

Artículo Científico

Síntesis quimioenzimática de ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de aceite residual y cálculo de sus parámetros fisicoquímicos

Chemoenzymatic synthesis of fatty acid methyl esters from residual oil and its physicochemical parameters calculation

Alejandro Sustaita-Rodríguez¹, Martha Graciela Ruiz-Gutiérrez¹, Víctor Hugo Ramos-Sánchez¹, Blanca Gladiana Beltrán², León Hernandez-Ochoa¹ y David Chávez-Flores^{1*}.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario, Chihuahua, México 31125.

² Facultad de Enfermería y Nutriología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Circuito Universitario, Chihuahua, Chihuahua, México 31125.

*Correspondencia: dchavezf@uach.mx (David Chávez Flores)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tecnociencia.v15i1.755>

Recibido: 19 de enero de 2021; Aceptado: 20 de abril de 2021

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Resumen

Mediante el desarrollo de un diseño factorial 2k se evaluó la temperatura y concentración del catalizador en la reacción para la obtención de ésteres metílicos de ácidos grasos utilizando aceite residual como sustrato metanol como aceptor de acilo *Candida antarctica* Lipasa B como catalizador y tamices moleculares como agente secante. Los datos experimentales se analizaron con un análisis de varianza. Las relaciones óptimas de catalizador-temperatura se determinaron a 13% -30 ° C, 14,5% -34 ° C y 14% -35 ° C. No se detectó ningún efecto de los tamices moleculares en el rendimiento de la reacción. Por el contrario, se registró para la acidez del producto, que mostró una disminución significativa, de 0,79 a 0,40 mg KOH / g. Aplicando las reglas de mezcla, se calcularon las propiedades fisicoquímicas de los esteres etílicos de ácidos grasos (densidad, gravedad API, viscosidad cinemática, punto de enturbiamiento, presión de vapor, índice de cetano y capacidad calorífica). Los resultados establecieron que el biocombustible es apto para uso comercial y cumple con las regulaciones para biocombustibles: ASTM D6751 y EN-14214. Se determinó que el terc-butanol es el disolvente óptimo para la recuperación y reutilización de la lipasa.

Keywords: ésteres, combustibles, aceite, residual, biodiesel, biocatálisis, ácidos grasos

Abstract

By the development of a 2k factorial design, the temperature and catalyst concentration were evaluated in the reaction for obtaining fatty acid methyl esters using residual oil as substrate, methanol as acyl acceptor, *Candida antarctica* Lipase B as catalyst and molecular sieves as drying agent. Experimental data was analyzed with an analysis of variance. Optimal catalyst-temperature

ratios were determined at 13%-30°C, 14.5%-34°C, and 14%-35°C. No effect of molecular sieves was identified in the reaction yield. Contrary, was recorded for the acidity of product, which showed a significant decrease, from 0.79 to 0.40 mg KOH/g. Applying the mixing rules, the physicochemical properties of the fatty acids methyl esters (density, API gravity, kinematic viscosity, cloud point, vapor pressure, cetane number and heat capacity) were calculated. Results established that the biofuel is suitable for commercial use and meets the regulations for biofuels: ASTM D6751 and EN-14214. Tert-butanol was determined as the optimum solvent for the recovery and the reuse of the lipase.

Palabras Clave: ester, fuel, oil, residual, biodiesel, biocatalyst, fatty acid

1. Introducción

El biodiesel es un combustible líquido semisintético conformado por mono alquil ésteres de ácidos grasos que se derivan de lípidos naturales y el cual constituye una opción que ha atraído la atención durante la última década como recurso renovable, biodegradable, no tóxico y respetuoso con el ambiente. Se produce generalmente mediante la modificación de triglicéridos de aceites y grasas vegetales o animales a través de la reacción de transesterificación (Saqib y col., 2012) que involucra alcoholes de cadena corta como metanol o etanol en presencia de un catalizador. El biodiesel se puede producir a través de medios químicos y biológicos. La vía química por lo general incluye dos tipos de catalizador: alcalinos y ácidos. En el caso del proceso alcalino tiene la desventaja de que si el aceite utilizado tiene alta concentración de ácidos grasos libres es probable que se formen jabones lo que crea dificultades en la recuperación del biodiesel. La transesterificación catalizada con ácidos/bases minerales es adecuada para una materia prima con ácidos grasos con alto contenido de agua, pero tiene el inconveniente de que los ácidos/bases minerales podrían causar daños a los equipos y las velocidades de reacción son muy lentas (Du y col., 2008). Debido a esto, la producción enzimática de biodiesel ha recibido especial atención, ya que tiene ventajas sobre diversos métodos químicos. En la actualidad, se está investigando el uso de lipasas inmovilizadas (Salazar-Leyva y col., 2014), enzimas que pueden servir como aceleradores de la reacción de transesterificación para la obtención de este biocombustible ya que su uso hace la reacción menos sensible a grandes cantidades de ácidos grasos libres. (Baeza-Jiménez y col., 2014). Enormes cantidades de aceites de cocina residuales y grasas animales están disponibles en todo el mundo, especialmente en los países desarrollados. El manejo de estos aceites y grasas suponen un reto importante debido a sus problemas de eliminación y la posible contaminación de los recursos hídricos y de tierras. A pesar de que algunos de estos aceites se utilizan para la producción de jabón, gran parte de ellos, son vertidos al ambiente (González y col., 2013), por lo que recientemente se ha estudiado el uso de este tipo de aceites para la producción de biodiesel debido a que no presenta competitividad contra el cultivo de plantas productoras para la industria alimentaria y posibilita la aplicación de estos desechos. Es por eso que en este artículo de investigación se estudió el uso de lipasa de *Cándida antártica* como biocatalizador para la producción de biodiesel a partir de aceite de cocina residual y utilizando ecuaciones calcular sus propiedades como combustible.

