

26. Energía

Tratamiento de aceite comestible usado para la generación de biodiesel no competitivo con los alimentos

Mateos, Paula Stefanía

stefaniamateos@quimica.unlp.edu.ar

Orientadores: Briand, Laura E. y Matkovic, Silvana R.

Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco"

Universidad Nacional de La Plata

Resumen

Es bien conocido que el aceite comestible se descarta después del primer o segundo uso, constituyendo un desecho altamente perjudicial para el medio ambiente. En este sentido, el aceite comestible de desecho constituye una materia prima económica para producir un biocombustible de segunda generación debido a que ese aceite ya fue utilizado en alimentación. La práctica más extendida para generar biodiesel es la trans-esterificación de aceite de soja refinado con metanol por catálisis homogénea con hidróxidos. Esta metodología requiere aceites libres de ácidos grasos y de agua y genera desechos alcalinos.

En esta contribución, se investigó la actividad biocatalítica de una lipasa vegetal obtenida de la especie autóctona *Araujia Sericifera* en la transesterificación de aceite de girasol fresco y usado (sin pretratamiento) con metanol y etanol a 45 °C por 24 hs.

Las reacciones del aceite fresco y usado con etanol (un alcohol de bajo impacto ambiental y que se produce en nuestro país) presentaron selectividades de 100 % a biodiesel lo que resulta altamente promisorio para el desarrollo de una metodología más económica y sustentable que la utilizada en la actualidad para generar el biocombustible.

Palabras clave: Aceite Comestible Usado, Catálisis, Biodiesel.

Introducción

Como respuesta a las crisis energéticas que ocurren a nivel mundial, al elevado costo del petróleo y a la disminución de las reservas mundiales de dicho combustible se han desarrollado en los últimos años los biocombustibles. Estos son combustibles obtenidos a partir de biomasa vegetal o animal. Los más difundidos son el biodiesel, el bioetanol y el biogás.

El biodiesel de primera generación es el producido a partir de aceites vegetales refinados por trans-esterificación de triglicéridos con metanol. Se fabrica a partir de aceites vegetales que pueden provenir de la soja, la palma, el girasol, la colza, etc. Nuestro país es el tercer productor mundial de biodiesel en base al aceite de soja y el quinto productor mundial de biodiesel computando todas las materias primas procesadas.

En nuestro país y en el mundo, se utiliza el aceite comestible para cocinar y se descarta después del primero o segundo uso. El aceite comestible de desecho constituye una materia prima económica para producir un biocombustible de segunda generación debido a que ese aceite ya fue utilizado en alimentación.

La práctica más extendida para generar biodiesel es la trans-esterificación de aceites vegetales con metanol en presencia de catalizadores alcalinos (KOH y NaOH). La reacción se realiza a baja temperatura y a presión atmosférica, sin embargo, este proceso presenta desventajas tanto económicas como medioambientales. Sus principales inconvenientes son la formación de jabón debido a la saponificación de ácidos grasos libres, la dificultad en la separación y purificación del glicerol generando una disminución en el rendimiento de la reacción, así como también la formación de residuos acuosos tóxicos (Santori et al, 2012; Banerjee et al, 2009).

En este sentido, los aceites deben ser altamente refinados, es decir que requieren un pretratamiento para eliminar los ácidos grasos libres y la humedad. El proceso de refinamiento constituye el 80% del costo total de la producción de biodiesel.

Como otra alternativa para la producción de biodiesel, en los últimos años se ha investigado la reacción de síntesis catalizada por ácidos del tipo Bronsted (HCl, H₂SO₄ y heteropoliácidos) y Lewis (resinas sulfónicas, zirconia sulfatada, MoO₃/SiO₂,

WO_3/SiO_2-AlO_3 , estearato de cinc, acetato de calcio y bario, entre otros) utilizando aceite comestible usado (Mandolesi de Araújo et al, 2013). El heteropoliácido fosfotúngstico del tipo Keggin $H_3PW_{12}O_{40}$ y las sal $Zr_{0.7}H_{0.2}PW_{12}O_{40}$ con estructura de nanotubo han demostrado actividad catalítica en la esterificación y transesterificación de aceite usado con elevado contenido de ácidos grasos libres y agua (Baroi y Dalai, 2014; Lam et al., 2010). Estos materiales catalizaron la reacción de biodiesel dando rendimientos de 87% a 98%. Recientemente, nuestro grupo de investigación demostró que el heteropoliácido fosfotúngstico de tipo Wells-Dawson $H_6P_2W_{18}O_{62}$ másico y soportado sobre TiO_2 , es activo en la esterificación de ácido oleico con metanol (Matkovic et al, 2016).

