The background of the slide is a dark field filled with numerous spherical, green, glowing microalgae cells. Each cell has a textured, granular surface and contains several bright yellow-green spots, likely representing chloroplasts or other organelles. The cells are scattered across the frame, with some in sharp focus and others blurred, creating a sense of depth.

LES ALGUES: SOLUCIÓ DE FUTUR?

Obtenció de biodièsel a partir de microalgues

2n BATXILLERAT B

Tàrraga, 3 de novembre de 2015

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	4
PART TEÒRICA	7
1. LES MICROALGUES	7
1.1 LES ALGUES	7
1.2 TIPUS DE MICROALGUES	8
1.3 HÀBITAT DE LES MICROALGUES	9
1.4 IMPORTÀNCIA DE LES MICROALGUES	9
1.5 COMPOSICIÓ QUÍMICA	10
1.6 ELS LÍPIDS EN LES MICROALGUES	11
1.7 BIODIÈSEL A PARTIR DE MICROALGUES	12
2. CULTIU DE MICROALGUES	12
2.1 CULTIU	12
2.2 PARÀMETRES DE CULTIU	12
2.3 MÈTODES DE CULTIU	13
2.4 SISTEMES DE CULTIU	14
3. EXTRACCIÓ DE BIODIÈSEL A PARTIR DE LES MICROALGUES	14
3.1 COLLITA	14
3.2 ASSECAMENT	15
3.3 SALS PRESENTS EN LA BIOMASSA	16
3.4 EXTRACCIÓ DE LÍPIDS	17
3.5 MÈTODES D'EXTRACCIÓ DE LÍPIDS	17
3.5.1 Extracció mitjançant fluids supercrítics	17
3.5.2 Extracció enzimàtica	17
3.5.3 Extracció amb dissolvents químics	18
3.5.4 Extracció humida	19
4. VISITA A UNA PLANTA DE CULTIU D'ALGUES	20
PART EXPERIMENTAL	22
1. CULTIU DE MICROALGUES I EXTRACCIÓ DE LÍPIDS AMB EL MÈTODE SOXHLET ..	22
1.1 INTRODUCCIÓ	22

1.2	PROVES PRÈVIES.....	23
1.2.1	Experimentació per determinar el millor mètode de cultiu	23
1.2.2	Experimentació per determinar el millor mètode de separació de les algues:	25
1.3	CULTIU DE MICROALGUES.....	26
1.4	EXTRACCIÓ DE LÍPIDS	28
1.4.1	Preparació del cultiu:.....	28
1.4.2	Disrupció cel·lular:	30
1.4.3	Extracció soxhlet:.....	31
1.5	RESULTATS.....	32
2.	EXTRACCIÓ DE LÍPIDS AMB EL MÈTODE ETANOL-HEXÀ	35
2.1	INTRODUCCIÓ.....	35
2.2	EXTRACCIÓ DE LÍPIDS	35
2.3	RESULTATS.....	37
	CONCLUSIONS.....	38
	AGRAÏMENTS	41
	BIBLIOGRAFIA I WEBGRAFIA	42

INTRODUCCIÓ

Avui en dia, el nostre consum energètic és molt elevat i una gran part d'aquesta energia que utilitzem prové dels combustibles fòssils, fonts d'energia no renovables. El ritme al que estem consumint aquest tipus de combustible fa pensar que d'aquí a poc temps ja no en podrem disposar, o que només serà assequible per a aquella part de la població amb més recursos econòmics. També cal incidir en que la utilització que en fem causa un augment de l'efecte hivernacle, que com és sabut, pot provocar un canvi climàtic que du a l'escalfament del planeta. Aquesta possibilitat de deficiència energètica en un futur no gaire llunyà ha ocasionat una gran reacció en la societat. Fent que s'hagin tirat endavant diversos projectes per potenciar l'ús de fonts d'energia renovables i la recerca per trobar-ne de noves que siguin pràctiques, rendibles i no contaminants.

Una d'aquestes possibles solucions al problema esmentat anteriorment, és la producció de biodièsel a partir de microalgues. Es tracta d'un procés innovador que podria facilitar-nos la vida en un futur, però que encara s'està estudiant per tal de comprovar-ne la rendibilitat.

Vaig decidir realitzar el treball de recerca sobre aquesta temàtica principalment perquè m'interessa i sabia que m'agradaria treballar-hi. Des del principi, tenia clar que volia fer un treball amb més part experimental que teòrica i que preferia que aquesta part pràctica fos en un laboratori, ja que és un tipus d'activitat a la qual m'agradaria dedicar-me en un futur. Abans de començar, però, no tenia clar sobre que podia tractar el treball. El que sí que sabia és que preferia que fos de biologia i, aleshores, vaig anar a parlar-ne amb la professora corresponent. Aleshores, ella em va parlar d'aquest projecte, que de seguida em va semblar molt interessant i sobre el que me'n vaig informar una mica més. Després de pensar-hi durant uns dies vaig arribar a la conclusió que realment era el tipus de treball que buscava i que m'interessava i per tant, em vaig decidir a dur a terme la meva investigació sobre aquest tema. A més a més, vaig pensar que la recerca era realment interessant, ja que la possible eficiència de les microalgues com a font de lípids per obtenir biodièsel és un

projecte que, si es demostra que funciona, pot revolucionar el món en què vivim i fer-lo una mica millor i que, en conseqüència, té molt futur.

L'objectiu principal d'aquest treball és estudiar les microalgues i els lípids que contenen. També, es vol comparar la quantitat de lípids produïda per les microalgues cultivades en diferents medis de cultiu, que es troben en diferents condicions. I finalment, es pretén avaluar l'eficiència del procés d'extreure els lípids de les microalgues per produir biodièsel, així com els diferents mètodes que es poden utilitzar per realitzar aquest procés.

La part teòrica del treball l'he realitzat buscant informació per internet en diferents webs, així com consultant diversos treballs que tracten sobre el tema estudiat.

Així, en la part teòrica del treball podem trobar:

En el primer apartat, hi ha la informació bàsica sobre les microalgues per a què les persones que tinguin interès en el treball puguin entendre en quines idees es fonamenta aquest. A més a més, en la primera part també s'introdueixen les idees bàsiques sobre la interrelació entre les algues i la possible extracció de biodièsel del seu interior.

Posteriorment, es tracta el cultiu de microalgues amb la finalitat de generar biodièsel. És a dir, s'expliquen les diferents maneres que existeixen de cultivar microalgues a gran escala, es comenten les condicions que poden afectar el creixement de les algues i s'estudien els avantatges i inconvenients que té cada un dels mètodes estudiats.

En el tercer apartat, podem trobar-hi els processos que cal dur a terme per tractar les algues i poder-ne extreure els lípids que contenen. També s'hi expliquen diverses maneres de tractar-les, i quines condicions poden afavorir utilitzar un mètode o un altre.

Al llarg de la recerca, per poder arribar a conèixer millor el tema, també he visitat una planta on es cultiven microalgues per a l'aqüicultura. Allí, a part de fer una sèrie de preguntes per conèixer alguns detalls dels seus mètodes de cultiu, he aconseguit una mostra de biomassa obtinguda a base d'algues.

A continuació, he dut a terme la part experimental, inicialment, he fet una prova per estar preparada al desenvolupar la part definitiva i no tenir imprevistos. Quan he obtingut els resultats, he cultivat les microalgues seguint diferents patrons per tal de veure quines condicions afavoreixen la producció de lípids. I, quan les algues estaven en la seva fase de màxim creixement, les he tractat al laboratori per tal de poder realitzar el procés de l'obtenció de lípids.

A part d'aquesta fase experimental, també n'he realitzat una altra a partir de les algues que m'han proporcionat a la planta de cultiu que he visitat. Aquest cop he tornat a realitzar l'extracció dels lípids però utilitzant un altre mètode. En la primera part pràctica esmentada anteriorment, el mètode que he utilitzat és el soxhlet, mentre que en aquesta segona part ha estat el mètode etanol-hexà.

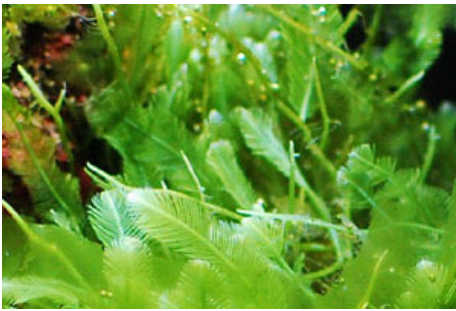
Un cop acabada la part experimental, m'he centrat en analitzar els resultats obtinguts i he formulat les conclusions del treball a partir de la part pràctica i la part teòrica.