2. Materiales y métodos

Se utilizó aceite residual de un comedor industrial de la ciudad de Chihuahua, metanol grado cromatografía de líquidos de alta resolución HPLC por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography, con 99.8% de pureza de la marca J.T. Baker, lipasa tipo B de *Cándida*

antártica inmovilizada en resina de acrílico (Novozym 435) de Amano Enzymes Co. y algunos otros solventes todos ellos grado HPLC. Las reacciones fueron llevadas a cabo generando un medio anhidro a partir de la adición de tamices moleculares de tamaño de poro de 3 Å adquiridos de Sigma-Aldrich.

2.1. Caracterización de las materias primas

La composición de los ésteres metílicos de ácidos grasos FAME (por sus siglas en inglés, Fatty Acid Methyl Esters) fue calculada a través de la técnica de normalización de áreas mediante el uso del cromatógrafo de gases Agilent technologies 7890A acoplado a un espectrómetro de masas, utilizando KOH como catalizador para metilar el aceite. El índice de acidez, porcentaje de ácidos grasos libres (FFA), índice de peróxido, agua y sedimentos y densidad fueron calculados de acuerdo con la Tabla 1.

Tabla 1. Variables y niveles utilizados para el diseño factorial 2k.

Table 1. Variables and levels used for the 2k factorial design.

Variables independientes	Variables codificadas	Niveles		
		-1	0	1
Novozym 435 [%p/p]	X ₁	3	9	15
Temperatura (°C)	X ₂	30	45	60

2.2 Diseño experimental y análisis estadístico.

Se utilizó un diseño factorial 2k compuesto por dos niveles y un punto central (Tabla 2), mediante el programa Minitab versión 16. Las variables investigadas fueron temperatura (°C) y concentración del catalizador en porcentaje pesos/peso (%p/p) basado en el peso del aceite como variable dependiente. La variable de respuesta seleccionada fue el rendimiento de ésteres metílicos de ácidos grasos expresada como el % FAME.

Tabla 2. Propiedades y composición de aceite residual de la materia prima utilizada en la producción de FAME.

Table 2. Properties and composition of residual oil of the raw material used in the production of FAME.

Parámetros	Valor*	Unidad	Referencia
Acidity index	2.74±0.005	mg KOH/g	Pancreac
FFA	1.93±0.003	%	Araújo, 1995
Density	0.88±0.001	g/mL	EN-14214
Water and sediments	1±0.007	%	ASTM, 2008
Peroxide index	2.91±0.04	meq O ₂ /Kg	Araújo, 1995
Composición de ácidos grasos (%p/p)*			
Palmitic acid C16: 0	13.654±0.675		
Linoleic acid C18: 2	31.602±0.047		
Elaidic acid C18: 1	36.563±0.788		
Vaccenic acid C18: 2	5.236±0.064		
Oleic acid C18: 1	7.652±0.268		
Esteric acid C18: 0	5.294±0.180		

* Mean ± standard deviation

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un modelo de regresión (Ec. 1), con un índice de confianza del 95% y para evaluar la significancia estadística de cada factor, los resultados fueron examinados mediante un análisis de varianza ANOVA (por sus sigloides en inglés, ANalysis Of VAriance) con una significancia del 5%.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon \dots\dots\dots \text{Ec. (1)}$$

2.3 Reacciones de transesterificación.

Todas las reacciones fueron llevadas a cabo en viales conteniendo 3.5 g de aceite residual en relación molar metanol/aceite 4:1, agitadas a 300 rpm durante 24 h a diferentes concentraciones de catalizador y temperatura y de acuerdo al diseño de la matriz experimental de la (Tabla 3). Se utilizó una modificación de la metodología de Samukawa y col., (2000) que consistió en incubar la lipasa durante 24 horas en el aceite residual y posterior, se generó el medio anhidro adicionando la cantidad necesaria de tamices moleculares. Para evitar la inhibición de la lipasa, se utilizó una adaptación de la metodología propuesta por Shimada y col., (2002), y Azócar (2010), la cual consistió en adicionar el metanol en un protocolo de dos pasos. En el primer paso se adicionó 1/3 de la de la relación molar metanol/aceite y transcurridas 8 horas de reacción, en un segundo paso, se adicionaron los 2/3 remanentes. Se determinó el rendimiento de reacción mediante una modificación del método propuesto en la norma EN-14214 empleando como estándar interno laurato de metilo de concentración conocida y una modificación del método de normalización de áreas, mediante cromatografía de gases.

