



Title:Produccion de biodiesel a partir de aceites vegetales utilizando enzimas libres: estudio preliminar.  
(Report)

Pub:*Ingeniería de Recursos Naturales*

Detail:Leandro Castaño Chiguachí, Julián Andrés Torres Montoya, Carlos Ariel Cardona Alzate and Carlos Eduardo Orrego. 2.(July 2004): p32(6). (3008 words)

### Abstract:

Se estudian las principales variables que afectan el rendimiento de la reacción de transesterificación de aceites vegetales con etanol utilizando enzimas (lipasas) libres de *Cándida rugosa* y *Pseudomonas fluorescens* como catalizador, y se analiza teóricamente la viabilidad de adaptar al proceso un sistema híbrido reacción-separación que contribuya a mejorar la rentabilidad del mismo. Para ello, inicialmente fue necesario realizar ensayos utilizando un catalizador alcalino con el fin de comprender mejor la naturaleza de la reacción. Los parámetros de operación empleados fueron: temperatura (69.5 [grados]C), tipo de catalizador (hidróxido de sodio y lipasas), concentración de catalizador alcalino (0.34 wt %), concentración de lipasa (12.5 wt %), relación molar aceite/etanol (1:7.4), masa de aceite (8 g) y tiempo de reacción (5 h para el proceso químico y 24 h para el proceso enzimático). Se probaron diferentes aceites vegetales, entre ellos el de palma y el de higuera, ya que estos cultivos representan un recurso abundante en nuestro país que podría ser aprovechado en aras de contribuir a la economía, y se encontró que el aceite de palma refinado era el más apropiado. De manera cualitativa se verifica la formación de etil ésteres (biodiesel) al final del proceso químico, empleando cromatografía de gases y una técnica colorimétrica de identificación. Además, por las características de la enzima, se logró establecer las condiciones adecuadas en las que debe ajustarse ésta para efectuar la reacción.

### PALABRAS CLAVES

Biodiesel, transesterificación, lipasas, etil ésteres, sistema híbrido reacción- separación.

The purpose of the research was to study the principal variables that affect the transesterification reaction of vegetable oil with ethanol by using enzymes (lipases) free from *Candida rugosa* and *Pseudomonas fluorescens* as a catalyzer. It also includes the theoretical analysis of the viability to adapt a reaction-separation hybrid system to the process that contributes to increase its profitability; for this, it was first necessary to try using an alkaline catalyzer with the purpose of understanding better the nature of the reaction. The operation parameters used were: temperature (69.5[grados] C), type of catalyzer (sodium hydroxide and lipases), alkaline catalyzer concentration (0.34 wt per cent), lipases concentration (12.5 wt percent), molar relation oil/ethanol (1:7.4), oil mass (8 g) and reaction time (5 hrs. for the chemical process and 24 hrs. for the enzymatic process). Different vegetable oils were tested such as palm tree and the castor-oil plant, because these plantations represent a great resource in our country and could be exploited to the advantage of our economy. The results showed that the refined palm tree oil was the most appropriate. In a qualitative manner the ethyl esters formation was verified (biodiesel) at the end of the chemical process, using gas chromatography and an identification colorimetric technique. Besides this, due to the enzyme characteristics, it was possible to establish the optimal conditions in which the enzyme must be adjusted to proceed with the reaction.

### KEYWORDS

Biodiesel. Transesterification. Ethyl esters. Lipases. Hybrid system reaction-separation.

**Texto Completo:**COPYRIGHT 2004 Universidad del Valle

## [ILUSTRACIÓN OMITIR]

### 1. INTRODUCCION

Desde que en 1897 el ingeniero alemán Rudolf Diesel presentó en la Asamblea General de Ingenieros de ese país un motor de combustión interna que llevaba su nombre y el cual, según había demostrado, podía funcionar con aceite vegetal, la idea de usar diferentes variedades de aceites vegetales como sustitutos del combustible diesel convencional ha sido reintroducida periódicamente (Haas et al., 2002).

