&pg=PA345&dq=lipidos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiLtLmY7Y_MAhXGYt4KHdMTDJ0Q6AEIJzAC#v=onepage&q=lipidos&f=false. Consulta: 13 de julio de 2016
11. Medina Robles, Austin., Molina Grima, Esther & García Sánchez, Jace. *Obtención de concentrados de ácidos grasos poliinsaturados por el método de los compuestos de inclusión de urea*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vol 46, número 3. En línea <http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=DJ201204750> 6. Consulta: 15 de abril de 2018
12. Microbe wiki. (2015). *Chlorella vulgaris*. Recuperado de https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Chlorella_vulgaris. [Consulta 13 de abril de 2016].
13. Nereida. (SF). Análisis de Varianza de un factor. Recuperado de <http://nereida.deioc.ull.es/~pcgull/ihiu01/cdrom/spss/contenido/nod e39.html>. [Consulta 12 de abril de 2016].

14. Olivares, Raúl Ernesto. *Producción de aceite para usos industriales a partir de la microalga "scenedesmus Obliquus"* (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador, Facultad de ingeniería, El Salvador. En línea
http://ri.ues.edu.sv/2162/1/Producci%C3%B3n_de_aceite_para_usos_industriales_a_partir_de_la_microalga_%E2%80%9CScenedesmus_Obliquus%E2%80%9D.pdf. Consulta: 5 de julio de 2016
15. Sánchez Javier, Molina, Ernesto, García, Flor, Pérez, Julio, Giménez, Armando. *Cuantificación de ácidos grasos a partir de biomasa microalgal*. Universidad de Almería, Facultad de ciencias experimentales, ingeniería química. En línea
https://www.researchgate.net/publication/49583497_Cuantificacion_de_ácidos_grasos_a_partir_de_biomasa_microalgal. Consulta: 7 de julio de 2016
16. Tejeda, Benítez., Alayón, Mario, Saldarriaga, Carlos & Argumedo, Daniela. *Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas*. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ingeniería, Colombia. Vol. 34, Num.39 En línea
<http://revistas.uptc.edu.co/revistas/index.php/ingenieria/article/view/3550>. Consulta: 5 de julio de 2016.
17. UNED. (2016). Efecto de las grasas de los alimentos sobre las grasas de nuestro cuerpo. España. Recuperado de
<http://www2.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica->

[l/guia/enfermedades/cardiovasculares/alim_gras_interaccion.htm](http://guia/enfermedades/cardiovasculares/alim_gras_interaccion.htm).
[Consulta 20 de abril de 2016].

18. Universidad de Murcia. (SF). Estructura y características de los ácidos grasos. España. Recuperado de <http://www.um.es/molecula/lipi01.htm>. [Consulta 11 de abril de 2016].
19. Universidad de Sonora. (Fecha). Importancia de las microalgas, Capítulo 1. México. Recuperado de <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/20804/Capitulo1.pdf>. [Consulta 15 de abril de 2016].
20. Universidad nacional abierta y a distancia. (2015). Ácidos grasos y su clasificación. Recuperado de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/211615/Modulo_exe/211615_Mexe/leccin_32_cidos_grasos.html. [Consulta 8 de abril de 2016].
21. Viana Ruano, Eddy Mauricio. *Obtención de β -caroteno a escala laboratorio a partir de biofactorias fotosintéticas de spirulina spp., mediante el uso de mezcla ternaria* (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Guatemala. En línea http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1436_Q.pdf. Consulta: 11 de julio de 2016

22. White, A, Handler, P, Smith, E, Hill, R & Lehman I. (Sexta Edición).
(1983). *Principios de Bioquímica*. España: Editorial La Colina, S.A.

