



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Tesis para obtener el grado académico de Doctor en Ingeniería Química

“Aprovechamiento de residuos del desgomado de aceites: procesos de hidrólisis y generación de productos con valor agregado”

Por Ing. Maira Alejandra Maquirriain

Instituto de Investigación en Catálisis y Petroquímica -NCAPE—
Dependiente de la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y del
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Dirección de la Tesis: Dra. Ma. Laura Pisarello

Co-Dirección: Dr. Carlos A. Querini

A...

...mis directores, **Laura y Carlos**, por la confianza depositada, por guiarme, enseñarme y acompañarme en todo este camino. Mi más profunda admiración y gratitud.

...a mis **papas** por haberse preocupado siempre de nuestra educación y por el esfuerzo enorme realizado para que estudiemos desde muy temprana edad afuera del pueblo. Por el cariño y amor que siempre me dieron. Por marcarme el camino a seguir basado en buenos valores y trabajo duro. Los quiero!

...a vos amor, **Mati**, por creer siempre en mí y más que yo, acompañarme, ayudarme, ser siempre mi incondicional y tu infinita paciencia todos estos años. Por impulsarme a crecer y ser mejor persona.

...a mis compañeros de trabajo, **Martin, Lucas, Gustavo, Sol, Barbi, Bruno, Claudia, Hernán y Luli**, por todo el tiempo compartido, la ayuda y enseñanzas brindada.

...mis **hermanos, sobrinos, suegros, cuñadas y amigos**, por estar a mi lado todo este tiempo preocupándose y acompañándome.

...a **ruffus** quien nunca se va a enterar.

... y especialmente a vos amiga de mi alma, **Cami**, porque sin vos no habría podido transitar este camino. Gracias por ser la GESTORA de todos mis primeros pasos en esta carrera. Gracias por la fe y el amor que siempre me brindaste, y compartir tu familia. Infinitamente agradecida. Te quiero!

ÍNDICE

RESUMEN	1
---------------	---

OBJETIVOS	3
-----------------	---

CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN

1.1. HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DE ACEITE	6
1.1.1. Operación de desgomado del aceite.....	6
1.1.2. Aprovechamiento de los fosfolípidos	9
1.2. ESTERIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS CON GLICERINA.....	16
1.3. REFERENCIAS.....	22

CAPÍTULO 2 – EXPERIMENTAL

2.1 INTRODUCCIÓN	26
2.2. HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE	26
2.2.1. Materias primas y reactivos usados	26
2.2.2. Reacción de hidrólisis.....	28
2.2.3. Análisis de las materias primas y productos.....	30
2.2.3.1. Caracterización de las materias primas	30
2.2.3.2. Caracterización de los productos de la hidrólisis de los fosfolípidos	31
2.3. ESTERIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CON GLICERINA	34
2.3.1. Reactivos	34
2.3.2. Reacción de esterificación homogénea	35
2.3.3. Reacción de esterificación heterogénea	36
2.3.4. Caracterización de la fase oleosa y el catalizador sólido	37
2.4. PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS A PARTIR DE METIL ÉSTERES	37

2.5. REFERENCIAS.....	39
-----------------------	----

CAPÍTULO 3 – FLUIDODINÁMICA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

3.1 INTRODUCCIÓN	41
3.2. EXPERIMENTAL.....	44
3.2.1. Materias primas y solventes.....	44
3.2.2. Caracterización de las materias primas.....	45
3.2.3. Análisis de fluidización	45
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	46
3.3.1. Experiencias preliminares.....	46
3.3.2. Estudio del uso de solventes para la fluidización del residuo del desgomado del aceite	48
3.4. CONCLUSIONES	55
3.5. REFERENCIAS.....	57

CAPÍTULO 4 – HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

4.1 INTRODUCCIÓN	59
4.2. EXPERIMENTAL.....	62
4.2.1. Reacción de hidrólisis enzimática.....	62
4.2.2. Caracterización de las materias primas	63
4.2.3. Toma de muestra y análisis	64
4.2.4. Evaluación de la actividad enzimática	64
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	67
4.3.1. Experiencias preliminares	67
4.3.2. Efecto del solvente en la actividad enzimática	71

4.3.3. Estudio de la agitación	74
4.3.4. Efecto de la temperatura de reacción	75
4.3.5. Efecto de la concentración enzimática	77
4.3.6. Hidrólisis de lecitina	82
4.3.7. Efecto de la actividad enzimática	85
4.4. CONCLUSIONES	88
4.5. REFERENCIAS	90

CAPÍTULO 5 – HIDRÓLISIS ALCALINA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

5.1 INTRODUCCIÓN	93
5.2. EXPERIMENTAL	95
5.2.1. Reacción de hidrólisis enzimática	95
5.2.2. Caracterización de la materia prima	96
5.2.3. Toma de muestra y análisis	97
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	98
5.3.1. Experiencias preliminares	98
5.3.2. Efecto del solvente y su concentración	101
5.3.3. Efecto del álcali y su concentración	110
5.3.4. Efecto de la concentración del agua	115
5.3.5. Uso de glicerina Técnica	119
5.3.6. Estudio de la fase acuosa	122
5.3.7. Mecanismo de reacción propuesto	124
5.4. CONCLUSIONES	127
5.5. REFERENCIAS	129

CAPÍTULO 6 – ESTERIFICACIÓN DE GLICERINA CON ÁCIDOS GRASOS: CATÁLISIS HOMOGÉNEA

6.1 INTRODUCCIÓN	131
6.2. EXPERIMENTAL.....	134
6.2.1. Reacción de esterificación.....	133
6.2.2. Toma de muestra y análisis	136
6.2.3. Reacciones secundarias: Alquilación del catalizador	136
6.2.4. Modelado cinético.....	137
6.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	137
6.3.1. Reacción de esterificación.....	138
6.3.1.1. Efecto del catalizador y la concentración	138
6.3.1.2. Efecto de la temperatura	146
6.3.1.3. Efecto de la relación molar	149
6.3.1.4. Efecto de la presencia de agua.....	152
6.3.1.5. Efecto de la eliminación del agua en los productos secundarios.....	156
6.3.1.6. Distribución del catalizador entre las fases	159
6.3.2. Reacción de esterificación aplicada a materias ácidas.....	160
6.3.3. Reacción de esterificación: Glicerina grado técnico	164
6.3.4. Reacciones secundarias.....	168
6.3.4.1. Reacción de alquilación del catalizador	168
6.3.4.2. Reacción de degradación de la materia oleosa con el catalizador ...	170
6.3.4.3. Impacto de las reacciones secundarias en las experiencias de reacción	171
6.3.5. Mecanismo de reacción.....	174
6.4. CONCLUSIONES	179
6.5. REFERENCIAS.....	181

CAPÍTULO 7 – ESTERIFICACIÓN DE GLICERINA CON ÁCIDOS GRASOS: CATÁLISIS HETEROGÉNEA

7.1 INTRODUCCIÓN	184
7.2. EXPERIMENTAL.....	186
7.2.1. Reacción de esterificación.....	186
7.2.2. Toma de muestra y análisis	187
7.2.3. Caracterización del catalizador	187
7.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	188
7.3.1. Reacción de esterificación.....	188
7.3.1.1. Efecto del catalizador y la temperatura de reacción	189
7.3.1.2. Efecto de la relación molar	195
7.3.1.3. Comparación entre las reacciones con catálisis homogénea y heterogénea	198
7.3.2. Caracterización del catalizador usado	200
7.4. CONCLUSIONES	201
7.5. REFERENCIAS.....	202
 CONCLUSIONES GENERALES	 204
 ANEXO 1.....	 208

RESUMEN

El complejo oleaginoso Argentino es uno de los más importantes del mundo, y uno de los motores de la economía del país. En la industria aceitera, se procesan las semillas oleaginosas, principalmente soja, separando el aceite de las harinas. Dentro de las etapas de purificación del aceite, ya sea para uso alimenticio o para su uso en la producción de biocombustibles, se realiza la operación de desgomado con el fin de eliminar la mayor cantidad posible de fosfolípidos del aceite. Esta operación genera un residuo que representa un 5% del aceite tratado, es decir, por cada tonelada se generan 50 kg de este residuo. Para dar una idea de la magnitud de la situación, el polo aceitero de Rosario cuenta con una capacidad de molienda de 126.000 toneladas diarias, lo que genera aproximadamente unas 1100 ton/día de residuos del desgomado. Una sola de las grandes plantas del complejo procesa 2000 toneladas diarias de aceite, generando 100 toneladas del residuo. La denominación de “gomas” a dicho residuo refiere a su apariencia, ya que está formado por una fuerte emulsión de fosfolípidos, agua y aceite. Tradicionalmente, los complejos industriales de procesamiento de soja reinyectaban el residuo generado en esta operación en las harinas. En la actualidad esta operación ya no es posible debido a que el poroto de soja, y por ende las harinas, han tenido una importante caída en el contenido proteico. Por lo tanto, las harinas ya no pueden diluirse y el residuo del desgomado constituye en algunos casos un problema debido a la falta de mercado, por lo que surge la oportunidad de desarrollar nuevas aplicaciones y fundamentalmente para dar valor a este subproducto, recuperando la fracción oleosa, tanto el aceite ocluido como la contenida en el fosfolípido.

En esta tesis se planteó desarrollar procesos para el aprovechamiento de la fracción lipídica presente en los fosfolípidos y el aceite ocluido en la emulsión del residuo del desgomado, transformándolos en productos de mayor valor, mejorando la eficiencia de los complejos aceiteros y aumentando la disponibilidad de materia prima para la producción de biodiesel. Para ello se estudió la hidrólisis de los fosfolípidos utilizando dos rutas: la enzimática y la alcalina. El mayor énfasis se puso en la alternativa química (medio alcalino).

En una segunda parte se estudió la reacción de esterificación de glicerol con ácidos grasos, utilizando catalizadores líquidos a fin de desarrollar procesos competitivos y aplicables industrialmente. Además se estudió el empleo de catalizadores ácidos sólidos activos para la esterificación con glicerol.

Es importante resaltar que el objetivo central fue lograr recuperar la fracción lipídica de los fosfolípidos y el aceite ocluido en la emulsión. El corte graso así obtenido tiene aplicaciones en diversos campos, siendo la producción de biodiesel que aquí se propone una de ellas.

OBJETIVOS

El **objetivo central** de esta tesis doctoral es desarrollar procesos para transformar los residuos del desgomado de aceites en productos de mayor valor.

En este marco, los **objetivos específicos** que se plantean son los siguientes:

- Desarrollar procesos para el aprovechamiento de la fracción lipídica presente en los fosfolípidos y el aceite ocluido en la emulsión del residuo del desgomado, transformándolos en productos de mayor valor, mejorando la eficiencia de los complejos aceiteros y aumentando la disponibilidad de materia prima para la producción de biodiesel.
- Estudiar la hidrólisis de los fosfolípidos utilizando dos rutas: la enzimática y la alcalina. El mayor énfasis se pondrá en la alternativa química (medio alcalino).
- Estudiar la reacción de esterificación de glicerol con ácidos grasos, utilizando catalizadores líquidos a fin de desarrollar procesos competitivos y aplicables industrialmente.
- Estudiar catalizadores ácidos sólidos activos para la esterificación con glicerol y resistentes al agua, regulando su acidez.

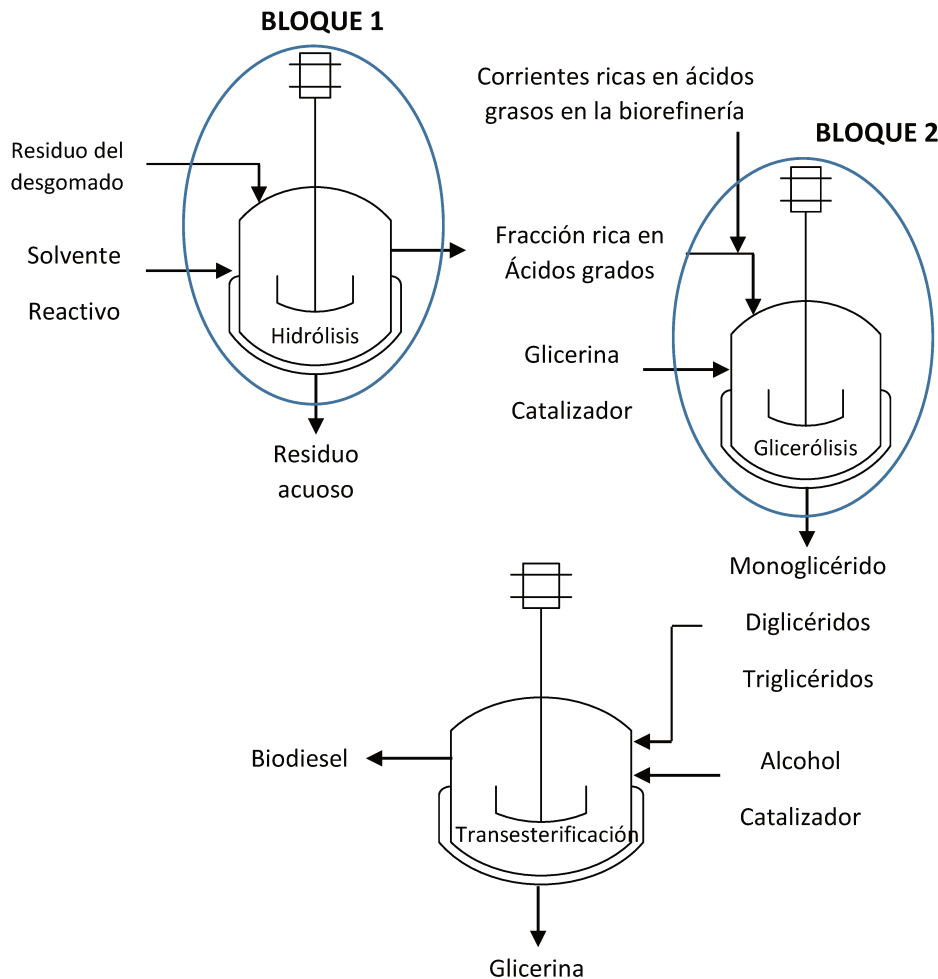


CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Esta tesis está compuesta por dos grandes bloques. El primero se centra en el aprovechamiento del residuo del desgomado del aceite, buscando recuperar no sólo la fracción lipídica ocluida en el mismo, sino también la que forma parte de los fosfolípidos. En la segunda parte, se estudiará el agregado de valor al producto rico en ácidos grasos que se obtiene en el bloque anterior, así como a otras corrientes presentes en las biorefinerías. El camino elegido para esta valorización es la reacción de esterificación con glicerina, también denominada glicerólisis. De este proceso se obtiene una mezcla de monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, que puede ser fácilmente incluida en la corriente de alimentación al reactor de producción de biodiesel.

El Esquema 1.1 muestra en forma resumida y gráfica la estructura de trabajo planteada en la tesis.



Esquema 1.1: Proceso a desarrollar en la tesis.

1.1. HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DE ACEITE

1.1.1. OPERACIÓN DE DESGOMADO DEL ACEITE

En la industria aceitera, se procesan las semillas oleaginosas, principalmente de soja, separando el aceite de las harinas. El aceite obtenido está compuesto por moléculas lipídicas, principalmente triglicéridos (también llamados triacilglicerolos) los cuales representan el 95% en peso. Entre los constituyentes minoritarios, el 5% restante, se encuentran monoglicéridos y diglicéridos, ácidos grasos libres, fosfátidos, esterolés, vitaminas liposolubles entre otros [1]. Estos compuestos minoritarios deben ser extraídos, tanto si el aceite es destinado para uso alimenticio como para la producción de biocombustibles, a fin de mejorar las calidades organolépticas, nutricionales y la estabilidad.

El conjunto de operaciones de purificación del aceite recibe el nombre de refinamiento, y abarca las etapas de desgomado, neutralización, blanqueo, winterizado, y desodorización. Dentro de estas, destacaremos la operación de desgomado, la cual tiene el fin de extraer la mayor parte de los fosfolípidos del aceite.

La eliminación de los fosfolípidos durante el proceso de refinación resulta esencial por varios motivos, entre los que se destacan los siguientes:

- Los fosfolípidos son compuestos altamente emulsionantes, lo que supone un aumento en las pérdidas por refinación.
- Normalmente están asociados a metales prooxidantes, principalmente hierro, que disminuya la estabilidad del producto y le confiere turbidez por aparición de precipitados. Si los fosfátidos permanecen durante la desodorización, el aceite adoptará un color más oscuro y tendrá malas características organolépticas y de estabilidad.
- Causan decantación en los tanques de almacenamiento.
- Forman espumas durante el calentamiento.

En la Figura 1.1. se muestra el proceso de desgomado, el cual se lleva a cabo en dos etapas, una primera utilizando sólo agua y una segunda con agua y ácido. Esto se debe a que hay dos tipos de fosfolípidos: los hidratables, que se eliminan en una primera

etapa, y los no hidratables, que son eliminados en la segunda etapa. El residuo obtenido de la primera etapa comúnmente se denomina “gomas” y el de la segunda “borras”.

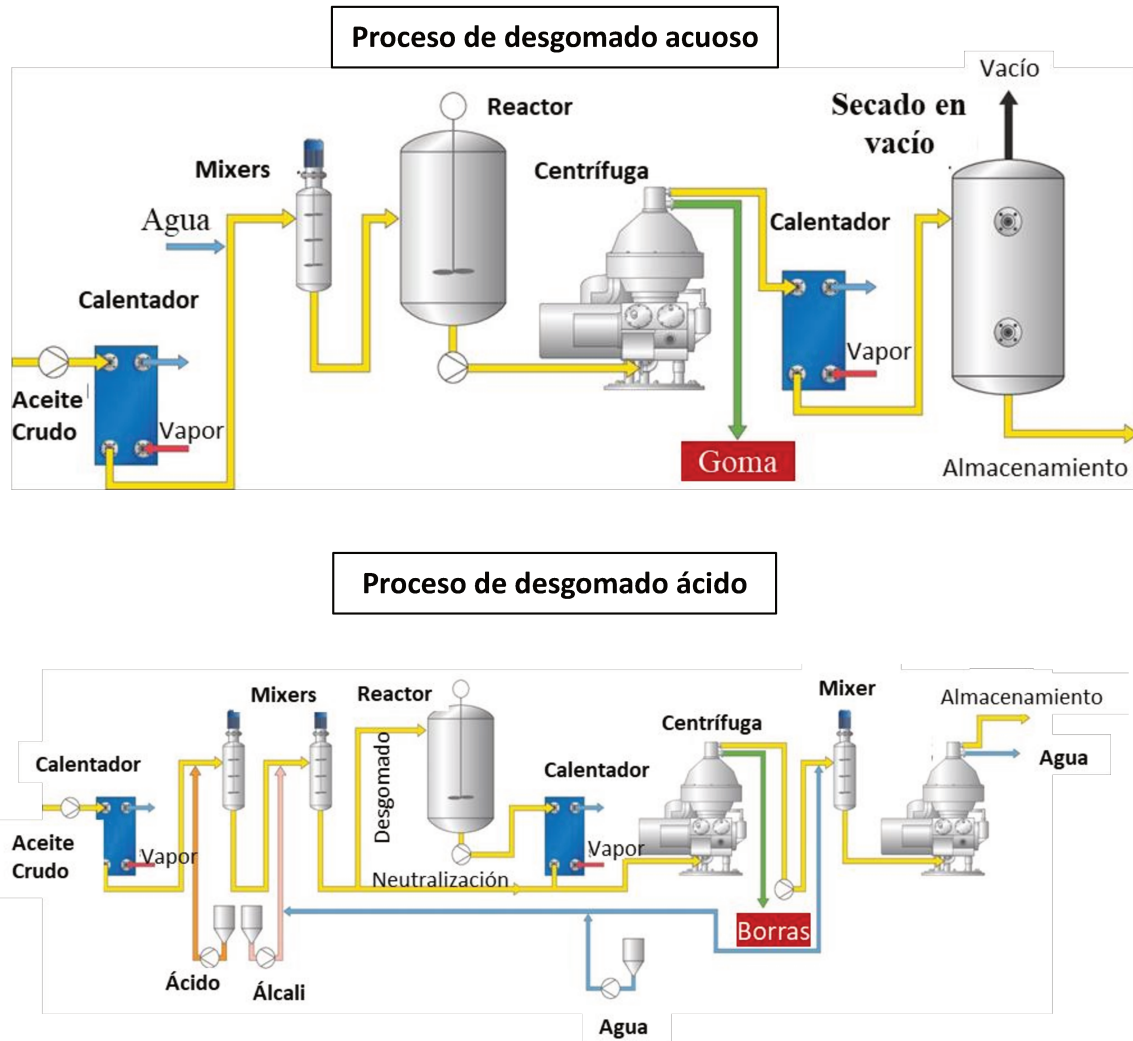


Figura 1.1: Proceso de desgomado

La primera etapa de desgomado consiste en poner en íntimo contacto el aceite crudo precalentado a 60-70°C con un 2% de agua caliente. Los fosfolípidos que se denominan hidratables, forman una emulsión con el agua y el aceite, que es fácilmente extraída mediante una centrifuga. En esa etapa se logra bajar el contenido de fósforo a un rango de 200 a 50 ppm dependiendo de la tecnología empleada [2].

En la segunda etapa se busca remover los fosfolípidos no hidratables, los cuales se encuentran complejados con cationes de Na y Ca. Para su eliminación es necesario la adición de un ácido que pueda neutralizarlos y llevarlos a su forma hidratable. El ácido que comúnmente se emplea es el ácido fosfórico. Para completar la remoción se le

adiciona una cantidad controlada de agua (2% en peso) que emulsiona al fosfolípido facilitando la precipitación de los mismos al hacerse insolubles en la fase oleosa. La cantidad de ácido esta estandarizada y es del 0,1% del peso del aceite tratado. Con este paso se logra reducir la cantidad de fosforo a 8-10 ppm [3].

La composición de ambas corrientes dependerá fuertemente del proceso de producción, pero a continuación se detallarán composiciones promedios de muestras analizadas en nuestro laboratorio. Las gomas contienen aproximadamente 40% agua, 38% de fosfolípidos, 20 % de aceite y otras impurezas, lo que está en concordancia con lo encontrado en bibliografía [4-6], y se encuentran formando una emulsión muy consistente [7]. En cuanto a las “borras” suelen tener una consistencia más fluida que las anteriores, por su menor contenido de fosfolípidos y su mayor contenido de agua (aproximadamente 50% de agua, 20% de aceite, 25% de fosfolípidos, 5% de jabones, y sales del ácido empleado en dicha etapa).

El residuo del desgomado ya no puede utilizarse en gran volumen para ser reinyectado en las harinas de soja, debido al menor contenido proteico de éstas, y que por lo tanto no admiten una dilución. Las gomas son principalmente usadas para la producción de lecitina, que se obtiene luego de una etapa de secado, resultando un producto con una composición aproximada es 60-65% de fosfolípidos totales, 30-35% de aceite, y 3% de impurezas. Este producto es empleado como emulsionante en la industria alimenticia, farmacéutica, cosmética, plásticos, pinturas, recubrimientos, pesticidas, petróleo, etc. No obstante, ha perdido valor debido a su sobreoferta, teniendo en la actualidad un precio aproximado de 200 U\$S/ton. Existe entonces un gran interés de la industria aceitera en desarrollar aplicaciones de este subproducto.

Un uso alternativo para el residuo del desgomado es recuperar la fracción lipídica del mismo. La metodología empleada hasta el momento para recuperar los ácidos grasos presentes en las borras y gomas es por hidrólisis en presencia de un ácido fuerte, como el sulfúrico. Sin embargo, el tratamiento con ácido sulfúrico es muy agresivo, y produce deterioro de los sólidos remanentes que luego no tienen aplicación, además de problemas de corrosión y emisión de olores debido a la producción de aldehídos, aminas y otros derivados. Esto constituye un serio problema ambiental, además de generar residuos complicados de disponer.

Es por ello que en esta tesis doctoral se propone desarrollar procesos para el aprovechamiento de la fracción lipídica presente en los fosfolípidos y el aceite ocluido en la emulsión del residuo del desgomado, transformándolos en productos de mayor valor.

1.1.2. Aprovechamiento de los fosfolípidos

Los fosfolípidos encontrados como componentes mayoritarios del residuo del desgomado son del tipo de los derivados del glicerol, cuyos grupos alcoholícos están esterificados por dos cadenas de ácidos grasos, y una tercera unión establecida por un grupo funcional con fósforo (éster orto-fosfórico), al cual se unen (formando un fosfodiéster) bases nitrogenadas y otros grupos derivados de alcoholes. En la Figura 1.2 se muestra la estructura de los distintos fosfolípidos presentes en la soja.

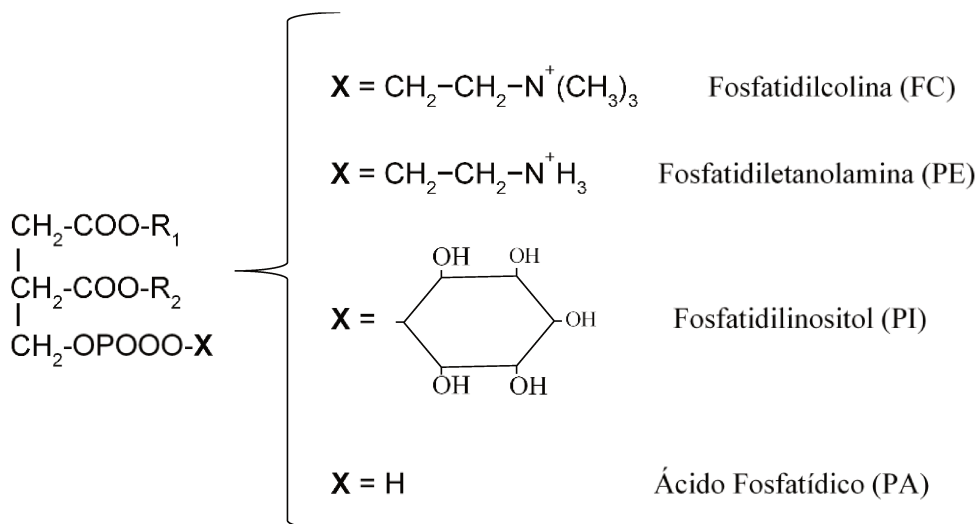


Figura 1.2 Estructura química de los principales fosfolípidos presentes en la soja.

En menor medida también podemos encontrar las formas degradadas de los fosfolípidos, denominadas liso-fosfolípidos [8]. En la Tabla 1.1 se muestra la composición promedio en la que se encuentran los mismos en los aceites de soja [9]. También se incluye el rango de concentraciones en el que se encuentran típicamente los fosfolípidos en aceite de soja, que está entre 1 y 2,9 % en peso.

El PI y la PC son normalmente designados como fosfolípidos “hidratables” debido a que poseen gran polaridad en el grupo fosfodiéster, y por lo tanto gran afinidad por el agua. Por otro lado, el PA y la PE son definidos como fosfolípidos “no hidratables”. La diferencia estriba en que la primer categoría se elimina del aceite por

medio de un proceso de desgomado acuoso, mientras que la segunda no. Los fosfolípidos “no hidratables” requieren de una etapa de desgomado ácido para poder extraerlos del aceite.

Tabla 1.1: Distribución porcentual de los fosfolípidos en los aceites de soja.

Fosfolípido	Porcentaje (%)
PC – fosfatidilcolina	47
PI – fosfatidilinositol	24
PE - fosfatidiletanolamina	20
PA – ácido fosfatídico	9
Contenido total de fosfolípidos en el aceite	1,0 – 2,9

Para recuperar los ácidos grasos presentes en las gomas (residuo del desgomado acuoso del aceite) hasta el momento se utiliza un proceso que emplea ácido sulfúrico. Dicho proceso presenta problemas de seguridad y medioambientales como se detalló anteriormente. Es por ello que se estudian otras opciones para hidrolizar los fosfolípidos presentes en las gomas.

Existen enzimas que actúan sobre los fosfolípidos (de nombre trivial fosfolipasas – PL), produciendo la ruptura de distintos enlaces y por lo tanto conduciendo a diferentes productos. En función del sitio de hidrólisis, las fosfolipasas se clasifican en A1, A2, C o D. En la Figura 2 se indican los enlaces que atacan estas enzimas.

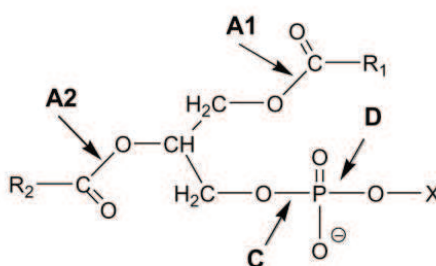


Figura 1.3. Sitio de corte de las diferentes fosfolipasa.

Una enzima que escinde un fosfolípido en la posición sn-1 se llama fosfolipasa A1 (PLA1), y la que lo escinde en la posición sn-2 se denomina fosfolipasa A2 (PLA2), mientras que la fosfolipasa B (PLB) lo hace en ambas posiciones sn-1 y sn-2. La

fosfolipasa C (PLC) hidroliza el enlace fosfodiéster en el esqueleto del glicerol dando lugar a un diacilglicerol (DG). En cambio, si la enzima hidroliza el lado del fosfodiéster para que el grupo fosfato permanezca en el esqueleto de glicerol, recibe el nombre de fosfolipasa D (PLD) [10].

En los últimos años se han reportado varios estudios en los que emplean distintas enzimas en el proceso de desgomado de aceites, en busca del reemplazo total o parcial del desgomado acuoso convencionalmente empleado para diferentes tipos de aceites: girasol [11], colza [12], camelina [13] y soja [14].

Lamas et al. [11] evaluaron diferentes procesos de desgomado en aceite de girasol crudo, comparando procesos enzimáticos con el tradicional realizado con agua. En dichos estudios se emplearon fosfolipasa A1 y fosfolipasa A2, y también se evaluaron las propiedades fisicoquímicas del aceite, además de los fosfolípidos eliminados, y se cuantificaron otros parámetros como índice de acidez, índice de peróxidos, hierro, humedad, material insaponificable, viscosidad, densidad y color. El contenido de fósforo del aceite luego del tratamiento enzimático disminuyó de 544,51 mg/kg a 3,02 mg/kg y 5,81 mg/kg usando la fosfolipasa A1 y A2 respectivamente, después de 180 minutos de reacción. Poder reducir el contenido de fósforo por debajo de 10 mg/kg en el aceite desgomado es un requisito necesario para el ingreso al refinado físico [15]. Ese nivel es alcanzado en el tratamiento del aceite con PLA1 a los 60 minutos, mientras que al emplear PLA2 se necesitó más de 120 minutos para alcanzar un contenido de fósforo menor a 10 mg/kg. El contenido residual de fósforo después de 180 minutos de tratamiento de desgomado con agua fue de 63,21 mg/kg. Este resultado es debido a que los fosfolípidos no hidratables permanecen como tal después del tratamiento con agua, siendo necesaria una segunda etapa de desgomado empleando agua acidulada, de manera de modificar a los fosfolípidos no hidratables y así conseguir su eliminación del aceite [16]. Con respecto a los resultados de desgomado enzimático de aceites, la enzima PLA1 parece ser más efectiva que la PLA2. Esto puede ser debido a que en los ésteres parciales del glicerol, los ácidos grasos tienen una preferencia por las posiciones 1,3, razón por la cual los 1,2-diglicéridos se isomerizan fácilmente a los 1,3-diglicéridos [17]. Por lo tanto, se puede suponer que los α -lisofosfolípidos que resultan de la hidrólisis catalizada por la fosfolipasa A1 también se isomerizan para formar β -lisofosfolípidos que luego pueden hidrolizarse aún más para formar ésteres de

glicerofosfato. En la Figura 1.4 se muestra la estructura de estos fosfolípidos. Esto explica la mayor actividad de la PLA1 frente a la PLA2.

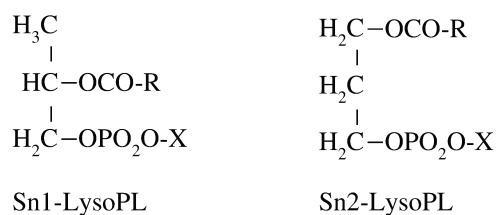


Figura 1.4. Estructura de un α -lisofosfolípidos y un β -lisofosfolípidos.

La desventaja que presenta realizar el desgomado de aceites con este tipo de enzimas (PLA1, PLA2 o PLB) es que como producto de la hidrólisis de los fosfolípidos se generan ácidos grasos libres y esto puede afectar la calidad del aceite. En el caso del estudio reportado por Lamas et al. [11], donde el contenido de fósforo del aceite tratado por el desgomado enzimático con PLA1 se reduce en aproximadamente 540 ppm P, la acidez del mismo aumenta en el orden del 0,9% (gr. ácidos grasos libres / 100 g aceite). El valor máximo de acidez del aceite ya sea para alimentación o para ser utilizado en procesos continuos convencionales de producción de biodiesel no debe superar el 0,1%. Por lo que, según el uso que se le dé al aceite tratado enzimáticamente, puede ser necesario requerir de procesos adicionales para eliminar la acidez del mismo.

Zhan et al. [12] estudiaron el desgomado de aceite de colza empleando fosfolipasa C (PLC) y el proceso convencional con agua, respectivamente. El contenido mínimo de fósforo obtenido en el aceite desgomado con PLC fue 7,3 mg/kg, mientras que el del desgomado con agua fue 61,5 mg/kg, para un aceite con 690 ppm de P de partida. En ambos procesos de desgomado se agrega un 3% de agua, de esta manera se logra reducir significativamente el contenido de fosfolípidos “hidratables” en el aceite. Cuando se emplean enzimas además se realiza un agregado de ácido de manera de adecuar el pH para el óptimo funcionamiento de la enzima. El efecto conjunto del ácido y la PLC logra lisar una fracción de los fosfolípidos “no hidratables” y de esa manera se mejora el rendimiento del proceso en comparación con el desgomado acuoso. Por otro lado, los resultados del análisis de diacilgliceroles y triglicéridos mostraron que el desgomado con PLC fue superior al desgomado con agua en lo que concierne al aumento de la rentabilidad del aceite y la disminución de la pérdida de aceite durante el proceso de desgomado. Según el análisis de composición de los fosfolípidos de las gomas del aceite desgomado, se podría concluir que la enzima PLC fue efectiva para

extraer la fosfatidilcolina (mayormente “hidratable”) y la fosfatidiletanolamina (prácticamente “no hidratable”), mientras que no mostró ninguna actividad para el fosfatidilinositol (PI) y el ácido fosfatídico (PA).

También se ha reportado un estudio de desgomado de aceite de camelina a escala piloto con un contenido inicial de fósforo de 575 ppm [13]. Luego de una etapa de desgomado acuoso con agregado de ácido cítrico se reduce el contenido de fósforo a 28,8 ppm. Si a dicho proceso se agrega una etapa de desgomado enzimático empleando PLC, en las mejores condiciones se logra reducir el fósforo del aceite a 15,14 ppm. Los autores también proponen agregar una etapa complementaria de desgomado con PLA, y en dicho caso se logra alcanzar un contenido mínimo de 6,84 ppm P. Este proceso acoplado de varias etapas permitiría alcanzar los valores de fósforo requeridos para el refinado físico del aceite, sin embargo, también se observó una disminución en la estabilidad a la oxidación del aceite que deberá ser tomada en cuenta para su aplicación.

Por otro lado, Xiaofei Jiang et al. [18] estudiaron la actividad de la PLC para aumentar la recuperación del aceite de las gomas obtenidas del desgomado acuoso del aceite de soja, previa eliminación del agua en el sistema. Los autores realizan estudios comparativos del proceso enzimático en sistemas de agitación mecánica (MS) y agitación mecánica asistida por ultrasonidos (UAMS) de manera de incrementar el área interfacial acuosa-oleosa donde actúa la fosfolipasa, evaluando la influencia de la potencia ultrasónica, relación goma/agua, temperatura de reacción, dosificación de enzima y tiempo de reacción. Comparado con el sistema MS, se requirió menos tiempo, dosificación de agua y enzima en el sistema UAMS para el proceso de recuperación de aceite, y se incrementó la estabilidad térmica de la PLC bajo tratamiento con ultrasonido. El análisis de la calidad del aceite recuperado mostró que los índices que incluyen el contenido de fósforo, el contenido de ácidos grasos libres, el índice de peróxido, la composición de los ácidos grasos, el color, el olor y el sabor podrían cumplir los requisitos del aceite de soja crudo. Estos resultados indican que el uso de PLC para recuperar aceite es factible y efectivo, obteniéndose buenos resultados.

Es importante tener en cuenta que los aceites presentan una mezcla de varios fosfolípidos, en proporciones que difieren para cada tipo de aceite, y a su vez que dicha distribución se ve afectada por las condiciones de siembra, cultivo, cosecha y almacenamiento (calidad del suelo, clima, humedad, etc). En los últimos años se ha incrementado el contenido de “fosfolípidos no hidratables” lo cual complicó

notablemente a los procesos industriales existentes. Dada la alta especificidad de las enzimas en su actividad catalítica, debe tenerse en cuenta la variabilidad de la composición de la materia prima para diseñar un proceso industrial.

El empleo de las enzimas PLA ha sido también estudiado para la hidrólisis parcial del aceite. Este es un proceso alternativo para la producción de DG, que se consideran aceites funcionales y un sustituto parcial de los triacilglicéridos (TG) en la dieta alimenticia [19-22]. Yong Wang et al. [19] estudiaron el empleo de una fosfolipasa A1 (Lecitase Ultra) en un sistema libre de solventes para producir aceite de soja enriquecido con diacilgliceroles. En este estudio, se analizaron cinco parámetros de reacción: velocidad de agitación, tiempo de reacción, contenido de agua, carga enzimática y temperatura de reacción. La reacción se llevó a cabo con a 1 kg de aceite de soja a 40 °C de temperatura de reacción, con 300 rpm de velocidad de agitación, 40 % en peso de contenido de agua, 6 h de tiempo de reacción y 22 U/g de carga enzimática. El aceite enriquecido en DAG obtenido por destilación molecular presentó un rendimiento del 70%, con un 42,64 % en peso de DAG. El ácido graso liberado de la hidrólisis parcial del aceite de soja catalizado por la fosfolipasa A1 mostró un mayor contenido de ácidos grasos saturados que el de la materia prima. En comparación con el proceso catalizado por la lipasa, este nuevo catalizado por fosfolipasa A1 mostró la ventaja de una menor producción de subproductos, como es el caso de los monoacilgliceroles.

También se ha reportado el empleo de procesos enzimáticos para la producción de biodiesel. Si bien los procesos enzimáticos no resultan competitivos respecto a los procesos tradicionales de producción debido al elevado costo de las enzimas y la eficiencia de conversión de los mismos, algunos autores plantean el uso de materias primas de bajo costo que no pueden ser empleadas en los procesos tradicionales, para ser transformadas con procesos enzimáticos a biodiesel [23-25]. En relación a esto, Yang Li et al. [23] proponen el empleo en forma conjunta de una PLA1 y una lipasa para la producción de biodiesel a partir de aceites con altos contenidos de fosfolípidos. Se reporta la obtención de altos rendimientos de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME), es decir biodiesel, del 94,9 %, incluso con el empleo de materias primas que contienen hasta un 10 % de fosfolípidos. En un estudio posterior se demostró que el producto biodiesel obtenido podría satisfacer el nivel de fósforo de la norma EN14214, concluyendo que la combinación de la acción catalítica de las enzimas fosfolipasa y

lipasa es muy prometedora para la producción de biodiesel, especialmente con aceites que contienen altos niveles de fosfolípidos como materia prima. Otros autores plantean el empleo conjunto de hidrólisis enzimática y esterificación enzimática para aceites de baja calidad con altos contenidos de ácidos grasos libres [24].

Respecto del empleo de catálisis básica para la transformación de los fosfolípidos se encontró una única investigación que lo aborda. En ella, Rajesh Kumar Balasubramanian et al. [26] estudia la transesterificación de fosfatidilcolina (PC) a través de catálisis homogénea y heterogénea para la producción de FAME. El metóxido de calcio y el óxido de calcio se utilizaron como catalizadores heterogéneos, y el KOH como un catalizador homogéneo, pudiéndose obtener una velocidad de reacción inicial mayor para KOH que para metóxido de calcio y óxido de calcio. En estudios posteriores se mezcló PC con aceite de soja en diferentes proporciones, que luego se usaron como materia prima para la transesterificación utilizando metóxido de calcio. Del estudio se pudo concluir que la transesterificación catalizada con KOH, metóxido de calcio y óxido de calcio de la materia prima de soja enriquecida con PC dio como resultado un rendimiento a FAME superior al 90%. Sin embargo, el contenido de P en el producto de biodiesel resultó superior al establecido por la norma ASTM 6751.

Esta revisión bibliográfica muestra que no se han reportado estudios con catálisis enzimática que utilicen el residuo del desgomado del aceite como tal. Los trabajos de Xiaofei Jiang et al. [18] y Pencic et al. [22] abordan el empleo de “lecitina”, que es el residuo del desgomado de aceites luego de ser sometido a una etapa de secado en el cual prácticamente se elimina el agua. Considerando que dicho residuo suele contener entre un 40 % y 50 % de agua, el secado es una etapa que consume una cantidad significativa de energía. En la presente tesis se propone utilizar el residuo del desgomado directamente sin secar. Por otro lado, hay numerosos trabajos que emplean catálisis enzimática para el desgomado de aceites, incorporando modificaciones a los procesos tradicionales existentes [11-13], y otros autores emplean la fosfatidilcolina como compuesto modelo para el estudio [26].

- *En la presente tesis se aborda el estudio de la hidrólisis del residuo del desgomado de aceite de soja por vía enzimática empleando una mezcla comercial de enzimas que contiene PLC y PLA2 marca Purifine®. En bibliografía no se encontraron trabajos que hayan evaluado la acción simultánea de estas enzimas, en ninguna matriz fosforada.*

En lo referente a estudios con catálisis alcalina para la hidrólisis de las gomas, sólo se encontró un único trabajo que aborda el estudio de la fosfatidilcolina como compuesto modelo, con catálisis básica homogénea (KOH) y heterogénea para producir FAME por transesterificación [26]. En dicho estudio no se alcanzan conversiones elevadas y los productos de reacción generados aún cuentan con cantidades significativas de fosfolípidos sin convertir.

- *Por lo tanto, en esta línea de investigación de hidrólisis alcalina de fosfolípidos existen gran cantidad de alternativas a estudiar, y presenta una oportunidad para desarrollar un proceso para el aprovechamiento de los residuos del desgomado de aceites.*

1.2. ESTERIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS CON GLICERINA

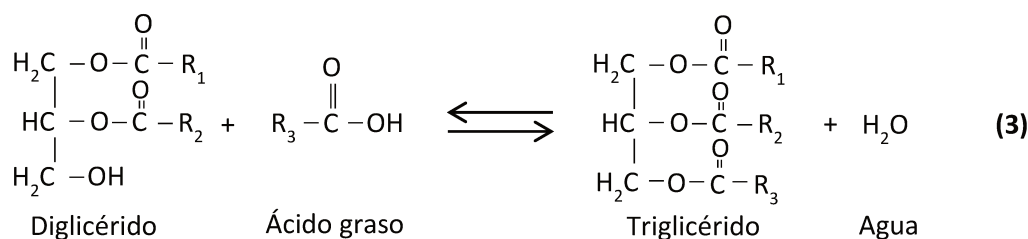
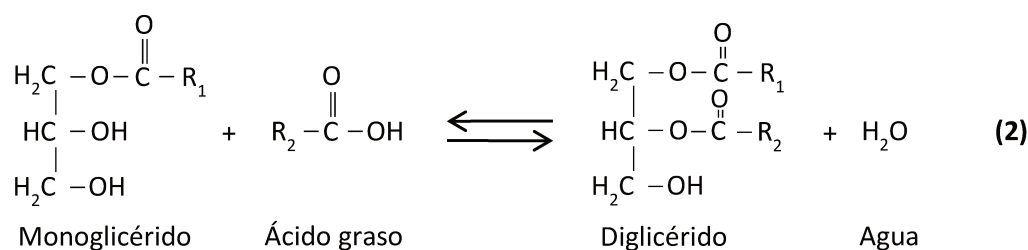
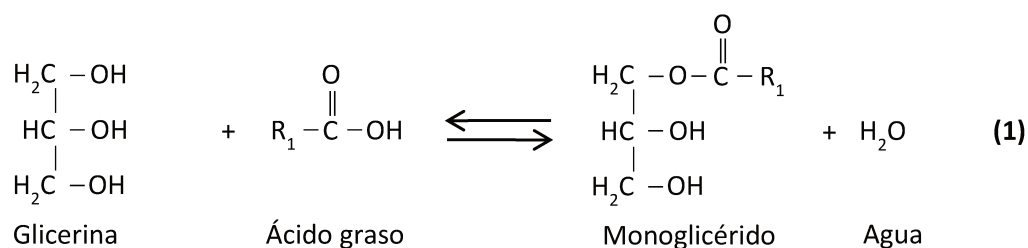
En el segundo bloque de esta tesis se estudiará la reacción de esterificación de los ácidos grasos con la glicerina. Por un lado, se busca incrementar el valor agregado a la corriente obtenida de la recuperación de la fracción lipídica del residuo del desgomado del aceite. Por otro lado, dentro de una biorefinería podemos encontrar 3 corrientes (aceites ácidos, oleínas y biodiesel ácido) que contienen ácidos grasos libres, en donde se podría utilizar esta reacción y convertir los ácidos grasos en ésteres. Esto implicaría una mejora significativa en los rendimientos globales, además de reutilizar un subproducto como es la glicerina.

Para el proceso convencional de producción de biodiesel con catálisis alcalina, se utilizan aceites vegetales o grasas animales de baja acidez, típicamente por debajo de 1 % (g ácido oleico/100 g aceite), llegando a 0,1 % en plantas de gran capacidad. El pretratamiento del aceite incluye, por tanto, etapas de neutralización para reducir la acidez de la materia prima al valor deseado. Existe una gran variedad de materias primas potenciales para elaborar biodiesel que tienen un nivel de acidez entre 3 % y 10 %, para las cuales la neutralización clásica produce una pérdida de rendimiento muy alta.

Además, en el proceso de producción de biodiesel se genera como subproducto una cantidad importante de glicerina. Esta corriente es procesada en la misma planta

llevándola a la calidad de glicerina grado técnico, denominada normalmente glicerina cruda. Durante su purificación se separa una fracción oleosa denominada oleínas, con una concentración de ácidos grasos en el rango 50 % - 80 % aproximadamente.

Por último, el biodiesel luego de la separación de la fase glicerina, arrastra una cierta cantidad de jabones, que son neutralizados formando ácidos grasos y confiriéndole al biodiesel una acidez que puede llegar a estar fuera de especificación, dependiendo de la materia prima de partida, del catalizador (metóxido de sodio, hidróxido de sodio, o de potasio), y del alcohol (metanol o etanol) usados en el proceso.



Ecuación 1. (1) Reacción de esterificación de los Ácidos grasos con Glicerina para dar Monoglicéridos y agua. (2) Reacción de esterificación de los Monoglicéridos con Glicerina para dar Diglicéridos y agua. (3) Reacción de esterificación de los Diglicéridos con Glicerina para dar Triglicéridos y agua.

En esta reacción, el glicerol y los ácidos grasos se combinan formando mono, di y triglicéridos en forma secuencial, y una molécula de agua por cada unión éster que se produce (Ecuaciones 1.1, 1.2 y 1.3). El estudio de esta reacción ha sido reportado principalmente para producir fracciones ricas en monoglicéridos, para ser empleada como emulsionante. La reacción ha sido estudiada catalizada por líquidos ácidos

minerales y orgánicos fuertes (ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido p-toluen-sulfónico), a temperaturas en el rango de 90-190 °C, obteniéndose una mezcla compuesta por 40 % de monoglicéridos, 50 % de diglicéridos y 10 % de triglicéridos [27,28]. El agua generada durante el proceso debe ser eliminada, debido a que forma emulsiones en la mezcla reaccionante e inhibe la reacción por desplazamiento del equilibrio termodinámico hacia la izquierda [29-31]. Las tres etapas están limitadas por el equilibrio.

El uso de catalizadores líquidos es por tanto de importancia, y será abordado en esta tesis, no sólo como referencia respecto de la catálisis heterogénea, sino como una posible alternativa tecnológica para desarrollar los procesos de disminución de acidez de aceites y de biodiesel, y de esterificación de oleínas usando glicerina. En este enfoque, el catalizador líquido terminaría formando parte de las sales de la glicerina cruda que normalmente está en un valor cercano al 5 %, a las cuales aportaría una pequeña contribución.