PART TEÒRICA

1. LES MICROALGUES

1.1 LES ALGUES

Segons la ficologia, ciència que estudia les algues, una alga és qualsevol organisme que conté clorofil·la a i que posseeix un cos on no es diferencien les arrels, la tija i les fulles. Aquestes presenten diverses similituds amb les plantes, però el fet de no tenir les mateixes característiques les diferencia, i provoca que les algues constitueixin un grup diferent dins la classificació general dels éssers vius.



Dins del grup de les algues podem diferenciar entre les macroalgues, éssers fotosintètics multicel·lulars de creixement ràpid que poden ser marines o d'aigua dolça, i les microalgues, éssers microscòpics que creixen en suspensió en l'aigua, són un tipus d'éssers vius poc

conegut i estudiat que inclouen algues microscòpiques i cianobacteris. Tant les macroalgues com les microalgues poden ser marines o bé d'aigua dolça. Aquests dos tipus d'algues creixen molt ràpidament, però les microalgues contenen quantitats superiors de lípids dins de la seva estructura. Això fa que les microalgues siguin millors per al cultiu si el desenvolupem amb l'objectiu de produir

biodièsel. També, generen interès degut al fet que són més eficients en la utilització de l'energia solar per tal de realitzar la fotosíntesi perquè tenen una estructura cel·lular molt senzilla i a més, com que estan suspeses en aigua tenen millor accés a l'oxigen, el diòxid de carboni i els nutrients.



1.2 TIPUS DE MICROALGUES

Tradicionalment, la classificació més habitual de les algues és segons el seu color, és a dir, segons el pigment fotosintètic que contenen. Així, distingim entre:

- les algues verdes (*Chlorophyta*),
- les algues vermelles (*Rhodophyta*) i
- les algues blaves (*Cyanophyta*).

Tot i això, no hi ha un sistema de classificació de les microalgues definit, ja que constantment es descobreixen noves característiques d'aquests éssers vius i apareixen noves classificacions.

En els actuals sistemes de classificació de les microalgues, es tenen en compte les característiques següents:

- El pigment fotosintètic.
- La naturalesa química dels productes que emmagatzemen.
- Els components de la paret cel·lular.
- Diferents caràcters citològics i morfològics com la presència de cèl·lules flagel·lades, l'estructura dels flagels, l'esquema i la trajectòria de la mitosi i la citocinesi, la possible connexió entre la membrana nuclear i el reticle endoplasmàtic i la presència d'una membrana de reticle endoplasmàtic al voltant dels cloroplasts.

En quant a aquesta última característica podem distingir entre quatre grups diferents de microalgues: les algues procariotes, i, dins de les eucariotes les que tenen els cloroplasts envoltats per les dues membranes de l'embolcall del cloroplast, les que els tenen vorejats per una membrana del reticle endoplasmàtic i les que tenen els cloroplasts envoltats per dues membranes de reticle endoplasmàtic.

Les algues són éssers vius autòtrofs, però en el cas de les microalgues, moltes requereixen per al seu creixement alguns compostos bioquímics que no poden sintetitzar elles mateixes i necessiten que es trobin en el medi.

També hi ha microalgues que són completament autòtrofes, encara que només representen una minoria dins del grup.

1.3 HÀBITAT DE LES MICROALGUES

Les algues poden viure en tots els climes i es poden trobar en situacions ambientals molt diverses ja que són uns éssers vius amb gran capacitat d'adaptació i en podem trobar una gran varietat d'espècies, que requereixen diferents condicions, fet que també augmenta la varietat d'entorns en què les podem trobar.

En tots els ambients aquàtics on hi arriba la llum hi podem trobar algues, en totes les condicions de salinitat de les aigües, així com també en podem trobar en la neu d'algunes muntanyes, al terra del desert o en fonts termals. Cal remarcar també que realitzen el 90% de la fotosíntesi que es realitza a la Terra.

Així doncs, les algues es troben en una gran quantitat d'ambients i hàbitats, i en la majoria d'aquests funcionen com a productes primaris dins de la cadena alimentària.

1.4 IMPORTÀNCIA DE LES MICROALGUES

Algunes espècies de microalgues tenen una gran capacitat d'adaptació al seu entorn. Això implica que poden modificar els seus organismes per tal de produir més quantitat d'un compost determinat. Aquesta característica pot ser molt avantatjosa ja que permet produir grans quantitats de microalgues amb les condicions adequades per a què produeixin grans quantitats del compost que ens interessa. A més a més, el fet que les microalgues tinguin una estructura microscòpica fa que sigui tota la cèl·lula la que sintetitza lípids, a diferència del que es produeix en els vegetals superiors. Si es treballa amb aquestes microalgues al laboratori se'n poden controlar les condicions i això generarà que el cultiu que es produeixi tingui una composició bioquímica similar. En darrer lloc, l'avantatge més important de les microalgues és que tenen elevades

taxes de creixement i que no s'utilitzen per al consum humà, fet que fa que el cultiu d'aquestes per generar energia no hagi de competir amb la producció alimentària, tal com passa en altres casos en què volem aconseguir generar energia a partir d'altres tipus de biomassa com el blat de moro, no cal oblidar tampoc que la producció d'algues amb finalitats energètiques també es pot associar amb l'obtenció d'algun altre producte.

1.5 COMPOSICIÓ QUÍMICA

Les microalgues estan formades majoritàriament per proteïnes, glúcids i lípids. També contenen diferents vitamines i elements, que depenen de cada espècie en concret. La seva composició química, és a dir, la quantitat de cada compost que contenen les microalgues varia àmpliament en relació amb l'espècie, així com també varia dins de la mateixa espècie depenent de les condicions en què han estat cultivades les algues (temperatura, exposició a la llum, nutrients...).

La composició d'aminoàcids i proteïnes de les microalgues és molt similar entre les espècies si creixen en condicions similars. En canvi el contingut de vitamines d'aquestes varia més entre les diferents espècies.

En la taula que adjunto a continuació es pot veure la composició d'algunes de les espècies de microalgues que s'acostumen a utilitzar per a la producció de biocombustibles:

Cepa	Proteïnes (%)	Glúcids (%)	Lípids (%)
Algues d'aigua dolça			
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1,9
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	22-38
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9

<i>Spirulina màxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
Algues d'aigua salada			
<i>Isochrysis sp.</i>	44	9	25
<i>Isochrysis galbana</i>	41	5	21
<i>Paulova lutheri</i>	49	31	12
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	33	17	10
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	33	24	10
<i>Skeletonema costatum</i>	37	21	7
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	29	17	10
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	9
<i>Tetraselmis suecica</i>	39	8	7

1.6 ELS LÍPIDS EN LES MICROALGUES

Els lípids són un dels principals components de les microalgues, són components importants de les membranes cel·lulars, productes de reserva, metabòlits i magatzems d'energia.

La quantitat de lípids que poden arribar a produir les microalgues pot arribar a ser elevada ja que moltes espècies tenen un alt contingut de lípids per naturalesa, entre el 20% i el 50% del total del seu pes en sec, tot i que en la seva fase de creixement no n'acostumen a contenir més d'un 15%. Malgrat tot, és possible fer augmentar la concentració de lípids en les microalgues si s'optimitzen els diferents factors que afecten el seu creixement (nivell de nitrogen, intensitat de la llum, temperatura, salinitat, concentració de diòxid de carboni...). S'ha de considerar també que l'acumulació de lípids no està directament relacionada amb la producció de biomassa.

Tot i això, quan durant el seu cultiu les algues estan "estressades", és a dir, no reben suficients quantitats de nutrients i per tant aquest nutrient es converteix en el factor limitant del medi, el creixement de les microalgues s'atura i això comporta que acumulen tots els lípids que reben, però aleshores la productivitat de biomassa disminueix.

Per tant, la manera d'aconseguir optimitzar el rendiment en lípids de les microalgues serà sotmetre-les a condicions límit tot alterant el subministrament d'un o de diversos nutrients.

1.7 BIODIÈSEL A PARTIR DE MICROALGUES

Gràcies a investigacions recents se sap que les microalgues podrien ser la base de combustibles ecològics. Les microalgues tenen molt potencial com a productors de lípids per convertir-los en biodièsel, a causa de la rapidesa amb què es desenvolupen i amb què es produeix la multiplicació cel·lular, així com a la seva capacitat de produir i emmagatzemar gran quantitats de greixos al seu interior, tal com ja hem comentat.

La producció de lípids de les microalgues és superior a la de qualsevol altre vegetal que hagi estat utilitzat amb aquesta finalitat, i també cal tenir en compte que l'espai que es requereix per a la seva producció és molt menor que en el desenvolupament de vegetals superiors com la canya de sucre que requereixen camps de cultiu.