APÉNDICES

Apéndices A: cromatogramas

Figura 18. Informe de resultado del perfil de ácidos grasos de la biomasa *Chlorella vulgaris*

DATOS GENERALES		
Datos del Cliente		
Nombre:	Raxón	
Dirección:	Ciudad de Guatemala	
Identificación y Descripción de la Muestra		
Biomasa Microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>		
Polvo fino de color verde oscuro		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0219170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0219170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)	8.94	0.9
Caprílico (C8:0)	9.45	0.2
Capríco (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)	11.78	Trazas
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)	14.48	1.77
Miristoleico (C14:1n9)	16.04	1.55
Pentadecanoico (C15)	16.55	0.7
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.33	26.932
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.59	4.17
Margánico (C17:0)	23.03	1.01
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Estearico (C18:0)	28.01	12.788
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	30.50	2.72
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.30	25.273
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.35	20.885
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.24	1.20
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 18.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	67.72	Trazas
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS	44.206
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	33.707
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	22.087
ÁCIDOS GRASOS TRANS	2.72*
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3	1.20
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6	20.885

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.79, 30.15 y 30.50 min corresponden a ácidos trans. **El presente informe sustituye al identificado como HC-89-0822-2017, emitido el 6 de abril de 2017.**

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 19. Informe de resultado del perfil de ácidos grasos del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 25 °C)

DATOS GENERALES		
Datos del Cliente		
Nombre:	Raxón	
Dirección:	Ciudad de Guatemala	
Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 1: saponificados 25°C		
Líquido color amarillo verdoso, transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/02/22	0123170222Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
2017/03/01	0123170222Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.29	25.577
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.55	3.31
Margarico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Esteárico (C18:0)	27.91	Trazas
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.75	1.73
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.20	3.93
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.28	62.120
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquidico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.14	3.33
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 19.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICIÓN POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	25.577
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	8.97
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	65.450
ACIDOS GRASOS TRANS	1.73*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	3.33
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	62.120

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.75 y 30.75 min corresponden a ácidos trans.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 20. Informe de resultado del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 25 °C

DATOS GENERALES		
Datos del Cliente		
Nombre:	Raxón	
Dirección:	Ciudad de Guatemala	
Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 1: saponificados 25°C		
Líquido color amarillo verdoso, transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/02/22	0123170222Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
2017/03/01	0123170222Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.29	25.577
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.55	3.31
Margárico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Esteárico (C18:0)	27.91	Trazas
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.75	1.73
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.20	3.93
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.28	62.120
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquidico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.14	3.33
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 20.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICIÓN POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	24.356
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	9.37
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	66.272
ACIDOS GRASOS TRANS	2.17*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	3.90
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	62.375

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.74 y 30.75 min corresponden a ácidos trans.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 21. Informe de resultado o del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 25 °C

Dirección: Ciudad de Guatemala		
Identificación y Descripción de la Muestra Ácidos grasos Microalgas Muestra 3: cristales urea 25°C Líquido de color amarillo, transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd) 2017/02/22	Código de muestra del Laboratorio 0125170222Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd) 2017/03/01	No. de Cromatograma asociado 0125170222Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		
---	--	--

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.28	27.332
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Margárico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Estearico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.23	72.668
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	-	No detectado
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación apéndice 21.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICIÓN POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	27.332
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	0.00
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	72.668
ACIDOS GRASOS TRANS	0.00*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	0.00
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	72.668

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, no se encontraron picos con RT correspondientes a ácidos trans.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 22. Informe del perfil lipídico del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 30 °C)

DATOS GENERALES		
Datos del Cliente		
Nombre:	Miguel Raxón	
Dirección:	Ciudad de Guatemala	
Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 1; corrida 1: saponificados 30°C		
Líquido de color amarillo, transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0213170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0213170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Minstoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.32	25.449
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.58	1.00
Margarico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Esteárico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.77	1.91
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.27	2.80
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.34	68.850
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.23	Trazas
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 22.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS	25.449
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	5.70
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	68.850
ÁCIDOS GRASOS TRANS	1.91*
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3	Trazas
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6	68.850