Tabla 3. Respuestas obtenidas en el diseño experimental y respuestas pronosticadas según el modelo de regresión para cada tratamiento.

Table 3. Responses obtained in the experimental design and predicted responses according to the regression model for each treatment.

No. De experimento	Niveles de variables		Rendimiento de FAME (%)	
	X ₁	X ₂	Experimental	Predicho
1	3	60	64.5	68.73
2	15	30	92.19	95.32
3	3	60	69.47	68.73
4	9	45	88.89	86.73
5	15	60	85.96	86.67
6	15	30	96.43	95.32
7	9	45	85.84	86.73
8	9	45	85.46	86.73
9	3	30	83.83	77.49
10	15	30	97.33	95.32
11	3	30	74	77.49
12	3	30	74.63	77.49
13	15	60	88.64	86.67
14	15	60	85.4	86.67
15	3	60	72.21	68.73

X₁=Concentración del catalizador, X₂= Temperatura.

2.4 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del FAME.

El cálculo de las propiedades fisicoquímicas de los ésteres metílicos se fundamentó en las reglas de mezclado aplicadas a mezclas líquidas, es decir, se emplearon modelos matemáticos para evaluar las propiedades de la mezcla en función del porcentaje en masa de FAME. Esto involucró las propiedades críticas de cada metil éster, ya que a partir de estas propiedades es posible predecir otras (densidad, capacidad calorífica, presión de vapor, etcétera). En la Tabla 4 se presentan las propiedades calculadas y las Ecs. (3)-(12) utilizadas en este experimento.

Tabla 4. Ecuaciones de las reglas de mezcla para la determinación de las propiedades fisicoquímicas del FAME obtenido a partir de aceites residuales.

Table 4. Equations of the mixing rules for the determination of the physicochemical properties of the FAME obtained from residual oils.

Propiedad	Unidad	Valor	Ecuación	No.	Fuente
Factor acéntrico (ω_m)	-	0.91	$\omega_i = \frac{3}{7} \left[\frac{\theta}{(1-\theta)} \right] \log P_c - 1$	2	Reid <i>et al.</i> , (1977)
Volumen crítico (V_{cm})	cm ³ /mo l	1098.85	$V_{cm} = \sum_i \sum_j y_i y_j V_{cij}$	3	Rochaya, (2007)
Presión crítica (P_{cm})	Bar	11.85	$P_{cm} = \frac{(0.2905 - 0.085\omega_m)RT_{cm}}{V_{cm}}$	4	Rochaya, (2007)
Temperatura crítica (T_{cm})	C	463.07	$T_{cm} = \frac{1}{V_{cm}^{1/4}} \sum_i \sum_j y_i y_j V_{cij}^{1/4} T_{cij}$	5	Rochaya, (2007)
Densidad (ρ)	Kg/m ³	886.19	$\rho = \frac{\rho_R}{Z_{RA}\phi}$	6	Romano y Blangino, 2004).
Gravedad API (°API)	°API	28.17	$°API = \frac{141.5}{\rho_{rel}} - 131.5$	7	Rivera, (2013).
Viscosidad cinemática (η)	Cst	5.14	$\eta = (\sum_{i=1}^n X_i \eta_i)^{1/3}$	8	Zhmud, (2014).
Punto de nube (P.N)	°C	1.5690	$PN(C) = -0.576x + 48.225$	9	Sarin, (2009).
Presión de vapor (P_v)	Bar	Expresa da en función de T	$P_v = \exp\{f^{(0)}(Tr) + \omega_m f^{(1)}(Tr)\}$	10	Metha et al., (2011).
Número de cetano (CN_{FAME})	-	61.87	$CN = X_i CN$	11	Chieh, (2011)
Capacidad calorífica (C_p)	J/gK	2.21	$C_p = 0.000001M^2 + 0.0009M + 1.9291$	12	Metha et al., (2011).

2.5 Recuperación y reutilización de Lipasa B de *Candida Antártica*.

Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se aisló la lipasa de la mezcla de FAME/glicerina/tamices, en un sistema de filtración al vacío. La enzima fue retenida en el filtro y fue lavada con tert-butanol. Para separar la enzima de los tamices moleculares, se empleó un tamiz con tamaño de malla de 0.850 mm.