La bibliografía disponible sobre la síntesis de monoglicéridos por catálisis heterogénea ácida es limitada. Aracil et al. [32] describieron un proceso de síntesis de monoglicéridos (MG) de ácidos grasos por esterificación con glicerol, en presencia de zeolitas como faujasita, mordenita, y beta, utilizando bajas presiones para remover el agua (0,07 atm) a 180 °C. Machado [33] estudió el uso de zeolitas ácidas para la obtención de MG por esterificación del ácido láurico con glicerol a presión atmosférica, obteniendo rendimientos a MG del 20 %, lo cual es bajo comparado a los alcanzados por catálisis homogénea. Da Bosco et al. [34] estudiaron un catalizador de arcillas pilareadas sulfatadas (sulfated pillared clay (AP-S)) en la síntesis de MG y diglicéridos (DG) a partir de la esterificación de glicerina con ácido cáprico, en atmósfera inerte de N₂ y 90 a 180 °C. W. Jacobs et al. [35,36] utilizaron catalizadores mesoporosos modificados con ácido sulfónico. Mostraron que estos catalizadores mesoporosos ácidos son más selectivos en la reacción de esterificación que las zeolitas ácidas. También se han empleado otras sílices funcionalizadas tales como Al-MCM-41, SO₃H-MCM-41, [Me/SH]-MCM-41 y MCM-41 enlazadas a grupos metilos y mercaptopropilos [MPMDS-MCM-41] para la síntesis de MG [37]. Utilizando MPMDS-MCM-41 como catalizador y en iguales condiciones de reacción que las empleadas por W. Jacobs [35,36], a 10 h de reacción alcanzaron rendimientos a MG cercanas al 65 %. Las sílices mesoporosas tipo SBA también han sido estudiadas en algunos trabajos, incluyendo

diferentes grupos ácidos, como el ácido silicotúngstico [38], 12-tungstofosfórico [39], sulfato-zirconia [40], o funcionalizadas con grupos sulfónicos [41]. En general, se ha trabajado a temperaturas por encima de 100 °C, hasta aproximadamente 200 °C. Las resinas de intercambio iónico han sido exploradas en algunos trabajos. La resina catiónica ácida Tulsion 42SM [42] ha sido operada a 180-210 °C, y la Amberlyst IR-120 [38], con resultados buenos. Nakamura et al. [43] estudiaron el empleo de sales hidratadas de metales multivalentes, pudiendo concluir que las sales del tipo $[M_4(OH)_8(H_2O)_{16}X_z]^{(8-z)+}$ (M = Fe, Zr, etc., X= Cl, SO₄) activas en la síntesis de MG, mediante la esterificación del ácido láurico con glicerol. Mostafa et al. [44] optimizaron las condiciones de reacción de esterificación de las oleínas con glicerina en presencia de ZnCl₂ como catalizador. Reportaron obtener una conversión máxima de los ácidos grasos del 99 %, hacia los tres glicéridos (MG, DG y triglicéridos -TG-), usando una relación molar de reactivos 1:1, 195 °C, 0,3 %P de ZnCl₂ y 100 min, pero el proceso no mostró selectividad a la producción de MG.

Por otro lado, Hamerski et al. [45] estudiaron la cinética de la reacción de esterificación de ácido oleico con glicerina en presencia de un catalizador de MgAlCO₃. Sin embargo, en general en los trabajos antes citados, no se ha abordado en detalle los mecanismos de desactivación de los catalizadores sólidos, habiéndose realizado en algunos pocos casos, ensayos de reutilización en pocos ciclos a fin de verificar mínimamente la estabilidad de los materiales.

En todos estos estudios, los objetivos estuvieron relacionados con producir fracciones con altas conversiones a monoglicéridos, minimizando la producción de triglicéridos.

- *El objetivo que se plantea en esta tesis es lograr la conversión de los ácidos grasos, sin ser relevante la conversión de la glicerina que puede estar en gran exceso respecto del estequiométrico, ni la selectividad a monoglicéridos. Esto otorga un grado de libertad muy importante a fin de diseñar estos procesos.*

Otro de los objetivos de la esterificación de ácidos grasos con glicerina, ha sido reducir la acidez de aceites, tal como se propone en la presente tesis. Con tal fin, se ha reportado en bibliografía el estudio de esta reacción en ausencia de catalizador, empleando materias con distintos porcentajes de acidez, aceite de jatrofa con el 20 % de

acidez [46], grasas residuales de tratamientos de efluentes con un 30 % de acidez [47], aceite de palma dopado con 80 % de acidez [48], aceites comestibles usados con acidez del 5,7 % y hexano como cosolvente [49]. En estos trabajo se reporta el empleo de temperaturas muy altas, 180 a 250 °C, lográndose valores de acidez no menores al 1 %. Por ejemplo, cuando se emplea un aceite de jatrofa con un 20 % de acidez, reaccionándolo a 220 °C por 120 min, con una relación molar de GOH: Aceite 1:2, se obtienen valores de acidez final alrededor del 1,1 % [46]. Estos resultados muestran una buena conversión, aunque la temperatura de reacción es elevada.

Se estudiaron sílices funcionalizadas y resinas de intercambio [41] a 110 °C, y ZnCl₂ (180-260 °C) [50,51]. En este aspecto, la cantidad de estudios es muy limitada, siendo que se tiene la ventaja de no tener prácticamente restricciones en el exceso de glicerina a utilizar en la reacción, dado que está disponible en la biorefinería, y se puede separar fácilmente del aceite para seguir su procesamiento convencional.

La fuerza ácida requerida para catalizar la esterificación es alta, por lo que los ácidos fuertes como los líquidos ya mencionados, o los sólidos de alta acidez son adecuados. Si bien se han ensayado zeolitas microporosas, se ha encontrado que los problemas difusivos aumentan la selectividad a monoglicéridos, y desfavorecen la formación de di- y triglicéridos [40]. Por otro lado, se estudiaron zeolitas Y con y sin proceso de dealuminización, encontrando una mejora muy importante en la conversión, llegando a 98% en la zeolita dealuminizada [52]. Este resultado sugiere que no sólo la fuerza ácida, sino el tipo y densidad de sitios, puede jugar un papel muy importante en la actividad de los catalizadores para esta reacción, además de la estructura porosa.

Los catalizadores meso y macroporosos son por lo tanto *a priori*, adecuados para utilizar en esta reacción.

De estos trabajos preliminares se puede ver que el enfoque convencional requiere condiciones considerablemente severas y tiempos de reacción más largos, lo que hace que la glicerólisis sea una operación intensiva en energía.

- *Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar una tecnología de intensificación de procesos para la glicerólisis con el objetivo de reducir la temperatura requerida con mejores rendimientos de reacción, y también reducir el requerimiento de energía y el costo de procesamiento.*

Como se puede notar en esta revisión, en el estudio de la esterificación de glicerina con ácidos grasos el uso de catalizadores líquidos sólo ha sido cubierto en la literatura con fines básicos en condiciones alejadas de las que se pueden utilizar en escala productiva, no pretendiendo desarrollar procesos o procedimientos que permitan obtener un biodiesel de acuerdo a especificaciones. Por ende, se profundizará el estudio de la reacción de esterificación de ácidos grasos con glicerol, haciendo hincapié en el estudio fisicoquímico y cinético, y evaluando el sistema en condiciones realistas de producción, con el objeto de encontrar las condiciones de proceso aptas para escala industrial. En esta línea también se estudiarán catalizadores ácidos sólidos activos para la esterificación con glicerol y resistentes al agua, regulando su acidez a fin de comparar lo que según bibliografía y la experiencia del grupo, aparecen como las alternativas más adecuadas para esta reacción.

1.3. REFERENCIAS

- [1] S. Ziller. *Grasas y aceites* 1 (2000). 270-281.
- [2] UCR: docplayer.es/18734220-Desgomado-de-aceites-crudos.html (2021)
- [3] UCR: academia.edu/35214556/DESGOMADO_DEL_ACEITE_DE_SOYA (2021)
- [4] P. Sartoretto, "Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical, Technology" 2nd Edition, Vol. 12, (1967) 343-361.
- [5] W. Van Nieuwenhuyzen. *JAOCS* 53 (1976) 425.
- [6] W. J. Wolf, D. Sessa. "Encyclopedia of Food Science" (1978) 461-467.
- [7] W. Van Nieuwenhuyzen, M. C. Tomás. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110 (2008) 472-486.
- [8] A. J. Muratorio, C. A. Kerlakian, *Aceites y Grasas* 2 (2004) 316-323.
- [9] A&G, *Desgomado enzimático de aceites de vegetales. Comparación de diferentes procesos*, tomo XX, vol. 2 (2010) 204-212.
- [10] C. Gopi. *Ind Food Indus* 17 (1998) 224–234.
- [11] D. L. Lamas, D. T. Constenla, D. Raab. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 6 (2016) 138–143.
- [12] Zhan Ye, Xue Qiao, Zhi Luo, Chuanrong Hu, Lingyi Liu, Dongping He. *Journal of Food* 14 (2016) 604–612.
- [13] Xiaofei Jiang, Ming Chang, Qingzhe Jin, Xingguo Wang. *Journal of Food Science and Technology* 52 (2015) 3634–3644.
- [14] K.A. Sampaio, N. Zyaykina, B. Wozniak, J. Tsukamoto, W. De Greyt, C. V. Stevens, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117 (2015) 81–86.
- [15] M. Jahani, M. Alizadeh, M. Pirozifard, A. Qudsevali. *Food Sci. Technol.* 41 (2008) 1892–1898.
- [16] M. Yang, X. Zhou, Y. Jin. *J. Health Lab. Technol.* 18 (2008) 71–7.
- [17] A. Dijkstra. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112 (2010) 1290-1293.

- [18] X. Jiang, M. Chang, X. Wang, Q. Jin, X. Wang. *Journal of Cleaner Production* 69 (2014) 237-242.
- [19] Y. Wang, M. Zhao, K. Song, L. Wang, S. Tang, W. Riley. *Food Chemistry* 121 (2010) 1066–1072.
- [20] Y. Wang, M. Zhao, S. OU, L. Xie, S. Tang. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 56 (2009) 165–172.
- [21] Yang Li, Wei Du, Dehua Liu. *Biomass and bioenergy* 71 (2014) 162-169.
- [22] T. Wang. *Digital Repository*. Iowa State University. 1998.
- [23] S. Cesarini, R. F. Haller, P. Diaz, P. M. Nielsen. *Biotechnology for Biofuels* 7 (2014) 7-29.
- [24] H. Pourzolfaghar, F. Abnisa, W. M. Ashri, W. Daud, M. K. Aroua. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 61 (2016) 245–257.
- [25] Yang Li, Wei Du, Dehua Liu. *Biochemical Engineering Journal* 94 (2015) 45-49.
- [26] R. K. Balasubramanian, J. P. Obbard. *Bioresource Technology* 102 (2011) 1942–1946.
- [27] G. Devinat, J. Coustille, *Rev. Fran. Corps. Gras.* 30 (1993) 463.
- [28] D. Swern, *Industrial Oil and Fats Products*, Wiley, New York (1979).
- [29] Y. Pouilloux, S. Abro, C. Vanhove and J. Barrault, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 149 (1999) 243.
- [30] N. Erguen, P. Panning, *US Patent* 7, 256-301 (2007).
- [31] C. R. Acad. Sci. Paris, Se´rie IIC, *Chimie . Chemistry* 3 (2000) 589–594.
- [32] J. Aracil, A. Corma, M. Rodriguez, N Sánchez, *WO* 94/13617 (1994).
- [33] M. Machado, J. Pérez-Pariente, A. Guereñu, *Appl. Catal. A: Gen.* 203 (2000) 321.
- [34] *Waste Biomass Valor* (2016) 7:1279–1288
- [35] W. Van Rhijn, D. De Vos, F. Sels, W. Bossaert, W. Jacobs. *Chem. Commun.* (1998) 317.
- [36] W. Bossaert, D. De Vos, P. Grobet, W. Jacobs, *J. Catal.* 182 (1999) 156.

- [37] J. Pérez-Pariente, I. Díaz, F. Mohino, E. Sastre, *Appl. Catal. A: Gen.* 254 (2003) 173.
- [38] V. Simsek, L. Degirmenci K. Murtezaoglu, R.. *Kin. Mech. Catal* 117 (2016) 773–788.
- [39] P Y Hoo, A Z Abdullah, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 36 (2016) 012-037
- [40] M. Yusoff, A. Abdullah, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 60 (2016) 199–204
- [41] F. Alrouh, A. Karam, A. Alshaghel, S. El-Kadri, *Arabian Journal of Chemistry* 10 (2017) S281
- [42] H. Sudibyoa, M. Fahrurrozi, *Eng. Journal*, 21 (2016) 381-394.
- [43] R. Nakamura, K. Komura, Y. Sugi. *Catalysis Communications* 9 (2008) 511–515.
- [44] N. A. Mostafa, Ashraf Maher, Wael Abdelmoez. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2013, 4, 900-907
- [45] F. Hamerski1, M. Anderson Prado, V. Renan da Silva, F. A. Pedersen Voll, M. L. Corazza. *Reac Kinet Mech Cat* 7 (2015).
- [46] S. H. Teo, A. Islamac, H. R. F. Masoumi, Y. H. Taufiq-Yap, J. Janaunc, E. S. Chand, M. A. khaleque. *Renewable Energy* 111 (2017) 892-905
- [47] Q. Tu, M. Lu, G. Knothe, *Journal of Cleaner Production* 162 (2017) 504-511
- [48] A. Islam, H. R. Fard Masoumi, S. H. Teo, Y. Abdollahi, J. Janaun, Y. H Taufiq-Yap. *Fuel* 174 (2016) 133-139
- [49] M. D. Supardan, M. D.; Adisalamun; Lubis, Y. M.; Annisa, Y.; Satriana; Mustapha, W. A. W. *Pertanika J. Sci. & Technol.* 25 (4) (2017) 1203 - 1210.
- [50] N. A. Mostafa, A. Maher, W. Abdelmoez, *Adv. Biosc. Biotech.* 4 (2013) 900-907.
- [51] Radoslav Mičić, Milan Tomić, Ferenc Martinović, Ferenc Kiss, Mirko Simikić and Aleksandra Aleksic, *Green Process Synth* 2019; 8: 15–23.
- [52] M. C. Penci, D. T. Constenla, A. Carelli. *Food Chemistry* 120 (2010) 332-338.



CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA

2.1 INTRODUCCIÓN

En el desarrollo de esta tesis se ha estudiado la puesta en valor del residuo del desgomado, así como de distintas corrientes ricas en ácidos grasos presentes en una biorefinería. En una primera etapa se estudia la hidrólisis de los residuos del desgomado, utilizando tanto catálisis enzimática como alcalina. Luego, en una segunda etapa se estudia la esterificación de los ácidos grasos, provenientes de la etapa anterior y de otros procesos de la biorefinería con el fin de obtener una mezcla de monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos que pueden ser fácilmente convertidos en biodiesel.

El procedimiento a seguir en cada una de las etapas del estudio dependerá fuertemente de las características de la materia prima que se emplee y los productos que se busquen obtener. En este capítulo se describen en forma detallada el equipamiento y las condiciones en que se realizaron las distintas experiencias, así como también los análisis realizados, desde la materia prima hasta el producto final.

2.2. HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

2.2.1. Materias primas y reactivos usados

Las materias primas utilizadas fueron:

- *Gomas*: subproducto del desgomado acuoso. Constituyen una emulsión muy fuerte entre el agua, los fosfolípidos (PL) y el aceite (Foto 2.1.A). La composición promedio de este residuo es de 40 % agua, 38 % de fosfolípidos, 20 % de aceite y 2 % de otras impurezas.
- *Borras*: subproducto del desgomado ácido. Suelen tener una consistencia más fluida que las anteriores, por su menor contenido de fosfolípidos y su mayor contenido de agua (Foto 2.1.B). Su composición promedio es de aproximadamente 50 % de agua, 20 % de aceite, 25 % de fosfolípidos, 5 % de jabones, y sales del ácido empleado en dicha etapa.
- *Lecitina*: es el residuo del desgomado acuoso (gomas) secado. Posee una consistencia similar a una melaza (Foto 2.1.C). La composición promedio es de 68 %

PL, 31 % de aceite y 1 % de otras impurezas [1-3].

Muestras de gomas, borras, y lecitina fueron provistas a lo largo del estudio por diferentes empresas aceiteras del país.

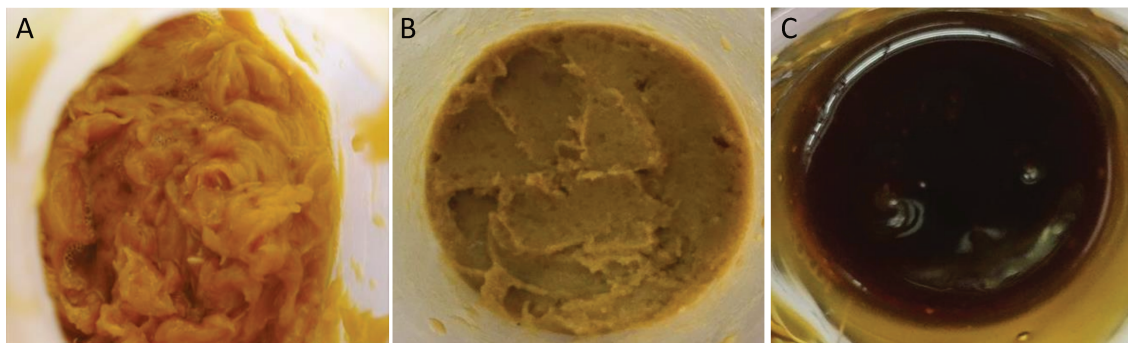


Foto 2.1: Fotos de las materias primas usadas. **A:** Gomas, **B:** Borrás, **C:** Lecitina.

Un factor muy importante para poder desarrollar los procesos mencionados, es la complejidad fluidodinámica que presenta el manejo de los residuos del desgomado. En una primera etapa se buscó una forma eficiente de fluidizarlas, por lo que se ensayaron distintos compuestos para lograr su disolución:

- Alcoholes: metanol, etanol, isopropanol y glicerina, todos grado pro-análisis, marca Cicarelli, y etanol 96%.
- Hexano, acetona, éter etílico, éter de petróleo, heptano, acetato de metilo, tetracloruro de carbono, etilenglicol, tetrahidrofurano. Todos grado pro-análisis marca Cicarelli.
- Biodiesel. Cedido por empresa productora de la zona. El biodiesel usado cumplía las especificaciones de la Resolución 6/2010 de la Secretaría de Energía, y de la norma EN 14214.
- Aceite de soja neutro, cedido por empresas aceiteras de la zona.

En el procesamiento de las diferentes materias primas se utilizaron además:

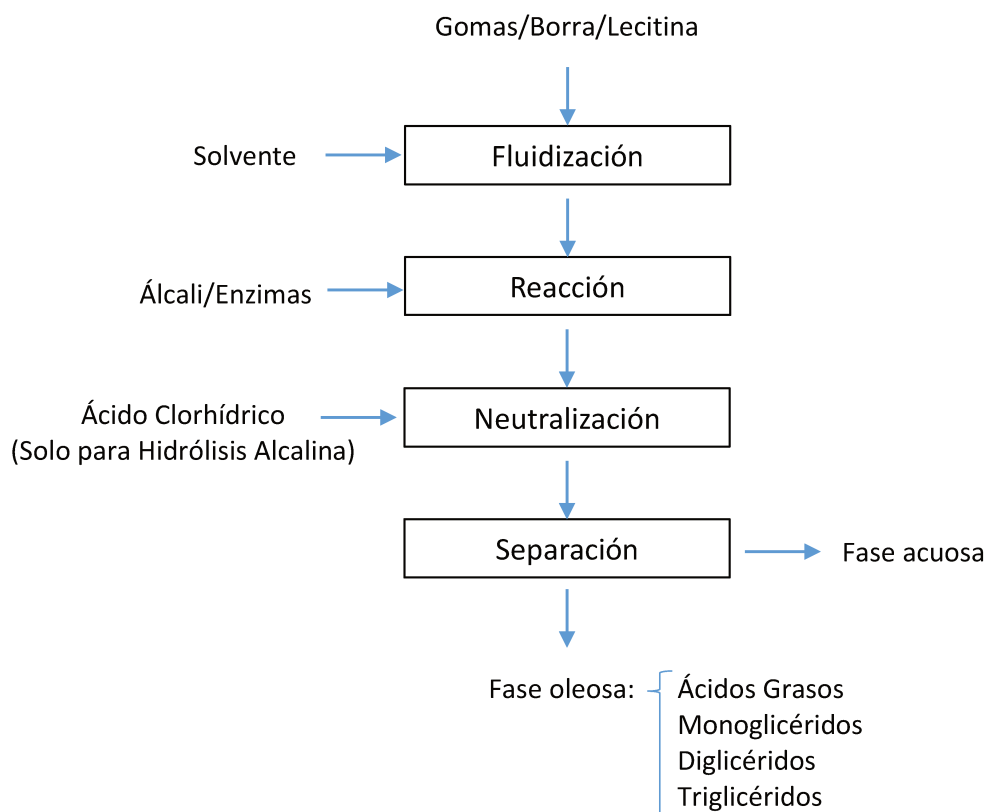
- Procesos Enzimáticos: mezcla de enzimas fosfolipasas C (PLC) y A2 (PLA2). Para la PLC con una actividad de 16900 U/g. El contenido de la enzima PLA2 no está especificado. La mezcla usada es marca Purifine®, de la firma DSM.

- **Procesos Alcalinos:** Solución de metóxido de sodio al 30 %p/p en metanol, cedida por empresas productoras de biodiesel de la zona. Soluciones acuosas de NaOH preparadas en el laboratorio de concentraciones de 10-50 %p/p. El NaOH usado fue de grado pro-análisis marca Cicarelli.

En las reacciones de hidrólisis alcalina se utilizó ácido clorhídrico 36 %P marca Cicarelli, para neutralizar el álcali agregado.

2.2.2. Reacción de hidrólisis

La reacción de hidrólisis de los residuos del desgomado se llevó a cabo con catálisis enzimática y alcalina. En ambos casos las experiencias de reacción constaron de cuatro etapas:



Esquema 2.1: Esquema de las etapas incluidas en la reacción de hidrólisis del residuo del desgomado del aceite.

➤ Fluidización

El primer problema que se debió resolver fue lograr la fluidización de los residuos del desgomado del aceite, ya que es una etapa determinante para para obtener una buena

conversión de los fosfolípidos. Para abordar esta problemática, se hicieron mezclas de las gomas con diferentes solventes y se evaluó el comportamiento de las mismas.

Para la etapa de fluidización se colocó la materia prima a reaccionar en un vaso de precipitado cubierto por un vidrio reloj, en un baño termostático a distintas temperaturas (40-80 °C) y se las mantuvo por 15 min para que lleguen a la temperatura deseada. Finalizado este tiempo se agregó el solvente y se lo dejó con agitación por 15 min o hasta formación de una mezcla homogénea, mediante agitación mecánica y magnética. Para la agitación mecánica se utilizó un mezclador IKA® Ultra-Turrax T25 digital.

En esta etapa se buscó determinar cuál es el solvente más adecuado desde el punto de vista fluidodinámico. La evaluación se realizó en forma visual, simplemente observando si se formaba una mezcla homogénea. Además, se estudió la concentración del solvente agregado, el tiempo que llevó la fluidización, las rpm necesarias en el agitador así como el torque con el que trabaja el mismo, y la combinación de solventes.

➤ Reacción

- *Catálisis enzimática*

La reacción se llevó a cabo en el reactor de vidrio donde se produjo la etapa de fluidización, a diferentes temperaturas en el rango 40-55°C. La agitación de la mezcla de reacción es otro parámetro de estudio y para ello se empleó agitación magnética y mecánica. En el caso de la agitación mecánica, se utilizó un mezclador IKA® Ultra-Turrax T25 digital.

Se agregaron las enzimas en una proporción de 0,05 a 4,5 %v/p de la mezcla de enzimas comerciales respecto de la gomas, y se registró el tiempo cero de reacción, la cual se extendió por 5 h. Se fueron tomando muestras en el tiempo para su posterior análisis.

- *Catálisis alcalina*

La reacción se realizó en un reactor de vidrio, en forma batch, en un baño de agua a diferentes temperaturas de trabajo (50-80 °C). Para la agitación de la mezcla de reacción se empleó agitación magnética, y en algunos casos agitación mecánica (mezclador IKA® Ultra-Turrax T25 digital).

Para el tratamiento alcalino del residuo del desgomado se agregó un álcali (5-30 %

p/p) y se lo deja reaccionar por un máximo de 300 min tomándose muestras a diferentes tiempos.

➤ Neutralización

Esta etapa solo fue necesaria en el estudio de la catálisis alcalina, no sólo para neutralizar el álcali agregado, sino también los jabones que se producen por reacciones de saponificación que se dan en el medio.

La neutralización se logra agregando al reactor ácido clorhídrico, con un 10 % de exceso referido a los equivalentes de álcalis agregado, y se mantiene la mezcla en agitación a temperatura de reacción por al menos 15 min.

➤ Separación

Por último, la mezcla de reacción se centrifugó, obteniéndose dos o más fases, según el avance de la reacción. En los casos en que se lograron conversiones altas se obtuvieron dos fases, una oleosa y otra acuosa. En el caso de reacción incompleta aparece una fase intermedia de aspecto gomoso, a la cual llamamos tapón gomoso que está formado por fosfolípidos sin reaccionar, tal como se demostrará más adelante.

2.2.3. Análisis de las materias primas y productos

En esta sección y las siguientes, se describirán muy brevemente los métodos analíticos utilizados, y se presentan con mayor detalle en el Anexo 1.

2.2.3.1. Caracterización de las materias primas:

Los residuos del desgomado sobre los cuales se trabajó, son de consistencia pastosa y su comportamiento reológico es complicado, motivo por el cual se denominaron "gomas". Para su caracterización no sólo se han empleado técnicas analíticas aplicadas habitualmente en el laboratorio para aceites y materiales oleosos, sino que ha sido necesario poner a punto nuevas técnicas analíticas específicas para esta materia prima. Para ello se tomó como base las técnicas usadas para lecitinas, debido a que la ésta es un subproducto del residuo del desgomado de aceites. Las principales técnicas empleadas se describen a continuación:

- *Acidez (g ácido oleico/100 g muestra):*

Representa la cantidad de ácidos grasos libres presentes en la muestra. Para el cálculo de la acidez se asume el peso molecular promedio de los ácidos grasos libres igual al del ácido oleico (282 g/mol), y se refiere a 100 gramos de muestra. La norma IRAM 5512 detalla el procedimiento que se sigue para este análisis, y establece la disolución de una cantidad pesada de muestra, para su posterior titulación con NaOH [4].

- *Fósforo (g fósforo/100 g muestra):*

Se determina el contenido de fósforo presente en la muestra, el cual se afecta por un factor de 31, para obtener el contenido de fosfolípidos. El método seguido es el que corresponde a la norma AOCS Ca 12-55. El fósforo contenido en la muestra es transformado en un ión complejo (fosfomolibdato) y cuantificado mediante medición de absorbancia por fotolorimetría [5].

- *Material Insoluble en Acetona (AIM) (g AIM/100 g muestra):*

El material insoluble en acetona está directamente relacionado al contenido de fosfolípidos en la materia prima, debido a que el resto de componentes que conforman las gomas (agua, aceite, y otros en menos proporción) son solubles en acetona. Es una técnica usada para cuantificar el contenido de fosfolípidos y también para aislarlos. El procedimiento se detalla en la norma AOCS Ja 4-46, y consta de sucesivas extracciones con acetona para aislar a los fosfolípidos, y por pesada se determina el contenido de los mismos [6].

- *Contenido de humedad:(g agua/100 g muestra):*

El contenido de humedad es un factor importante a determinar debido a que el agua es el medio en el cual las enzimas llevan a cabo su acción catalítica. El contenido de agua se realizó de acuerdo a la norma AOCS Ja 2-46. Se basa en una destilación a reflujo con tolueno. El agua que se va evaporando se recolecta en un tubo graduado y en él se lee el contenido de agua de la muestra [7].

2.2.3.2. Caracterización de los productos de la hidrólisis de los fosfolípidos

Luego de la etapa de reacción se tiene más de una fase, por lo se toman alícuotas de las distintas fases para realizar la caracterización de los productos de reacción.

A la fase oleosa se les realizaron los siguientes análisis:

• *Contenido de mono-, di- y triglicéridos; ácidos grasos; y ésteres mediante cromatografía gaseosa (g/100 g muestra):*

Las normas internacionales especifican que la determinación de los glicéridos en muestras de biodiesel se debe realizar según las normas ASTM D-6584 o UNE-EN 14105 [8, 9]; y el contenido de ésteres según la norma EN 14103 [10]. Por las características de las muestras a analizar fue necesario implementar una serie de análisis que no se encuentran normalizados, y que corresponden a muestras con altos niveles de acilglicéridos, ácidos grasos y ésteres.

Para el análisis se trabajó en base a lo descrito en las normas Norma ASTM D-6584 o UNE-EN 14105, que son muy similares entre sí. Estas normas establecen el uso de disoluciones de calibración, y un estándar interno, que es la tricaprina, para cuantificar mono-, di- y triglicéridos. Se determinaron los factores de calibración para cada compuesto usando soluciones patrones con diferentes concentraciones. En el Anexo 1 se muestran las curvas de calibración.

Todas las muestras deben de ser tratadas previamente al análisis, transformando los glicéridos en sus derivados sililados, más volátiles, en presencia de piridina y N-metil-N-trimetilsililtrifluoracetamida (MSTFA).

Una vez realizada la calibración, el análisis y cuantificación de las muestras se realiza como se describe a continuación.

Se pesa con precisión 100 mg de la muestra bien homogeneizada, en un vial de 10 ml, y se añade con jeringa 100 µl del estándar interno (1,2,3-tricaprilglicerol) y 100 µl de MTSFA. Se cierra, se homogeneiza, y se deja reposar 15 min a temperatura ambiente. Se añaden 3 ml de hexanos y luego se inyecta.

Condiciones de análisis

Cromatógrafo: PerkinElmer – Clarus 580

Columna: ZB-5HT

Carrier: He

Flujo del carrier: 3 ml/min

Temperatura del inyector: 5 °C por encima de la temperatura del horno.

Programa de temperatura del horno:

50 °C (1 min) $\xrightarrow{15\text{ °C/min}}$ 180 °C $\xrightarrow{7\text{ °C/min}}$ 230 °C $\xrightarrow{10\text{ °C/min}}$ 380 °C (6 min)

Volumen de muestra: 1 μ l

Detector: FID

Temperatura del detector: 380 °C

Cálculos

Las funciones de calibración obtenidas son las siguientes

$$M = 0,7247 \times (\sum A_{MG}/A_{tric}) \times (M_{tric}/m) \times 100$$

$$DG = 0,844 \times (A_{DG}/A_{tric}) \times (M_{tric}/m) \times 100$$

$$TG = [1,0543 \times (\sum A_{TG}/A_{tric}) + 0,0021] \times (M_{tric}/m) \times 100$$

$$Me\text{-Ester} = 0,8342 \times (\sum A_{Me\text{-Es}}/A_{tric}) \times (M_{tric}/m) \times 100$$

$$Et\text{-Ester} = [0,8933 \times (\sum A_{Et\text{-Es}}/A_{tric}) + 0,0004] \times (M_{tric}/m) \times 100$$

$$FFA = 0,8667 \times (\sum A_{FFA}/A_{tric}) \times (M_{tric}/m) \times 100$$

Con:

A: área

TG: Triglicérido

M: masas

Et-Es: estilester

Tric: Estándar interno

Me-Es: metilester

MG: Monoglicérido

DG: Diglicérido

En el Anexo 1 se presenta este procedimiento en forma detallada.

• *Acidez (g ácido oleico/100 g muestra):*

Representa el grado en que la hidrólisis ha liberado los ácidos grasos de la molécula de glicérido original. Se utiliza el mismo procedimiento que el descrito para la determinación de acidez de las materias primas, basado en la norma IRAM 5512 [4].

• *Fósforo (g fósforo/100 g muestra):*

Se sigue el procedimiento descrito para el análisis de fósforo en la materia prima.

- *Material Insoluble en Acetona (AIM) (g AIM/100 g muestra):*

Este análisis solo se realizó para los productos de reacción de la hidrólisis enzimática, y se siguió el procedimiento mencionado para este análisis de la materia prima, basado en la norma AOCS Ja 4-46 [6].

- *Jabones (g oleato de sodio/100 g de muestra)*

El análisis de jabones se realizó según la norma IRAM 5599. El método se basa en la disolución de una cantidad conocida de la muestra en una solución de acetona con un 2 %v/v de agua y posterior titulación con una solución 0,1 N de HCl. Los jabones se expresan como gramos de oleato de sodio por cada 100 gramos de muestra.

- *Catalizador Alcalino (g de catalizador por kg de muestra)*

Se midió mediante titulación con una solución 0,1 N de HCl de una cantidad conocida de la muestra disuelta en una solución de tolueno:etanol 1:1 v:v.

A la fase acuosa se le realizaron los siguientes análisis:

- *Fósforo (g fósforo/100 g muestra):*

Se sigue el procedimiento ya mencionado, basado en la norma AOCS Ca 12-55 [5].

• *DQO (demanda química de oxígeno) y DBO (demanda biológica de oxígeno):* estos análisis permiten evaluar las alternativas de disposición final que se le puede dar a la fase acuosa y fueron realizados en un laboratorio externo.

2.3. ESTERIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CON GLICERINA

2.3.1. Reactivos

- *Ácidos grasos:* se trabajaron con FFA (A=98 %) producidos en el laboratorio a partir de metilésteres de ácidos grasos, siguiendo el procedimiento detallado en la Sección 2.4.

- *Aceite neutro de soja*: aceite de soja cedida por empresas aceiteras de la zona (A<2 %), los cuales fueron dopados con ácidos grasos producidos en el laboratorio, en concentraciones entre el 5 y el 50 %p/p.

- *Biodiesel*: metilésteres de ácidos grasos obtenidos de empresas productoras de la zona (A<0,25 %), dopados con ácidos grasos producidos en el laboratorio (5 %p/p FFA).

Se usaron dos grados de glicerina como reactivo de esterificación:

- *Glicerina grado pro-análisis*: se usa glicerina (GOH) 99,5 %p/p pro-análisis, marca Cicarelli.

- *Glicerina grado técnica*: glicerina cedida por la empresa Pampa Bio, cuya composición es de 81,2 g/100 g de glicerina, 13 g/100 g de agua, 2,88 g/100 g de sales, 1,51 g/100 g de MONG, y otras impurezas minoritarias.

Como *catalizador* se utilizaron:

- *Catalizadores homogéneos*: ácido sulfúrico 98 %p/p, marca Cicarelli; ácido metanosulfónico 98 %p/p (MSA), marca Merck y ácido p-toluensulfónico 65 %p/p (PTSA) en medio alcohólico, marca TanQuímica.

- *Catalizadores heterogéneos*: Se ensayaron catalizadores sólidos mesoporosos SBA-5 funcionalizados con distintos porcentajes de grupos sulfónicos, sintetizados por integrantes del grupo. En la Tabla 2.1 se resumen las propiedades de los mismos.

Tabla 2.1: Propiedades de los catalizadores sólidos ensayados en la reacción de esterificación de los ácidos grasos con glicerina.

Tipo ⁽¹⁾	SBET m ² /g	Vp cm ³ /g	Dp nm	Acidez tot mmol/g	Sitios Ácidos 1/nm ²
SBA15 5%S	498	1,07	10	0,34	0,41
SBA15 10%S	681	1,38	10	0,92	0,81
SBA15 15%S	709	0,88	7,9	1,44	1,22

⁽¹⁾ El %S representa la relación de S/Si que se emplea en la síntesis del catalizador.

2.3.2. Reacción de esterificación homogénea

La reacción se llevó a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch con o sin reflujo, en un baño de un aceite mineral a diferentes temperaturas de trabajo (60-160° C) y con agitación magnética. En el caso en que no se utilizó refrigerante, se realizó la reacción con el reactor abierto a la atmósfera, inyectando en algunas experiencias

nitrógeno o aplicando vacío, a fin de eliminar el agua que es producto de reacción. Se tomaron muestras en el tiempo, prolongándose la reacción hasta 300 min. Una fracción de la muestra es analizada directamente, mientras que otra fracción es lavada y centrifugada. De esta forma, con el lavado se elimina el catalizador y la glicerina en la fase acuosa y se extrae la fase oleosa (ácidos grasos y glicéridos formados) para su posterior análisis.

Se ensayaron tres catalizadores ácidos líquidos, uno inorgánico (ácido sulfúrico) y dos órgano-ácidos: el ácido p-toluensulfónico (PTSA) y ácido metanosulfónico (MSA). Las concentraciones usadas, expresadas en eq/lit, fueron 0,087; 0,17; 0,35; y 0,437. Estas concentraciones en porcentaje en *volumen respecto a la masa de la mezcla reaccionante* representan 0,25/0,5/1,0/1,25 %v/p para el H₂SO₄; 0,45/1,14/2,27/2,72 %v/p para el MSA; y el 1,87/3,74/7,48/9,37 %v/p para el PTSA. Además, se estudió la reacción autocatalítica, es decir, en ausencia de agregado de un catalizador ácido.

Como materias primas se utilizaron: ácidos grasos (AG) de soja puros (A≈ 98 %p/p) producidos en el laboratorio; biodiesel y aceites con distintos valores de acidez (A=5 %p/p y A=20 %p/p) obtenidos de empresas de la región y dopándolos con ácidos grasos; glicerina anhidra 99,5 %p/p pro-análisis; y glicerina grado técnico.

Las experiencias de esterificación de ácidos grasos puros fueron llevadas a cabo con distintas relaciones molares (RM) de reactivos AG/GOH: la estequiométrica a monoglicéridos (1:1), la estequiométrica a triglicéridos (3:1) y en exceso de glicerina (1:3). En el estudio de la reacción para bajar la acidez de biodiesel y aceite se trabajó con relaciones molares de AG/GOH: 1:1, 1:4, 1:18.

2.3.3. Reacción de esterificación heterogénea

La reacción se llevó a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch conectado a una bomba de vacío, en un baño de un aceite mineral a diferentes temperaturas de trabajo (120-160 °C) y agitación magnética. Se tomaron alícuotas de muestras en el tiempo, prolongándose la reacción por 360 min. Las alícuotas tomadas se centrifugaron de forma de separar el catalizador y la glicerina en una fase y en otra los ácidos grasos y glicéridos formados (fase oleosa).

Se ensayaron catalizadores sólidos mesoporosos SBA-15 con distintas relaciones S/Si: 5, 10 y 15 %. El catalizador se cargó en el reactor en proporciones de 0,6; 1,2; 2 y 3 %p/p referido a la masa total de la mezcla de reacción. Además se estudió la reacción autocatalítica, es decir, en ausencia de agregado de un catalizador.

Sólo se utilizaron materias primas puras, es decir, ácidos grasos de soja puros (A < 98 %p/p) producidos en el laboratorio y glicerina anhidra 99,5 %p/p pro-análisis. Se evaluaron las mismas relaciones molares (RM) de reactivos AG/GOH, que en la reacción de esterificación homogénea (sección 2.3.2).

2.3.4. Caracterización de la fase oleosa y el catalizador sólido

Luego de la etapa de reacción de esterificación se obtienen dos fases, una oleosa y otra acuosa. A la fase oleosa se le determinó:

- *Contenido de mono-, di- y triglicéridos; y ácidos grasos por cromatografía (g/100 g muestra)*: Se sigue el procedimiento descrito en la hidrólisis de los residuos del desgomado con catálisis homogénea. (Ver Anexo 1).

- *Acidez (gr ácido oleico/100gr muestra)*: Se sigue el procedimiento descrito en la hidrólisis de los residuos del desgomado con catálisis homogénea.

Al catalizador sólido usado se le determinó:

- *Contenido de acidez*: la cantidad de sitios ácidos del catalizador se determinó mediante titulación potenciométrica. El potencial se midió con un electrodo de LiCl saturado en etanol conectado a un medidor de pH Metrohm 913. Para la medida se suspendieron 30 mg de sólido en 30 ml de acetonitrilo en un erlenmeyer de 50 ml con agitación vigorosa hasta la estabilización del potencial eléctrico. Luego, se bombeó una solución de butilamina 0,01 M en acetonitrilo a una velocidad de 0,10 ml/min mientras se registraba el potencial eléctrico hasta que los valores se mantuvieron invariantes.

- *Contenido de Si y S*: El contenido de S y Si en los sólidos se midió mediante fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (ED-XRF), utilizando un equipo Shimadzu, modelo EDX-720.

2.4. PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS A PARTIR DE METIL ÉSTERES

La producción de ácidos grasos a partir de metilésteres (biodiesel) está dada por una reacción de saponificación en presencia de un álcali fuerte, utilizando en este caso el hidróxido de sodio, y solvente de manera que la reacción ocurra en fase homogénea. Las etapas del proceso son reacción, neutralización, separación de fases, lavado y secado de fase orgánica. A continuación se detalla el procedimiento:

1- REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN: Se realiza en un balón de vidrio de 2 L termostatzado a 80 °C, con agitación magnética y refrigerante de reflujo. Se cargan 294 g de biodiesel de soja, se agregan 612 g de una solución de NaOH (12 g de NaOH/100 g) y a continuación 100 g de alcohol 96 %. Se deja reaccionar por al menos 4 horas.

2- REACCIÓN DE NEUTRALIZACIÓN: En el mismo balón de la reacción de saponificación agregar 736 g de una solución de HCl (47,2 g de ácido clorhídrico al 36 %P). Mantener agitación suave por unos 10 o 15 minutos, en baño termostático a 80 °C.

3- SEPARACIÓN DE FASES: Transferir el contenido del balón a una ampolla de decantación. Dejar separar fases durante el mínimo tiempo necesario para la formación de una interfase bien definida. Separar fases. Descartar la fase acuosa (inferior). Conservar la fase orgánica en la ampolla.

4- LAVADO DE LA FASE ORGÁNICA (ÁCIDOS GRASOS): Se realizan dos etapas de lavado, con 150 a 200 mL de agua desionizada cada una.

5- SECADO DE LA FASE ORGÁNICA (ÁCIDOS GRASOS): Transferir el contenido de la ampolla de decantación a un vaso de precipitados. Calentar hasta 85-105 °C con burbujeo de nitrógeno hasta que no se observe presencia de humedad.

2.5. REFERENCIAS

- [1] Sartoretto, P., in "Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical, Technology," 2nd Edition, Vol. 12, Interscience Publishers, New York, 1967, pp. 343-361.
- [2] Van Nieuwenhuyzen, W., JAOCS 53 (1976) 425.
- [3] Wolf, W.J., and Sessa, D. in "Encyclopedia of Food Science," edited by M.S. Peterson and A.H. Johnson, AVI Publishing CO., Inc" Westport, CT, 1978, pp. 461-467.
- [4] Acidez (gr ácido oleico/100 gr muestra) Norma IRAM 5512
- [5] Fósforo (gr fósforo/100 gr muestra). Norma AOCS Ca 12-55
- [6] Material Insoluble en Acetona (AIM) (gr AIM/100 gr muestra). AOCS Ja 4-46
- [7] Contenido de humedad:(gr agua/100 gr muestra). AOCS Ja 2-46
- [8] Contenido de mono-, di- y triglicéridos, fosfolípidos (gr/100 gr muestra). Norma ASTM D 6584
- [9] Contenido de mono-, di- y triglicéridos, fosfolípidos (gr/100 gr muestra). Norma UNE-EN 14105
- [10] Contenido de esteres (gr /100 gr muestra). Norma UNE-EN 14103
- [11] Contenido de esteres (gr /100 gr muestra). Norma EN ISO 5508



CAPÍTULO 3

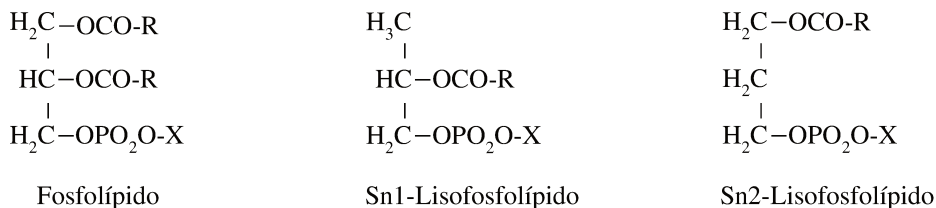
FLUIDODINÁMICA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

En el este capítulo se presenta el estudio sobre las propiedades del residuo del desgomado, haciendo énfasis en lo que respecta a su fluidodinámica y la elección de un solvente adecuado para lograr su fluidización en forma eficiente.

3.1 INTRODUCCIÓN

El residuo del desgomado del aceite de soja está compuesto por una mezcla compleja de fosfolípidos, triglicéridos, agua y pequeñas cantidades de otros componentes como fitoglicolípidos, fitoesteroles, tocoferoles y ácidos grasos. La composición de estos depende fuertemente de la etapa del proceso productivo del cual provienen, lo que se debe a que hay dos tipos de fosfolípidos: (i) los hidratables, que se eliminan en una primera etapa (desgomado acuoso); y (ii) los no hidratables, que son eliminados en una segunda etapa de procesamiento (desgomado ácido). El residuo obtenido en la primera etapa del desgomado, o sea el desgomado acuoso, se conoce como “gomas”, y su composición promedio es 40 % de agua, 38 % de fosfolípidos, 20 % de aceite y 2 % de otras impurezas. En cambio, el residuo obtenido en la segunda etapa, o sea el desgomado ácido, se denomina “borras” y su composición aproximadamente es de 50 % de agua, 20 % de aceite, 25 % de fosfolípidos, 5 % de jabones [1-3]. A su vez, las proporciones de cada uno de los componentes varía dependiendo del proceso de desgomado, la materia prima y la estación del año/ zona de procedencia de esta última.

Los fosfolípidos que se extraen del poroto de soja son del tipo de los derivados del glicerol, cuyos grupos alcohólicos están esterificados por dos cadenas de ácidos grasos, y una tercera unión por un grupo funcional con fósforo (éster orto-fosfórico), al cual se unen (formando un fosfo-diéster) bases nitrogenadas y otros grupos derivados de alcoholes. En la Figura 3.1 se muestra la estructura de los distintos fosfolípidos presentes en la soja. En menor medida también podemos encontrar las formas degradadas de los fosfolípidos, denominadas liso-fosfolípidos [4], que son los compuestos que se forman cuando una molécula de fosfolípido pierde un ácido graso.



Donde X puede ser:

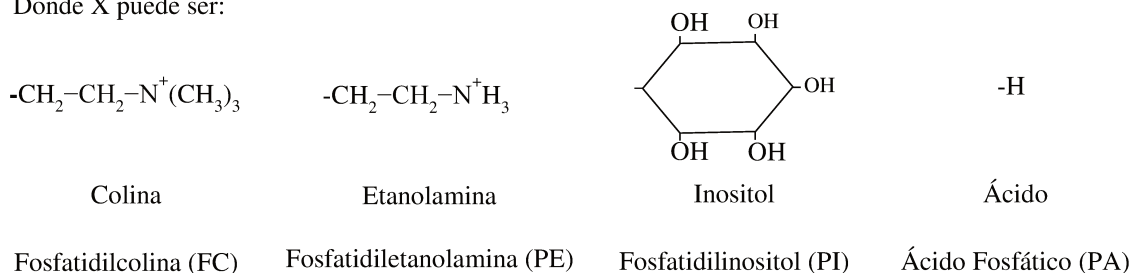


Figura 3.1 Estructura química de los principales fosfolípidos presentes en la soja.

Hay estudios que confirman que tanto la fosfatidilcolina (PC) como el fosfatidilinositol (PI) siempre son casi totalmente “hidratables” ya que luego de la etapa de desgomado acuoso el aceite se encuentra prácticamente libre de dichos fosfolípidos, debido a que poseen gran polaridad en el grupo fosfodiéster, y por ende gran afinidad por el agua. Mientras que en el caso de la fosfatidiletanolamina (PE) y el ácido fosfático (PA) habitualmente definidos como fosfolípidos “no hidratables”, pueden presentar un grado variable de “hidratación” dependiendo de la naturaleza alcalina de los cationes que forman complejos con dichos fosfolípidos [5]. Por lo tanto, el residuo del desgomado acuoso (gomas) presentará una distribución de fosfolípidos ricos en PC y PI, conteniendo en menor medida PE y PA. Mientras que el residuo del desgomado ácido (borras) tendrá como principales componentes PA y PE, y en menores proporciones PC y PI.

Los fosfolípidos presentes en el residuo del desgomado se encuentran formando una interface entre los componentes polares (agua) y no polares (aceite) del sistema, a través de estructuras bicapa y micelar dependiendo de la especie (Figura 3.2). Esta combinación de estructuras, sumado al poder de hidratación de los fosfolípidos, hacen que estas materias posean una gran complejidad reológica.