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.77 y 30.80 min corresponden a ácidos trans.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 23. Informe del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 30 °C

DATOS GENERALES		
Datos del Cliente		
Nombre:	Raxón	
Dirección:	Ciudad de Guatemala	
Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 2; corrida 1: concentrado urea 30°C		
Líquido de color amarillo pardo, turbio		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0215170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0215170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ACIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)	14.48	Trazas
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.33	24.174
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.58	3.11
Margarico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Estearico (C18:0)	27.98	Trazas
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.78	1.66
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.28	3.69
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.37	64.141
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquidico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.24	3.23
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 23.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICIÓN POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS	24.174
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	8.45
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	67.372
ÁCIDOS GRASOS TRANS	1.66*
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3	3.23
ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6	64.141

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.78 y 30.83 min corresponden a ácidos trans. EI
presente informe sustituye al identificado como HC-89-0818-2017, emitido el 6 de abril de 2017.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 24. Informe del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 30 °C

DATOS GENERALES	
Datos del Cliente	
Nombre:	Raxón
Dirección:	Ciudad de Guatemala
Identificación y Descripción de la Muestra	
Ácidos grasos Microalgas Muestra 3; corrida 1: cristales urea 30°C	
Líquido de color amarillo transparente	
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio
2017/03/21	0217170321Q
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado
31/04/2017	0217170321Qa.D

MÉTODO DE ENSAYO
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)	11.82	Trazas
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmítico (C16:0)	19.32	28.686
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Margarico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Estearico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.29	5.75
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.32	65.565
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	-	No detectado
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 24.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	28.686
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	5.75
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	65.565
ACIDOS GRASOS TRANS	0.00*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	0.00
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	65.565

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, no se encontraron picos con RT correspondientes a ácidos trans. **El presente informe sustituye al identificado como HC-89-0820-2017, emitido el 6 de abril de 2017.**

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 25. Informe del perfil lipídico del extracto obtenido por saponificación directa (para inclusión a 0 °C)

Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 1; corrida 3: saponificados 0°C		
Líquido de color amarillo, transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0214170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0214170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)		No detectado
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.32	24.722
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.58	1.45
Margárico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Esteárico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.78	Trazas
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.26	2.42
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.34	67.964
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.25	3.44
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 25.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	24.722
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	3.87
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	71.409
ACIDOS GRASOS TRANS	Trazas*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	3.44
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	67.964

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, el pico con RT 29.78 min corresponde a un ácido trans.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 26. Informe del perfil lipídico del concentrado obtenido por el método de inclusión de urea 0 °C

Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 2; corrida 3: concentrado urea 0°C		
Líquido de color amarillo oliva transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0216170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0216170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprilico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)	11.82	0.4
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Ministoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.31	18.021
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	21.57	2.33
Margárico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Esteárico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	29.76	1.87
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.27	3.76
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.34	70.412
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.23	3.26
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 26.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	18.382
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	7.95
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	73.669
ACIDOS GRASOS TRANS	1.87*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	3.26
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	70.412

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, los picos con RT 29.76 y 30.82 min corresponden a ácidos trans.
El presente informe sustituye al identificado como HC-89-0819-2017, emitido el 6 de abril de 2017.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Figura 27. Informe del perfil lipídico de los cristales obtenidos por el método de inclusión de urea 0 °C

Identificación y Descripción de la Muestra		
Ácidos grasos Microalgas Muestra 3; corrida 3: cristales urea 0°C		
Líquido de color amarillo transparente		
Fecha de Ingreso de la muestra (aaaa/mm/dd)	Código de muestra del Laboratorio	
2017/03/21	0218170321Q	
Fecha de análisis de la muestra (aaaa/mm/dd)	No. de Cromatograma asociado	
31/04/2017	0218170321Qa.D	

MÉTODO DE ENSAYO		
Muestras analizadas según Método Oficial AOAC 969.33, Ed. 18, 2005		