3. Resultados y discusión

El análisis de varianza (ANOVA) para el modelo de regresión mostró un valor de p ($0.000 < 0.05$), lo cual indicó que dicho modelo representó con precisión la relación entre las respuestas y las variables (Tabla 5). Además, al analizar la influencia de dichas variables, se obtuvo un valor de p ($0.000 < 0.05$), para la concentración de la enzima (X_1) y un valor de p ($0.001 < 0.05$), para la temperatura (X_2), con lo cual se establece que una modificación de éstas afecta significativamente el porcentaje de obtención FAME's, siendo la concentración del catalizador la que presenta mayor efecto en la variable de respuesta (Rendimiento de FAME).

Tabla 5. Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo de regresión.

Table 5. Analysis of variance (ANOVA) for the regression model.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Mínimos cuadrados	F	P	α
Modelo	4	1239.54	309.886	25.99	0.000	0.05
Lineal	2	1186.95	593.475	49.77	0.000	0.05
X_1	1	959.62	959.620	80.48	0.000	0.05
X_2	1	227.33	227.331	19.06	0.001	0.05
X_1X_2	1	0.01	0.009	0.00	0.979	0.05
Error	10	119.24	52.584	-	-	0.05
Total	14	1358.79	-	-	-	0.05

$S = 5\%$, $R^2 = 91.22\%$, $R^2_{aj} = 87.71\%$

Sin embargo, el valor de p ($0.979 > 0.05$) obtenido para la interacción enzima*temperatura (X_1X_2), resultó ser no significativo ($P > 0.05$), esto es, que no existe interacción entre estas variables ya que el efecto de un factor no depende de los niveles del otro factor.

De acuerdo con el análisis ANOVA (Tabla 5), el valor de R^2 señala que los resultados experimentales presentados en la Tabla 3 se ajustaron en un 91.22% al modelo propuesto (Ec. 1), mientras que el valor de R^2_{aj} muestra un ajuste del 87.71% al modelo de regresión. En base a esto, el modelo final entregado por el diseño factorial 2k en términos de las variables no codificadas puede ser escrito según la (Ec. 13). Sin embargo, como el ANOVA también mostró que no existe interacción entre los factores, el modelo propuesto en términos de las variables no codificadas puede ajustarse a la Ecuación 14, en donde se desprecia el efecto de la interacción Enzima*Temperatura.

$$\text{FAME (\%)} = 81.82 + 1.477 X_1 - 0.293 X_2 + 0.0003 X_1X_2 + 4.68 \dots \text{Ec. (13)}$$

$$\text{FAME (\%)} = 81.82 + 1.477 X_1 - 0.293 X_2 + 4.68 \dots \text{Ec. (14)}$$

A través del modelo ajustado (Ec. 14) y de acuerdo al criterio límite de la máxima respuesta obtenida en el rendimiento de FAME, fue posible predecir diversas condiciones óptimas de reacción, esto con la finalidad de reducir costos de producción y la concentración de enzima. Las condiciones óptimas de reacción predichas fueron empleando 13% de catalizador y 30°C, 14.5% de catalizador y 34°C, y 14% de catalizador y 35°C.

Además de las condiciones óptimas predichas por el modelo, éste permitió predecir condiciones óptimas en un rango de temperaturas inferior a 30°C. Sin embargo, debido a la naturaleza de los aceites residuales, cuando son incorporados a un sistema de reacción con bajas temperaturas, estos presentan dificultad para dispersarse en el medio por la tendencia que tienen de ser sólidos o semisólidos, lo cual dificulta la transferencia de masa.

3.1 Efecto del medio anhidro.

Se analizó el rendimiento del FAME generado en el medio anhidro bajo las condiciones del punto central del diseño factorial 2k y fueron comparados con un medio de control, al cual no se le adicionaron tamices moleculares. La Fig.1 mostró que cada condición evaluada (con y sin tamices), describía un comportamiento similar, por lo que fue necesario realizar comparaciones de Tukey. Dicho análisis permitió establecer que la presencia de tamices moleculares no favoreció el rendimiento de la reacción de obtención de FAME. Una posible explicación para esto, es que el medio de control se vio favorecido como consecuencia de un bajo contenido de agua (1%) y FFA (1.93%) en la materia prima. Además, la preincubación de la lipasa en ambos medios jugó un papel importante, ya que de acuerdo con Samukawa y col., (2000), este paso evita que la lipasa adsorba agua durante la reacción de transesterificación.