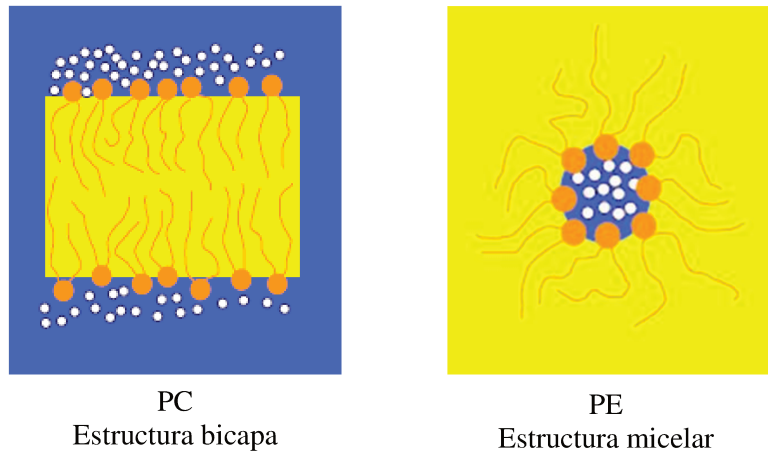


Figura 3.2 Estructura bicapa y micelar de las emulsiones agua:fosfolípido:aceite dependiendo de la especie.

El residuo del desgomado generalmente sigue las características de un fluido no newtoniano. El perfil de la viscosidad de las gomas durante el secado aumenta rápidamente, con los valores más altos para un contenido de agua residual entre 5 y 15% (Figura 3.3). Esto se debe a un cambio en la estructura de los agregados de fosfolípidos durante la transición de la fase acuosa a la fase oleosa [7,8], lo cual explicaría por qué su viscosidad y por ende la fluidización, está tan ligada al contenido acuoso que posee.

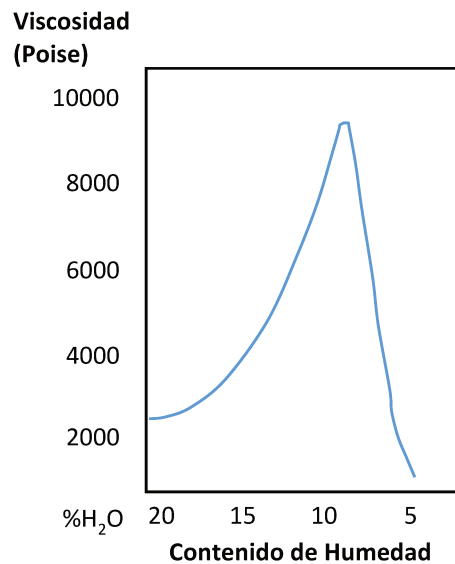


Figura 3.3. Viscosidad del residuo del desgomado del aceite a 70°C en función del contenido de agua [8].

Lambourne et al. [9] realizaron un estudio del comportamiento reológico de las gomas en función del contenido de agua. Informaron que una mezcla fosfolípidos/agua/aceite con una relación 35/50/15 presentaba inicialmente

características de flujo de Bingham, y que a medida que disminuyen los niveles de humedad, la mezcla se describe mediante la ecuación de la ley de potencia. Este cambio en el comportamiento del flujo lo atribuyeron a las fuerzas intermoleculares dominantes que cambian de fuerzas electrostáticas, presentes a altos niveles de humedad, a fuerzas de Van der Waals a medida que los niveles de humedad disminuyen.

El residuo del desgomado del aceite de soja del cual se parte, tienen un aspecto muy pastoso, su viscosidad no es constante sino que varía fuertemente con el contenido acuoso y en menor grado con la temperatura. Todo esto representa un gran problema cuando se quiere llevar a cabo una reacción debido a que no se logra un íntimo contacto reactivo-catalizador, además de que se hace imposible su agitación. Por lo tanto, en este capítulo se abordará el estudio de la fluidización del residuo proveniente del desgomado del aceite, dado que éste es el paso limitante para su posterior hidrólisis.

3.2. EXPERIMENTAL

3.2.1. Materias primas y solventes

Se usaron gomas y borras provenientes de distintas empresas aceiteras de la zona (CARGILL, MOLINOS, RENOVA, LDC ARGENTINA), las cuales se fraccionaron en frascos de 250 ml y almacenaron a -15 °C para evitar su degradación. Las fracciones de muestras son retiradas del freezer un día antes de su uso para que estén totalmente descongeladas.

Los solventes estudiados con el objetivo de fluidizar las gomas son los siguientes:

- Alcoholes: Metanol, Etanol, Isopropanol (IPA), Butanol (BOH), 1-octanol, todos grado proanálisis, y Etanol 96 %p/p.
- Aceite neutro de soja y biodiesel cedidos por empresas productoras de biodiesel de la zona. El biodiesel usado, cumplía las normas de calidad vigentes.
- Otros: Hexanos, Heptano, Ciclo Hexano, Xileno, Tolueno, Acetonitrilo. Todos estos compuestos usados fueron grado proanálisis.
- Agua destilada.

3.2.2. Caracterización de las materias primas

Debido a la dependencia de la composición del residuo del desgomado con múltiples factores, es necesaria su caracterización a fines de poder comprender el efecto del solvente en estudio. Los métodos a utilizar para la determinación de la composición son los siguientes:

- %Agua: Análisis Dean Stark, que consiste en una destilación por arrastre de vapor con tolueno. Norma AOCS Ja 2-46.

- %Fosfolípidos: al ser un parámetro de gran importancia se realizará por medio de dos metodologías. Por un lado, se realizará el análisis de Material Insoluble en Acetona (AIM por su sigla en inglés), conforme a la norma AOCS Ja 4-46. Por otro lado, este valor se comparará con el obtenido mediante la norma AOCS Ca 12-55, la cual determina el contenido de fósforo de la muestra y éste se puede expresar como fosfolípidos multiplicando por un factor de $31,7 \pm 0,9$ (JAOS 55 1978 521).

- %Ácidos Grasos: por Titulación volumétrica siguiendo la norma EN 14104.

- %Aceite: se sacó por diferencia con las demás cantidades.

Todos los procedimientos correspondientes a estos análisis se presentan en detalle en el Anexo 1.

3.2.3. Análisis de fluidización

Para estudiar el efecto de diferentes solventes en la fluidización, se tomaron 10 g del residuo del desgomado, se precalentaron a 60 °C por 15 min, y seguidamente se agregó el solvente en estudio, iniciando la agitación. Se realizaron mezclas de residuo y solvente en proporciones del 20, 50 y 100 % v/p, y se estudió el uso de gomas y borras. La homogeneización se realizó en un vaso de precipitado tapado con un vidrio reloj por 30 min. La primera evaluación de la viabilidad del uso de cada solvente fue visual, buscando la obtención de una mezcla homogénea en el menor tiempo posible, a baja potencia de agitación y concentración de solvente.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.3.1. Experiencias preliminares

Siendo uno de los objetivos de esta tesis poder llevar adelante la hidrólisis enzimática o química de los residuos del desgomado de aceites, resulta necesario evaluar el comportamiento de los mismos frente al mezclado. Se debe tener en cuenta que tanto el biocatalizador como otros reactivos serán empleados en pequeñas proporciones (en el orden del 1 al 5 % aproximadamente) por lo cual se debe asegurar una buena condición de mezclado. En primera instancia se evalúa el comportamiento sin incluir la utilización de solventes. Para ello se ensayó una borra, la cual presenta una mayor fluidez que las gomas, y se empleó un agitador mecánico, manteniendo la temperatura a 55 °C. Rápidamente se notó un aumento de la viscosidad con la agitación, lo que ocasionó que la mezcla se adhiriera a las paredes del reactor y a las paletas del agitador, tal como se muestra en la Foto 3.1. Por otro lado, al cortar la agitación la viscosidad se redujo notablemente. Esto significa que, al igual que las gomas y la lecitina, las borras se comportan como un fluido no Newtoniano.



Foto 3.1: Foto del reactor de vidrio y las paletas del agitador cuando se puso a reaccionar el residuo del desgomado con las enzimas a 55 °C.

Debido a la existencia de estudios que muestran la relación entre el contenido de agua en el sistema y la viscosidad, se planteó el uso de agua como solvente. Esta sería una alternativa económica y además de fácil disposición final. Para ello se ensayaron una muestra de goma y una de borra, cuya composición promedio se muestra en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Distribución promedio de los compuestos presentes en las materias primas evaluadas en la fluidización con agua.

	% Fosfolípido	% Agua	% Aceite
Goma	42,70	38,05	18,80
Borra	29,74	48,20	22,33

En el caso de la goma no se logró fluidizarla con los porcentajes de agua evaluados, el cual se varió entre 20 y 100 %v/p referido a la goma. En el caso del agregado en altas concentraciones, parecía no lograr integrarse al sistema, mientras que cuando la dosificación fue baja contribuyó a incrementar la viscosidad. Entre los fosfolípidos que componen la mezcla, la PC y el PI son los mayoritarios. El primero presenta propiedades emulsionantes de aceite en agua (O/W) mientras que el segundo de agua en aceite (W/O). Sin embargo, la presencia de ambos puede formar emulsiones más complejas como de agua en aceite en agua (W/O/W) y de aceite en agua en aceite (O/W/O). Por otro lado, al cambiar la proporción del volumen de fases por el agregado de agua (o por cambio de temperatura o por adición de un electrolito) se puede dar la inversión de fases de una emulsión del tipo O/W al tipo W/O y viceversa. Es por ello que resulta sumamente complejo poder predecir el comportamiento de estas mezclas. De todas formas, hay estudios que reportan que el carácter prevaleciente de esta mezcla (gomas) corresponde a emulsiones del tipo W/O [10]. Eso explicaría que, al agregar menores concentraciones de agua al sistema, ésta sea incorporada a la emulsión, generando incluso un aumento en la viscosidad, posiblemente vinculado a la inversión de fases y también teniendo en cuenta la concentración de fosfolípidos que conforma esta fuerte emulsión (42,7 %). Por otro lado, al agregar agua en mayores concentraciones se llega a un punto en donde no se logra emulsionarla.

En el caso de la borra, ésta presenta una menor concentración de fosfolípidos y mayor contenido de agua que las gomas y por lo tanto las emulsiones formadas no son tan fuertes. Las mezclas con agua no presentaron problemas de fluidización, aun usando se agregó un 30 %v/p de agua. Sin embargo, como veremos más adelante, la polaridad del solvente juega un rol importante en las mezclas.

Una observación importante realizada durante este estudio, es que al tener la borra más tiempo almacenada, la fluidización con el agua se fue volviendo más dificultosa hasta llegando incluso a no ser posible. Es probable que haya algún proceso

de reacomodamiento de las micelas formadas que hacen que el agua no logre ingresar al sistema y fluidizarlo.

En resumen, el agua no permite fluidizar las gomas, y en el caso de las borras la fluidización es buena pero la condición varía con el tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, se concluye que no resulta conveniente el uso de agua desde el punto de vista de un proceso productivo a gran escala para fluidizar los residuos del desgomado con el objetivo de su posterior hidrólisis. Esto hace necesario encontrar un solvente adecuado para lograr la fluidización de los residuos.

3.3.2. Estudio del uso de solventes para la fluidización del residuo del desgomado del aceite

En esta sección se evalúan solventes para la fluidización del residuo del desgomado. Se usará una goma y una borra, dos materias primas que poseen composiciones distintas, y se buscará un disolvente que sea capaz de fluidizar ambas materias primas. En la Tabla 3.2 se muestra la composición promedio de los residuos a fluidizar.

Para poder entender el efecto de cada solvente se debe analizar la estructura de los residuos que se van a tratar. Un parámetro que muy importante es la polaridad del solvente y la de la mezcla a tratar. En el caso de las gomas, se debe tener principalmente en cuenta a los fosfolípidos, ya que estos representan un 68,58 %, y dentro de este grupo de compuestos, analizar la composición detallada, ya que cada uno de los fosfolípidos presentes tiene una característica distinta. En su conjunto las gomas van a tener un carácter polar de moderado a alto.

Tabla 3.2. Distribución promedio de los distintos compuestos presentes en las materias primas a evaluar la fluidización.

	%Fosfolípido	%H₂O	%Aceite	%FFA
Goma	68,58	24,04	4,31	1,31
Borra	21,65	48,09	23,38	6,88

En el caso de la borra, su componente mayoritario es el agua, con una composición cercana al 50 %, lo que indica que va a tener un carácter polar marcado. El

aporte que pueden hacer los fosfolípidos y su distribución no va a influir significativamente en la polaridad final. Por lo tanto, puede considerarse que las borras tendrán un carácter polar fuerte a moderado.

Por todo esto es de esperar que solventes de polaridad media a alta sean los más adecuados para fluidizar ambas materias primas. Sin embargo, dada la complejidad de la emulsión y la diferencia marcada de los compuestos que la conforman, se van a estudiar solventes de manera tal de abarcar un amplio rango de polaridades, tal cual se muestra en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Solventes utilizados en el estudio de fluidización del residuo del desgomado del aceite y su parámetro de polaridad.

Solvente	E_T^N
Ciclo Hexano	0,006
Hexano (Hx)	0,009
Heptano (Hp)	0,012
p-Xileno	0,074
Tolueno	0,099
Acetato de etilo	0,228
Acetato de butilo	0,241
Acetato de metilo	0,253
Acetonitrilo	0,460
1-octanol	0,537
Isopropanol (IPA)	0,546
Butanol (BOH)	0,586
Etanol (EOH)	0,654
Metanol (MeOH)	0,762
Agua	1,000

En la tabla se muestran el parámetro de polaridad propuesto por Dimroth y Reichardt [11], el cual está basado en la energía de transición de la mayor longitud de

onda de la banda de absorción solvatocrómica de un colorante (E_T^N). Se incluyen algunos ésteres como referencia.

Para el estudio de fluidización se colocó una alícuota de la materia prima a disolver en un vaso de precipitado tapado con un vidrio reloj y se la calentó en un baño termostático a 60 °C por 15 min. Luego se le agregó el solvente y comenzó la agitación magnética. En este punto se evaluó visualmente el comportamiento de la mezcla y se registró el tiempo que se tardó en obtener una mezcla homogénea. Si la fluidización no se lograba después de 30 min, se consideró que el solvente no es adecuado. De la misma manera, si se veía un incremento en la viscosidad indicada por la mayor potencia consumida por el agitador, se consideró al solvente como no adecuado para la fluidización.

El estudio se realizó evaluando los solventes de menor a mayor polaridad.

➤ Solventes de baja polaridad

Los primeros solventes evaluados fueron hexano, heptano y ciclo hexano, que poseen parámetros de polaridad casi nulos. En la Foto 3.2.A se muestra la disolución de una goma con 20 %v/p de hexano, observándose que no se logró fluidizarlo. En la foto 3.2.B se muestra el estudio de la borra con hexano. La borra sin agregado de solvente es más fluida que la goma debido al alto contenido acuoso. Luego del agregado del solvente no se obtiene una disminución en la velocidad de agitación. Se pudo observar al hexano suspendido como microgotas que muy lentamente se separaban de la emulsión. Este comportamiento se repitió con el heptano y el ciclo hexano. Esto reafirma que las borras tienen un carácter polar marcado, motivo por el cual solventes no polares no mejoran la fluidización del sistema.

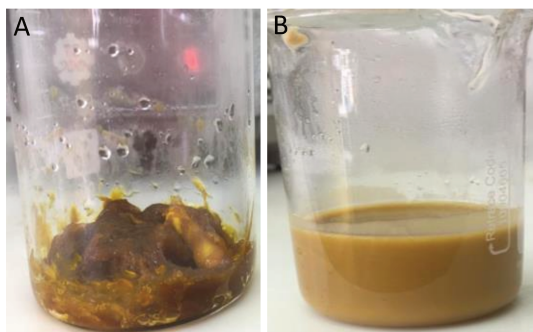


Foto 3.2. Estudio del uso de 20 %v/p de hexano en la disolución de **A:** una goma y **B:** una borra.

Según la lista mostrada en la Tabla 3.3 en forma ascendente de polaridad, continúan el tolueno y el xileno, con parámetros de polaridad de 0,074 y 0,099 respectivamente. En la Foto 3.3 se muestran los resultados de las pruebas de disolución de la goma (Foto 3.3.A) y la borra (Foto 3.3.B) con 20 %v/p de tolueno. Se puede observar que la fluidización de las gomas mejoró respecto del observado con los solventes antes evaluados, aunque quedaron aglomeraciones de gomas sin disolver y fue necesario aumentar al máximo la velocidad del agitador (1500 rpm) para favorecer el mezclado. Resultados similares se obtuvieron con el xileno motivo por el cual no se muestran las fotos. Con las borras se incrementó la viscosidad considerablemente, al igual que para las gomas, debiendo el agitador llevarse a máxima potencia. El incremento de la polaridad del solvente se tradujo en una leve mejoría respecto al caso anterior, pero sigue resultando ineficiente.

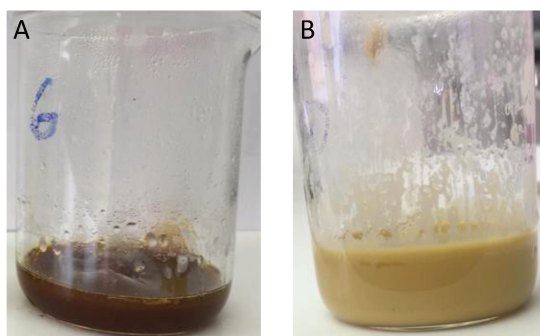


Foto 3.3. Estudio del uso de 20 %v/p de tolueno en la disolución de **A:** una goma y **B:** una borra.

➤ Alcoholes como solventes

De acuerdo a la Tabla 3.3, los alcoholes siguen en el orden de polaridad, con el isopropanol y el butanol con parámetros de polaridad de 0,546 y 0,586 respectivamente, seguidos por el etanol con 0,654 y por último el metanol con 0,762.

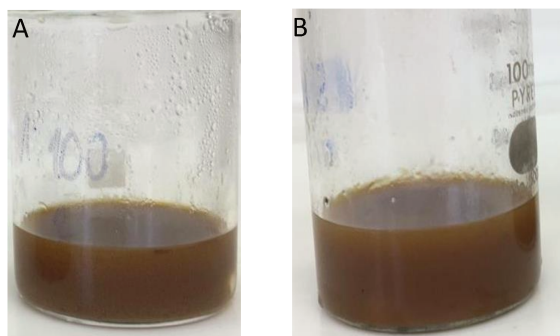


Foto 3.4. Disolución de la borra con 20 %v/p de **A:** isopropanol, **B:** butanol.

Tanto con el isopropanol como con el butanol se obtuvieron buenos resultados en la fluidización de la goma y de la borra. En la Foto 3.4 se muestra las mezclas resultantes cuando se fluidizó la borra con 20 %v/p de IPA (Foto 3.4.A) y 20 %v/p de butanol (Foto 3.4.B). Puede verse un cambio significativo respecto de los casos anteriores. Estos resultados fueron análogos a los obtenidos con la goma. Se puede concluir que estos alcoholes poseen polaridad adecuada para poder homogeneizar en forma correcta el residuo del desgomado, que como ya se mencionó posee un carácter polar.

A continuación, se evalúa el uso del metanol. En la Foto 3.5.A se muestra la disolución de la goma con 20 %v/p de MeOH y en la Foto 3.5.B, C y D la disolución de la borra con 20, 50 y 100 %v/p respectivamente. Se observa un comportamiento totalmente distinto dependiendo de la materia prima que se desee solubilizar. En el caso de la goma el metanol resulta adecuado, siendo suficiente un 20 %v/p para obtener una mezcla homogénea en forma rápida y sin requerimientos grandes de potencia en el agitador. Esto se atribuye no solo al carácter polar del metanol sino a la solubilidad parcial que este tiene en el aceite. Por otro lado, al utilizar igual dosificación de metanol con las borras no se logró su fluidización. Esto se atribuye al contenido acuoso elevado que tienen. El agua atrae al metanol con fuerza, reteniéndolo en el volumen de la fase sin dejar que cumpla su rol como solvente. Por este motivo se utilizaron mayores proporciones de metanol, del 50 y 100 %v/p. En estas condiciones al haber un exceso de metanol, si bien parte es atraído por el agua del sistema, otra parte logra fluidizar la emulsión, lo cual se reflejó en una rápida homogeneización y bajos requerimientos de potencia en el agitador.

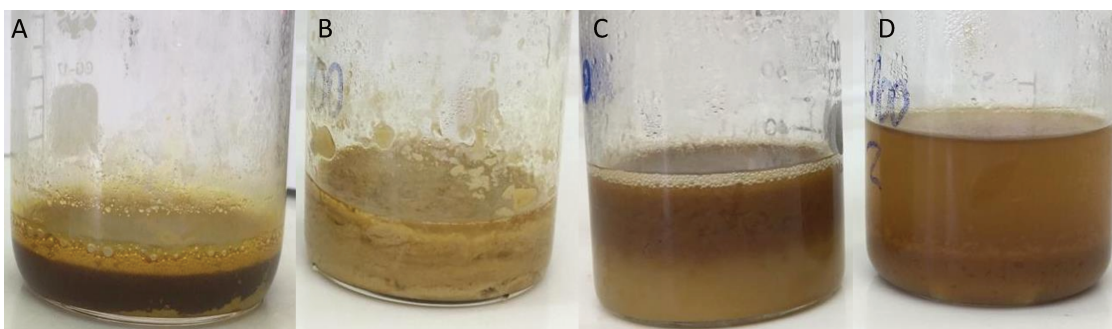


Foto 3.5. Disolución de: **A:** una goma con 20 %v/p MeOH, **B:** una borra con 20 %v/p, **C:** 50%v/p y **D:** 100%v/p MeOH.

De igual forma se procedió con el EtOH. En la Foto 3.6 se muestra la solubilización de **A**: la goma y **B**: la borra con 20 %p/p del alcohol. El etanol tiene una polaridad menor a la del metanol, y posee una mayor solubilidad en el aceite, por lo que esto explicaría que logra fluidizar correctamente ambos residuos en pocos minutos y sin grandes requerimientos de potencia en el agitador. La solubilidad del etanol en ambas fases (oleosa y acuosa) genera un aumento de la solubilidad mutua de los compuestos del sistema y por este motivo, logra fluidizar fácilmente tanto a la borra como a la goma. Esto hace que el etanol sea un buen solvente no solo porque es apto para ambos residuos, sino también por su bajo costo, no es tóxico como el metanol, y además es renovable.

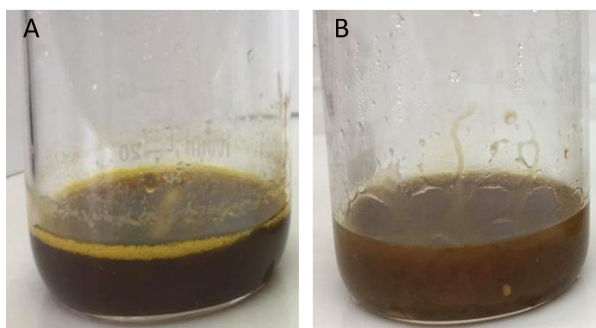


Foto 3.6. Disolución del residuo del desgomado del aceite con 20 %p/p de EtOH en la fluidización de **A**: una borra y **B**: una goma.

Se realizó una prueba adicional usando un alcohol con una cadena carbonada más larga, como es el 1-octanol. Se hicieron pruebas con la goma y la borra a las cuales se les agrego un 20 %v/p de dicho alcohol. En ambos casos no se logró la homogeneización del residuo, por el contrario, se incrementó considerablemente la viscosidad. Esto se debe a que, comparados a los otros alcoholes ensayados, al incrementar la cadena carbonada baja la polaridad, y como ya se vio anteriormente existe un límite por debajo del cual no se logra la homogeneización.

➤ Acetonitrilo como solvente

Por último, se ensayó el acetonitrilo, el cual posee un parametro de polaridad de 0,460. En la Foto 3.7 se muestra la disolución de A: la goma y B: la borra con 20 %v/p del solvente. Los resultados obtenidos en este punto son interesantes ya que permite ver la diferencia en la polaridad de los dos residuos. En la Foto 3.7.A se observa como la goma, la cual tiene un carácter polar moderado, repelió al solvente que posee un

carácter polar medio/alto, lo que concuerda con la descripción de la estructura de las gomas antes dada. En el caso de la borra, la cual se dijo que tenía un mayor carácter polar debido al alto contenido acuoso, tuvo una buena disolución. En conclusión, el acetonitrilo no sería adecuado para la fluidización de las gomas.

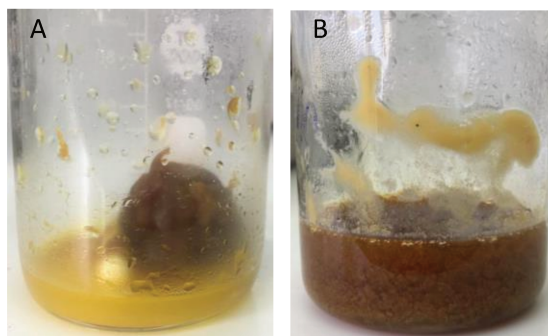


Foto 3.7. Disolución con 20 %v/p de acetonitrilo de **A:** Goma, **B:** Borra.

➤ Ésteres como solventes

Dada la naturaleza del residuo del desgomado y los objetivos planteados para su aprovechamiento, se estudió el uso de aceite y metilester (biodiesel), como solventes. En la Foto 3.8 se muestra la fluidización de una goma y una borra con distintas cantidades de aceite y biodiesel. No se dispone de los valores de índice de polaridad ni del parámetro empírico de polaridad relativa E_T^N , por lo que se incluyeron en la tabla estos valores para algunos ésteres de cadena corta. Puede verse que la polaridad de estos compuestos se ubica entre la del tolueno y la del acetonitrilo, que es 0,46.

En el caso del biodiesel, fue necesario agregar un 100 %v/p respecto de la goma para fluidizarla, lo que se muestra en la Foto 3.8.A. En el caso de la borra, con 20 %v/p se logró una correcta homogeneización, a expensas de un incremento en la velocidad de agitación. La Foto 3.8.E muestra como quedó el sistema luego de la mezcla con biodiesel. Esta buena fluidización del residuo del desgomado del aceite está asociado al carácter polar que posee el grupo éster y al no polar de la cadena carbonada. En el caso de la borra al tener un menor porcentaje de fosfolípidos forma una emulsión débil que fácilmente puede ser distribuida en el solvente, mientras que la goma al tener mayor cantidad de fosfolípidos forma una emulsión más estable, lo que requiere una mayor proporción de biodiesel para fluidizarla.

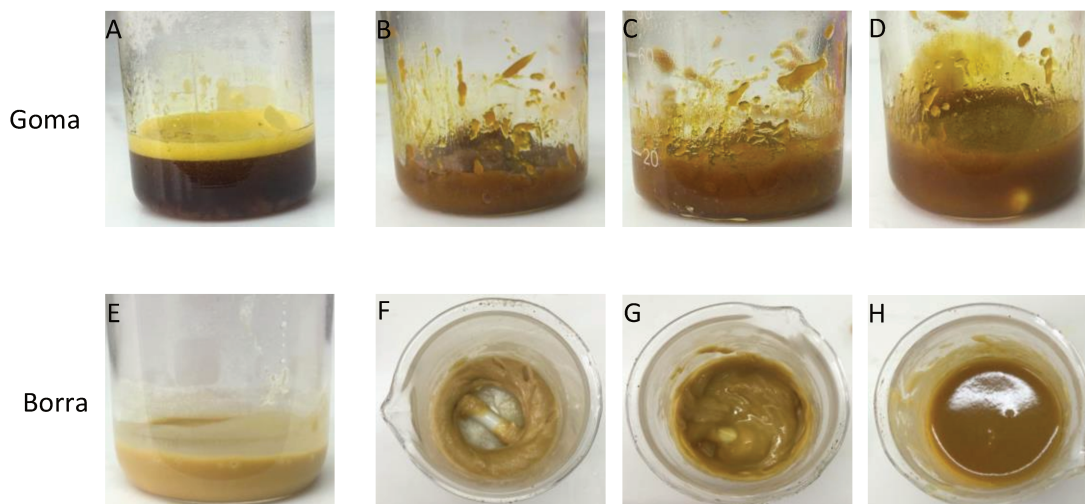


Foto 3.8. Disolución del residuo del desgomado del aceite. Gomas con **A:** 100 %v/p de biodiesel; **B:** 20 %v/p; **C:** 50 %v/p; **D:** 100 %v/p de aceite. Borra con **E:** 100 %v/p de biodiesel; **F:** 20 %v/p; **G:** 50 %v/p; **H:** 100 %v/p de aceite.

Utilizando aceite al 20 %v/p no se logró fluidizar correctamente ninguna de las dos materias primas (Foto 3.8 B y F), y tampoco al usar un 50 %v/p (Fotos 3.8 C y G). Para obtener una mezcla fluida se requirió un 100 %v/p de aceite (Fotos 3.8 D y H), sin embargo, la mezcla no tiene una apariencia homogénea. El carácter poco polar del aceite es el responsable de este comportamiento. A pesar de esto, durante la agitación se vio una redistribución de la mezcla y la eliminación de grandes grumos del residuo, lo que indicaría que el aceite es adecuado a los fines de romper la estructura de la emulsión.

3.4. CONCLUSIONES

En este capítulo se abordó el estudio de una serie de solventes para la fluidización del residuo del desgomado acuoso (gomas), y ácido (borras) del aceite de soja. Se determinó que aquellos compuestos de polaridad baja a nula, como el hexano, heptano, ciclo hexano, tolueno y xileno, no son aptos, debido al carácter polar que tienen las materias primas a tratar. Por el contrario, los solventes de alta polaridad como el agua, y el acetonitrilo tampoco logran fluidizarlos.

Los alcoholes, con índices de polaridad intermedios, resultan ser los más adecuados para fluidizar estos residuos. Los alcoholes con cadena carbonada largas, como el 1-octanol, y que tienen por lo tanto menor polaridad no son adecuados,

mientras que los alcoholes de cadena corta funcionaron satisfactoriamente. Entre estos el etanol es el más indicado, no solo porque logra fluidizar fácilmente ambos residuos, sino porque puede producirse a partir de biomasa, es de baja toxicidad y costo relativamente bajo. Desde el punto de vista de un escalado a nivel industrial, el más indicado sería el metanol debido a que ya es utilizado en la biorefinería para producir biodiesel, motivo por el cual no se descarta su uso. Con este mismo criterio también se ensayó el uso de aceite y biodiesel en la fluidización de estos residuos con buenos resultados de fluidización.

Debido a que las características de la materia prima a fluidizar son muy variables, siendo función del clima, zona del cultivo, tecnología empleada en el proceso de desgomado, entre otras, es necesario realizar previamente una prueba de fluidización, para optimizar la concentración de solvente a utilizar.

No obstante, se ha logrado un muy buen marco de referencia para la selección del solvente y su rango de concentración necesario para fluidizar las borras y las gomas.

3.5. REFERENCIAS

- [1] P. Sartoretto. "Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical, Technology," 2nd Edition, Vol. 12, Interscience Publishers, New York, 1967, pp. 343-361.
- [2] W. Van Nieuwenhuyzen. JAOCS 53 (1976) 425.
- [3] W.J. Wolf, D. Sessa. "Encyclopedia of Food Science," edited by M.S. Peterson and A.H. Johnson, AVI Publishing CO., Inc" Westport, CT, 1978, pp. 461-467.
- [4] A. J. Muratorio, C. A. Kerlakian. Aceites y Grasas 2 (2004) 316-323.
- [5] A&G, Desgomado enzimático de aceites de vegetales. Comparación de diferentes procesos, tomo XX, vol. 2 204-212, 2010.
- [6] A. J. Dijkstra. Aceites & Grasas N°52, Junio 1994.
- [7] W. Van Nieuwenhuyzen, M. C. Tomás. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110 (2008) 472-486.
- [8] W. Van Nieuwenhuyzen. J. AM. OIL CHEMISTS' SOC. 53 (1976) 425-427.
- [9] D. Lambourne, G. H. Covey, E. Chai, D. Dunstan. JAOCS, 76 (1999).
- [10] M. C. Tomás. Curso: Lecitinas y sus aplicaciones tecnológicas. Asociación Argentina de grasas y aceites (ASAGA). 22 de septiembre - 22 de octubre 2021.
- [11] K. Dimroth, Ch. Reichardt, T. Siepmann and F. Bohlmann, Liebigs. Ann. Chem., 1 (1963) 661-664.



CAPÍTULO 4

HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

En este capítulo se estudia la hidrólisis enzimática del residuo del desgomado del aceite usando una mezcla de enzimas comerciales compuesta por Fosfolipasa C y A2. Los parámetros o condiciones de reacción que se estudiaron fueron la temperatura de reacción, el tipo de agitador empleado, las proporciones de materia prima y solvente, la concentración de enzimas y el contenido acuoso.

4.1 INTRODUCCIÓN

Los aceites vegetales contienen una diversidad de compuestos, junto a los triglicéridos, que deben ser extraídos a fin de mejorar su calidad para uso alimenticio o para la industria del biodiesel, entre los que se destacan los fosfolípidos. El contenido de fosfolípidos en el aceite típicamente se encuentra en el rango de 1 a 2,9 % en peso. Recordando lo descrito en capítulos anteriores, las “gomas” (del desgomado acuoso) contienen aproximadamente 40 % de agua, 38 % de fosfolípidos, 20 % de aceite y otras impurezas [1-3], y se encuentran formando una emulsión muy consistente [4]. En cuanto a las “borras” (del desgomado ácido) suelen tener una consistencia más fluida que las anteriores, debido a su menor contenido de fosfolípidos y mayor de agua (aproximadamente 50 % de agua, 20 % de aceite, 25 % de fosfolípidos, 5 % de jabones y sales provenientes del ácido empleado en dicha etapa, típicamente fosfórico).

Los fosfolípidos encontrados como componentes mayoritarios del residuo del desgomado son del tipo de los derivados del glicerol, con dos cadenas de ácidos grasos, y una unión establecida por un grupo funcional con fósforo (éster orto-fosfórico). A este grupo se unen bases nitrogenadas y otros grupos derivados de alcoholes, formando un fosfodiéster. En el Capítulo 1 se mostró la estructura de los distintos fosfolípidos presentes en el aceite de soja: fosfatidilcolina (PC), fosfatidil-etanolamina (PE), fosfatidil-inositol (PI) y el ácido fosfatídico (PA). En la Tabla 4.1 se presenta su distribución promedio dentro de la fracción del desgomado acuoso (gomas) [5]. En menores composiciones se encuentran las formas degradadas de los fosfolípidos, denominadas liso-fosfolípidos [6], las cuales carecen de una de las cadenas de ácido graso.

Tabla 4.1: Distribución porcentual de los fosfolípidos en el residuo del desgomado acuoso del aceite de soja.

Fosfolípido	Porcentaje (%)
PC – fosfatidilcolina	38-41
PI – fosfatidilinositol	22-26
PE - fosfatidiletanolamina	21-25
PA – ácido fosfatídico	5-11

Como se comentó anteriormente, el residuo del desgomado ya no puede utilizarse en gran volumen para ser reinyectado en las harinas debido a la disminución en la carga proteica en el poroto de soja. En menor volumen es utilizado en otras aplicaciones, principalmente para la producción de lecitina, que se obtiene luego de una etapa de secado, y es empleada como emulsionante en la industria alimenticia, farmacéutica, cosmética, plásticos, pinturas, recubrimientos, pesticidas, petróleo, etc. No obstante, este producto ha perdido valor debido a su sobreoferta. Un uso alternativo para el residuo es recuperar la fracción lipídica del mismo, y para ello la metodología empleada hasta el momento se basa en una hidrólisis en presencia de un ácido fuerte, como el sulfúrico. Este tratamiento es muy agresivo, y produce deterioro de los sólidos remanentes que luego no tienen destino, además de problemas de corrosión y emisión de olores debido a la producción de aldehídos, aminos y otros derivados. Esto constituye un serio problema ambiental, además de generar residuos complicados de disponer.

Existe una tendencia general a estudiar el uso de enzimas como alternativa a los procesos químicos, dado que ofrecen especificidad, condiciones de reacción suaves y a menudo, una solución más limpia para procesos industriales, haciéndolas amigables al medio ambiente. Es bien conocida la existencia de enzimas capaces de actuar sobre los fosfolípidos (de nombre trivial fosfolipasas), que podrían ser utilizadas para la recuperación de la fracción lipídica del residuo del desgomado.

En función del sitio de hidrólisis, las fosfolipasas se clasifican en A1, A2, C o D, actuando cada una en un enlace específico tal como se muestra en la Figura 4.1. Una enzima que escinde un fosfolípido en la posición sn-1 se llama fosfolipasa A1 (PLA1), y la que lo escinde en la posición sn-2, fosfolipasa A2 (PLA2). La fosfolipasa B (PLB) lo hace en ambas posiciones sn-1 y sn-2. La fosfolipasa C (PLC) hidroliza el enlace fosfodiéster en el esqueleto del glicerol dando lugar a un diacilglicerol (DG). En

cambio, si la enzima hidroliza el lado del fosfodiéster para que el grupo fosfato permanezca en el esqueleto de glicerol, recibe el nombre de fosfolipasa D (PLD) [7].

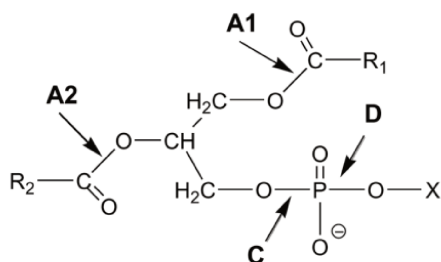


Figura 4.1. Sitio de corte de las diferentes fosfolipasas.

En esta tesis se evalúa una mezcla de enzimas PLC/PLA2 comercial. La fosfolipasa C es un tipo de enzima hidrolítica que puede hidrolizar el enlace entre el acilglicerol y el grupo fosfato de los fosfolípidos, liberando diglicérido (DG). Por lo tanto, se tomará este compuesto de referencia para evaluar la actividad enzimática. Otra característica muy importante, es que esta enzima presenta una especificidad de acción sobre PC y PE, careciendo de actividad para la hidrólisis de PI y PA [8, 9]. Por otro lado, la fosfolipasa A2 escinde un fosfolípido en la posición sn-2 formando un ácido graso y un lisofosfolípido, siendo el primero el compuesto a seguir para evaluar su desempeño.

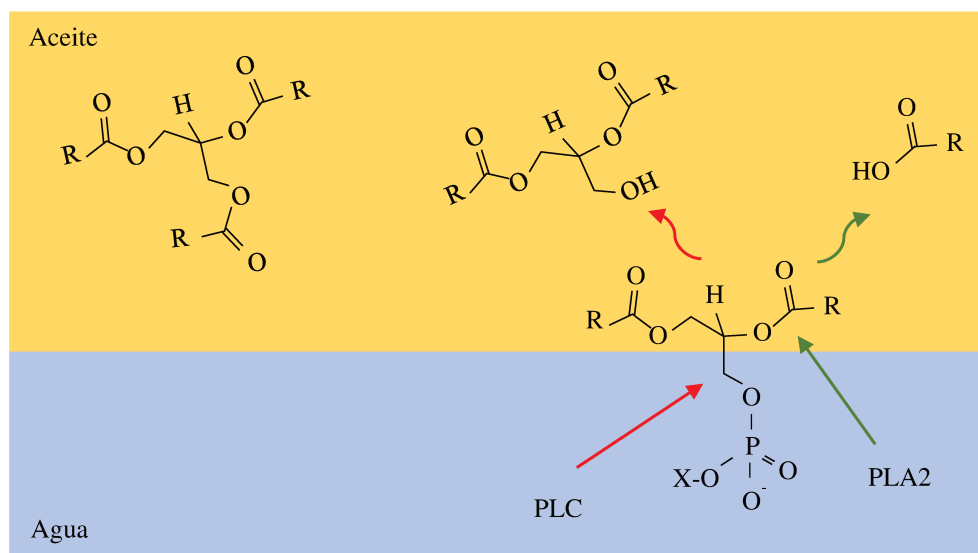


Figura 4.2. Esquema de reacción en la interface de la mezcla entre un fosfolípido y una mezcla enzimática de PLC/PLA2.

La reacción catalizada por fosfolipasas tiene lugar en la interface ubicada entre la fase acuosa que contiene la enzima y la fase oleosa que contiene aceite y fosfolípidos, lo que significa que la reacción está muy ligada al área interfacial. En la Figura 4.2 se muestra en forma esquemática donde se ubica la enzima y cómo actúa en la mezcla de reacción.

En los últimos años se han reportado varios estudios en los que emplean distintas enzimas en el proceso de desgomado de aceites, en busca del reemplazo total o parcial del desgomado acuoso convencionalmente empleado para diferentes tipos de aceites: girasol [11], colza [12], camelia [13] y soja [14, 9]. Además, varias plantas industriales, como la de Molinos Rio de la Plata, han adaptado su proceso de desgomado para el uso de enzimas. Sin embargo, no se reporta su uso en forma directa sobre el residuo del desgomado. En esta tesis se abordará el estudio de la hidrólisis enzimática de los residuos producidos en el desgomado del aceite de soja.

4.2. EXPERIMENTAL

4.2.1. Reacción de hidrólisis enzimática

La reacción se lleva a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch con reflujo, en un baño termostático a diferentes temperaturas de trabajo (40-55 °C) y con agitación magnética o mecánica por 90 min. En el caso de la agitación mecánica, se utilizó un mezclador IKA® Ultra-Turrax T25 digital. Una vez finalizada la reacción, la mezcla se centrifugó, habiéndose obtenido en todas las experiencias 2 o más fases.

Como materias primas se utilizaron:

- residuos provenientes del desgomado acuoso del aceite (gomas): fosfolípidos ~40 %, aceite ~20 %, agua ~40 %;
- residuos del desgomado ácido (burras): fosfolípidos ~25 %, aceite ~20 %, agua ~50 %
- gomas secas (lecitina); fosfolípidos ~60 %, aceite ~39 %, agua <1 %.

Estas muestras fueron obtenidas de empresas de la región.

Las enzimas comerciales estudiadas son marca Purifine® (de la firma DSM) y contienen prioritariamente fosfolipasa C (PLC) con una actividad de 16900 U/g, con 750 mg de proteína/500 ml de cultivo. El fabricante reporta la presencia de la fosfolipasa A2 (PLA2) en la mezcla de enzimas, sin reportar la concentración ni su actividad, por lo que se estima que se encuentra en bajas concentraciones y su presencia está asociada al proceso de producción y purificación de la PLC. La cantidad de solución de enzimas utilizada, referida a la masa total de reacción se varió desde un 0,02 %p/p hasta un 4,5 %p/p aproximadamente, dependiendo del tipo de materia prima utilizada (gomas, borras o lecitina).

Se estudiaron como solventes biodiesel y aceite neutros cedido por una empresa de la zona. Se varió su dosificación de 0-100 %p/p referido a la masa del residuo del desgomado.

4.2.2. Caracterización de la materia prima

Los distintos tipos y lotes de materias primas fueron caracterizadas determinando los siguientes parámetros:

- Material insoluble en acetona (AIM): según norma AOCS Ja 4-46. El método se basa en extracciones sucesivas con acetona de una cantidad conocida de muestra, teniendo en cuenta que los fosfolípidos son insolubles en este solvente. Los fosfolípidos se expresan como %p/p.
- Ácidos grasos libres: según norma UNE-EN 14104, la cual contempla la disolución de una cantidad conocida de la muestra y posterior titulación con hidróxido de potasio o sodio. Los ácidos grasos se expresan como gramos de ácido oleico por cada 100 gramos de muestra.
- Humedad: siguiendo la norma AOCS Ja 2-46. La misma utiliza el método de Dean-Stark, que consiste en una destilación por arrastre con vapores de tolueno. El agua presente en la muestra se expresa como %p/p.
- Aceite: el aceite presente en la muestra se saca por diferencia con los otros elementos cuantificados (fosfolípidos y agua).
- Contenido de fosfolípido y P: el contenido de fósforo en muestras orgánicas puede determinarse por la norma AOCS Ca 12-55, basada en la formación de

un complejo de molibdato cuya absorción es medida en un espectrofotómetro. Este valor medido como fósforo elemental se puede expresar como fosfolípidos multiplicando por un factor de $31,7 \pm 0,9$ (JAOS 55 1978 521) [15].

Los procedimientos seguidos en estos análisis se presentan en forma detallada en el Anexo 1.

4.2.3. Toma de muestra y análisis

Luego de la etapa de centrifugación de la muestra tomada de la reacción, se obtienen dos fases, una fase acuosa (Fac) y otra oleosa (FO). En la Fac se encuentra el agua proveniente de la materia prima y la solución de enzimas agregadas, y las fracciones con el grupo fosfátido cortadas de los fosfolípidos. Por otro lado, la FO retiene productos de reacción como los diglicéridos (DG) y ácidos grasos (FFA), y el aceite (Triglicéridos –TG) presente originalmente en la emulsión de partida y el solvente (ya sea aceite o biodiesel).

A la fase oleosa se le analizaron las siguientes propiedades para determinar el grado de avance de la reacción:

- Ácidos grasos libres: siguiendo la norma UNE-EN 14104, como se describió en la sección 4.2.2.
- Contenido de glicéridos (MG, DG y TG): se analiza mediante cromatografía gaseosa según lo descrito por las normas ASTM D 6584 y UNE-EN 14105 adecuadas al rango de concentraciones requeridas en este caso.
- Contenido de fosfolípido y P: midiendo el contenido de P según la norma AOCS Ca 12-55, como se mencionó en la sección 4.2.2.
- Material insoluble en acetona (AIM): según norma AOCS Ja 4-46, descrito en la sección 4.2.2.

4.2.4. Evaluación de la actividad enzimática

Periódicamente se determinó la concentración proteica de la solución comercial de enzimas, mientras que la actividad enzimática se evaluó en la hidrólisis de un

compuesto modelo (nitrofenilfosfocolina) y de los fosfolípidos en un aceite crudo. Los dos primeros análisis se realizaron con la colaboración de especialistas del Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (IAL) – UNL/CONICET.

➤ *Determinación de la concentración proteica – Método de Bradford*

La determinación de la concentración proteica es una de las formas de cuantificar la cantidad de enzimas que tiene la muestra, sin poder determinar cuántas presentan actividad. La medición se realizó siguiendo el “método de Bradford”, el cual es una técnica colorimétrica, que se basa en el cambio diferencial del color de un colorante en respuesta a distintas concentraciones de proteínas. El reactivo utilizado para este proceso habitualmente se lo denomina "Reactivo de Bradford".

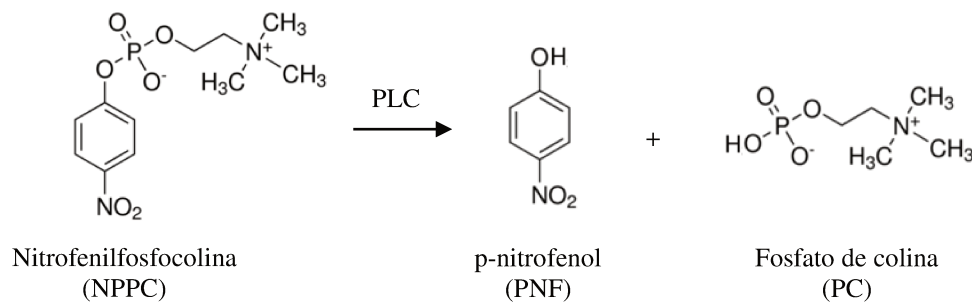
Para el análisis se preparó una mezcla de 20 µL de la solución enzimática y 180 µL de agua grado miliQ. Se realizaron varias diluciones de la muestra de manera tal de que entren en una curva de calibrado realizada previamente. A cada una de las diluciones formadas se les agrego el reactivo de Bradford y solo se procesaron las que dieron un color más claro, de manera de obtener un valor de absorción dentro de la curva de calibrado. Para la medición de la absorbancia se empleó un equipo UV Boeco 526, con una lectura a 526 nm.

La determinación de la concentración proteica, se realiza mediante la ecuación 4.1, en donde el factor está dado por la curva de calibrado y corresponde al valor de 0,132 mg/ml.Abs, siendo la absorbancia la leída en el equipo y la dilución es la que corresponde a la muestra medida.

$$\text{Conc total de proteina} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{factor} \cdot \text{Abs}}{\text{dilución}} \quad (\text{Ec 4.1})$$

➤ *Actividad enzimática - Hidrólisis de la nitrofenilfosfocolina*

El test de actividad consistió en medir la absorbancia de las mezclas de reacción de la nitrofenilfosfocolina (NPPC) con distintas concentraciones de la mezcla enzimática. Como producto se obtiene el p-nitrofenol (PNP), al cual se le atribuye la absorbancia medida. En el Esquema 4.1 se muestra la reacción en estudio.



Esquema 4.1: Hidrólisis enzimática del nitrofenilfosfocolina

El análisis consiste en medir la absorbancia de las mezclas de reacción que se encuentra en una serie de cubetas con distintas concentraciones de enzimas. Para ello se prepararon 7 cubetas con la mezcla reaccionante y una octava con un blanco. Se parte de una solución de 10 μL de la muestra enzimática en 25 μL de agua miliQ, de la cual se replica para la siguiente cubeta con una dilución 1/20, luego 1/40 y así sucesivamente. A cada una se le agregan 10 mM del NPPC, lo cual representó 5 μL .