2. CULTIU DE MICROALGUES

2.1 CULTIU

El cultiu de microalgues, a més a més de produir el producte d'interès, provoca un flux d'entrades i sortides. Aleshores, amb l'objectiu de produir energia, s'han d'analitzar aquestes fluxos per poder triar l'opció més productiva, així com econòmica i respectuosa amb el medi ambient.

2.2 PARÀMETRES DE CULTIU

Un cultiu de microalgues requereix tres components primaris:

- Un medi de cultiu en un recipient adequat.
- Cèl·lules de les algues que viuen en les condicions del medi.
- Aire per permetre l'intercanvi de diòxid de carboni.

En el cas de les algues completament autòtrofes no necessitaran res més que llum, aigua, diòxid de carboni, nutrients i oligoelements com a medi de cultiu. Això és ocasionat pel fet que poden sintetitzar de forma autosuficient tota la resta de compostos que precisin. Tot i això, no totes les algues són autòtrofes i en cas que no ho siguin requeriran alguns compostos bioquímics que necessiten per al seu creixement a l'interior del medi.

Els paràmetres importants que regulen el creixement de les microalgues són:

- La qualitat i la quantitat de nutrients que reben les algues,
- el pH del medi,
- la llum,
- l'agitació del medi,
- la salinitat i
- la temperatura de l'aigua.

No hi ha uns paràmetres perfectes que permetin la cria de qualsevol espècie de microalgues, sinó que cada espècie té uns nivells de tolerància diferents i uns paràmetres òptims que només permeten el creixement d'aquell tipus d'alga en concret. A més a més, els diferents factors poden ser independents i un paràmetre que és adequat per un conjunt de condicions no té perquè ser-ho per un altre.

2.3 MÈTODES DE CULTIU

Es poden produir microalgues seguint una gran varietat de mètodes.

Els cultius en ambients tancats permeten controlar els paràmetres de cultiu, la contaminació per agents externs i també l'aparició d'algues no desitjades al cultiu. D'altra banda, els sistemes a l'aire lliure dificulten el cultiu d'algues específiques durant un període de temps llarg, tot i que són més econòmics.

A més a més, els sistemes de cultiu oberts, estancs i en tancs no coberts (tant en ambients tancats com a l'aire lliure) es contaminen més fàcilment que els sistemes de cultiu tancats (tubs, bosses...).

També existeixen els cultius axènics, que romanen lliures d'organismes estranys, tot i que porten més feina ja que requereixen l'esterilització de tots els

materials utilitzats per tal d'evitar la contaminació. Això comporta que siguin poc pràctics i massa cars per a usos comercials. Com a contrapartida, els cultius no axènics, són més difícils de predir i la qualitat dels productes és variable.

2.4 SISTEMES DE CULTIU

A causa de la seva mida reduïda i de la gran influència que tenen sobre elles les condicions en les que creixen, les microalgues s'han de cultivar en un sistema dissenyat per a aquesta finalitat, ja sigui surant a l'aigua o a terra, de manera que el cultiu pugui funcionar de manera òptima.

Al llarg dels anys s'han anat desenvolupant diferents sistemes de cultiu que reuneixen les condicions que requereixen les algues per créixer correctament, malgrat tot, és molt difícil que aquestes condicions es puguin aconseguir en cultius utilitzant sistemes a escala industrial. Una condició important per cultivar microalgues per a la posterior producció d'energia a partir d'aquestes és la necessitat de sistemes a gran escala, ja que si no és així, la producció d'energia seria massa escassa per sortir a compte. Aquests sistemes a gran escala poden anar des de sistemes de cultiu obert, que exposen les algues a l'ambient, com seria en llacs o estanys, fins a sistemes de cultiu tancats altament controlats anomenats foto-biorreactors (FBR).

Alguns dels tipus de cultiu de microalgues més utilitzats són:

- Per lots.
- Continu i semi-continu en dipòsits.
- Estanys.
- Biorreactors.

3. EXTRACCIÓ DE BIODIÈSEL A PARTIR DE LES MICROALGUES

3.1 COLLITA

Per començar l'extracció del biodièsel, el que s'ha de fer es separar les microalgues, és a dir, el producte desitjat, de l'aigua en la que ha estat cultivat,

en un procés anomenat collita. Aquest procés no és fàcil, ja que la concentració de microalgues no acostuma a ser gaire elevada en el moment en què es realitza i a més a més, les algues acostumen a mesurar pocs micròmetres. Aquestes condicions, a part de convertir el procés en difícil també n'augmenten el cost.

La collita consta de dues fases diferents:

- La primera part és la collita en massa, que consisteix en la separació de la biomassa del cultiu. Per aconseguir un resultat significatiu aquest procés s'ha de repetir diverses vegades i es poden utilitzar tres mètodes diferents, que són la floculació, la flotació o la sedimentació per gravetat.
- La fase següent s'anomena espessament, i es basa en concentrar la mescla. Aquesta part és molt més costosa ja que gasta molta més energia i es pot realitzar utilitzant la centrifugació, la filtració o els ultrasons.

La collita representa una gran part del cost total del procés de producció de biodièsel i per tant, és molt important utilitzar el mètode més econòmic de realitzar-la, és a dir, el mètode mitjançant el qual es pugui concentrar la biomassa procedent d'algues de manera que contingui el mínim d'aigua per a que es pugui procedir a realitzar l'extracció dels lípids. A més a més, ha de ser un mètode capaç de processar volums molt grans. Per triar correctament aquest mètode s'han de tenir en compte:

- Les característiques de les microalgues (mida, densitat...).
- L'espècie de microalga en qüestió.
- El nivell acceptable d'aigua en el producte.

També cal considerar que una part dels greixos que emmagatzemen les algues com a reserva energètica pot ser consumida per aquestes al separar-les del medi de cultiu si el procés emprat és massa llarg

3.2 ASSECAMENT

L'assecat de les algues es basa en l'assecat de cultius i en pràctiques de deshidratació. La mescla d'algues que queda després de la collita ha de ser

processada de seguida per a què no es faci malbé. El procediment que s'utilitza és molt específic i depèn de quin és el producte que es vol obtenir a partir de les microalgues. Aquesta part del procés pot suposar una limitació econòmica tant si el producte final és de baix cost, així com si és un producte de valor afegit alt.

Els mètodes utilitzats són:

- L'assecatge al sol.
- La plataforma d'assecamment de baixa pressió.
- L'assecamment per aspersion.
- L'assecamment en tambors o rodets.
- L'assecamment en llit fluid.
- La liofilització i la tecnologia d'assecamment Refractance Window.

L'assecamment al sol, és el mètode de deshidratació més econòmic, però és un procés molt lent que requereix grans superfícies i amb el que hi ha perill de pèrdua i destrucció del material.

3.3 SALS PRESENTS EN LA BIOMASSA

La determinació del rendiment de greixos obtinguts de microalgues es calcula en relació a la quantitat de biomassa seca que s'utilitza per realitzar l'anàlisi. Tot i això, és important tenir en compte que la biomassa seca no està formada únicament per les cèl·lules de les microalgues cultivades, sinó que també hi podem trobar presents altres compostos com clorurs i sulfats, depenent de les quantitats que se n'han pogut utilitzar al llarg del cultiu. Aquests altres compostos que poden formar la biomassa seca ocasionen errors en el càlcul del rendiment de la obtenció de biodièsel a partir de microalgues, ja que augmenten la massa de biomassa seca però després, en no ser algues, no se'n pot extreure res.

Aquest problema s'accentua fortament si el medi on estan cultivades les microalgues en qüestió és un medi amb aigua salada, ja que llavors la major part de la biomassa procedent d'algues serà el clorur de sodi que conté l'aigua salada. Per altra banda, també és important el mètode que s'utilitza en la collita

ja que n'hi ha que requereixen la utilització de productes químics que després es quedaran amb la biomassa i n'hi ha d'altres que no n'utilitzen cap.

3.4 EXTRACCIÓ DE LÍPIDS

L'extracció dels greixos que contenen les microalgues és una de les etapes més importants en el procés de producció de biodièsel, tant per la seva eficiència com pel cost del procediment. Els mètodes que s'utilitzen estan fonamentats en processos químics o físics que permeten l'extracció dels greixos. Però en primer lloc, abans de poder extreure els lípids, és necessari pretractar les microalgues per tal de trencar-ne les parets cel·lulars i fer molt més fàcil i efectiva l'extracció. Per a fer-ho existeixen diferents mètodes:

- La destrucció mecànica
- L'autoclavat
- Els ultrasons
- Les microones
- El xoc osmòtic

3.5 MÈTODES D'EXTRACCIÓ DE LÍPIDS

3.5.1 EXTRACCIÓ MITJANÇANT FLUIDS SUPERCRÍTICS

Un líquid és anomenat supercrític quan és forçat a mantenir-se a unes condicions de pressió i temperatura superiors a les seves pressions i temperatures crítiques. Sota aquestes condicions, el fluid posseeix característiques pròpies tant d'un líquid com d'un gas i això li proporciona algunes propietats especials, com són una baixa viscositat i una alta difusivitat relativa. Això els permet penetrar fàcilment en els sòlids i oferir una extracció més ràpida.