Pese a que los tamices moleculares no incrementaron el rendimiento de la reacción, se cree que estos tuvieron la capacidad de absorber el agua presente en el aceite y el agua generada por esterificación de FFA, así como evitar la hidrólisis de triglicéridos. Para comprobar este supuesto, se midió la acidez del FAME generado en los dos medios, siendo la acidez reportada para el FAME generado en el medio anhidro de 0.4 mg KOH/g y 0.79 mg KOH/g para el FAME generado sin la adición de tamices moleculares. A pesar de los bajos índices de acidez obtenidos, el FAME producido con la adición de tamices moleculares fue el que cumplió los estándares de acidez (<0.5) establecidos por la norma europea EN-14214 para biocombustibles, lo que conlleva a suponer que la acidez y el rendimiento están asociados a un mejor funcionamiento de Novozym 435 en condiciones anhidras, tal como fue demostrado en los experimentos realizados por Fukuda y col., (2008), quienes llevaron a cabo un experimento con las lipasas *Rizopus orizae* y Novozym 435 adicionado diferentes concentraciones de agua, en el experimento antes mencionado, Novozym 435 presentó mejores rendimientos con la menor concentración de agua en el medio (0%). De la misma forma, Lee y col., (2011), utilizando Lipozyme de *Rhizomucor miehei* inmovilizada emplearon diferentes cantidades de silica gel para generar un medio anhidro y transesterificar aceite de canola obteniendo conversiones entre 93 y 99%.

3.2 Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la materia prima y del FAME.

Para el cálculo de las propiedades críticas de la mezcla de metil ésteres se emplearon las composiciones másicas mostradas en la Tabla 1 y el porcentaje de FAME obtenido en el experimento 10 de la Tabla 3, debido a que fue el que presentó mayor porcentaje de rendimiento (97.33%). Este cálculo fue necesario para conocer la composición real en masa, ya que la composición de cada ácido graso presentada en la Tabla 1 corresponde a la composición suponiendo que el aceite haya transesterificado por completo (100% de rendimiento). Las composiciones másicas fueron convertidas a composiciones molares utilizando los pesos moleculares de los metil ésteres y en base a esto se pudo calcular la fracción molar que corresponde a cada metil éster en el biodiesel. Se necesitaron, además, el volumen, la temperatura, y la presión

crítica de cada componente de la mezcla, así como la temperatura de ebullición. Estos datos fueron proporcionados por Aca y col., (2009).

Reemplazando los valores de las fracciones molares de cada componente y los valores de las propiedades críticas de cada componente en las Ecs. (2)-(5), se calcularon las propiedades críticas y el factor acéntrico (ω_m) del FAME (Tabla 4). A partir de estos datos fue posible predecir las principales propiedades fisicoquímicas que son evaluadas por las normas ASTM D6751 y EN-14214 para el uso comercial de biocombustibles.

3.2.1 Densidad.

A partir de los resultados graficados en la Fig. 1, se observa que los valores de la densidad del líquido a bajas temperaturas disminuyen linealmente hasta su punto de ebullición ($302.2\text{ }^{\circ}\text{C}$), después de esto, se reduce a una tasa mayor, lo que podría atribuirse a un aumento de la cantidad de líquido que se expande térmicamente. Este mismo comportamiento fue descrito por Rivera (2013) quien predijo la densidad para el biodiesel obtenido a partir de aceite de palma.

La norma europea EN-14214 para biocombustibles establece que la densidad del FAME debe estar comprendida en un rango de $860\text{-}900\text{ Kg/m}^3$ y $860\text{-}894\text{ Kg/m}^3$ según la ASTM D6751. En este experimento la densidad predicha para la mezcla de FAME cumplió con los estándares establecidos por dicha norma ya que el valor calculado fue 886.19 Kg/m^3 .