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Caproico (C6:0)		No detectado
Caprílico (C8:0)		No detectado
Cáprico (C10:0)		No detectado
Undecanoico (C11:0)		No detectado
Láurico (C12:0)	11.82	1.70
Tridecanoico (C13:0)		No detectado
Mirístico (C14:0)		No detectado
Miristoleico (C14:1n9)		No detectado
Pentadecanoico (C15)		No detectado
cis-10-Pentadecenoico (C15:1)	-	No detectado
Palmitico (C16:0)	19.32	41.045
Palmitoleico (C16:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Margarico (C17:0)	-	No detectado
cis-10-Heptadecenoico (C17:1)	-	No detectado
Estearico (C18:0)	-	No detectado
trans-Oleico (trans C18:1, como suma de isómeros)	-	No detectado
Oleico (cis C18:1, como suma de isómeros)	31.27	2.38
trans-Linoleico (trans C18:2, como suma de isómeros)	-	No detectado
Linoleico (cis C18:2, como suma de isómeros)	37.33	54.867
gama-Linolénico (C18:3n6)	-	No detectado
Araquídico (C20:0)	-	No detectado
trans-Linolénico (trans C18:3 como suma de isómeros)	-	No detectado
Linolénico (C18:3, como suma de isómeros)	46.24	Trazas
cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	-	No detectado

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

Continuación figura 27.

RESULTADOS		
ÁCIDO GRASO	t _R (min)	PORCENTAJE (área / área)
Heneicosanoico (C21:0)	-	No detectado
cis-11,14-Eicosadienoico (C20:2n6)	-	No detectado
cis-8,11,14-Eicosatrienoico	-	No detectado
Behénico (C22:0)	-	No detectado
Araquidónico (cis C20:4n6)	-	No detectado
Erúico (C22:1n9)	-	No detectado
Tricosanoico (C23:0)	-	No detectado
EPA (C20:5n3)	-	No detectado
cis-13,16-Docosadienoico (C22:2)	-	No detectado
Lignocérico (C24:0)	-	No detectado
Nervónico (C24:1n9)	-	No detectado
DHA (C22:6n3)	-	No detectado

Nota 1: t_R (min) = Tiempo de retención en minutos

Nota 2: Los ácidos grasos reportados como suma de isómeros cis o trans (suma de varios picos) tienen asignado el tiempo de retención (t_R) del isómero mayoritario.

Nota 3: La información de los trans C18:1, C18:2 y C18:3 está basada en la coincidencia contra el material de referencia y en el perfil cromatográfico según AOCS Official Method Ce 1h-05, Pag. 20 de 22.

Nota 4: Los resultados se expresan de manera porcentual cuando la relación señal/ruido del pico es mayor que 10 y se reporta como trazas cuando la relación señal/ruido está entre 5 y 10. Por debajo de 5 se reporta como no detectado.

COMPOSICION POR CATEGORIAS	TOTAL (%)
ACIDOS GRASOS SATURADOS	42.749
ACIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	2.38
ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	54.867
ACIDOS GRASOS TRANS	0.00*
ACIDOS GRASOS OMEGA 3	Trazas
ACIDOS GRASOS OMEGA 6	54.867

OBSERVACIONES: * A pesar de que no contamos con los estándares individuales de todos los ácidos trans presentes en la muestra, el total de ácidos grasos trans se reporta tomando en cuenta el AOCS, Official Method Ce 1h-05, Pag.20 de 22, no se encontraron picos con RT correspondientes a ácidos trans. **EI**
presente informe sustituye al identificado como HC-89-0821-2017, emitido el 6 de abril de 2017.