Els dissolvent més utilitzats com a fluids supercrítics són el diòxid de carboni i l'aigua subcrítica.

3.5.2 EXTRACCIÓ ENZIMÀTICA

En aquest tipus d'extracció es degrada la paret cel·lular de les microalgues utilitzant enzims, això facilita la sortida dels lípids presents a les cèl·lules per poder-los convertir posteriorment en biodièsel. Tot i això, l'activitat enzimàtica es veu afectada per moltes variables com ara la naturalesa de l'enzim, les concentracions, la temperatura, etc. que s'han de tenir en compte a l'hora d'utilitzar aquest mètode d'extracció.

3.5.3 EXTRACCIÓ AMB DISSOLVENTS QUÍMICS

L'extracció de lípids utilitzant dissolvents químics ha estat utilitzada tradicionalment per obtenir lípids tant d'origen animal com vegetal. En el cas de les microalgues el dissolvent s'acostuma a afegir a la biomassa seca, tot i que també es pot utilitzar amb biomassa amb certes quantitats d'aigua.

Per a realitzar aquest tipus d'extracció es poden utilitzar diversos dissolvents, tot i que els més utilitzats solen ser l'etanol i l'hexà.

A més a més, també hi ha diversos procediments que utilitzen aquest tipus d'extracció:

- SOXHLET

És tracta d'una tècnica àmpliament utilitzada per a la determinació del contingut lipídic de diferents mostres. S'utilitza un aparell compost per un condensador i una càmera d'extracció, juntament amb un matràs i una manta calefactora. El dissolvent més utilitzat en aquest mètode és l'hexà.

La mostra que s'utilitza es troba en fase sòlida i es diposita en un embolcall de paper de filtre. Aleshores s'escalfa el dissolvent que es troba en el matràs fins que s'evapora i passa a la càmera d'extracció, com que damunt d'aquesta hi ha el condensador, el dissolvent en forma gasosa entra en contacte amb aquest i es condensa. Una vegada condensat torna a la càmera d'extracció gota a gota, entrant així en contacte amb la mostra. Quan aquesta càmera s'omple aquesta sifona i el condensat torna al matràs juntament amb els lípids

que ha extret de la mostra. A continuació es deixa evaporar el dissolvent i queden els lípids.

- BLIGH AND DYER

Aquest mètode consisteix en l'agitació, la centrifugació, la filtració i l'evaporació d'una mescla formada per la biomassa i els dissolvents utilitzats, en aquest cas el metanol, el cloroform i l'aigua. El metanol és un dissolvent polar que dissol els lípids polars mentre que el cloroform és un dissolvent apolar que dissol els lípids apolars. L'aigua permet separar la fase formada pel metanol i els lípids polars del cloroform barrejat amb els lípids apolars.

- ETANOL-HEXÀ

Aquest mètode està constituït per dues etapes en què s'utilitzen l'etanol i l'hexà com a dissolvents. Durant la primera etapa s'utilitza l'etanol per extreure els lípids continguts en la biomassa seca. El problema és que l'etanol, a part d'extreure els lípids també extreu alguns altres compostos cel·lulars i aleshores, en la segona etapa, s'utilitza l'hexà, què només dissol els lípids i forma una fase separada de l'alcohol, permetent així la separació dels lípids de les impureses.

- MÈTODES IN SITU

Aquest tipus de mètodes consisteix en agitar a alta velocitat durant un temps prolongat una barreja amb el dissolvent i la biomassa, a continuació separar les fases que es formen i finalment recuperar els lípids extrets.

3.5.4 EXTRACCIÓ HUMIDA

Aquest mètode realitza l'extracció directament del medi aquàtic agrupant la collita, l'assecament i l'extracció en un sol pas. Per possibilitar l'extracció, es combina la pulsació de camps electromagnètics amb la modificació de pH per a trencar les parts cel·lulars alliberant els lípids de les cèl·lules. Una gran part dels greixos de les cèl·lules passa a la part superior del medi i es extret i refinat, mentre que la biomassa restant es diposita al fons.

4. VISITA A UNA PLANTA DE CULTIU D'ALGUES

Per obtenir més informació sobre la millor manera de cultivar les algues vam decidir visitar una empresa on es dediquen a cultivar algues per a l'aqüicultura.

La planta disposa de 3 piscines petites que s'utilitzen per a la investigació i de dues piscines grans que s'utilitzen per produir grans quantitats de cultiu. Una de les algues que cultiven i, de fet, en la que tenen més experiència i coneixements és justament la *Nannochloropsis*, la mateixa que nosaltres hem utilitzat per al nostre treball.

En aquesta planta utilitzen aigua d'una determinada salinitat que està calculat que és la més adient per a l'espècie d'algues en concret. A més a més, estan en moviment i hi ha un sistema que controla constantment el pH de l'aigua, ja que aquest indica el nivell d'estrès de les algues i, per tant, la necessitat de nitrats que tenen. També tenen una font de diòxid de carboni constant que prové de la planta de cogeneració de l'empresa dessalinitzadora que hi ha al costat. Un cop les algues estan en el màxim creixement es centrifuguen per produir una pasta concentrada. Després la sotmeten a un tractament i posteriorment es conserva en una càmera depurada i amb un baix contingut bacterià per a què el producte sigui de més qualitat. Aquest pot ser l'últim pas si s'està produint microalgues en pasta concentrada, o sinó assequen aquesta pasta per produir biomassa seca en pols. El producte final són aquestes algues que no són viables i que estan lisiades, per tant, no es poden utilitzar per començar un cultiu i sí per a l'aqüicultura.

Al preguntar-los quina era la millor manera de cultivar-les i quins factors són més importants, ens van destacar la importància d'una font permanent de diòxid de carboni, que és el que permet que les algues, que normalment només poden créixer fins a 50 o 60 milions de cèl·lules per ml, puguin arribar a reproduir-se fins a uns 100 milions de cèl·lules. A més a més, també és important que el medi de cultiu estigui en moviment constant i que no estigui contaminat. De la mateixa manera també es dóna importància a què les algues disposin d'aliment i al seu estat.

Després de preguntar que en pensaven del cultiu de microalgues per a la producció de biodièsel, ens van dir que no creien que aquest procés pogués arribar a ser rendible, com a mínim no si es seguia fent com ara, sí que es podria augmentar la seva rendibilitat si s'obtingués biodièsel a partir d'algues, però com a subproducte, és a dir, si després d'utilitzar les algues per a què generessin algun tipus de producte, s'utilitzessin les algues sobrants per a aquesta producció.



A més a més, també vam aprofitar la visita per demanar si ens podien donar una mostra de biomassa seca de *Nannochloropsis* per utilitzar-la en la part experimental i ens en van donar 10 g.

PART EXPERIMENTAL

1. CULTIU DE MICROALGUES I EXTRACCIÓ DE LÍPIDS AMB EL MÈTODE SOXHLET

1.1 INTRODUCCIÓ

Com ja he dit a l'inici d'aquest treball, considero important que la investigació, a més de tenir una part teòrica en la qual explico tots els conceptes importants sobre el tema que he escollit, també tingui una vessant pràctica en la qual pugui experimentar personalment tots els processos que he estudiat al llarg del treball. Penso que és l'única manera d'aprendre de veritat i de poder extreure unes conclusions realment vàlides de la recerca.

Així que, després d'estudiar a fons les diferents metodologies que s'utilitzen per a l'extracció dels lípids que contenen les microalgues, he decidit realitzar aquest procediment jo mateixa, escollint les tècniques que m'ha semblat que estaven més al meu abast i que podia dur a terme fàcilment sense la necessitat d'un material molt especialitzat ni de coneixements específics.

Aquesta experimentació l'he dividida en diverses seqüències, tot i que totes elles estan relacionades, i formen part d'un mateix procés.

Abans de començar amb l'extracció definitiva he hagut de fer diverses proves per conèixer una mica les qualitats i característiques de les algues i poder treballar-hi després sense trobar-me amb problemes inesperats. Per tant, he realitzat un cultiu de prova per tal de poder decidir posteriorment quina espècie de microalgues podia utilitzar. També he fet alguns tests inicials amb aquestes microalgues que m'han permès veure que alguns dels procediments que tenia pensat utilitzar no eren gaire viables i que els resultats no eren els esperats, aquest fet m'ha portat a modificar el mètode d'extracció definitiu.