La reacción se evaluó a dos pH distintos, midiéndose la absorción con un equipo UV Boeco 526. Cuando el pH fue de 8 la especie presente fue PNP en su forma iónica (PNP^-) y la absorbancia a la cual se hicieron las mediciones fue 405 nm. Por otro lado, se trabajó con un pH 6 en el cual estaban las dos especies presentes PNP/ PNP^- y se usó una medición a 340 nm. El pH de la solución se reguló mediante el agregado 100 mM de buffer (HEPES).

El cálculo de la actividad se determinó mediante la ecuación 4.2.

$$\Delta\epsilon_R \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{min mg}_{\text{ENZ}}} \right) = \frac{\left(\frac{\text{Abs}}{\text{min}} \right)_{\text{med}} \cdot \frac{1}{f \cdot b} \cdot V_R \cdot \frac{1}{\text{dil}}}{C_p \cdot V_{m\epsilon}} \quad (\text{Ec 4.2})$$

Con: f ($\text{m M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): factor que depende de la absorbancia. 0,2 para 340 nm y 0,37 para 405 nm; dimensiones de las cubetas: b : 0,5253 cm, V_R : 0,05 ml y $V_{m\epsilon}$: 0,01 ml; C_p : 15,68 mg/ml.

➤ *Actividad enzimática - Hidrólisis de los fosfolípidos en un aceite crudo*

En este estudio se siguieron las recomendaciones dadas por el fabricante para la determinación de la actividad enzimática. Las mismas consisten en tomar 250 g de aceite crudo de soja y reaccionarlo con 200 ppm de la mezcla enzimática a 55 $^{\circ}\text{C}$ por 45

min. Finalizado el tiempo, las muestras se centrifugan y se mide el contenido de fósforo elemental según norma AOCS Ca 12-55 (Ver Anexo 2.1) a la fase oleosa.

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Experiencias preliminares

Para estudiar la factibilidad de la hidrólisis enzimática del residuo del desgomado del aceite se realizaron tres experiencias agregando 0; 0,03 y 0,12 %p/p de la solución de enzimas PLC/PLA2. Las reacciones se realizaron en un reactor de vidrio con agitación mecánica, termostatzado a 55 °C por 90 min, utilizando una *borra* cuya composición promedio fue la siguiente:

Fosfolípido	Agua	Aceite	FFA
26,95 %	39,90 %	24,57 %	8,53 %

Finalizado el tiempo de reacción las muestras se centrifugaron y a la fase superior se le determinó el contenido de glicéridos por cromatografía gaseosa y la acidez por medio de titulación. En la Tabla 4.2 se muestran los valores obtenidos de esta determinación y en la Foto 4.1 las mezclas de reacción luego de ser centrifugadas. Las concentraciones de los glicéridos y de los ácidos grasos no muestran cambios significativos. Además, la Foto 4.1 muestra que en las mezclas de reacción obtenidas agregando 0, 0,03 y 0,12 %p/p de enzimas, la fracción de fase oleosa (superior) referida a la fase inferior (rica en gomas que queda sin reaccionar) es pequeña. Se debe tener en cuenta que el contenido de agua de esta borra, tal como se indicó más arriba, es de casi 40%, mientras que en la Foto 4.1 la proporción de fase inferior supera claramente el 50%.

La baja actividad del biocatalizador en las condiciones de reacción usadas puede explicarse relacionando el origen de la materia prima con la especificidad de las enzimas. El residuo empleado fue el proveniente de la segunda etapa de desgomado, en el cual se extraen mayoritariamente la PE y el PA, fosfolípidos no hidratables, y la PC y el PI que quedaron sin extraer en la primera etapa, por lo que es un producto rico en PE y PA. La enzima PLC presenta especificidad a la PC y PE, siendo activa solo parcialmente sobre la última [16]. Por lo tanto, teniendo en cuenta la composición de la

materia prima, es de esperar una actividad limitada de la PLC. En lo que concierne a la PLA2, la cual puede hidrolizar todos los fosfolípidos presentes en la borra, presenta la desventaja de que está en muy bajas concentraciones. Esto explica por qué la concentración de los ácidos grasos no se modifica sustancialmente.

Tabla 4.2: Distribución de los productos de reacción, usando distintas dosificaciones de enzimas.

Enzimas	MG	DG	TG	FFA
0 %p/p	0,4	5	11,04	52,5
0,03 %p/p	0,30	5,56	17,06	54,01
0,12 %p/p	0,32	5,54	20,16	55,74

Los valores son expresados como gramos de producto cada 100 gramos de fase superior (%p/p).

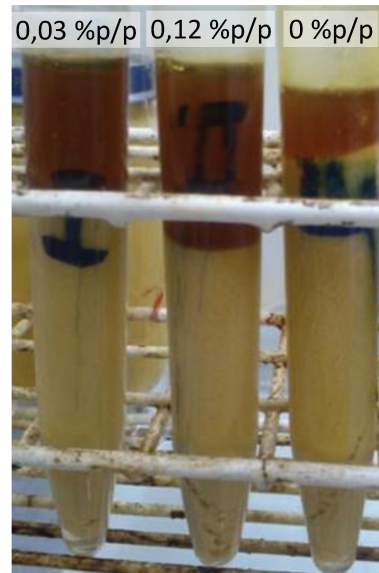


Foto 4.1: Mezcla de reacción de una borra con distintas concentraciones de enzimas a 55 °C por 90 min.

Por último, al analizar los TG podemos notar que, si bien una fracción de éstos se recupera como consecuencia de la acción de la enzima sobre los fosfolípidos y éste desestabiliza en alguna medida la emulsión, casi la mitad del aceite recuperado es debido a la separación centrífuga de la mezcla de las borras (experiencia sin agregado de enzimas).

Estos resultados indican que el uso de la enzima comercial en estudio, para el tratamiento de las borras no sería adecuado, debido a la dificultad que presenta para actuar sobre la borra, principalmente por la composición de los fosfolípidos.

A continuación, se ensayó el residuo del desgomado de aceite obtenido en la primera etapa, lo que comúnmente se denomina gomas. La reacción se realizó en un reactor de vidrio con agitación mecánica, termostatzado a 55 °C por 90 min, con 0,2 y 1,5 %p/p de la solución de enzimas comercial PLC/PLA2 y una *goma* cuya composición promedio fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
37,0 %	39,9 %	14,57 %	8,53 %



Foto 4.2. Mezcla de reacción de una goma con 0,2 %p/p de una solución de enzimas PLC/PLA2 con agitación mecánica a 55 °C por 90 min.

Al utilizarse 0,2 %p/p de la solución de enzimas PLC/PLA2 no se obtuvo un buen mezclado. La fluidización fue buena al inicio, pero durante la agitación la viscosidad aumentó produciendo un aglomeramiento de la mezcla en las paletas del agitador y las paredes del recipiente, como se muestra en la Foto 4.2. Al dejar reposar la muestra durante un día, la viscosidad baja significativamente, pero al ponerla nuevamente en un baño a 55 °C y agitación la situación se repite observando un aumento de viscosidad. Esto claramente demuestra su carácter de fluido no Newtoniano.

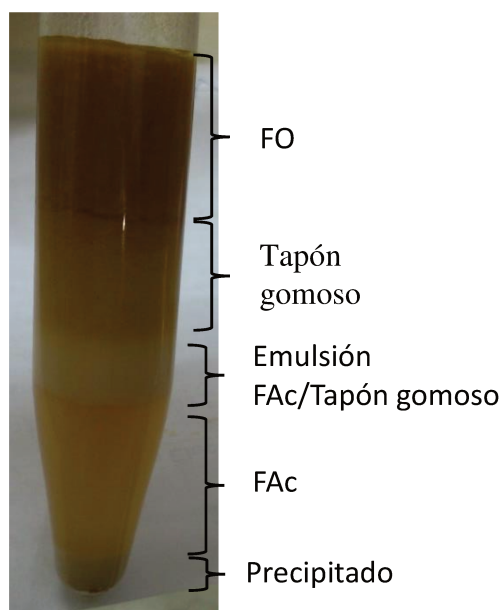


Foto 4.3. Mezcla de reacción de una goma con 1,5 %p/p de una solución de enzimas PLC/PLA2 con agitación mecánica a 55 °C por 90 min.

Al usar 1,5 %p/p de enzimas no se observaron los problemas de fluidización antes mencionados. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se centrifugó, observándose la formación de 4 fases, tal cual se muestra en la Foto 4.3. La fase

superior de apariencia oleosa (FO), la siguiente gomosa que se atribuye a los fosfolípidos sin reaccionar (tapón gomoso), otra acuosa (FAC) y por último un precipitado. No se ven diferencias significativas entre la FO y el tapón gomoso, teniendo las dos una apariencia muy viscosa, lo que nos indica la presencia de fosfolípidos sin reaccionar en la FO.

La fase oleosa contenía un 36 %p/p de FFA, 22,6 %p/p de triglicéridos y un 5,5 %p/p DG, restando un 35,9 %p/p que corresponde a fosfolípidos y liso-fosfolípidos sin reaccionar, los cuales son los responsables de la viscosidad de la fase oleosa.

En la Figura 4.3 se presenta un extracto de un cromatograma, para una mezcla de reacción A: con agregado de enzimas, y B: sin enzimas. En la zona media de la figura se identifican los picos correspondientes a los fosfolípidos presentes en la mezcla B (sin agregado de enzimas), mientras que para el cromatograma de la mezcla A se identifican los picos correspondientes a diglicéridos (producto de reacción) y fosfolípidos (reactivo). Se puede observar que se da la superposición parcial de dichos picos, lo cual solo permite un análisis cualitativo y semicuantitativo, valorando los resultados comparativos entre las distintas experiencias y no como valores absolutos.

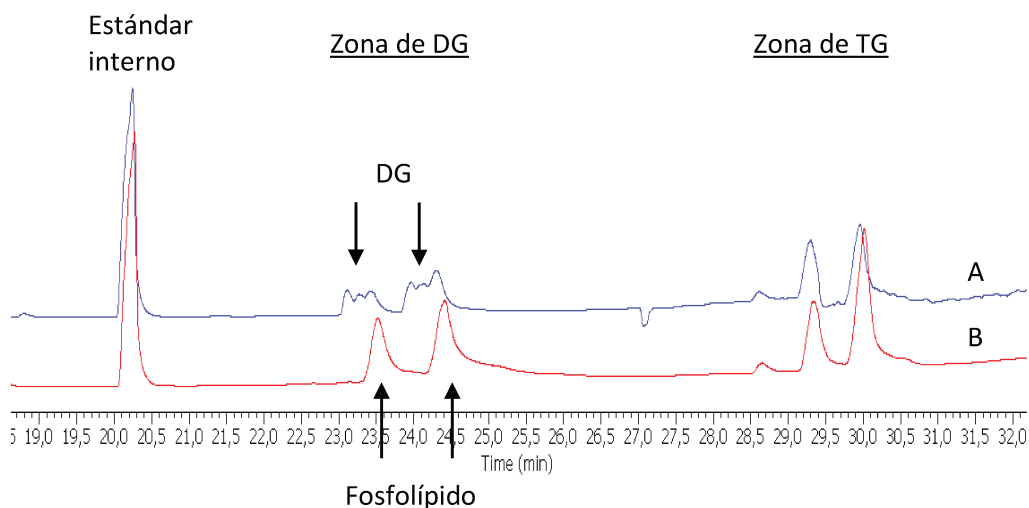


Figura 4.3: Cromatograma de una mezcla de reacción **A:** con agregado de enzimas, y **B:** sin agregado de enzimas.

La reacción catalizada por fosfolipasas estará muy ligada al área interfacial de la emulsión en sí y de la mezcla con la solución enzimática, y ello dependerá fuertemente de la condición del mezclado. Es por esto que se estudió el uso de solventes para mejorar el contacto entre las fases y aumentar la conversión.

4.3.2. Efecto del solvente en la actividad enzimática

En el Capítulo 3 se evaluaron diferentes solventes y se determinó cuáles eran los más adecuados para fluidizar las gomas, observándose que los alcoholes de cadena corta, el biodiesel y el aceite eran los que mejor performance tenían. Los alcoholes actúan como inhibidores de la actividad enzimática por lo que no serían adecuados para usarlos en estas reacciones [17]. Por lo tanto, se seleccionaron el biodiesel y el aceite como solventes del residuo del desgomado del aceite para ser tratado con enzimas.

➤ *Aceite como solvente*

Se realizaron tres experiencias utilizando aceite como solvente, dosificándolo en 0, 10 y 20 %p/p respecto de la masa del residuo del desgomado. Las reacciones se realizaron en un reactor de vidrio con agitación magnética, 1,5 %p/p de la solución enzimas PLC/PLA2, termostatzado a 55 °C por 60 min en presencia de una goma cuya composición promedio fue de:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
37,0 %	39,9 %	14,57 %	8,53%

Se determinó que el agregado de aceite como solvente favoreció la fluidización del residuo. En la Foto 4.4 se muestran las mezclas de reacción con y sin solvente agregado. Cuando se usó un 20 %p/p de aceite la mezcla presentó una muy buena fluidez y no se observaron limitaciones reológicas, pudiéndose lograr una mezcla de apariencia homogénea. Puede verse en la Foto 4.4 que al final de la reacción no se observa la fase rica en fosfolípidos, que es la fase blancuzca observada en los otros casos. Con un agregado del 10 %p/p la fluidización se dificultó y la mezcla reaccionante final mostró la separación de una fase con fosfolípidos no convertidos. Esta fase formada principalmente por fosfolípidos sin reaccionar, se observó en diferentes proporciones cuando la reacción se realizó con y sin agregado de enzimas en ausencia del solvente, tal como se aprecia en la Foto 4.4. Por lo tanto, se concluye que una proporción del 20 %p/p representa una buena dosificación del aceite como solvente.

Desde el punto de vista reológico el aceite es un buen solvente que se requiere en bajas proporciones para una correcta fluidización. Por otro lado, desde el punto de vista analítico el uso de aceite representa una complicación. Esto es debido al hecho de que uno de los productos de interés son precisamente los TG recuperados (que

originalmente se encuentran ocluidos en la emulsión inicial), por lo que la adición de una cantidad significativa de aceite haría prácticamente imposible su cuantificación. Es por ello que solo se estudiará el empleo del biodiesel como solvente.



Solvente:	0 %p/p	20 p/p	10 % p/p	0 % p/p
Enzimas:	1,5 %p/p	1,5 %p/p	1,5 %p/p	0 % p/p

Foto 4.4. Mezcla de reacción de una goma fluidizada con distintos porcentajes de aceite, con 0 y 1,5 %p/p de una solución de enzimas PLC/PLA2 con agitación mecánica a 55 °C por 60 min.

➤ *Biodiesel como solvente*

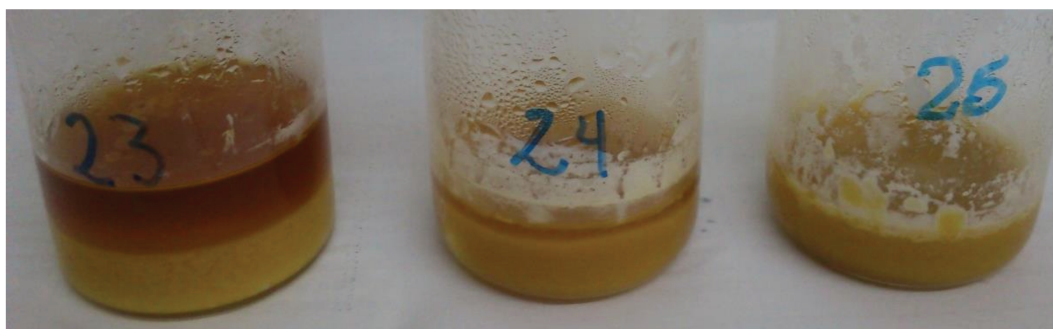
Para determinar cuál es la dosificación de biodiesel óptima para obtener una adecuada fluidización, se disolvieron fracciones de una goma en distintas proporciones registrándose el tiempo requerido para obtener una mezcla de apariencia homogénea. La disolución se realizó empleando 20, 50 y 100 %p/p de biodiesel referido a la masa de la goma, en un vaso de precipitado termostatzado a 55 °C y agitación magnética. La composición promedio de la goma fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
40,0 %	40 %	13,98 %	6,02 %

En la Foto 4.5 se observa que a medida que se incrementa la dosificación de biodiesel, la fluidización mejora. Se necesitaron solo 5 min para obtener una mezcla homogénea al agregar 100 % p/p de biodiesel, 20 min al usar 50 % p/p y 45-60 min al dosificar 20 %p/p de biodiesel.

A la mezcla de la goma con 100 % p/p de biodiesel se le agrego 1,5 % p/p de la mezcla de enzimática PLC/PLA2, y se mantuvo en reacción por 90 min. Se realizaron en paralelo otras dos reacciones, agregando 70 y 80 % p/p del biocombustible, a fin de obtener una evaluación más precisa de la concentración óptima de solvente. Finalizado el tiempo de reacción las mezclas se centrifugaron, obteniéndose una fase superior

oleosa, una fase de menor tamaño correspondiente a fosfolípidos sin reaccionar y otra fase acuosa. La fase oleosa fue caracterizada mediante cromatografía gaseosa.



100 % biodiesel

50 % biodiesel

20 % biodiesel

Foto 4.5. Mezcla de una goma con distintos porcentajes de biodiesel con agitación mecánica a 55 °C.

El biodiesel utilizado para la mezcla de reacción cumple los estándares de calidad, siendo despreciable el aporte de glicéridos sin convertir a la mezcla.

Al dosificar 70 % p/p de solvente se observaron limitaciones al homogeneizar la mezcla, motivo por el cual no se siguió utilizando esa proporción.

La composición de la fase oleosa, teniendo en cuenta solo los compuestos provenientes de la hidrólisis del residuo del desgomado, para las concentraciones de solvente del 80 y 100 %p/p se muestran en la Tabla 4.3. La enzima PLC solo es capaz de actuar sobre la PC y PE para dar un diglicérido por cada fosfolípido hidrolizado. Teniendo en cuenta ese valor para la materia prima empleada en estas experiencias, y la cantidad de DG formados, resulta un rendimiento a DG del 37,0 % y 39,3 % cuando se empleó 80 % p/p y un 100 % p/p de solvente respectivamente. Así mismo, en cuanto a la enzima PLA2 los rendimientos a FFA fueron del 9,7% y 11,1% respectivamente, considerando que la enzima por cada fosfolípido que hidroliza libera un FFA. Estos bajos porcentajes de recuperación de FFA se estima que es debido a un bajo contenido de PLA2 en la mezcla enzimática. Se debe tener en cuenta que no se reporta su concentración y la misma está asociada a limitaciones en los procesos productivos/purificación que conlleva la obtención de la PLC.

La recuperación del aceite ocluido en las gomas fue muy buena (mayor al 90%), lo cual está asociado a la efectividad del solvente y su polaridad, y la lisis de una

fracción de los fosfolípidos por la acción de las enzimas, lo cual debilita la emulsión y permite la recuperación del aceite ocluido en la misma.

Tabla 4.3: Distribución de los productos de reacción, usando distintos porcentajes de biodiesel como solvente de las gomas.

Biodiesel	MG	DG	TG	FFA
80 % p/p	0,4	5,3	9,52	9,95
100 % p/p	0	5,63	8,93	9,50

Los valores son expresados como gramos de producto cada 100 gramos de fase superior (%p/p).

El agregado de biodiesel no solo logró disolver la muestra para que pueda actuar la enzima, sino que también contribuye a extraer los TG, aun cuando la acción de la enzima sobre los fosfolípidos no fue la completa. En cuanto a la dosificación del mismo, no se observaron diferencias importantes en los rendimientos cuando se pasó del 80 %p/p al 100 %p/p. Por este motivo, se usará el solvente en un 80 %p/p respecto a la masa del residuo de desgomado.

4.3.3. Estudio de la agitación

En una primera instancia se trabajó con agitación mecánica con paletas y no se obtuvieron buenos resultados. La mezcla quedaba adherida a las paletas y a las paredes del recipiente sin lograr un buen mezclado, similar a lo que se mostró en la Foto 4.1. Dada la importancia del contacto enzimas-reactivos en esta sección se estudia el empleo de distintos agitadores. Nos centraremos en el estudio del uso de un agitador mecánico de altas revoluciones (Ultra-Turrax T25 digital) y uno magnético, de manera de determinar cuál es la mejor estrategia de mezclado.

Para evaluar el efecto del tipo de agitador las reacciones se llevaron a cabo en un vaso de precipitado termostatzado a 50 °C, dosificando 2 %p/p de la mezcla enzimática PLC/PLA2 a una goma disuelta en 80 %p/p de biodiesel por 150 min. La composición promedio de la goma fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
50,5 %	37,5 %	5,12 %	6,88 %

En la Tabla 4.4 se muestra en forma comparativa las concentraciones de los productos de reacción, la conversión a DG y la recuperación del aceite, dependiendo del tipo de agitador empleado. Se puede observar que no hay diferencias significativas entre los dos agitadores. Siempre que la agitación sea adecuada la reacción va a ser favorecida y esto está más relacionado con el tipo de solvente adoptado que con el sistema elegido para realizar la agitación.

Tabla 4.4: Distribución de los productos de reacción, la conversión de los fosfolípidos a DG y la recuperación del aceite, dependiendo del tipo de agitador empleado.

Tipo de Agitación	Concentración (%p/p)*		Conversión (%)		Recuperación (%)
	DG	TG	DG PC-PE	DG totales	TG
Magnética	9,48	2,8	58,23	30,96	90,7
Ultra-Turrax	8,87	2,7	52,48	27,91	84,3

*Expresados como gramos de producto cada 100 gramos de fase superior (%p/p).

Es interesante en este punto hacer la diferenciación de la conversión a DG en base a los fosfolípidos totales presentes en las gomas (DG totales) y a los que son capaces de hidrolizar la PLC (DG PC-PE). Para el primero de los casos los valores obtenidos fueron del 30,96 % y 27,91 % cuando se usó agitación magnética y mecánica respectivamente, valores muy inferiores a los obtenidos cuando se considera la especificidad de la enzima. Respecto del contenido de PC y PE, en base a la distribución promedio de fosfolípidos en el residuo de partida detallados en la Tabla 4.1, la conversión para el caso en que se usó un agitador magnético fue del 58,23 % y para el Ultra-Turrax del 52,48 %. En los análisis presentados en las próximas secciones, se presentará la conversión de ambas maneras, de modo de poder evaluar el impacto de la especificidad de la enzima en el rendimiento global del proceso.

En función de estos resultados se trabajará por comodidad, con agitador magnético, dado que no se observó diferencia con el agitador de altas revoluciones Ultra-Turrax T25.

4.3.4. Efecto de la temperatura de reacción

El efecto de la temperatura en la actividad enzimática se estudió llevando a cabo la reacción a 45, 50 y 55 °C, con agitación magnética por 150 min, dosificando 1,5 %p/p de la solución de enzimas referido a la masa de la goma agregada. Se realizó un

blanco a cada temperatura. La goma se disolvió con 80 %p/p de biodiesel, y presentaba la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
40,0 %	40 %	13,98 %	6,02 %

En la Figura 4.4.A se muestra la concentración de los productos de la reacción en función de la temperatura, y en la Figura 4.4.B se presenta la conversión a FFA y DG, y la recuperación de TG referido a la materia prima de partida. La actividad enzimática aumentó con la temperatura, observándose un aumento en la concentración de DG y de FFA (Figura 4.4.A). La menor conversión se obtuvo a 45 °C. Entre 50 y 55 °C se encuentra el rango de temperaturas óptimo de operación. Por encima de esta temperatura no es conveniente llevar a cabo la reacción, por recomendaciones del proveedor de la enzima y por el hecho que se reportaron trabajos en donde la actividad enzimática de la PLC cae significativamente, producto de la desnaturalización [18].

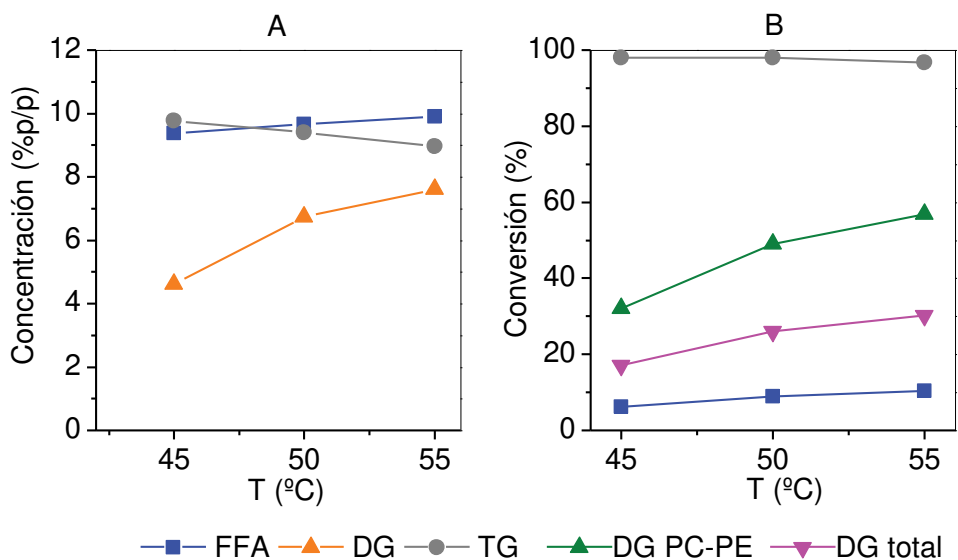


Figura 4.4: Resultados de reacción de hidrólisis enzimática del residuo del desgomado del aceite con 80 %p/p de biodiesel agregado, 1.5 %p/p de enzimas, 150 min, a distintas temperaturas. **A:** concentración de productos, **B:** Conversión a FFA/DG y recuperación de TG. DG total: conversión de los fosfolípidos totales, DG PC-PE: conversión solo de las PC y PE.

Si bien la Figura 4.4.A indica una leve disminución en la concentración de triglicéridos en la fase orgánica, en la Figura 4.4.B se muestra que la recuperación de TG es prácticamente total a todas las temperaturas. La disminución en la concentración de los TG con la temperatura está asociada a la formación de DG y FFA a partir de los fosfolípidos, que diluyen los TG presentes en la fase oleosa.

En el caso de los FFA, la concentración se mantiene prácticamente constante, mientras que la conversión fue más alta al aumentar la temperatura. La conversión aumentó un 3 % al pasar de 45 °C a 50 °C, manteniéndose luego sin cambios. Es decir, hay un efecto de dilución en la fase orgánica que enmascara los resultados de conversión.

En el caso de los DG la Figura 4.4.A muestra un aumento de la concentración al ser el principal producto de la reacción y el efecto de dilución no se observa. Si bien es conocido que la actividad enzimática es muy sensible a la temperatura, es probable que la mezcla de enzimas comerciales empleadas mejore la estabilidad de las mismas en este rango de temperaturas.

Teniendo en cuenta que por cada fosfolípido presente en el residuo del desgomado se puede obtener un DG, la actividad de la PLC fue muy pequeña, logrando una conversión máxima del 30 % a los 55 °C. Sin embargo, como ya se mencionó, la PLC solo es capaz de hidrolizar la PC y PE. Considerando la especificidad de la enzima, se obtienen conversiones del 49 % y 57 % cuando se trabaja con 50 y 55 °C respectivamente. La diferencia entre estos dos valores no es significativa teniendo en cuenta la heterogeneidad de la materia prima usada. Estos resultados indican que el rango de temperaturas de reacción de 50-55 °C es el óptimo.

Por último, se enfatiza que una limitación importante en la conversión de los fosfolípidos totales es atribuida a la especificidad de la enzima utilizada.

4.3.5. Efecto de la concentración enzimática

Para el desgomado del aceite el proveedor de la mezcla enzimática recomienda usar 200 ppm de enzima cada 1.000 ppm P. Por lo tanto, para un residuo que contenga 10.000 ppm P se debe usar 2.000 ppm de enzima, lo que equivale para las materias primas utilizadas a la siguiente proporción:

$$10 \text{ g (10.000 ppmP)} \rightarrow 0,02 \text{ g enz (1 gota } \approx 0,07 \text{ g)}$$

➤ **Reacción a 55 °C**

Para estudiar el efecto de la concentración de la enzima se realizaron 3 reacciones tomando 10 g de una goma la cual se disolvió con 100 %p/p de biodiesel y

se le dosificó 2, 4 y 6 gotas de la mezcla enzimática PLC/PLA2, lo que representa un 1, 2 y 3 %p/p referido a la masa del residuo. Se realizaron otras 3 experiencias utilizando 0, 3,5 y 12,5 %p/p de enzimas en iguales condiciones. Los ensayos se realizaron en un vaso de precipitado termostatzado a 55°C, agitación magnética por 150 min, empleando una goma cuya composición promedio fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
40,0 %	40 %	13,98 %	6,02 %

En las reacciones se obtuvieron dos fases, siendo más importante la de aspecto oleoso, tal cual se muestra en la Foto 4.6 en la cual se observan las mezclas de reacción obtenidas usando 2 y 3 %p/p de la mezcla enzimática. Este comportamiento nos está indicando que la reacción evolucionó favorablemente.

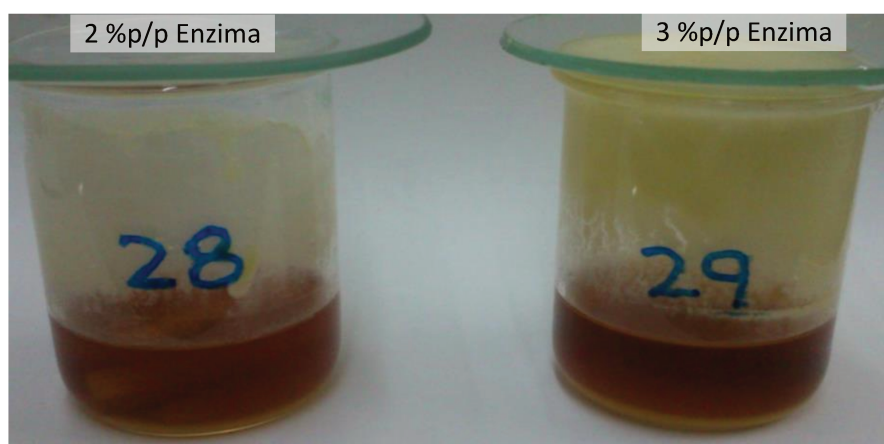


Foto 4.6. Mezcla de una goma con distintos porcentajes de enzimas con agitación mecánica a 55°C, 100 % de biodiesel como solvente.

En el rango de concentraciones estudiado se pudo verificar un aumento en la conversión al incrementar la concentración de enzimas. En la Figura 4.5 se muestra la conversión a FFA y DG, y el porcentaje de recuperación de los TG.

En lo que refiere a la actividad de la PLA2, representada por el incremento de los FFA, se ve que es insignificante, aun cuando se aumentó el contenido de la mezcla enzimática por arriba del 12 %p/p. Se asume que esto se debe a que esta enzima se encuentra en muy bajas concentraciones, tal como se mencionó más arriba.

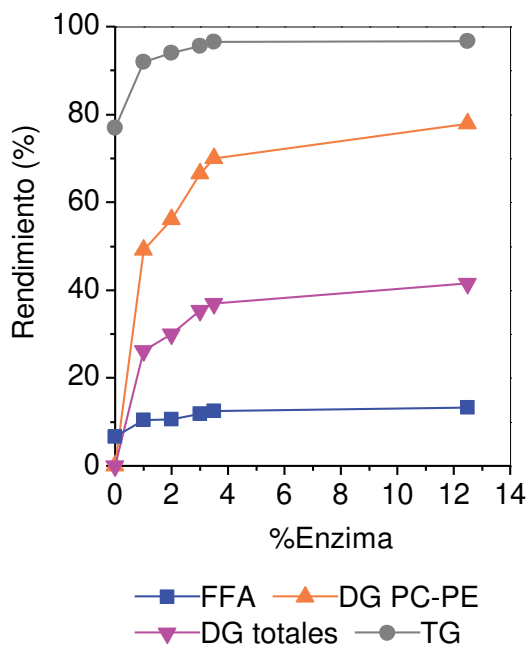


Figura 4.5: Resultados de reacción de una goma disuelta con 80 %p/p de biodiesel a 55 °C por 150 min en función de la concentración de la mezcla enzimática. Se muestra el porcentaje recuperación de TG y la conversión a FFA y DG. DG totales: DG que se pueden obtener de la reacción de todos los fosfolípidos. DG PC-PE: DG que pueden formarse por hidrólisis de PE y PC.

Por otro lado, se ve que al triplicar la concentración de la mezcla enzimática pasando de 3,5 a 12,5 %p/p, no se logra un aumento considerable en la conversión de los fosfolípidos en diglicéridos, pasando del 70 % al usar 3,5 %p/p a 77,88 % con 12,5 %p/p del biocatalizador. En bibliografía se ha reportado un máximo de eficiencia de reacción de la PLC de aproximadamente 85%, argumentándose que no se alcanzan valores mayores debido a que es posible reaccionar completamente la PC, pero sólo parcialmente la PE [16]. Esto suma una limitación adicional al uso de la PLC, ya que no solo no es capaz de hidrolizar el PI y PA, sino que además actúa parcialmente sobre la PE.

La cantidad de cada tipo de fosfolípido en el aceite crudo depende no solo de la calidad de los granos, relacionada a las condiciones climáticas y de suelos en las tierras de siembra/crecimiento/cosecha, sino también de los procesos de extrusión de las semillas y extracción de aceite. Dado que estas condiciones son muy variables, las concentraciones relativas de las diferentes especies de fosfolípidos no son constantes en los aceites crudos y por ende la relación PC/PE puede variar significativamente. Todo esto hace que, cuando se incrementa la concentración de la enzima, se encuentra un

valor límite de conversión a DG cercano al 78 % para estas materias primas en particular, y no del 85 % como se reportó en literatura para los aceites.

Resumiendo, se puede decir que para esta materia prima la PLC solo es capaz de actuar sobre ~78 % de la PC y PE presentes en el residuo del desgomado del aceite, siendo la reacción en forma total para la primera y parcial para la segunda. Todas estas especificidades de la enzima hacen que sobre el total de los fosfolípidos se logren conversiones máximas de aproximadamente 41%.

➤ Reacción a 50 °C

Se realizaron experiencias análogas a las anteriores pero a 50 °C, usando 1,5; 2; 3; 4; y 9,5 %p/p de concentración de las enzimas. Las experiencias se realizaron en un vaso de precipitado termostatzado, con agitación magnética, 80 %p/p de biodiesel como solvente de la misma goma evaluada en el punto anterior (40 % de fosfolípidos, 40 % de agua, 13,98 % de aceite y 6,02 % de FFA).

Se tomaron muestras en el tiempo prolongándose la reacción hasta 300 min, con el fin de analizar los fosfatos formados por la hidrólisis enzimática mediante la determinación de la materia insoluble en acetona (AIM).

El análisis del AIM permite determinar en forma rápida y sencilla la concentración de fosfolípidos en las borras y gomas. Se realizó este análisis a muestras tomadas de la reacción. En la Figura 4.6 se muestra el %AIM en el tiempo para las experiencias realizadas con gomas sin y con un 4 %p/p de la solución enzimática. Como se puede observar la cantidad de fosfolípidos disminuye levemente hasta los 180 min, aproximadamente un 2,5%, y luego aumentó hasta alcanzar los valores obtenidos para la mezcla sin agregado de enzima. Este comportamiento se observó en otras experiencias por lo cual es un resultado real, no enmascarado por la complejidad y heterogeneidad del sistema de reacción. Por lo tanto, se estima que algunos de los productos de reacción son insolubles en acetona al igual que los fosfolípidos, y solo una fracción menor es soluble en acetona.

Para dilucidar si realmente se estaban formando productos que son insolubles en acetona se toma la fase acuosa de la reacción en la que se usó un 4 %p/p de enzimas y se analizó (por extracción con acetona). El valor arrojado del análisis de AIM fue del 14,96%, lo que indica que efectivamente se están formando productos insolubles en

acetona de la lisis de los fosfolípidos. Por lo tanto, se concluye que no es adecuado seguir la reacción mediante el análisis de AIM.

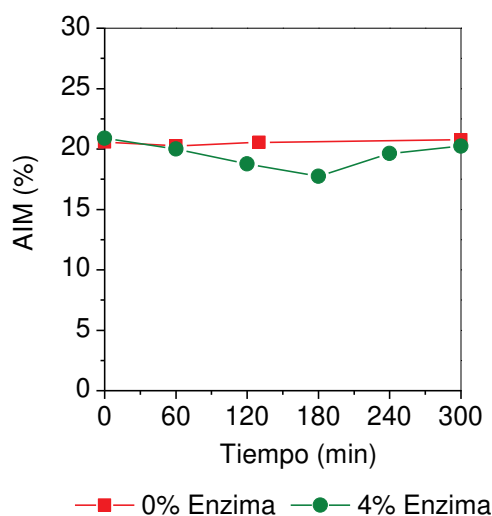


Figura 4.6: Material insoluble en acetona (AIM) en el tiempo de la mezcla de reacción de la hidrólisis enzimática del residuo del desgomado acuoso del aceite disuelto en biodiesel a 50 °C.

Las muestras tomadas a 150 min de las experiencias con distintas dosificaciones de enzimas se centrifugaron y analizó la fase oleosa. En la Figura 4.7.A se muestra la conversión a DG y FFA y la recuperación de TG. Al igual que en la reacción a 55 °C, en el rango de concentraciones estudiado la conversión aumenta al incrementar la concentración de enzimas. Además, a ambas temperaturas los comportamientos fueron análogos, es decir, se logró una alta recuperación del aceite ocluido y la PLA2 casi no mostró actividad.

En la Figura 4.7.B se muestra en forma comparativa la conversión a DG a 50 y 55 °C. Se puede notar que la tendencia es la misma y que la velocidad de reacción aumenta al aumentar la temperatura. La conversión referida al total de los fosfolípidos presentes en las gomas es muy limitada, alcanzando un 38,8 % cuando se dosificó un 9,5 %p/p de la mezcla enzimática. Este valor es muy inferior al 73 % de conversión que se obtiene cuando se contempla que la PLC solo actúa sobre la PC y PE. Independientemente de la temperatura se obtiene el mismo valor máximo de conversión, lo que refuerza lo expuesto anteriormente, de que esta enzima reacciona completamente la PC, pero sólo parcialmente sobre la PE.

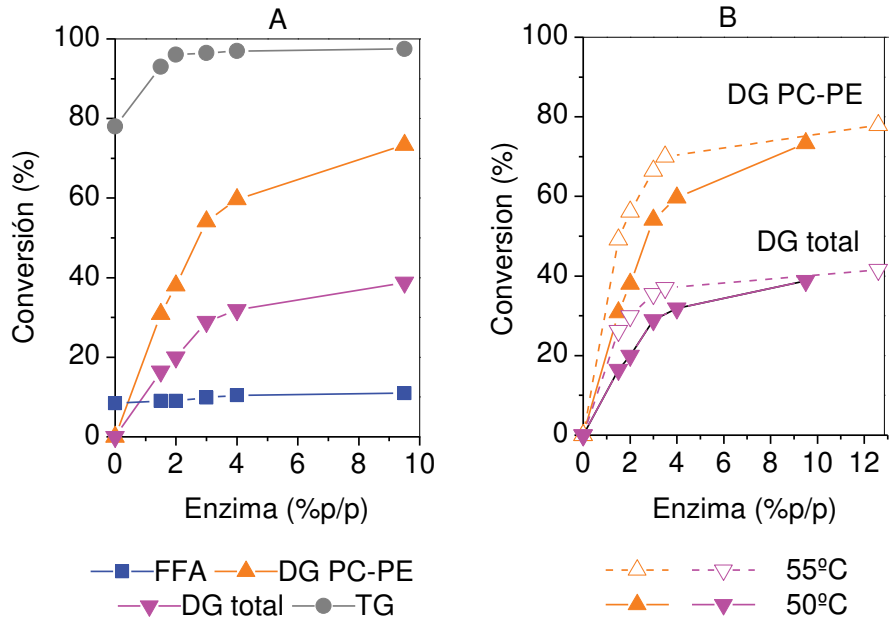


Figura 4.7: Resultados de la hidrólisis enzimática del residuo del desgomado del aceite disuelto con 80 %p/p de biodiesel, 150 min de reacción, en función de las concentraciones de la mezcla enzimática. **A:** 50°C, **B:** Conversión a DG a 50 y 55 °C. DG totales: DG que se pueden obtener de la reacción de todos los fosfolípidos. DG PC-PE: DG que pueden formarse por hidrólisis de PE y PC.

Por lo que, contemplando la especificidad de la enzima, se logró encontrar las condiciones en las que la PLC hidroliza todos los fosfolípidos que es capaz de convertir.

4.3.6. Hidrólisis de lecitina

Las gomas son secadas hasta contenidos de humedad del orden del 1 % y comercializadas como lecitina, con una composición aproximada de 60-65 % de fosfolípidos totales y 30-35 % de aceite. En esta sección estudiaremos el uso de la mezcla enzimática en la hidrólisis de la lecitina.

Se realizaron experiencias con concentraciones de la mezcla de enzimas de 1,5 y 4,5 %p/p referido a la masa de la lecitina, en un vaso de precipitado termostatzado a 55 °C con agitación magnética por 180 min. La lecitina usada se disolvió con 80 %p/p de biodiesel, y presentaba la siguiente distribución de productos:

Fosfolípidos	Agua	Aceite
69,87 %	<1 %	30,13 %

En la Figura 4.8 se muestra la conversión a FFA y DG y la recuperación de TG. La actividad de la enzima fue muy baja y no hay diferencias en los parámetros evaluados a las concentraciones de 1,5 y 4,5 %p/p. Esto se debe al hecho de que la reacción ocurre en la interface entre la fase acuosa que contiene la enzima y la fase oleosa que contiene aceite neutro y fosfolípidos, como se mostró en forma esquemática en la Figura 4.2. La lecitina al tener una humedad menor al 1 % disminuye significativamente el área interfacial, quedando limitada a la contribución acuosa aportada por la mezcla enzimática. Todo esto hace que no todas las enzimas agregadas entren en contacto con los fosfolípidos y se obtengan conversiones máximas del 16,66%.

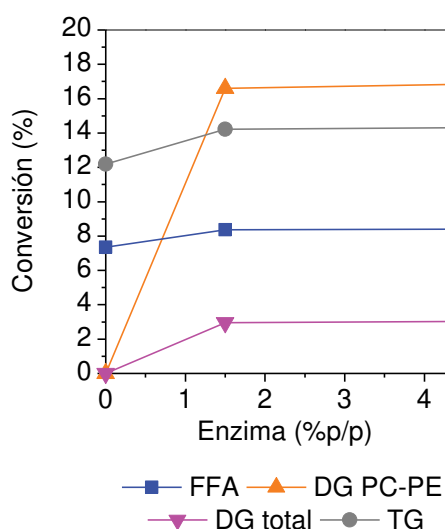


Figura 4.8: Resultados de reacción del residuo del desgomado del aceite disuelto con 80 %p/p de biodiesel, por 150 min en función de las concentraciones de la mezcla enzimática. **A:** 50 °C, **B:** Conversión de DG a 50 y 55 °C. DG totales: DG que se pueden obtener de la reacción de todos los fosfolípidos. DG PC-PE: DG que pueden formarse por hidrólisis de PE y PC.

Además podemos observar que la recuperación de los triglicéridos fue significativamente menor a las obtenidas cuando se reaccionaron las gomas, en donde la recuperación era alta. Esto indica que las lecitinas son un sistema totalmente distinto a las gomas y que la recuperación del aceite no sólo depende de la elección adecuada del solvente, sino que es necesaria la hidrólisis del fosfolípidos para la liberación del TG como tal.

La actividad de la PLA2, es prácticamente nula. Se obtuvo una variación del 1 % de acidez entre las experiencias con y sin agregado de enzima. Al estar la PLA2 en muy bajas proporciones, la disminución en el área interfacial la desfavorece aún más.

Con el fin de mejorar la actividad de la enzima se realizó una reacción agregando 20 %p/p de agua al sistema reaccionante y se tomaron muestras en el tiempo, prolongándose la reacción hasta 300 min. Las condiciones ensayadas fueron las mismas a las anteriores: 55 °C, con agitación magnética, 1,5 %p/p de la mezcla enzimática PLC/PLA2 referido a la masa de la lecitina, 80 %p/p de biodiesel como disolvente, y la misma lecitina que la evaluada antes sin agregado de agua (69,87 % Fosfolípidos, <1 % Agua y 30,13 % Aceite).

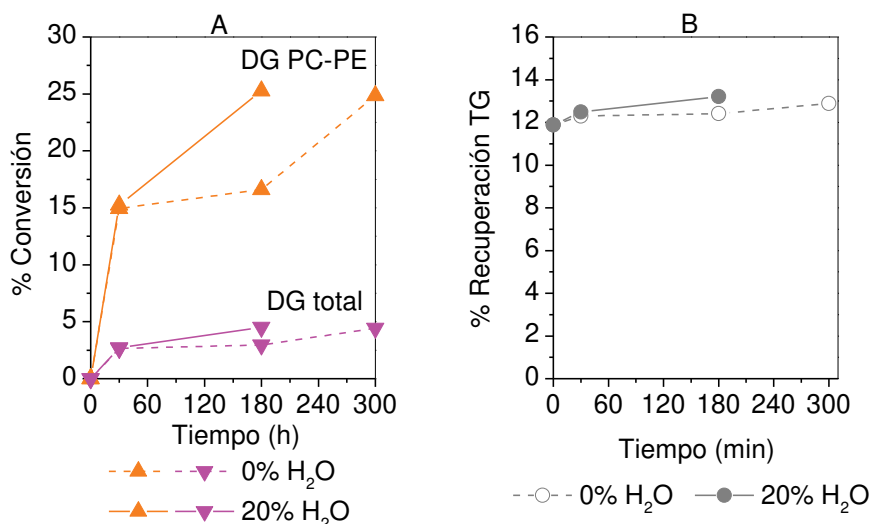


Figura 4.9: Resultados de reacción enzimática del desgomado del residuo del aceite disuelto con 80 %p/p de biodiesel, 300 min, 50 °C, con 0 y 20 % de agua agregada, 1,5 %p/p de la mezcla enzimática. **A:** Conversión de DG con 0 % y 20 % agua agregada. DG totales: DG que se pueden obtener de la reacción de todos los fosfolípidos. DG PC-PE: DG que pueden formarse por hidrólisis de PE y PC. **B:** Recuperación de TG.

En la Figura 4.9.A se muestra la conversión a DG en el tiempo, con y sin agregado de agua a la mezcla reaccionante. Se ve que en los primeros 30 min no hay una diferencia entre las experiencias, lo que se puede deber a un efecto del mezclado y distribución de la enzima en la fase acuosa. A medida que avanza la reacción, hay una mayor actividad enzimática cuando se agregó agua lográndose una conversión de 25,85 % a los 180 min, valor alcanzado recién a los 300 min cuando no se le agregó el agua. Estos resultados indican que efectivamente el agua logró incrementar el área interfacial, lo cual se reflejó en el incremento de la actividad enzimática. Sin embargo, la conversión sigue siendo baja, del 26 % referido a los fosfolípidos que puede hidrolizar la PLC, y 4,5 % referido al de los fosfolípidos presentes en la lecitina.

La recuperación de los TG, que se muestra en la Figura 4.9.B, presenta una tendencia igual a la de la conversión a los DG. En los primeros 30 minutos no hubo

diferencias entre ambas reacciones, y en los siguientes minutos de reacción la recuperación fue levemente mayor para el caso en que se usó agua en la reacción. Si la reacción sin agregado de agua se deja evolucionar en el tiempo, al cabo de 120 min posteriores se alcanzan niveles de aceite similares a los obtenidos en presencia de agua agregada.

Nuevamente, con la PLA2 no se vieron mejorías significativas con el agregado de agua, pasando de una conversión a FFA de 8,36% a 10,18% a los 180 min de reacción.

Si bien en la actualidad hay métodos que se basan en el uso de enzimas para modificar las lecitinas comerciales y darle ciertas propiedades emulsionantes, no es adecuado el uso de las mismas para la recuperación de la fracción oleosa.

4.3.7. Estudio de la actividad enzimática

Las enzimas son proteínas complejas que actúan como catalizadores biológicos de distintas reacciones químicas, cuya actividad está ligada al mantenimiento de la conformación proteica nativa. La pérdida de esta estructura se debe a procesos de desnaturalización asociados a agentes físicos (temperatura) y químicos (pH, disolventes orgánicos, fuerza iónica). La mezcla enzimática comercial empleada en el desarrollo de esta tesis fue almacenada en la heladera según las indicaciones del fabricante.