Fuente: Instituto de investigaciones Universidad Mariano Gálvez

APÉNDICES B, TABLA DE REQUISITOS ACADEMICOS

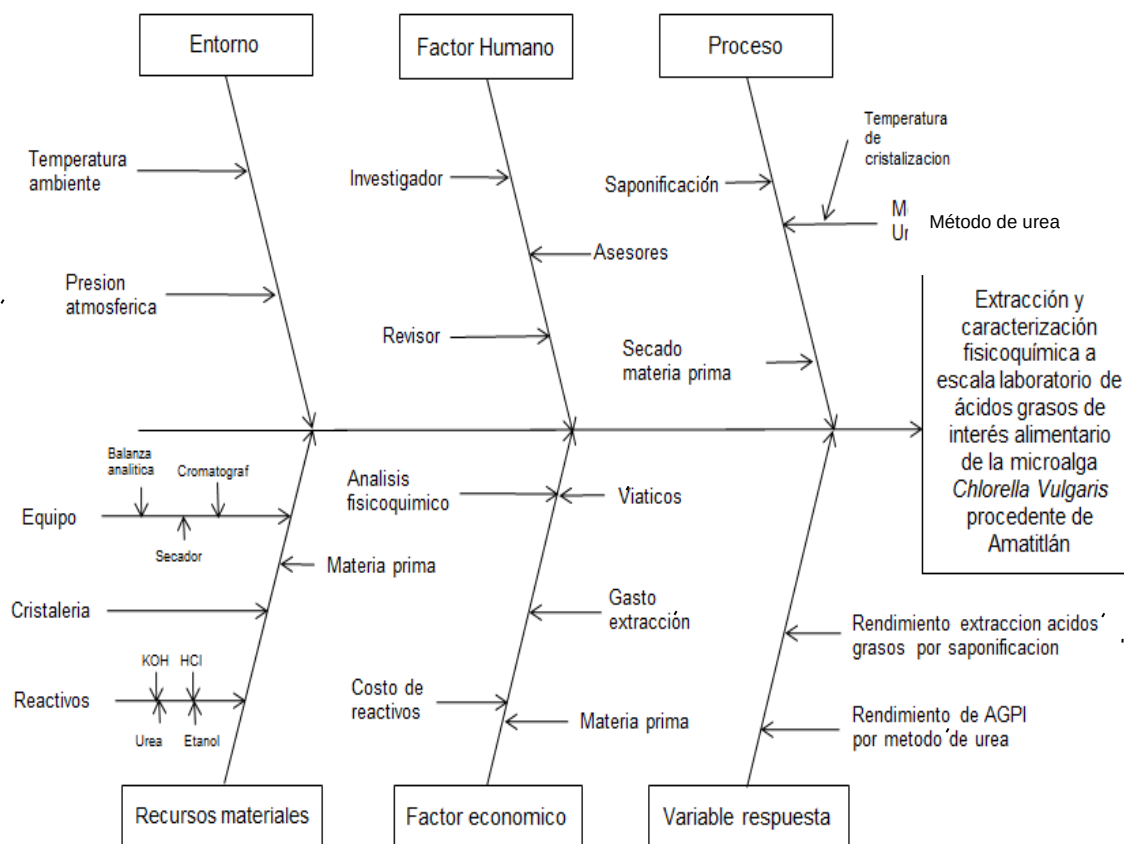
Tabla I. Tabla de requisitos académicos.

carrera	Área	Curso	Tema
Ingeniería química	Química	Química 4	Soluciones, titulación
		Química orgánica 1	Grupos funcionales, hidrocarburos, mecanismos de reacción
		Química orgánica 2	Ácidos carboxílicos, derivados de ácidos carboxílicos, ésteres.
		Análisis cuantitativo	Manejo estadístico de datos en el laboratorio, errores de medición
		Bioquímica	Lípidos, saponificación, saturación e insaturación, lípidos relacionados con ácidos grasos,
	Operaciones unitarias	Transferencia de masa IQ-4	Procesos de separación, Lixiviación
		Transferencia de masa en unidades continuas IQ-5	Secado
	Especialización	Microbiología	Algas
		Extracciones industriales	Extracción de aceites
	Ciencias básicas y complementarias	Estadística 1	Análisis de datos
		Técnicas de estudio e investigación	Método de investigación
		Programación de computadoras 1	Uso de programas de computación: Word