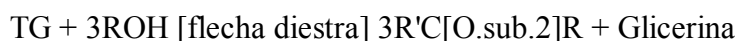
En un principio, los combustibles fósiles se apoderaron del mercado gracias a su bajo costo, a su eficiente desempeño y, sobre todo, a su gran disponibilidad. No obstante, en los últimos años el panorama energético mundial ha variado notablemente; la escasez de combustible de los años 70's en los Estados Unidos y las

The crecientes preocupaciones sobre el inminente daño que causan al planeta las emisiones producto del consumo masivo de este tipo de combustibles en los motores de automoción, han motivado el interés de muchos investigadores en el mundo por desarrollar nuevas fuentes de producción de energía. Producto de estas investigaciones surgió el biodiesel, para ser empleado como un sustituto del diesel de petróleo. Sin embargo uno de los principales problemas que enfrenta hoy por hoy el proceso de producción de biodiesel es su baja rentabilidad, debido al elevado costo de sus materias primas, ya que se requiere que éstas posean un bajo contenido de humedad y un bajo contenido de acidez, lo que obliga al uso de aceites refinados y alcoholes y catalizadores de alta pureza. Por tal motivo, nuestra investigación se ha enfocado en el estudio de diversos aceites vegetales propios del país, así como en el uso de enzimas como agente catalítico, y la adaptación de un sistema simultáneo reacción separación, con el fin de desarrollar un proceso más rentable, mediante el uso de materias primas que no requieran costosos tratamientos y la reducción del número de etapas de separación.

JPEGF

### 2. TRANSESTERIFICACION Y BIODIESEL

Transesterificación es el nombre con el que se conoce al tipo de reacción en la que los triglicéridos (TG) presentes en los aceites vegetales y grasas animales se combinan con un alcohol (alcoholisis) en presencia de un catalizador, para formar una mezcla de ésteres grasos (biodiesel), cuyos tamaños y propiedades son similares a las del diesel de petróleo y glicerina (Encinar, 2002). La reacción global de transesterificación puede ser representada por (Schuchardt, 1998):



La transesterificación consiste de una secuencia de tres reacciones reversibles consecutivas. El primer paso es la conversión de triglicéridos a diglicéridos, seguido por la conversión de diglicéridos a monoglicéridos y, finalmente, monoglicéridos a glicerina, produciéndose una molécula de éster por cada glicérido en cada paso. Estequiométricamente se requieren tres moles de alcohol por mol de triglicérido, pero en la práctica se emplea un exceso de alcohol para desplazar el equilibrio hacia una mayor formación de éster.

El biodiesel es un biocarburante oxigenado que puede ser utilizado como un aditivo del diesel de petróleo en mezclas del 10% (B10) y el 20% (B20), y en algunos casos, dependiendo de su pureza, usado directamente en motores de ignición (Stratta, 2000). Entre las principales ventajas que ofrece su uso, se encuentran la reducción de emisiones gaseosas contaminantes y de materia sólida, así como el mantenimiento de un equilibrio neto en el balance de  $\text{C}[\text{O}.\text{sub}.2]$  atmosférico, ya que se considera que todo el  $\text{C}[\text{O}.\text{sub}.2]$  emitido durante su combustión, había sido tomado previamente por la planta para su proceso fotosintético.

#### 2.1 Sistema Hidricos

Recientemente los procesos simultáneos se vienen desarrollando como alternativa a los procesos convencionales. La reacción puede ser combinada con técnicas de separación como destilación, cristalización, extracción líquido--líquido, adsorción y separación por membranas, para conseguir ciertas ventajas como reducir la inversión de capital o sobrepasar las limitaciones del equilibrio impuestas por las reacciones reversibles, lo que no se puede conseguir con los procesos convencionales.

