

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

*Trabajo de titulación previo
a la obtención de título
de Ingeniero Ambiental*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“OBTENCIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL
ALGINATO DE CALCIO EXTRAÍDO DE LA BIOMASA DEL ALGA
PARDA (*Sargassum Ecuadoreanum*)”**

AUTOR:

CHRISTIAN OSWALDO LOJA FAREZ

TUTOR:

ING. JORGE BRAULIO AMAYA PINOS, PhD.

CUENCA – ECUADOR

2020

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Christian Oswaldo Loja Farez con documento de identificación N° 1401170061, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **“OBTENCIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL ALGINATO DE CALCIO EXTRAÍDO DE LA BIOMASA DEL ALGA PARDA *Sargassum Ecuadoreanum*”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero Ambiental* en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad como facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que haga la entrega del trabajo final en formato digital a la biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2020



Christian Oswaldo Loja Farez

C.I. 1401170061

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“OBTENCIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL ALGINATO DE CALCIO EXTRAÍDO DE LA BIOMASA DEL ALGA PARDA *Sargassum Ecuadoreanum*”**, realizado por Christian Oswaldo Loja Farez, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jorge Amaya Pinos', with a large, stylized flourish at the end.

Ing. Jorge Braulio Amaya Pinos, PhD

C.I. 0103444923

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Christian Oswaldo Loja Farez con documento de identificación N° 1401170061, autor del trabajo de titulación: **“OBTENCIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DEL ALGINATO DE CALCIO EXTRAÍDO DE LA BIOMASA DEL ALGA PARDA *Sargassum Ecuadoreanum*”**, certifico que el total del contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, mayo del 2020

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'C' followed by a star-like symbol and some smaller scribbles.

Christian Oswaldo Loja Farez

C.I. 1401170061

DEDICATORIA

A mi hermano Jorge, por su amor, cariño, comprensión y sobre todo por el apoyo que siempre me ha brindado, por la confianza que ha depositado en mi durante toda su vida para poder conseguir este logro tan importante en mi vida, por ser un ejemplo de lucha, superación y esfuerzo diario, todo esto fue posible gracias a él.

A mis hermanos, sobrinas, cuñado y a mi esposa por haberme apoyado de una u otra manera durante toda mi vida, por no dejar que me rinda, por enseñarme a superar los problemas y saber que siempre podré contar con ellos.

Finalmente quiero dedicar este trabajo a mi tía Mariana por ser mi compañera y amiga durante toda mi carrera universitaria, por brindarme un hogar, comida, seguridad, pero sobre todo cariño, confianza y motivación

Christian Loja

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi tutor Ing. Jorge Braulio Amaya Pinos, por todo su apoyo y conocimientos brindados para el desarrollo de mi trabajo de titulación.

Al equipo del laboratorio de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana conformado por la Dra. Mónica Espadero e Ing. Sandy Gavilanes por el apoyo y conocimientos brindados en los procedimientos realizados en los laboratorios.

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO I.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES.....	14
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	15
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	15
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
5. MARCO TEÓRICO.....	16
5.1. Algas.....	16
5.2. Clasificación de las algas.....	16
5.2.1. Algas Cyanophyta o algas verdes-azules.....	16
5.2.2. Algas Euglenophyta.....	17
5.2.3. Algas Dinophyta.....	17
5.2.4. Algas Rhodophyta o algas rojas.....	17
5.2.5. Algas Chlorophyta o algas verdes.....	18
5.2.6. Algas Heterokontophyta o algas pardas.....	18
5.3. Algas pardas del género Sargassum.....	19
5.4. Alga parda Sargassum Ecuadoreanum.....	20
5.4.1. Composición química de las algas pardas del género Sargassum.....	21
5.4.1.1. Carbohidratos.....	21
5.4.1.2. Glucosa.....	22
5.4.1.3. Celulosa.....	22
5.4.1.4. Proteínas.....	22
5.4.1.5. Compuestos fenólicos.....	23
5.4.1.6. Ácidos grasos.....	23
5.4.1.7. Ácido algínico.....	23
5.4.1.8. Alginatos.....	24
5.4.1.8.1. Alginato de sodio.....	24
5.4.1.8.2. Alginato de calcio.....	25
5.5. Ácido Láctico.....	25
5.5.1. Síntesis química del ácido láctico.....	26
5.5.2. Síntesis fermentativa del ácido láctico.....	26
5.5.3. Organismos productores de ácido láctico.....	27
5.5.3.1. Microalgas.....	27
5.5.3.2. Hongos.....	28

5.5.3.3.	Levaduras	28
5.5.3.4.	Bacterias	28
5.5.4.	Bacteria Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus	29
5.6.	Ácido Poliláctico (PLA).....	30
5.6.1.	Propiedades térmicas.....	30
5.6.2.	Propiedades ópticas	31
5.6.3.	Propiedades mecánicas	31
5.6.4.	Cristalinidad	31
5.6.5.	Síntesis de ácido poliláctico (PLA).....	32
5.6.5.1.	Polimerización por condensación directa de ácido láctico	33
5.6.5.2.	Polimerización por apertura de anillo (ROP).....	34
5.7.	Análisis Termogravimétricos (TGA).....	35
5.8.	Espectroscopía de infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR).....	35
CAPÍTULO II		36
6.	METODOLOGÍA	36
6.1.	Primera Fase.....	36
6.1.1.	Recolección de muestras	36
6.1.2.	Pretratamiento de las muestras	37
6.1.2.1.	Eliminación de arena de las muestras	38
6.1.2.2.	Secado y triturado de las algas.....	38
6.1.3.	Obtención del alginato de sodio líquido	39
6.1.3.1.	Hidratación.....	40
6.1.3.2.	Pre-extracción con tratamiento ácido	41
6.1.3.3.	Extracción	42
6.1.3.4.	Filtración	43
6.1.4.	Análisis del alginato de sodio.....	44
6.1.5.	Precipitación del alginato de sodio líquido en alginato de calcio	45
6.2.	Segunda Fase	46
6.2.1.	Síntesis de ácido láctico	46
6.2.1.1.	Activación y cultivo de las bacterias.....	46
6.2.1.2.	Identificación de la bacteria Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus	48
6.2.1.3.	Preparación del medio y sustrato de fermentación.....	49
6.2.1.4.	Fermentación del ácido láctico.....	50
6.2.2.	Recuperación de ácido láctico.....	50
6.2.3.	Análisis de ácido láctico	52

6.3.	Tercera Fase	53
6.3.1.	Polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA)	53
6.3.2.	Análisis del ácido poliláctico obtenido	56
6.4.	Cuarta Fase	56
6.4.1.	Dosificación del ácido poliláctico (PLA) y alginato de calcio	57
6.4.2.	Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras	60
CAPÍTULO III.....		61
7.	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	61
7.1.	Primera fase.....	61
7.1.1.	Secado y triturado de las algas	61
7.1.2.	Obtención de alginato de sodio líquido	62
7.1.2.1.	Hidratación.....	62
7.1.2.2.	Pre-extracción con tratamiento ácido	62
7.1.2.3.	Extracción	63
7.1.2.4.	Filtración	64
7.1.3.	Análisis del alginato de sodio.....	64
7.1.4.	Precipitación del alginato de sodio líquido en alginato de calcio	65
7.2.	Segunda fase	67
7.2.1.	Síntesis del ácido láctico	67
7.2.1.1.	Activación y cultivo de bacterias	67
7.2.1.2.	Identificación de bacteria <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i>	68
7.2.1.3.	Preparación del medio y sustrato de fermentación.....	69
7.2.1.4.	Fermentación del ácido láctico	69
7.2.2.	Recuperación del ácido láctico.....	70
7.2.3.	Análisis del ácido láctico	71
7.3.	Tercera fase	73
7.3.1.	Polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA)	73
7.4.	Cuarta fase	75
7.4.1.	Dosificación del ácido poliláctico (PLA) y alginato de calcio	75
7.4.2.	Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras	76
8.	DISCUSIÓN	82
9.	CONCLUSIONES	84
BIBLIOGRAFÍA.....		86
ANEXOS.....		97
ANEXO 1: Informe de ensayos TGA realizados por LEMAT-SPOL		97
ANEXO 2. Parámetros establecidos en el equipo de espectrofotometría NICOLET iS10		100

INDICE DE TABLAS E ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Alga parda <i>Sargassum Ecuadoreanum</i>	20
Ilustración 2. Estructura química del alginato de sodio.....	24
Ilustración 3. Estructura química del ácido láctico	26
Ilustración 4. Métodos de polimerización a partir de ácido láctico para obtener PLA.....	33
Ilustración 5. Polimerización del ácido láctico por el método de apertura de anillo (ROP)	34
Ilustración 6. Muestras de algas pardas <i>Sargassum Ecuadoreanum</i> con contaminantes plásticos	37
Ilustración 7. Procedimientos para la extracción de alginato de sodio	39
Ilustración 8. Tratamiento con ácido clorhídrico de las algas	42
Ilustración 9. Filtración del alginato de sodio	44
Ilustración 10. Equipo de destilación para la recuperación de ácido láctico.....	52
Ilustración 11. Metodología utilizada para la obtención de la lactida	53
Ilustración 12. Equipo utilizado para la obtención de la lactida	55
Ilustración 13. Prensa hidráulica.....	57
Ilustración 14. Muestras de algas secas y trituradas	62
Ilustración 15. Muestra de algas luego del proceso de pre-extracción con tratamiento ácido	63
Ilustración 16. Muestra de alginato de sodio obtenido	63
Ilustración 17. Muestra de alginato de sodio líquido con un período de 12 horas de reposo.....	64
Ilustración 18. Enlaces químicos del espectro infrarrojo del alginato de sodio líquido	65
Ilustración 19. Muestras de alginato de sodio con diferentes dosis de cloruro de calcio: A) 1 gr CaCl ₂ , B) 2 gr CaCl ₂ , C) 3 gr CaCl ₂	66
Ilustración 20. Muestras de alginato de calcio precipitadas: A) 2 gr de CaCl ₂ , B) 3 gr de CaCl ₂	66
Ilustración 21. Activación de la bacteria <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i> en agar nutritivo.....	67
Ilustración 22. Crecimiento de colonias de la bacteria <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i>	68
Ilustración 23. Colonias de Bacterias <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i> vistas bajo microscopio	68
Ilustración 24. Solución de bacterias <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i> con sustrato de almidón	69
Ilustración 25. Solución de bacterias <i>Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus</i> y almidón de papa luego de 15 días de fermentación.....	70
Ilustración 26. Ácido láctico obtenido por destilación	70
Ilustración 27. Líquido sobrante del proceso de recuperación por destilación del ácido láctico	71
Ilustración 28. Espectro infrarrojo y estructura química del ácido láctico	72
Ilustración 29. Comparación del ácido láctico obtenido (color rojo) y ácido láctico comercial (color azul)	73
Ilustración 30. Lactida obtenida.....	73
Ilustración 31. Polímero de ácido poliláctico obtenido por el método ROP	74
Ilustración 32. Ácido poliláctico obtenido.....	74
Ilustración 33. Espectro infrarrojo y estructura química del ácido poliláctico.....	75
Ilustración 34. Polímero obtenido con diferentes porcentajes de Pla y alginato de calcio: A) 50% PLA y 50% Alginato, B) 80% PLA y 20% Alginato, C) 20% PLA y 80% Alginato	76
Ilustración 35. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 50% Pla y 50% alginato de calcio.....	77
Ilustración 36. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 20% Pla y 80% alginato de calcio.....	78
Ilustración 37. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 80% Pla y 20% alginato de calcio.....	79
Ilustración 38. Análisis termogravimétrico TGA de ácido poliláctico	79
Ilustración 39. Comparación de la temperatura final de degradación con la cantidad de alginato de calcio.....	81
Ilustración 40. Comparación de la temperatura inicial de degradación con la cantidad de alginato de calcio ..	81
Ilustración 41. Grafica de comparación de residuos con las proporciones de PLA y alginato de calcio	84
Tabla 1. Clasificación de las algas por el tipo de pigmentación.....	13
Tabla 2. Muestras y parámetros para la elaboración del polímero biodegradable	53
Tabla 3. Variación de porcentajes de PLA y alginato de calcio en el polímero	59
Tabla 4. Resumen de parámetros de los polímeros.....	76

RESUMEN

En el presente proyecto de investigación se elaboró un polímero biodegradable a partir de la biomasa del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* y ácido poliláctico (PLA). En la primera etapa a partir de la biomasa del alga se extrajo el alginato de sodio de la pared celular de las muestras de algas secas, se realizó un intercambio iónico con el uso de ácido clorhídrico 1N para transformar las sales de alginato presentes en la pared celular en ácido algínico y mediante el uso de bicarbonato de sodio y una temperatura de 80°C se transformó el ácido algínico en alginato de sodio, se filtró y finalmente se precipitó con 2 gr de cloruro de calcio para obtener el polímero de alginato de calcio. En la segunda etapa se sintetizó ácido láctico por vía fermentativa mediante el uso de bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y almidón de papa, se activo la sepa de la bacteria en caldo nutritivo por un período de 24 horas y una temperatura de 30°C, se preparó el medio de fermentación con 1000 gr de almidón de papa y 1000 ml de agar nutritivo, se añadió la solución de caldo nutritivo con la bacteria activada y se dejó fermentar con una temperatura de 20°C y un período de 15 días, el ácido láctico se recuperó por medio de una destilación a 80°C. En la tercera etapa se polimerizó el ácido láctico en ácido poliláctico (PLA) mediante el método ROP por un período de 18 horas de polimerización, la adición de 20 ml de ácido sulfúrico 60% v/v y una temperatura de 120°C hasta obtener el dímero lactida, la lactida se polimerizó mediante el uso de 3 gr de cloruro de hierro II como catalizador y 50 ml de etanol por un período de 24 horas a 60°C, finalmente en la cuarta etapa se determinó la dosificación de 80% PLA y 20% de alginato de calcio a una temperatura de 180°C y presión de 100 kg/cm² para obtener el polímero biodegradable.

Palabras clave: *Sargassum Ecuadoreanum*, alginato, ácido láctico, ácido poliláctico

ABSTRACT

In this research project, a biodegradable polymer was made from the biomass of the brown algae *Sargassum Ecuadoreanum* and polylactic acid (PLA). In the first stage, from the biomass of the algae, sodium alginate was extracted from the cell wall of the dried algae samples, an ion exchange was carried out with the use of 1N hydrochloric acid to transform the alginate salts present in the wall cell in alginic acid and by using sodium bicarbonate and at a temperature of 80 ° C the alginic acid was transformed into sodium alginate, filtered and finally precipitated with 2 g of calcium chloride to obtain the polymer of calcium alginate. In the second stage lactic acid was synthesized by fermentation through the use of *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* bacteria and potato starch, the bacterium was known to be in nutrient broth for a period of 24 hours and a temperature of 30°C, prepared the fermentation medium with 1000 gr of potato starch and 1000 ml of nutrient agar, the nutrient broth solution with the activated bacteria was added and allowed to ferment at a temperature of 20°C and a period of 15 days, lactic acid It was recovered by distillation at 80°C. In the third stage the lactic acid was polymerized in polylactic acid (PLA) by the ROP method for a period of 18 hours of polymerization, the addition of 20 ml of 60% v/v sulfuric acid and a temperature of 120°C until obtaining the temperature dimer lactide, the lactide was polymerized by using 3 gr of iron chloride II as catalyst and 50 ml of ethanol for a period of 24 hours at 60°C, finally in the fourth stage the dosage of 80% PLA was determined and 20% calcium alginate at a temperature of 180 ° C and pressure of 100 kg/cm² to obtain the biodegradable polymer.

Key words: *Sargassum Ecuadoreanum*, alginate, lactic acid, polylactic acid

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la contaminación generada y existente hoy en día por los polímeros y productos fabricados a base de petróleo se realizan investigaciones con la finalidad de desarrollar nuevos materiales biodegradables y amigables con el ambiente a partir de recursos renovables que no son aprovechados como los residuos agrícolas, residuos forestales, algas, etc. La persistencia de estos materiales derivados del petróleo en el ambiente ocasiona no solo contaminación en suelo, agua y aire, sino que afecta a la flora y fauna de manera directa por lo que la búsqueda de nuevos materiales que no afecten o permanezcan mucho tiempo en el ambiente se ha vuelto indispensable para todas las industrias (Martín Del Campo et al., 2020).

Actualmente la biomasa proveniente de algas marinas son utilizadas en el sector agrícola como fertilizante para aumentar el rendimiento de diferentes tipos de cosechas, también se utiliza la biomasa de algas para la biorremediación de suelos y aguas contaminadas con metales pesados, como materia prima para la generación de combustibles y principalmente en la industria alimenticia (Fernández, Montiel, Millán, & Badillo, 2012).

Los polímeros y materiales obtenidos de algas se han estudiado, desarrollado y producido comercialmente en la última década, son materiales que tratan de cumplir la función de los productos derivados del petróleo pero con características mejoradas ya sea en su resistencia, elasticidad, estabilidad térmica y degradabilidad con el fin de sustituirlos (Guerrero et al., 2011).

En este proyecto de investigación se obtuvo un polímero biodegradable a partir del alginato de sodio extraído de la pared celular del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* el

cual fue dosificado con ácido poliláctico polimerizado a partir de ácido láctico sintetizado por el método de fermentación mediante el uso de bacterias.

2. ANTECEDENTES

Hoy en día se dispone de un creciente número de polímeros utilizados para satisfacer las diferentes necesidades humanas, los polímeros de ingeniería y de especialidad son de gran interés debido a que presentan propiedades químicas, mecánicas, ópticas y térmicas excepcionales que están relacionadas con su estructura y composición química, los polímeros de especialidad son aquellos que poseen propiedades con aplicaciones muy específicas y que en general tales características de los polímeros pueden mejorar en gran medida sus propiedades para la obtención de materiales con aplicaciones muy específica, estos materiales tienen un amplio uso en la industria automotriz, dispositivos eléctricos, electrodomésticos, carcasas, entre muchos otros (Coreño-Alonso & Méndez-Bautista, 2010).

El alginato (lignina extraída de las algas pardas) se usan principalmente en la industria alimentaria para darle consistencia a productos lácteos y enlatados, estabilización de la espuma de la cerveza, fabricación de papel y en el campo de la medicina se utiliza como agente desintegrador de tabletas (Rodríguez-Montesinos, Arvizu-Higuera, Reyes-Tisnado, Murillo-Álvarez, & Muñoz-Ochoa, 2012), pero al poseer la capacidad de formar hidrogeles, perlas y fibras o películas se estudian usos en textiles, embalajes, vendajes y bioplásticos un campo poco desarrollado en la literatura (Rinaudo, 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

La contaminación ambiental causada por plásticos no biodegradables derivados del petróleo debido a su acumulación y persistencia en el ambiente se ha convertido en una problemática mundial, según datos del informe de PNUMA (Programa de Naciones Unidas para el medio Ambiente) ha señalado que en el 2005 se encontraban más de 13.000 fragmentos de desechos de plásticos flotando sobre cada kilómetro cuadrado del océano (Serrano, 2010); estos plásticos al estar formados por polímeros sintéticos de compuestos petroquímicos provocan un deterioro ambiental (Ruiz, 2006), por ello se busca el desarrollo de nuevos materiales formados por polímeros biodegradables a partir de biomasa de diferentes especies vegetales, con el fin de ofrecer una alternativa a los polímeros convencionales y aprovechar los recursos naturales existentes en Ecuador, no existen investigaciones o proyectos para el aprovechamiento de la biomasa proveniente de algas pardas del género *Sargassum Ecuadoreanum* en el Ecuador. Por lo que en la presente investigación se desarrollará un polímero biodegradable a partir de la lignina extraída de la biomasa proveniente de la biomasa del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* existente en las zonas costeras del Ecuador.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Obtener un polímero biodegradable a partir del alginato de calcio extraído de la biomasa del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum*, dosificado con el ácido poliláctico extraído del almidón de la papa.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extracción del alginato de calcio de la biomasa del alga.

- Obtención del ácido láctico a partir del almidón de papa (*Solanum spp.*)
- Obtener un material biodegradable a partir el polímero sintetizado de la lignina.
- Realizar un análisis TGA (termogravimétrico) al material biodegradable.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Algas

Están conformadas por un conjunto muy diverso de organismos unicelulares y pluricelulares que varían en su estructura, composición, forma y tamaño, aunque abundan en medios acuáticos dulces y salados pueden vivir en condiciones ambientales muy diversas dependiendo de sus propias necesidades; existen algas unicelulares que poseen un diámetro que no sobrepasan las dos micras mientras que algunas algas más complejas pueden sobrepasar los cincuenta metros de longitud (Abbayess et al., 1989).

5.2. Clasificación de las algas

Debido a que existe una gran diversidad de algas se las pueden clasificar de diferentes maneras, sin embargo, la mayoría de ficólogos recomiendan y utilizan la clasificación propuesta por Bourelly, entre las cuales se encuentran: Cyanophyta, Euglenophyta, Dinophyta, Heterokontophyta, Rhodophyta y Chlorophyta (Vallejo, 2014).