Després, es duu a terme un cultiu de microalgues per tenir matèria primera per realitzar els experiments necessaris. A més a més, en realitzar el cultiu jo mateixa també he aprofitat per estudiar les diferents condicions que es poden

utilitzar per variar els resultats posteriors i per poder comparar com varia la producció de greixos de les microalgues en variar les condicions en què creixen.

A continuació, desenvoluparé la part experimental al laboratori en la qual extrauré els lípids que contenen les algues cultivades. En primer lloc, cal procedir al pretractament de les algues per separar-les del medi de cultiu i convertir-les en biomassa seca que es pugui quantificar. Després, cal dur a terme la disrupció cel·lular que fa possible que al realitzar l'extracció es puguin extreure els lípids i finalment, fer aquesta extracció mitjançant el mètode Soxhlet. He escollit aquest procés/mètode entre tots els estudiats ja que m'ha semblat el més pràctic per a mi, tot considerant el material de què disposava i les propietats de les algues després del pretractament.

I finalment, s'analitzaran els resultats obtinguts a partir de tot el procés realitzat, en aquest cas el que farà serà comparar les quantitats de lípids que he pogut extreure respecte del pes de biomassa procedent de les algues del que disposava.

1.2 PROVES PRÈVIES

1.2.1 EXPERIMENTACIÓ PER DETERMINAR EL MILLOR MÈTODE DE CULTIU

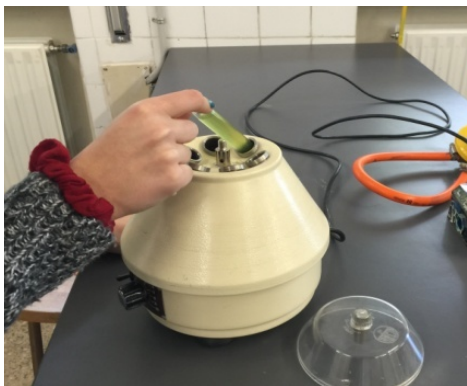
MATERIAL:

- 2 garrafes d'aigua
- Aigua salada (marina)
- Aigua dolça (procedent d'un riu)
- Fertilitzant per a plantes
- Tubs de plàstic
- 2 bombes d'aire
- Làmpada
- Centrifugadora
- Tubs d'assaig
- Pipeta
- Comptagotes
- Microscopi

- Portaobjectes
- Cobreobjectes

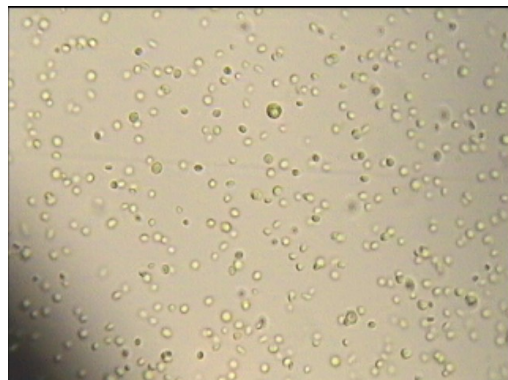
PROCEDIMENT:

En iniciar el treball no coneixíem suficientment el tema com per saber quin tipus de microalgues era més eficient per al treball que volíem realitzar, així que per començar vam voler comprovar si eren més eficients les algues d'aigua salada o d'aigua dolça, i quines creixien més ràpid i amb més facilitat. Per comprovar-ho vam iniciar un cultiu amb aigua (dolça en un d'ells i salada en l'altre), fertilitzant i una bomba d'aire que ho removia. Com que ho vam realitzar a l'hivern vam fer-ho en un lloc tancat i vam posar-hi una làmpada que il·luminava el muntatge permanentment, simulant la llum del Sol. Passats un parell de mesos vam poder observar que en el cultiu d'aigua salada les microalgues es van reproduir amb més facilitat, mentre que a l'observar el cultiu d'aigua dolça només podíem veure algues pluricel·lulars que sedimentaven al fons del recipient.



Com que ens interessava saber de quin tipus d'alga es tractava la microalga que s'havia produït en el recipient amb aigua marina vam decidir estudiar-la al microscopi. Com que per poder observar correctament quin tipus d'alga era en necessitàvem amb una concentració elevada, vam

dipositar una petita mostra del cultiu en uns tubs d'assaig amb una proveta i vam utilitzar una centrifugadora per a que les microalgues es concentrassin al fons d'aquests tubs d'assaig. Un cop centrifugades les mostres vam utilitzar un comptagotes per agafar una petita part de les algues concentrades i les vam dipositar en un portaobjectes, ho vam tapar amb un cobreobjectes i ho vam observar



mitjançant un microscopi. Així vam poder detectar que es tractava de l'alga *Nannochloropsis*. Això va fer que posteriorment, quan vam haver d'escollir quina espècie d'alga utilitzaríem, escollíssim aquesta.

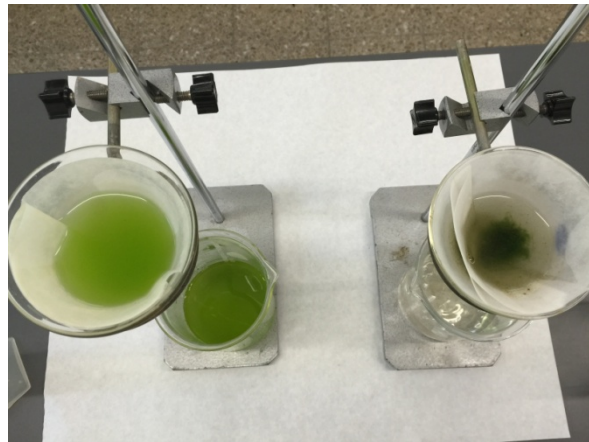
1.2.2 EXPERIMENTACIÓ PER DETERMINAR EL MILLOR MÈTODE DE SEPARACIÓ DE LES ALGUES:

MATERIAL:

- Embut
- Paper de filtre
- Vas de precipitats
- Cèrcol
- Proveta
- Coagulant: clorur de ferro (III)
- Floculant: polielectròlit

PROCEDIMENT:

Amb aquestes algues que vam produir inicialment vam intentar realitzar la primera part del procés experimental. Aquesta primera part és la que té com a objectiu separar les algues, que és el que ens interessa, de l'aigua en què han estat cultivades. La manera més fàcil



de fer-ho semblava que seria filtrant el cultiu per gravetat, però a l'intentar-ho vam observar que les algues eren massa petites i no quedaven retingudes al filtre, sinó que passaven a través d'aquest i seguien barrejades amb l'aigua. Aquest fet va suposar un impediment, ja que no sabíem quin procediment seguir, entre altres possibilitats vam considerar la filtració al buit amb un filtre més petit però finalment, vam pensar que podríem utilitzar un floculant i un coagulant per unir les algues i després simplement decantar.

RESULTATS

Observem que per aconseguir les microalgues que necessitem serà millor treballar amb aigua salada com a medi de cultiu, a l'aigua dolça només hem pogut obtenir algues filamentoses pluricel·lulars. Una espècie d'alga que ens podria anar bé per a experimentar és la *Nannochloropsis*, ja que és fàcil de cultivar i és una de les microalgues utilitzades per a extreure'n els lípids.

Per poder separar les algues de l'aigua de cultiu utilitzarem la decantació, prèviament emprarem un floculant (polielectròlit) i un coagulant (clorur de ferro (III)).

1.3 CULTIU DE MICROALGUES

MATERIAL

- 6 garrafes buides amb aigua salada (marina)
- 3 bombes airejadores d'aquari
- Cultiu fresc de *Nannochloropsis*
- Medi de cultiu basat en el medi Guillard F/2
- 2 comptagotes
- Ampolla d'aigua
- Llevat
- Aigua calenta
- Sucre
- Tubs de plàstic
- Ts per connexions
- Solució de HCl
- Solució de NaOH

PROCEDIMENT

Com que l'objectiu del treball és comprovar l'eficiència de la producció de biodièsel a partir de microalgues i també comprovar quines condicions poden fer



augmentar aquesta producció, un primer pas és el cultiu d'aquestes microalgues.

Per fer-ho hem comprat a través d'una empresa que es dedica a l'aquariofilia un cultiu fresc de *Nannochloropsis* per utilitzar-lo com a "starter". Així mateix hem comprat el medi de cultiu Guillard F/2, per usar-lo com a aliment de les algues. A continuació hem cultivat les algues en 6 recipients de 6 L amb aigua de mar, a plena llum del sol. A més a més, per tal que les algues es reproduïssin, en totes elles hem instal·lat una bomba airejadora d'aquari per a què remoguéssin l'aigua. Podem veure el muntatge experimental a la imatge següent:



En cadascun d'aquests recipients, hem establert unes condicions diferents, basant-nos en la variació de la quantitat de nitrats que rebien les algues com a aliment, en la variació del pH del medi i en l'addició de CO₂ en un dels cultius, diferents condicions influents en el cultiu de les microalgues.