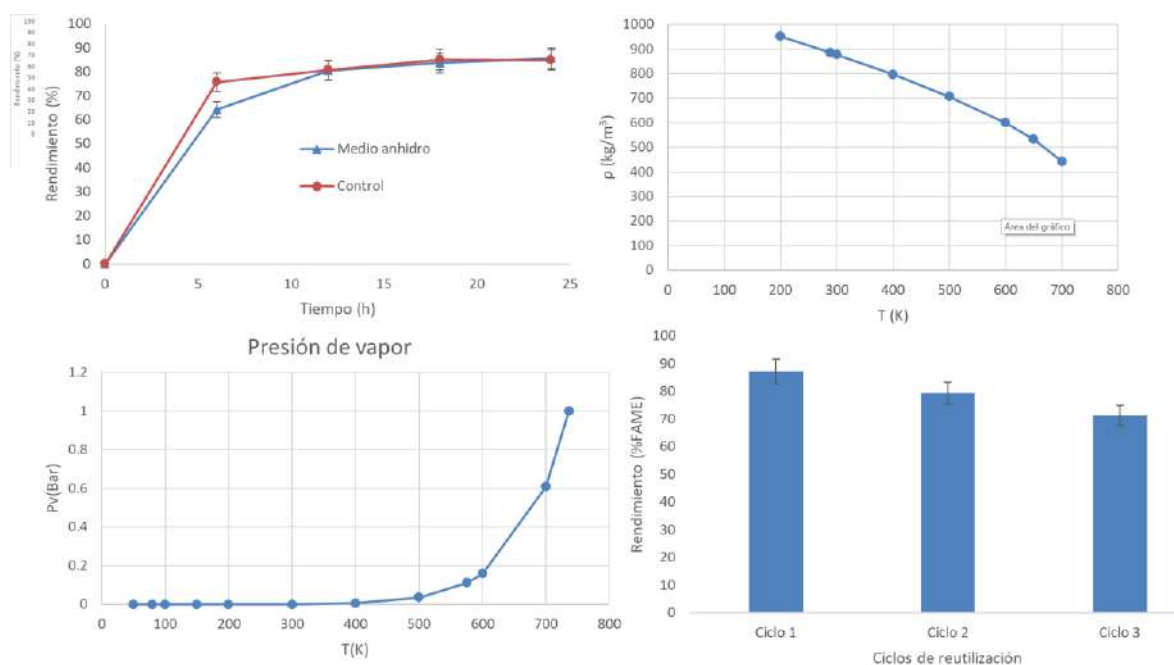


Figura 1. (Arriba a la izquierda) Rendimiento de FAME durante la reacción de transesterificación en medio anhidro y en el medio de control. Media \pm desviación estándar. (Arriba a la derecha) Efecto de la temperatura sobre la densidad FAME obtenida de aceites residuales. (Abajo a la izquierda) Presión de vapor de FAME en función de la temperatura. (Abajo a la derecha) Ciclos de reutilización de Novozym 435. Media \pm desviación estándar.

Figure 1. (Top left) Yield of FAME during the transesterification reaction in anhydrous medium and in the control medium. Mean \pm standard deviation. (Top right) Effect of temperature on the FAME density obtained

from residual oils. (Bottom left) Vapor pressure of FAME as a function of temperature. (Bottom right) Novozym 435 reuse cycles. Mean \pm standard deviation.

3.2.2 Gravedad American Petroleum Institute (API)

La gravedad API para la mezcla de FAME a 15 °C fue estimada en 28.17 °API. Aunque este valor no se encuentra reportado en las normas para el uso de biocombustibles, se decidió calcular debido a que asocia la densidad de un combustible con la del agua y define cuan pesado o liviano es. De acuerdo con Acevedo y Guardo (2012), en función de la gravedad API, los combustibles están clasificados en livianos (°API=32-40), intermedios (°API=21-30) y pesados (°API= 15-20), siendo los livianos los de mayor valor adquisitivo e importancia comercial. El FAME obtenido en esta investigación fue de clasificación intermedia.

3.2.3 Viscosidad cinemática a 40°C.

El cálculo de la viscosidad cinemática del FAME requirió de las fracciones masa (X_i) y las viscosidades a 40°C de cada uno de los metil ésteres que componían la mezcla. Sustituyendo estos valores en la Ecuación 8 resultó un valor de 5.14 cst para la viscosidad cinemática.

El valor de la viscosidad cinemática obtenido en este experimento cumplió con los parámetros establecidos por la norma ASTM D6751 la cual establece un rango de viscosidad de 1.9-6 cst. Sin embargo, dicho valor no cumplió con la norma EN-14214 ya que el parámetro de calidad establecido por esta comprende viscosidades en un rango de 3.5-5 cst.

3.2.4 Punto de nube.

El punto de nube fue estimado con la Ec. (9), aunque el valor predicho para este parámetro (1.5690 °C) cumplió la especificación de la ASTM, el punto de nube es una medida que determina la aparición de cristales en el líquido a cierta temperatura, por lo cual, la norma permite ajustar el valor según la región donde se utilice.

3.2.5 Presión de vapor.

A partir de la Ec. (10) fue posible calcular la presión de vapor del FAME en función de la temperatura en un rango comprendido de -223.15 °C hasta su temperatura crítica (Figura 1).

Debido a que el FAME no contiene componentes volátiles, su presión de vapor sigue siendo muy baja hasta que alcanza su punto inicial de ebullición reportado en 300.2 °C, posteriormente, como es de esperarse, la presión de vapor se eleva rápidamente y alcanza su punto máximo alrededor de su temperatura crítica (463 °C), este valor está asociado a la volatilidad de la mezcla. Sin embargo, los valores de las presiones de vapor en mezclas de ésteres metílicos han sido poco reportados, ya que las investigaciones realizadas en este ámbito, se encuentran enfocadas a obtener las constantes de Antoine para cada sustancia, lo cual limita su aplicabilidad.