5.2.1. Algas Cyanophyta o algas verdes-azules

Conocidas como algas verdes o azules se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza, este grupo contiene una gran variedad de tipos morfológicos y fisiológicos comparten el reino monera con las bacterias o *Schizomycophyta* debido a que ambos poseen una organización procariota de tipo intracelular, donde el protoplasto no contiene orgánulos delimitados claramente del citoplasma, sin embargo, comparten la fotosíntesis con las plantas

superiores y algas de tipo eucariota (Edelman, Swinton, Schiff, Epstein, & Zeldin, 1967; Patterson et al., 1993).

5.2.2. Algas Euglenophyta

Constituyen un grupo de algas bien delimitado en el que existen numerosas especies incoloras y otras que poseen pigmentos característicos, las algas que poseen pigmentos basan su nutrición de manera autótrofa o heterótrofas facultativas mientras que las especies incoloras estrictamente son heterótrofas, en su mayoría estos organismos se encuentran en aguas dulces estancadas aunque se las puede hallar en raras ocasiones en aguas marinas o salobres (Conforti, 1983; González, 2006).

5.2.3. Algas Dinophyta

Son algas unicelulares flageladas en las cuales están agrupadas taxonómicamente aquellas que presentan un núcleo eucarionte y otro dinocarión, poseen estigmas, ocelos, pústulas y tricocistos. La mayoría de algas tóxicas se encuentran dentro de este grupo y ciertas especies de dinoflagelados con su presencia dan una coloración roja al agua, son transportadas a través de la cadena trófica por lo que llegan a afectar a ciertos mamíferos que se alimentan de ellas (De la Lanza, Hernández Pulido, & Crbajal Pérez, 2000; De Marco, Vega, & Bellagamba, 2011; Gallardo Rodríguez, 2009).

5.2.4. Algas Rhodophyta o algas rojas

Son un grupo que contiene más de 3.000 especies de algas que se caracterizan principalmente por la presencia de pigmentos ficobilínicos que les proporciona su característico color rojizo, aunque algunas de estas algas se encuentran en agua dulce, en su gran mayoría crecen en costas tropicales y subtropicales (Osorio, 2009).

5.2.5. Algas Chlorophyta o algas verdes

Contienen alrededor de 500 géneros y 15.000 especies de algas entre las cuales existen diferentes grados de complejidad desde pequeños organismos unicelulares eucariotas hasta algas complejas y gigantes. Morfológicamente se incluyen organismos móviles flagelados unicelulares, organismos no flagelados, colonias móviles y no móviles, organismos con talos o sin talos, ramificados entre otros, existen tanto organismos de agua dulce como organismos de agua salada y se encuentran distribuidos en todo el planeta desde las zonas tropicales hasta la región ártica (Leliaert, 2019).

5.2.6. Algas Heterokontophyta o algas pardas

Dentro de estas se encuentran las algas pardas multicelulares entre las cuales existen una gran diversidad de tamaños y morfologías, dentro de esta clase de algas se encuentran bien definidas 14 órdenes, 265 géneros y entre 1500 a 2.000 especies, exceptuando a las algas de agua dulce, el mayor porcentaje de algas pardas son marinas y habitan zonas rocosas. El principal compuesto polisacárido de almacenamiento que se encuentran en estas algas es la laminarina, su pared celular se encuentra formada por celulosa en forma de fibrillas reforzada por alginato que es el ácido heteroglucano que más abunda en las algas pardas (Myklestad & Granum, 2009).

Tabla 1. Clasificación de las algas por el tipo de pigmentación

Nombre	Pigmento	Color
Rodofíceas	Ficoeritrina	Rojas
Diatomeas	Sílice	Pardas o doradas
Cianofíceas	Ficocianina	Azules

Feoticias	Ficofeína	Amarillo-Verdoso
Clorofíceas	Clorofila	Verde

Fuente: (Vergara, 2009)

5.3. Algas pardas del género *Sargassum*

Las especies pertenecientes al género *Sargassum* son consideradas de las más importantes dentro de la flora acuática en las zonas tropicales y subtropicales debido a que en comparación con otras algas predominan en número y biomasa, este género adquirió su nombre debido al Mar de los Sargazos ubicado en el Océano Atlántico Norte, dentro de este género sobresalen dos especies *S. Natans* y *S. Fluitans* (Hernández Carmona, Casas Valdéz, León Fajardo, Sánchez Rodríguez, & Rodríguez Montesinos, 1990; Huffard, von Thun, Sherman, Sealey, & Smith, 2014).

El género *Sargassum* crecen y se desarrollan en el fondo marino de playas, piedras y sustratos rocosos, luego forma grandes mantos que se logran mantener a flote mediante vejigas que poseen y se encuentran llenas con dióxido de carbono, el propágulo del género *Sargassum* se desarrolla en un cigoto, estas algas expulsan sus huevos en unos pocos días, estos huevos se mantienen unidos a los receptáculos y los cigotos se desarrollan aproximadamente de 24 horas a 48 horas antes de su lanzamiento, por ende existe una gran dispersión de estas algas (Curtis, Barnes, Schnek, & Massarini, 2008; Kendrick & Walker, 1991).

Las camas de *Sargassum* son de gran importancia en la ecología marina debido a que son un hábitat para varias especies e impulsan las relaciones entre las mismas, además son importantes sitios que sirven para el desove y zonas de alimentación para todos los tipos de

organismos, peces y mariscos que allí habitan. Estas algas también tienen una gran importancia económica por su amplia gama de aplicaciones como en la industria textil, farmacéutica, alimentaria, también se lo utiliza como estimulante hortícola, en la biosorción de metales pesados y últimamente se lo ha estudiado como generador de biocombustible (Carvalho Ferreira, Grande, Filho, & Buzá Jacobucci, 2018; Fajardo León, 1994; Thompson, Young, & Baroutian, 2020; Tsukidate, 1984).

5.4. Alga parda *Sargassum Ecuadoreanum*

Esta especie es macroalga parda pluricelular bentónica pertenecientes al orden Fucales, es un alga marina de coloración café que posee características morfológicas definidas como una altura que varía entre 23 cm a 27 cm de altura con una base poco alargada, presenta un talo principal del cual se desprenden algunas ramas lisas con hojas de una longitud aproximada de 4,5 cm y 3,5 mm de ancho, las hojas de esta alga se observan con bordes aserrados con aproximadamente 1 mm de largo, presentan vesículas de 4 mm de diámetro en formas esferoidales lisas (Delgado & Narvaez, 2019; Vaca, 2018).



Ilustración 1. Alga parda *Sargassum Ecuadoreanum*

Fuente: Autor

5.4.1. Composición química de las algas pardas del género Sargassum

Las algas en general son organismos que poseen y generan varios compuestos y sustancias, dependiendo de cada especie su composición química, nutricional y estructural varía una de otras, los compuestos producidos por algas incluyen compuestos fenólicos, carbohidratos, ácidos grasos, péptidos, glicolípidos y otros compuestos como el ácido acrílico y dicetonas (Anaya Lang, 2003).

Uno de los compuestos principales en las algas son los polisacáridos, en las algas pardas se encuentran como componentes principales y de mayor concentración los fucoidanos y alginatos, en las algas verdes los componentes principales son ulvanos mientras que en las algas rojas predominan agares y carrageninas (Industria Avícola, 2019).

Sin embargo, las algas poseen un contenido bajo de celulosa que en la mayoría de las algas se encuentran en la membrana de la pared celular, las algas rojas contienen en su pared celular celulosa, carbonatos de calcio y sustancias pépticas, las algas verdes por su parte contienen polisacáridos que en su mayoría es celulosa como componente principal de su pared celular, mientras que las algas pardas contienen ácidos algínicos con una matriz de celulosa (Castells, 2012; Reaven, Evert, & Eichhorn, 2015; Seoáñez Clavo, 2013).

5.4.1.1. Carbohidratos

En su mayor porcentaje las algas contienen hidratos de carbono o carbohidratos que constituyen aproximadamente el 20% al 80% de su peso seco, esto varía dependiendo de cada tipo, género y especie de alga, dentro de estos se pueden encontrar azúcares simples como glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, etc. Hasta polisacáridos estructurales como agar, celulosa, alginatos, carrogenatos, entre otros, que son componentes que en su mayoría se

encuentran en la pared celular (Pérez Lloréns & Hernández Carrero, 2016).

5.4.1.2. Glucosa

La glucosa es un monosacárido considerado importante y el más abundante en la naturaleza, que se encuentra desde estructuras muy simples como levaduras hasta estructuras extremadamente complejas, este monosacárido esta encargado de proporcionar energía a las células de varios organismos (Castrejón, Carbó, & Martínez, 2007).

5.4.1.3. Celulosa

La celulosa es el componente principal y de mayor abundancia de la biomasa, un importante polímero natural que se encuentra dentro de las paredes de las células vegetales, la celulosa es podría definir como glucosa polimerizada, pero al ser un polisacárido es de difícil degradación, aunque es de gran interés en diferentes tipos de industrias debido a sus usos y aplicaciones (Avenas, 2012; Guarnizo Franco, Martínez Yépes, & Valencia Sánchez, 2009).

5.4.1.4. Proteínas

Son macromoléculas largas que se forman por la unión de varios elementos propios aminoácidos, que están formados por un grupo carboxilo y un grupo amino, enlazados al mismo carbono que conforma la molécula, las proteínas que pertenecen a las algas son ricas en compuestos como la analina, glicina, arginina y ácido glutámico; las algas dependiendo de cada género y especie poseen un contenido de proteínas de alrededor del 40% al 70% (González-Torres, Téllez-Valencia, Sampedro, & Nájera, 2007; Quitral R., Morales G., Sepúlveda L., & Schwartz M., 2012; Sim & Goh, 1988).

5.4.1.5. Compuestos fenólicos

Las algas marinas al estar expuestas a la iluminación se ven afectadas directamente por la luz ultravioleta y esto les genera estrés, por lo que sintetizan compuestos fenólicos que forman parte del complejo mecanismo protector de las algas, como un mecanismo de defensa estas enzimas actúan como antioxidantes (Abdala-Díaz, Cabello-Pasini, Márquez-Garrido, & Figueroa, 2014; Gomez et al., 2016).

5.4.1.6. Ácidos grasos

Dependiendo de cada especie de alga puede llegar a tener hasta un 70% de ácidos grasos en su estructura, las algas marinas sintetizan estos compuestos que dependiendo su finalidad varían su contenido de carbonos en su estructura, estos ácidos grasos son empleados y se encuentran en las membranas celulares y con la muerte de las células se degradan con facilidad (Castillo et al., 2017; Green & Scow, 2000).

5.4.1.7. Ácido algínico

También conocido como alginato se trata de un polisacárido estable al proceso de la hidrólisis que cuenta con un alto peso molecular que se basa en las diferentes proporciones de ácido L-gulónico y ácido D-manurónico, la proporción de estos ácidos depende básicamente de cada especie de alga de la cual se extrae el ácido algínico, que es la base para la formación de los diferentes tipos de alginatos, específicamente se extrae de las algas pardas ya que es el constituyente principal de las paredes celulares (D. L. Arvizu, Hernández, & Rodríguez, 2002; Caja et al., 2004a).

5.4.1.8. Alginatos

Estos compuestos denominados alginatos están clasificados como carbohidratos, son uniones de múltiples unidades de ácido algínico que se obtienen a partir de las algas marrones o pardas, están asociados con la presencia y cantidad de ácidos L-gulorónico y D-manurónico, los alginatos intervienen en la formación de geles y espesantes que son útiles en la industria alimenticia, cosmética, farmacéutica, química, entre otras, se los comercializa como como sales solubles en agua (Reforma, 2008; Tharp & Yound, 2009).

Existen múltiples tipos de alginatos que son usados principalmente como aditivos alimentarios como alginato de propilenglicol, alginato de amonio, alginato de potasio, alginato de sodio, alginato de calcio y el mismo ácido algínico (Ibáñez & Herrero, 2017).

5.4.1.8.1. Alginato de sodio

Es un compuesto orgánico derivado del ácido algínico obtenido de las algas pardas, una de sus principales características es la de conformar estructuras, formar geles y posee también la capacidad de retener agua en diferentes productos alimenticios, al poseer un grupo carboxilo permite que reaccione con diferentes cationes y más específico con iones de calcio (Flores-Garay, Martínez-Luévanos, Cruz-Ortiz, García-Cerda, & López-Badillo, 2016; Montoya Pérez, Restrepo Molina, & Mahecha, 2010).

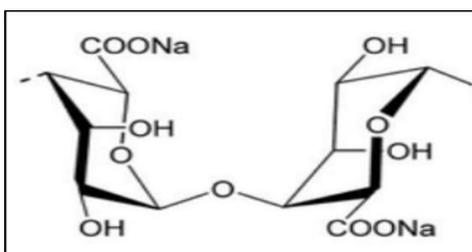


Ilustración 2. Estructura química del alginato de sodio

Fuente: (Ayarza, 2014)

5.4.1.8.2. Alginato de calcio

Este compuesto se utiliza principalmente para la formación de películas y geles, el gel de alginato de calcio es estudiado en varias campos de aplicaciones biotecnológicas como en procesos de biorremediación, biosorción de metales pesados, biocombustibles, entre otros (Coimbra, Nascimento, & Giese, 2017).

5.5. Ácido Láctico

Es un ácido hidroxicarboxílico de estructura muy simple que contiene un átomo de carbono quiral y posee dos formas enantioméricas, las propiedades y comportamiento del ácido láctico depende de su naturaleza fisicoquímica, es un ácido orgánico de fórmula $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$ que se encuentra ampliamente extendido en la naturaleza; fue aislado por primera vez en 1780 a partir de leche agria y pasó a ser producido y comercializado en 1881 (Castillo Martinez et al., 2013; John, Nampoothiri, & Pandey, 2007).

Es un ácido versátil que ha sido empleado en varias industrias y con diversos propósitos, se utiliza en alimentos, farmacéutica, cosmetología, producción de químicos oxigenados, productos de higiene íntima, reguladores de crecimiento vegetal, etc. En la actualidad la demanda de este ácido ha ido en aumento debido a su reciente descubrimiento como materia prima para la producción de ácido poliláctico (PLA) que es un polímero biodegradable con propiedades plásticas (Anaya & López, 2018).

El proceso de producción de ácido láctico puede tomar dos rutas, ya sea por síntesis química o por fermentación, aproximadamente el 90% del ácido láctico en la actualidad se obtiene por la ruta fermentativa debido a que representa un menor costo y se reemplaza el uso de catalizadores (Gonzáles, Bustos, Rodríguez, Rodríguez, & Del Ángel, 2020).

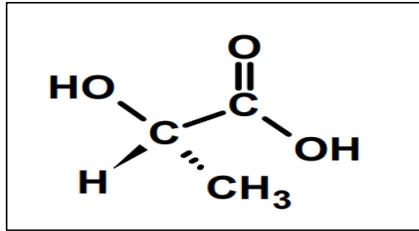


Ilustración 3. Estructura química del ácido láctico

Fuente: (Gámez et al., 2007)

5.5.1. Síntesis química del ácido láctico

Existen varias alternativas químicas para la síntesis química del ácido láctico, una de ellas se basa en la hidrólisis de lactonitrilo mediante el uso de ácidos fuertes que da como resultado una mezcla en proporciones variadas de ácido L y D-láctico, otras alternativas químicas usadas son la hidrólisis de ácido cloropropiónico y oxidación con ácido nítrico del propileno, oxidación de propilenglicol, degradación de azúcares, uso de agua a temperaturas y presiones elevadas con monóxido de carbono pero todas ellas utilizan catalizadores por lo que no son alternativas viables (Datta, Tsai, Bonsignore, Moon, & Frank, 1995).

5.5.2. Síntesis fermentativa del ácido láctico

La producción de ácido láctico por fermentación de carbohidratos presenta varias ventajas sobre las alternativas de síntesis químicas como el uso de temperaturas y presiones bajas, bajo consumo de energía, bajo costos de los sustratos fermentativos y como ventaja principal es la producción de un estereoisómero de ácido L o D-láctico ópticamente puro, para la fermentación se utiliza diversos organismos que generan las enzimas necesarias para la descomposición de los sustratos orgánicos (Abdel-Rahman, Tashiro, & Sonomoto, 2013).

Las vías metabólicas para la síntesis del ácido láctico dependen del tipo de microorganismos que se utilicen en el proceso de fermentación (bacterias, hongos, mohos,

algas, etc.) y del tipo de sustrato que se utiliza. Generalmente se utilizan bacterias homofermentativas debido a su mayor rendimiento en producción de ácido láctico, por otro lado, el uso de bacterias heterofermentativas adicionan un proceso de recuperación de ácido láctico debido a que producen compuestos secundarios en el proceso de fermentación como etanol, ácido acético, etc. Entre los procesos de recuperación más utilizados se encuentra la destilación, precipitación química, extracción por precipitación, electrodiálisis y retención por membranas (Murillo, 2013).

5.5.3. Organismos productores de ácido láctico

El ácido láctico en la naturaleza puede ser sintetizado o producido por un diverso tipo de microorganismos entre los cuales se pueden encontrar microalgas, hongos, levaduras y bacterias, cada especie presenta una mayor o menor producción de ácido láctico por lo que se han realizado experimentos con cepas mixtas de bacterias y hongos para optimizar y aumentar esta producción. Para la producción de ácido láctico por organismos fermentativos se usan diferentes tipos de sustratos como residuos forestales, residuos de cultivo, almidón, sacarosa, glucosa, suero de queso entre otros (Cui, Li, & Wan, 2011).

5.5.3.1. Microalgas

Existen diferentes especies de microalgas que en su estructura contienen almidón, estas especies poseen la capacidad de transformar el almidón en diferentes compuestos orgánicos entre los cuales se encuentra el ácido láctico, ácido fórmico, ácido acético, entre otros. Estos compuestos son transformados por las microalgas bajo ciertas condiciones de presencia o ausencia de aire o luz (Hirayama & Ueda, 2004).

5.5.3.2. Hongos

En su mayoría el ácido láctico es producido por bacterias y hongos en cultivos sumergidos, sin embargo, existen ciertas especies de hongos que tienen un mayor rendimiento en la producción de ácido láctico como es el caso de *Rhizopus* que presenta diferentes beneficios ante las bacterias como un menor costo de producción y que el sustrato usado como el almidón no necesita un proceso de sacarificación previa para la producción de ácido láctico (Jin, Huang, & Lant, 2003).

5.5.3.3. Levaduras

Las levaduras también son organismos que se pueden utilizar en la producción de ácido láctico debido a que pueden crecer en medios minerales y soportar un nivel de pH bajo lo que facilita la recuperación del ácido láctico, el principal sustrato utilizado para las levaduras es la glucosa (lactato deshidrogenasa heteróloga) que mediante una conversión bioquímica transforma el piruvato en ácido láctico (Bianchi et al., 2001).

5.5.3.4. Bacterias

Las bacterias del ácido láctico (LAB) son los principales microorganismos utilizados para la producción de este ácido, sin embargo, la mayor parte de estos microorganismos no poseen la capacidad de fermentar xilosa; existen algunas especies especializadas como *Lactobacillus* y *Lactococcus* que sí poseen la capacidad de fermentar xilosa. Las bacterias del ácido láctico (LAB) se pueden clasificar según su base de fermentación en homofermentativas y heterofermentativas, las LAB homofermentativas producen únicamente ácido láctico como producto final, mientras que las LAB heterofermentativas producen subproductos como ácido acético, dióxido de carbono, etanol, etc. (Budhavaram & Fan, 2009).

5.5.4. Bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*

Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus son bacterias pertenecientes al grupo de bacterias del ácido láctico (LAB) han sido estudiadas y clasificadas como bacterias anaerobias facultativas de tipo gran positivo con capacidad heterofermentativa, se consideran bacterias auxotróficas que se encuentran en la leche, requieren ciertas condiciones de crecimiento como abundancia de aminoácidos y un sistema de proteinasas y peptidasas, se han estudiado y establecido rangos de pH inferiores a 4,5 para su óptimo crecimiento (Laloi, Atlan, Blanc, Gilbert, & Portalier, 1991; Renschler et al., 2019).

Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus son bacterias industrialmente importantes para la producción de yogurt, queso y ácido láctico para uso alimentario, farmacéutico, agrícola, entre otros, estos microorganismos en su mayoría son utilizados en simbiosis con especies de propionibacterias, estreptococos, lactococos, y otros. Esta relación aporta un beneficio mutuo entre especies para su crecimiento y producción de enzimas, ácido láctico, ácido acético, entre otros compuestos orgánicos, *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* por su parte produce aminoácidos y péptidos para estimular el crecimiento de otras bacterias (Courtin, Monnet, & Raúl, 2002; Delley & Hottinger, 1990).

Presentan un metabolismo peculiar por lo que en un hábitat de leche utilizan la lactosa como su fuente energética principal, por su metabolismo deben encontrarse en sustratos ricos en carbohidratos para realizar el proceso de fermentación, sus paredes celulares se encuentran envueltas por proteinasas que catalizan el inicio del proceso de la hidrólisis lo que da a estas bacterias péptidos y aminoácidos para su crecimiento y producción de ácido láctico, además al ser una bacteria no patógena las proteínas presentes en la pared celular presentan efectos inmunológicos (Bernardeau, Vernoux, Henridubernet, & Gueguen, 2008; Kitazawa et al.,

1998; Stefanitsi, Sakellaris, & Garel, 1995).