En el primer cultiu, que hem usat com a control, no hem variat el pH del medi, i hi hem posat 6 mL de fitoplàncton cada dos setmanes durant els dos primers mesos del cultiu.

En el segon cultiu no hem variat les condicions anteriors, però a més a més d'aquestes hi hem afegit CO₂ cada dos setmanes. Per a fer-ho dispoem en una ampolla d'1,5 L buida 1 L d'aigua tèbia, sucre i llevat. Després de deixar-ho reposar durant una hora aproximadament tapem l'ampolla amb un tap que contingui un forat mitjançant el qual es connecti l'ampolla en qüestió amb el recipient amb les algues en creixement i agitem l'ampolla per a què els llevats produeixin CO₂ i aquest afecti al creixement de les algues.

En el tercer cultiu hem “estressat” les microalgues, això es realitza subministrant-los-hi menys quantitat d'aliment (nitrats) de la que necessiten per a créixer, i per tant, en comptes de posar-hi 6 mL d'aliment com al control, n'hem posat 3 mL.

En el quart cultiu, el que hem fet ha estat el contrari que en el cultiu anterior, és a dir, hem augmentat la quantitat d'aliment i en comptes de subministrar-hi 6 mL de fitoplàncton, n'hi hem subministrat 12 mL.

En el cinquè cultiu la condició que hem variat ha estat el pH del medi en què es trobava el cultiu, utilitzant àcid clorhídric, hem reduït el pH natural de l'aigua de mar des de 8 fins a 6,9, acidificant-lo.

Finalment en el sisè cultiu també hem variat el pH del medi, però en aquest cas el que hem fet és basificar-lo afegint-hi hidròxid de sodi fins a arribar a un pH de 9,1.

Al cap de 2 mesos de tenir el cultiu, la quantitat d'algues resultants ja era la necessària, així que hem desmuntat tots els estris i hem passat a la segona fase de la part experimental.

1.4 EXTRACCIÓ DE LÍPIDS

Aquesta segona part, és la més llarga i laboriosa de realitzar, i és necessari que es realitzi en un laboratori amb tots els estris pertinents.

Per a fer-ho més fàcil, la podem dividir en 3 parts diferents:

La primera part consistirà en preparar el cultiu per als següents passos.

A continuació realitzarem una disrupció cel·lular mitjançant una hidròlisi àcida.

Finalment realitzarem l'extracció química dels lípids mitjançant el mètode d'extracció Soxhlet.

1.4.1 PREPARACIÓ DEL CULTIU:

MATERIAL

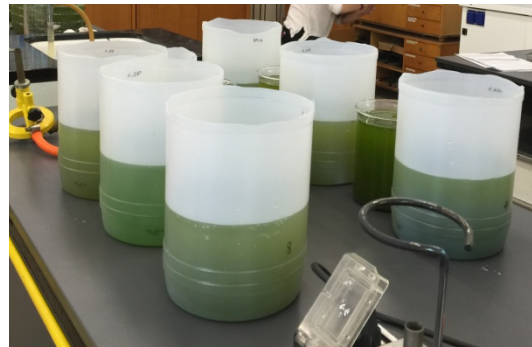
- Balança

- Proveta
- 6 vasos de precipitats d'1L
- 6 recipients oberts de 2L
- Comptagotes
- Clorur de ferro (III)
- Polielectròlit
- Agitador
- Imants

PROCEDIMENT

Per començar, pesem tots els recipients que utilitzarem al llarg del procés amb una balança i ho apuntem.

En segon lloc, mesurem els volums que utilitzarem i els dipositem als recipients.



A continuació, hi afegirem un coagulant i un floculant. Aquest procés és necessari perquè les microalgues són molt petites i això fa que si ho intentem filtrar no es quedin retingudes al paper de filtre, mentre que utilitzant aquests dos compostos es facilita el procés. Com a coagulant utilitzarem clorur de ferro (III) al 40% i com a floculant una solució de polielectròlit. Hi posarem 1 mL de cadascun d'aquests compostos per cada 500 mL de cultiu.



Després, utilitzarem un agitador i un imant per a què aquests compostos entrin totalment en contacte amb el cultiu i provoquin les reaccions esperades.

Un cop les algues hagin floculat i coagulat es disposaran al fons del recipient i utilitzarem un tub de plàstic per tal de decantar tota l'aigua que hi quedi, xuclant a través d'aquest. Inicialment, aquest procediment s'havia de fer decantant

normalment però, a causa de la baixa densitat d'alguns dels flocs d'algues que han quedat a la superfície del líquid no ha estat possible i hem hagut d'utilitzar aquest mètode alternatiu.

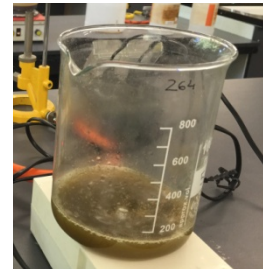
1.4.2 DISRUPCIÓ CEL·LULAR:

MATERIAL

- Àcid clorhídric 0,5 M
- Agitador
- Imants
- Pinces
- Paper de filtre
- Embut
- Erlenmeyer

PROCEDIMENT

Un cop haguem separat les algues de l'aigua hi introduïrem 100 mL d'àcid clorhídric 0,5 M per cada litre d'algues i ho tornarem a agitar, aquest cop durant 30 minuts.



A continuació disposarem 6 matrassos erlenmeyer amb embuts i un filtre en cadascun. Abans d'iniciar el procés procedirem a pesar cada filtre.

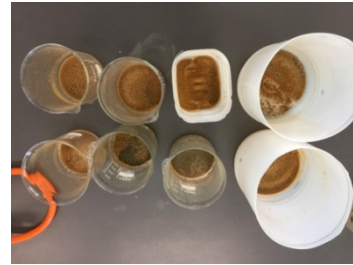
Quan ja estigui tot preparat, filtrarem el cultiu per gravetat i un cop estigui filtrat, assecarem els papers de filtre al forn.

Un cop tots els papers de filtre amb el filtrat corresponent estiguin secs, els pesarem un per un per a saber la massa de les algues que hi ha quedat retinguda.



En iniciar aquesta part tenia 3 L de cada mostra repartits en 2 recipients diferents amb els que vaig realitzar tots els processos explicats en l'apartat anterior. En comptes de

filtrar-ho per gravetat vam intentar fer-ho al buit per accelerar el procés i fer-lo així més fàcil. Però, en algunes de les mostres, el filtre es va trencar per culpa de l'alta pressió generada pel buit i els resultats no eren concloents. Aleshores vam tornar realitzar l'apartat anterior amb 1 L de cada mostra, i vam descartar totes les utilitzades anteriorment i ho vam filtrar a gravetat.



1.4.3 EXTRACCIÓ SOXHLET:

MATERIAL

- Campana
- Balança
- Soxhlet
- Paper de filtre
- Hexà
- Matràs de fons rodó
- Manta calefactora

PROCEDIMENT



Quan ja tenim els papers de filtre secs, els agafem i els enrotllem amb més paper de filtre, a continuació els introduïm al Soxhlet. Aquest aparell està compost per un refrigerant a la part superior connectat a una sortida d'aigua. A sota d'aquest hi ha una cambra d'extracció dins del qual hi hem introduït el producte que contenia les algues. A baix de tot hi ha un matràs de fons rodó, que prèviament hem pesat, dins d'una manta calefactora. L'aparell funciona gràcies a un sistema que fa que quan el tub del mig estigui ple de líquid, aquest sifoni i tot el líquid

que contenia passi al matràs. Aleshores per utilitzar-lo s'omple el tub del mig amb hexà i, utilitzant el sistema



explicat anteriorment, com que el matràs està en una manta calefactors, aquesta fa que quan l'hexà estigui al matràs s'evapori. A continuació puja fins a dalt de tot, però com que es troba un refrigerador aquest fa que es condensi i es quedi al tub, fins que aquest s'omple i torna a sifonar. Aquest procés es repeteix unes quantes vegades.

Aquest mètode es basa en la propietat dels greixos de dissoldre's en dissolvents apolars com l'hexà, i aleshores, repetint el procés varies vegades, aconseguim que els greixos que contenen les algues es quedin al matràs amb l'hexà, i com que la temperatura d'evaporació dels greixos és sempre molt alta, fem evaporar l'hexà i al matràs ens queden només els greixos.

Quan ja tenim els greixos pesem el matràs on es troben i anotem els resultats.