Es importante por lo tanto corroborar periódicamente que no se produzca la desnaturalización de las mismas, determinando la concentración proteica y la actividad enzimática de manera estandarizada. Estos análisis fueron realizados con la colaboración de especialistas del Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (IAL).

La determinación de la cantidad de proteínas totales es una forma de cuantificación de la cantidad de enzimas que tiene la muestra y sin identificar si la proteína está o no desnaturalizada. Para estas experiencias se hicieron diluciones de la solución de enzimas a las cuales se les agregó el reactivo de Bradford y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 526 nm.

Se determinó que la mezcla contenía 15,68 mg de proteínas por cada ml de solución. Este valor representa, tomando una densidad cercana a la del agua, 15680 U/g,

valor cercano al informado por el fabricante (16900 U/g). La leve variación que se observa se puede deber a que el reactivo y las condiciones de reacción del ensayo son distintas. No se puede descartar la posibilidad de una pequeña variación debido al tiempo de almacenamiento que tiene la enzima y su manipulación.

Dado que la medición anterior solo nos da una noción de la cantidad de enzimas pero no nos indica el estado de las mismas, es decir si están desnaturalizadas o no, se realizó un estudio complementario midiendo la actividad enzimática.

El análisis de la actividad consistió en medir la absorbancia del p-nitrophenol (PNP), proveniente de la hidrólisis del nitrofenilfosfocolina (NPPC) con distintas concentraciones de enzimas. Para ello se prepararon 7 cubetas con distintas concentraciones de enzimas y una octava con un blanco. Se parte de una solución de enzimas 1/10, de la cual se replica para la siguiente cubeta con una dilución 1/20, luego 1/40 y así sucesivamente. Las experiencias se realizaron a 30 °C y dos pH distintos. Cuando el pH fue de 8 la especie presente fue PNP en su forma iónica (PNP⁻) y la absorbancia a la cual se hicieron las mediciones fue 405 nm. Por otro lado, se trabajó con un pH = 6 en el cual estaban las dos especies presente PNP/PNP⁻ y se usó una medición a 340 nm.

Tabla 4.5: Absorbancia medida y valores de actividad en las muestras de reacción con distintas concentraciones de enzimas en función del pH.

Cubetas	pH = 6		pH = 8	
	Abs/min	Actividad	Abs/min	Actividad
1	0	-	0,01	-
2	0,002	7,77	0,022	0,94
3	0,003	5,82	0,041	0,88
4	0,006	5,83	0,094	1,01
5	0,012	5,83	0,202	1,08
6	0,024	5,83	0,417	1,12
7	0,045	5,46	0,926	1,24
8	0,086	5,22	1,596	1,07

En la Tabla 4.5 se muestran los valores reportados de la absorbancia para las distintas cubetas en función del pH y el cálculo de la actividad, mediante la ecuación 4.2. Como podemos ver los valores de actividad obtenidos son similares dentro del

mismo rango de pH siendo de 1,05 y 5,67 cuando se trabajó a 6 y 8 respectivamente. La medición de la cubeta 2 para un pH = 6 se descartó dado que se encuentra fuera de rango, lo cual puede deberse a un error experimental. Se ve que la enzima es más activa a menores pH.

Al repetir las mediciones de la cantidad de proteínas y la actividad enzimática con diferencia de meses, se obtuvieron valores análogos, lo que nos indica que la enzima se mantuvo estable en el tiempo en que fueron estudiadas.

Paralelamente y en forma interna se evaluó la actividad enzimática de acuerdo a las condiciones recomendadas por el fabricante, que propone realizar la hidrólisis de los fosfolípidos presentes en 250 g de aceite crudo de soja, dosificando 200 ppm de NaOH para favorecer la emulsión y 200 ppm de enzima (PLC) por 45 min a 55 °C.

Para la determinación se precalentaron 250 g de un aceite crudo de soja por 30 min a 55 °C con agitación, para luego agregar 5 ml de una solución acuosa 0,25 N NaOH. Se esperaron 10 min antes de agregar una gota de la enzima (~60,5 mg), momento en el cual se empezó a registrar el tiempo de reacción. Se tomaron alícuotas de 30 ml a los 45 min y 100 min de reacción, las cuales se enfriaron en baño de agua con hielo y centrifugaron para determinarle fósforo elemental en la fase superior. La experiencia se realizó por duplicado.

Se logró disminuir el porcentaje de fósforo de un aceite crudo de soja de 377,55 ppm a 13,3 y 12,72 ppmP a los 45 min y 100 min respectivamente. Dada la variabilidad en el perfil de los fosfolípidos debido a factores asociados a la etapa de crecimiento de la planta de soja, no sería adecuado seguir la actividad de la enzima por este medio. Además, se debe tener en cuenta que hay una disminución de los fosfolípidos presentes en el aceite debido al desgomado acuoso que se produce por el agua aportada con la solución del álcali y la enzima. En conclusión, es muy difícil poder reproducir las condiciones de análisis en el tiempo, para poder seguir la actividad de la enzima por esta metodología.

Teniendo en cuenta estos resultados, la actividad y estabilidad de la mezcla enzimática se siguió mediante la determinación de cantidad de proteína y actividad enzimática en la hidrólisis de la NPPC.

4.4. CONCLUSIONES

El uso de enzimas como alternativa a los procesos químicos, presenta grandes ventajas desde el punto de vista de la especificidad, condiciones de reacción suaves y a menudo, una solución más limpia para procesos industriales, haciéndolas amigables al medio ambiente. En este capítulo se estudió su uso en reemplazo del tratamiento del residuo del desgomado en presencia de un ácido fuerte como el sulfúrico, lográndose encontrar las condiciones en las cuales presenta su mayor actividad. Sin embargo, este procedimiento usando la mezcla enzimática no permite la eficiente recuperación de la fracción lipídica del residuo del desgomado, lo que es una desventaja muy importante para la aplicación de aprovechamiento de estos residuos del desgomado.

Una gran limitación se presenta al contemplar la especificidad de la PLC, la cual solo logra hidrolizar la PC y PE, haciéndolo en forma total sobre la primera y parcial sobre la segunda. Esto hace que en el mejor de los casos se obtengan conversiones del 77 % considerando solo estos fosfolípidos como reactivos, pero tan solo el 41,5 % sobre el total de fosfolípidos presentes en las gomas.

Por otro lado, la especificidad de la enzima, hace que no sea adecuado su uso para el tratamiento de las borras. Este residuo es el obtenido del desgomado ácido el cual extrae los fosfolípidos no hidratables, es decir parte de la PE y del PA. Dado que la PLC solo es capaz de actuar sobre parte de los PE, el proceso se torna inviable, al comparar rendimientos vs costos de operación.

Otra de las materias primas que se estudió fue la lecitina, pero nuevamente se obtuvieron conversiones muy bajas, del 26% referida a los fosfolípidos que puede hidrolizar la PLC y 4,5% sobre el total de los fosfolípidos. En este caso hay una saturación de la enzima con el sustrato, lo que implicaría incrementar la dosificación de la enzima por encima de valores económicamente viables.

En lo que refiere a la recuperación de los TG ocluidos en los distintos residuos del desgomado, gomas y borras, en la mayoría de los casos donde hay una considerable actividad enzimática se alcanza una recuperación superior al 90%. Esta recuperación está relacionada tanto con la acción enzimática, debilitando la emulsión al lisar los fosfolípidos, como con la elección del solvente.

En el siguiente capítulo se mostrará el uso del tratamiento alcalino de este residuo, el cual presenta grandes ventajas desde el punto de vista operacional y de rendimientos, que permite disminuir los costos y el impacto ambiental frente a la metodología actualmente en uso.

4.5. REFERENCIAS

- [1] Sartoretto, P., in "Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical, Technology," 2nd Edition, Vol. 12, Interscience Publishers, New York, 1967, pp. 343-361.
- [2] Van Nieuwenhuyzen, W., *JAOCS* 53 (1976) 425.
- [3] Wolf, W.J., and Sessa, D. in "Encyclopedia of Food Science," edited by M.S. Peterson and A.H. Johnson, AVI Publishing CO., Inc" Westport, CT, 1978, pp. 461-467.
- [4] Van Nieuwenhuyzen, W. and Tomás, M. C. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110 (2008) 472–486.
- [5] A&G, Desgomado enzimático de aceites de vegetales. Comparación de diferentes procesos, tomo XX, vol. 2 204-212, 2010.
- [6] Muratorio, A. J.; Kerlakian, C. A., *Aceites y Grasas* 2 (2004) 316-323.
- [7] Gopi, C. *Ind Food Indus.* 1998, 17, 224–234.
- [8] Sebastián Cerminati, Luciana Paoletti, Andrés Aguirre, Salvador Peirú, Hugo G. Menzella & María Eugenia Castelli. "Industrial uses of phospholipases: current state and future applications". *Applied Microbiology and Biotechnology* 103 (2019), 2571–2582.
- [9] Xiaofei Jiang, Ming Chang, Xiaosan Wang, Qingzhe Jin, Xingguo Wang. "Effect of ultrasound treatment on oil recovery from soybean gum by using phospholipase C". *Journal of Cleaner Production* 69 (2014) 237-242.
- [10] Takamitsu Sano, Daniel Baker, Tamas Virag, Atsushi Wada, Yutaka Yatomi, Tetsuyuki Kobayashi, Yasuyuki Igarashi, and Gabor Tigyi "Multiple Mechanisms Linked to Platelet Activation Result in Lysophosphatidic Acid and Sphingosine 1-Phosphate Generation in Blood". Vol. 277, No. 24, Issue of June 14, pp. 21197–21206, 2002
- [11] Lamas, D. L., Constenla, D. T., Raab, D. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 6 (2016) 138–143.
- [12] Zhan Ye, Xue Qiao, Zhi Luo, Chuanrong Hu, Lingyi Liu and Dongping He. *CYTA – Journal of Food*, 2016 VOL. 14, NO. 4, 604–612.
- [13] Xiaofei Jiang, Ming Chang, Qingzhe Jin, Xingguo Wang. *Journal of Food Science and Technology* June 2015, Volume 52, Issue 6, 3634–3644.

- [14] Sampaio, K.A., Zyaykina, N., Wozniak, B., Tsukamoto, J., De Greyt, W., Stevens, C.V., 2015. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117, 81–86.
- [15] List G. R., Heakin A. J., Evans C.D., Black L.T., Mounts T.L. “Factor for Converting Elemental Phosphorus to Acetone Insolubles in Crude Soybean Oil”. *JAOCS* 55 (1977) 521-522.
- [16] Enzymatic Degumming. Flavio Galhardo and Chris Dayton. Lipid Library - American Oil Chemists' Society. <https://lipidlibrary.aocs.org/edible-oil-processing/enzymatic-degumming>
- [17] Adlercreutz P. “Immobilisation and application of lipases in organic media”. *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 6406-6436.
- [18] Xiaofei Jiang, Ming Chang, Qingzhe Jin, Xingguo Wang. *Process Biochemistry* 50 (2015) 423-437.



CAPÍTULO 5

HIDRÓLISIS ALCALINA DEL RESIDUO DEL DESGOMADO DEL ACEITE

En el presente capítulo se aborda la hidrólisis alcalina del residuo del desgomado del aceite evaluando el uso de NaOH y MeONa como álcalis. Las condiciones de reacción que se estudiaron fueron el tipo y la concentración del solvente y del álcali, y el tipo de materia prima empleada. Cabe mencionar que los datos que se presentan forman parte de una patente ya otorgada.

5.1 INTRODUCCIÓN

Como se vio en el capítulo anterior, existen enzimas que son capaces de actuar sobre los fosfolípidos produciendo la ruptura de distintos enlaces según actúe una PLA1, PLA2, PLC o PLD. Si bien estos tipos de catalizadores biológicos presentan grandes ventajas desde el punto de vista medioambiental, es una tecnología que aún se encuentra en desarrollo con grandes limitaciones para el escalado, algunas de las cuales están relacionadas con los bajos rendimientos, la especificidad al tipo de fosfolípidos, la sensibilidad a las condiciones de reacción, la no reutilización, y los altos costos. La variabilidad en el perfil de los fosfolípidos debido a las condiciones de siembra, cultivo, cosecha, almacenamiento, calidad del suelo, clima y humedad, suman otra variable a tener en cuenta al diseñar un proceso industrial basado en estos biocatalizadores. Estas son alguna de las causas por las cuales es complejo el desarrollo de un método para el aprovechamiento del residuo del desgomado del aceite, basado en el uso de enzimas escalable a nivel industrial. Cabe aclarar que existen procesos de desgomado enzimático de aceites a nivel industrial, sin embargo esta aplicación no es objeto de estudio en esta tesis.

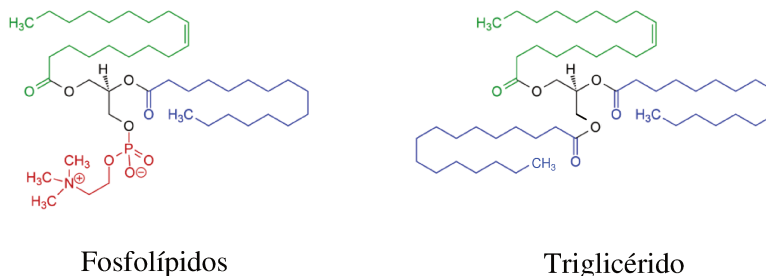
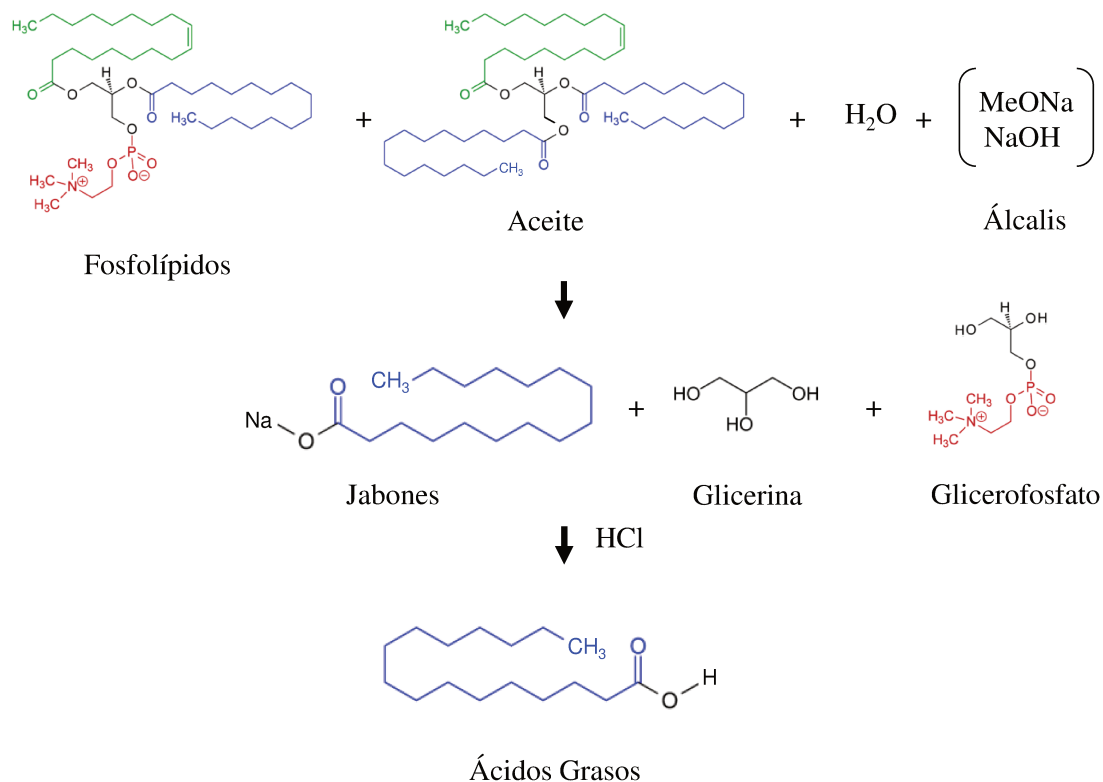


Figura 5.1. Estructura de un fosfolípido y un triglicérido.

La estructura de los fosfolípidos y los triglicéridos (Figura 5.1) presenta cierta similitud, por lo cual se podría pensar que reaccionarían similarmente frente al ataque de un álcali, una reacción ampliamente estudiada en el aceite. Es por ello que en este capítulo se propone abordar la saponificación de la materia oleosa presente en el residuo del desgomado del aceite. De esta forma las cadenas de ácidos grasos que componen los triglicéridos y los fosfolípidos son lisadas para formar jabones, los cuales por medio de una posterior neutralización permitirían recuperar los ácidos grasos. En el Esquema 5.1 se muestra en forma simplificada cual es el mecanismo de reacción que se espera tener (usando la estructura de la fosfatidiletanolamina como fórmula genérica de fosfolípido y su correspondiente molécula hidrolizada: glicerofosfato).



Esquema 5.1. Esquema de saponificación y posterior neutralización del residuo del desgomado del aceite.

Al respecto solo se encontró una única investigación que hace referencia al tema planteado. En ella, Rajesh Kumar Balasubramanian et al. [1] estudió la transesterificación de la fosfatidilcolina (PC) a través de catálisis homogénea y heterogénea para la producción de biodiesel. El metóxido de calcio y el óxido de calcio se utilizaron como catalizadores heterogéneos, e hidróxido de potasio (KOH) como un catalizador homogéneo, pudiéndose obtener una velocidad de reacción inicial mayor

para KOH que para metóxido de calcio y óxido de calcio. En estudios posteriores se mezcló PC con aceite de soja en diferentes proporciones, que luego se usaron como materia prima para la transesterificación utilizando metóxido de calcio. Del estudio se pudo concluir que la transesterificación catalizada con KOH, metóxido de calcio y óxido de calcio de la materia prima de soja enriquecida con PC dio como resultado un rendimiento a biodiesel superior al 90%. Sin embargo, el contenido de P en el producto de biodiesel resultó superior al establecido por la norma ASTM.

En conclusión, esta línea de trabajo presenta una gran potencialidad para el desarrollo de procesos escalables a la industria para el aprovechamiento de residuos del desgomado de aceite. Resultados mostrados en este capítulo están incluidos en una patente ya otorgada [2].

5.2. EXPERIMENTAL

5.2.1. Reacción del residuo del desgomado del aceite

La reacción se lleva a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch con reflujo, en un baño termostatzado a la temperatura de trabajo (60 °C) y con agitación magnética o mecánica.

Se estudiaron como solventes los siguientes compuestos:

- Alcoholes: metanol (MeOH), etanol (EtOH), isopropanol (IPA) y glicerina (GOH) anhidra; grado pro-análisis marca Cicarelli:
- Etanol 96% (EtOH 96)
- Agua destilada
- Glicerina industrial, proveniente del primer reactor de producción de biodiesel cedida por una empresa de la zona.

Se variaron las dosificaciones entre 0-100 %p/p referido a la masa del residuo del desgomado.

Se ensayaron dos catalizadores alcalinos: NaOH marca Cicarelli (empleado en soluciones acuosas de distintas concentraciones) y solución de metóxido de sodio (MeONa) al 30 % en metanol, cedido por una empresa productora de biodiesel de la

zona. Las concentraciones se variaron en el rango 5-20 %p/p referido a la materia prima, dependiendo del tipo de material con que se trabaje (gomas, borras o lecitina).

Por último, se realizó una etapa de neutralización del álcali agregado con ácido clorhídrico 36% (HCl) durante 15 min, para luego separar fases mediante decantación o centrifugación, dependiendo de la necesidad.

Como materias primas se utilizaron: (i) residuos provenientes del desgomado acuoso del aceite, o sea las 'gomas', con composición aproximada de Fosfolípidos ~40 %, Aceite ~20 %, Agua ~40 %; (ii) residuos del desgomado ácido, o sea 'borras', con composición aproximada de Fosfolípidos ~25 %, Aceite ~20 %, Agua ~50%; (iii) gomas secas, es decir lecitina, conteniendo Fosfolípidos ~60 %, Aceite ~39 %, Agua <1 %, obtenidos de empresas de la región.

5.2.2. Caracterización de la materia prima

Los distintos tipos y lotes de materias primas fueron caracterizadas, para determinar su composición. Se determinó:

- Material insoluble en acetona (AIM): según norma AOCS Ja 4-46, en la cual se realizan extracciones sucesivas con acetona de una cantidad conocida de la muestra, teniendo en cuenta de que los fosfolípidos son insolubles en este solvente. Los fosfolípidos se expresan como %p/p.
- Ácidos grasos libres: siguiendo la norma UNE-EN 14104, la cual contempla la disolución de una cantidad conocida de la muestra y posterior titulación. Los ácidos grasos se expresan como gramos de ácido oleico por cada 100 gramos de muestra.
- Humedad: siguiendo la norma AOCS Ja 2-46. La misma está basada en una destilación por arrastre de vapores con tolueno. El agua presente en la muestra se expresa como %p/p.
- Aceite: el aceite presente en la muestra se saca por diferencia con los otros elementos cuantificados.
- Contenido de Fosfolípidos y P: la norma AOCS Ca 12-55 analiza el contenido de fósforo de la muestra, mediante la formación de un complejo de molibdato cuya absorción es medida en un espectrofotómetro. Este valor

medido como fósforo elemental se puede expresar como fosfolípidos multiplicando por un factor de $31,7 \pm 0,9$ (JAOS 55 1978 521) [3].

5.2.3. Toma de muestra y análisis

Se tomaron alícuotas de la mezcla de reacción en el tiempo, antes y después de la etapa de neutralización, prolongándose la reacción hasta 330 min. A las muestras antes de la neutralización se les determinó:

- Jabones: según la norma IRAM 5599, la cual prevé la disolución de una cantidad conocida de la muestra en una solución de acetona con un 2 % de agua y posterior titulación con una solución 0,1 N de HCl. Los jabones se expresan como gramos de oleato de sodio por cada 100 gramos de muestra.
- Catalizador: se midió mediante titulación con una solución de 0,1 N de HCl de una cantidad conocida de la muestra disuelta en una solución de tolueno:etanol 1:1 (v:v). El resultado obtenido se expresa como gramos de catalizador por kilogramo de muestra.

Las muestras neutralizadas, luego de la etapa de separación, están formadas por al menos dos fases, una fase acuosa (Fac) y otra oleosa (FO). En la Fac se extrae la glicerina proveniente de la reacción de los triglicéridos, las fracciones del fosfolípido cortadas que quedaron con el grupo fosfátido, el solvente (alcohol generalmente) que se agregó, el agua proveniente de la materia prima y las sales de la etapa de neutralización. Por otro lado, la FO retiene los productos de reacción y restos de glicéridos presentes en el residuo: ácidos grasos libres (FFA), Monoglicéridos (MG), Diglicéridos (DG), y Triglicéridos (TG).

A la fase oleosa se les analizaron las siguientes propiedades para determinar el grado de avance de la reacción:

- Ácidos grasos libres: siguiendo la norma UNE-EN 14104, según se describe más arriba.
- Contenido de glicéridos formados (MG, DG y TG): se analiza mediante cromatografía gaseosa según lo descrito por las normas ASTM D 6584 y UNE-EN 14105 adecuadas al rango de concentraciones requeridas en este caso.

- Contenido de Fosfolípidos y P: la norma AOCS Ca 12-55, como se describe en 5.2.2.
- Cálculo del rendimiento: para poder determinar el avance de la reacción se cuantificó en forma volumétrica la fase oleosa y se la comparó con el volumen teórico que se podría obtener. Para este cálculo, se tiene en cuenta la composición promedio de la materia prima y la distribución de los productos formados en la reacción. El cálculo se realiza de la siguiente manera:

$$\%Rendimiento = \frac{ml\ de\ FO}{ml\ teóricos} \cdot 100\%$$

A la fase acuosa se le determinó:

- Contenido de Fosfolípidos y P: la norma AOCS Ca 12-55, como se menciona más arriba.
- DQO (demanda química de oxígeno) y DBO (demanda biológica de oxígeno): estos análisis permiten determinar cómo se puede realizar la disposición final que se le puede dar a la fase acuosa, y fueron realizados en un laboratorio externo.

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.3.1. Experiencias preliminares

Como estudio preliminar se realizaron experiencias con los diferentes tipos de materia prima (borras y gomas) y se reaccionaron con los dos tipos de álcali a evaluar.

➤ *Hidrólisis alcalina de borras*

En el caso de las experiencias preliminares se utilizaron borras con la siguiente composición promedio:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
20,36 %	50,94 %	22,12 %	6,57 %

La reacción se llevó a cabo en un reactor de vidrio con agitación magnética, termostatzado a 60 °C por 60 min en presencia de dos álcalis distintos, una solución

acuosa al 50 %p/p de NaOH y una metanólica al 30 %p/p de MeONa. La cantidad dosificada fue la estequiométrica para saponificar toda la materia oleosa presente en el residuo, que representó para la borra usada, una cantidad de 0,148 mol de álcali/100 g de borra. Los cálculos se realizaron considerando que se necesitan tres moles de álcalis por cada mol de triglicérido y dos por cada mol de fosfolípido. Lo que representó una dosificación de 5,93 %p/p para la solución acuosa de NaOH y 8 %p/p para la solución metanólica de MeONa.

En la Figura 5.2 se presenta la distribución de los productos y el rendimiento para las reacciones antes mencionadas. Por un lado, la altura total de cada barra representa el rendimiento de la reacción, contemplando la cantidad de fase oleosa obtenida referida a la cantidad teórica esperable en función de la materia prima. Por otro lado, se muestra la concentración de los diferentes compuestos dentro de la fase oleosa (afectada por el rendimiento de cada experiencia).

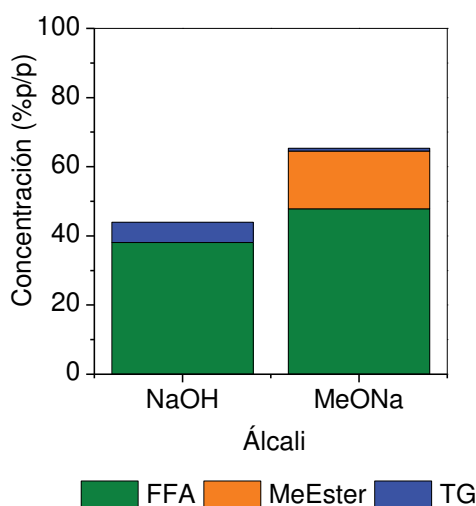


Figura 5.2. Rendimiento de la reacción de las borras con distintos álcalis, a 60 °C por 60 min en ausencia de solvente.

Se puede observar una marcada diferenciación en la distribución de los productos. Para la experiencia realizada con NaOH se tiene una fase oleosa compuesta mayoritariamente por FFA y en menor medida por TG. La presencia de triglicéridos sin reaccionar podría estar indicando que parte del álcali agregada es consumida en la saponificación el grupo fosfato del fosfolípido. El mecanismo de reacción del álcali será discutido posteriormente.

En la experiencia que se empleó como álcali la solución metanólica de MeONa, la fase oleosa está compuesta por una fracción predominante de FFA, una cantidad pequeña de TG y también aparecen metilésteres (Figura 5.2). Este compuesto aparece como consecuencia de la presencia de MeOH en la solución de álcali, dando lugar a las reacciones de transesterificación tanto de fosfolípidos como de los triglicéridos. Otro aspecto relevante es el bajo rendimiento a la fase oleosa que se obtuvo, siendo del 43,8% para el caso donde se utiliza el NaOH y del 68,3% para el MeONa. En este último caso el rendimiento es mayor. Esto puede deberse en parte a la presencia del MeOH que se agrega formando parte de la solución del metóxido de sodio, el cual actúa como solvente. Este punto será abordado en la siguiente sección, ya que cumple un rol fundamental en la reacción.

En la Foto 5.1 se observan las fases formadas luego de la etapa de neutralización y centrifugación de la mezcla reaccionante. La fase intermedia la denominamos tapón gomoso, y está compuesta por fosfolípidos sin reaccionar (con agua y aceite conformando la emulsión similar a la materia prima) por lo que la presencia de la misma es un primer indicio de que la conversión no fue completa. Este dato concuerda con los bajos rendimientos a fase oleosa mencionados en el párrafo anterior.

➤ *Hidrólisis alcalina de gomas*

Estas experiencias se realizaron también con gomas, con una distribución promedio de:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
36,64 %	44,13 %	13,24 %	6,89 %

En este caso, el avance de la reacción fue significativamente menor. No se logró obtener una buena fluidización de la mezcla, lo cual se reflejó en la escasa o casi nula recuperación de la fase oleosa debido a un ineficiente contacto con el álcali. Todo esto realza la importancia de una etapa de fluidización previa, que permita que el álcali entre en íntimo contacto con las moléculas de triglicérido/fosfolípidos para poder reaccionar.

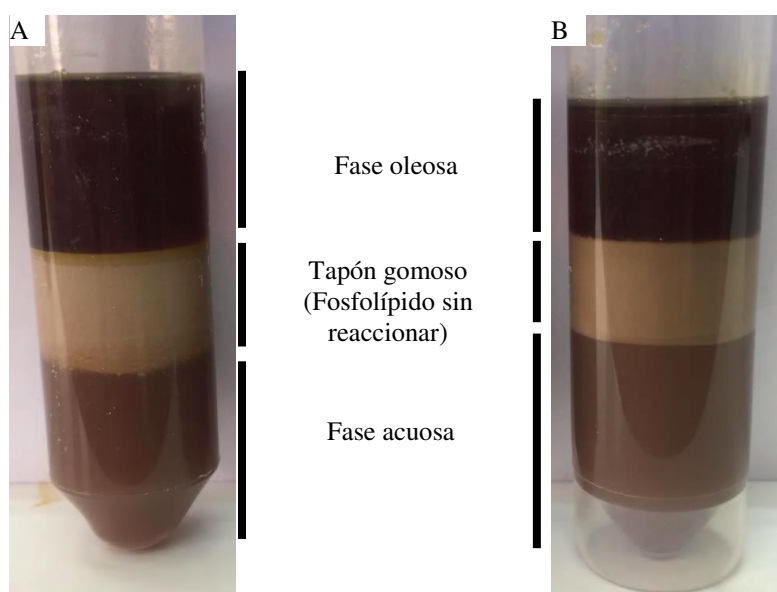


Foto 5.1. Foto de las fases obtenidas de la reacción de una borra a 60 °C por 60 min en ausencia de solventes con **A:** NaOH y **B:** MeONa

5.3.2. Efecto del solvente y su concentración

En el Capítulo 3 se estudiaron diferentes solventes para fluidizar las gomas, observándose que los alcoholes de cadena corta, el biodiesel y el aceite eran los que mejor performance tenían. Dado que uno de los reactivos es una base y la reacción que se propone para el ataque del residuo es la de saponificación, no sería apropiado utilizar el biodiesel y el aceite como solventes, ya que estaríamos perdiendo parte del álcali en saponificarlos. Motivo por el cual se va a estudiar el empleo de alcoholes, especialmente EtOH y MeOH los cuales pueden estar presentes en una biorefinería y son de relativo bajo costo.

➤ A) Agregado de etanol. Reacción de borras

El efecto del agregado de una etapa de fluidización, se analizó realizando una experiencia agregando 30 %p/p de EtOH 96 en las mismas condiciones que las usadas en el punto anterior (sección 5.3.1) y la misma materia prima (20,36 % Fosfolípidos, 50,94 % Agua, 22,12 % Aceite y 6,57 % FFA).

Esta borra se reaccionó con NaOH, en cantidades necesarias para saponificar toda la materia oleosa (0,148 mol/100 g_{borras}) a 60 °C y agitación magnética por 60 min. El hidróxido se agregó en forma de una solución acuosa al 10 %, lo que representa un 50 %p/p con respecto a la masa de la borra.

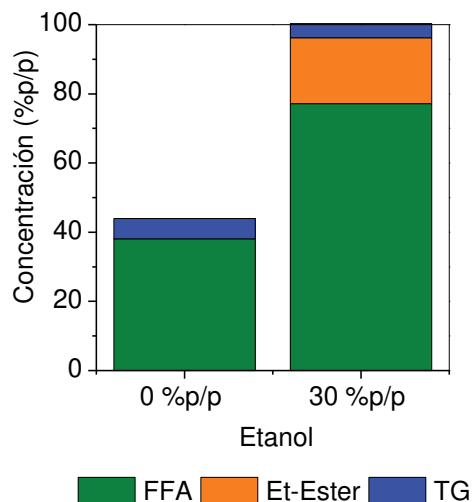


Figura 5.3. Rendimiento a los productos formados con y sin agregado de una etapa de fluidización, previa a la etapa de reacción de una borra con NaOH, a 60 °C por 60 min.

En la Figura 5.3 se observa en forma comparativa la distribución de los productos de las experiencias sin y con etapa de fluidización. Efectivamente, el empleo de un solvente facilitó la interacción entre los distintos compuestos presentes en la mezcla, aumentando el rendimiento de 43,8 % a 98,18 %, siendo la única diferencia entre las dos experiencias el agregado de EtOH 96. Además se observa que si bien el rendimiento es muy diferente, cuando se tiene alcohol en el medio de reacción se detecta la presencia de etilésteres como producto de la reacción de transesterificación (de fosfolípidos y/o triglicéridos con el alcohol disponible que es el EtOH). En ambas experiencias la fase oleosa tiene como componente mayoritario los FFA como producto de la saponificación y posterior neutralización.

El rendimiento de casi 100% obtenido al fluidizar con EtOH 96, fue acompañado de la ausencia del tapón gomoso en la mezcla final. En la Foto 5.2 se muestra en forma comparativa las fases formadas luego de la etapa final de centrifugación con y sin agregado de EtOH 96. Esta mejora notable en la conversión al usar EtOH se atribuye a su efecto solvente sobre los fosfolípidos y la emulsión que conforman, así como también por ser capaz de solubilizar los jabones a medida que se forman. Es bien conocido el efecto tensoactivo de los jabones, lo cual contribuye junto a los fosfolípidos presentes, a emulsionar la mezcla reaccionante, imposibilitando el íntimo contacto entre los reactivos.

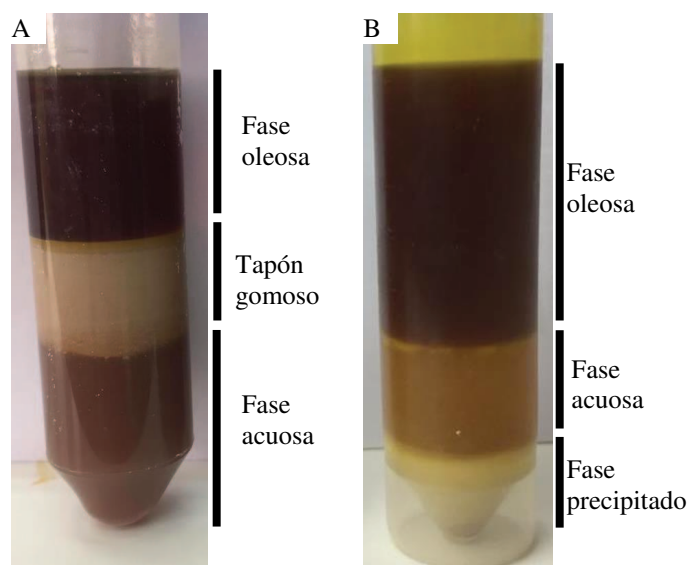


Foto 5.2. Foto de las fases obtenidas de la reacción de una borra a 60 °C por 60 min con NaOH **A:** en ausencia de solventes y **B:** con 30 %p/p de EtOH 96.

➤ *B) Agregado de etanol. Reacción de gomas*

Se estudió también el efecto de la etapa de fluidización con etanol, en una experiencia en idénticas condiciones a las anteriores pero utilizando una goma cuya composición promedio fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
39,48 %	38,14 %	15,46 %	6,92 %

Es decir, las condiciones usadas fueron: 60°C, agitación magnética, 30 %p/p de EtOH 96, NaOH suficiente para saponificar toda la materia oleosa (0,174 mol/100 g_{gomas}) por 330 min, tomando muestras en el tiempo. El hidróxido se agregó en forma de una solución acuosa al 10 % y esto representó un 58 %p/p referido a la masa de la goma.

En la Figura 5.4.A se muestra la distribución de los productos de reacción en función del tiempo. No se formó el tapón gomoso, obteniéndose rendimientos a la fase oleosa mayores al 90 % desde la primera muestra tomada. Este resultado es muy relevante, dado que muestra una alta velocidad de la reacción, desarrollándose en tan solo 15 min, siendo marginal la variación de los rendimientos posteriores. Es interesante destacar que la fase oleosa a los 15 minutos de reacción presenta la mayor concentración de TG y etilésteres en relación a las muestras analizadas a mayores tiempos. Conforme avanza el tiempo de reacción, tanto los triglicéridos (triésteres)

como los etilésteres (monoésteres) se saponificarían transformándose en jabones y posteriormente, durante la neutralización en FFA. En conclusión, al aumentar el tiempo de reacción más allá de los 15 minutos solo se producen cambios de selectividad, sin afectar significativamente el rendimiento. Por este motivo, la mayor parte de las reacciones posteriores se llevarán a cabo en tiempos de 15 min.

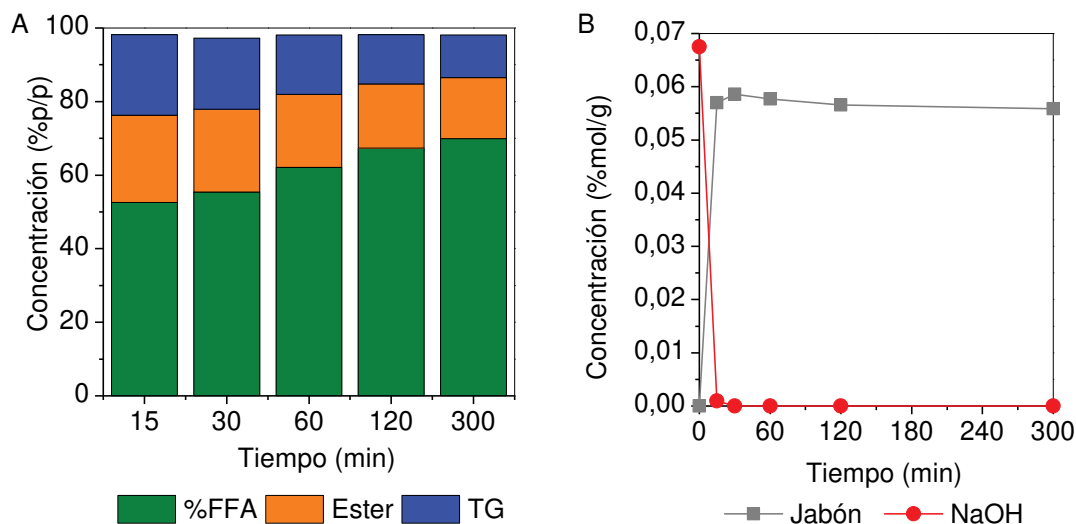


Figura 5.4. Rendimiento y distribución de productos, en la reacción de una goma con NaOH empleando 30 %p/p de EtOH 96 como solvente a 60 °C. **A:** Productos de reacción. **B:** Álcali y jabones en la mezcla reaccionante antes de la etapa de acidificación.

La formación de ésteres es consecuencia de la reacción de transesterificación debido a la presencia de EtOH, que inicialmente es agregado con un rol solvente, así como también del álcali que cataliza dicha reacción.

La Figura 5.4.B presenta el seguimiento de la concentración molar de hidróxido de sodio y de jabones formados durante la reacción, antes del agregado de ácido (etapa de acidificación). Puede observarse una gran disminución del hidróxido de sodio al inicio de la reacción, cayendo su composición prácticamente a 0 en 30 min. Esta variación es acompañada de un incremento de los jabones en los primeros minutos de la reacción, y luego se mantiene aproximadamente constante. Si bien en esta experiencia, desde el minuto 30 al 330 se observa una leve disminución de la concentración de jabones, esto no se pudo verificar en otras experiencias, por lo que se atribuye a un error experimental en la toma de muestra debido a la heterogeneidad del sistema en estudio. Por un lado, se tiene que inicialmente el NaOH actúa como catalizador de la reacción de transesterificación y por otro lado, se consume rápidamente en las reacciones de

saponificación. Sin embargo, la concentración molar de jabones cuantificada no se condice con la cantidad inicial de álcali agregada, siendo al menos un 10% menor. Esto puede deberse a que una parte del álcali posiblemente se esté consumiendo para saponificar los grupos fosfatos del fosfolípido o formando otras especies que no están siendo bien cuantificadas, o bien la diferencia de álcali medido sea debido a un error propio de la técnica. Cabe destacar que tal como se observa en la Figura 5.4.A, las concentraciones de TG y ésteres disminuyen a expensas de la aparición de FFA y para ello es necesario que haya disponible NaOH en el medio de reacción para que se produzca la saponificación.

Estos resultados aportan información del mecanismo de reacción que se da en estas condiciones, en donde se deduce que ocurre una rápida esterificación y saponificación de manera preferencial y selectiva sobre los fosfolípidos ante que sobre los triglicéridos, ya que los últimos se encuentran sin reaccionar en la fase oleosa producto de reacción. Más adelante se abordará el estudio del mecanismo de reacción.

➤ *C) Efecto de la cantidad de etanol- Reacción con borras*

Con el fin de optimizar la dosificación de EtOH 96, se realizaron 3 experiencias con 30 %, 15 % y 10 %p/p referido a la masa de las gomas. Las condiciones fueron las mismas que en las experiencias anteriores, es decir 60 °C, agitación magnética, NaOH como álcali (10 %p/p) en cantidades necesarias para saponificar toda la materia oleosa (0,148 mol/100 g_{borras}) por 15 min y la siguiente borra:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
20,36 %	50,94 %	22,12 %	6,57 %

Al dosificar un 30 %p/p de EtOH 96 se obtuvieron buenos resultados fluidodinámicos, y altos rendimientos, de aproximadamente 98 %. Al reducir el alcohol a la mitad se obtuvo un comportamiento similar, alcanzándose una conversión del 97,3 % (Figura 5.5). Al usar solo 10 %p/p, si bien se logra una buena fluidización, se observó la formación de un tapón gomoso, y por consiguiente la conversión se redujo a un 74,08%. Por lo tanto, la dosificación del 15 %p/p sería un valor más adecuado desde el punto de vista de la economía del proceso.

En la Figura 5.5 se muestra la distribución de productos en función de la cantidad de alcohol agregado para fluidizar la mezcla de reacción. Al agregar 30 %p/p de EtOH 96 se observa una mayor proporción de ácidos grasos y menor de ésteres y

TG, en comparación con la distribución observada al agregar 15 %p/p de EtOH 96. Una diferencia similar se puede observar al comparar las distribuciones obtenidas con 15 %p/p y 10 %p/p de etanol agregado. Esto puede ser debido a la cantidad de agua que se agrega con el etanol, dado que en todas estas experiencias se usó el alcohol al 96 %p/p. La presencia de agua favorecería en mayor medida a la reacción de saponificación en comparación a la de transesterificación. Si bien este contenido de agua es pequeño comparado con el 50% de agua que poseen las gomas, se verá que juega un papel muy importante. El estudio de la presencia de agua se discutirá en una sección posterior.

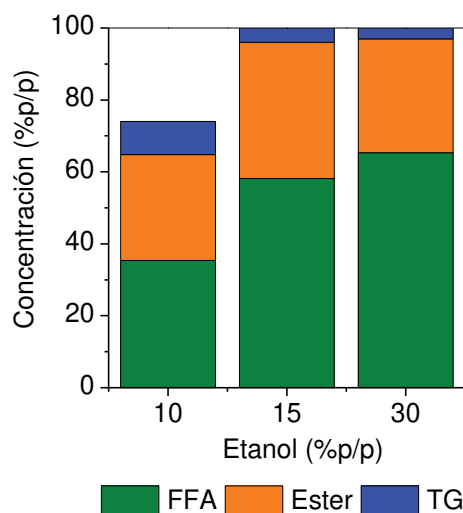


Figura 5.5: Distribución de productos de la reacción de una borra con NaOH a 60 °C por 15 min y distintas cantidades de EtOH: 30, 15 y 10 %p/p_{borras}.

➤ *D) Efecto de la cantidad de etanol- Reacción con gomas*

Para verificar que el 15 %p/p de EtOH 96 es una dosificación adecuada, se ensayó una goma, con la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
36,64 %	43,37 %	11,51 %	8,85 %

Las condiciones fueron las mismas a las ya estudiadas, es decir 60 °C, agitación magnética, NaOH como álcali en cantidades necesarias para saponificar toda la materia oleosa (0,160 mol/100 g_{gomas}) por 15 min. En esta oportunidad el álcali fue agregado en forma de una solución acuosa al 40 % p/p, mientras que en las experiencias anteriores se utilizó la solución al 10 % p/p.

Para esta materia prima que tiene mayor concentración de fosfolípidos y por lo tanto un mayor carácter emulsionante, la reducción a la mitad de la cantidad de alcohol

agregada, produjo una disminución significativa en los rendimientos. Al emplear un 15 % p/p EtOH 96 el rendimiento cayó al 67,82 %, muy inferior al 92,5 % obtenido al trabajar con un 30 %p/p, como se mencionó más arriba.

Como conclusión parcial se puede mencionar que la dosificación de EtOH 96 dependerá del residuo del desgomado que se quiera procesar. La dosificación del 15 % p/p es adecuada para el tratamiento de las borras y la del 30 % p/p es la que debe usarse para las gomas. Esta diferencia nos estaría indicando que el poder de solubilización de etanol en estos residuos está íntimamente relacionado con la concentración del fosfolípidos.

E) Agregado de metanol – Reacción con borras

Otro de los solventes seleccionados fue el MeOH. Se realizaron 4 experiencias utilizando 40, 30, 15 y 10 %p/p referido a la materia prima. Las condiciones fueron las mismas que en las experiencias anteriores: 60 °C, agitación magnética, NaOH como álcali en cantidades necesarias para saponificar toda la materia oleosa (0,151 mol/100 g_{borras}), por 15 min con una borra cuya composición fue:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
21,65 %	48,09 %	21,65 %	6,88 %

El NaOH fue agregado en forma de solución acuosa al 10 %p/p, lo que representó un 51 %p/p referido a la masa de las borras.

Al dosificar 15 % y 10 %p/p de MeOH se observó la presencia de tapón gomoso, siendo de mayor volumen para la reacción llevada a cabo con la menor proporción de MeOH. Los rendimientos estuvieron de acuerdo con esta observación cualitativa, resultando ser relativamente bajos, del 44,5 % y 25,1 % respectivamente. Al utilizar 30 % y 40 %p/p de MeOH no se formó la fase intermedia (tapón gomoso), y los rendimientos fueron mayores, 79,6 % y 83,6 % respectivamente. El incremento del rendimiento en un 4,65% es pequeño al aumentar el agregado de metanol desde 30 a 40 %p/p. Por lo tanto, no es conveniente desde el punto de vista costo/beneficio este aumento de consumo de metanol, seleccionando el valor de agregado de 30 %p/p de MeOH. Por otro lado, el poder de solubilización de los fosfolípidos que presenta este alcohol es menor al del EtOH. En iguales condiciones, con el primero los rendimientos fueran del 79,6 % y del segundo 98,2 %.

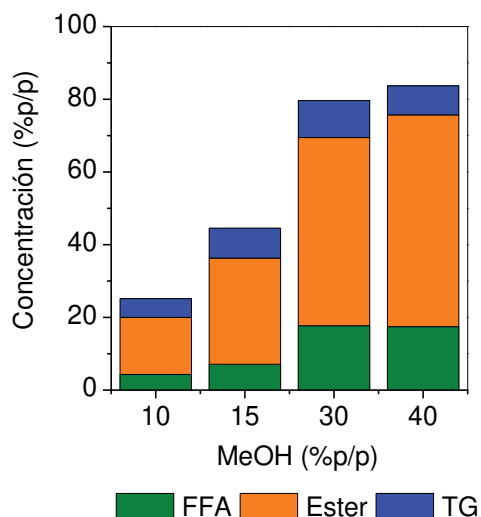


Figura 5.6. Distribución de productos de la reacción de una borra con NaOH a 60 °C por 15 min y distintas cantidades de MeOH: 40, 30, 15 y 10 %p/p_{borras}.

En la Figura 5.6 se muestran los rendimientos y la distribución de productos en función de la cantidad de MeOH agregada en la reacción. En todos los casos se obtuvo similar selectividad, siendo el éster el producto mayoritario, resaltando el rol como reactivo del MeOH en la reacción de transesterificación.

La fase oleosa de reacción se separó y guardó en tubos de centrifuga de vidrio con tapas roscadas. Durante el almacenamiento se formaron sedimentos en el fondo del tubo, de aspecto similar a los que se observan en la fase acuosa. Un posible tipo de compuestos que presente este comportamiento son los lisofosfolípidos. Estas especies son fosfolípidos que han perdido una cadena de ácidos grasos. En la Figura 5.7 se muestra la estructura de la α - lisofosfatidiletanolamina y β - lisofosfatidiletanolamina.