5.6. Ácido Poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico (PLA) pertenece al grupo de los poliésteres alifáticos cuyo precursor es el ácido láctico, el PLA es un polímero termoplástico biodegradable que puede ser obtenido a partir de la condensación del ácido láctico que se lo puede sintetizar mediante la fermentación de sustratos ricos en almidón de residuos agrícolas, el PLA posee propiedades mecánicas y una estabilidad térmica que lo hacen un posible sustituto de los plásticos convencionales, las propiedades del PLA pueden mejorarse al ser combinado con polímeros compatibles (Estupiñán, Vásquez, Peña, & Ardila, 2011).

El PLA como polímero posee propiedades como termoplasticidad, alta resistencia mecánica, biocompatibilidad, biodegradabilidad, cristalinidad y transparencia que lo hacen un posible sustituto de los polímeros obtenidos del petróleo, sin embargo, estas propiedades del PLA pueden ser modificadas y mejoradas para usos industriales como crear películas flexibles, envases, envolturas, embalajes, textiles, etc. (Jun, 2000; Ke & Sun, 2003; Shirai et al., 2013; Zhang & Sun, 2004).

5.6.1. Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas del PLA se encuentran en función de su estructura y cristalinidad, al ser un polímero termoestable posee capacidad de ser utilizado a nivel industrial en procesos de moldeo e inyección, aunque posee una resistencia térmica menor que plásticos industrializados como el tereftalato de polietileno (PET), estudios realizados con PLA han establecido un rango de degradación térmica de 230°C a 260°C y puntos de fusión de entre 60°C a 190°C dependiendo de su estructura y grado de cristalinidad

(Jamshidian, Tehrany, Imran, Jacquot, & Desobry, 2010; Pagés, Carrasco, Pérez, Santana, & MasPOCH, 2010).

5.6.2. Propiedades ópticas

El PLA en comparación con plásticos convencionales que son sensibles a la luz UV como el tereftalato de polietileno (PET) presenta una mejor resistencia ante la luz UV, también se caracteriza por tener propiedades ópticas como transparencia, claridad, baja turbidez y alto brillo que dependen principalmente del grado de cristalinidad que posea el polímero, es decir, una mayor transparencia del material se obtiene con a un bajo grado de cristalinidad (Shen, Haufe, & Patel, 2009).

5.6.3. Propiedades mecánicas

El PLA es un polímero que posee propiedades mecánicas similares a los a los polímeros derivados del petróleo, sus propiedades varían dependiendo de su cristalinidad, peso molecular y estructura. Las propiedades del PLA van desde una mejor resistencia a la tracción y flexión que plásticos convencionales como el polipropileno, poliestireno y el polietileno, sin embargo, posee una menor resistencia al impacto y elongación en comparación de plásticos como el tereftalato de polietileno (PET); se puede sintetizar un PLA con mayor resistencia y rigidez dependiendo del contenido de D y L-lactida en el proceso de polimerización (Agrawal & Bhalla, 2003; Burgos, Martino, & Jiménez, 2013; Hamad, Kaseem, Yang, Deri, & Ko, 2015; Liu, He, Zeng, Xu, & Wang, 2014).

5.6.4. Cristalinidad

El grado de cristalización del PLA está ligado al peso molecular del polímero y las condiciones en el momento de polimerizar el ácido láctico, la cinética de cristalización es

lenta y la presencia de compuestos como D-lacturo que se forma en la síntesis de PLA a partir de ácido láctico disminuye la tasa de cristalización, el punto de fusión del PLA y la velocidad de enfriamiento mantiene o disminuye el grado de cristalización (Castro & Vera, 2012).

5.6.5. Síntesis de ácido poliláctico (PLA)

El PLA es un biopolímero obtenido a partir de la polimerización de miles de monómero de ácido láctico, para la obtención de este polímero existen varios métodos que se pueden emplear, sin embargo, siempre se debe considerar y controlar las condiciones necesarias de presión, temperatura, tiempo de polimerización y uso de catalizadores en cada procedimiento ya que de ello depende la estructura y peso molecular final del polímero (Auras, Harte, & Selke, 2004).

Existen dos métodos convencionales para la síntesis de PLA los cuales son: polimerización por condensación directa de ácido láctico (policondensación) y polimerización por apertura de anillo (ROP), el primer método se basa en la evaporación de agua por condensación y del cual se puede obtener un polímero de bajo o mediano peso molecular; el segundo método se basa en la eliminación de agua sin el uso de solventes orgánicos para obtener un pre polímero de bajo peso molecular, posterior a ello se despolimeriza de forma catalítica bajo parámetros de presión y temperatura para obtener un dímero cíclico intermedio llamado lactida el cual se polimeriza por apertura de anillo mediante el uso de un catalizador como el octanoato de estaño (Mehta, Kumar, Bhunia, & Upadhyay, 2005).

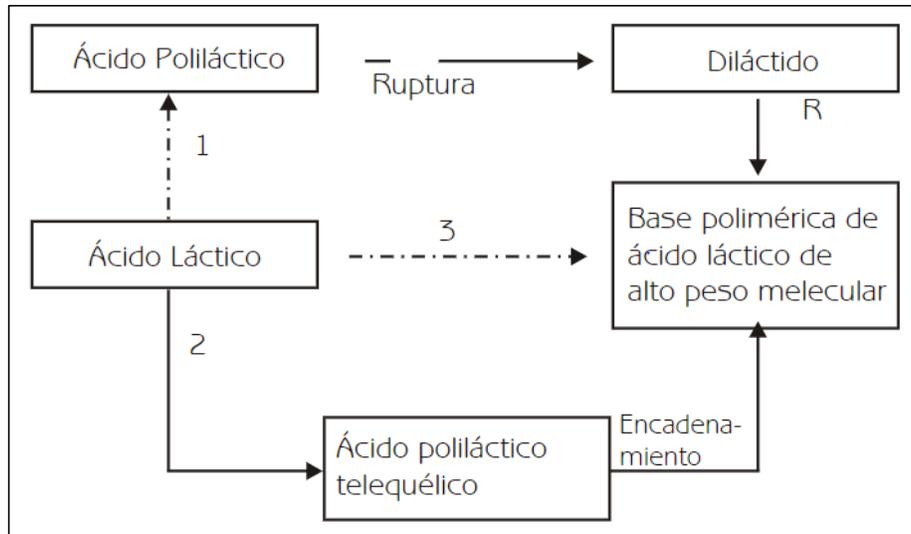


Ilustración 4. Métodos de polimerización a partir de ácido láctico para obtener PLA

Fuente: (Serna C., Rodríguez de S., & Albán A., 2011)

5.6.5.1. Polimerización por condensación directa de ácido láctico

El proceso de policondensación sucede en una serie de tres reacciones equilibradas:

1. Oligomerización o deshidratación
2. Hidrólisis
3. Despolimerización.

La reacción de deshidratación es el inicio del proceso con el cual se llega a la esterificación del ácido láctico por medio de una destilación, la hidrólisis se genera por la presencia de agua y la despolimerización del isómero del PLA, el tiempo de reacción determina el peso molecular del polímero obtenido, para un polímero de alto peso molecular se requiere de un tiempo de reacción de 24 horas, y las reacciones a tiempos inferiores y temperaturas que no superen los 150°C producen polímeros de bajo peso molecular (Vargas, 2002; Zuluaga, 2013).

5.6.5.2. Polimerización por apertura de anillo (ROP)

Es el proceso para producción de PLA que produce polímeros con mayor peso molecular, y se realiza en tres reacciones:

1. Policondensación
2. Despolimerización
3. Polimerización por apertura de anillo

A demás, se debe añadir una etapa de purificación del polímero, en el método ROP se recomiendan temperaturas superiores a 150°C para reducir el tiempo de reacción y posteriormente lograr la transesterificación el dímero conocido como lactida a PLA de alto peso molecular mediante el uso de un catalizador; entre los catalizadores más eficientes se encuentran los cloruros de estaño (II) y el 2-etilhexanoato de estaño, así como son sales de metales de aluminio, zinc y titanio (Cuervo & Echeverry, 2016; Tejada, 2015).

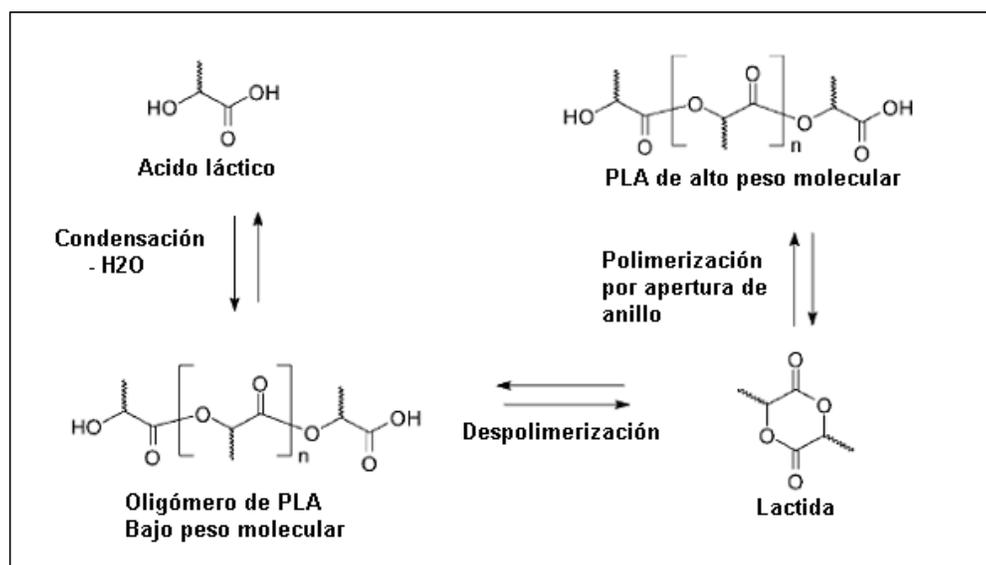


Ilustración 5. Polimerización del ácido láctico por el método de apertura de anillo (ROP)

Fuente: (Tejada, 2015)

5.7. Análisis Termogravimétricos (TGA)

Se utilizan para el estudio de los procesos de descomposición o disociación térmica de masas poliméricas, es una técnica que se basa en la medición del cambio de masa de una sustancia en función del tiempo de exposición a una determinada temperatura, en este tipo de ensayo se definen ciertos parámetros como temperatura, tiempo, velocidad de calentamiento, tipo de crisol, atmósfera, entre otros, dependiendo del equipo y la muestra; los análisis termogravimétricos TGA miden la variación de masa en función a la temperatura, y de estas se derivan pruebas que miden la variación de masa en función de dos puntos diferentes de temperatura (Coronado, 2016).

5.8. Espectroscopía de infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR)

Es una técnica que se utiliza para medir la emisión o absorbancia de energía radiante que es originada por el proceso de interacción entre el material y la radiación electromagnética generada por el equipo, se basa en que la radiación infrarroja (IR) tiene la capacidad de generar vibraciones en los enlaces moleculares de un material; y dependiendo del tipo de enlaces y número de átomos implicados la radiación se produce a un determinado número de onda o valor de frecuencia, por lo que las bandas de absorción de un espectro FTIR son características de ciertos químicos o grupos funcionales (San Andrés, Chércoles, Gómez, & De la Roja, 2008).

CAPÍTULO II

6. METODOLOGÍA

Para la elaboración del presente proyecto de investigación se estableció cuatro fases: la primera fase fue la obtención del alginato de sodio líquido del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* para luego precipitarlo como alginato de calcio sólido, en la segunda fase se realizó la síntesis del ácido láctico por fermentación mediante el uso de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y almidón como sustrato, la tercera parte fue la polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA) mediante el método de apertura de anillo (ROP), todos estas fases fueron realizadas en los laboratorios de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana y en la cuarta fase se dosificó el alginato de calcio sólido con el ácido poliláctico (PLA) mediante el uso una prensa mecánica de los laboratorios de transformación de polímeros de la carrera de Ingeniería Mecánica para obtener el polímero biodegradable y realizar los análisis termogravimétrico (TGA) en los laboratorios de Ensayos Metrológicos y de Materiales LEMAT-ESPOL.

6.1. Primera Fase

En la primera fase del proyecto de investigación se obtuvo el alginato de calcio sólido a partir del alginato de sodio líquido obtenido del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum*.

6.1.1. Recolección de muestras

El alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* es un alga que crece en las costas de las playas ecuatorianas, según (Rubira, 2012) estas algas pardas se encuentran en abundancia en la provincia de Santa Elena en las costas de Ballenita, Salinas y La Libertad, por lo que la recolección de las algas se realizó en la comunidad de San Pablo ubicado a 15 minutos de la

zona de Ballenita.

Materiales y métodos

- Guantes de látex
- Bolsas plásticas herméticas

Procedimiento

Se procedió a identificar y recolectar las algas pardas del género *Sargassum Ecuadoreanum* mediante el uso de guantes de látex, en el momento de recolectar las muestras de algas se eliminaron contaminantes como plásticos, redes de pesca y otros objetos, posterior a eso se procedió a guardar las muestras en bolsas plásticas con cierre hermético para ser transportadas.



Ilustración 6. Muestras de algas pardas *Sargassum Ecuadoreanum* con contaminantes plásticos

Fuente: Autor

6.1.2. Pretratamiento de las muestras

Para el pretratamiento de las muestras se realizaron los procesos de: eliminación de arena de las muestras, secado y triturado de las muestras.

6.1.2.1. Eliminación de arena de las muestras

Este procedimiento se realizó para la eliminación de arena de las muestras de algas recolectadas en las playas del sector San Pablo.

Materiales y métodos

- Contenedor plástico

Procedimiento

Las muestras de algas fueron colocadas en un contenedor con agua por 12 horas para sedimentar las partículas de arena que se encontraban mezcladas con las algas, las muestras de algas libres de arena permanecieron flotando en la superficie y fueron recolectadas para su posterior secado.

6.1.2.2. Secado y triturado de las algas

Con la finalidad de eliminar la humedad de las algas se realizó un proceso de secado en condiciones ambientales o secado al ambiente y una reducción del tamaño de las muestras de algas mediante un proceso de triturado.

Materiales y métodos

- Fundas plásticas
- Licuadora

Procedimiento

Se pesaron las muestras de algas dando como resultado 84 gr, las muestras libres de arena fueron colocadas sobre una superficie plástica y secadas por un período de 24 horas en

condiciones ambientales con el fin de eliminar el mayor contenido de humedad posible para poder ser trituradas.

Las muestras de algas secas fueron trituradas mediante el uso de una licuadora convencional hasta alcanzar un diámetro menor de las hojas de las algas, también se eliminaron los tallos de las algas que no pudieron ser triturados.

6.1.3. Obtención del alginato de sodio líquido

Para la extracción del alginato del alga parda *Sargassum Ecuadorianum* se siguió los procedimientos y parámetros establecidos por (D. Arvizu, 1993) en los que detalla los procesos de extracción de alginato de sodio a partir de algas pardas, en la Ilustración 6 se muestra los procedimientos que se siguieron hasta la obtención de alginato de sodio.

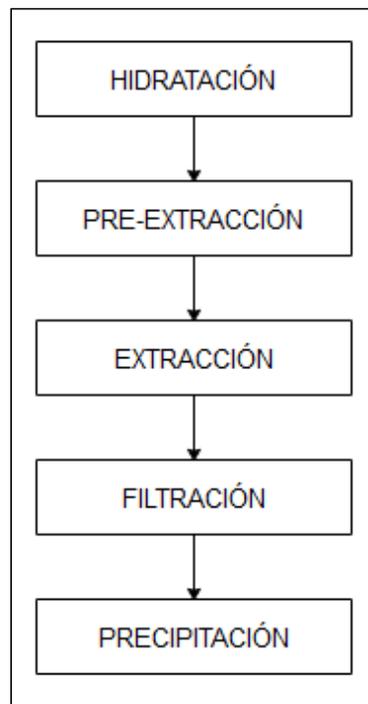


Ilustración 7. Procedimientos para la extracción de alginato de sodio

Fuente: Autor

6.1.3.1. Hidratación

Este procedimiento de hidratación es realizado con formaldehído para la eliminación de compuestos fenólicos que se encuentran en la estructura de las algas y causan el efecto de degradación, además el formaldehído ayuda a suavizar el tejido vegetal para que sea más fácil y rápido la extracción del ácido algínico (Buenfil & Ramos, 2014).

Materiales y métodos

- Recipiente plástico
- Barilla de agitación
- Agua destilada
- Formaldehído
- Muestras de algas secas y trituradas

Procedimiento

- Para la hidratación se utilizaron 9 partes de solución de formaldehído al 0,1% por cada gramo de alga, se pesó 30 gr de algas secas y se preparó 180 ml de la solución.
- Se diluyó formaldehído comercial al 37% en agua destilada para alcanzar la concentración requerida, utilizando la siguiente ecuación:

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

$$180 \text{ ml} * 37\% = V_2 * 0,1\%$$

$$\frac{(180 \text{ ml} * 37\%)}{0,1 \%} = V_2$$

$$V_2 = 66,600 \text{ ml}$$

- Se colocaron los 30 gr de algas secas y trituradas en 180 ml de solución de formaldehído al 0,1% y se dejaron reposar por un tiempo de 12 horas.

6.1.3.2. Pre-extracción con tratamiento ácido

En esta parte del proceso se realizó un intercambio iónico con ácido clorhídrico para transformar en ácido algínico todas las sales de alginato que se encuentran en las paredes celulares de las algas (Vinueza & León, 2017).

Materiales y métodos

- Agitador magnético
- Vaso de precipitación de 250 ml
- Pipeta de 10 ml
- Guantes de látex
- Ácido clorhídrico 1N
- Muestras de algas hidratadas
- pH-metro
- Agua destilada

Procedimiento

Se colocó las algas hidratadas en un vaso de precipitación de 500 ml y se agrega agua destilada en exceso, se aplica agitación constante y se añade ácido clorhídrico 1N con una pipeta hasta ajustar el pH a 3 por 15 minutos, se elimina el excedente de agua y se repite el mismo procedimiento por 2 veces.



Ilustración 8. Tratamiento con ácido clorhídrico de las algas

Fuente: Autor

6.1.3.3. Extracción

El ácido algínico formado en la etapa de pre-extracción se convierte en alginato de sodio con un ajuste de pH y temperatura (Caja et al., 2004b).

Materiales y métodos

- Agitador magnético
- Vaso de precipitación de 500 ml
- Pipeta de 10 ml
- Bicarbonato de sodio
- Muestras de algas con tratamiento ácido
- pH-metro
- Agua destilada

Procedimiento

- Se añadió las algas en un vaso de precipitación y por cada gramo de alga se agrega 25 partes de agua destilada y con el uso de una pipeta se procede a ajustar el pH a 10 mediante el uso de una solución de bicarbonato de sodio al 10% y se deja reposar por un período de 5 minutos.
- Se aplica agitación constante y se lleva la solución a punto de ebullición por un tiempo de 3 horas.

6.1.3.4. Filtración

Se eliminaron los residuos de algas mediante un proceso de filtración al vacío para dejar el alginato de sodio líquido libre de impurezas.

Materiales y métodos

- Bomba de vacío
- Embudo de filtración
- Matraz Kitasato de 500 ml
- Papel filtro
- Barilla de agitación
- Espátula
- Guantes de látex

Procedimiento

Se armó el equipo de filtración con una bomba de vacío, matraz Kitasato, embudo de filtración y papel filtro; se filtra el alginato de sodio resultante del proceso de extracción para eliminar los residuos de algas.



Ilustración 9. Filtración del alginato de sodio

Fuente: Autor

6.1.4. Análisis del alginato de sodio

Con el fin de identificar los compuestos y grupos químicos característicos del alginato de sodio se utilizó la técnica de espectroscopía infrarroja.

Materiales y métodos

- Equipo de espectrofotometría NICOLET iS10
- Cuentagotas
- Muestra de alginato de sodio líquido obtenido

Procedimiento

Se colocó una muestra de alginato de sodio líquido en el equipo de espectrofotometría NICOLET iS10 y se hace el análisis de la muestra con los siguientes parámetros establecidos en el equipo (ANEXO 2):

- N° of scans: 32
- Final format: Absorbance

- Source: IR
- Max range limit: 4000
- Min range limit: 400
- Optical velocity: 0,4747

6.1.5. Precipitación del alginato de sodio líquido en alginato de calcio

Para la obtención de la sal de calcio (alginato de calcio) a partir del alginato de sodio líquido es necesario la adición de cloruro de calcio como catalizador de la reacción (McHugh, 1987).

Materiales y métodos

- Agitador magnético
- Estufa
- Cloruro de calcio
- Bomba de vacío
- Embudo de filtración
- Matraz Kitasato de 500 ml
- Crisol
- Papel filtro
- Guantes de látex

Procedimiento

- Se calentó 50 ml de alginato de sodio hasta alcanzar una temperatura de 80°C y se aplica agitación constante, se añade 2 gr de cloruro de calcio y luego de 7 minutos se deja de aplicar calor y agitación constante.

- Se realizó un proceso de filtración al vacío con el fin de recuperar el alginato de calcio precipitado.
- Se colocó el alginato de calcio en un crisol y se elimina la humedad llevando la muestra a una estufa por 2 horas con una temperatura de 80°C.

6.2. Segunda Fase

En la segunda fase se realizó el proceso para la síntesis de ácido láctico por fermentación mediante el uso de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y el uso de almidón como sustrato, se recuperó y analizó el ácido láctico obtenido de este proceso con un equipo de espectrofotometría FTIR de los laboratorios de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana.