Fuente: elaboración propia

APÉNDICES C, DIAGRAMA DE ISHIKAWA

Figura 1. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Visio 2013

ANEXOS

Anexo 1. Reporte del Centro de Investigaciones



O.T. No. 37225 **No. 2341**

No. Informe LIEXVE-QI 02-2017

Interesado: Yoselin Brisset Raxon Matias

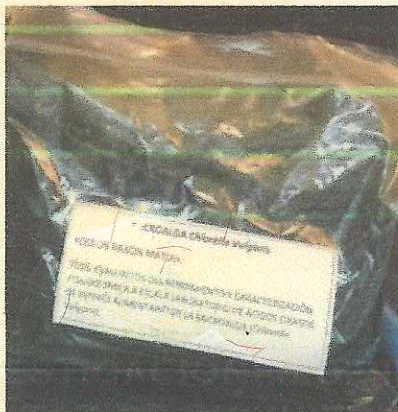
Proyecto: "EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA A ESCALALABORATORIO DE ÁCIDOSGRASOS DE INTERÉS ALIMENTARIO DE LA MICROALGA (*Chlorella vulgaris*) PROCEDENTE DE AMATITLÁN"

Fecha: Guatemala, 23 de agosto de 2017

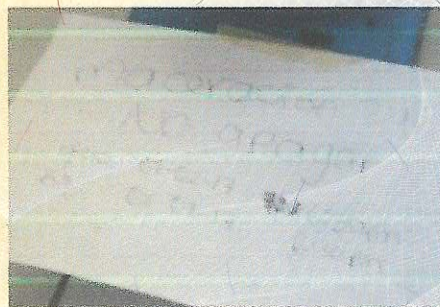
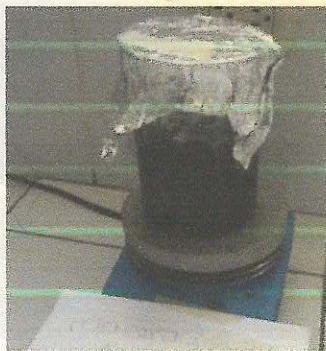
A continuación se presenta la metodología para la extracción de los ácidos grasos de interés alimentario de la microalga (*Chlorella vulgaris*).

RESULTADOS

1. Se tomó una muestra de 38 g de biomasa seca y colocar en un beacker, 380 mL de solución de etanol al 96%, con 15.2 g de KOH.



2. Se mezcló la solución etanol/KOH con la biomasa, dejar en agitación contante durante 24 horas a temperatura ambiente.





No. 3342

3. Se filtró la mezcla con papel filtro y se lavó el residuo con 190 mL de etanol al 96%.
Agregar segundo filtrado al primero.



4. Se colocó el filtrado total en una ampolla de decantación de 2000 mL. Agregar 220 mL de agua para formar una relación de 40% v/v. Realizar 3 extracciones con 268 mL de hexano cada una para separar los insaponificables (relación de fase $r=0,4$).



5. Para obtener los ácidos grasos, se realizó la extracción líquido-líquido y la fase hidroalcohólica se trató con ácido clorhídrico al 35% hasta llevarla a un pH=6.



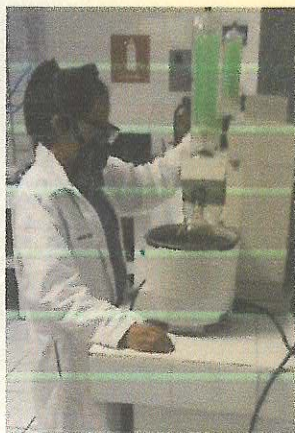


No. 2343

Realizar 3 extracciones con 138 mL de hexano cada una, a la fase hidroalcohólica ($r=0,2$).