Las distribuciones de productos obtenidas con MeOH y con EtOH son muy diferentes entre sí. Se obtuvieron más ácidos grasos con EtOH y mayor concentración de esteres con MeOH (ver Figuras 5.5 y 5.6). Mendow et al. [4] estudiaron la reacción de transesterificación de aceites con catálisis básica para la producción de biodiesel con etanol y metanol, mostrando que la producción de jabones (reacción de saponificación) era de 3 a 4 veces mayor al trabajar con EtOH, debido al mayor efecto solvente de este alcohol. Esto podría explicar la diferencia en la distribución de productos cuando se usa uno u otro alcohol.

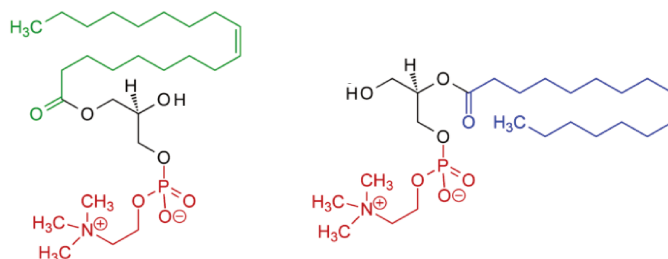


Figura 5.7. Estructura de un lisofosfolípido, particularmente lisofosfatidiletanolamina, dependiendo si el corte de la cadena de ácido graso ocurrió en la posición α o β .

➤ *F) Agregado de metanol + isopropanol – Reacción con borras*

En experiencias preliminares se observó que el alcohol isopropílico presenta un buen poder solvente sobre estas materias primas. Se evaluó el uso de mezclas de alcoholes con el objetivo de regular la polaridad del solvente y por lo tanto la fluidización de la materia prima. Se utilizó MeOH con agregado de isopropanol (IPA). Para ello se realizaron experiencias empleado soluciones metanólicas con 0; 1; 1,5; 3; 4 y 7,5 %v/v de IPA como solvente. Como materia prima se usaron dos borras, cuyas composiciones y denominaciones son las que se muestran a continuación:

	Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
Borra I	19,24 %	53,79 %	20,70 %	6,27 %
Borra II	22,27 %	47,89 %	27,04 %	2,80 %

La borra denominada I fue solubilizada con las mezclas conteniendo 0, 1, 1,5 y 3 %p/p de IPA en MeOH y la II con 4 y 7,5 %p/p. Se trabajó con un agregado de 20 %p/p de la solución y las condiciones de reacción 60 °C, agitación magnética, NaOH como álcali en cantidades necesarias para saponificar toda la materia oleosa (0,140 mol/100 gr_{borras} para la borra I y 0,156 mol/100 gr_{borras} para la borra II), 15 min de reacción.

Tabla 5.1: Rendimientos a la fase oleosa en función del Isopropanol agregado en el solvente.

%p/p IPA en MeOH	0%	1%	1,5%	3%	4%	7,5%
%Rendimiento a la FO	62,09	65,28	67,33	78,10	79,81	80,10

En la Tabla 5.1 se observan los rendimientos en función del porcentaje de isopropanol agregado. Como se puede observar al agregar este alcohol efectivamente se logra un incremento en los rendimientos, pasando de un 62,09 % al 78,1 % con un 3 %p/p en el solvente. Con mayores contenidos de IPA el aumento de rendimiento es menos marcado, siendo para un 4 % y 7,5 % de IPA prácticamente los mismos. El valor

límite alcanzado es muy similar al obtenido con las mayores dosificaciones de MeOH, como se mostró en el apartado (F) dentro de esta sección.

Un aspecto importante de destacar en esta sección es el rol de los alcoholes como solvente, y que agregado en cantidades adecuadas permite obtener rendimientos cercanos al 100 %. Esto se observó para el caso del etanol, que resulta ser el solvente más adecuado para esta aplicación, dado que además de ser de relativo bajo costo, proviene de una fuente renovable, no es tóxico, y permite obtener una adecuada fluidización que se refleja en un mayor rendimiento, con ausencia de la interface rica en fosfolípidos. Este último aspecto es muy importante, dado que la separación a nivel industrial por centrifugas se complica seriamente al aparecer varias fases.

5.3.3. Efecto del álcali y su concentración

A continuación se abordará el estudio del tipo de álcali y la concentración más apropiada para las reacciones en estudio. Teniendo en cuenta la disponibilidad en las biorefinerías, el estudio se centrará en el hidróxido de sodio (NaOH) y el metóxido de sodio (MeONa), que son bases muy usadas en estas industrias.

➤ *A) Hidróxido de sodio – Etanol - Reacción con borras*

Se realizaron cuatro experiencias con distintas dosificaciones de NaOH, usando 15 %p/p de EtOH 96, y una borra con la siguiente composición promedio:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
19,08 %	53,79 %	20,86 %	6,27 %

La reacción se llevó a cabo a 60 °C por 15 min. El NaOH se agregó en las siguientes proporciones:

- (i) la estequiométrica para saponificar toda la materia oleosa (0,140 mol/100 g_{borras}),
- (ii) un 10 % de exceso respecto de la cantidad estequiométrica para saponificar toda la materia oleosa (0,154 mol/100 g_{borras}),
- (iii) un 15 % de defecto respecto del estequiométrico (0,119 mol/100 g_{borras}),
- (iv) el estequiométrico para saponificar SOLO los fosfolípidos (0,047 mol/100 g_{borras}).

Para los cálculos se consideró como cantidad estequiométrica de álcali la necesaria para saponificar la fracción oleosa de la materia prima: 2 moles de álcali por cada mol de fosfolípido y 3 moles por cada mol de triglicérido, y para los ácidos grasos la relación fue 1:1. Por último, el hidróxido se agregó disuelto en un 10 %p/p de agua, referido a la masa de las borras en todos los casos, de manera de aislar el efecto de esta concentración.

En el caso en que se agregó el NaOH en cantidades suficientes como para saponificar solo los fosfolípidos el rendimiento fue bajo, del 49,9 %, con la correspondiente presencia de la fase intermedia de fosfolípidos no convertidos. En el resto de las experiencias se obtuvieron rendimientos cercanos al 100 %. Siendo del 98,97 % cuando se agregó en cantidad suficiente para saponificar toda la materia prima, 99,93% con un 10 % exceso y 98,07 % para un 15 % de defecto.

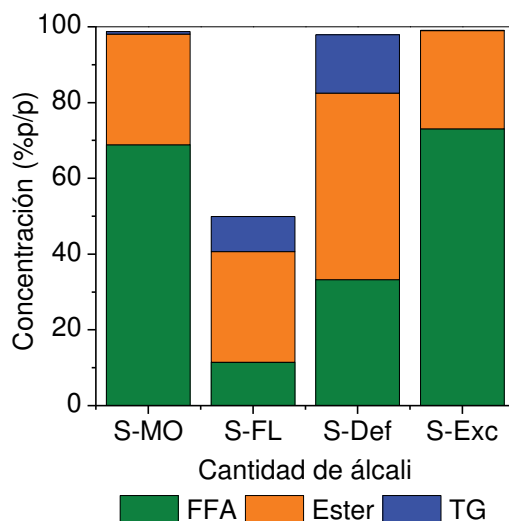


Figura 5.8. Distribución de productos de reacción de una borra con NaOH dosificado en diferentes cantidades: para saponificar solo los fosfolípidos (S-FL), toda la materia oleosa (S-MO), un 10 % exceso (S-Exc) y un 15 % de defecto (S-Def), 15 %p/p EtOH 96, 60 °C, 15 min.

En la Figura 5.8 se muestra la distribución de los productos de reacción en forma comparativa para todas las dosificaciones de hidróxido de sodio. Las experiencias se identifican con la siguiente nomenclatura: “S-MO” hace referencia a la reacción con el álcali suficiente para saponificar toda la materia oleosa, “S-Def” al usar el 15 % de defecto, “S-Exc” al usar el 10 % de exceso y “S-FL” cuando se agregó la cantidad necesaria para saponificar solo los fosfolípidos. Cuando se trabaja con cantidades de NaOH en defecto, (S-FL y S-Def) se observa que quedan TG sin reaccionar, volviendo a remarcar el hecho de que *los fosfolípidos reaccionan preferencialmente antes que los*

TG. La otra observación importante es que el álcali tiene un rol fuerte de catalizador, por lo que se generan más ésteres que ácidos grasos. Por el contrario, cuanto más alcalino es el medio (S-Exc y S-MO), mayor conversión total de los TG, resultando que el producto principal son los FFA. En resumen, para iguales niveles de rendimientos, a mayor cantidad de NaOH se forma mayor cantidad de FFA y los TG reaccionan por completo, mientras que, a medida que disminuye la cantidad de álcali se favorece la formación de ésteres y quedan triglicéridos sin reaccionar.

➤ *B) Hidróxido de sodio – Etanol - Reacción con gomas*

Dada la buena performance de la reacción en la cual se usó NaOH en defecto respecto del estequiométrico para procesar una borra, se ensayó esta alternativa utilizando una goma. Esto es, agregando el NaOH en defecto respecto del estequiométrico para saponificar toda la materia oleosa. Se utilizó la misma cantidad que en la experiencia (iii) con las gomas, es decir 0,119 mol/100 g_{gomas}, y 15 %p/p de EtOH 96, a 60 °C por 15 min y una goma con la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite
48,15 %	34,28 %	17,7 %

En la Figura 5.9 se muestran en forma comparativa la reacción de la borra y de la goma realizadas usando el NaOH en defecto respecto del estequiométrico. En ambos casos se tuvieron rendimientos mayores al 90%, siendo de 97,8 % para la borra y del 91,5 % para la goma. La diferencia en rendimientos está asociada a que la goma tiene un mayor porcentaje de material saponificable que la borra, y en ambas experiencias se dosifico la misma cantidad de álcali. Esta cantidad (0,119 mol/g_{gomas}) representa un 15% de defecto para la borra y un 25% para la goma, respecto de la cantidad necesaria para saponificar toda la materia oleosa. Por lo tanto, si se dosificara el NaOH exactamente al mismo porcentaje de defecto respecto del estequiométrico, sería de esperar un rendimiento muy próximo al 100%. La distribución de los productos fue similar con ambas materias primas.

En resumen, es posible direccionar los productos de reacción según los objetivos buscados mediante la dosificación del álcali. A mayor cantidad del hidróxido agregada se favorecen los productos de saponificación, frente a los de esterificación, tanto al procesar gomas como borras.

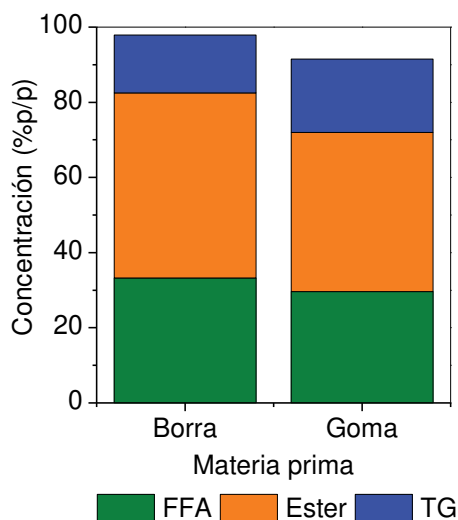


Figura 5.9. Distribución de los productos de reacción de una borra y una goma con NaOH dosificado en defecto ($0,119 \text{ mol}/100 \text{ g}_{\text{gomas}}$) respecto al valor necesario para saponificar toda la materia oleosa, 15 %p/p EtOH 96, 60 °C, 15 min.

➤ C) *Metóxido de sodio – Metanol - Reacción con borras*

Se estudió el MeONa como base y catalizador y el efecto de su concentración, empleando MeOH como solvente. Para ello se realizaron cuatro experiencias usando 100 %, 40 %, 30 % y 25 % de MeONa respecto de la cantidad necesaria para saponificar toda la materia oleosa en el residuo. Nuevamente los cálculos se realizaron considerando 2 moles de álcali por cada mol de fosfolípido, 3 mol por cada mol de triglicérido y 1 mol por cada mol de ácido graso. El MeONa fue agregado en forma de una solución al 30 %p/p en MeOH, teniendo en cuenta para los cálculos, el alcohol que se agrega en la solución de MeONa. Las condiciones de reacción fueron 30 %p/p MeOH total referido a la masa de las gomas, 60 °C, agitación magnética por 15 min. Se ensayaron distintas materias primas, las que se presentan la Tabla 5.2. Se incluye la composición de la materia prima y la cantidad de álcali agregado respecto del estequiométrico para la saponificación.

La Figura 5.10 muestra que los rendimientos de las reacciones fueron del 95,2, 89,1, 68,5 y 54,6 % cuando se usó 100 %, 40 %, 30 % y 25 % del MeONa necesario para saponificar toda la materia oleosa, respectivamente. Comparando estos rendimientos con los obtenidos al usar NaOH en las mismas condiciones (30 %p/p de MeOH), materias primas similares y cantidad necesaria para saponificar la materia oleosa, el MeONa da mayores rendimientos que el NaOH (ver Figura 5.6, Sección 5.3.2), siendo 95,2 % y 79,6 % respectivamente. Este comportamiento puede estar

relacionado con la mejor actividad catalítica del MeONa para atacar los grupos ésteres, presentes en los fosfolípidos y triglicéridos. Es conocido que esta base es un catalizador más activo que el NaOH en las reacciones de transesterificación, lo que podría explicar el comportamiento observado.

Tabla 5.2: Materias primas usadas en el procesamiento con metóxido de sodio, con diferentes concentraciones respecto de la estequiométrica

Dosificación MeONa ⁽¹⁾	Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA	MeONa (mol/100 g)	
					Estequiométrica	Agregados
100%	21,39	45,51	26,22	6,88	0,1658	0,1696
40%	29,67	48,78	15,46	6,08	0,1468	0,0585
30%	50,68	27,01	14,61	7,70	0,2012	0,0598
25%	29,67	48,78	15,46	6,08	0,1468	0,0370

⁽¹⁾ Porcentaje referido a la cantidad estequiométrica

Por otro lado, se observa que a medida que disminuye el álcali agregado disminuye el rendimiento. No obstante, se debe resaltar que al disminuir la cantidad agregada del 100 % al 40 % del estequiométrico, el rendimiento bajo solo del 95,2 % al 89,1 %. Al bajar la dosificación a 30 % y 25 % del estequiométrico el rendimiento disminuye significativamente y en el sistema aparece la interfase rica en gomas. Por lo tanto, la dosificación del 40% de la cantidad necesaria para una saponificación completa pareciera ser un valor adecuado, que combina rendimientos aceptables con bajo consumo de reactivos.

La Figura 5.10 muestra la distribución de los productos de reacción, observándose que no hay una diferencia marcada en la selectividad, siendo los ésteres el principal producto en todos los casos, independientemente de la concentración de MeONa usada.

En resumen, se han encontrado dos combinaciones de solvente/álcali con las cuales se obtienen buenos rendimientos, que son MeOH/MeONa y EtOH/NaOH. En el caso de interesar solo la recuperación de la fracción lipídica, se puede trabajar en defecto de álcali sin perder significativamente rendimiento. Particularmente, una reducción del 60% en la dosificación del MeONa permitió obtener rendimiento de 90 % sin formación de interfase de fosfolípidos.

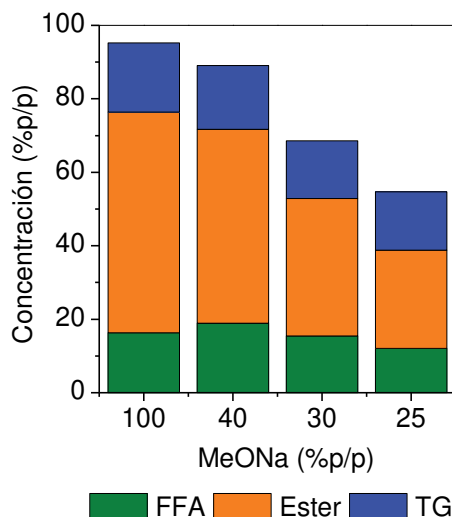


Figura 5.10. Distribución de los productos de reacción del residuo del desgomado del aceite con distintas dosificaciones de MeONa respecto al valor necesario para saponificar toda la materia oleosa, 30 %p/p MeOH, 60 °C, 15 min.

5.3.4. Efecto de la concentración del agua

Se ha mencionado más arriba, que el agua agregada al sistema tiene un efecto muy importante, mientras que cumple un rol diferente a la que se encuentra originalmente en la materia prima conformando la emulsión. En esta sección se estudia precisamente este efecto. Para ello se realizaron experiencias variando el agua agregada de 0 a 100 %p/p referido a la masa de gomas y borras. En todos los casos se utilizó la cantidad de NaOH necesaria para saponificar toda la materia oleosa presente en el residuo del desgomado (0,152 mol/100 g para la borra y 0,185 mol/100 g para la goma). El NaOH se disolvió en la cantidad de agua agregada, que fue 0, 25, 50 y 100 %p/p referido a la materia prima. Esto significa que en la experiencia que no se empleó agua, el NaOH se agregó como sólido al sistema reaccionante. Las condiciones de reacción fueron 60 °C, 15 min, agitación magnética, 30 %p/p de EtOH anhidro, y se ensayaron dos materias primas distintas, una goma y una borra cuyas composiciones fueron las siguientes:

	Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
Borra	19,65 %	50,00 %	23,38 %	6,88 %
Goma	67,63 %	24,04 %	4,31 %	1,31 %

En la Foto 5.3 se muestran las mezclas de reacción con distintos porcentajes de agua después de ser neutralizadas y centrifugadas para la reacción, A: de la goma y B:

de la borra. Las distribuciones de fases obtenidas entre las gomas y las borras son similares. Cabe aclarar que las experiencias con la borra se realizaron con mayor masa lo que demandó el uso de más de un tubo de centrifuga para su separación, lo que hace que en la foto (Foto 5.3.B) parecieran distintos los rendimientos en las fases oleosas.

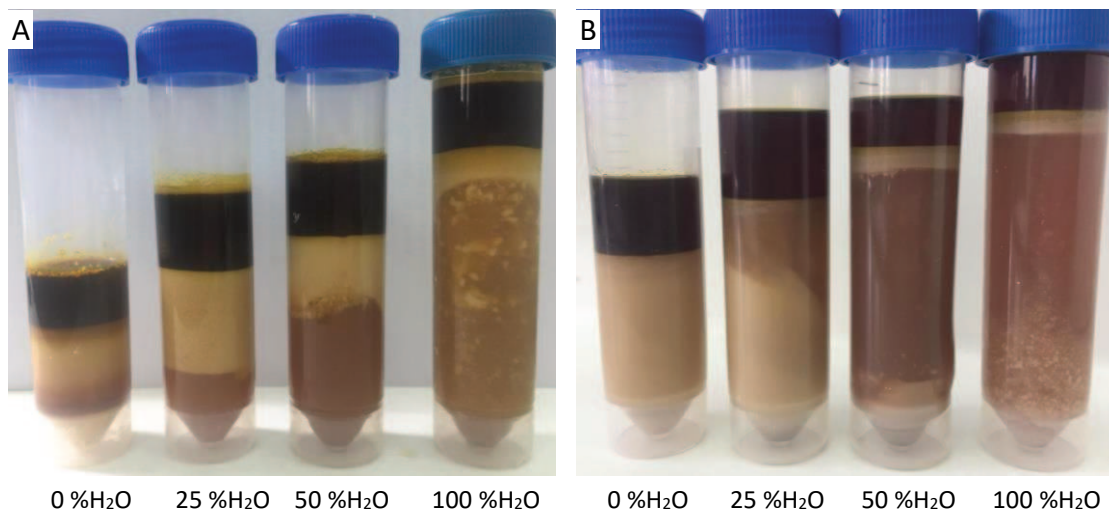


Foto 5.3. Foto de la distribución de fases para las reacciones con distintos porcentajes de agua agregada, 10 %p/p NaOH, 30 %p/p EtOH, 60 °C y 15 min, para **A:** una goma y **B:** una borra.

En la Tabla 5.3 se presentan los rendimientos obtenidos. En el caso de las gomas se observa que para un porcentaje de agua agregada del 25 % se obtiene el máximo rendimiento, es decir existe un óptimo en el rendimiento en función del agua agregada. Al agregar más agua, se diluye el álcali, y por tanto no es tan efectivo para hidrolizar los fosfolípidos y triglicéridos, disminuyendo el rendimiento. Por el contrario, cuando se pone en defecto resulta muy difícil su disolución en el alcohol o en el agua que forma parte de la emulsión y pierde eficacia para hidrolizar la materia prima.

En el caso de las borras el comportamiento es totalmente distinto. El agregado de agua en cualquier porcentaje tiene un efecto perjudicial en los rendimientos obtenidos. Este hecho está relacionado con el alto contenido acuoso que tiene la materia prima, que es del 50 %, y el bajo contenido de fosfolípidos, que es sólo del 19 %. Esta materia prima tiene un bajo nivel emulsionante por el bajo contenido de fosfolípidos, y el agua presente en la materia prima se mezcla fácilmente con el agua agregada, diluyendo el álcali.

Tabla 5.3. Rendimientos a la fase oleosa obtenidos para las reacciones de una goma y una borra con distintos porcentajes de agua agregada.

Agua agregada	0 %	25 %	50 %	100 %
Goma	84,1 %	95,0 %	93,1 %	85,8 %
Borra	71,1 %	64,8 %	56,4 %	52,3 %

En la Figura 5.11 se muestra la distribución de los productos de reacción en función del agua agregada para **A**: la goma y **B**: la borra. En el caso de las gomas, al aumentar la cantidad de agua en el sistema se favorece la reacción de saponificación frente a la de transesterificación, por lo que el producto mayoritario son los ácidos grasos, y se logra saponificar toda la materia oleosa, con una conversión total de triglicéridos. En el caso de las borras se observa una tendencia inversa, es decir, menor selectividad a ácidos grasos a medida que se incrementa el agua agregada en el sistema. La gran cantidad de agua en la mezcla reaccionante diluye el álcali, lo que hace que actúe preferencialmente como catalizador, favoreciendo la reacción de transesterificación. Por este motivo, se observa una cantidad creciente de triglicéridos a medida que aumenta el agua agregada.

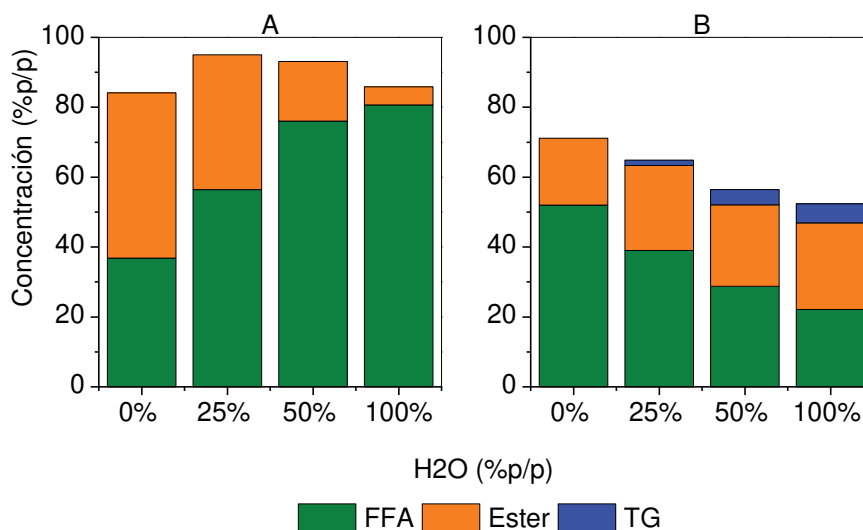


Figura 5.11. Distribución de los productos de reacción del residuo del desgomado del aceite con distintos porcentajes de H₂O agregada, dosificando NaOH para saponificar toda la materia oleosa, 30 %p/p EtOH, 60 °C por 15 min. **A**: goma y **B**: borra.

Teniendo en cuenta que el hidróxido de sodio también se comercializa a nivel industrial en forma de solución acuosa, se estudiará el efecto de diferentes concentraciones de esta solución. Para ello se prepararon 4 soluciones acuosas de NaOH

con distintas concentraciones, al 10, 20, 40 y 50 %p/p. Las condiciones de reacción fueron las optimizadas anteriormente, es decir, 15 %p/p EtOH 96 y una cantidad de NaOH en un 15 % de defecto de NaOH respecto de la cantidad necesaria para saponificar las materia oleosa (0,139 mol/ 100g_{goma}), por 15 min a 60 °C. El residuo del desgomado usado fue una borra cuya composición promedio fue la siguiente:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
19,08 %	53,79 %	20,86 %	6,27 %

En la Figura 5.12.A se muestra la distribución de los productos de reacción. El hidróxido al estar en defecto tiene preferencialmente una función de catalizador, por lo que el producto mayoritario son los ésteres. Se ve una tendencia de disminución del rendimiento al aumentar la concentración del álcali. Debe tenerse en cuenta, que en estas experiencias se está cambiando la cantidad de agua agregada, dado que a mayor concentración de la solución de NaOH, menor es la cantidad de solución que se agrega. Además, en estas experiencias se está usando una cantidad de etanol del 15 %p/p, que es menor a la usada en la serie de experimentos en los cuales se modificó la cantidad de agua agregada. Por lo tanto, puede existir un problema de volumen de líquido en el cual se deben disolver las gomas y el NaOH. Por lo tanto, se realizó otra reacción empleando una solución acuosa de NaOH al 50 %p/p, agregando 30 %p/p de EtOH 96. Los resultados se muestran en la Figura 5.12.B. Puede verse que efectivamente hay un efecto de disolución de las gomas, lográndose aumentar los rendimientos de un 52,1 % a un 91,8 % al aumentar la cantidad de etanol dosificado de un 15 %p/p a un 30 %p/p respectivamente.

Una conclusión importante de esta sección, es que existe un marcado efecto en la distribución de los productos y los rendimientos en función del agua agregada. Sin embargo, el resultado es diferente según se trate de gomas o borras, por lo que el proceso debe ajustarse a la materia prima para optimizar los rendimientos.

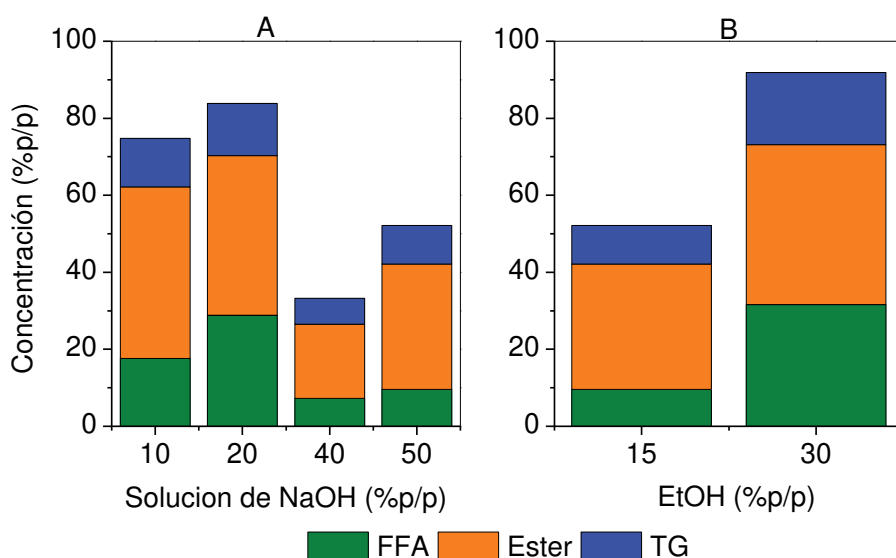


Figura 5.12. Distribución de los productos formados en la reacción de una borra por 15 min a 60 °C y NaOH en defecto respecto de la cantidad necesaria para saponificar la materia oleosa. **A:** usando distintas soluciones acuosas de NaOH 10, 20, 40 y 50 %p/p y 15 %EtOH. **B:** distintas dosificaciones de EtOH y 50 %p/p de NaOH.

5.3.5. Uso de glicerina Técnica

Otro solvente evaluado para el procesamiento de los residuos del desgomado fue la glicerina (GOH).

La glicerina es obtenida como un subproducto en la industria del biodiesel, en la cual se transesterifica el aceite con un alcohol en presencia de un catalizador básico, dando lugar a un mol de glicerina y tres de esteres (biodiesel) por cada mol de TG. En esta reacción se obtienen dos fases, una rica en ésteres y la otra en glicerina que, debido a su carácter polar, arrastra la mayor parte del alcohol residual en el sistema y el catalizador. Por lo tanto, esta fase tiene los componentes necesarios para hidrolizar las gomas y borras. Esta glicerina con metanol y metóxido de sodio (o hidróxido de sodio) comúnmente se denomina cruda. Esta corriente normalmente ingresa a un circuito de purificación para ser comercializada en altas concentraciones, grado farmacopea o USP, previa neutralización del catalizador y extracción del metanol. La glicerina cruda aparece como una alternativa de gran potencialidad para la fluidización y transformación del residuo del desgomado.

➤ *Glicerina grado técnico*

Se evalúa en una primera etapa el uso de la glicerina como solvente, realizando dos experiencias con los álcalis en estudio. La GOH usada es una grado técnica, es decir, a la que se le extrajo el metanol y neutralizó el catalizador. La misma está compuesta por un 80 % GOH, 10 % agua, 5 % sales y 5 % MONG (material orgánico no glicerina). Las condiciones de reacción fueron 60 °C, agitación magnética, 60 min, y un 40 % del álcali necesario para saponificar toda la materia oleosa. Esta proporción representa 2,1 %p/p de una solución al 20 % de NaOH y 2,8 %p/p de MeONa en MeOH al 30 %p/p. La cantidad de glicerina agregada fue 100 %p/p referida a la materia prima. El residuo del desgomado que se estudió presentaba la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
28,38 %	55,9 %	8,07 %	7,65 %

Las dos reacciones mostraron muy poca formación de fase oleosa y un tapón gomoso de gran tamaño, siendo en la que se usó MeONa como álcali la que dio más rendimiento. Esto es atribuible al MeOH agregado en la solución que actuó solubilizando parte de la mezcla reaccionante. En conclusión, la glicerina no es un buen solvente de las gomas.

➤ *Glicerina cruda*

En este caso se evalúa el uso de glicerina cruda, cuya composición es de 20 g/kg de MeONa y 30 %p/p MeOH, la cual fue cedida por una planta productora de biodiesel de la zona. Las experiencias se realizaron a 60 °C, por 30 min y con un residuo cuya composición fue:

Fosfolípidos	Agua	Aceite
49,98 %	33,57 %	16,45 %

La glicerina cruda se dosificó de manera tal que el álcali agregado fuese el 40% del necesario para saponificar toda la materia oleosa (0,078 eq/kg), para lo cual se requirió 140 %p/p de glicerina cruda respecto a la masa de la goma. Con esta concentración se está aportando al sistema 30 %p/p de MeOH. En forma comparativa se realizó una experiencia análoga a esta, pero con el agregado extra de 20 %p/p de MeOH referido a la masa de gomas. Estos resultados se muestran en la Figura 5.13.

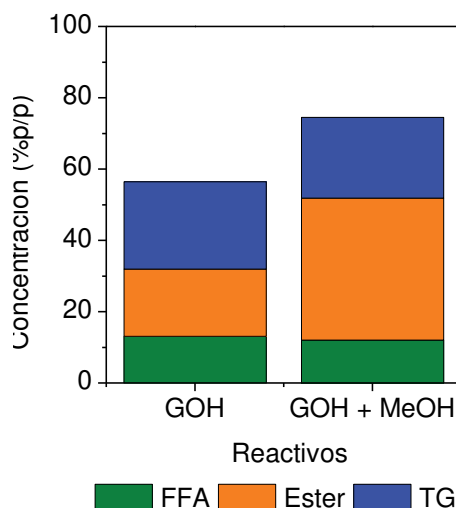


Figura 5.13. Rendimiento de la reacción del residuo del desgomado del aceite con glicerina cruda, dosificada de tal forma que se agregue un 40 % del MeONa necesario para saponificar toda la materia oleosa, a 60 °C por 15 min. Agregando solo el MeOH aportado por la glicerina, 30 %p/p (rótulo GOH) y con un agregado adicional del 20 %p/p de MeOH (rótulo GOH + MeOH).

En ambas reacciones no se vieron inconvenientes a nivel fluidodinámico, pero se formó la interfase rica en gomas. En la reacción en donde no se agregó MeOH extra, el volumen de la interfase rica en fosfolípidos fue igual al de la fase oleosa, mientras que en la que se dosificó metanol adicional, representó un 27 % del volumen de la FO. Esto se muestra en la Figura 5.13, en donde se observa que los rendimientos a la FO fueron bajos, del 57 % y 77 %, sin y con agregado de MeOH en la glicerina respectivamente. Además, se pudo notar que la suma de los productos de reacción (Esteres, TG y FFA) para la reacción sin agregado de MeOH fue del 66,1 %p/p habiendo un 33,9 %p/p que se atribuye a fosfolípidos no reaccionados o parcialmente hidrolizados, liso-fosfolípidos (LP), disueltos en la FO sin reaccionar. Para la reacción con agregado de MeOH el porcentaje de los productos de reacción (Esteres, TG y FFA) fue del 90,6 %p/p y el restante 10 %p/p se atribuyó a los fosfolípidos y LP.

El uso de glicerina como solvente presentó bajos rendimientos. Este comportamiento se atribuye a su mayor tensión superficial, que es de 59,4 erg/cm², mientras que para el etanol y metanol la tensión superficial es 22,8 y 22,6 erg/cm² respectivamente. Esta mayor tensión superficial no favorece la interacción de los reactivos con los fosfolípidos. En el caso del metanol y del etanol, la menor tensión superficial favorece el contacto de las fases y consecuentemente la reacción de saponificación.

En resumen, teniendo en cuenta los productos presentes en la FO, los rendimientos y la necesidad de agregar más alcohol, la glicerina cruda no resulta una buena opción para ser usada como solvente para aportar el MeOH y el MeONa. Además, las cantidades requeridas son muy grandes, lo cual impactaría en el tamaño de los equipos a utilizar.

5.3.6. Estudio de la fase acuosa

En esta sección se estudia la fase acuosa formada en la reacción de hidrólisis de los fosfolípidos. Esta fase contiene el agua que formaba parte del residuo de partida y la que se pudo haber agregado en las soluciones de álcalis y ácidos, el alcohol que no reaccionó, el NaCl formado en la etapa de neutralización, glicerina y los grupos fosfatos provenientes de la lisis del fosfolípidos. Como se observó en la Foto 5.2 (ver Sección 5.3.2), cuando se logra reacción completa del residuo del desgomado, principalmente de los fosfolípidos que son los que poseen las propiedades emulsionantes, no se observa una interfase rica en fosfolípidos y la fase acuosa es limpia con un precipitado en el fondo, por lo que resulta importante caracterizar estas fases.

Para ello se separó la fase acuosa y su precipitado de una reacción completa de una goma en la cual se obtuvo 92,7 % de rendimiento, usando 15 %p/p de EtOH 96, y 5 %p/p de una solución acuosa al 20 %p/p NaOH a 60 °C, agitación magnética, por 15 min. El residuo del desgomado empleado presentaba la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite
48,15 %	34,15 %	17,7 %

Para determinar si este residuo acuoso puede ser descartado directamente o necesita de un tratamiento previo se midió la demanda química de oxígeno (DQO) y la biológica (DBO) para oxidar la materia orgánica. El ecosistema de un río o laguna necesita que la cantidad de oxígeno disuelto en el agua sea mayor a (5 mg/L), es por ello que la legislación exige que estos valores no superen los 50 mg/l para un efluente de vuelco al río. En el agua un alto contenido de DBO o DQO, demanda un alto consumo de oxígeno impidiendo su generación normal, matando así la vida acuática por asfixia. Para el caso de nuestro residuo los valores medidos fueron:

DQO (mgO ₂ /L)	316,25
DBO (mgO ₂ /L)	238,25

Estos valores superan ampliamente los determinados por la normativa vigente, por lo que no pueden ser vertidos sin un tratamiento previo. Sin embargo, son valores muy pequeños comparados con diferentes corrientes que se encuentran en las industrias productoras de biodiesel. Por lo cual, la fase acuosa de reacción puede ingresar al sistema de tratamiento de residuos sin producir aumentos en los requerimientos y complicaciones operacionales de dichos complejos.

El residuo sólido separado luego de etapa de centrifugación se caracterizó mediante FTIR. Se analizaron 3 muestras lavadas con distintos solventes, MeOH, EtOH 96 y agua, y otra sin lavar para tener de referencia. Con esto se busca eliminar cualquier resto de la fase acuosa u oleosa que pudo quedar ocluido. En la Figura 5.14 se muestran los espectros obtenidos con la muestra sin lavar (Fig. 5.14.A), y de la muestra lavada con agua (Fig. 5.14.B), con EtOH 96 (Fig. 5.15.C) y con MeOH (Fig. 5.14.D). Los espectros muestran que en la región de 4000 a 2500 cm⁻¹, el lavado con agua fue el más efectivo, mientras que en el resto del espectro, entre 2500 y 500 cm⁻¹, no se observaron cambios con los lavados.

Los espectros FTIR muestran las bandas vibracionales características del grupo fosfato perteneciente al fosfolípido. Los picos en 1200 y 740 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones simétrica y asimétrica del grupo PO₂, y 1273 cm⁻¹ correspondiente al P=O. El pico a 1155 cm⁻¹ corresponde al grupo P-O-Me, el estiramiento P-O-C fuera del plano y en el plano a 940 y 723 cm⁻¹ respectivamente, prueban que el grupo fosfato del fosfolípido reaccionó con el metanol formando éster de fósforo durante el proceso de transesterificación [5]. Por otro lado, los picos presentes en la región comprendida entre 1400 a 1600cm⁻¹ son característicos a las aminas. Particularmente los picos en 1430 y 1540 cm⁻¹ son asignados a la flexión N-H y el de 3100 cm⁻¹ a tensión N-H, por lo cual el residuo precipitado proviene de la lisis de la fosfatidiletanolamina [6,7]. El grupo fosfato de la PE puede formar una sal interna entre el grupo amino positivo y el grupo fosfato disociado (Figura 5.15) que posee un pequeño momento dipolar y, por lo tanto, es poco hidratable. Cuando el pH es ácido o alcalino, la PE se carga y así pasa a la fase acuosa. La formación de esa sal podría ser una explicación de porqué la fracción lisada del dicho fosfolípido se separa de la fase acuosa precipitando sobre todo si se contempla que el pH es cercano a 6.

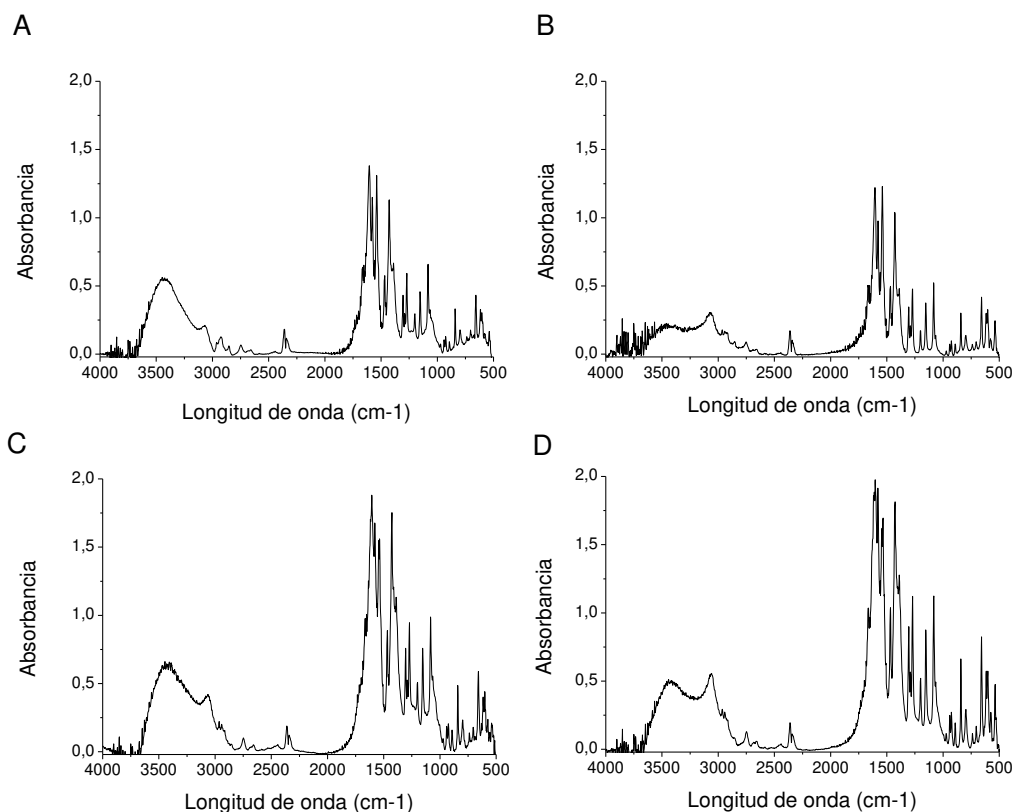


Figura 5.14. Espectros de FTIR del precipitado de la reacción de una goma con 15 %p/p de EtOH, 5 %p/p de una solución acuosa al 20 %p/p NaOH a 60 °C, agitación magnética, por 15 min. **A:** sin lavar, **B:** lavado con H₂O, **C:** MeOH y **D:** EtOH.

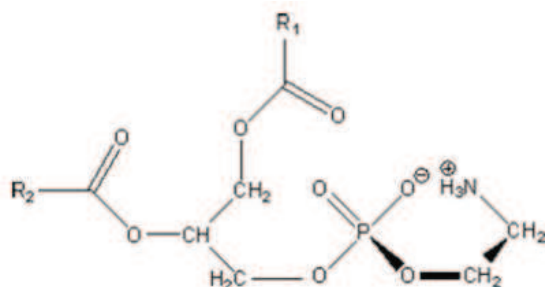


Figura 5.15. Fosfatidiletanolamina formando una sal interna.

5.3.7. Mecanismo de reacción propuesto

Dada la complejidad del sistema es muy difícil poder determinar un único mecanismo de reacción. En las secciones anteriores se ha mostrado que ocurren varias reacciones simultáneamente, como la saponificación y la transesterificación de los

fosfolípidos y de los triglicéridos y la saponificación de los ésteres. Por otro lado, según sean las condiciones de reacción y la materia prima de la que se parta las diferentes reacciones tendrán mayor o menor peso.

Con el fin de entender la química del proceso se planteará un modelo cinético para una condición y materia prima en particular. Para ello se realizó una experiencia usando una goma con 20 %p/p de MeOH, NaOH dosificando a la mitad de la concentración estequiometría (0,0625 %mol/g de goma) y un 5 %p/p de agua a 60 °C tomando muestras en el tiempo. La goma utilizada poseía la siguiente composición:

Fosfolípidos	Agua	Aceite	FFA
29,67 %	48,78 %	15,46 %	6,08 %

En la Figura 5.16 se muestra en forma esquemática la distribución de los distintos compuestos en el sistema de reacción. Como se ha descrito anteriormente, el fosfolípido es un compuesto derivado del glicerol, cuyos grupos alcohólicos están esterificados por dos cadenas de ácidos grasos, y una tercera unión establecida por un grupo funcional con fósforo. Estas uniones generan un dipolo, haciendo que se ubique en la interfase, con grupo fosforado en la fase polar (fase acuosa) y las cadenas de ácidos grasos en la no polar (fase oleosa). Esto hace que los fosfolípidos reaccionen en forma preferencial al triglicérido, ya que el álcali y el alcohol se ubican en la fase acuosa-polar. La formación de jabones, por la reacción de saponificación, actúa como emulsionantes facilitando el ataque de los TG.

En la Figura 5.17 se muestra la distribución de los distintos compuestos en la fase oleosa y el álcali en el sistema de reacción. Cabe aclarar que los valores que se muestran en las gráficas están referidos a la masa de las gomas, es decir gramos de producto cada 100 g de gomas. Se observan dos etapas, una en donde la transesterificación presenta la mayor velocidad de reacción, y otra donde la saponificación es la más importante. En los primeros minutos de reacción podemos observar una rápida transesterificación de los fosfolípidos, alcanzándose un máximo en la formación de los metilésteres, un bajo consumo de triglicéridos y una moderada formación de ácidos grasos. El hecho de que la concentración del NaOH se mantenga prácticamente constante corrobora este postulado, dado que estaría actuando como catalizador. En los siguientes minutos de reacción el sistema evoluciona a la formación de FFA, mediante la saponificación de los triglicéridos, los fosfolípidos y los

metilésteres formados en la primera etapa. En la gráfica se observa una disminución en la concentración del NaOH, de los metilésteres y lo cual corrobora lo antes expuesto.

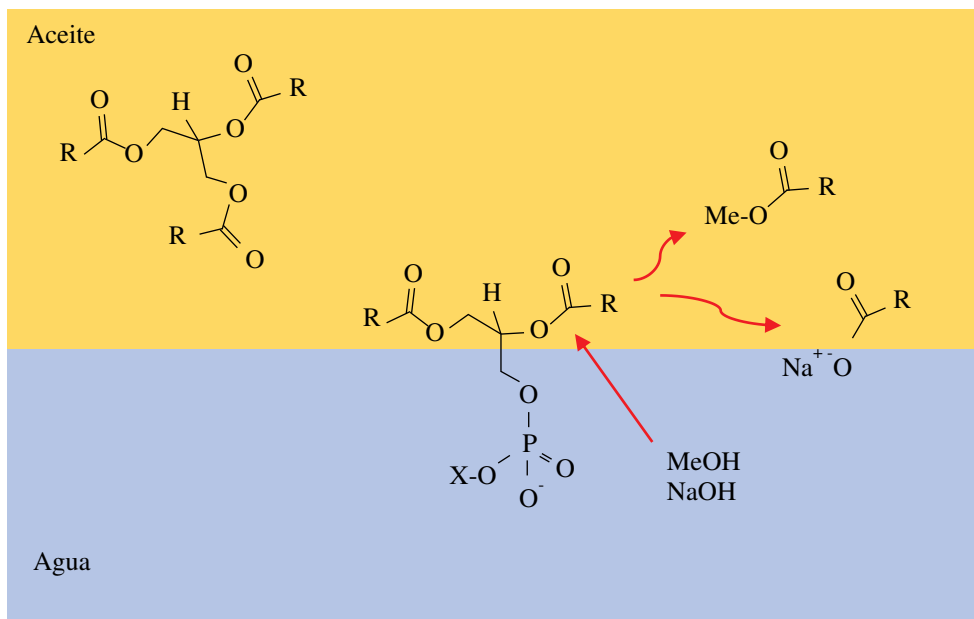


Figura 5.16. Esquema de la distribución de los compuestos en la mezcla reaccionante de una goma con 20 %p/p de MeOH, NaOH dosificando a la mitad de la concentración estequiométrica (0,0625 %mol/p) y un 5 %p/p de agua a 60 °C.

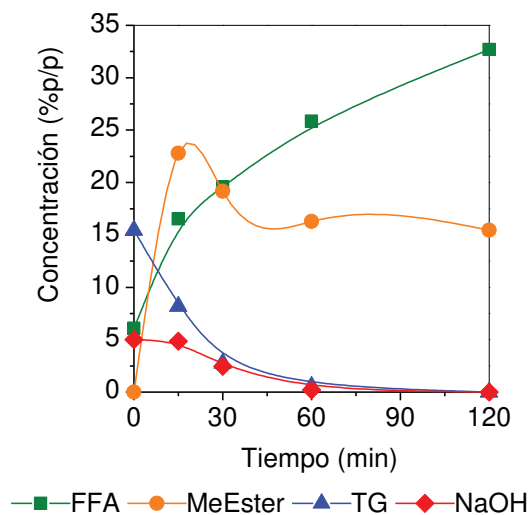
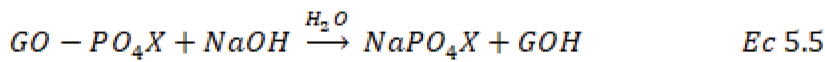
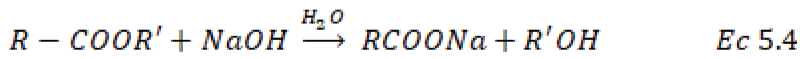
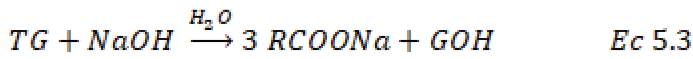
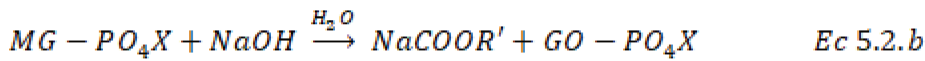
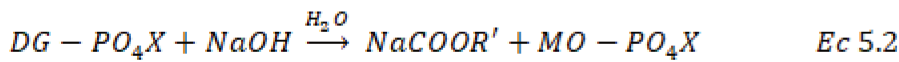
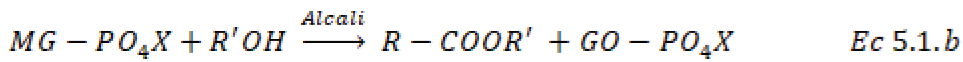
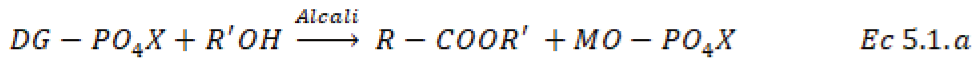


Figura 5.17. Compuestos presentes en el tiempo en la mezcla de reacción de una goma con 20 %p/p de MeOH, NaOH dosificando a la mitad de la concentración estequiométrica (0,0625 %mol/p) y un 5 %p/p de agua a 60 °C.