6.2.1. Síntesis de ácido láctico

La producción de ácido láctico se puede realizar por síntesis química o bioquímica, la síntesis bioquímica se basa en la fermentación de sustratos con alto contenido de carbohidratos, las características químicas del ácido láctico dependen del tipo de microorganismos utilizados, el sustrato utilizado, tiempo de fermentación, temperatura, etc. Existen diferentes géneros de bacterias que pueden ser utilizadas en la síntesis bioquímica como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* y *Streptococcus* (Serna-Cock & Stouvenel, 2005).

6.2.1.1. Activación y cultivo de las bacterias

La bacteria utilizada para la producción de ácido láctico fue *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* pertenecientes a las bacterias del ácido láctico (LAB) de tipo gran negativo utilizada para la producción de yogurt y adquirida a la empresa AGROALIMENTAR.

Materiales y métodos

- Autoclave
- Estufa
- Hornilla eléctrica
- Balanza analítica Mettler Toledo ML 204
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Cajas Petri de plástico
- Asa de platino
- Mechero
- Barilla de agitación
- Espátula
- Guantes de látex, mascarilla y cofia
- Algodón
- Papel aluminio
- Cepa de bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*
- Agar nutritivo LAB008
- Alcohol
- Agua destilada

Procedimiento

- Se midió 250 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y fueron esterilizados en un autoclave por 15 minutos a 120°C y 1 atm de presión, una vez esterilizados se lo deja enfriar para preparar el agar nutritivo.
- Para preparar el medio de cultivo para las bacterias se pesó 2,5 gr de agar nutritivo

LAB008 y se colocó en 250 ml de agua destilada esterilizada con agitación constante por 2 minutos para homogenizar.

- Una vez preparado el agar nutritivo como medio de cultivo se colocó 2,5 gr de la sepa de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* en los 250 ml de agar nutritivo preparados, se colocó un tapón de algodón y papel aluminio para cubrir el matraz, finalmente se colocó los dos matraces en una estufa a 30°C por 24 horas.
- Para la siembra de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* se prepararon cajas Petri con agar nutritivo, se encendió un mechero y se esterilizó la zona de trabajo con algodón empapado de alcohol.
- Se utilizó un aza de platino para sembrar las bacterias en las cajas Petri desde la solución de las bacterias activadas en agar nutritivo para luego ser identificadas.

6.2.1.2. Identificación de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*

Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus es una bacteria de tipo gran positivo por lo que se utilizó la técnica de tinción de Gram (Esaú López-Jácome et al., 2014) en el laboratorio de microbiología de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

Materiales y métodos

- Microscopio
- Porta y cubre objetos
- Mechero
- Asa de platino
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol Cetona

Procedimiento

Para la identificación bajo microscopio de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* se utilizó la técnica de tinción de Gram la cual consiste en raspar con el asa de platino una de las colonias de bacterias hasta quedar impregnado de él, se coloca la muestra del asa en el porta objetos y se añade una gota de agua destilada, luego se seca la muestra con el mechero y se agrega una gota de cristal violeta, al transcurrir dos minutos se lava la muestra con agua destilada y se agrega lugol, se deja secar por dos minutos más y se añade alcohol cetona y finalmente se seca la muestra con el mechero y se coloca bajo el microscopio para ser observada.

6.2.1.3. Preparación del medio y sustrato de fermentación

Para el medio de cultivo de la bacteria se utilizó agar nutritivo LAB008 y como sustrato de fermentación el almidón de la papa común *Solanum tuberosum spp.*

Materiales y métodos

- Autoclave
- Balanza analítica Mettler Toledo ML 204
- Matraces Erlenmeyer de 2000 ml
- Espátula
- Solución de Bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* activada
- Agar nutritivo
- Agua destilada

Procedimiento

- Se midió 1000 ml de agua destilada en cada matraz Erlenmeyer y fueron esterilizados

en el autoclave por 15 minutos a 120°C y 1 atm de presión, se dejó enfriar y luego se añadió 13 gr de agar nutritivo para cada 1000 ml de agua destilada.

- Se pesaron 1000 gr de almidón de papa para cada 1000 ml de agar nutritivo, se añadió y agitó el almidón con el agar nutritivo hasta homogenizar la mezcla.
- Finalmente se añadió 250 ml de la solución de la *Bacteria Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* activada a cada matraz.

6.2.1.4. Fermentación del ácido láctico

Para la obtención del ácido láctico se utilizó el procedimiento bioquímico de fermentación bacteriana mediante el uso de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y almidón de la papa común como sustrato.

Materiales y métodos

- Estufa

Procedimiento

Se dejó reposar la solución de bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* por un periodo de 15 días a una temperatura constante de 19°C y un pH de 6 para obtener el mayor rendimiento en la producción de ácido láctico.

6.2.2. Recuperación de ácido láctico

Existen varios métodos de recuperación del ácido láctico como la ultrafiltración, osmosis inversa, adsorción, destilación y extracción reactiva; la destilación se usó como método de recuperación del ácido debido a que presenta la ventaja de ser un método sencillo y de bajo costo (Méndez, Pérez, & Morales, 2018).

Materiales y métodos

- Soportes universales
- Pinzas para soporte
- Balón de destilación de 500 ml
- Condensador
- Corchos
- Malla de asbesto
- Mangueras
- Mechero
- Termómetro
- Vaso de precipitación de 250 ml

Procedimiento

- Una vez alcanzado los 15 días de fermentación se filtró al vacío la solución de bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* para eliminar el excedente de almidón no fermentado.
- Se armó un equipo con un balón de 500 ml para la recuperación de ácido láctico por medio de destilación como se indica en la Ilustración 10, se encendió el mechero y al alcanzar una temperatura de 91°C la solución resultante del filtrado comenzó a ebullición y a ser destilada, la solución resultante del proceso de destilación se recuperó en un vaso de precipitación.



Ilustración 10. Equipo de destilación para la recuperación de ácido láctico

Fuente: Autor

6.2.3. Análisis de ácido láctico

Con el fin de identificar los compuestos y grupos químicos característicos del ácido láctico se utilizó la técnica de espectroscopía infrarroja y se lo comparó con un producto comercial que contiene ácido láctico.

Materiales y métodos

- Ácido láctico recuperado de la fermentación
- Ácido láctico comercial (pH-LAC)
- Cuentagotas
- Equipo de espectrofotometría NICOLET iS10

Procedimiento

Se coloca una muestra de ácido láctico en el equipo de espectrofotometría NICOLET iS10 y se hace el análisis de las muestras con los siguientes parámetros establecidos en el equipo (ANEXO 2):

- N° of scans: 32
- Final format: Absorbance
- Source: IR
- Max range limit: 4000
- Min range limit: 400
- Optical velocity: 0,4747

6.3. Tercera Fase

En la tercera fase se realizó el procedimiento de polimerización del ácido láctico obtenido mediante el método de apertura de anillo (ROP) para la obtención de ácido poliláctico (PLA).

6.3.1. Polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA)

El ácido láctico es polimerizado por medio del método de apertura de anillo (ROP) donde se produce lactida por medio de un proceso de esterificación mediante el uso de ácido sulfúrico durante un tiempo aproximado de 7 horas y una temperatura de 120°(Cuervo & Echeverry, 2016).

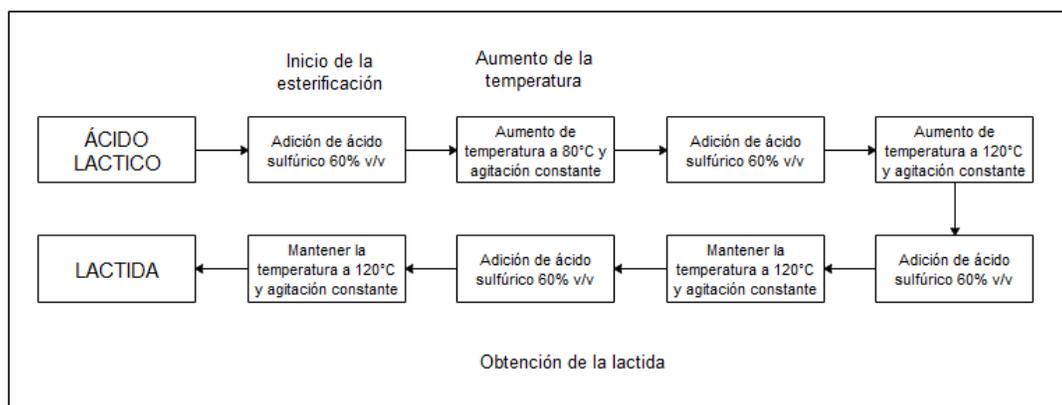


Ilustración 11. Metodología utilizada para la obtención de la lactida

Fuente: Autor

Materiales y métodos

- Agitador magnético
- Estufa
- Balón de 3 bocas de 500 ml
- Condensadores tipo bola
- Termómetro
- Mangueras
- Corchos
- Pipeta de 10 ml
- Ácido láctico
- Ácido sulfúrico 60% v/v
- Cloruro de hierro II
- Etanol

Procedimiento

Se midió con una probeta 100 ml del ácido láctico obtenido y se lo colocó en un balón de 3 bocas de 500 ml, se adiciona 5 ml de ácido sulfúrico al 60% v/v y se eleva la temperatura a 80°C por un periodo de tiempo de 30 minutos y se aplica agitación constante.

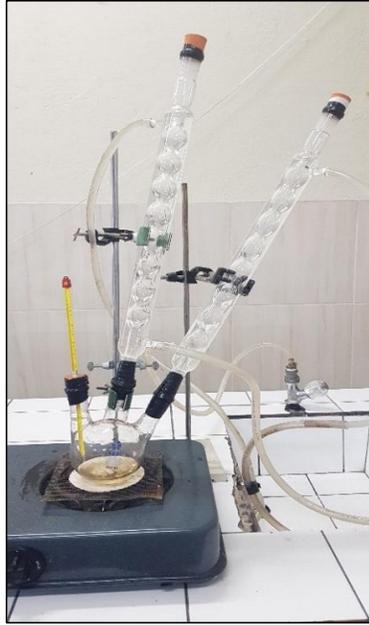


Ilustración 12. Equipo utilizado para la obtención de la lactida

Fuente: Autor

- Se añadió 5 ml de ácido sulfúrico al 60% v/v y se aumentó la temperatura a 120°C manteniendo agitación constante por un periodo de tiempo de 2 horas, luego se añadió 5 ml más de ácido sulfúrico manteniendo la temperatura y agitación constante por un periodo de tiempo de 7 horas más, finalmente se añadió 5 ml de ácido sulfúrico manteniendo la temperatura y agitación constante por un periodo de tiempo de 9 horas hasta que la muestra se tornó de color café lo que significa la transformación en el dímero láctica.
- La lactida obtenida se polimerizó por el método de apertura de anillo (ROP) la cual se realizó mediante la adición de 3 gr de cloruro de hierro II y 50 ml de etanol al 95% v/v, se llevó a una temperatura de 60°C mediante el uso de una estufa por un período de 24 horas sin el uso de agitación.
- Se eliminó el exceso de etanol por medio de evaporación a 80°C por un período de tiempo de 45 minutos y se filtró el polímero precipitado obtenido.

- El polímero sólido filtrado se llevó a una estufa a 70°C por un período de 48 horas para eliminar el exceso de humedad.

6.3.2. Análisis del ácido poliláctico obtenido

Con el fin de identificar los compuestos y grupos químicos característicos del ácido poliláctico (PLA) se utilizó la técnica de espectroscopía infrarroja.

Materiales y métodos

- Ácido poliláctico obtenido por el método ROP
- Equipo de espectrofotometría NICOLET iS10
- Espátula

Procedimiento

Se coloca una muestra de ácido poliláctico en el equipo de espectrofotometría NICOLET iS10 y se hace el análisis de la muestra con los siguientes parámetros establecidos en el equipo (ANEXO 2):

- N° of scans: 32
- Final format: Absorbance
- Source: IR
- Max range limit: 4000
- Min range limit: 400
- Optical velocity: 0,4747

6.4.Cuarta Fase

En la fase final se utilizó una prensa hidráulica de los laboratorios de transformación de polímeros de la carrera de Ingeniería Mecánica para unir el alginato de calcio y el ácido

poliláctico en un polímero para realizar los análisis termogravimétricos (TGA).



Ilustración 13. Prensa hidráulica

Fuente: Autor

6.4.1. Dosificación del ácido poliláctico (PLA) y alginato de calcio

Debido a que las características del ácido poliláctico (PLA) varían dependiendo de su producción, parámetros y método de polimerización, en los laboratorios de transformación de polímeros y mediante el uso de una prensa hidráulica y un horno industrial se procedió a encontrar el punto de fusión del PLA obtenido; empezando con 60°C que es el punto de fusión más bajo teóricamente hasta alcanzar los 180°C que fue el punto de fusión del PLA obtenido. Además, se variaron los parámetros de presión comenzando con 50 kg/cm² hasta 100 kg/cm² y tiempo de prensado para la obtención del polímero biodegradable como se muestra en la Tabla 2.

Materiales y métodos

- Prensa hidráulica
- Horno industrial

- Balanza analítica Mettler Toledo ML 204
- Guantes resistentes al calor
- Pinzas industriales
- Espátula
- Luna de reloj
- Varilla de cobre

Procedimiento

- Se procedió a calentar la prensa y el horno a una temperatura inicial de 60°C.
- Para la primera muestra se pesó 1 gr de ácido láctico (PLA) y 1 gr de alginato de calcio en una balanza analítica.
- Se mezcló y añadió la muestra de PLA y alginato de calcio en el molde de la prensa por un periodo de 2 minutos y con una presión de 50 kg/cm².
- Al retirar la muestra de la prensa se deja enfriar el polímero por un tiempo de 2 minutos.
- Se aumentó la temperatura de 60°C hasta alcanzar 180°C y se variaron los parámetros de presión y tiempo de prensado hasta encontrar el punto de fusión del PLA como se muestra en la Tabla 2, con la temperatura de fusión el PLA y el alginato de calcio logran fundirse en un solo polímero homogéneo y que no se desintegra.

Tabla 2. Muestras y parámetros para la elaboración del polímero biodegradable

Muestra	Temperatura °C	Presión Kg/cm2	Tiempo Minutos	Peso gr	Dosificación %	
					PLA	Alg
1	60	50	2	2	50	50
2	60	50	2,5	2	50	50
3	80	50	3	2	50	50
4	80	50	3	2	50	50
5	100	100	3	2	50	50
6	100	100	3	2	50	50
7	120	100	3	2	50	50
8	120	100	3	2	50	50
9	120	100	3	2	50	50
10	135	100	3	2	50	50
11	135	100	3	2	50	50
12	150	100	3	2	50	50
13	150	100	2	2	50	50
14	160	50	2	2	50	50
15	160	50	2	2	50	50
16	160	80	1,5	2	50	50
17	170	80	3	2	50	50
18	170	100	2	2	50	50
19	170	100	2,5	2	50	50
20	180	50	2	2	50	50

21	180	80	2,5	2	50	50
22	180	100	2	2	50	50
23	180	100	2,5	2	50	50
24	180	100	2	2	50	50
25	180	100	2	2	80	20
26	180	100	2	2	20	80

Fuente: Autor

Encontrado el punto de fusión del PLA y logrando formar un polímero con el alginato de calcio, se variaron los porcentajes de PLA y alginato con el fin de obtener polímeros con diferentes porcentajes de cada material en 3 muestras diferentes para realizar los análisis termogravimétricos como se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Variación de porcentajes de PLA y alginato de calcio en el polímero

Muestra	Temperatura °C	Presión Kg/cm ²	Tiempo min	Peso gr		Porcentaje %	
				PLA	Alg	PLA	Alg
1	180	100	2	1	1	80	20
2	180	100	2	1,6	0,4	50	50
3	180	100	2	0,4	1,6	20	80

Fuente: Autor

6.4.2. Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras

Los análisis termogravimétricos fueron realizados a las 3 muestras por los Laboratorios de Ensayos Metrológicos y de Materiales LEMAT-ESPOL para poder caracterizar la termorresistencia de los polímeros con diferentes dosificaciones mediante los siguientes

parámetros:

- Intervalos de temperatura: 35°C a 900°C
- Velocidad de calentamiento: de 1°C/min cuando la pérdida de peso es mayor que 2 mgs⁻¹ y 20°C cuando la pérdida de peso es inferior a 1 mgs⁻¹.
- Nitrógeno: 35°C y 60°C
- Aire: 600°C y 900°C
- Flujo de aire y nitrógeno: 50 ml/mim

CAPÍTULO III

7. RESULTADOS

7.1. Primera fase

7.1.1. Secado y triturado de las algas

Utilizando el secado en condiciones ambientales para las muestras se logró eliminar el mayor contenido de humedad de las algas en un tiempo de exposición de 24 horas, esto para su mejor manejo y triturado; con el proceso de triturado se logró reducir el tamaño de las muestras de algas como se muestra en la Ilustración 15 y así se aumentó la superficie que entraría en contacto con los químicos y procesos posteriores para aumentar, mejorar y optimizar la obtención de alginato de sodio.



Ilustración 14. Muestras de algas secas y trituradas

Fuente: Autor

7.1.2. Obtención de alginato de sodio líquido

7.1.2.1. Hidratación

Las muestras de algas trituradas fueron hidratadas con la solución de formaldehído al 0,1% por un período de tiempo de 12 horas, transcurrido ese tiempo las muestras de algas aumentaron su volumen debido al proceso de hidratación.

7.1.2.2. Pre-extracción con tratamiento ácido

Se aplicó ácido clorhídrico 1N en la solución de muestras de algas hidratadas para reducir el pH a 3, con la reducción de pH se logró convertir en ácido algínico las sales de alginato presentes en la pared celular de las algas, se evidenció en las muestras de algas que se tornaron de un color café oscuro y también un cambio en su consistencia formándose una masa compacta como se muestra en la Ilustración 15.



Ilustración 15. Muestra de algas luego del proceso de pre-extracción con tratamiento ácido

Fuente: Autor

7.1.2.3. Extracción

El proceso de extracción culminó en un tiempo aproximado de 3 horas y con una temperatura de 85°C en el cual se evidenció un cambio de color y textura del líquido en el cual se encontraban las muestras de algas como se muestra en la Ilustración 16, el líquido tomó un color café oscuro, se elevó el pH a 10 mediante el uso de bicarbonato de sodio y durante el proceso el líquido tomó un color café claro y una textura espesa debido a la temperatura y extracción del alginato de sodio de la pared celular de las algas, se logró obtener una muestra de alginato de sodio mediante un intercambio iónico y un aumento del pH.

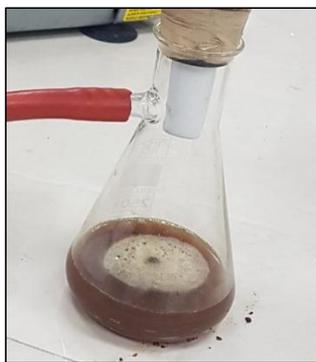


Ilustración 16. Muestra de alginato de sodio obtenido

Fuente: Autor

7.1.2.4. Filtración

Se logró eliminar todos los residuos sólidos de algas mediante una filtración al vacío, el filtrado de alginato de sodio no presentó impurezas por sedimentación luego de estar en reposo por un tiempo de 12 horas a temperatura ambiente como se muestra en la Ilustración 17.

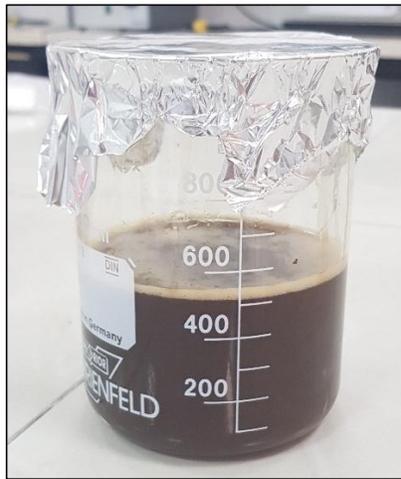


Ilustración 17. Muestra de alginato de sodio líquido con un período de 12 horas de reposo

Fuente: Autor

7.1.3. Análisis del alginato de sodio

Basado en el trabajo de (Borja, Castro, & Eceiza, 2015) y mediante el uso del equipo de espectrofotometría se logró identificar tres mediciones de vibraciones de frecuencia de banda del alginato de sodio entre los cuales se encuentran el enlace O-H o grupo hidroxilo con una medición de banda de $3274,56 \text{ cm}^{-1}$, el enlace COO^- con una medición de banda de $1653,74 \text{ cm}^{-1}$ y un enlace COO^- con una medición de $1371,53 \text{ cm}^{-1}$, estos enlaces identificados permitió confirmar y asegurar que el material extraído del alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* fue alginato de sodio.