1.5 RESULTATS

Condicions	Cultiu	Pes biomassa seca *	g biomassa seca/L cultiu	Pes greixos	% greix en biomassa seca
6 mL aliment pH de 8	2,3 L	2,65 g	1,15 g/L	0,12 g	4,53 %
6 ml aliment pH de 8 + CO ₂	2,3 L	1,60 g	0,70 g/L	0,09 g	5,63 %
3 ml aliment pH de 8	2,1 L	4,82 g	2,30 g/L	0,29 g	6,02 %
12 ml aliment pH de 8	2,2 L	7,27 g	3,31 g/L	0,14 g	1,90 %
6 ml aliment pH de 6,9 (+ HCl 1M)	2,4 L	6,70 g	2,79 g/L	0,08 g	1,19 %
6 ml aliment	2,4 L	6,49 g	2,70 g/L	0,10 g	1,54 %

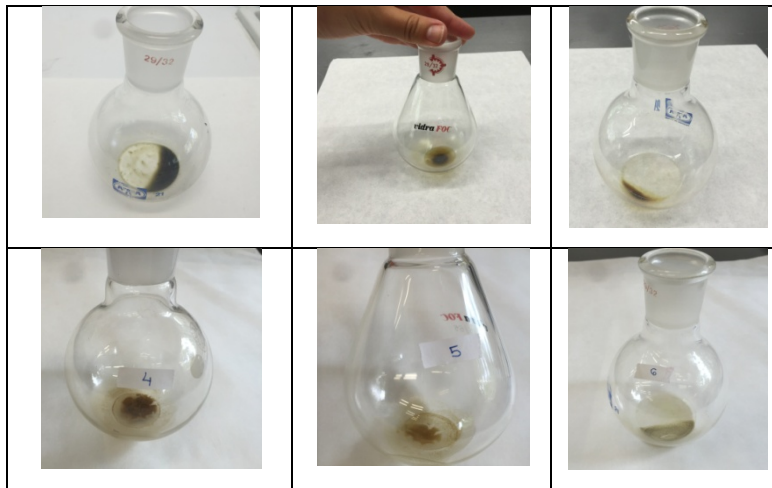
pH de 9,1
(+ NaOH 1M)

El cultiu més rendible ha estat el que rebia menys quantitat d'aliment, ja que el seu percentatge de lípids en biomassa seca ha estat d'un 6,02%.

Unes altres condicions que es poden considerar favorables per a la producció de lípids de les algues és amb la quantitat d'aliment estàndard i afegint-hi CO₂ periòdicament, ja que se n'obté un 5,63% de la biomassa seca.

En canvi, quan les algues estan cultivades amb un excés d'aliment la seva fracció lipídica es redueix enormement, 1,90%.

La variació afavoreix de lípids cèl·lula, més aviat



del pH no la formació dins de la sinó que la redueix

significativament (medi àcid 1,19% i medi bàsic 1,54%).

*El pes dels diferents filtrats no són totalment fiables, ja que encara que la idea era filtrar els líquids i aleshores la sal de l'aigua hagués passat pel filtre dissolta

amb aquesta i les algues n'haguessin quedat separades, com que disposàvem d'una quantitat bastant elevada de microalgues, el filtre que utilitzàvem es va colmar i això va produir que el filtratge fos molt lent i que una part de les algues en alguns dels filtres se separessin per vaporització, quedant d'aquesta manera la sal al filtre amb les algues.

2. EXTRACCIÓ DE LÍPIDS AMB EL MÈTODE ETANOL-HEXÀ

2.1 INTRODUCCIÓ

Un cop fetes totes les extraccions de les algues que havíem cultivat i de visitar la planta on cultiven algues, hem decidit utilitzar la mostra de biomassa seca de l'alga *Nannochloropsis* que ens van donar per tal de provar un altre mètode d'extracció de lípids i analitzar-ne la seva efectivitat respecte a la del mètode utilitzat anteriorment, el Soxhlet.

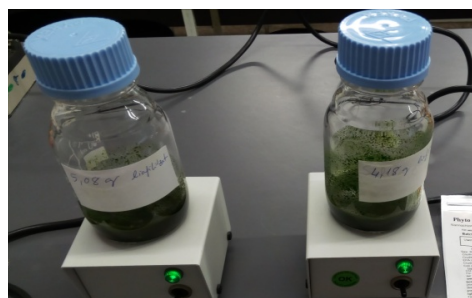
2.2 EXTRACCIÓ DE LÍPIDS

MATERIAL

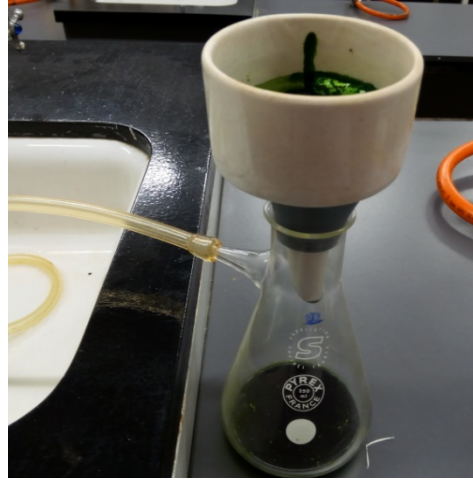
- 4 Flascons tapats
- 10 g de biomassa seca de l'alga *Nannochloropsis*
- Etanol
- Hexà
- Embut de decantació
- Proveta
- Agitador
- Imant
- Embut
- Paper de filtre
- Vas de precipitats
- Embut de fons rodó
- Comptagotes
- Pinces
- Espàtules

PROCEDIMENT

Per començar vam agafar els 10 g de biomassa seca i els vam dividir en dues parts, diferents amb un pes similar.



A continuació vam barrejar les algues amb etanol utilitzant 5 ml d'alcohol per gram de biomassa. A continuació, ho vam dipositar en dos recipients tancats, i ho vam deixar agitant durant 14 hores. Quan van haver passat les 14 hores, vam filtrar les mescles al buit. Un cop s'havien acabat de filtrar vam guardar el sobrenedant i vam repetir l'operació amb el filtrat, és a dir, vam barrejar les algues que havien quedat retingudes al paper de filtre amb etanol i ho vam agitar durant 14 hores.



Un cop passades aquestes hores vam tornar a filtrar-ho i vam guardar el filtrat amb el que ja teníem d'abans.



Aleshores vam afegir-hi 0,2 ml d'etanol per cada ml alcohòlic i ho vam introduir en un embut de decantació. A l'embut de decantació, els lípids que ens interessa guardar es mesclaran amb l'hexà, i la resta de les algues es quedaran amb l'alcohol. L'etanol i l'hexà són dos líquids insolubles entre ells, per tant, formaran dues fases separades i podrem separar els lípids de la resta de la biomassa algal.

Un cop separades les fases guardarem la fase que conté els lípids i tornarem a afegir hexà a la resta de la mescla per repetir el procés. Aquesta part la repetirem dues vegades més.

Al repetir el procés anterior per segona vegada vam poder observar que les dues fases que s'havien de formar en teoria no es van separar del tot en cap dels dos embuts de decantació que contenia les mostres diferents. En el primer embut hi havia dues fases



separades però dins d'una d'aquestes quan ja l'havíem decantat es va tornar a formar una fase on hi havia una part alcohòlica i una part amb hexà, que vam haver de separar. En el segon embut les dues fases no es van separar bé i aleshores en vam separar tot el que vam poder utilitzant un comptagotes.

Un cop separats tots els lípids de la fase alcohòlica, deixarem que l'hexà que els dissol s'evapori per poder tenir la part que ens interessa totalment separada.

Per acabar pesarem els greixos.

2.3 RESULTATS

Pes biomassa seca	Pes greixos	% greix en biomassa seca
4,18 g	0,89 g	21,29 %
5,08 g	1,24 g	24,41 %

El rendiment de les dues rèpliques de l'extracció que hem realitzat ha estat força elevat, ja que entre un 20% i un 25% del pes de la biomassa seca ha resultat ser greixos, que hem pogut extreure fàcilment utilitzant aquest mètode.



CONCLUSIONS

En realitzar la part teòrica del treball he pogut extreure les conclusions següents:

Per un costat he vist que aparentment les microalgues són molt viables per a la producció de biodièsel ja que el seu creixement és molt ràpid i el seu cultiu no genera gaires dificultats, ja que tenen una alta capacitat d'adaptació al medi i les condicions que aquest tingui. El seu cultiu tampoc ocupa espai, fet que és un avantatge tenint en compte que sinó podria ocupar lloc utilitzat per a conrear aliments. A més a més, el seu contingut lipídic és bastant elevat, i això millora els resultats. Per millorar el rendiment d'aquest procés també es pot associar amb el cultiu de microalgues per produir algun altre producte, reduint d'aquesta manera els costos de producció.