En menor proporción se han realizado investigaciones acerca de catalizadores sólidos con propiedades básicas, como el óxido de calcio y de magnesio. En general los materiales con propiedades básicas catalizan la trans-esterificación de aceite usado con rendimientos de hasta 90%.

Por otro lado, se han reportado investigaciones sobre el proceso de producción de biodiesel utilizando catalizadores enzimáticos. Estos

catalizadores, especialmente las lipasas, amplían el rango de materias primas incluyendo aceites y grasas con alto contenido de ácidos grasos libres, tales como el aceite de cocina usado (Santori et al, 2012). La actividad enzimática no es influenciada por la concentración de ácidos grasos libres y el contenido de la humedad de la materia prima (José et al, 2013; Novozyme Enzymatic Biodiesel Handbook, 2016). Las lipasas más estudiadas son de origen microbiano como: *Mucor miehei*, *Candida antarctica*, *Pseudomonas cepacia*, *Thermomyces langinosus*, entre otras (Telebian- Kiakalaieh et al, 2013).

Recientemente, se ha comprobado la actividad de la lipasa de látex de *Araujia sericifera* cataliza la esterificación de ácido oleico a 40°C con una velocidad de un orden de magnitud superior al biocatalizador comercial Novozym® 435 (Di Santo Meztler et al, 2014; Matkovic et al, 2016). La *Araujia sericifera* es una enredadera nativa de América del Sur que no tiene valor comercial por lo tanto es un catalizador promisorio para la producción de biodiesel.

Objetivos

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general el estudio de las reacciones de esterificación y trans-

esterificación por catálisis enzimática de aceite comestible usado a fin de obtener un biocombustible.

Los objetivos específicos de este trabajo son:

- a) Trans-esterificar aceite de girasol comercial fresco con alcoholes de cadena corta (metanol y etanol) como primer test de actividad catalítica de la lipasa de látex de *Araujia sericifera* (ASL).
- b) Trans-esterificar aceite de girasol comercial usado con alcoholes de cadena corta (metanol y etanol) como segundo test de actividad catalítica de la lipasa mencionada anteriormente.
- c) Analizar y comparar la actividad catalítica de la lipasa del látex de *Araujia sericifera* con la del catalizador comercial.

Materiales y Métodos

El biocatalizador ASL es provisto por el Centro de Investigación de Proteínas Vegetales CIPROVE (FCE, UNLP). Los alcoholes utilizados para la transesterificación fueron alcohol etílico absoluto (Carlo Erba, calidad HPLC) y el alcohol metílico absoluto (Tedia, calidad HPLC).

Se utilizó aceite de girasol “Costa del Sol” y aceite usado por el buffet de la Facultad de

Ciencias Exactas-UNLP (5 días de uso) de marca “Caracas”. El aceite de girasol es el de mayor consumo en el mercado interno argentino de acuerdo a la Cámara de la Industria Aceitera de la República Argentina CIARA (CIARA, 2017).

La cuantificación de los componentes de los aceites de partida y los productos obtenidos se realizó mediante la determinación de glicerol libre y total por el método volumétrico descrito por Pisarello et al (Pisarello et al, 2010). La proporción de mono, di y triglicéridos se cuantificó por cromatografía gaseosa en colaboración con otro grupo del CINDECA.

Transesterificación de aceite de girasol

La transesterificación de los aceites se realizó agregando 100 g de aceite de girasol en un baño de agua a 45 °C con agitación magnética (650 rpm). Al alcanzar la temperatura deseada se adicionaron 0,0489 g de la lipasa ASL y se le añadieron 20,00 mL de alcohol en alícuotas de 5,00 mL al inicio del ensayo y transcurridas 3 y 5 hs. La reacción se detuvo transcurridas 24 hs., para lo cual, el sistema se calentó hasta 100 °C con el fin de desnaturalizar la enzima.

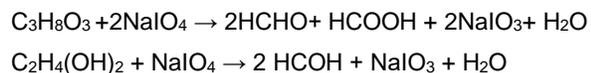
Determinación del índice de acidez

La determinación del índice de acidez tiene como objetivo establecer el contenido de ácidos grasos de los aceites de partida como los que se pudieran originar en la reacción. Este análisis se realizó de acuerdo a la Norma Europea EN 14104.

Se pesó 1,000 g de la muestra a analizar, se le agregaron 10,00 mL de una mezcla de tolueno/etanol 1:1 neutralizada y se tituló usando fenolftaleína como indicador. El titulante utilizado fue una solución etanólica de KOH 0,100 N.