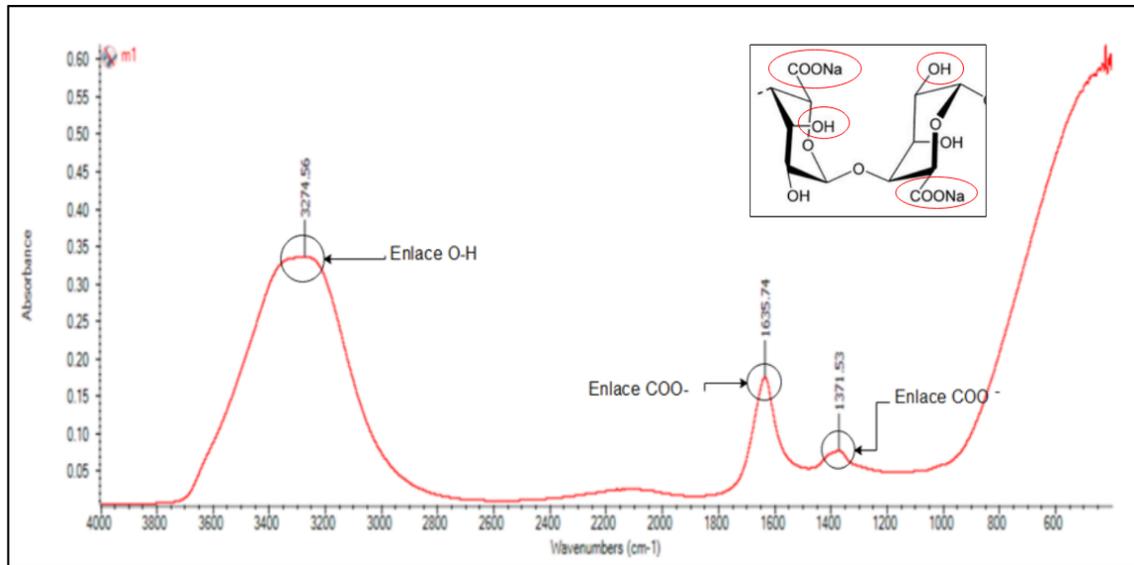


Ilustración 18. Enlaces químicos del espectro infrarrojo del alginato de sodio líquido

Fuente: Autor

7.1.4. Precipitación del alginato de sodio líquido en alginato de calcio

Se realizaron tres diferentes pruebas con 50 ml de alginato de sodio líquido cada una y con cantidades diferentes de cloruro de calcio (CaCl_2) hasta evidenciar y alcanzar la formación y posterior precipitación de alginato de calcio sólido.

Como se puede observar en la Ilustración 19, en la muestra A no se formó el alginato de calcio y la muestra de alginato de sodio permaneció sin mayores cambios, en la muestra B se evidenció un cambio en el alginato de sodio con una textura un poco arenosa lo que significó la formación y posterior precipitación de alginato de calcio sólido y finalmente en la muestra C también se formó y precipitó el alginato de calcio con una textura mucho más arenosa que la muestra B.

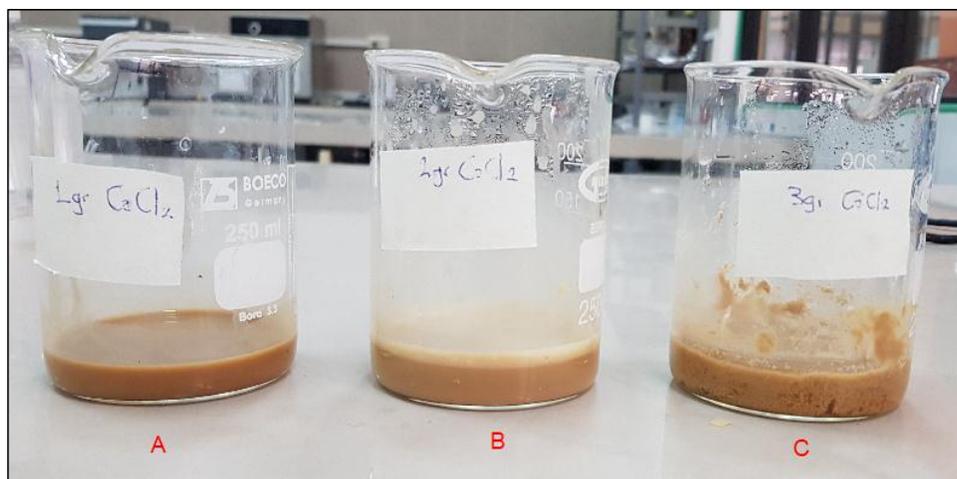


Ilustración 19. Muestras de alginato de sodio con diferentes dosis de cloruro de calcio:
A) 1 gr CaCl_2 , B) 2 gr CaCl_2 , C) 3 gr CaCl_2

Fuente: Autor

Una vez eliminada la humedad de las muestras precipitadas con 2 gr y 3 gr de CaCl_2 a una temperatura de 80°C y un tiempo de 2 horas, quedó un polímero sólido de alginato de calcio; en la Ilustración 20 se observa que la muestra precipitada con 2 gr de CaCl_2 presenta una consistencia granulosa mientras la muestra precipitada con 3 gr de CaCl_2 es compacta.

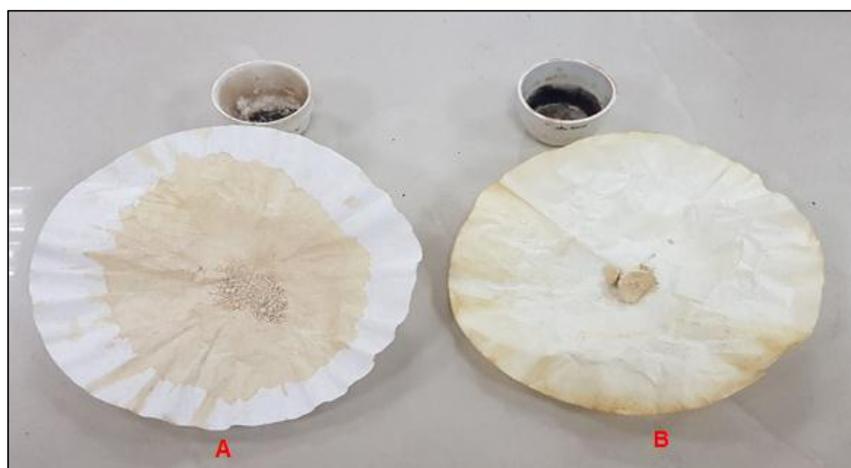


Ilustración 20. Muestras de alginato de calcio precipitadas: A) 2 gr de CaCl_2 , B) 3 gr de CaCl_2

Fuente: Autor

7.2. Segunda fase

7.2.1. Síntesis del ácido láctico

7.2.1.1. Activación y cultivo de bacterias

Mediante el uso de caldo nutritivo como medio de cultivo se logró activar la cepa de bacterias del género *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* a una temperatura de 30°C y un periodo de tiempo de 24 horas, se logró evidenciar el crecimiento de colonias de bacterias flotando en la superficie del caldo nutritivo y también otras colonias que se encontraban depositadas en el fondo del matraz como se muestra en la Ilustración 21.



Ilustración 21. Activación de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* en agar nutritivo

Fuente: Autor

Una vez activadas las bacterias se logró cultivar las colonias en cajas Petri con agar nutritivo en un periodo de tiempo de 48 horas y con una temperatura constante de 30°C para su posterior identificación, se observó el crecimiento de un solo tipo de colonias de bacterias en las cajas Petri como se muestra en la Ilustración 22, lo que indica un proceso correcto de siembra y crecimiento de bacterias de tipo *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y que no se dio ningún tipo de contaminación por otro tipo de bacterias.



Ilustración 22. Crecimiento de colonias de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgarius*

Fuente: Autor

7.2.1.2. Identificación de bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgarius*

Bajo el microscopio y mediante la aplicación de la técnica de tinción de Gram se identificó colonias de bacterias tipo bacilos Gram positivos como se muestra en la Ilustración 23, que de acuerdo a la teoría revisada y la sepa sembrada pertenecen al género *Lactobacillus Delbreuckii Bulgarius*, bacterias heterofermentativas utilizadas en la producción de ácido láctico.

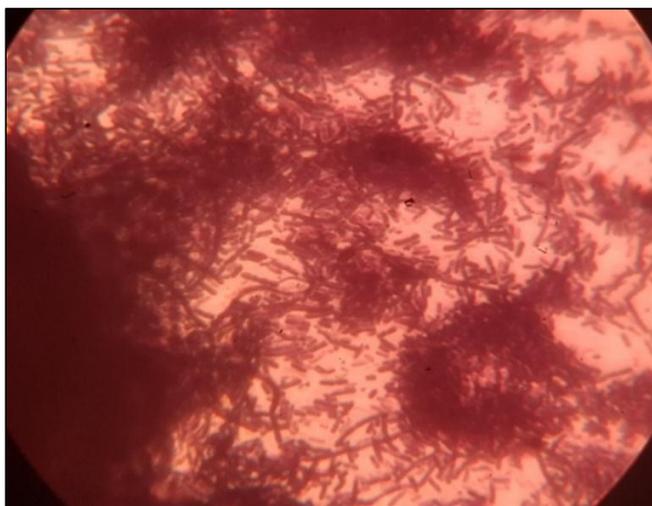


Ilustración 23. Colonias de Bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgarius* vistas bajo microscopio

Fuente: Autor

7.2.1.3. Preparación del medio y sustrato de fermentación

Con el uso de almidón de papa y agar nutritivo como medio líquido se logró formar una mezcla homogénea como sustrato para las bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*, luego de 3 días se observó que la mezcla se separó y el almidón de papa sedimentó en el matraz, se aplicó agitación una vez al tercer día para lograr una mezcla homogénea y se dejó el resto de tiempo sin agitación para no alterar el proceso de fermentación.



Ilustración 24. Solución de bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* con sustrato de almidón

Fuente: Autor

7.2.1.4. Fermentación del ácido láctico

Transcurrido los 15 días se logró observar un cambio en el color en el agar utilizado como medio de cultivo, la mezcla se tornó de un color amarillo oscuro y el sustrato de almidón presentaba una consistencia gelatinosa y pegajosa, se pudo apreciar un olor característico a leche fermentada que se desprendía del matraz.

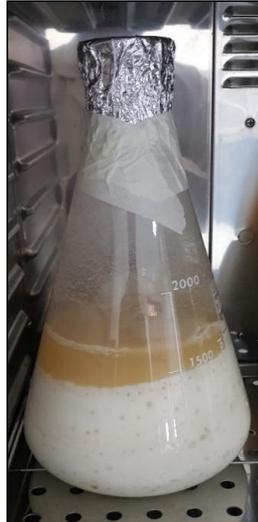


Ilustración 25. Solución de bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* y almidón de papa luego de 15 días de fermentación

Fuente: Autor

7.2.2. Recuperación del ácido láctico

El filtrado del proceso de fermentación se utilizó en el proceso de destilación que empezó a ebullición a una temperatura de 91°C, como resultado del proceso de destilación se recuperó ácido láctico incoloro con un olor a leche fermentada.

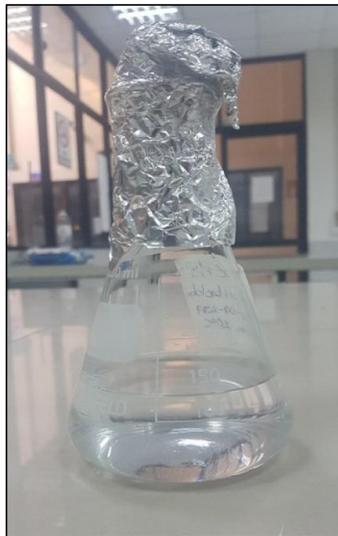


Ilustración 26. Ácido láctico obtenido por destilación

Fuente: Autor

Durante el proceso de destilación no todo se recuperó, se obtuvo un sobrante que no se pudo seguir destilando, el sobrante presentó un color amarillo oscuro más intenso del que presentaba el filtrado al inicio del proceso de destilación.



Ilustración 27. Líquido sobrante del proceso de recuperación por destilación del ácido láctico

Fuente: Autor

7.2.3. Análisis del ácido láctico

Mediante el uso del equipo de espectrofotometría se obtuvo el espectro infrarrojo del ácido láctico sintetizado y recuperado, se identificaron dos mediciones de frecuencia de bandas pertenecientes al enlace OH o grupo hidroxilo presentes en alcoholes y ácidos con una medición de banda de $3274,54 \text{ cm}^{-1}$ y un enlace C=O-OH el cual pertenece al grupo ácido con una medición de banda de $1637,35 \text{ cm}^{-1}$ por lo que se comprobó la correcta síntesis y recuperación de ácido láctico por vía fermentativa mediante el uso de la bacteria *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*.

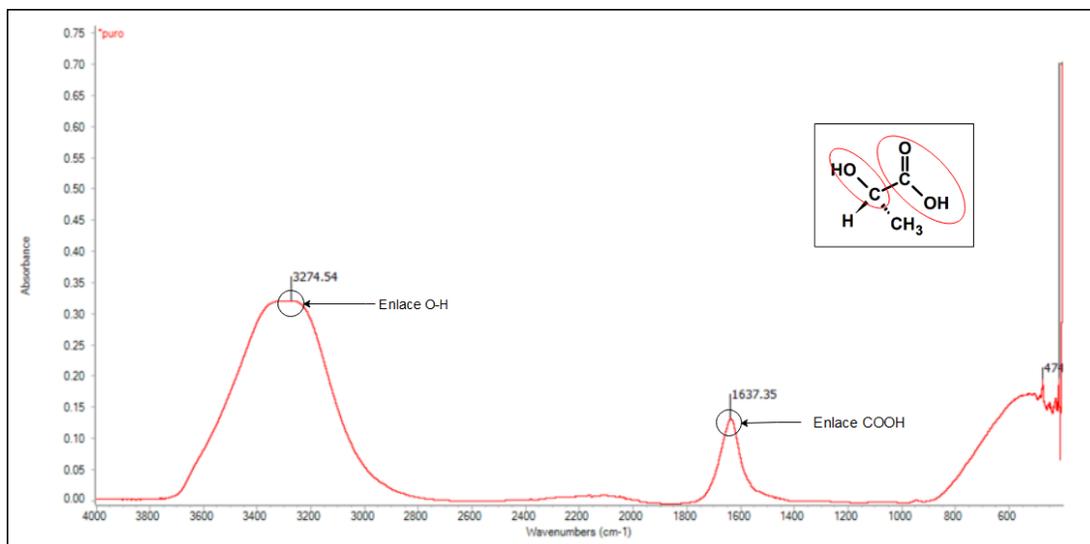


Ilustración 28. Espectro infrarrojo y estructura química del ácido láctico

Fuente: Autor

Se realizó la comparación del ácido láctico obtenido y un producto comercial que contiene ácido láctico mediante la técnica de espectrofotometría y se pudo observar la semejanza en su espectro infrarrojo, en la ilustración 29 se muestra la coincidencia de los picos con un valor de frecuencia de banda de $3274,54 \text{ cm}^{-1}$ en el ácido láctico obtenido y $3274,47 \text{ cm}^{-1}$ en el producto comercial con ácido láctico perteneciente al enlace OH y un pico con un valor de frecuencia de banda de $1637,35 \text{ cm}^{-1}$ en el ácido láctico obtenido y $1638,14 \text{ cm}^{-1}$ en el producto comercial con ácido láctico perteneciente al enlace C=O-OH característico del grupo ácido.

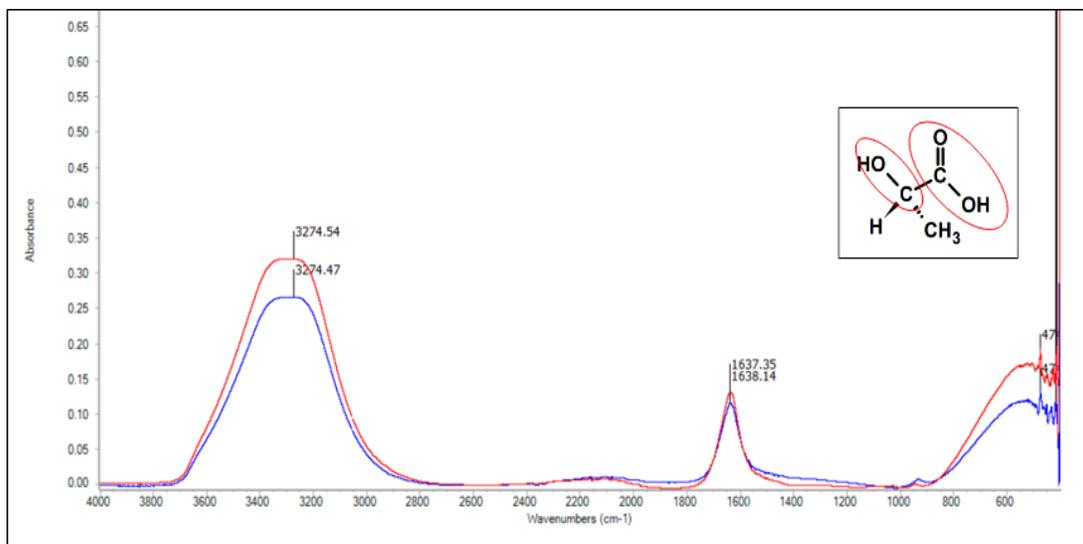


Ilustración 29. Comparación del ácido láctico obtenido (color rojo) y ácido láctico comercial (color azul)

Fuente: Autor

7.3. Tercera fase

7.3.1. Polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA)

Mediante el uso de 20 ml de ácido sulfúrico al 60% v/v durante un tiempo de 9 horas se logró obtener el dímero láctica que se presenta de un color café oscuro como se muestra en la Ilustración 30.

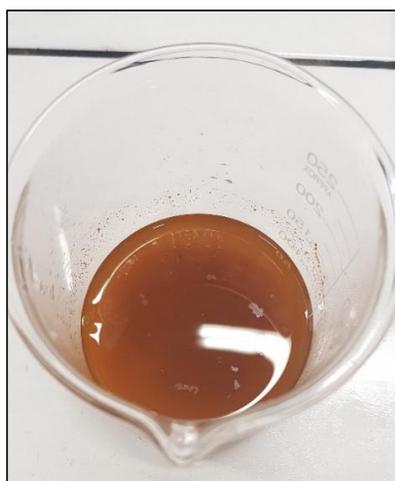


Ilustración 30. Lactida obtenida

Fuente: Autor

La polimerización de la lactida por el método de apertura de anillo (ROP) se realizó mediante el uso de 3 gr de cloruro de hierro II como catalizador y 50 ml de etanol, el proceso de polimerización dio como resultado un polímero sólido de color blanco que precipitó al fondo del vaso como se muestra en la Ilustración 31.



Ilustración 31. Polímero de ácido poliláctico obtenido por el método ROP

Fuente: Autor

Una vez eliminado el exceso de etanol por medio de evaporación, quedó el polímero de ácido poliláctico sin humedad el cuál tomó un color gris como se muestra en la Ilustración 32.



Ilustración 32. Ácido poliláctico obtenido

Fuente: Autor

7.3.2. Análisis del ácido poliláctico (PLA)

Se analizó el espectro infrarrojo de la muestra del polímero de ácido poliláctico para la identificación de mediciones de frecuencia de bandas de los enlaces y grupos químicos característicos del PLA, entre ellos enlaces -CH- con mediciones de bandas de 2950 cm^{-1} y 2990 cm^{-1} , enlaces C=O con mediciones de bandas de 1746,64 cm^{-1} , enlaces CH₃ con mediciones de bandas de 1381,46 cm^{-1} , enlaces CH con mediciones de bandas de 1266,81 cm^{-1} y mediciones de banda con valores de 1180,53 pertenecientes a enlaces de tipo C-O presentes en los ácidos, con estos resultados se confirmó la correcta polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA).

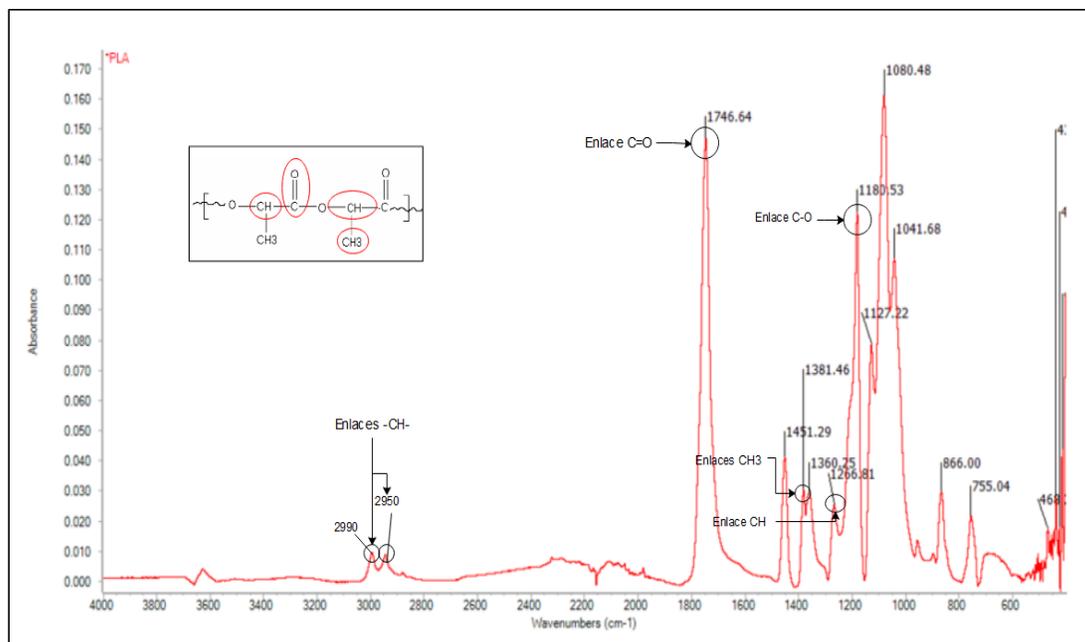


Ilustración 33. Espectro infrarrojo y estructura química del ácido poliláctico

Fuente: Autor

7.4. Cuarta fase

7.4.1. Dosificación del ácido poliláctico (PLA) y alginato de calcio

Para la elaboración del polímero biodegradable con ácido poliláctico (PLA) y alginato de

calcio se variaron principalmente dos parámetros que son la presión y temperatura, con los valores de los dos parámetros y dosificaciones en la Tabla 2, se evidencia que estos parámetros están directamente relacionados entre sí, a mayor temperatura se necesitó una mayor presión para lograr una fusión homogénea del polímero entre el PLA y el alginato de calcio.