### 2.1.1 Procesos de reacción-extracción

La reacción extractiva es un método híbrido que involucra simultáneamente la reacción y la separación de fases líquido--líquido (Rivera, 2003). La inmiscibilidad de estas fases se puede dar naturalmente dentro del sistema de reacción (p.e. por la formación de un producto parcialmente miscible con los reactivos) o la segunda fase puede ser introducida con la adición de solventes, logrando la separación selectiva de compuestos intermedios o productos, previniendo su posterior reacción o la inhibición de biomasa en sistemas biológicos, consiguiendo así un mayor rendimiento. La reacción extractiva se ha venido implementando de manera exitosa en el campo biotecnológico, aplicándose en la síntesis de productos químicos. En este campo se agrupan procesos de fermentación extractiva y reacción enzimática extractiva.

### 2.1.2 Reactores de membrana

Un reactor de membrana es una combinación de un reactor y una membrana en línea, para la separación (Agar, 1999). La membrana obstaculiza el paso de uno o varios de los componentes, a la vez que es selectivamente permeable a otros, siendo útil en reacciones que se encuentran limitadas por el equilibrio, desplazando éste hacia la derecha, lográndose así altas conversiones.

Estos reactores pueden ser utilizados en reacciones de hidrólisis catalizadas por lipasas. Una de las posibles configuraciones es aquella en la que la lipasa es inmovilizada por la membrana en la interfase aceite/ agua y éstos pasan a cualquiera de los lados de la membrana, mientras los productos son retenidos al otro lado para ser posteriormente extraídos del reactor.

Esta alternativa puede ser muy efectiva; sin embargo, tiene diferentes desventajas, entre las que se encuentran las bajas velocidades de permeabilización, los elevados costos debido a los materiales de la membrana, la baja estabilidad mecánica y una compleja construcción del reactor, necesario para proporcionar un área suficiente para un volumen de catalizador dado.

### 2.1.3 Destilación Reactiva

La destilación reactiva es un proceso combinado, en el cual la reacción química y la destilación son llevadas a cabo en una sola unidad de proceso. El desarrollo de la reacción con separación en una sola unidad ofrece distintas ventajas sobre la configuración convencional, ya que ésta reduce costos de capital y operación, además de aumentar la conversión de los reactantes, selectividad y transferencia de masa (Cardona, 2001).

La destilación reactiva es utilizada principalmente en reacciones limitadas por el equilibrio, tales como, esterificación, alquilación y reacciones de hidrólisis de ésteres, donde la conversión puede ser incrementada más allá de la conversión de equilibrio debido a la continua remoción de los productos en la zona de reacción. Esto permite, entonces, una enorme reducción de capital y costos de inversión, por lo que en los últimos años algunos trabajos se han enfocado en el empleo de esta técnica en las reacciones de esterificación de ácidos grasos (Omota et al., 2003).

## 3. MATERIALES

El aceite de palma crudo y refinado fue suministrado por la ALIANZA TEAM S.A. (Bogotá). El aceite de higuera fue adquirido en una farmacia local. Las enzimas de *Candida rugosa* (lipasa AY) y *Pseudomonas fluorescens* (lipasa AK) fueron gentilmente proporcionadas por Amano Enzyme Inc. (Nagoya, Japón). El

etanol y el NaOH utilizados fueron de grado analítico (Sigma Chemical Co.). Todos los demás reactivos empleados fueron de grado analítico y fueron suministrados por un proveedor local.

## 4. METODOS

### 4.1 Caracterización de los aceites

Cada uno de los aceites se caracterizó siguiendo los métodos del Instituto Colombiano de Normas Técnicas ICONTEC (Gaviria). Se estableció el contenido de ácidos grasos libres mediante el índice de acidez (Norma 218), el grado de saturación mediante el índice de yodo (Norma 283), el contenido de materia saponificable mediante el índice de saponificación (Norma 335), y el contenido de humedad mediante el método Karl Fischer. Además se determinaron propiedades como la densidad (Norma 336) y el índice de refracción (Norma 289).