Determinación de glicerol libre

Se determinó el porcentaje de glicerol libre en los aceites de girasol y en los productos obtenidos de las reacciones de trans-esterificación. Este ensayo se realizó mediante un método volumétrico indirecto ya que se titula el ácido fórmico producto de la reacción de glicerol con NaIO_4 . Para consumir el exceso de NaIO_4 se le añade etilenglicol (Pisarello et al, 2010).



Para hacer la extracción de glicerol de la muestra se realizaron sucesivos lavados a 65 °C con agitación constante. Para el primer lavado se añadieron 6,00 mL de una solución de HCl 5% p/v, se mantuvo con agitación constante (350 rpm) a 65°C durante 15 minutos y se separó la fase

acuosa con una ampolla de decantación. Este procedimiento se repitió, pero con 1,5 mL de una solución de HCl 5% p/v y luego con 1,5 mL de H_2O destilada.

Luego, se determinó el glicerol presente en la fase acuosa. Se le añadió rojo de fenol como indicador y se le agregó NaOH 2N hasta que la solución viró a color fucsia. Posteriormente se le agregó una solución de HCl 5% p/v hasta color amarillo y se hirvió la solución por 3 minutos. Al enfriarse se le agregó NaOH 0,1 N hasta color fucsia. Se le añadieron 15 mL de una solución 0,28 M de NaIO_4 preparada en el momento con agua hervida. Se dejó 5 minutos en la oscuridad y se le agregaron 2,00 mL de etilenglicol, se dejó nuevamente en la oscuridad 5 minutos y se tituló con una solución de NaOH 0,1 N.

$$\% \text{GL} = V_{\text{NaOH}} \cdot 0,0921 \cdot N_{\text{NaOH}} \cdot 100 / m_{\text{muestra}}$$

Determinación de glicerol total

Se midió el porcentaje de glicerol total de los aceites de girasol utilizados para las reacciones de trans-esterificación. Para ello, se hizo reaccionar el aceite con NaOCH_3 y luego se procedió a la extracción del glicerol y su determinación.

Se pesaron 8,000 g de aceite de girasol y se llevó a 65 °C en un baño de agua. Una vez obtenida la temperatura deseada se le agregaron 12 mL de metóxido de sodio y se

mantuvo con agitación constante (350 rpm) durante 30 minutos.

Luego se realizó el mismo procedimiento utilizado para la determinación de glicerol libre.

Mediante el estudio por cromatografía gaseosa por el cual obtenemos la cantidad de milimoles de mono-, di- y triglicéridos por mililitro de muestra luego de la reacción y en el aceite de partida. Se han calculado los porcentajes de conversión de triglicéridos y la selectividad de dicha conversión a biodiesel, monoacil y diacilglicerol.

$$\% \text{conversión} = \left(\frac{\text{TG}_{\text{iniciales}} - \text{TG}_{\text{finales}}}{\text{TG}_{\text{iniciales}}} \right) \times 100$$

$$\text{Selectividad a biodiesel} = 1 - (\text{MG} + \text{DG})$$

Donde, TG son los triglicéridos; MG son monoacilglicéridos y DG son los diacilglicéridos.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se presentan las relaciones molares alcohol: aceite utilizadas en los ensayos catalíticos, la conversión del aceite y la selectividad a biodiesel, monoacil y diacilglicerol. Se ha denominado "biodiesel" a los ésteres metílicos y etílicos de los ácidos grasos.

Mientras que en la Tabla 2 se muestran los resultados de glicerol total y libre porcentuales y el índice de acidez.

Los ensayos catalíticos preliminares evidencian que la lipasa de *Araujia Sericifera* cataliza la trans-esterificación y la esterificación del aceite de girasol con metanol y etanol a 45 °C. Los valores de glicerol total presentados en la Tabla 2 demuestran que el aceite usado posee un 60% de la capacidad de producir biodiesel comparado con el aceite fresco (2,60 % vs. 1,58 %). La presencia de glicerol libre y el elevado índice de acidez del aceite usado indican que posee ácidos grasos libres generados durante el proceso de cocción. La disminución del índice de acidez del aceite usado y el aumento de ese índice en el aceite fresco que se observan luego de la reacción, evidencia que la lipasa vegetal cataliza tanto la hidrólisis de los glicéridos como la esterificación de los ácidos grasos libres.

Los resultados mostrados en la Tabla 1 demuestran que la reacción de aceite fresco con etanol catalizada con la lipasa ASL, presenta una conversión de un 58 % con un 100 % de selectividad a FAEE (ésteres etílicos de ácidos grasos). En el caso de la misma reacción pero con aceite usado también se observó una selectividad de 100% a FAEE pero con un menor porcentaje de conversión.