Se variaron las proporciones de PLA y alginato de calcio como se muestra en la Tabla 3, y se mantuvieron los parámetros de temperatura a 180°C y 100 kg/cm² de presión por un tiempo de 2 minutos para lograr formar los 3 polímeros como se muestra en la Ilustración 34 y realizar los análisis termogravimétricos de cada polímero.

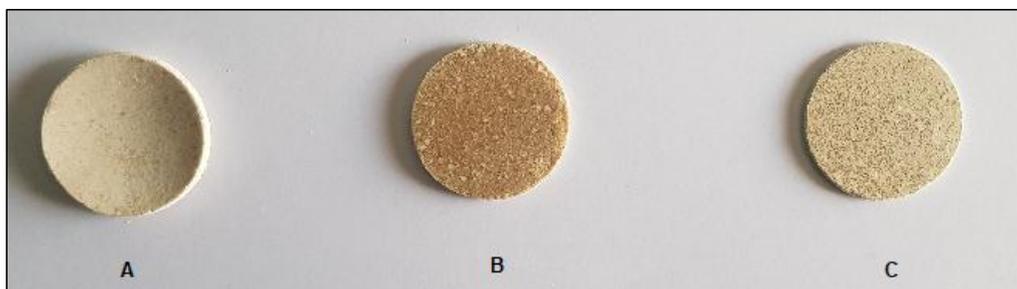


Ilustración 34. Polímero obtenido con diferentes porcentajes de Pla y alginato de calcio: A) 50% PLA y 50% Alginato, B) 80% PLA y 20% Alginato, C) 20% PLA y 80% Alginato

Fuente: Autor

7.4.2. Análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras

El polímero con una dosificación 50% PLA y 50% alginato de calcio (muestra 1 del ANEXO 1) empieza a perder su peso a una temperatura de 12°C por lo que no presenta buenas características térmicas, pierde un 33% de su peso total de 9,7740 mg a partir de los 98°C hasta los 270°C y queda un 30% de residuos, un peso de 2,9322 mg de cenizas que se lo puede atribuir a metales y otros compuestos del proceso de biosorción natural realizado por el alga, que se lo puede observar en la Ilustración 35.

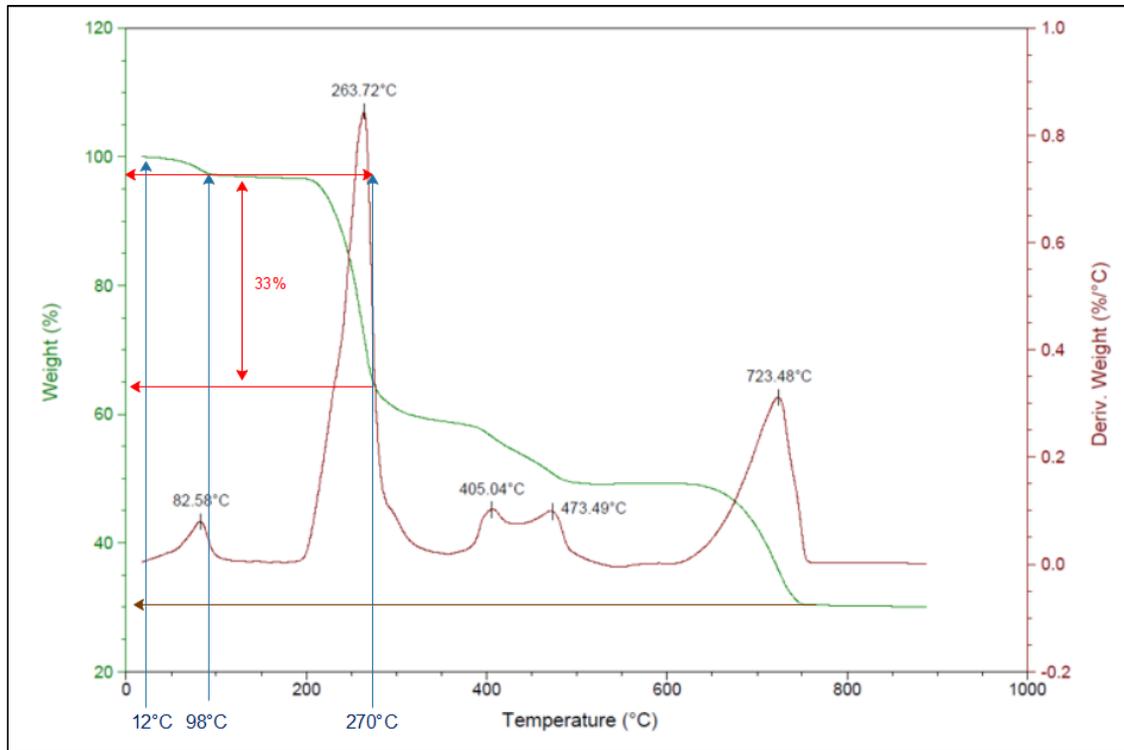


Ilustración 35. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 50% Pla y 50% alginato de calcio

Fuente: Autor

El polímero con una dosificación 20% PLA y 80% alginato de calcio (muestra 3 del ANEXO 1) empieza a perder su peso a una temperatura de 24°C presentando un mayor estabilidad térmica que la muestra 2, pierde un 26% de su peso total de 10.5080 mg a partir de los 548°C hasta los 752°C, sin embargo, a partir de los 24°C se evidencia en la Ilustración 36 pérdidas de su peso, esta muestra deja un 56% de residuos equivalente a un peso de 5,8844 mg.

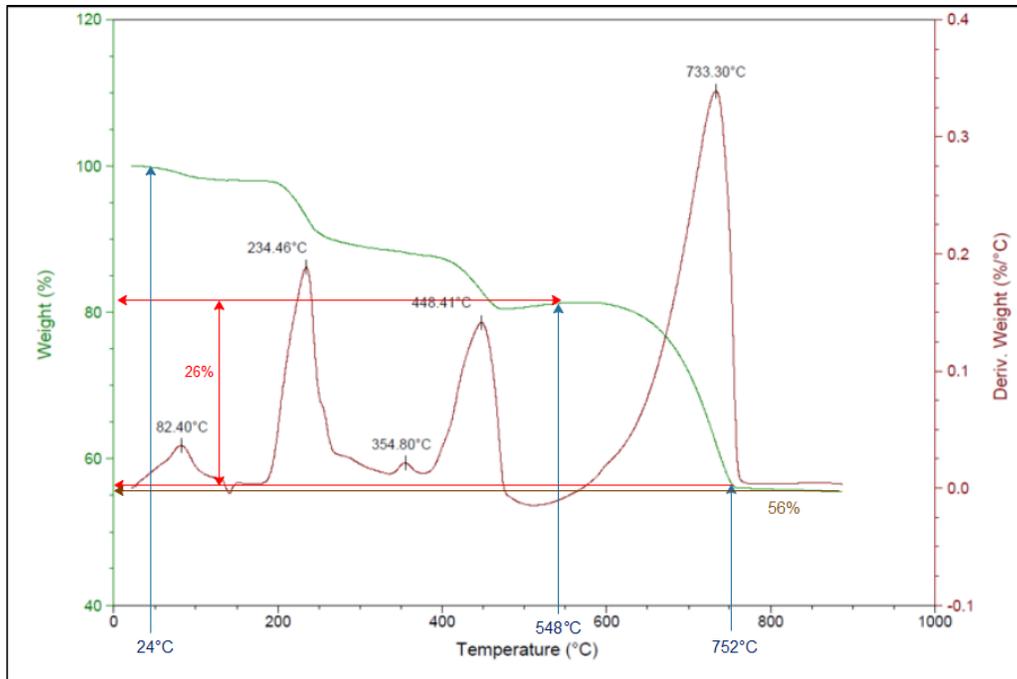


Ilustración 36. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 20% Pla y 80% alginato de calcio

Fuente: Autor

De los análisis termogravimétricos (TGA) realizados a los 3 polímeros se pudo observar que el polímero con un porcentaje de 80% de PLA y 20% alginato de calcio (muestra 2 del ANEXO 1) presenta mejores características térmicas que las otras dos muestras, el polímero como se muestra en la Ilustración 37, es termoestable hasta alcanzar 80°C en el cual su estructura y peso de 10,0380 mg no varían con la temperatura, en comparación con la Ilustración 38 de un análisis TGA realizado a una muestra de PLA por (Amaya, 2018) el polímero sintetizado muestra una temperatura de 200°C antes de perder peso, mientras que el PLA puro alcanza 300°C antes de perder peso como muestra la curva TGA.

La curva TGA también presenta que el polímero a partir de los 80°C hasta los 299°C pierde un 60% de su peso total de 10,0380 mg, lo que equivale a una pérdida de 6,0228 mg.

También se observa que al llegar a una temperatura máxima de 900°C queda un residuo

de 14,9% del peso total de la muestra equivalente a un peso de 1,4956 mg.

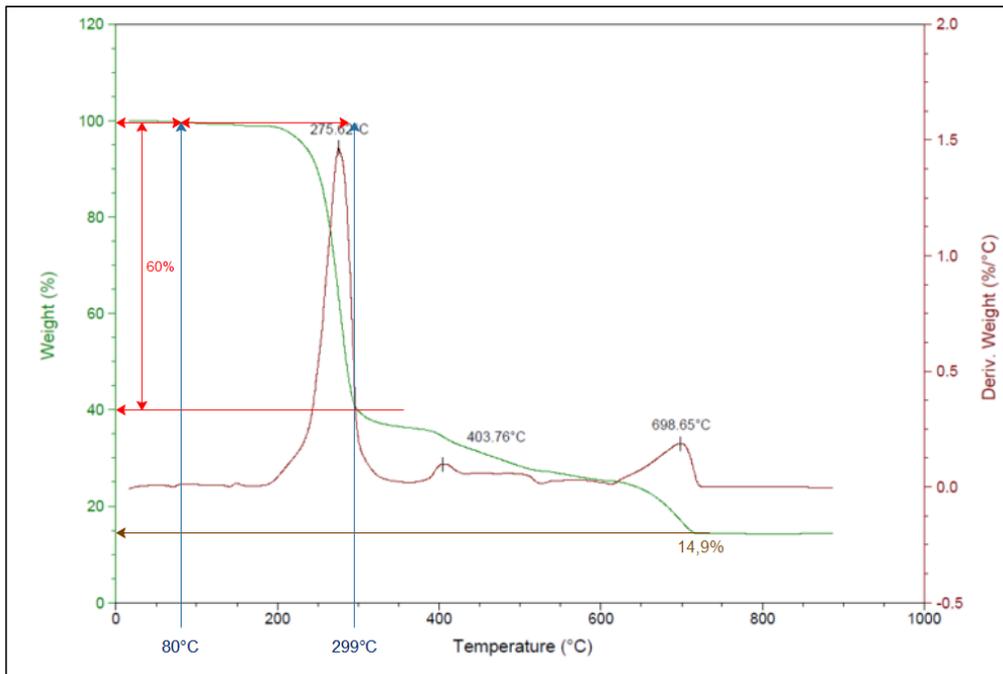


Ilustración 37. Determinación de la estabilidad térmica y residuos del polímero con un porcentaje de 80% Pla y 20% alginato de calcio

Fuente: Autor

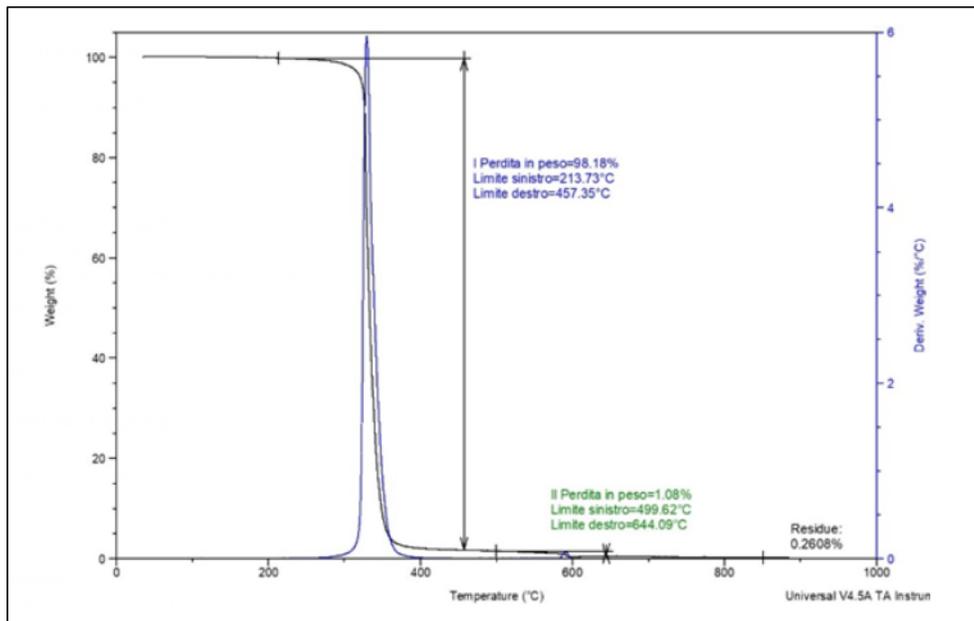


Ilustración 38. Análisis termogravimétrico TGA de ácido poliláctico

Fuente: (Amaya, 2018)

En los análisis TGA realizados a los polímeros con las diferentes dosificaciones se evidencia un porcentaje de residuos diferentes en cada uno de las 3 muestras como se muestra en la Tabla 4, en el polímero con una dosificación de 20% PLA y 80% alginato de calcio se muestra un residuo equivalente al 56% de su peso total, en el polímero con una dosificación de 50% PLA y 50% alginato de calcio se muestra un residuo equivalente al 30 % de su peso total y finalmente en el polímero con una dosificación 80% PLA y 20% alginato de calcio se muestra un residuo equivalente al 14,9 % de su peso total, se puede atribuir estos residuos a metales y otros tipos de compuestos presentes en el alginato de calcio por el proceso de biosorción realizado por el alga debido a que a mayor porcentaje de alginato de calcio en el polímero existe una mayor cantidad de residuos.

Tabla 4. Resumen de parámetros de los polímeros

	Muestra 1 (50% PLA – 50% Alginato)	Muestra 2 (80% PLA – 20% Alginato)	Muestra 3 (20% PLA – 80% Alginato)	Ácido poliláctico (100% PLA)
Peso inicial (mg)	9,7740	10.5080	10,0380	-
Temperatura inicial de degradación (°C)	12	80	24	213,73
Temperatura final de degradación (°C)	723,48	698,65	733,30	644,09
Residuos (%)	30	14,9	56	0,2608
Residuos (mg)	2,9322	1,4956	5,8844	-

Fuente: Autor

Se puede observar en los resultados de los análisis TGA realizados a las 3 muestras en la Tabla 4, en comparación con la muestra de PLA realizado por (Amaya, 2018) que la temperatura final de degradación de las 3 muestras aumenta en forma proporcional a la

cantidad de alginato de calcio que contiene cada muestra como se indica en la Ilustración 39.

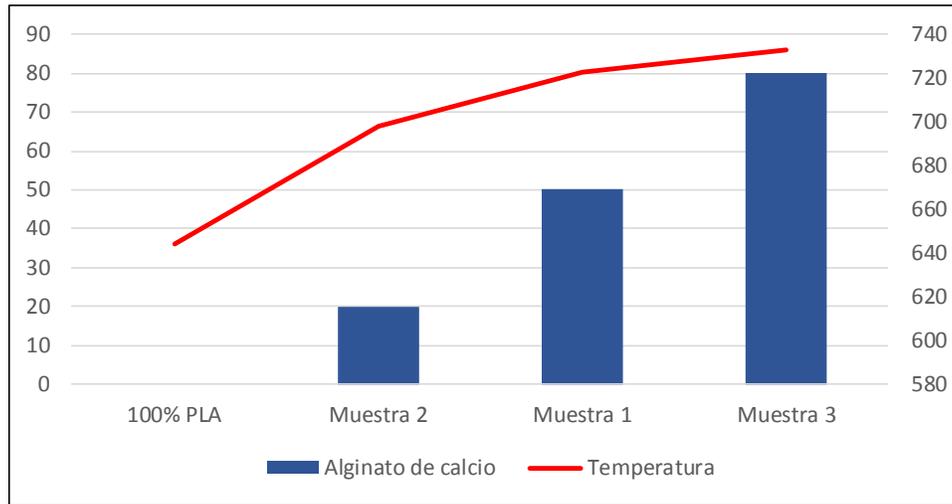


Ilustración 39. Comparación de la temperatura final de degradación con la cantidad de alginato de calcio

Fuente: Autor

Mientras que la temperatura inicial de degradación de las 3 muestras disminuye en forma inversamente proporcional a la cantidad de alginato de calcio que contiene cada una de las muestras como se observa en la Ilustración 40.

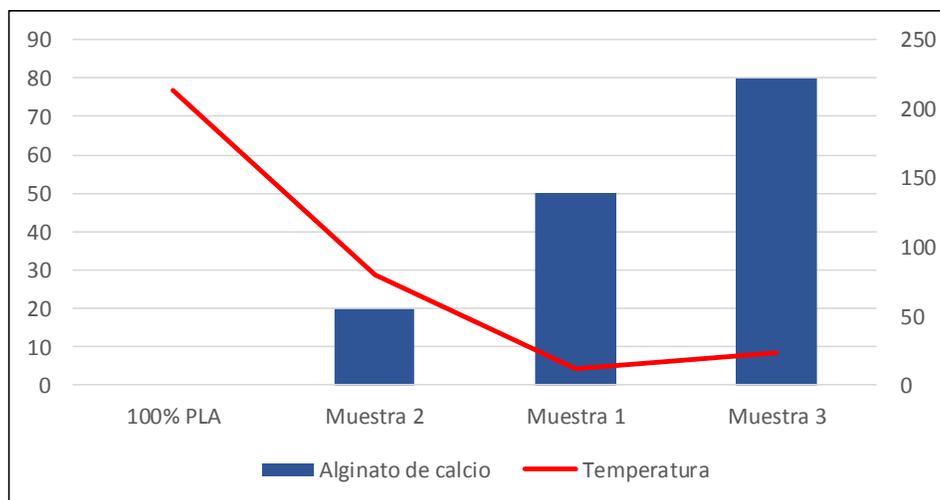


Ilustración 40. Comparación de la temperatura inicial de degradación con la cantidad de alginato de calcio

Fuente: Autor

8. DISCUSIÓN

Para la obtención del ácido láctico a nivel industrial y comercial se utiliza la técnica de fermentación bacteriana debido a sus ventajas económicas y técnicas sencillas en comparación del método de síntesis química (Serna-Cock & Stouvenel, 2005), la temperatura de fermentación depende de cada especie de bacteria, el género de bacterias *Lactobacillus* fermenta ácido láctico a una temperatura que no supere los 35°C en un ambiente anaerobio y un período de tiempo mínimo entre 2 y 4 días para el inicio de la fermentación y termina cuando el sustrato es consumido por completo (Siles, 2014), en este trabajo investigación se utilizó *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus* como bacteria fermentativa en un ambiente anaerobio utilizando almidón de papa como sustrato, por un período de tiempo de 15 días y una temperatura constante de 20°C para asegurar la obtención de ácido láctico.

La recuperación más sencilla del ácido láctico se realiza por destilación a una temperatura de entre 80°C y 130°C dependiendo de la especie de bacteria utilizada, las bacterias heterofermentativas como *Lactobacillus* producen compuestos secundarios en el proceso de fermentación por lo que es necesario la separación y recuperación del ácido láctico (Budhavaram & Fan, 2009; Courtin et al., 2002; Renschler et al., 2019), en esta investigación se realizó el proceso de destilación para la recuperación del ácido láctico a una temperatura de 91°C que fue el punto de ebullición de la solución filtrada del caldo fermentativo.

Para la polimerización del ácido láctico en ácido poliláctico (PLA) de alta densidad se utiliza la técnica de apertura de anillo (ROP) lo que asegura la obtención de un polímero de mejores características termo mecánicas, esta técnica utiliza temperaturas superiores a 135°C y periodos de tiempo de 5 a 7 horas en los procesos de deshidratación, hidrólisis y despolimerización que garantizan la formación del dinero denominado lactida (Mehta et al.,

2005), en esta investigación se aplicó una temperatura inicial de 80°C hasta alcanzar una temperatura constante de 120°C durante un período de tiempo de 18 horas para así obtener el dímero lactida.