6. Luego colocar la primera extracción hexánica en un balón de 250mL. Las otras 2 extracciones fueron rotaevaporadas para concentrar el volumen y luego se agregaron a la primera extracción hasta aforar el balón de 250 mL.



7. Tomar alícuota para el análisis de cromatografía gaseosa.

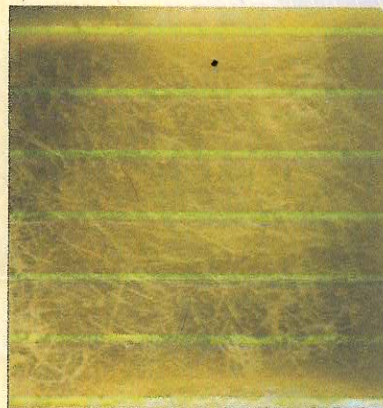
Concentración de AGPI por el método de inclusión de Urea

1. Preparar una solución con 17.2 g de urea y 91.5 mL de etanol. Adicionar esta solución a los 250 mL de solución obtenidos en el proceso anterior, para crear una relación urea/ácidos grasos 4:1.
2. Agitar constantemente a 70°C, hasta tener una mezcla homogénea y transparente. Dejar la solución en reposo por 24 horas a temperatura de 0°C, 25°C 30°C, según sea el caso para que se realice la cristalización.



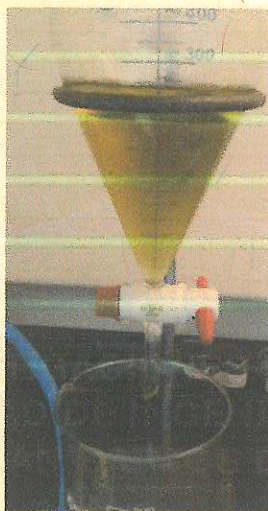
No. 2344

3. Filtrar los cristales por filtración al vacío.



Análisis del filtrado

4. Agregar al filtrado, 75 mL de HCl 0.1N
5. Luego realizar 3 extracciones con 75 mL de Hexano cada una, formándose la fase hexánica que contiene los PUFA's y la fase hidroalcohólica que es el residuo.



6. La fase hexánica se rotaevaporó aforando a un volumen de 100 mL.
7. Tomar una alícuota de 1 mL para el análisis cromatográfico.

ANÁLISIS DE LOS CRISTALES

8. Lavar los cristales con una solución de urea/etanol a la temperatura de cristalización.
9. Añadir a los cristales 75 ml de HCl 0.1N y 150 ml de Hexano. Realizar extracción líquido-líquido, donde la fase hexánica que contiene los PUFAs y la fase hidroalcohólica que es el residuo.

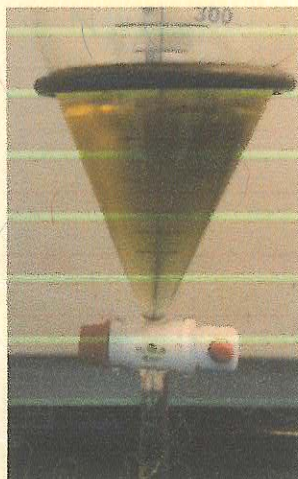


CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



No. **2345**

10. Separar el Hexano y aforar a 250 mL



11. Tomar 1 alícuota de 1 mL para el análisis de cromatografía gaseosa.



Ing. Qco. Mario José Mérida Meré
JEFE

Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales
-LIEXVE-
Sección Química Industrial CII/USAC

Ing. Qco. César Alfonso García Guerra
JEFE

Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería/USAC



Vo.Bo. Ing. Francisco Javier Quiñónez de la Cruz
DIRECTOR
Centro de Investigaciones de Ingeniería/USAC