### 4.2 Transesterificación

La reacción de transesterificación fue llevada a cabo en un reactor de vidrio enchaquetado de 25 ml, equipado con un baño termostataado y un agitador magnético. El procedimiento seguido se describe a continuación. El sistema se calentó hasta 70 [grados]C para eliminar la humedad, y luego se adicionaron 8 g de aceite. Cuando el sistema alcanzó de nuevo los 70 [grados]C, se adicionó una cantidad previamente establecida de una solución de etóxido de sodio. Se conectó el sistema de agitación y se dio inicio a la reacción. Cada experimento se prolongó durante 5 h, al cabo de las cuales se asumió que la conversión a ésteres fue completa. Se enfrió el sistema y la mezcla reaccionante se transfirió a un embudo de separación, donde luego de 2 h, se observó la formación de dos capas, una superior formada principalmente por etil ésteres, y otra que contenía la mayor parte del glicerol producido durante la reacción. Cuando se desarrolló el proceso enzimático se preparó inicialmente una solución de aceite-hexano 0.34M; esta solución se llevó al reactor, donde se mezcló con etanol y agua, en unas proporciones definidas y se calentó el sistema hasta 40 [grados]C. Una vez alcanzada esta temperatura se adicionó la enzima y se fijó una velocidad de agitación tal que asegurara que ésta se mantuviera suspendida en la mezcla reaccionante. En este caso la reacción se prolongó durante 24 h.

### 4.3 Análisis de ésteres

El contenido de la capa superior extraída del embudo de separación fue analizado por cromatografía de gases y por un método colorimétrico cualitativo de identificación de ésteres. El cromatógrafo empleado fue un Perkin Elmer equipado con un detector de ionización de llama. La columna capilar utilizada fue una Perkin Elmer de polietilenglicol ácido modificada (PE-FFAP) de 30 m con un diámetro interno de 0.32 mm y un espesor de película de 0.25  $\mu$ m. Se usó nitrógeno como gas de arrastre. La temperatura del horno fue programada en un intervalo de 150 a 240 [grados]C a una velocidad de calentamiento de 10 [grados]C/min., y las temperaturas del inyector y el detector fueron 240 [grados] C y 250 [grados] C, respectivamente.

JPEGF

## 5. RESULTADOS

Los índices de saponificación, de yodo, de acidez y de refracción, así como la densidad del aceite de palma crudo y refinado y del aceite de higuierilla, se muestran en la Tabla 1. Estos resultados muestran que, de las tres variedades de aceite analizadas, el aceite de palma refinado y el aceite de higuierilla poseen el mayor grado de insaturación; por otra parte, los índices de acidez del aceite de palma crudo y del aceite de higuierilla fueron 8.98 y 5.55, respectivamente, los cuales son valores relativamente altos comparados con el valor del índice de acidez para el aceite de palma refinado el cual fue 1.52.

## JPEGF

### 5.1 Efecto del catalizador

Para el proceso químico se emplearon diferentes concentraciones de catalizador y se encontró que valores muy altos de éstas conducían a la formación de un gel en la mezcla reaccionante; en tanto con concentraciones muy pequeñas de catalizador, no se presentaba formación de ésteres. Por lo tanto se determinó que existe una concentración óptima de catalizador para la cual éste no interviene en el proceso, generando reacciones de saponificación. Esta concentración corresponde, para los ensayos realizados, al 0.34% respecto a la cantidad total de aceite utilizada. En el proceso enzimático se observó que el uso directo de la enzima sin ningún tratamiento previo no favorece la formación de ésteres.