3.2.6 Número de cetano.

El número de cetano fue calculado a partir de la Ec. (11), para lo cual fue necesario el número de cetano de cada componente y su fracción masa, al sustituir estos valores se obtuvo un valor para el número de cetano de la mezcla de FAME de 61.87. Este valor es atribuido al bajo índice de peróxido del aceite residual (Tabla 1), el cual es indicativo de pocas reacciones de oxidación durante el proceso de fritura de la materia prima, ya que estos procesos tienden a aumentar el número de insaturaciones en el aceite con lo cual disminuye el valor del índice de cetano en el biodiesel. El número de cetano estimado en este experimento cumplió con los valores establecidos

en ambas normas (mínimo 47 en el caso de la ASTM D6751 y mínimo 51 para la EN-14214), lo cual quiere decir que el FAME obtenido a partir de aceites residuales evitará desgastes en los pistones de un motor diesel.

3.2.7 Capacidad calorífica.

Usando la Ec. (12), junto con la capacidad calorífica de cada metil éster que compone la mezcla, así como sus pesos moleculares, fue posible predecir la capacidad calorífica a 25°C del FAME, la cual fue estimada en 2.21 J/g K. Este resultado se comparó con los obtenidos por Rivera (2013), quien también utilizó la Ec.(13) para determinar la capacidad calorífica del biodiesel de palma, siendo reportada en 2.10 J/g K. Pese a la similitud encontrada con esta investigación, el valor experimental del biodiesel está determinado en 1.98 J/g K. Esta discrepancia es atribuida a que el modelo empleado para el cálculo de esta propiedad es en función del peso molecular de los componentes individuales de la mezcla y como previamente fue establecido, el FAME obtenido en este trabajo presenta en su mayoría cadenas de ésteres metílicos de 18 carbonos.

3.3 Recuperación y reutilización de Novozym 435

Posterior a la reacción de producción de FAME, se llevó a cabo el procedimiento para separar la enzima de los reactivos y productos para su recuperación y reutilización. En la Fig. 1 se observa que el rendimiento del FAME sólo decreció en un 5% para cada ciclo empleado. Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que debido a que el tert-butanol es un solvente medianamente polar, las propiedades hidrofílicas de este, permitieron remover la pared de glicerina formada durante la reacción con los lavados sucesivos, mientras que las propiedades hidrofóbicas, permitieron mantener una alta actividad enzimática, lo cual se vio reflejado en el rendimiento de la reacción. Estos resultados presentan similitud con una investigación realizada por Chen y col., (2011), quienes al emplear tert-butanol como solvente en el medio de reacción, lograron tener conversiones superiores al 80% sin pérdida de actividad catalítica de Novozym 435. Como en esta investigación la cantidad de muestra fue muy pequeña, no fue posible llevar a cabo más de tres ciclos de recuperación debido a la pérdida de enzima durante el proceso de lavado.

4. Conclusiones

De acuerdo con el modelo obtenido a través del diseño factorial 2^k , las mejores condiciones de operación en la producción de FAME en presencia de un medio anhidro, son utilizando la mayor concentración de catalizador 14% y la menor temperatura 30°C, esto debido a que, aunque ambas variables son significativas, la concentración de enzima es la que presenta mayor efecto en la variable de respuesta. Sin embargo, aunque no fue posible incrementar el rendimiento de la reacción 97.33% con la generación de este medio, la incorporación de tamices moleculares resultó ser un método efectivo para disminuir la acidez del producto debido a que se evitaron reacciones de hidrólisis causadas por el agua en la reacción, lo cual evitó la producción ácidos grasos libres, obteniéndose FAME principalmente por transesterificación y de características aceptables de acidez. El uso de las reglas de mezclado para la predicción de las propiedades fisicoquímicas del FAME permitió obtener valores cercanos a los reportados experimentalmente, cumpliendo con la normativa para el uso de biocombustibles, además, este tipo de modelos matemáticos son capaces de sustituir a los métodos propuestos por las normas, facilitando así el cálculo de sus propiedades.

Debido a su mediana polaridad, el uso del tert-butanol como agente de lavado para recuperar y reutilizar las enzimas es efectivo en procesos de obtención de biocombustibles, ya que ésta le confiere propiedades de carácter hidrofóbico e hidrofílico.

Agradecimientos

Reconocemos el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través del proyecto 232163 y a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Conflicto de interés

No existe conflicto de interés por de los autores.