A l'hora de realitzar el cultiu de microalgues s'han de tenir en compte les condicions, ja que aquestes poden variar molt la composició química del producte, així com també s'ha d'elegir el mètode de cultiu que es vol utilitzar, i per decidir-ho cal estudiar la relació entre els avantatges que pot suposar per al cultiu i els costos que genera.

L'última part del procés és l'extracció dels lípids, que està precedida per la collita i el pretractament. Aquests processos són el que augmenten molt els costos de la producció ja que són difícils de realitzar i a més a més cal considerar que es realitzen a gran escala, fet que ho complica encara més. En totes les parts d'aquest últim apartat hi ha diverses opcions de mètodes que es poden utilitzar, i sempre cal analitzar quin serà més viable tenint en compte la situació i els recursos. També cal tenir en compte la salinitat de l'aigua al mesurar la biomassa seca i la fracció lipídica que conté, ja que el pes de les sals que conté pot invalidar els resultats.

Per acabar, he obtingut múltiples conclusions de la part experimental:

Les microalgues creixen molt ràpidament, fet que en facilita el cultiu, i s'adapten a condicions molt diferents.

La naturalesa de les microalgues pot causar problemes a l'hora de tractar-les i he observat que la seva mida reduïda és un factor que pot dificultar els tractaments.

Com que he cultivat les algues en 6 medis diferents i després he analitzat els lípids que contenen les algues cultivades en diferents condicions he pogut constatar quines són les condicions que fan augmentar el percentatge de lípids en la composició química de les algues:

- El medi de cultiu amb que les algues produeixen més lípids és aquell que limita els nutrients que necessiten, és a dir, quan estressestem les algues privant-les d'algun nutrient(nitrats) augmenta la biosíntesi lipídica.
- Una altra condició que afavoreix molt la producció de greixos per part de les microalgues és l'addició de diòxid de carboni en el transcurs del cultiu.
- En canvi, també he pogut comprovar que les variacions en el pH del medi no afavoreixen en absolut la generació de lípids.
- Una altra condició que no és en absolut favorable per a les microalgues amb aquest objectiu és l'excés de nutrients en el medi, ja que en redueix el percentatge de greixos.

Com era d'esperar després de realitzar la part teòrica, he observat que la salinitat de l'aigua ha influït una mica en els resultats però no li he donat importància.

Al realitzar el procés he utilitzat dos mètodes d'extracció diferents, amb l'objectiu de comparar-los. Aquests mètodes eren l'extracció Soxhlet i l'extracció utilitzant el mètode etanol-hexà. D'acord amb els experiment realitzats, el mètode més eficaç és el mètode etanol hexà, tot i que això no ho podem afirmar amb tota seguretat, el que sí que hem pogut comprovar és que els dos mètodes funcionen correctament. El que ens impedeix comparar exhaustivament els resultats dels dos mètodes diferents d'extracció són les diferències en els cultius. Les algues que hem utilitzat quan hem realitzat el mètode soxhlet, eren cultivades per nosaltres, i per tant, el control de les condicions del cultiu era bastant rudimentari. En canvi, les algues tractades amb el mètode etanol-hexà havien estat cultivades en una bassa on les

condicions estaven exhaustivament controlades, ja que provenien d'una empresa que s'hi dedica. Un altre factor a tenir en compte és el fet que en els valors de biomassa seca de les algues cultivades per nosaltres hi havia una part que era sal marina, això fa que el pes augmenti i que després el percentatge de pes de lípids en grams de biomassa seca disminueixi. El cultiu que ens van proporcionar no contenia sals.

Finalment, al mirar els costos en electricitat i productes utilitzats de la totalitat del procés es pot observar que generar biodièsel a partir de microalgues no és gaire rendible, ja que els costos són molt elevats, i la quantitat de lípids que es pot extreure després de tot el procés és molt reduïda. Això explica, en part perquè aquest mètode només s'ha provat experimentalment però no es realitza des d'un punt de vista comercial. L'única esperança per a aquesta innovadora idea és trobar alguna manera de modificar les algues genèticament per a què la seva producció de lípids augmenti significativament. Una altra opció seria realitzar l'extracció després d'haver obtingut anteriorment un producte de més valor afegit a partir de les algues i obtenir els lípids com a subproducte.

Sigui com sigui, no sembla que en un futur proper aquest mètode sigui la solució als nostres problemes energètics. Però de cara a un futur llunyà mai se sap, tot és possible.

AGRAÏMENTS

En primer lloc, vull agrair a la meva tutora del Treball de Recerca per la seva orientació constant i l'ajuda tècnica, que han estat essencials.

També agraeixo la col·laboració oferta per la planta de cultiu de microalgues Monzón Biotech, que m'han donat l'oportunitat de visitar-los i m'han ajudat a complementar el meu treball. Així mateix, vull agrair la seva donació desinteressada de biomassa de microalgues per utilitzar-les en la part experimental del meu treball.

Una altra persona a qui cal que agraeixi la seva col·laboració en el meu Treball de Recerca és una professora del departament de català que m'ha ajudat en la redacció.

Per últim, vull agrair molt especialment el suport a totes les persones que m'han estat al costat durant la realització d'aquest treball: a la família i als amics.

BIBLIOGRAFIA I WEBGRAFIA

CAÑAVATE-HORS, José Pedro. *Las algas como recurso: valorización, aplicaciones industriales y tendencias*. Vigo: CETMAR. 2011.

CAÑAVATR-HORS, José Pedro. *Una visión integrada sobre el cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles*, dins de misPeces.com, 12 de gener de 2009.

GONZÁLEZ, Angel D., KAFAROV, Viatcheslav, GUZMÁN-MONSALVE, Alexander. *Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas*, dins Prospect, vol. 7, núm. 2, juny-desembre de 2009, pp 53-60.

HOMS-BETÉS, Andreu. *Producció de microalgues en un fotobioreactor a escala real i estudi de la sedimentació de la biomassa*. Juny 2013

SALVADÓ, Joan. *Les microalgues com un dels biocombustibles del futur*. Barcelona, 13 de gener de 2014.

SALAZAR-PÉREZ, Luis Eduardo. *Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel*. Piura, 29 de març de 2012.

ATENEA TECH. *Monzón Biotech* [en línia]. Disponible a <<http://mznbiotech.com/>> [consulta: 9 de juliol de 2015]

BRANS, Elodie. *Biocombustibles de microalgas* [en línia]. Disponible a <<https://elodiebrans.wordpress.com/2013/09/04/biocombustibles-de-microalgas-ii/>> [consulta: 22 de setembre de 2015]

CHANG, Kin. *Utilización de Macroalgas y Plantas para Exportación de Nutrientes* [en línia]. Disponible a <<http://www.acuariodearrecife.com/parametros/nutrientes-6.htm>> [consulta: 22 d'octubre de 2015]

- ENERGREEN. *Presentación* [en línia]. Disponible a
<<http://energgreenproject.com/>> [consulta: 7 de setembre de 2015]
- FITOPLANCTON MARINO. *Proyectos* [en línia]. Disponible a
<<http://www.fitoplanctonmarino.com/index.html#>> [consulta: 3 d'octubre de 2015]
- INFOJARDIN. *Cultivo de microalgas* [en línia]. Disponible a
<<http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?p=6866025>> [consulta: 8 de maig de 2015]
- INSTITUTO DE BIOQUÍMICA VEGETAL Y FOTOSÍNTESIS. *Microalgas y biocombustibles* [en línia]. Disponible a
<<http://www.energia2012.es/sobre-energ%C3%ADa/fuentes-renovables-de-energ%C3%ADa/bioqu%C3%ADmica-vegetal-y-fotos%C3%ADntesis>>
[consulta: 7 de setembre de 2015]
- MUPHY, Sean. *Green oil* [en línia]. Disponible a
<<http://www.abc.net.au/landline/content/2013/s3787666.htm>> [consulta: 30 de setembre de 2015]
- PROGRAMA EXPLORA. *Biodiesel de algas* [en línia]. Disponible a
<<https://www.youtube.com/watch?v=qBZB0EpgzaA>> [consulta: 6 d'abril de 2015]
- SÁNCHEZ-MENOR, Natalia. *Descubre la Chlorella* [en línia]. Disponible a
<<http://www.benessera.com/revista/descubre-la-chlorella-un-alga-microscopica-con-gran-cantidad-de-aplicaciones>> [consulta: 22 d'octubre de 2015]
- TELEOBJETIVO. *Biodiesel de algas en Jerez* [en línia]. Disponible a
<<http://www.teleobjetivo.org/blog/biodiesel-de-algas-en-jerez.html>> [consulta: 5 d'octubre de 2015]
- TELEOBJECTIVO. *Cultivo casero de algas* [en línia]. Disponible a
<<http://www.teleobjetivo.org/blog/cultivo-casero-de-algas.html>> [consulta: 5 d'octubre de 2015]