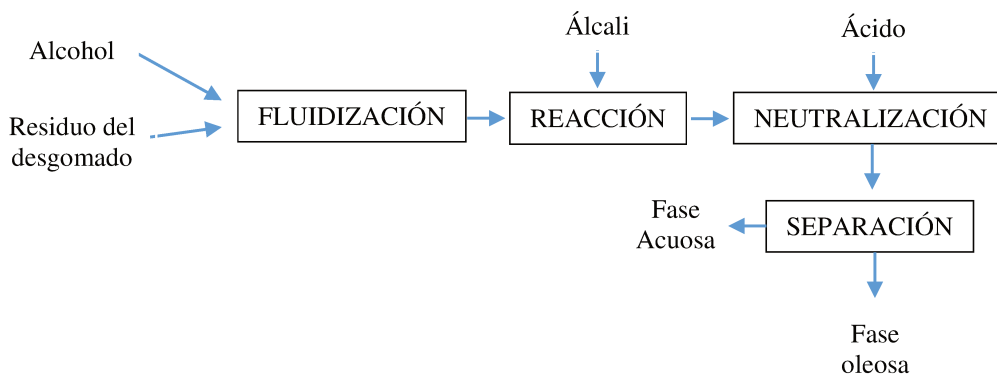
En conclusión, para este caso en particular, con esta materia prima y estas condiciones de reacción se puede presentar el siguiente esquema reaccionante. El mismo incluye una transesterificación rápida de los fosfolípidos (Ec. 5.1) en paralelo de

una saponificación un tanto más lenta de los mismos (Ec 5.2), de triglicéridos (Ec 5.3), y de los ésteres ya formados (Ec 5.4). Por otro lado, la cabeza fosforada del fosfolípido también se saponifica para dar la sal correspondiente de fósforo y una molécula de glicerina (Ec. 5.5). Según los resultados y el esquema presentado en la Figura 5.16, la saponificación de los triglicéridos y ésteres formados es más lenta que la de los fosfolípidos, fundamentalmente por el carácter anfifílico de estos últimos.



5.4. CONCLUSIONES

Se logró desarrollar un proceso capaz de hidrolizar las gomas, lográndose recuperar completamente la fracción lipídica de los fosfolípidos. El mismo está compuesto por las siguientes cuatro etapas:



Etapa de fluidización: se demostró que esta es determinante para lograr la recuperación total de la fracción lipídica de las gomas. Los alcoholes son los solventes más adecuados, siendo el EtOH el que presenta una mejor performance.

Etapa de reacción: en esta etapa se produce la hidrólisis alcalina, en condiciones bajas de temperatura y alcalinidad. Las condiciones de reacción permiten poder direccionar la reacción a distintos productos según se desee. Esto se logra controlando la cantidad de agua agregada, la concentración y el tipo del álcali, el solvente elegido en la etapa de fluidización y el tiempo de reacción.

Etapa de neutralización: la misma tiene por objeto la neutralización del álcali agregado y los jabones formados en la saponificación.

Etapa de Separación: de esta etapa se obtienen dos fases una oleosa y otra acuosa. La fase acuosa puede ser enviada a la planta de tratamiento de efluentes sin aumentar significativamente la carga a tratar. La oleosa, dependiendo las características de las mismas puede tener varios usos:

- Producción de biodiesel: si la corriente que se obtiene es rica en ésteres y TG, puede ingresar directamente al reactor de transesterificación. Si tiene un alto contenido de ácidos grasos debe de ingresar al de esterificación con metanol.
- Producción de aceite de segunda generación: una corriente rica en ácido graso puede ingresar a un reactor de esterificación con glicerina para dar lugar a la formación de TG. Este producto se conoce como aceite de segunda generación y presenta un precio diferencial en el mercado europeo. En los capítulos que siguen se abordará el estudio de la misma.
- Producción de ácidos grasos: los ácidos grasos se pueden comercializar como tal, pudiendo ingresar al mercado un producto libre de azufre lo cual representa una ventaja competitiva. Recordemos que en la actualidad las gomas se tratan con ácido sulfúrico para producir ácidos grasos, los cuales son comercializados con azufre.

5.5. REFERENCIAS

- [1] R. K. Balasubramanian, J. P. Obbard. *Bioresource Technology* 102 (2011) 1942–1946.
- [2] M. A. Maquirriain, C. A. Querini, M. L. Pisarello. “Proceso de tratamiento de emulsiones conformadas por al menos fosfolípidos, agua y aceite”. (2018) AR114052 A1. P180103863.
- [3] G. R. List, A. J. Heakin, C. D. Evans, L. T. Black, T. L. Mounts. *JAOCS* 55 (1977) 521-522.
- [4] G. Mendow, N. S. Veizaga, C. A. Querini. *Bioresource Technology* 102 (2011) 6385-6391.
- [5] B. Zheting, B. B. He. *Fuel* 166 (2016) 461–466.
- [6] J. M. Nzai, A. Proctor. *JAOCS* 75 (1998) 1281-1289.
- [7] J. Kuligowski, G. Quintás, S. Garrigues, M. de la Guardia. *Talanta* 77 (2008) 229–234.



CAPÍTULO 6

ESTERIFICACIÓN DE GLICERINA CON ÁCIDOS GRASOS: CATÁLISIS HOMOGENEA

En este capítulo se estudia en detalle la esterificación de glicerina con ácidos grasos libres utilizando ácidos sulfúrico, p-toluensulfónico y metanosulfónico como catalizadores. Se analiza el efecto de diferentes variables como la temperatura, eliminación del agua formada en el sistema, la concentración y tipo de catalizador, y la importancia de las reacciones secundarias.

6.1 INTRODUCCIÓN

En el Capítulo 5 se mostró que la fracción lipídica recuperada del residuo del desgomado del aceite podría tener valores de acidez que van desde un 5 %p/p a un 97 %p/p dependiendo de las condiciones de reacción. Para el proceso convencional de producción de biodiesel con catálisis alcalina, se requiere de materias primas con baja acidez, típicamente por debajo de 1 %p/p, llegando a 0,1 %p/p en plantas de gran capacidad. Por lo tanto, surge la necesidad de adecuar la acidez de esta corriente antes de utilizarla.

La esterificación de ácidos grasos con alcoholes de cadena corta, como el metanol y el etanol, ha sido ampliamente estudiada con el objetivo de transformar los ácidos grasos generados en el complejo aceitero, en biodiesel [1-9]. A nivel industrial en nuestro país, este proceso se lleva a cabo en plantas como la de LDC Argentina y Cargill, utilizando catalizadores líquidos. En resumen, la esterificación de los ácidos grasos con metanol usando catalizadores ácidos líquidos, es una tecnología disponible y en uso.

Sin embargo existen estudios de la esterificación de los ácidos grasos con glicerina como alternativa al uso del metanol, usando catalizadores sólidos ácidos como catalizador, para reducir la acidez en aceites destinados a la producción de biodiesel [10-14]. Esta reacción recibe el nombre de glicerólisis. Estos trabajos preliminares muestran que el enfoque convencional requiere condiciones considerablemente severas y tiempos de reacción más largos, lo que hace que la glicerólisis sea una operación intensiva en energía. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar una tecnología de intensificación de procesos para la glicerólisis con el objetivo de reducir la temperatura requerida con mejores rendimientos de reacción.

Por otro lado, esta reacción se puede aplicar en la conversión de los ácidos grasos presentes en 3 corrientes dentro de una biorefinería como son los aceites ácidos, las oleínas y el biodiesel ácido. Esto implicaría una mejora significativa en los rendimientos globales, además de reutilizar un subproducto como la glicerina, obtenida en la planta de biodiesel.

El proceso convencional de producción de biodiesel con catálisis alcalina requiere que la acidez del aceite este por debajo de 1 %p/p. El pretratamiento del aceite incluye, por tanto, etapas de neutralización para reducir la acidez de la materia prima al valor deseado. Existe una gran variedad de materias primas potenciales para elaborar biodiesel que tienen un nivel de acidez entre 3 %p/p y 10 %p/p, para las cuales la neutralización clásica produce una pérdida de rendimiento muy alta.

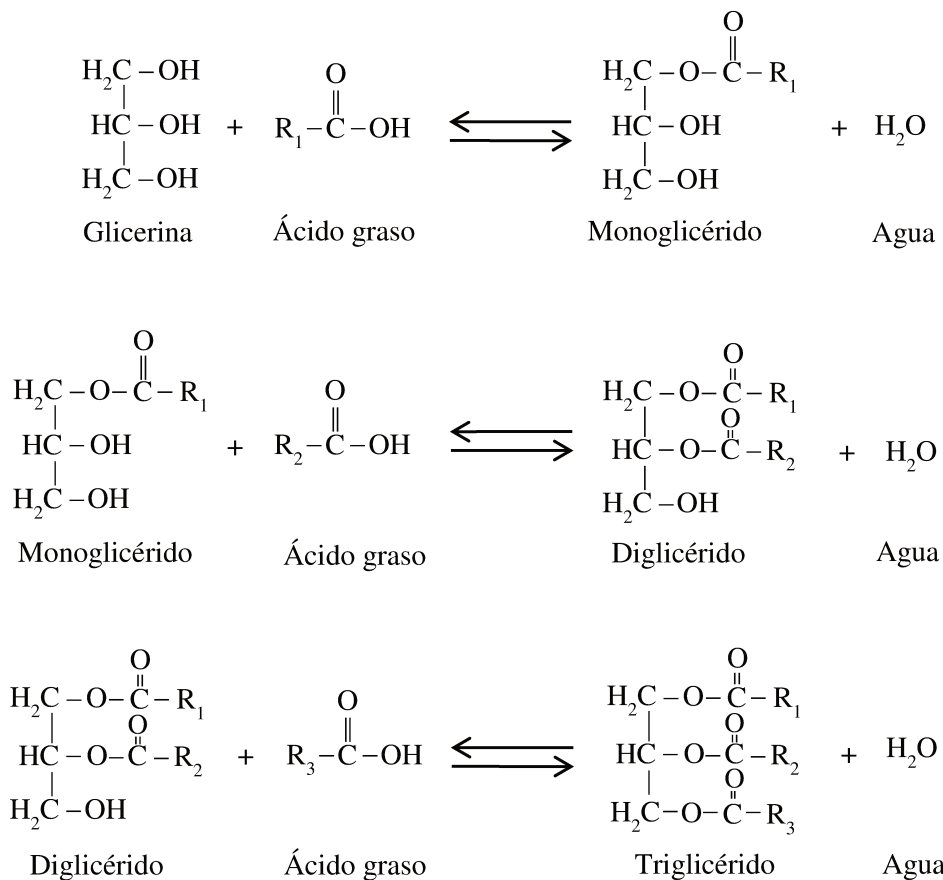
Por otro lado, en el proceso de producción de biodiesel se genera como subproducto una cantidad importante de glicerina. Esta corriente es procesada en la misma planta llevándola a la calidad de glicerina grado técnico, denominada también glicerina cruda. Durante su purificación se separa una fracción oleosa denominada oleínas, con una concentración de ácidos grasos en el rango 50 – 80 %p/p aproximadamente.

Por último, el biodiesel luego de la separación de la fase glicerina, arrastra una cierta cantidad de jabones, que son neutralizados formando ácidos grasos y confiriéndole al biodiesel una acidez que puede llegar a estar fuera de especificación, dependiendo de la materia prima de partida, del catalizador (metóxido de sodio, hidróxido de sodio, o de potasio), y del alcohol (metanol o etanol) usados en el proceso.

En la reacción de esterificación el glicerol y los ácidos grasos se combinan formando mono, di y triglicéridos en forma secuencial, y una molécula de agua por cada unión éster que se produce, tal cual se muestra en la Ecuación 6.1.

La glicerólisis posee dos limitaciones que se reflejan en su baja velocidad de reacción. Por un lado, el agua generada durante el proceso debe ser eliminada, debido a que forma emulsiones en la mezcla reaccionante e inhibe la reacción por desplazamiento del equilibrio termodinámico hacia la izquierda [8, 15, 16]. Por el otro, posee problemas asociados con la transferencia de materia entre el glicerol y los ácidos grasos debido a que son prácticamente inmiscibles, además de tener densidades muy diferentes. En este sistema, un aumento de temperatura y mejoramiento en la agitación de la reacción dará como resultado un aumento de la transferencia de masa en la fase

que contiene los ácidos grasos a la fase de glicerina y aumentará la solubilidad de ambas fases [17].



Ecuación 6.1. Reacción de esterificación de la glicerina con ácidos grasos libres.

Se ha informado que el color del producto final es oscuro debido a reacciones secundarias que ocurren a altas temperaturas y/o en presencia de ácidos [18-20]. Hamerski y col. [21] mostraron fotografías del oscurecimiento de los productos de reacción a 180 °C utilizando un hidróxido doble en capas como catalizador. Además de la coloración oscura, se ha informado que las reacciones secundarias incluyen la formación de estólidos [18, 20], lactonas [20] y polímeros a través de la formación de enlaces C-C [22]. Algunos de estos compuestos conducen a una disminución del rendimiento del proceso, por tratarse de materiales insaponificables de alto peso molecular.

A altas temperaturas, del orden de 240-250 °C, la glicerina se descompone en acroleína, lo que aumenta la cantidad de productos secundarios [12]. Hay que tener en cuenta que los catalizadores ácidos aceleran la descomposición de la glicerina en

acroleína. Otras reacciones que involucran a la glicerina son la formación de poligliceroles, polioles ramificados y compuestos heterocíclicos oxigenados, siendo todas estas reacciones catalizadas por ácidos [23]. Los ésteres grasos de glicidilo se pueden formar a altas temperaturas a partir de mono y diacilglicéridos [24], particularmente durante la etapa de desodorización de aceites vegetales, que se lleva a cabo a temperaturas en el rango de 200 a 275 °C [25].

El uso de catalizadores líquidos sólo ha sido cubierto en la literatura con fines de comparar su actividad con catalizadores sólidos [11, 26, 27], sin realizar un estudio sistemático y en profundidad de las variables del sistema que permitan desarrollar procesos o procedimientos para obtener esterificar la glicerina con ácidos grasos con alta selectividad.

Díaz et al. [26] compararon el uso del ácido p-toluensulfónico (PTSA) y un catalizador sólido mesoporoso (MCM-41) en la glicerólisis del ácido oleico. En ese estudio, se reportó una conversión del 100 % de FFA a 180 °C, relación molar de 1:1 (FFA:glicerina) y 0,5 %p/p de PTSA, en un tiempo de reacción de 6 h en la catálisis homogénea.

En este capítulo se abordará el uso de catalizadores líquidos, no sólo como referencia respecto de la catálisis heterogénea que se desarrollará en el siguiente capítulo, sino como una posible alternativa tecnológica para desarrollar los procesos de disminución de acidez de aceites y de biodiesel, y de esterificación de oleínas usando glicerina.

6.2. EXPERIMENTAL

6.2.1. Reacción de esterificación

La reacción se lleva a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch con o sin reflujo, en un baño de un aceite mineral a diferentes temperaturas de trabajo (60-160 °C) y con agitación magnética.

Se ensayaron tres catalizadores ácidos líquidos, uno de ellos inorgánico, el ácido sulfúrico (H₂SO₄) 98 %p/p, marca Cicarelli; y dos órgano-ácidos, el ácido p-toluensulfónico (PTSA) 65 %p/p disuelto en una mezcla agua-metanol, conteniendo 18 %p/p de agua, marca TanQuímica, y el ácido metanosulfónico (MSA) 98 %p/p, marca

Merck. La presencia de agua en la solución del catalizador PTSA, se debe a que se utiliza para su preparación una sal hidratada. Las concentraciones de los catalizadores se expresan en equivalentes de ácido por kg de mezcla (glicerina + ácidos grasos). Los valores de concentraciones usadas se muestran en la Tabla 6.1, en la cual también se incluyen las concentraciones en la escala de volumen (mL) de catalizador por 100 g de mezcla (glicerina + ácidos grasos).

Tabla 6.1 Concentraciones usadas de catalizadores

Concentración eq/kg ⁽²⁾	Concentración - %v/p ⁽¹⁾		
	H ₂ SO ₄	PTSA	MSA
0,0015		0,03	
0,010			0,05
0,023		0,50	
0,048			0,25
0,087	0,25	1,87	0,57
0,170	0,50	3,74	1,14
0,255	0,75		
0,350	1,00	7,48	2,27
0,437	1,25	9,37	2,72

⁽¹⁾ volumen de catalizador (mL) por 100 g de mezcla (glicerina + ácidos grasos)

⁽²⁾ equivalentes de catalizador ácido por kg de mezcla (glicerina + ácidos grasos)

Además, se estudió la reacción autocatalítica, es decir en ausencia de agregado de un catalizador ácido.

Como materias primas se utilizaron: ácidos grasos de soja puros (FFA > 98 %p/p) producidos en el laboratorio; biodiesel y aceites con distintos valores de acidez (FFA = 5 %p/p y FFA = 20 %p/p) obtenidos de empresas de la región y dopándolos con ácidos grasos; glicerina (GOH) anhidra 99,5 %p/p pro-análisis, marca Cicarelli y glicerina grado técnico.

Las experiencias de esterificación de ácidos grasos puros se realizaron con distintas relaciones molares (RM) de reactivos FFA:GOH. Se usó la relación estequiométrica a monoglicéridos (RM 1:1), a triglicéridos (RM 3:1) y una relación que corresponde a un exceso de glicerina (RM 1:3).

En la reacción llevada a cabo con el objetivo de bajar la acidez de un biodiesel y un aceite, se utilizaron relaciones molares de FFA:GOH: 1:1 y 1:4.

6.2.2. Toma de muestra y análisis

Se tomaron alícuotas de muestras en el tiempo, prolongándose la reacción hasta 300 min. Cada muestra se lava con agua y centrifuga. De esta forma, con el lavado se elimina el catalizador y la glicerina que son extraídos en la fase acuosa, y se obtiene la fase oleosa (ácidos grasos y glicéridos formados) para su posterior análisis. A la fase oleosa se les analizaron las siguientes propiedades para determinar el grado de avance de la reacción:

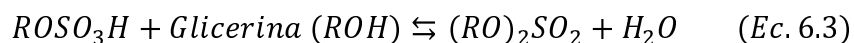
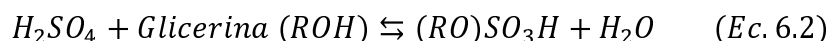
- Ácidos grasos libres: siguiendo la norma UNE-EN 14104. Se disuelve una cantidad conocida de la muestra en un solvente adecuado, por ejemplo mezcla tolueno:etanol 1:1, y se titula con NaOH o KOH disuelto en agua o etanol. Los ácidos grasos se calculan como gramos de ácido oleico por cada 100 gramos de muestra, y se expresarán como %p/p.
- Contenido de glicéridos formados (mono- (MG), di- (DG) y triglicéridos (TG)): se analiza mediante cromatografía gaseosa según lo descrito por las normas ASTM D-6584 y UNE EN-14105 adecuadas al rango de Se analizó la tensión superficial de los distintos catalizadores disueltos en glicerina, usando el método del anillo como se describe en la norma ASTM D-1331 (1989). Se analizaron soluciones de H₂SO₄, MSA y PTSA con diferentes concentraciones.

6.2.3. Reacciones secundarias: Alquilación del catalizador

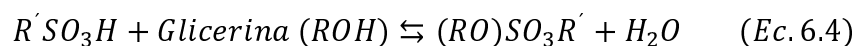
Esta reacción ocurre según lo mostrado en las Ec. 6.2, Ec. 6.3 y Ec. 6.4. Se llevaron a cabo experiencias mezclando la glicerina con el H₂SO₄, PTSA, MSA, a 120 °C, sin reflujo y agitación magnética. La evolución de la reacción en el tiempo fue seguida determinando la acidez de muestras tomadas del reactor.

También se realizaron experiencias mezclando cada uno de los catalizadores con un aceite refinado, un biodiesel con acidez muy baja, y con los ácidos grasos, a 120 °C, con reflujo y agitación magnética. Al igual que para el caso anterior, se siguió la evolución de la reacción en el tiempo mediante titulación de las muestras tomadas del reactor, para determinar su acidez.

Para el ácido sulfúrico:



Para los ácidos organosulfónicos:



6.2.4. Modelado cinético

Las constantes cinéticas se obtuvieron por regresión de los datos experimentales, resolviendo el conjunto de ecuaciones diferenciales que corresponden a las velocidades de reacción de las diferentes especies involucradas en el sistema reaccionante.

La estimación de los parámetros se realizó utilizando el software libre GNU OCTAVE [28] combinando las subrutinas para resolver ecuaciones diferenciales y estimar los parámetros cinéticos.

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

➤ Reacción autocatalítica

La Figura 6.1 muestra la evolución de la acidez en una reacción de los ácidos grasos con la glicerina sin agregado de catalizador. Las experiencias se realizaron a dos temperaturas diferentes, 120 °C y 160 °C, con una relación molar FFA:GOH 1:1, agitación magnética y con el reactor abierto a la atmósfera, de manera tal de poder ir eliminando el agua formada durante la reacción. Puede verse que al aumentar la temperatura se produce un incremento significativo en la velocidad de reacción. Este hecho se atribuye en parte al mejoramiento en la solubilidad relativa entre estas fases, lo que se refleja en un mejor contacto entre las moléculas de glicerina y ácidos grasos.

A pesar de lograr aumentarse la velocidad de reacción con el incremento de la temperatura, la conversión sigue siendo baja. Trascorridas 5 h la acidez solo se redujo de 97 %p/p a 71 y 24,5 %p/p cuando la reacción se efectuó a 120 °C y 160 °C respectivamente. Como ya se mencionó anteriormente, el proceso autocatalítico es muy

ineficiente desde el punto de vista del consumo energético, ya que necesita altas temperaturas y largos tiempos de reacción para bajar la acidez a niveles considerables.

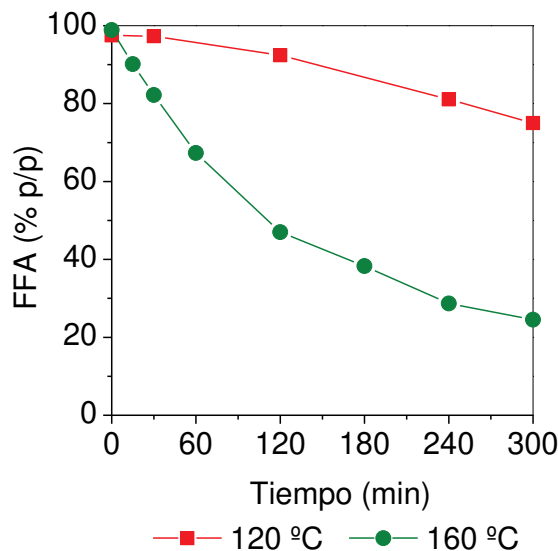


Figura 6.1: Evolución de la acidez para una reacción entre ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) y glicerina sin agregado de catalizador, relación molar FFA:GOH 1:1, eliminando el agua, a 120 °C (■) y 160 °C (●).

6.3.1. Reacción de esterificación

6.3.1.1. Efecto del catalizador y la concentración

➤ A) Comparación de los catalizadores: H_2SO_4 , MSA, PTSA

El ácido sulfúrico es un catalizador muy utilizado a nivel industrial para la reacción de esterificación de ácidos grasos, habiendo sido reemplazado en algunos casos por ácidos como el metanosulfónico y el p-toluensulfónico, principalmente por motivos de corrosión.

Los ácidos organosulfónicos presentan ventajas medioambientales frente al ácido sulfúrico, por ser más biodegradables y menos corrosivos frente al acero inoxidable. Por otro lado, el ácido sulfúrico reacciona con la glicerina para formar alquilsulfatos, lo cual no ocurre con los organosulfónicos, al menos en el mismo nivel de conversión, tal como se mostrará más adelante.

En la Figura 6.2 se muestra el avance de la reacción, expresada en términos de la desaparición de los ácidos grasos, para las reacciones catalizadas con H_2SO_4 , PTSA y MSA en comparación con la autocatalítica. Las condiciones de la experiencia fueron

120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, carga de catalizador de 0,35 eq/kg, agitación magnética y sin eliminación del agua formada.

En la gráfica se puede ver que la reacción autocatalítica avanza muy lentamente en el tiempo, alcanzando una conversión del 20 % a los 240 min, valor muy bajo comparado con el 91% que se obtiene usando ácido sulfúrico, el 86% con el PTSA y el 94% con el MSA. Efectivamente se logró acelerar significativamente la velocidad de reacción con el agregado de un catalizador homogéneo, siendo los organosulfónicos los de mayor actividad catalítica en la reacción de esterificación de los ácidos grasos con la glicerina.

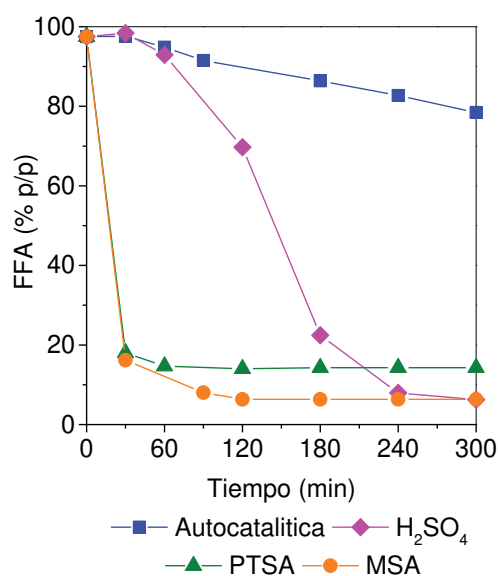
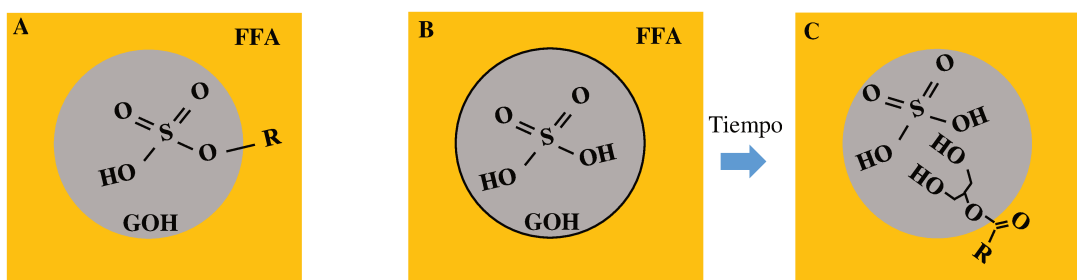


Figura 6.2: Evolución de la acidez en la reacción de ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) y glicerina, relación molar FFA:GOH 1:1, sin eliminación del agua, 120 °C, con 0,35 eq/kg de catalizador H₂SO₄ (◆), PTSA (▲), MSA (●) y sin agregado de catalizador (■).

Se evidencia que el MSA es el más efectivo, llegando a una conversión del 92% a los 90 minutos de reacción, valor que se alcanza con el H₂SO₄ recién a las 4 horas de reacción. Con el PTSA se alcanza una conversión de equilibrio del 85% a la hora de reacción. La mayor acidez final obtenida con este último se debe al contenido de agua presente en el catalizador, el cual fue del 18 %p/p como se indicó en la Sección Experimental. Dado que el agua es un producto de la reacción, disminuye la conversión de equilibrio. Otro aspecto muy interesante que se observa en la Figura 6.2, es que el H₂SO₄ presenta un período de inducción de aproximadamente 60 min, similar a lo observado en una reacción autocatalítica.

Estas grandes diferencias entre los catalizadores se asignan a las diferentes estructuras químicas, dado que los tres ácidos tienen valores de pKa similares. En el caso de la H_2SO_4 es -2,8, para MSA es -1,9 y para PTSA es similar a la de MSA [29]. En otras palabras, el H_2SO_4 presenta una acidez levemente mayor que los catalizadores MSA y PTSA. Sin embargo, la Figura 6.2 muestra que el H_2SO_4 es el catalizador menos activo para la esterificación de glicerina con FFA. Los ácidos MSA y PTSA tienen un grupo polar y un grupo no polar en la molécula, lo que le confiere características anfifílicas. Por lo tanto estos compuestos se ubicarán preferentemente en la interfase glicerina-ácidos grasos, favoreciendo así el inicio de la reacción. Esta posición del MSA y PTSA se muestra en el Esquema 6.1.A. Por otro lado, el ácido sulfúrico claramente se disolverá preferentemente en la fase polar, es decir en la glicerina, tal como se esquematiza en la Esquema 6.1.B. La solubilidad de este ácido en la fase ácidos grasos es prácticamente nula. Durante la reacción se forman monoglicéridos. Estos compuestos también son conocidos por tener grupos polares (los grupos OH) y un grupo no polar (el ácido graso unido a la glicerina). Por lo tanto tendrá también tendencia a acumularse en la interfase, disminuyendo la tensión superficial y por lo tanto favoreciendo la generación de área de interfase, y consecuentemente se producirá un aumento en la velocidad de reacción. Esto se muestra en el Esquema 6.1.C.



Esquema 6.1: Posición de los distintos catalizadores en la mezcla de reacción según su estructura. **A:** Ácidos organosulfónicos. **B:** Molécula de H_2SO_4 . **C:** pasado el tiempo cuando se forman monoglicéridos durante la reacción con H_2SO_4 como catalizador.

La tensión superficial de cada uno de estos catalizadores en glicerina a 25 °C se muestra en la Tabla 6.2. La tensión superficial de H_2SO_4 en GOH es similar a la de GOH puro, lo que indica que H_2SO_4 tiene un efecto tensoactivo muy bajo. Por otro lado, incluso a una concentración de solo 0,087 eq/kg, el MSA y el PTSA disminuyeron la tensión superficial a 25 °C de 63 erg/cm a 60,9 y 59,7 erg/cm respectivamente. Estos resultados concuerdan con la discusión anterior, siendo la posición del catalizador en la

interfase una cuestión clave relacionada con el efecto de cada catalizador en el comportamiento cinético en este sistema de reacción bifásico.

Tabla 6.2. Tensión superficial de ácidos en glicerina.

Líquido	Tensión superficial (erg/cm ²)
Agua	72
Glicerina	63
H ₂ SO ₄ en GOH	62,8
MSA en GOH	60,9
PTSA en GOH	59,7

Concentración de catalizadores: 0,087 eq/kg. Temperatura 25 °C.

➤ *B) Efecto de la concentración de catalizador*

En la Figura 6.3 se muestra la evolución de la acidez durante la reacción de glicerina con FFA, al usar distintas concentraciones de los catalizadores ácidos, manteniendo siempre la relación molar (RM) de reactivos FFA/GOH 1:1, 120 °C y con reflujo del agua formada.

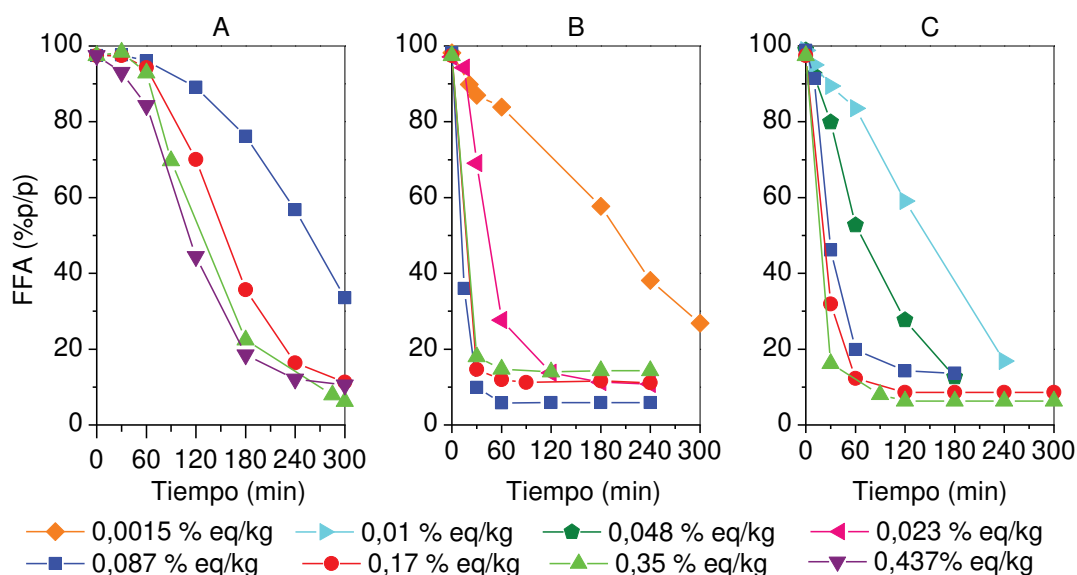


Figura 6.3: Evolución de la acidez en la reacción de ácidos grasos (FFA=98 %p/p) y glicerina con reflujo a 120 °C, RM FFA:GOH 1:1. Efecto de la concentración de catalizador. A: H₂SO₄, B: PTSA y C: MSA.

En la Figura 6.3.A se muestran los resultados obtenidos al usar H₂SO₄ como catalizador. Se puede notar que existe un efecto significativo de la concentración sobre

la velocidad de reacción. La concentración más baja (0,087 eq/kg) aumenta la velocidad de reacción solo una pequeña cantidad por encima de la observada en el caso no catalítico (mostrado en la Figura 6.2). Al aumentar la concentración del ácido a 0,17, 0,35 y 0,437 eq/kg la velocidad de reacción aumenta, pero teniendo en todos los casos un período de inducción. A los 240 min, la reacción alcanza un valor de acidez por debajo del 20 %p/p. A los 180 min la acidez obtenida con concentraciones de H₂SO₄ de 0,35 y 0,437 eq/kg fue muy similar. Por esta razón, la mayoría de los experimentos llevados a cabo con H₂SO₄ se realizaron utilizando una concentración de 0,35 eq/kg.

El período de inducción claramente observado con este catalizador, está asociado a una alta tensión superficial inicial que dificulta el desarrollo de la superficie interfacial donde ocurre la reacción. Como se discutirá a lo largo de este trabajo, los monoglicéridos formados como primer paso en la secuencia de reacción, disminuyen la tensión superficial favoreciendo así el aumento de la velocidad de reacción.

Una preocupación importante en este sistema de reacción es la formación de productos secundarios, como estólidos, lactonas y otros productos de degradación, como se discutió en la sección de Introducción. Estas reacciones secundarias están asociadas a un cambio de color que se produce durante la reacción, alcanzando en muchos casos un color negro. La Foto 6.1.A muestra la evolución del color a medida que avanza la reacción cuando se usa H₂SO₄ como catalizador con una concentración de 0,35 eq/kg. Después de 180 min de reacción, las muestras se oscurecen y a los 300 min es prácticamente negra. Es posible distinguir un depósito adherido al vidrio al final de la reacción (Foto 6.1.B).

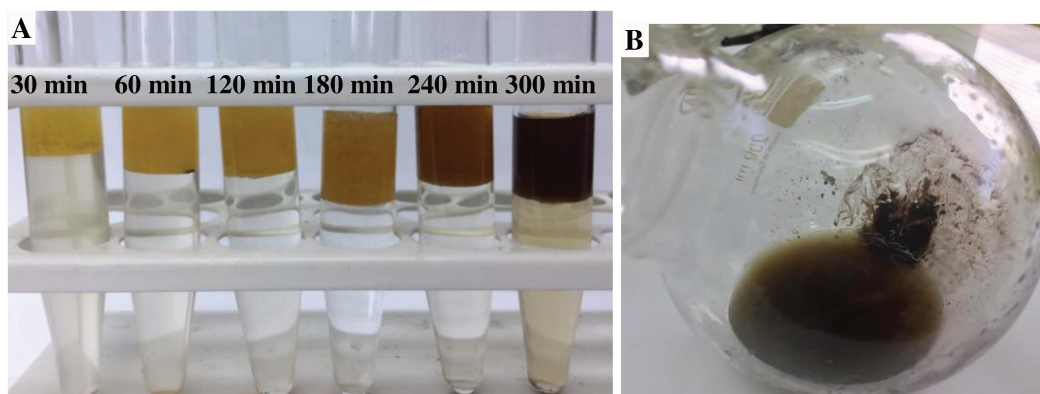


Foto 6.1. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) sin eliminar el agua formada a 120 °C, FFA:GOH 1:1 y 0,35 eq/kg de H₂SO₄.

La Figura 6.3.B muestra los resultados obtenidos con el catalizador PTSA a

diferentes concentraciones. En este caso, se utilizaron concentraciones inferiores a las utilizadas con MSA y H_2SO_4 . Esto se debe a que es un catalizador más activo y es interesante evaluarlo a concentraciones más bajas. De hecho, las dos concentraciones más bajas utilizadas con PTSA (0,0015 y 0,023 eq/kg) son aproximadamente 60 y 4 veces más bajas, respectivamente, que la concentración más baja utilizada con H_2SO_4 , comparadas en la escala de eq/kg. El PTSA, incluso con estas bajas concentraciones, muestra una mejor actividad que el ácido H_2SO_4 en concentraciones más altas. Una observación interesante es que el PTSA a baja concentración, como 0,023 eq/kg (0,5 %v/p) muestra un período de inducción, como también se observa con H_2SO_4 en todas las concentraciones usadas. Otro resultado muy importante obtenido con este catalizador, es que no muestra una mejora sistemática en la conversión final a medida que aumenta la concentración de catalizador. La acidez final mejora al aumentar la concentración hasta 0,087 eq/kg (1,87 %v/p), y luego, a medida que la concentración aumenta a 0,17 y 0,35 eq/kg, la conversión final disminuye, obteniéndose una mayor acidez final. Esto se puede explicar teniendo en cuenta la concentración relativamente alta de agua en el PTSA, ya que este catalizador contiene 18 %p/p en peso de agua. Dado que el agua es un producto de la reacción de esterificación, la acidez final se estabiliza en un valor más alto cuando se usa una dosificación más alta de PTSA. Este comportamiento se observa claramente cuando la concentración de PTSA es superior a 0,087 eq/kg. La cantidad de agua añadida con el PTSA representa el 5, 10 y 20% del agua formada en la conversión total de FFA cuando se utilizan 0,087, 0,17 y 0,35 eq/kg, respectivamente. Por otro lado, también se produce un oscurecimiento del medio de reacción al utilizar PTSA como catalizador, alcanzando en varios casos un color negro (no mostrado).

La Figura 6.3.C muestra los resultados obtenidos con MSA a diferentes concentraciones. En este caso, el período de inducción también se observa a concentraciones de catalizador muy bajas como 0,01 y 0,048 eq/kg, y durante muy pocos minutos en el caso de utilizar 0,087 eq/kg. Las evoluciones de acidez en función del tiempo después de 60 min de reacción obtenidas con concentraciones de catalizador de 0,17 y 0,35 eq/kg son muy similares. A los 30 min la concentración más alta (0,35 eq/kg) muestra una acidez que es aproximadamente la mitad del valor obtenido con la concentración 0,17 eq/kg. En comparación con H_2SO_4 , las velocidades de reacción obtenidas con MSA son significativamente más altas a una concentración de catalizador

dada. Es importante destacar la rápida velocidad de reacción inicial obtenida con MSA utilizando concentraciones de 0,17 y 0,35 eq/kg. El oscurecimiento del medio de reacción también ocurre con este catalizador, tal como se mostró en el caso de H_2SO_4 .

En conclusión, se destaca la gran actividad catalítica que tienen los ácidos organosulfónicos en la reacción de esterificación de los ácidos grasos con glicerina, en comparación con el H_2SO_4 .

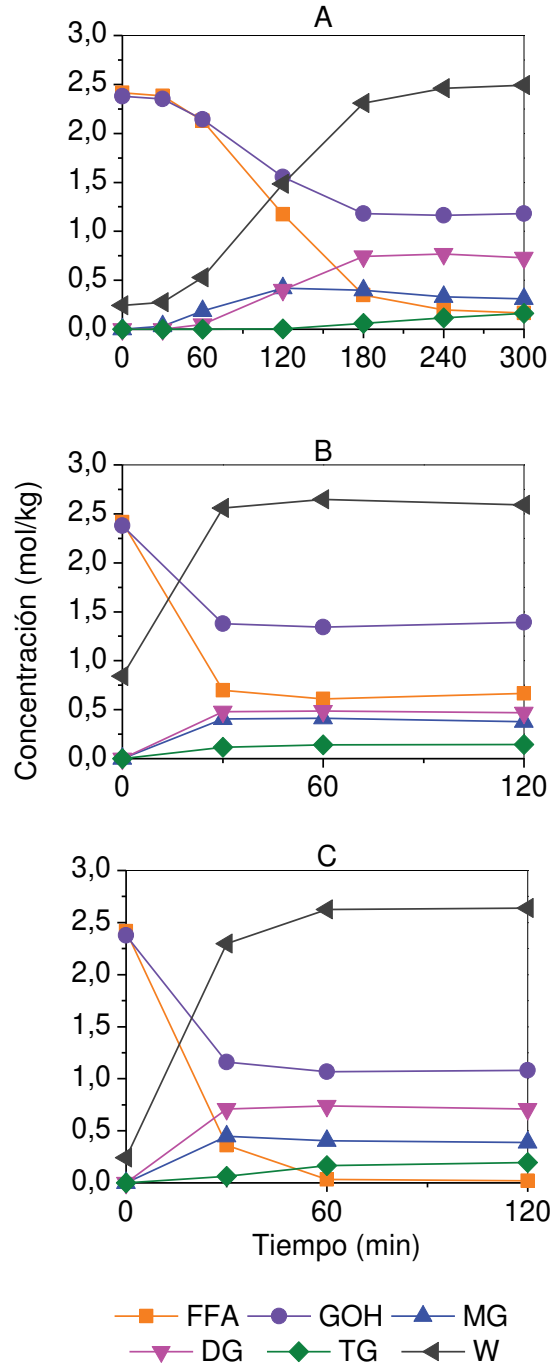


Figura 6.4. Distribución de productos obtenidos con **A:** H_2SO_4 ; **B:** PTSA; **C:** MSA, a $120\text{ }^\circ\text{C}$, relación molar FFA:GOH = 1:1, concentración de catalizador 0,35 eq/kg. W: agua.

Se siguió la aparición de los glicéridos y desaparición de los ácidos grasos en el tiempo en la reacción a 120 °C, 0,35 eq/kg de catalizador, relación molar FFA:GOH de 1:1 y sin evaporar el agua formada. Los resultados se expresan en escala moles por kg de fase oleosa (FFA+MG+DG+TG) y se muestran en la Figura 6.4. Por tratarse de una reacción secuencial, en primera instancia se produce la formación del monoglicérido, luego éste se convierte en diglicérido y posteriormente éste a triglicérido. Ello queda evidenciado en el máximo que presenta la concentración de MG en función del tiempo.

La reacción catalizada por H₂SO₄ (Figura 6.4.A) muestra que en el período de inducción, en el que la acidez disminuye a baja velocidad, hay una cantidad muy pequeña de glicéridos. Los primeros compuestos que aparecen son los monoglicéridos, luego los diglicéridos y finalmente, después de más de 2 h de reacción los triglicéridos. En el caso del PTSA (Figura 6.4.B) y MSA (Figura 6.4.C) no existe un período de inducción, y los cambios ocurrieron a mayor velocidad, siendo posible obtener las composiciones finales en 60 min aproximadamente. Se destaca que las concentraciones finales de FFA, mono-, di- y tri-glicéridos son prácticamente las mismas para el H₂SO₄ y MSA. En el caso del PTSA hay una menor conversión de equilibrio debido a la presencia de agua en el catalizador.

Los resultados que se muestran en la Figura 6.4 proporcionan evidencia de las razones del período de inducción. El H₂SO₄ tiene un estado más estable en la fase de glicerina, con una tensión superficial alta y, por lo tanto, el área interfacial entre la fase rica en glicerina y la fase rica en FFA es limitada. En consecuencia, la velocidad de reacción es baja. A medida que se forman los monoglicéridos, se puede esperar que la tensión superficial disminuya debido a la conocida propiedad de estos compuestos que actúan como emulsionantes. Por lo tanto, el área interfacial aumentará y, en consecuencia, aumenta la velocidad de reacción generando el período de inducción. En el caso de los catalizadores MSA y PTSA, son tensoactivos porque tienen una cabeza no polar que conduce a una disminución de la tensión superficial y facilita la generación de área interfacial. Es importante destacar que aunque los tres ácidos tienen una fuerza ácida similar, la actividad aumenta a medida que disminuye la tensión superficial del sistema glicerina-catalizador.

6.3.1.2. Efecto de la temperatura

Se realizaron experiencias con una relación molar FFA:GOH 1:1, 0,35 eq/kg de catalizador, sin evaporar el agua formada en el sistema, a distintas temperaturas: 60 °C, 80 °C, 100 °C, 120 °C, y 140 °C.

En la Figura 6.5 se puede observar un notable aumento en la velocidad de reacción al aumentar la temperatura para todos los catalizadores. Uno de los factores más importantes en el proceso es el grado de contacto entre la fase oleosa y la glicerina. Al ser fases con densidades muy diferentes, cualquier aumento de la temperatura dará como resultado un aumento de la transferencia de masa de la fase que contiene los ácidos grasos a la fase glicerina, lo que se refleja en el aumento de la velocidad de reacción. Por otro lado, la temperatura afecta la velocidad de formación de monoglicéridos y disminuye la tensión superficial, por lo que también mejora la velocidad de reacción por estos motivos, como se discutió anteriormente.

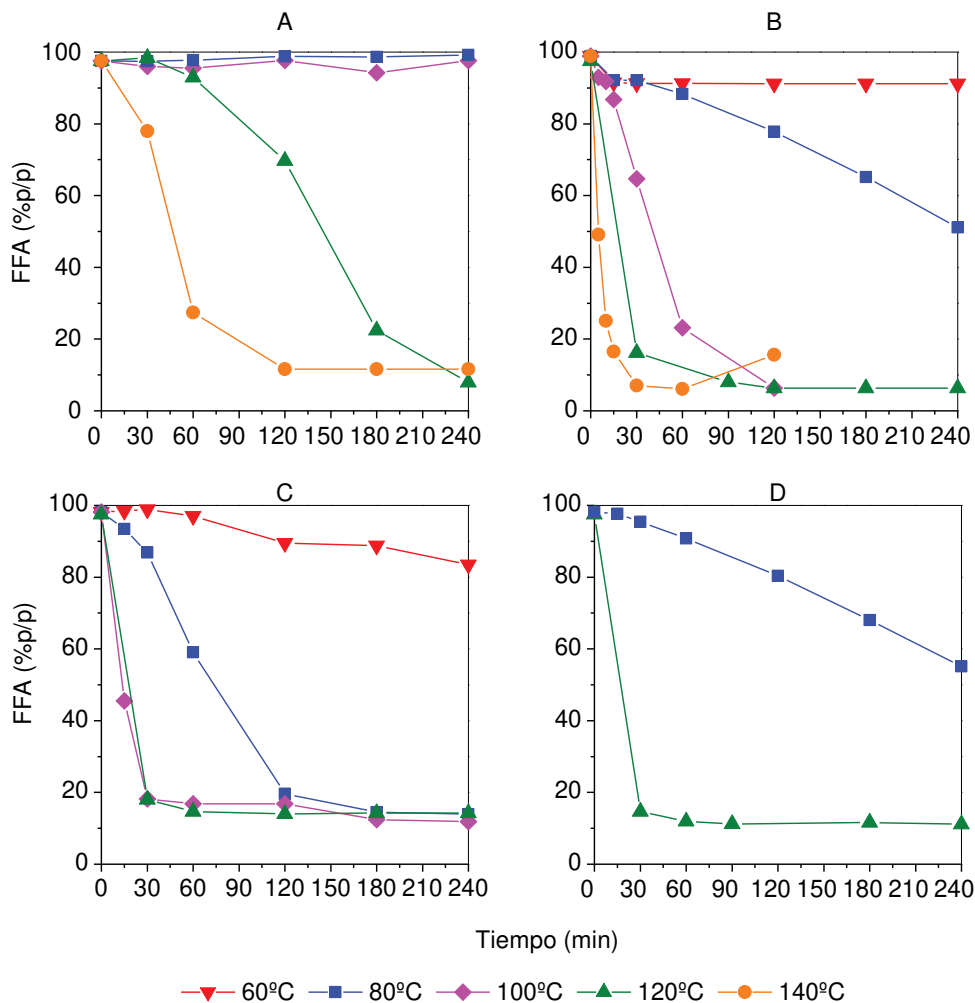


Figura 6.5: Efecto de la temperatura en la conversión de los ácidos grasos, relación molar FFA:GOH 1:1, sin eliminar el agua formada en el sistema, con **A:** 0,35 eq/kg de H₂SO₄; **B:** 0,35 eq/kg de MSA; **C:** 0,35 eq/kg de PTSA; **D:** 0,17 eq/kg de PTSA.