5. Referencias

- Aca, M., Campos, E., & Sánchez, O. (2009). Estimación de propiedades termodinámicas de los compuestos involucrados en la producción de biodiesel. *Superficies y Vacío* 22, 15-19p. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=94216153004>
- Acevedo, G., & Guardo, A. (2012). Predicción de las emisiones generadas en la combustión del biodiesel a partir de la microalga *Chlorella* nativa (Tesis de licenciatura). Universidad de Cartagena, Colombia. <https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11227/104>
- American Society for Testing and Materials, ASTM (2008): Annual Book of ASTM Standards: Section 5 - Petroleum Products, Lubricants, and Fossil Fuels. ASTM International, West Conshohocken.
- Araújo, J. (1995). *Oxidação de Lipídios*. Imprensa Universitária.
- Azócar, L. (2010). Proceso enzimático para la producción de metil ésteres de ácidos grasos utilizando aceites residuales de fritura en mezcla con aceite de raps como materia prima (Tesis doctoral). Universidad de la Frontera, Chile. <http://hdl.handle.net/10533/180147>
- Baeza-Jiménez R., López-Martínez L.X., and García H.S. (2014). Biocatalytic modification of food lipids: reactions and applications. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 13, no.1, 29-47. <http://rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/1294>
- Blangino, A., & Romano, S. (2004). Modelado y correlaciones en biodiesel. *Anales AFA* 16. <https://bit.ly/3LhzFbv>
- Chen, H., Ju, H., Wu, T., Liu, Y., Lee, C., Chang, C., Shieh, C. (2011). Continuous Production of Lipase-Catalyzed Biodiesel in a Packed-Bed Reactor: Optimization and Enzyme Reuse Study. *Biomedicine and Biotechnology J.*, 6p. <https://doi.org/10.1155/2011/950725>
- Chieh, Y. (2011). Selection of prediction methods for thermophysical properties for process modeling and product design of biodiesel manufacturing. Instituto Politecnico de Virginia, USA. <https://doi.org/10.1021/ie102441u>
- Du, W., Li, W., Sun, T., Chen, X., & Liu, D. (2008). Perspectives for biotechnological production of biodiesel and impacts. *Appl Microbiol Biotechnol*, p. 331-337. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1448-8>
- Fukuda, H., Tamalampudi, S., Talukder, M., Hama, S., Numata, T., & Kondo, A. (2008). Enzymatic production of biodiesel from *Jatropha* oil: A comparative study of immobilized-whole cell and

- commercial lipases as a biocatalyst. *Biochem Eng J* 39:185-189., 185-189p. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.09.002>
- González, M. (2013). Producción de biodiesel mediante el uso de lipasas y algas. Monografía, Facultad de Ingeniería y Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, México. <https://bit.ly/3NmFFkI>
- Lee, M., Lee, J., Lee, D., Cho, J., Kim, S., & Park, C. (2011). Improvement of enzymatic biodiesel production by controlled substrate feeding using silica gel in solvent free system. *Enzyme and Microbial Technology*, 402-406p. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.06.020>
- Metha, P., Anand, K., & Sharma, R. (2011). A comprehensive approach for estimating thermo-physical properties of biodiesel fuels. *Applied Thermal Engineering* 31, 235-242p. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.applthermaleng.2010.09.003>
- Pancreac Química (s.f). Metodos oficiales de analisis aceites y grasas. Pancreac Química. <https://www.usc.gal/caa/MetAnalisisStgo1/aceites.pdf>
- Reid, R., & P, J. (1977). The properties of gases and liquids. New York: McGraw Hill. <https://bit.ly/3sGslu4>
- Rivera, A. (2013). Cálculo de las propiedades fisicoquímicas del biodiesel y sus mezclas con diesel a partir de reglas de mezclado (Tesis de Licenciatura). Universidad de Cartagena, Colombia. <https://repositorio.unicartagena.edu.co/handle/11227/62>
- Rochaya, D. (2007). Numerical simulation of spray combustion using Bio-mass derived liquid fuels (Tesis Doctoral). Cranfield University, Reino Unido. <http://hdl.handle.net/1826/2231>
- Samukawa, T., Kaieda, M., Matsumoto, T., Ban, K., Kondo, A., Shimada, Y., Fukuda, H. (2000). Pretreatment of immobilized *Candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil. *J Biosci Bioeng* 90, 180-183p. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80107-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80107-3)
- Salazar-Leyva J.A., Lizardi-Mendoza J., Ramírez-Suarez J.C., García-Sánchez G., Ezquerra-Brauer J.M., Valenzuela-Soto E.M., Carvallo-Ruiz M.G., Lugo-Sánchez M.E. y Pacheco-Aguilar R. (2014) Utilization of chitin and chitosan based materials for protease immobilization: stabilization effects and applications. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 13, No. 1, 129-150 <https://bit.ly/3LshUGm>
- Saqib, M., Mumtaz, M., Mahmood, A., & Abdullah, M. (2012). Optimized Biodiesel Production and Environmental Assessment of Produced Biodiesel. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 17, 617-613p. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0569-6>
- Sarin, A. (2009). Effect of blends of Palm-Jatropha-Pongamia biodiesels on cloud point and pour point. *Energy* 34, 2016-2021p. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2009.08.017>
- Shimada, Y., Wantanabe, Y., Sugihara, A., & Tominaga, Y. (2002). Enzymatic alcoholysis for biodiesel fue production and application of the reaction to oil processing. *J. Mol Catal B: Enzymatic*, 133-142p. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(02\)00020-6](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(02)00020-6)
- Zhmud, B. (2014). Viscosity blending equations. *Lube.Tech*, 92, 1-4p. <https://es.scribd.com/document/258705309/Lube-viscosity-2014>

2021 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>