Las reacciones de transesterificación con metanol presentaron menor conversión y selectividad a los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Este comportamiento se atribuye a que el alcohol

etílico no posee efecto inhibitorio de la capacidad biocatalítica de la lipasa en comparación al metanol.

Tabla 1 Relaciones molares de los reactivos (alcohol (ROH): aceite de girasol) utilizados en los ensayos catalíticos, conversión del aceite y selectividad a los ésteres metílico y etílico de los ácidos grasos (biodiesel), monoacilglicerol y diacilglicerol.

| reacción | Rel. molar ROH: aceite | % conversión | % selectividad | | |
|-------------|---------------------------|--------------|----------------|----|----|
| | | | biodiesel | DG | MG |
| AGf-metanol | 4,5:1 | 19 | 60 | 6 | 34 |
| AGu-metanol | 4,5:1 | 27 | 88 | 12 | 0 |
| AGf-etanol | 3:1 | 58 | 100 | 0 | 0 |
| AGu-etanol | 3:1 | 38 | 100 | 0 | 0 |

MG:monoacilglicerol, DG: diacilglicerol, AGf: aceite de girasol fresco, AGu: aceite de girasol usado.

Tabla 2 Porcentaje de glicerol total y libre, e índice de acidez de los aceites frescos y luego de la reacción catalítica de transesterificación.

| | % Glicerol libre | % Glicerol total | Índice de acidez |
|---------------|------------------|------------------|------------------|
| Aceite fresco | 0 | 2.60 | 0 |
| Aceite usado | 0.010 | 1.58 | 3.13 |
| AGf-metanol | 0 | 1.55 | 1.00 |
| AGu-metanol | 0.005 | 0.46 | 2.54 |
| AGf-etanol | 0.011 | 1.61 | 0.86 |
| AGu-etanol | 0.011 | 1.83 | 2.63 |

Conclusiones

Las investigaciones preliminares demuestran que la lipasa vegetal ASL presenta actividad catalítica en la hidrólisis, esterificación y transesterificación del aceite de girasol fresco y usado en cocción. Estos tres mecanismos se observan en la generación de biodiesel en presencia de metanol y etanol a 45 °C. En particular, la reacción utilizando etanol en cantidad estequiométrica respecto del aceite, resultó altamente selectiva a los ésteres etílicos de ácidos grasos. En contraste, la reacción con metanol en exceso provocó cierto grado de inhibición de la actividad biocatalítica.

Bibliografía

Banerjee, A.; Chakraborty, R. (2009). *Resour. Conserv. Recy.*, 53, 490-497.

Baroi, C.; Dalai, A.K. (2014) *Ind. Eng. Chem. Res.*, 53, 18611-18624.

Di Santo Meztler, P.; Fait, M.E., Foresti, M.L.; Morcelle, S.R. (2014). *Catal. Sci. Technol.*, 4, 1386–1394.

José C.; Austic, G.B.; Bonetto, R.D.; Burton, R.M.; Briand, L.E. (2013). *Catal. Today* 213 73-80.

Mandolesi de Araújo C.D.; C.C. de Andrade; E. de Souza e Silva; Dupas F.A. (2013). *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 27, 445-452.

Matkovic S.R.; Nilsson, J.F.; Fait, M.E.; Morcelle, S.R.; Briand, L.E. (2016). *Catal. Lett.*, 146, 2341-2347.

Novozyme Enzymatic Biodiesel Handbook 2016,

<http://thinkbioenergy.com/downloadnovozymes-enzymatic-biodiesel-handbook>.

Pisarello M.L.; Dalla Costa, B.O.; Veizaga, N.S.; Querini, C.A. (2010). *Ind. Eng. Res.*, 49, 8935– 8941.

Santori G.; Di Nicola, G.; Moglie, M.; Polonara, F. (2012). *Appl. Energy*, 92, 109-132.

Talebian-Kiakalaieh A.; Saidina Amin, N.A.; Mazaheri, H. (2013). *Appl. Energy*, 104, 683-710.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Susana Morcelle por proveer la lipasa ASL y a la Dra. Marisa Navas por la realización de los análisis cromatográficos.

Financiamiento

Este trabajo está financiado con el Proyecto de Ciencia y Técnica 11-X745 de la U.N.L.P. y la Facultad de Ciencias Exactas a través del proyecto de extensión denominado “Relevamiento y Valorización del Aceite Comestible Utilizado en Frituras Generados por Cooperativas Barriales y Comedores Universitarios a Través de Cuestionarios y

Experimentos Dirigidos la Generación de Biodiesel”.