Para dar inicio a la reacción de polimerización de la lactida en ácido poliláctico (PLA) es necesario el uso de un catalizador, según estudios realizados el catalizador más utilizado para esta reacción es el 2-etilhexanoato de estaño, sin embargo, se pueden utilizar sales de metales de aluminio, zinc y titanio (Cuervo & Echeverry, 2016). En esta investigación se utilizó el cloruro de hierro II como catalizador para dar inicio a la reacción de apertura de anillo de la lactida y su posterior polimerización en ácido poliláctico (PLA), los resultados fueron favorables como se demostró mediante el análisis del espectro infrarrojo del polímero de PLA obtenido; por lo que se demostró que el uso de cloruro de hierro II es un catalizador ideal para la polimerización de la lactida. La lactida se polimerizó en un tiempo de 24 horas mediante el uso de cloruro de hierro II como catalizador, mientras que en un estudio realizado por (Ruvalcaba, Francisco, García, Eduardo, & Fernández, 2017) la lactida se polimerizó en ácido poliláctico (PLA) en un tiempo de 7 horas mediante el uso de 2-etilhexanoato de estaño como catalizador.

El ácido poliláctico (PLA) presenta residuos lo que se ha demostrado mediante un análisis TGA realizado a una muestra de ácido poliláctico (PLA) puro, estos residuos son atribuidos al catalizador utilizado en la reacción de polimerización (Amaya, 2018), se comparó estos resultados con los análisis TGA realizados en esta investigación a las tres muestras con diferentes dosificaciones de PLA, los residuos de las tres muestras son atribuidos al alginato de calcio, debido a que son inversamente proporcionales a la cantidad de PLA que contiene cada muestra, y proporcionales a la cantidad de alginato contenido en cada muestra; a medida

que se aumenta la cantidad de alginato aumenta la cantidad de residuos en cada muestra como se muestra en la Ilustración 41.

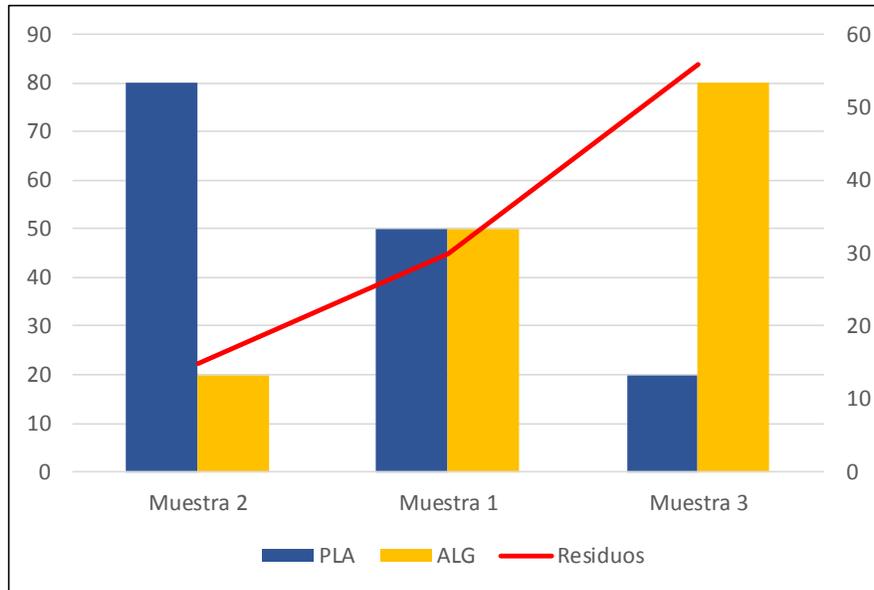


Ilustración 41. Grafica de comparación de residuos con las proporciones de PLA y alginato de calcio

Fuente: Autor

9. CONCLUSIONES

- Se comprobó que se puede utilizar el alga parda *Sargassum Ecuadoreanum* como materia prima para la obtención de alginato de sodio, el cual puede obtenerse mediante el uso de ácido clorhídrico y bicarbonato de sodio como catalizadores para realizar el intercambio iónico con las sales de alginato presentes en la pared celular del alga; a partir de 30 gr de algas se obtuvo 500 ml de alginato de sodio dando una relación de rendimiento de 3:50.
- En el proceso de fermentación para la síntesis de ácido láctico se debe mantener una temperatura constante de 20°C y un período de tiempo de fermentación del sustrato de 15 días, no se necesita aplicar agitación a la mezcla de agar nutritivo y almidón a

partir del tercer día para no interrumpir el proceso fermentativo que realizan las bacterias *Lactobacillus Delbreuckii Bulgaricus*.

- Para la precipitación de alginato de calcio a partir de 50 ml de alginato de sodio líquido es necesario el uso de 2 gr de CaCl_2 como catalizador para la precipitación de alginato de calcio y luego de eliminar la humedad se registra una cantidad de alginato de calcio con un peso de 2,45 gr que es proporcional a la cantidad de cloruro de calcio utilizada como catalizador.
- El polímero sintetizado con un porcentaje de 80% PLA y 20% alginato de calcio mediante el análisis de las pruebas TGA demuestra que posee una estabilidad térmica sin cambios en su peso hasta una temperatura de 80°C y presenta un menor cambio en su estabilidad a partir de los 80°C hasta llegar a los 200°C; además tiene una menor cantidad de residuos finales por lo que puede ser utilizado como material para embalaje, botellas, descartables, recipientes u otro tipo de contenedores que no sobrepasen esa temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbayess, H., Chadefaud, M., Feldmann, J., Ferré, Y., Gaussen, H., Grassé, P., & Prévot, A. (1989). *Botánica. Vegetales inferiores*.
- Abdala-Díaz, R. T., Cabello-Pasini, A., Márquez-Garrido, E., & Figueroa, F. L. (2014). Variación intratalo de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y actividad de la fenolsulfatasa en *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) del sur de España. *Ciencias Marinas*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.7773/cm.v40i1.2350>
- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances*, 31(6), 877–902. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Agrawal, A. K., & Bhalla, R. (2003). Advances in the Production of Poly(Lactic Acid) Fibers. A Review. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 43(4), 479–503. <https://doi.org/10.1081/MC-120025975>
- Anaya Lang, A. L. (2003). *Ecología Química* (Primera ed; M. Contreras, Ed.). Retrieved from [https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=3221121&query=composicion quimica de algas pardas](https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=3221121&query=composicion+quimica+de+algas+pardas)
- Anaya, O., & López, T. (2018). DISEÑO DE UNA BIOREFINERÍA SOSTENIBLE PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DE MOLASAS DE AZÚCAR. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 17, 243–259. Retrieved from <http://www.rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/36/20>
- Arvizu, D. (1993). *Optimización del proceso de extracción de alginato de sodio a partir del alga café *Macrocystis pyfera**. Instituto Politécnico Nacional.
- Arvizu, D. L., Hernández, G., & Rodríguez, E. (2002). Parámetros que afectan la conversión del ácido algínico en alginato de sodio. *Ciencias Marinas*, 28, 27–36. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48028103>
- Auras, R., Harte, B., & Selke, S. (2004). An Overview of Polylactides as Packaging Materials. *Macromolecular Bioscience*, 4(9), 835–864. <https://doi.org/10.1002/mabi.200400043>
- Avenas, P. (2012). Etymology of Main Polysaccharide Names. In *The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE)* (pp. 13–21). https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0421-7_2
- Ayarza, J. (2014). Los alginatos: 20000 usos de las algas submarinas. *Revista de Química PUCP*, Vol. 28.
- Bernardeau, M., Vernoux, J., Henridubernet, S., & Gueguen, M. (2008). Safety assessment

of dairy microorganisms: The Lactobacillus genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.015>

Bianchi, M. M., Brambilla, L., Protani, F., Liu, C.-L., Lievense, J., & Porro, D. (2001). Efficient Homolactic Fermentation by *Kluyveromyces lactis* Strains Defective in Pyruvate Utilization and Transformed with the Heterologous LDH Gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5621–5625. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5621-5625.2001>

Borja, d'Arlas, Castro, C., & Eceiza, A. (2015). ALGINATE FIBERS OBTAINED BY COAGULATION SPINNING WITH MULTIVALENT METAL SULPHATES. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, Vol. 35, 79–88.

Budhavaram, N. K., & Fan, Z. (2009). Production of lactic acid from paper sludge using acid-tolerant, thermophilic *Bacillus coagulan* strains. *Bioresource Technology*, 100(23), 5966–5972. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.080>

Buenfil, A., & Ramos, L. (2014). *Aprovechamiento y potencial de producción de alginato de sodio con algas procedentes de la costa maya de Quintana Roo* (Universidad de Quintana Roo). Retrieved from <http://risisbi.uqroo.mx/handle/20.500.12249/892>

Burgos, N., Martino, V. P., & Jiménez, A. (2013). Characterization and ageing study of poly(lactic acid) films plasticized with oligomeric lactic acid. *Polymer Degradation and Stability*, 98(2), 651–658. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.11.009>

Caja, V., Salas, N., Becerra, E., Bazán, D., Reyna, L., Cornejo, O., & Lellist, M. (2004a). *Obtención de ácido alginico a partir del alga Lessonia trabeculata*. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/282349237>

Caja, V., Salas, N., Becerra, E., Bazán, D., Reyna, L., Cornejo, O., & Lellist, M. (2004b). OBTENCIÓN DE ÁCIDO ALGÍNICO A PARTIR DEL ALGA Lessonia trabeculata. *Revista de Ingeniería Química*, Vol. 7. Retrieved from <https://docplayer.es/37586186-Obtencion-de-acido-alginico-a-partir-del-alga-lessonia-trabeculata.html>

Carvalho Ferreira, N., Grande, H., Filho, J., & Buzá Jacobucci, G. (2018). The structure of gammarid amphipod (Crustacea, Peracarida) assemblages associated with Sargassum (Phaeophyta, Fucales) and their link with the structural complexity of algae. *Hidrobiologia*, volumen 82, 245–256. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2598/docview/2046358143/41BB9EAF7BC94D0DPQ/4?accountid=32861>

Castells, X. E. (2012). *Biomasa y Bioenergía*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=3201239&query=celulosa lignina algas pardas>

Castillo Martinez, F. A., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., Domínguez González, J. M., Converti, A., & Oliveira, R. P. de S. (2013). Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 30(1), 70–83.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.007>

- Castillo, O., Torres, S., Núñez, C., Peña, V., Herrera, C., & Rodríguez, J. (2017). Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. *Hidrobiologica*, 27, 337–352. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2598/docview/2097445304/abstract/BDEEAE56EF6946F2PQ/1?accountid=32861>
- Castrejón, V., Carbó, R., & Martínez, M. (2007). *MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE DE LA GLUCOSA*.
- Castro, J., & Vera, M. (2012). *DISEÑO DE REACTORES DE PREPOLIMERIZACIÓN Y POLIMERIZACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO POLILÁCTICO EN UNA PLANTA INDUSTRIAL*. Universidad de Cartagena.
- Coimbra, N. V., Nascimento, M., & Giese, E. C. (2017). AVALIAÇÃO DO USO DE BIOMASSA BACTERIANA IMOBILIZADA NA BIOSSORÇÃO DE TERRAS-RARAS LEVES E MÉDIAS. *HOLOS*, 6, 146. <https://doi.org/10.15628/holos.2017.6445>
- Conforti, T. (1983). *Morfología, taxonomía y estereoultraestructura de las Euglenophytas del área bonaerense* (Universidad de Buenos Aires). Retrieved from http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1779_Conforti.pdf
- Coreño-Alonso, J., & Méndez-Bautista, M. T. (2010). Relación estructura-propiedades de polímeros. *Educación Química*, 21(4), 291–299. [https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(18\)30098-3](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(18)30098-3)
- Coronado, J. P. (2016). Tabla de ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS DE UN ASERRÍN MEDIANTE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA). *Revista Colombiana de Química*, Vol. 44, 5–10.
- Courtin, P., Monnet, V., & Raúl, F. (2002). Cell-wall proteinases PrtS and PrtB have a different role in *Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413–3421.
- Cuervo, L., & Echeverry, J. (2016). *EVALUACIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDO POLILÁCTICO PROVENIENTE DEL SUERO DE QUESERÍA A NIVEL LABORATORIO*. Universidad de América.
- Cui, F., Li, Y., & Wan, C. (2011). Lactic acid production from corn stover using mixed cultures of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus brevis*. *Bioresource Technology*, 102(2), 1831–1836. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.063>
- Curtis, H., Barnes, S., Schnek, A., & Massarini, A. (2008). *Biología* (Séptima Ed; A. Schnek & A. Massarini, Eds.). Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=mGadUVpdTLsC&pg=PA485&dq=genero+sargassum&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjexsjDONfmAhUyVt8KHWH->

BBgQ6AEIUDAG#v=onepage&q=genero sargassum&f=false

- Datta, R., Tsai, S., Bonsignore, P., Moon, S., & Frank, J. (1995). Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. *FEMS Microbiology Reviews*, 16(2–3), 221–231. [https://doi.org/10.1016/0168-6445\(94\)00055-4](https://doi.org/10.1016/0168-6445(94)00055-4)
- De la Lanza, G., Hernández Pulido, S., & Crbajal Pérez, J. L. (2000). *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (Bioindicadores)* (Primera ed; P. y Valdés, Ed.). Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=DfXiBOYXb98C&pg=PA101&dq=algas+dinophyta&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwibp55QR9fmAhXEo1kKHYY3ARUQ6AEIKDA#v=onepage&q=algas dinophyta&f=false>
- De Marco, S. G., Vega, L., & Bellagamba, P. (2011). *Reserva natural del Puerto Mar del Plata, Un oasis urbano de vida silvestre* (Primera ed; J. M. (Universidad F. Ravasi, Ed.). Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=4HbGN4ssGeAC&pg=PA426&dq=algas+dinophyta&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwibp55QR9fmAhXEo1kKHYY3ARUQ6AEIMjAB#v=onepage&q=algas dinophyta&f=false>
- Delgado, H. E., & Narvaez, A. V. (2019). *EVALUACIÓN DEL ALGA PARDA (Sargassum spp) COMO REMOVEDOR NATURAL PARA LA ELIMINACIÓN DEL ION CROMO EN SOLUCIONES ACUOSAS* (Univerdiad de Guayaquil). Retrieved from www.fcq.ug.edu.ec
- Delley, M., & Hottinger, H. (1990). DNA Probe for Lactobacillus delbrueckii. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 56(6), 1967–1970. Retrieved from <http://aem.asm.org/>
- Edelman, M., Swinton, D., Schiff, J. A., Epstein, H. T., & Zeldin, B. (1967). Deoxyribonucleic Acid of the Blue-Green Algae (Cyanophyta). *Bacteriology Reviews: American Society for Microbiology*, 31(4), 315–331.
- Esaú López-Jácome, L., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación En Discapacidad, Vol. 3*, 10–18. Retrieved from www.medigraphic.org.mx
- Estupiñán, H. A., Vásquez, C., Peña, D. Y., & Ardila, L. F. (2011). Degradation of polylactic acid / hydroxyapatite and polyglycolic acid in simulated body fluid. *Revista UIS Ingenierías*, 10, 145–150.
- Fajardo León, M. del C. (1994). *EVALUACION DE BIOMASA Y DETERMINACION DE ESPECIES DE LOS MANTOS DEL GENERO Sargassum spp AGARDH, 1821 (FUCALES; PHAEOPHYTA) EN LA BAHIA DE LA PAZ, B.C.S., MEXICO, EN PRIMAVERA DE 1988*. Instituto Politecnico Nacional.

- Fernández, L., Montiel, J., Millán, A., & Badillo, J. (2012). Producción de biocombustible a partir de microalgas. *Universidad Autónoma Indígena de México*, 8(3), 101–115. <https://doi.org/10.4324/9781315178271>
- Flores-Garay, K. A., Martínez-Luévanos, A., Cruz-Ortiz, B. R., García-Cerda, L. A., & López-Badillo, C. M. (2016). Synthesis of calcium silicates by Pechini method and exchanging ions of sodium alginate-calcium chloride. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 55(6), 239–245. <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2016.05.002>
- Gallardo Rodríguez, J. J. (2009). *Ingeniería de Bioprocesos en el cultivo de dinoflagelados* (Universidad De Almería). Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=zUFBAQAAQBAJ&pg=PA9&dq=algas+dinophyta&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwibp5SQr9fmAhXEo1kKHYI3ARUQ6AEIQjAD#v=onepage&q=algas+dinophyta&f=false>
- Gámez, J., Flores, A., Carreón, B., López, A., García, A., Castillo, J., ... Farfán, M. (2007). *SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS POR VÍA POLICONDENSACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO*. Tamaulipas.
- Gomez, A. L., Lopez, J. A., Rodriguez, A., Fortiz, J., Martinez, L. R., Apolinar, A., & Enriquez, L. F. (2016). Produccion de compuestos fenolicos por cuatro especies de microalgas marinas sometidas a diferentes condiciones de iluminacion. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(1), 137–143. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue1-fulltext-14>
- González, A., Bustos, M., Rodríguez, G., Rodríguez, L., & Del Ángel, A. (2020). cinemática de fermentación del ácido láctico a partir del bagazo de caña de azúcar por *Lactobacillus pentosus*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 19, 377–386. Retrieved from <http://rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/618/231>
- González-Torres, L., Téllez-Valencia, A., Sampedro, J. G., & Nájera, H. (2007). LAS PROTEÍNAS EN LA NUTRICIÓN. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 8(2).
- González, A. (2006). Algas y cianoprocarotas de las aguas dulces de Cuba I: Euglenales pigmentadas (Euglenophyceae, Euglenophyta). *Acta Botánica Cubana*, 194, 22–32.
- Green, C. T., & Scow, K. M. (2000). Analysis of phospholipid fatty acids (PLFA) to characterize microbial communities in aquifers. *Hydrogeology Journal*, 8(1), 126–141. <https://doi.org/10.1007/s100400050013>
- Guarnizo Franco, A., Martínez Yépes, P. N., & Valencia Sánchez, H. A. (2009). Pretratamientos de la celulosa y biomasa para la sacarificación. *Scientia Et Technica, Volumen 14*, 284–289.
- Guerrero, V., Dávila, J., Rosas, N., Sotomayor, S., Pontón, P., & Galéas, S. (2011). *Nuevos materiales: aplicaciones estructurales e industriales* (Primera Ed; V. Guerrero, Ed.). Retrieved from

https://www.academia.edu/20338571/Nuevos_materiales_aplicaciones_estructurales_e_industriales

- Hamad, K., Kaseem, M., Yang, H. W., Deri, F., & Ko, Y. G. (2015). Properties and medical applications of polylactic acid: A review. *Express Polymer Letters*, 9(5), 435–455. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2015.42>
- Hernández Carmona, G., Casas Valdéz, M. M., León Fajardo, C., Sánchez Rodríguez, I., & Rodríguez Montesinos, E. (1990). Evaluación de Sargassum spp. en la Bahía de la Paz, B.C.S., México. *CICIMAR, Volumen 5*, 13–18. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/263159442>
- Hirayama, S., & Ueda, R. (2004). Production of Optically Pure D-Lactic Acid by *Nannochlorum* sp. 26A4. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 119(1), 71–78. <https://doi.org/10.1385/ABAB:119:1:71>
- Huffard, C. L., von Thun, S., Sherman, A. D., Sealey, K., & Smith, K. L. (2014). Pelagic Sargassum community change over a 40-year period: temporal and spatial variability. *Marine Biology*, 161(12), 2735–2751. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2539-y>
- Ibáñez, E., & Herrero, M. (2017). *Las algas que comemos*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/reader.action?docID=4908790&query=composicion+quimica+de+algas+pardas#>
- Industria Avícola. (2019). Algas marinas en la alimentación avícola: ¿por qué?: Las algas marinas son un recurso natural y renovable que contiene polisacáridos sulfatados marinos con una amplia gama de posibilidades en producción avícola. *Agriculture: Poultry And Livestok*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2598/docview/2174787660/abstract/2B549B85185F498CPQ/1?accountid=32861>
- Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552–571. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00126.x>
- Jin, B., Huang, L. P., & Lant, P. (2003). Rhizopus arrhizus – a producer for simultaneous saccharification and fermentation of starch waste materials to L(+)-lactic acid. *Biotechnology Letters*, 25(23), 1983–1987. <https://doi.org/10.1023/B:BILE.0000004389.53388.d0>
- John, R. P., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2007). Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 524–534. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0779-6>
- Jun, C. L. (2000). Reactive Blending of Biodegradable Polymers: PLA and Starch. *Journal of Polymers and the Environment*, 8(1), 33–37.