## JPEGF

[FIGURA 1 OMITIR]

[FIGURA 2 OMITIR]

### 5.2 Análisis de la transesterificación

La formación de etil ésteres en el proceso químico, fue verificada mediante cromatografía de gases. La Figura 1 muestra el cromatograma correspondiente al aceite de palma refinado diluido en isooctano. Como se puede apreciar, hasta un tiempo de retención de 20 minutos solo se observa el pico correspondiente al isooctano, pero no los correspondientes a los ácidos grasos del aceite de palma. La Figura 2 corresponde al cromatograma de los etil ésteres obtenidos durante la reacción química, diluidos en isooctano; en ella se observa la formación de 4 picos (picos 2-5) que corresponden a los etil ésteres de los ácidos grasos del aceite de palma; además se presenta una superposición de los picos correspondientes al etanol y al isooctano (pico 1), debido a que poseen los mismos tiempos de retención. Por lo tanto, puesto que ambos cromatogramas fueron obtenidos operando el cromatógrafo bajo las mismas condiciones, se comprueba la formación de etil ésteres; resultados que coinciden bastante bien con los reportados en la literatura (Gupta, 2004).

## 6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de la caracterización de los aceites sugieren que el aceite de palma refinado es el más apropiado para emplearse como materia prima en la reacción de transesterificación utilizando catalizadores alcalinos, debido a que posee una cantidad importante de ácidos grasos insaturados, lo cual permite obtener un biocombustible con buenas propiedades a bajas temperaturas; además, su bajo contenido de ácidos grasos libres no representa una condición limitante para el uso de catalizadores alcalinos. La concentración de catalizador alcalino es un factor importante a tener en cuenta en reacciones de transesterificación con aceites vegetales, especialmente cuando su contenido de ácidos grasos libres es considerable, ya que valores elevados de éste contribuyen a la aparición de reacciones indeseadas que reducen el rendimiento global de la reacción. Cuando se emplea la enzima como agente catalítico, es necesario el uso de un solvente que ayude a la hidrólisis de ésta. También se deben ajustar las condiciones de pH y actividad del agua debido a que constituyen factores importantes en la reacción. Dado que para las condiciones empleadas en la cromatografía, el solvente (isooctano) y el etanol eluyen al mismo tiempo, es necesario, con el fin de cuantificar la cantidad de etanol presente al final de la reacción, utilizar un solvente diferente que garantice que no ocurra una superposición de los picos.

## 7. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales a través de la Dirección de Investigación DIMA y a COLCIENCIAS por el apoyo financiero a través de la

investigación "Obtención de biodiesel a partir de aceites de palma y de higuera por un proceso de reacción separación catalizado por enzimas inmovilizadas"

\* Aceptado: Diciembre 2004

\* Recibido : Noviembre 2004

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGAR, D. W. Adsorptive reactors for enhancing equilibrium gas-phase reactions--Two cases studies. Department for Chemical Engineering. University of Dortmund. Dortmund-Germany.

ENCINAR, J. M.; GONZALES, J. F.; RODRÍGUEZ, J. J. and TEJEDOR, A. 2002; Biodiesel fuels from vegetable oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. Oil with ethanol. *Energy & Fuels*. Vol. 16, p. 443--450.

GAVIRIA, Luis E. y CALDERÓN, Carlos E. Manual de métodos analíticos para el control de calidad en la industria alimentaria. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

GUPTA, M. N. 2004 Biodiesel preparation by lipasecatalyzed transesterification of *Jatropha* oil. *Energy & Fuels*. Vol. 18, ; p. 154.

HAAS, M. J.; PIAZZA, G. J. and FOGLIA, T. A. 2002. Enzymatic approaches to the production of biodiesel fuels. Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture. Pennsylvania.

OMOTA, F.; DIMIAN A. C.; BLIEK, A. 2003 Fatty acid esterification by reactive distillation. Part 1: equilibrium-based design. *Chemical Engineering Science*. Vol. 58. p. 3159.

PISARENKO, Y. A.; SERAFIMOV, L. A.; CARDONA, C. A.; Optimization of reactive distillation process. *Theoretical foundation of chemical engineering*. Vol. 33 No. 5. p 455.

PISARENKO, Y. A.; SERAFIMOV, L. A.; CARDONA, C. A.; EFREMOV, D. E. and SCHUWALOV, A. S. 2001 Reactive distillation design in chemical engineering. *Reviews in chemical engineering*. Vol. 17. No. 4. p. 253

RIVERA, A. M. 2003. Diseño de un algoritmo para la evaluación de procesos reacción-extracción. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Manizales.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R. and VARGAS, R. M. 998 Transesterification of Vegetable Oils: a Review. *Journal of Brazilian Chemical Society*. Vol. 9, No. 1, 1; p. 199.

STRATTA, J. 2000. Biocombustibles. Los aceites como con sti tu yen tes pri n ci pal es del bi odiesel . Investigación y Desarrollo--Departamento de Capacitación y Desarrollo de Mercado. Agosto

## AUTORES

Julián Andrés Torres Montoya. Estudiante de Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. Jtorres@unalmzl.edu.co

Leandro Castaño Chiguachí. Estudiante de Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. Leandrocastano@unalmzl.edu.co

Carlos Eduardo Orrego. Ingeniero Químico, Especialista en Física, Especialista en Alimentos Profesor Departamento de Física y Química. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales.

corrego@nevado.manizales.unal.edu.co..

Carlos Ariel Cardona Alzate. Ingeniero Químico de la Academia Estatal de Ingeniería Química Fina de Moscú. M.Sc. en Ingeniería Química de Síntesis Orgánica de la citada academia, 1995. Ph.D. en Ingeniería Química de la citada academia, 2001. Director Grupo de investigación en Procesos Químicos Catalíticos y Biotecnológicos. Trabaja como profesor asistente en la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. Carrera 27 No. 64-60, Of. F-505. Tel.: 8810000 Ext. 417. Manizales, Colombia. E-mail: ccardona@nevado.manizales.unal.edu.co.

Leandro Castaño Chiguachí.

Estudiante de Ingeniería Química

Universidad Nacional de Colombia

Sede Manizales-Colombia

Julián Andrés Torres Montoya.

Estudiante de Ingeniería Química

Universidad Nacional de Colombia

Sede Manizales-Colombia

Carlos Ariel Cardona Alzate, Ph.D.

Profesor Departamento de Ingeniería Química.

Universidad Nacional de Colombia

Sede Manizales-Colombia

Carlos Eduardo Orrego, M.Sc.

Profesor Departamento de Física y Química.

Universidad Nacional de Colombia

Sede Manizales-Colombia

Grupo de investigación de Procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos Universidad Nacional de Colombia sede Manizales

Tabla 1. Resultados de la caracterización de aceites vegetales.

Parámetros	Aceites		
	Refinado	Crudo	Higuerilla
Índice saponifica	200.56	197.66	180.97
Índice yodo	37.8	52.61	20.74
Índice acidez	1.52	8.98	5.55

Indice refracción	1.47	1.47	1.48
22 [grados]C			
Densidad 22 [grados]C	0.91	0.91	0.96

### **Citación De la Fuente**

Castaño Chiguachí, Leandro, et al. "Produccion de biodiesel a partir de aceites vegetales utilizando enzimas libres: estudio preliminar." *Ingeniería de Recursos Naturales 2* (2004): 32+. *Informe Académico*. Web. 22 Sept. 2010.

### Document URL

http://find.galegroup.com/gtx/infomark.do?&contentSet=IAC-Documents&type=retrieve&tabID=T002&prodId=IFME&docId=A227598794&source=gale&srcprod=IFME&userGroupName=univalle&version=1.0

**Número de Documento:**A227598794

*Nota: Esta información no es una herramienta para auto-diagnóstico ni es un sustituto de atención profesional.*

- [Contact Us](#)
- [Copyright](#)
- [Terms of use](#)
- [Privacy policy](#)