<https://doi.org/10.1023/A:1010172112118>

- Ke, T., & Sun, X. S. (2003). Thermal and mechanical properties of poly(lactic acid)/starch/methylenediphenyl diisocyanate blending with triethyl citrate. *Journal of Applied Polymer Science*, 88(13), 2947–2955. <https://doi.org/10.1002/app.12112>
- Kendrick, G. A., & Walker, D. I. (1991). Dispersal distances for propagules of *Sargassum spinuligerum* (Sargassaceae, Phaeophyta) measured directly by vital staining and venturi suction sampling. *Marine Ecology Progress Series*, volumen 79, 133–138.
- Kitazawa, H., Harata, T., Uemura, J., Saito, T., Kaneko, T., & Itoh, T. (1998). Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *International Journal of Food Microbiology*, 40(3), 169–175. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00030-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00030-0)
- Laloi, P., Atlan, D., Blanc, B., Gilbert, C., & Portalier, R. (1991). Cell-wall-associated proteinase of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CNRZ 397: differential extraction, purification and properties of the enzyme. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 196–204. <https://doi.org/10.1007/BF00164419>
- Leliaert, F. (2019). Green Algae: Chlorophyta and Streptophyta. *Reference Module in Life Sciences, Four editi*, 457–468. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.20890-x>
- Liu, G.-C., He, Y.-S., Zeng, J.-B., Xu, Y., & Wang, Y.-Z. (2014). In situ formed crosslinked polyurethane toughened polylactide. *Polymer Chemistry*, 5(7), 2530. <https://doi.org/10.1039/c3py01649h>
- Martín Del Campo, A. S., Robledo-Ortíz, J. R., Arellano, M., Jasso-Gastinel, C. F., Silva-Jara, J. M., López-Naranjo, E. J., & Pérez-Fonseca, A. A. (2020). Glycidyl methacrylate as compatibilizer of poly(Lactic acid)/nanoclay/agave fiber hybrid biocomposites: Effect on the physical and mechanical properties. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(1), 455–469. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Mat627>
- McHugh, J. (1987). *Producción, propiedades y usos de alginatos*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/x5822e/x5822e04.htm>
- Mehta, R., Kumar, V., Bhunia, H., & Upadhyay, S. N. (2005). Synthesis of Poly(Lactic Acid): A Review. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 45(4), 325–349. <https://doi.org/10.1080/15321790500304148>
- Méndez, J., Pérez, E., & Morales, R. (2018). EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE Se(IV) EN PROCESOS DE BIFORTIFICACIÓN DE GERMINADOS. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 4(1), 1170–1174.
- Montoya Pérez, L. A., Restrepo Molina, D. A., & Mahecha, H. S. (2010). Influencia del alginato de Sodio Sobre la Sinéresis en Jamón Cocido. In *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* (Vol. 63). Bogotá.

- Murillo, L. (2013). *Recuperación y purificación de L (+) ácido láctico aplicando tecnologías de membrana y un caldo de piña (Ananas comosus) fermentado*. Universidad de Costa Rica, San José.
- Myklestad, S. M., & Granum, E. (2009). Biology of (1,3)- β -glucans and related glucans in protozoans and chromistans. In A. (Universidad de M. Bacic & B. (Universidad de L. T. Stone (Eds.), *Chemistry, Biochemistry, and Biology of 1-3 Beta Glucans and Related Polysaccharides* (pp. 353–385). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373971-1.00010-8>
- Núñez, A., Emilia, C., Michelena, G., & Alvarez, X. (2009). Estudios sobre la recuperación y purificación de ácido láctico para la producción de plásticos biodegradables. *ICIDCA: Sobre Los Derivados, Vol. 2*, 20–29. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/316527667_Estudios_sobre_la_recuperacion_y_purificacion_de_acido_lactico_para_la_produccion_de_plasticos_biodegradables
- Osorio, M. A. (2009). *Características generales de las algas*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/reader.action?docID=3181646&query=algas#>
- Pagés, P., Carrasco, F., Pérez, J., Santana, O., & MasPOCH, M. (2010). Procesado del ácido poliláctico (PLA) y de nanocompuestos PLA/montmorillonita en planta piloto: Estudio de sus cambios estructurales y de su estabilidad térmica. *Afinidad, Vol. 67*. Retrieved from <https://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/view/269088>
- Patterson, G. M. L., Baker, K. K., Baldwin, C. L., Bolis, C. M., Caplan, F. R., Larsen, L. K., ... Lewin, R. A. (1993). ANTIVIRAL ACTIVITY OF CULTURED BLUE-GREEN ALGAE (CYANOPHYTA). *Journal of Phycology*, 29(1), 125–130. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1993.tb00290.x>
- Pérez Lloréns, J., & Hernández Carrero, I. (2016). *Las algas se comen: un periplo por la biología, la historia, las curiosidades y la gastronomía* (Primera Ed). Retrieved from [https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=4675970&query=composicion química de algas pardas](https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=4675970&query=composicion%20quimica%20de%20algas%20pardas)
- Quítral R., V., Morales G., C., Sepúlveda L., M., & Schwartz M., M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista Chilena de Nutrición*, 39(4), 196–202. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014>
- Reaven, P., Evert, R., & Eichhorn, S. (2015). *Bología de las plantas* (Cuarta edi). Retrieved from [https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=5635406&query=celulosa lignina algas pardas](https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=5635406&query=celulosa%20lignina%20algas%20pardas)
- Reforma. (2008). *Vanguardia sin riesgos*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2598/docview/308082177/abstract/E43D80D955B24134PQ/10?accountid=32861>

- Renschler, M. A., Wyatt, A., Anene, N., Robinson-Hill, R., Pickerill, E. S., Fox, N. E., ...
McKillip, J. L. (2019). Using nitrous acid-modified de Man, Rogosa, and Sharpe
medium to selectively isolate and culture lactic acid bacteria from dairy foods. *Journal
of Dairy Science*, *103*(2), 1215–1222. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17041>
- Rinaudo, M. (2014). Biomaterials based on a natural polysaccharide: alginate. *TIP*, *17*(1),
92–96. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(14\)70322-5](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(14)70322-5)
- Rodríguez-Montesinos, Y. E., Arvizu-Higuera, D. L., Reyes-Tisnado, R., Murillo-Álvarez,
J. I., & Muñoz-Ochoa, M. (2012). Ingeniería, investigación y tecnología. In
Ingeniería, investigación y tecnología (Vol. 13). Facultad de Ingeniería de la
Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rubira, K. (2012). *DIVERSIDAD, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS
MACROALGAS EN LA ZONA INTERMAREAL ROCOSO EN LAS PLAYAS DE
SALINAS, LA LIBERTAD Y BALLENTA (PENÍNSULA DE SANTA ELENA –
ECUADOR OCTUBRE – NOVIEMBRE 2009)*. Universidad de Guayaquil.
- Ruiz, G. (2006). Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del
almidón de yuca. *Ingeniería y Ciencia*, *2*, 5–28.
- Ruvalcaba, M., Francisco, J., García, B., Eduardo, J., & Fernández, M. (2017). SÍNTESIS
DE OLIGÓMEROS DE POLILACTIDA Y SUS POLIURETANOS. *Jóvenes En La
Ciencia*, *3*(1).
- San Andrés, M., Chércoles, R., Gómez, M., & De la Roja, J. (2008). *Materiales sintéticos
utilizados en la manipulación, exposición y almacenamiento de obras de arte y bienes
culturales. Caracterización por espectroscopia FTIR-ATR*. Madrid.
- Seoáñez Clavo, M. (2013). *Tratado de la biomasa* (M. León, Ed.). Retrieved from
[https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=3211491&
query=celulosa lignina algas pardas](https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/detail.action?docID=3211491&query=celulosa+lignina+algas+pardas)
- Serna-Cock, L., & Stouvenel, A. R. (2005). PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE
ACIDO LÁCTICO: ESTADO DEL ARTE BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION
OF LACTIC ACID: STATE OF THE ART PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA
DE ÁCIDO LÁCTICO: ESTADO DO ARTE. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*,
5(1), 54–65. <https://doi.org/10.1080/11358120509487672>
- Serna C., L., Rodríguez de S., A., & Albán A., F. (2011). Ácido Poliláctico (PLA):
Propiedades y Aplicaciones. *Ingeniería y Competitividad*, *5*(1), 16.
<https://doi.org/10.25100/iyc.v5i1.2301>
- Serrano, Y. (2010). Polihidroxialcanoatos (PHAs): Biopolímeros producidos por
microorganismos. Una solución frente a la contaminación del medio ambiente. *Teoría
y Praxis Investigativa, volumen 5*, 79–84.
- Shen, L., Haufe, J., & Patel, M. K. (2009). *Product overview and market projection of*

emerging bio-based plastics PRO-BIP 2009 Utrecht The Netherlands. Retrieved from www.chem.uu.nl/nwswww.copernicus.uu.nl/commissionedbyEuropeanPolysaccharideNetworkofExcellence

- Shirai, M. A., Grossmann, M. V. E., Mali, S., Yamashita, F., Garcia, P. S., & Müller, C. M. O. (2013). Development of biodegradable flexible films of starch and poly(lactic acid) plasticized with adipate or citrate esters. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.038>
- Siles, A. (2014). *Síntesis, propiedades y aplicaciones del ácido poliláctico a partir del almidón de la papa*. Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa.
- Sim, T.-S., & Goh, A. (1988). Ecology of microalgae in a high rate pond for piggery effluent purification in Singapore. *Mircen Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 4(3), 285–297. <https://doi.org/10.1007/BF01096134>
- Stefanitsi, D., Sakellaris, G., & Garel, J. (1995). The presence of two proteinases associated with the cell wall of *Lactobacillus bulgaricus*. *FEMS Microbiology Letters*, 128(1), 53–58. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(95\)00082-G](https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00082-G)
- Tejada, R. (2015). *OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO POR FERMENTACIÓN DE ALMIDÓN DE ÑAME ESPINO MEDIANTE EL Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus Y EL Streptococcus thermophilus PARA SU USO EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO POLILÁCTICO*. Universidad Nacional de Colombia.
- Tharp, B., & Yound, S. (2009). *Estabilizadores en los Alimentos*. Retrieved from <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2598/docview/209799145/E43D80D955B24134PQ/14?aaccountid=32861>
- Thompson, T. M., Young, B. R., & Baroutian, S. (2020). Pelagic Sargassum for energy and fertiliser production in the Caribbean: A case study on Barbados. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109564>
- Tsukidate, J. (1984). Studies on the regenerative ability of the brown algae *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and *Sargassum tortile* C. Agardh. *Eleventh International Seaweed Symposium*, 22, 393–397. https://doi.org/10.1007/978-94-009-6560-7_77
- Vaca, A. (2018). *BIORREMEDIACIÓN DE AGUA CONTAMINADA CON CADMIO EMPLEANDO LA TÉCNICA DE BIOSORCIÓN CON TRES ESPECIES DE MACROALGAS*. Universidad de Guayaquil.
- Vallejo, S. (2014). *Algas: diversidad vegetal*. Argentina.
- Vargas, S. (2002). *SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS BIODEGRADABLES PREPARADOS A BASE DE ÁCIDO LÁCTICO*. Universidad de Los Andes.
- Vergara, H. (2009). *El mar y su importancia biológica*. Retrieved from

<https://bibliotecas.ups.edu.ec:2708/lib/bibliotecaupssp/reader.action?docID=3181279&query=algas>

Vinueza, F., & León, J. (2017). *Evaluación del rendimiento y calidad de alginato de sodio a partir del aprovechamiento de las algas rojas de la familia Rhodophytas en las costas de Capaes como un recurso alternativo al alginato comercial existente en el mercado*. Universidad de Guayaquil.

Zhang, J.-F., & Sun, X. (2004). Mechanical Properties of Poly(lactic acid)/Starch Composites Compatibilized by Maleic Anhydride. *Biomacromolecules*, 5(4), 1446–1451. <https://doi.org/10.1021/bm0400022>

Zuluaga, F. (2013). ALGUNAS APLICACIONES DEL ÁCIDO POLI-L-LÁCTICO. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, Vol.37(142). Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0370-39082013000100009&script=sci_arttext&tlng=en

ANEXOS

ANEXO 1: Informe de ensayos TGA realizados por LEMAT-SPOL

Laboratorio de Ensayos
Metrológicos y de
Materiales
LEMAT-ESPOL



INFORME DE ENSAYOS/

CERTIFICADO DE
CALIBRACIÓN

Edición: 3

Hoja: 1 de 3 Fecha de emisión: 27/12/2019
N° Informe: 19-439 Número de Orden: OT-2089-19

DATOS GENERALES DEL CLIENTE

Nombre: Christian Oswaldo Loja Fano
Dirección: Calle del concierto y de la mariposa, Cuenca, Azuay
Teléfono: 2340413 Correo electrónico: lojachristian@outlook.com
Persona de Contacto: Ing. Christian Loja

DATOS DE LA MUESTRA

Código de Muestra LEMAT	Descripción de la muestra proporcionada por el cliente	Fecha de Recepción	Muestreo realizado por	Preparación de muestra realizada por	Condición de entrega de la muestra previo al ensayo	Fecha de Ensayo
19-4029	Muestra # 1	19/12/2019	<input checked="" type="checkbox"/> Cliente <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Cliente <input checked="" type="checkbox"/> LEMAT <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Acorde a norma <input type="checkbox"/> No acorde a norma <input checked="" type="checkbox"/> No aplica	Desde 20/12/2019 Hasta 27/12/2019
19-4030	Muestra # 2	19/12/2019	<input checked="" type="checkbox"/> Cliente <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Cliente <input checked="" type="checkbox"/> LEMAT <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Acorde a norma <input type="checkbox"/> No acorde a norma <input checked="" type="checkbox"/> No aplica	Desde 20/12/2019 Hasta 27/12/2019
19-4031	Muestra # 3	19/12/2019	<input checked="" type="checkbox"/> Cliente <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Cliente <input checked="" type="checkbox"/> LEMAT <input type="checkbox"/> No aplica	<input type="checkbox"/> Acorde a norma <input type="checkbox"/> No acorde a norma <input checked="" type="checkbox"/> No aplica	Desde 20/12/2019 Hasta 27/12/2019

MC2203-02

NOTA: Las omisiones, intervenciones, instrucciones, etc., que se indiquen en este informe se encuentran fuera del alcance de acreditación del SAE.

LOS RESULTADOS DECLARADOS EN ESTE INFORME SE REFIEREN ÚNICAMENTE A LOS OBJETOS ENSAYADOS O CALIBRADOS.

Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente informe, salvo autorización escrita del LEMAT.

Guayaquil, Ecuador "Cuadro Galardo" Km. 30.5 vía provincial, contiguo a la Calle Santa Cecilia.

Fax: (093-4)2260201 - Teléfono: 2260175

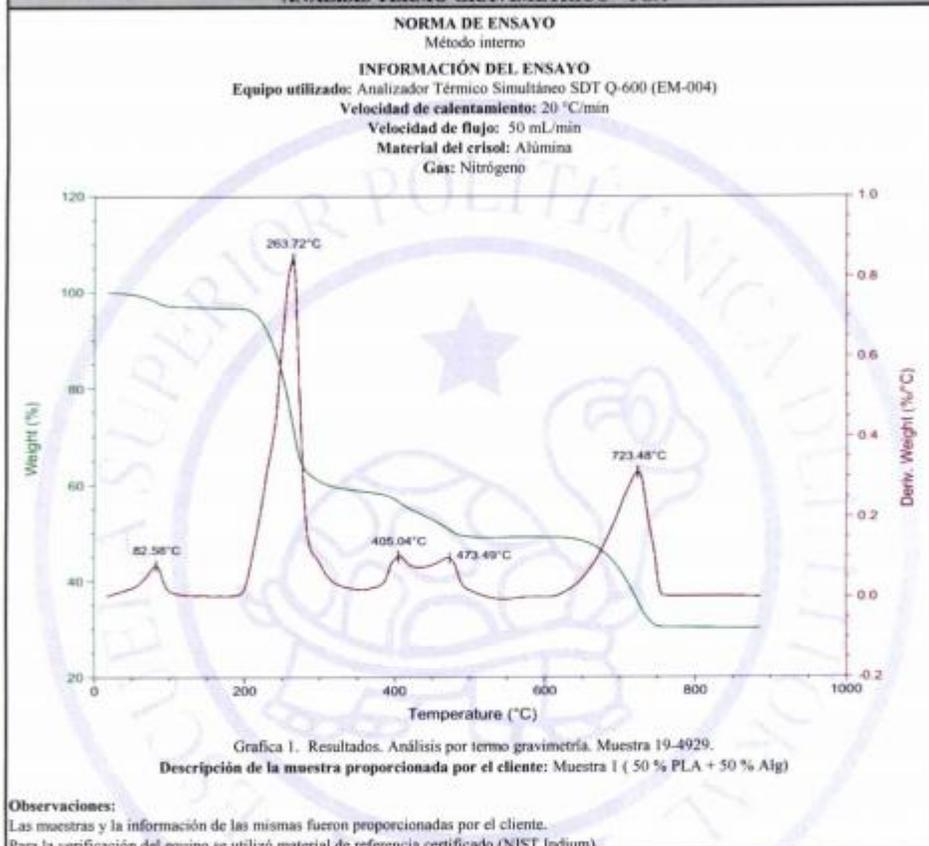
E-mail: lemat@espol.edu.ec

MC2203-02

Hoja: 2 de 3
Nº de informe: 19-439

Fecha de emisión: 27/12/2019
Número de orden: OT-2089-19

ANÁLISIS TERMO GRAVIMÉTRICO - TGA



NOTA: Las comisiones, interpretaciones, excepciones, etc., que se incluyan en este informe se encuentran fuera del alcance de acreditación del SAE.

LOS RESULTADOS DECLARADOS EN ESTE INFORME SE REFIEREN ÚNICAMENTE A LOS OBJETOS ENVIADOS O CALIBRADOS.

Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente informe, salvo aprobación escrita del LEMAT.

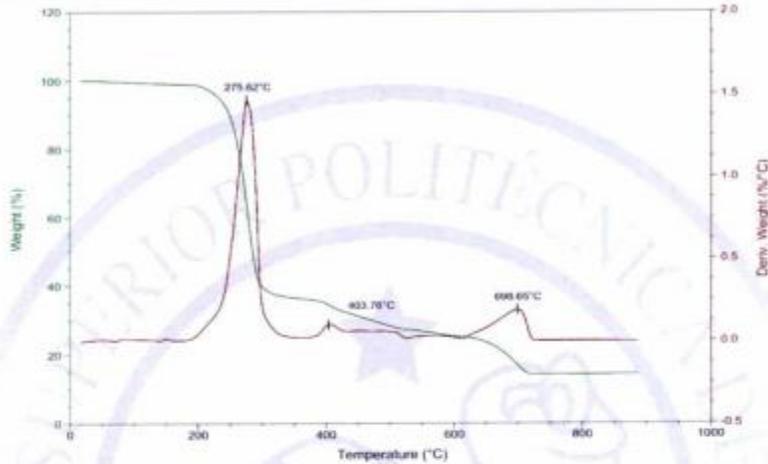
Colombia - Bogotá - "Ciudad Guzmán" - Km. 38.5 vía porvenir, confluencia la Calle Santa Fe norte.

Fax: (571) 41220243 - Teléfono: 2260177

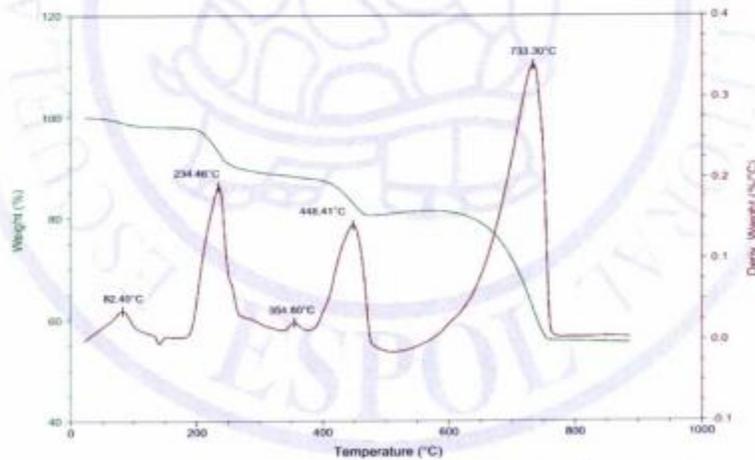
E-mail: lemat@esp.com.co

ISO 2297-03

ANÁLISIS TERMO GRAVIMÉTRICO - TGA

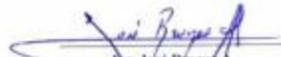


Gráfica 2. Resultados. Análisis por termo gravimetría. Muestra 19-4930.
Descripción de la muestra proporcionada por el cliente: Muestra 2 (80 % PLA + 20 % Alg)



Gráfica 3. Resultados. Análisis por termo gravimetría. Muestra 19-4931.
Descripción de la muestra proporcionada por el cliente: Muestra 3 (20 % PLA + 80 % Alg)


Tnigo, Jairo Triguero H.
Técnico del laboratorio


Ing. José Braque A.
Director del laboratorio

NOTA: Las omisiones, intervenciones, inspecciones, etc., que se indiquen en este informe se encuentran fuera del alcance de acreditación del SAE.

LOS RESULTADOS DECLARADOS EN ESTE INFORME SE REFIEREN ÚNICAMENTE A LOS OBJETOS ENSAYADOS O CALIBRADOS.

Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente informe, salvo aprobación escrita del LEMAT.

Guayaquil, Ecuador "Guillermo Gallardo" Km. 20.7 vía provincial, congreso a la Caba Santa Cecilia

Tel: (593) 412290290 - Teléfono: 2984379

E-mail: lemat@espol.edu.ec

89 2230-85

ANEXO 2. Parámetros establecidos en el equipo de espectrofotometría NICOLET iS10