Utilizando H_2SO_4 como catalizador a temperaturas menores a $100\text{ }^\circ\text{C}$, la reacción tiene una velocidad muy baja y prácticamente no hay conversión de FFA (Figura 6.5.A). Cuando la reacción se lleva a cabo a $120\text{ }^\circ\text{C}$ y $140\text{ }^\circ\text{C}$, la actividad aumenta significativamente alcanzando conversiones en el orden del 90% a los 240 min y 120 min respectivamente. Por otro lado, la reacción presenta un tiempo inicial de inducción que disminuye al aumentar la temperatura. A $140\text{ }^\circ\text{C}$ la mezcla de reacción se oscureció muy rápidamente después de agregar el catalizador y aparece un precipitado blanco a los 60 minutos en la muestra lavada. Se observó un comportamiento similar a $130\text{ }^\circ\text{C}$ (resultado no mostrado). La Foto 6.2 muestra la evolución de color a medida que avanza la reacción cuando se usa H_2SO_4 como catalizador con una concentración de $0,35\text{ eq/kg}$ y $140\text{ }^\circ\text{C}$. Este cambio de color, aunque también ocurrió a $120\text{ }^\circ\text{C}$, no fue tan intenso como en el caso de 130 y $140\text{ }^\circ\text{C}$.

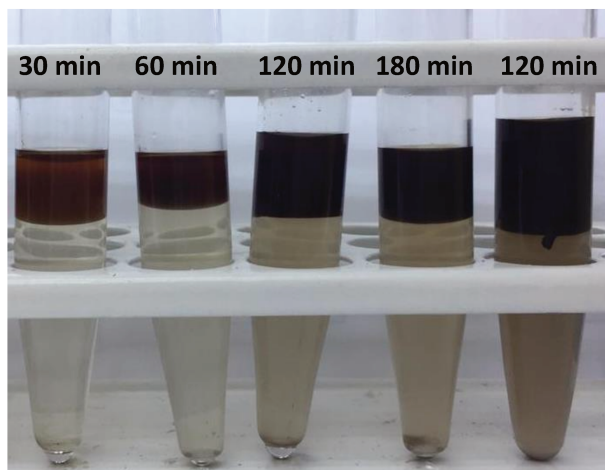


Foto 6.2. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) sin eliminar el agua formada a $140\text{ }^\circ\text{C}$, FFA:GOH 1:1 y $0,35\text{ eq/kg}$ de H_2SO_4 .

La Figura 6.5.B muestra que el MSA es mucho más activo que el H_2SO_4 . A $60\text{ }^\circ\text{C}$ la reacción prácticamente no ocurrió, pero a 80 y $100\text{ }^\circ\text{C}$ la acidez disminuyó con el tiempo, mientras que cuando se usó H_2SO_4 la conversión fue insignificante. A $100\text{ }^\circ\text{C}$, la acidez disminuyó a un valor final inferior al 10% en peso en 120 min. A 120 y $140\text{ }^\circ\text{C}$ la acidez disminuyó más rápidamente, siendo posible a esta última temperatura obtener una acidez por debajo del 10% en peso en menos de 30 min. Se puede notar que a los $140\text{ }^\circ\text{C}$ la curva acidez vs tiempo muestra un mínimo a los 60 min, comportamiento obtenido en las réplicas realizadas en esta reacción. A esta temperatura relativamente alta de $140\text{ }^\circ\text{C}$, se producen más reacciones secundarias, como indica el

oscurecimiento del sistema de reacción ya mencionado. En estas reacciones, se pueden generar grupos ácidos como se observó cuando se utilizaron varios ácidos minerales como HClO_4 , H_2SO_4 , PTSA y BF_3 [20]. Estos grupos ácidos pueden ser la causa del aumento de acidez detectado a alta temperatura (140 °C) con MSA. El color de la mezcla reaccionante a 120 °C no fue tan oscuro como en el caso de H_2SO_4 . Sin embargo, hubo una formación de sólido blanco en la interfase en todos los casos después de lavar las muestras para su análisis, los cuales según Isbell et al. [20] podrían ser lactonas. Este sólido apareció a los 60 min cuando la temperatura de reacción era de 100 °C y a los 180 min a 80 °C. La Foto 6.3 muestra la evolución del color a medida que avanza la reacción cuando se usa MSA como catalizador a 80, 100 y 140 °C (Foto 6.3 A, B y C respectivamente).

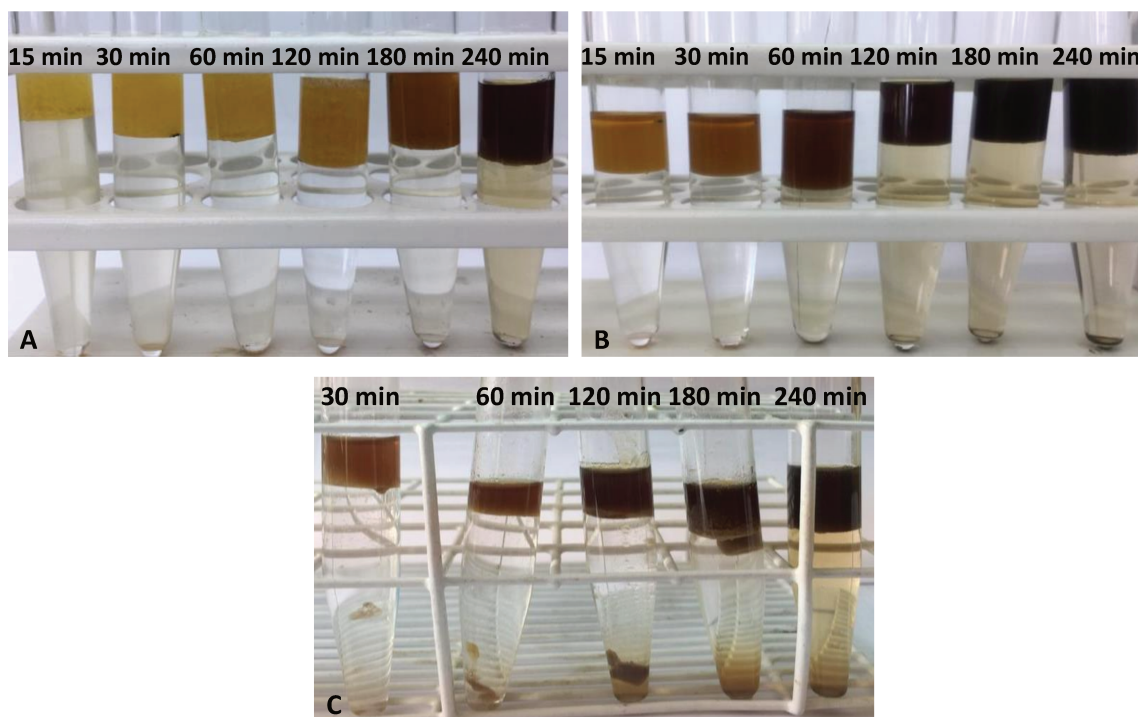


Foto 6.3. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) sin eliminar el agua formada, FFA:GOH 1:1, 0,35 eq/kg de MSA. **A:** 80 °C; **B:** 100 °C; **C:** 140 °C.

Dado que la reacción se produjo muy rápidamente usando una concentración de catalizador de 0,35 eq/kg incluso a bajas temperaturas (Figura 6.5.C), se llevaron a cabo experimentos a 80 y 120 °C usando la mitad de esta concentración de PTSA. Los resultados se muestran en la Figura 6.5.D. A 80°C la velocidad es demasiado baja, no siendo posible disminuir la acidez por debajo del 30 % en peso en 5 h de reacción. A 120 °C la reacción avanza a alta velocidad, obteniendo una conversión final del 85,6% a los 90 min.

Este estudio del efecto de temperatura, permitió determinar que a fin de reducir la formación de compuestos secundarios es conveniente bajar la temperatura de reacción. Se optó por enfatizar el estudio trabajando con una temperatura de 120 °C, la cual produjo una buena velocidad de reacción para los tres catalizadores estudiados y menor cambio en la coloración de la fase reaccionante.

6.3.1.3. Efecto de la relación molar

Para estudiar el efecto de la relación molar FFA:GOH, se realizaron experiencias con la relación estequiométrica a monoglicéridos (1:1), a triglicéridos (3:1) y en exceso de glicerina (1:3). Los estudios se realizaron utilizando solo los catalizadores organosulfónicos, debido a que su actividad es significativamente mayor a la del ácido sulfúrico, a 120 °C y sin evaporación del agua formada. Estos resultados se muestran en la Figura 6.6 para 0,087 eq/kg de MSA; 0,087 eq/kg y 0,17 eq/kg de PTSA.

Dado que la glicerólisis es una reacción reversible, un exceso de glicerina debería producir el desplazamiento de la reacción hacia productos. En otras palabras, a medida que la relación molar disminuye de 3:1 a 1:3, la conversión de FFA debería aumentar, lo que implicaría que la acidez final sea menor a una relación FFA:GOH más baja. Por otro lado, a menor cantidad de glicerina, la conversión de equilibrio debería ser menor. En los tres casos mostrados en la Figura 6.6 se pudo verificar este comportamiento, la conversión final obtenida con la relación FFA:GOH 3:1 fue la más baja, como lo indica la acidez final más alta en comparación con las otras relaciones FFA:GOH.

Cuando se trabajó con FFA:GOH 3:1 con el PTSA la acidez final obtenida fue del 38% en peso con una concentración de 0,17 eq/kg (Figura 6.6.C), y 42% en peso con una concentración de 0,087 eq/kg (Figura 6.6.B). Estos valores son superiores a la acidez final de 29 %p/p obtenida con MSA 0,087 eq/kg (Figura 6.6.A), lo que se debe al agua contenida en el catalizador PTSA que limita la conversión de equilibrio, como ya se discutió en secciones anteriores. Al aumentar la proporción de glicerina hay un aumento importante en la conversión. Ambos catalizador, PTSA a 0,087 y 0,17 eq/kg, y MSA a 0,087 eq/kg, muestran conversiones finales mucho más altas en los experimentos llevados a cabo usando una relación molar FFA:GOH de 1:1, siendo la

más alta (es decir, menor acidez final) la obtenida con MSA, alcanzando una acidez final del 4% en peso (Figura 6.6.A).

Se observa un comportamiento particular a una relación molar FFA: GOH de 1:3 en la cual esperaríamos obtener la mayor conversión de FFA debido al exceso de glicerina. Sin embargo, se puede observar que la velocidad de reacción inicial es menor que la observada con una relación molar FFA: GOH de 1:1 y 3:1, lo que se refleja en la menor pendiente de la curva de acidez vs tiempo en el tiempo cero. Un comportamiento interesante presentado por el sistema en exceso de glicerina (FFA:GOH 1:3), es que se necesita mucho tiempo para obtener acidez más baja cuando se utiliza esta relación molar que cuando se trabaja con FFA:GOH 1:1. Esto se debe al hecho de que el catalizador se disuelve en la fase de glicerina por su mayor polaridad y, al aumentar la proporción de glicerina respecto de los ácidos grasos, el catalizador estará más diluido y su efecto catalítico será menor. Este es un punto muy importante al diseñar el proceso, y debe tenerse en cuenta al dosificar el catalizador al cambiar la relación molar de reactivos.

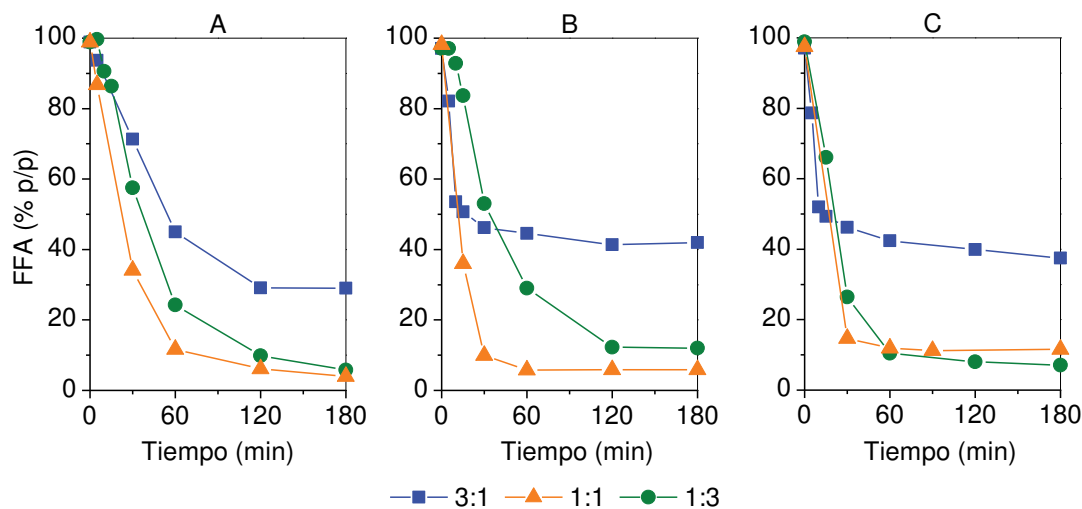


Figura 6.6: Efecto de la relación molar FFA:GOH en la conversión de FFA a 120 °C. (A) MAS 0,087 eq/kg; (B) PTSA 0,087 eq/kg; (C) PTSA 0,17 eq/kg.

El estudio de las RM se complementó siguiendo la formación de los glicéridos mediante cromatografía gaseosa para las reacciones con 0,087 eq/kg de MSA y PTSA. Los resultados se muestran en Figura 6.7. Las Figuras 6.7 A, B y C corresponden al empleo de MSA, y las D, E y F al PTSA.

En el caso de la relación molar FFA:GOH igual a 3:1, es decir, la relación estequiométrica hacia la formación de triglicéridos, los principales productos son los

DG y TG. Se observa una aproximación al equilibrio, particularmente en el caso del catalizador PTSA (Figura 6.7.D). En ambos casos, la concentración final de MG fue muy baja, inferior al 6% en peso (Figura 6.7.A y D). En el otro extremo, a una relación FFA:GOH 1:3, es decir con un gran exceso de glicerina, los productos principales son DG y MG, con una concentración muy baja de TG (Figura 6.7.C y F). En el caso de la relación FFA:GOH de 1:1 aparecen los tres grupos de compuestos, siendo nuevamente los DG el producto principal (Figura 6.7.B y E). Esto es muy interesante, ya que estos resultados muestran que es posible diseñar el proceso según las necesidades de la biorefinería, con el fin de obtener monoglicéridos o triglicéridos, en todos los casos mezclados con diglicéridos.

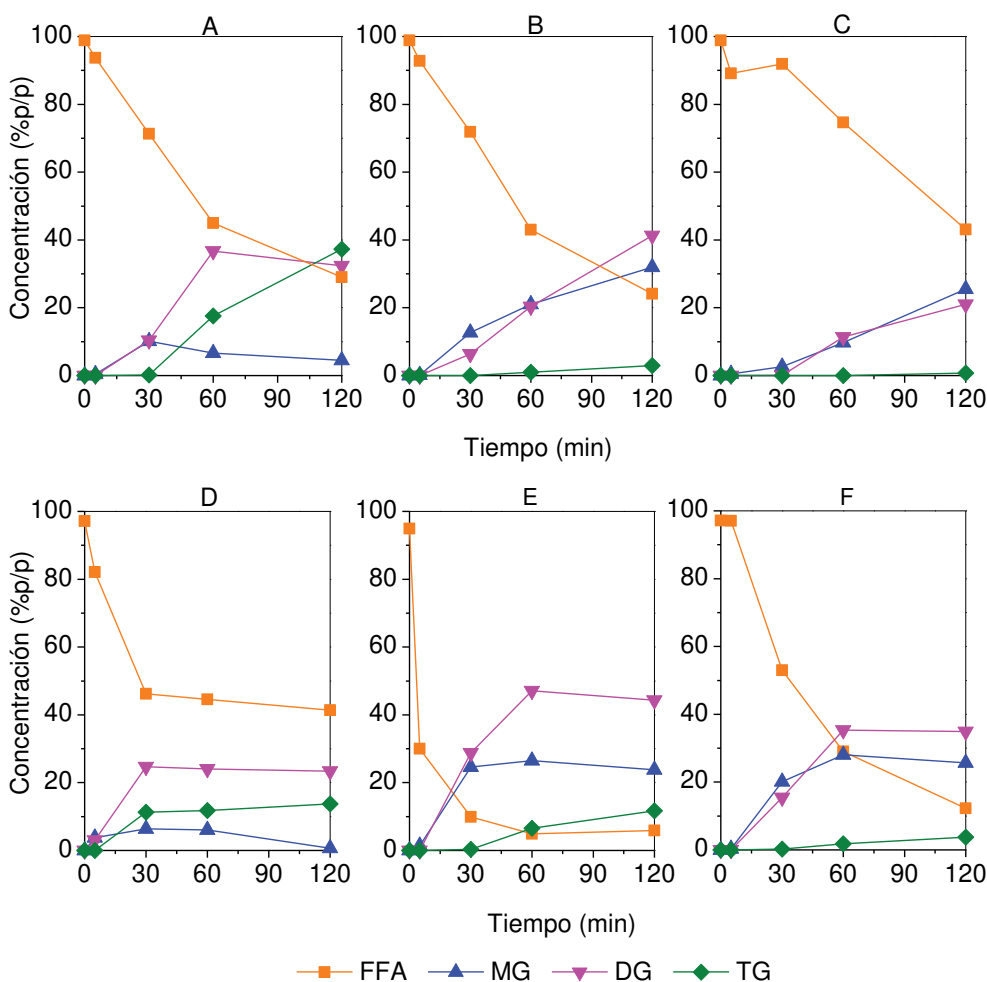


Figura 6.7: Concentración en el tiempo de los ácidos grasos y los glicéridos en la fase oleosa en la reacción a 120 °C, sin eliminar del agua. Catalizada con 0,087 eq/kg MSA y con distintas relaciones molares FFA:GOH: **A:** 3:1, **B:** 1:1, **C:** 1:3. Catalizada con 0,087 eq/kg PTSA y con distintas relaciones molares FFA:GOH: **D:** 3:1, **E:** 1:1, **F:** 1:3.

Cabe mencionar que a medida que aumentó el contenido de glicerina, aumentó el tiempo en que la mezcla de reacción se oscureció. Al trabajar con una relación 3:1 se

observó el oscurecimiento en forma instantánea, en una hora cuando fue 1:1, y a 180 min con una relación 1:3. Es decir, el oscurecimiento asociado a la formación de productos secundarios se retrasa al tener el catalizador más diluido por usar una mayor proporción de glicerina.

6.3.1.4. Efecto de la presencia de agua

Debido a que el agua es un producto de reacción, la conversión puede ser mejorada al trabajar sin reflujo, es decir eliminando el agua del sistema. El efecto de su concentración en el medio reaccionante se estudió comparando las reacciones llevadas a cabo con reflujo, con las experiencias realizadas con el reactor abierto a la atmósfera, con burbujeo de un gas (N_2 /aire), o con la aplicación de vacío. Este último se ajustó de manera tal de evitar una excesiva formación de espuma, hasta alcanzar una presión final de 10-20 cmHg.

En la Figura 6.8 se muestran los cambios de acidez durante la reacción con el reactor abierto a la atmósfera a 120 °C, RM = 1:1, agitación magnética, sin agregado de catalizador y con diferentes concentraciones de los catalizadores.

En la Figura 6.8.A vemos que para el caso de la reacción autocatalítica, la eliminación del agua a medida que se va formando no produjo mejoras en comparación a la reacción con reflujo en el intervalo de tiempo estudiado. Por otro lado, cuando se usa H_2SO_4 (Figura 6.8.B) independientemente de la concentración se logra una mejora significativa, con valores de acidez final menores al 1 % cuando se trabaja sin reflujo. Es importante notar que también se logra disminuir el tiempo de inducción, a tal punto que con 0,35 eq/kg es prácticamente imperceptible.

Los resultados obtenidos con PTSA se muestran en la Figura 6.8.C. En este caso hay dos observaciones muy interesantes para destacar. Por un lado, la muy buena actividad catalítica del PTSA, lo cual se refleja en el hecho de que aun usando concentraciones muy bajas se logra alcanzar una conversión del 98%. Obsérvese que con 0,023 eq/kg, lo que representa 0,5 %v/p, se obtuvo una acidez del 1,45 %p/p a los 240 min. Por otro lado, no hay una diferencia marcada de conversión final obtenida con las concentraciones 0,087 y 0,35 eq/kg, cuando la reacción se lleva a cabo eliminando el agua del sistema. Esto reafirma la hipótesis ya discutida más arriba, de que el agua aportada por el catalizador es la responsable de que se obtengan menores conversiones (mayor acidez final) al usar mayor concentración de catalizador.

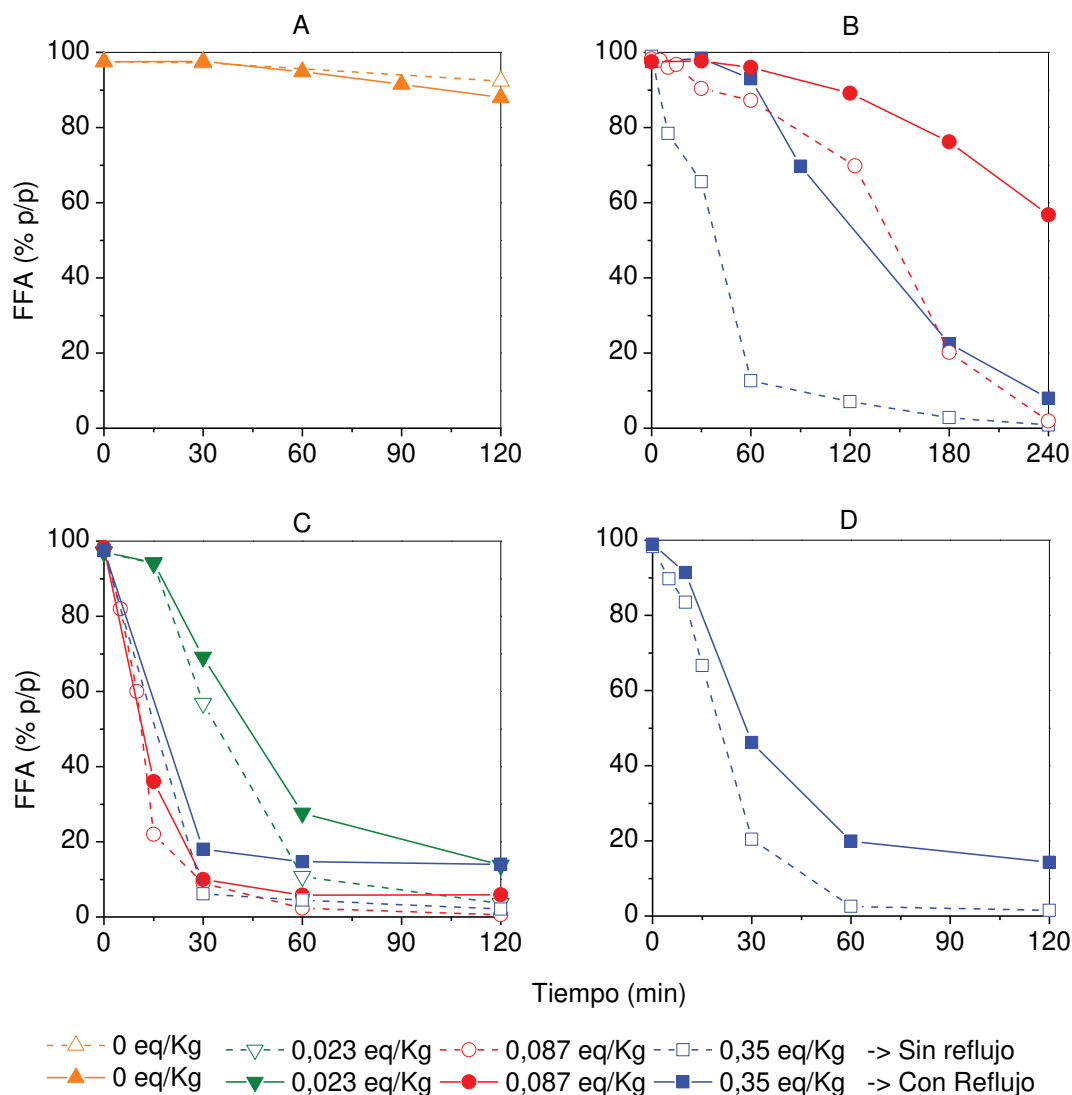


Figura 6.8: Concentración en el tiempo de los ácidos grasos en la reacción a 120 °C, relación molar FFA:GOH: 1:1, reactor abierto (---) y reflujos (—) eliminar el agua. **A:** sin agregado de catalizador, **B:** H₂SO₄, **C:** PTSA, **D:** MSA.

En la Figura 6.8.D se muestran los resultados obtenidos al usar MSA como catalizador. La evaporación del agua logra mejoras significativas en la conversión en forma similar a lo visto con los otros dos catalizadores. A los 60 min la conversión fue del 97.5% cuando se evaporó agua, valor superior al 80% obtenido cuando se trabaja con reflujos.

Dado que la presión de vapor del agua es significativamente menor que la de los FFA, GOH y glicéridos, es sencillo eliminarla de forma selectiva mediante la aplicación de vacío. En la Figura 6.9 se muestra el efecto de la evaporación del agua aplicando vacío en el caso de PTSA (Figura 6.9.A) y MSA (Figura 6.9.B), en ambos casos con una concentración de 0,35 eq/kg a distintas temperaturas. Es posible disminuir la acidez

al 2% en peso trabajando solo a 80 °C con PTSA en 150 min, mientras que se alcanza este valor a los 60 min a 120 °C. La acidez final obtenida en iguales condiciones, pero sin eliminar el agua del sistema fue de 14 %p/p. Los valores obtenidos son similares a los mostrados en la Figura 6.8.C, que corresponden a la operación con el reactor abierto sin aplicar vacío. El catalizador MSA no mostró una buena conversión a 80 °C, mientras que a 100 °C la evolución es similar a la mostrada por PTSA a 80 °C.

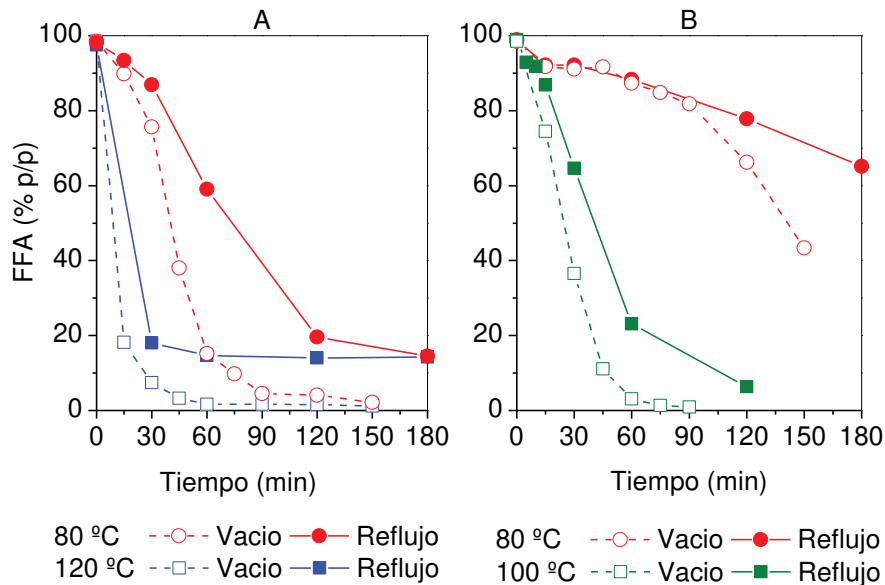


Figura 6.9: Concentración en el tiempo de los ácidos grasos en una reacción a distintas temperaturas, relación molar FFA:GOH 1:1, con vacío (---) y sin (—) eliminar el agua. **A:** 0,37 eq/kg PTSA y **B:** 0,37 eq/kg de MSA.

Es interesante notar que en este caso también se observa un período de inducción. La tensión superficial aumenta a medida que disminuye la temperatura. Por lo tanto, para obtener un área interfacial alta se necesitan monoglicéridos y el sistema muestra la evolución sigmoidea como se explicó anteriormente.

En este conjunto de experimentos se observa nuevamente que el PTSA es el catalizador más activo, en coincidencia con la hipótesis planteada acerca del efecto positivo que tiene su mayor carácter anfifílico respecto del MSA.

La Figura 6.10 muestra la evolución de los FFA y la distribución de productos obtenidas aplicando vacío con PTSA a 80 °C (Figura 6.10.A) y a 120 °C (Figura 6.10.B), y con MSA a 100 °C (Figura 6.10.D). También se incluyen en esta figura los resultados de las experiencias hechas a reflujo con PTSA a 120 °C (Figura 6.10.C) y MSA a 100 °C (Figura 6.10.E). En todos los casos en los cuales se aplicó vacío, a los 60 min de reacción el producto principal fue el DG, teniendo el valor más alto en el caso de

MSA a 100 °C, con una concentración aproximada de 50% en peso (Figura 6.10.D). Al usar PTSA se obtuvieron concentraciones similares de MG y TG desde los 60 min de reacción en adelante, al trabajar en condiciones de reflujo (Figura 6.10.C). Al aplicar vacío los TG tienen valores más bajos de concentración que los MG (Figura 6.10.B). A 80 °C y 120 °C aplicando vacío, se llega a similares valores finales de composiciones, aunque requiriendo diferentes tiempos para alcanzarlos (Figura 6.10.A y B).

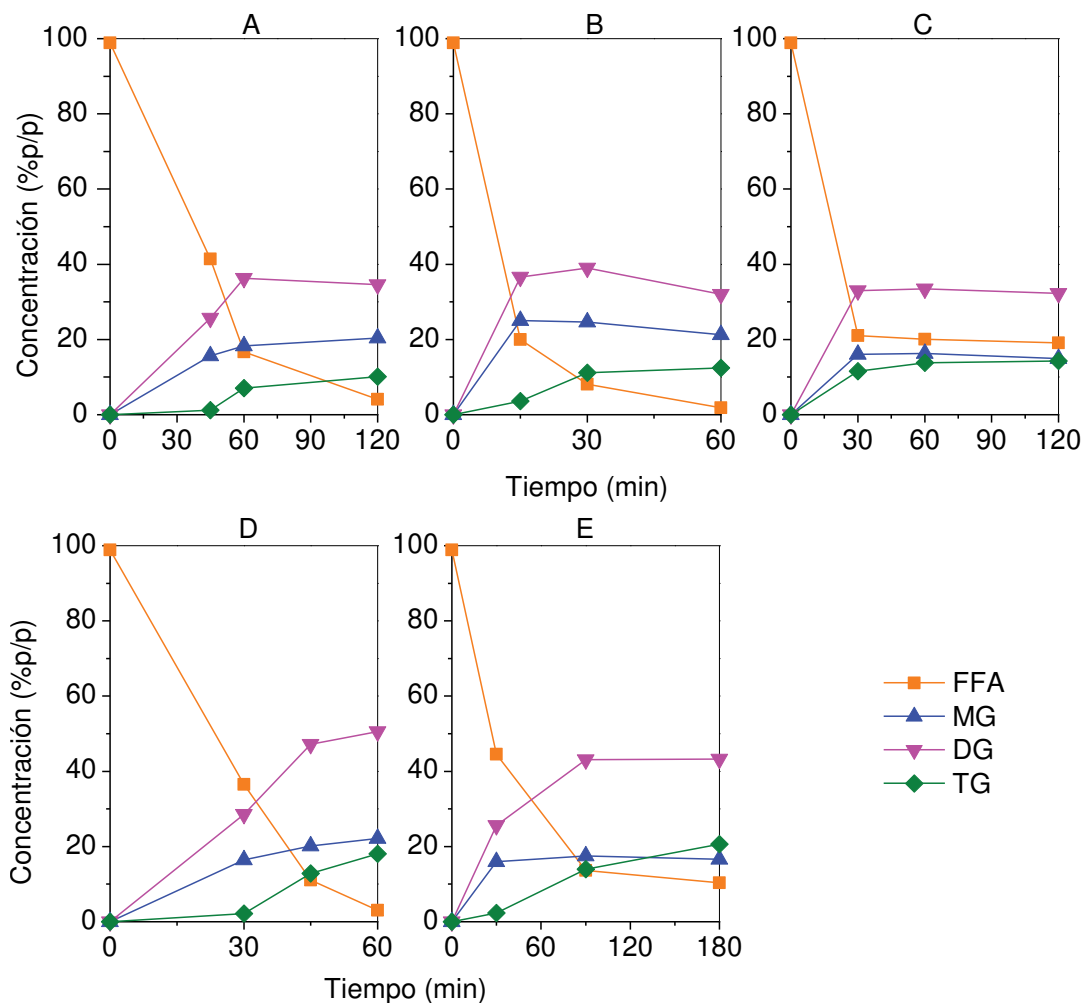


Figura 6.10. Evolución en el tiempo de la acidez en la fase oleosa en la reacción de glicerólisis, RM: 1:1; **A:** 0,35 eq/kg de PTSA, 80 °C y vacío; **B:** 0,35 eq/kg de PTSA, 120 °C y vacío; **C:** 0,35 eq/kg de PTSA, 120 °C y reflujo; **D:** 0,35 eq/kg de MSA, 100 °C y vacío; **E:** 0,35 eq/kg de MSA, 100 °C y reflujo.

Las distribuciones de productos obtenidas con MSA a 120 °C bajo reflujo (Figura 6.10.E) y a 100 °C bajo vacío (Figura 6.10.D) son muy similares, pero la conversión de FFA es mayor en el último caso.

6.3.1.5. Efecto de la eliminación del agua en los productos secundarios

Utilizando los datos de concentraciones de MG, DG, TG y FFA es posible calcular por balance de masas, si la cantidad de productos formados se corresponde con el consumo de reactivo. De esta manera se pudo determinar que al avanzar la reacción hay una diferencia creciente entre el consumo de FFA y la formación de glicéridos. Esto está relacionado con la formación de productos secundarios, que se discutió en la introducción de este capítulo. El oscurecimiento de la fase, es una indicación del avance de estas reacciones secundarias. En este sentido, Villarruel et al. [33] siguieron el oscurecimiento de la reacción como un indicador de la formación de compuestos no deseados por fluorescencia, según la norma AOCS Cc13c-50.

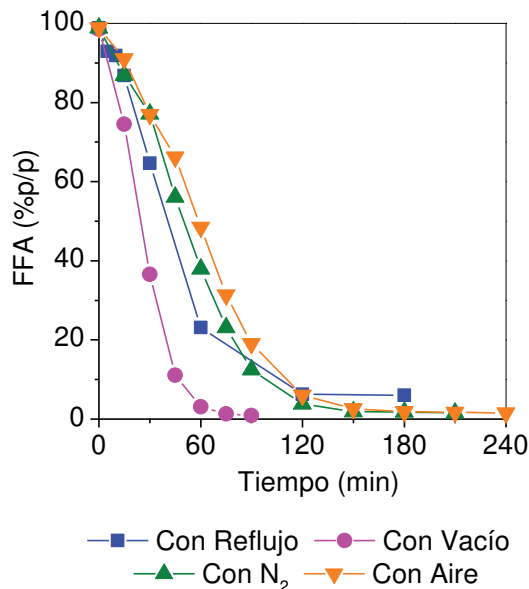


Figura 6.11. Concentración en el tiempo de los ácidos grasos. Efecto de la eliminación del agua y el modo de operación. RM: 1:1; 0,35 eq/kg de MSA; 100 °C.

Se realizará a continuación el análisis de la cantidad de productos secundarios formados, y su relación con el color de la fase oleosa y condiciones de operación. Se llevó a cabo la reacción de esterificación a 100 °C, RM: 1:1, agitación magnética, 0,35 eq/kg de MSA con el reactor abierto a la atmósfera, con el reactor abierto y burbujeo de un gas (N₂ y Aire) y aplicando vacío. Este último, al igual que los casos anteriores, se ajustó de manera tal de evitar una excesiva formación de espuma, hasta alcanzar una presión final de 10-20 cmHg. En la Figura 6.11 se muestran los valores de acidez obtenidos. Se puede observar que la aplicación de vacío es la mejor forma para eliminar el agua, pudiéndose obtener un valor de acidez final del 0,9% en peso a los 90 min. Por otro lado, con el burbujeo de N₂ y Aire los resultados fueron análogos, obteniendo un

1,8% en peso de FFA a los 180 min. Con el reflujo solo se logra bajar la acidez al 6% en peso.

La menor velocidad de reacción inicial obtenida al burbujear nitrógeno o aire, respecto de la operación con vacío, está relacionada con el enfriamiento de la mezcla reaccionante que ocasiona el burbujeo de gas.

En la Foto 6.4 se muestra la evolución del color de la mezcla reaccionante en diferentes condiciones de reacción. Al trabajar con reflujo se obtuvo mayor oscurecimiento de la fase oleosa que al eliminar el agua por cualquiera de las tres alternativas usadas, es decir por burbujeo de nitrógeno, aire, o aplicación de vacío. La diferencia de color más grande se da a bajos tiempos de reacción. Esto sugiere que la formación de algunas de las especies secundarias no deseadas, estaría relacionada con la presencia de agua y/o altas concentraciones de ácidos grasos, además de un efecto fuerte de la temperatura como ya se mostró en secciones anteriores.

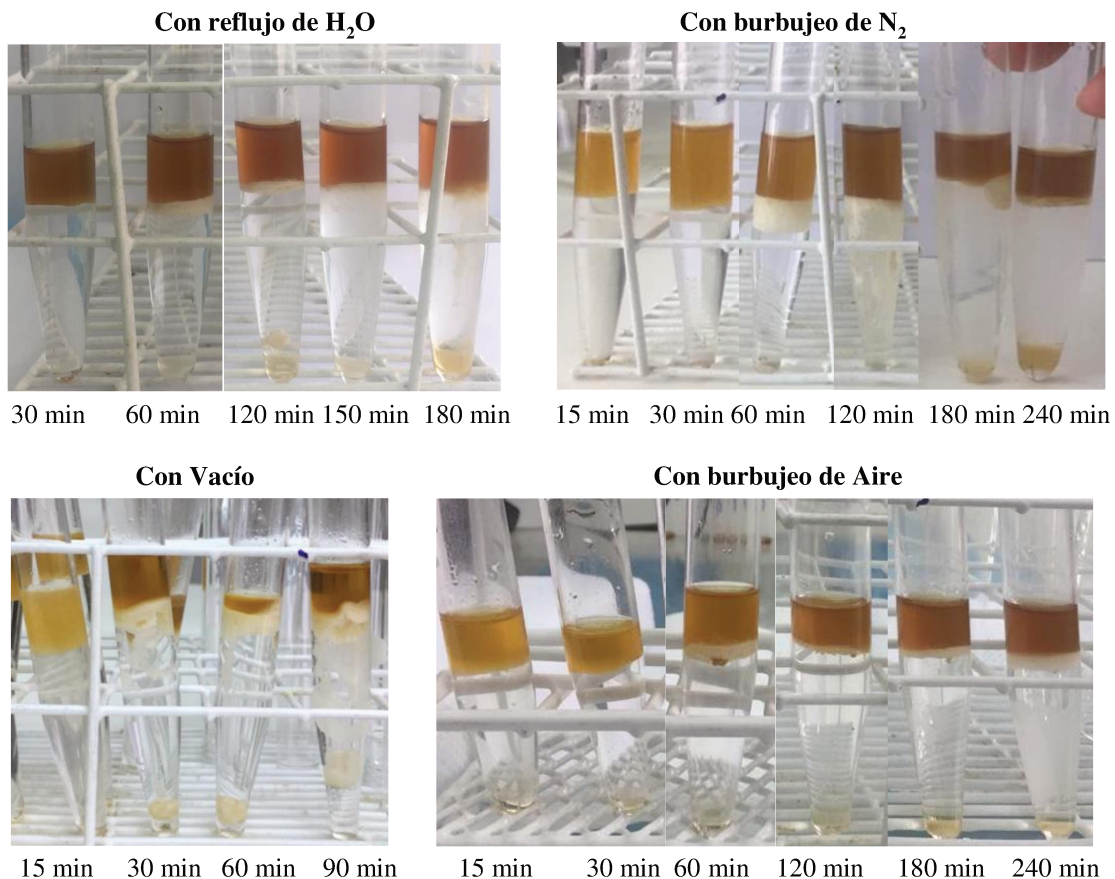


Foto 6.4. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con ácidos grasos ($A = 98 \text{ \%p/p}$), FFA:GOH 1:1, 0,35 eq/kg de MSA, 100 °C. Efecto de la eliminación del agua y modo de operación.

En la Figura 6.12 se muestran los FFA y la distribución de los productos obtenidos en la fase oleosa en la reacción con 0,35 eq/kg MSA, RM 1:1, 100 °C cuando no se eliminó el agua (Figura 6.12.A), cuando se aplicó vacío (Figura 6.12.B), con burbujeo de N₂ (Figura 6.12.C) y de aire (Figura 6.12.D). La distribución es igual a la ya antes analizada en la Figura 6.10, en donde en todos los casos el producto principal fue el DG. Las concentraciones de TG tienen valores más alto que MG cuando se trabaja en condiciones de reflujo (Figura 6.12.A), burbujeo de N₂ (Figura 6.12.C) y aire (Figura 6.12.D), y menores valores al trabajar en vacío (Figura 6.12.B). De todas maneras, las composiciones finales de MG y TG son similares entre sí.

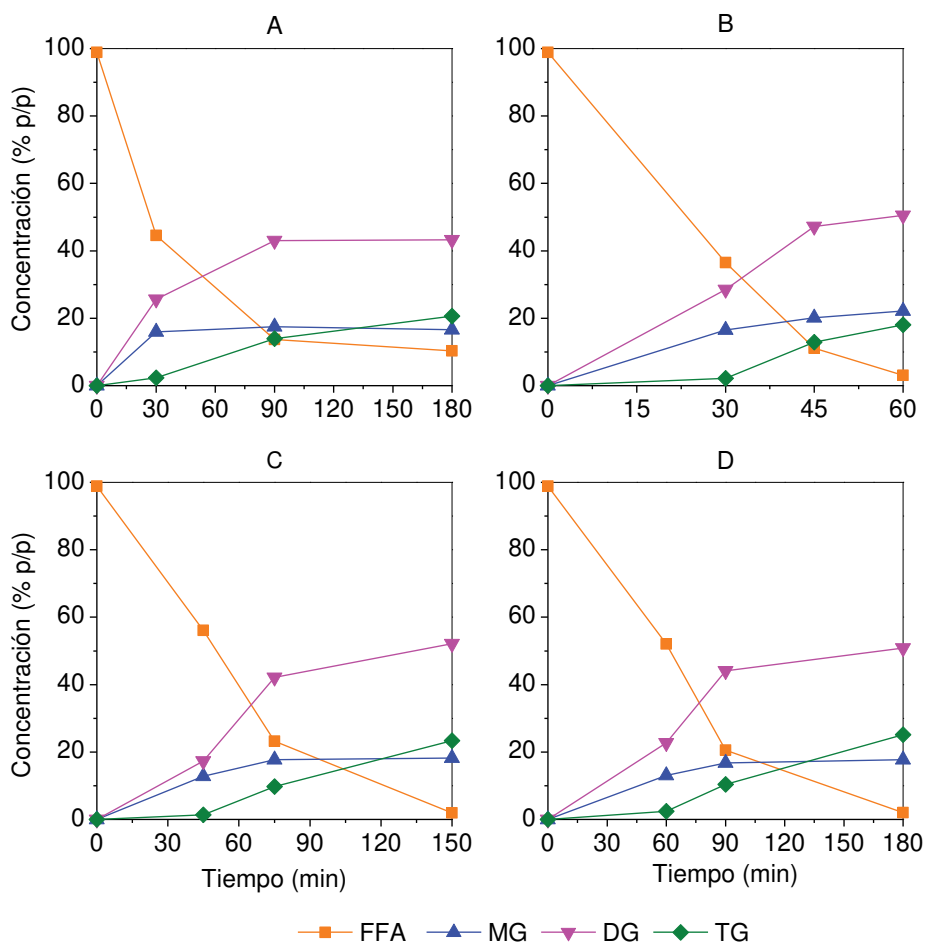


Figura 6.12. Concentración en el tiempo de los ácidos grasos. Efecto de la eliminación del agua y el modo de operación. RM: 1:1; 0,35 eq/kg de MSA; 100 °C. **A:** Sin eliminar el agua. **B:** Aplicando vacío. **C:** Con burbujeo de N₂. **D:** con burbujeo de aire.

En la Tabla 6.3 se muestra el balance de masa total (FFA+glicéridos) de la fase oleosa en la máxima conversión obtenida, para las reacciones con y sin eliminación de agua. Se puede observar que cuando se opera en reflujo de agua se obtiene mayor formación de productos no deseados que cuando se la elimina. La extracción de agua

por burbujeo de un gas es levemente mejor que cuando se aplica vacío, lo que concuerda con los colores obtenidos en cada caso, mostrados en la Foto 6.4.

Efectivamente la eliminación del agua favorece la reacción, no solo porque desplaza el equilibrio a productos lo cual se refleja en menores valores de acidez final, sino que limita la formación de productos secundarios no deseados que se reflejan en el color de la mezcla. Estos resultados sugieren que es conveniente trabajar a menores temperaturas y concentraciones de catalizador, obteniendo así una mejora significativa en el rendimiento del proceso.

Tabla 6.3: Balance de masa total (FFA+GOH), para la reacción a 120 °C, RM FFA:GOH 1:1, 0,35 eq/kg de MSA sin y con eliminación de agua mediante distintas estrategias.

	Tiempo (min)	FFA (%p/p)	Total (%p/p)
Con reflujo de H ₂ O	180	10,34	87,9
Con Vacío	60	3,07	93,79
Con burbujeo de N ₂	150	1,91	95,67
Con burbujeo de aire	180	2,02	95,71

6.3.1.6. Distribución del catalizador entre las fases

Se determinaron las cantidades de catalizador presentes en la fase rica en glicéridos y en la fase de glicerina para los tres catalizadores evaluados en este trabajo, lo cual se muestra en la Tabla 6.4. Se encontró en todos los casos que el catalizador se concentró en la fase de glicerina, siendo la cantidad de catalizador presente en la fase orgánica muy pequeña. Por ejemplo, en el caso de MSA se cargaron 0,0139 equivalentes, y se determinó luego de la separación de fases, separadas por centrifugación, que había 0,00006 equivalentes en la fase orgánica y 0,01112 equivalentes en la glicerina. La cantidad de equivalentes presentes en la fase orgánica representa el 0,4% de la cantidad inicial de equivalentes de MSA cargados en el sistema. La cantidad de equivalentes encontrados en la fase orgánica por titulación está dentro del error del análisis. Sin embargo, cabe destacar que la cantidad total de equivalentes encontrados después de la centrifugación es menor que la cantidad cargada en el reactor. La relación entre las cantidades finales e iniciales de equivalentes de ácido es 0,53 para el H₂SO₄, 0,81 para el MSA y 0,92 para el PTSA. Esto se debe a la esterificación de la glicerina con los catalizadores ácidos lo cual se describirá más adelante, en la Sección 6.3.4.1.

Estos resultados muestran que los tres catalizadores estudiados en este trabajo permanecen en la fase de glicerina, por lo que no hay necesidad de agregar tratamientos especiales de la fase orgánica ya que no contiene el catalizador. Además, la fase de glicerina que contiene el catalizador se puede reciclar al reactor, permitiendo así su reutilización, lo cual es una gran ventaja que presenta este sistema.

Tabla 6.4. Distribución del catalizador entre la glicerina y la fase orgánica (FFA+MG+DG+TG).

	H₂SO₄	MSA	PTSA
Equivalentes iniciales	0,0150	0,0139	0,0155
Equivalentes Finales:			
Fase oleosa	0,00002	0,00006	0
Fase glicerina	0,00782	0,01112	0,0138
Equivalentes Final/Inicial	0,53	0,81	0,92

6.3.2. Reacción de esterificación aplicada a materias ácidas

Una de las aplicaciones de la reacción de esterificación de ácidos grasos con glicerina, es la reducción de acidez de aceite y de biodiesel. Su empleo permitiría, por un lado, usar materias primas que tienen un nivel alto de acidez para elaborar biodiesel sin pérdida de rendimiento en la etapa de neutralización. Por otro lado, permitiría corregir la acidez de biodiesel fuera de especificación. En ambos casos, esto resultaría en una mejora en los rendimientos globales.

➤ Reducción de acidez de aceites

En la Figura 6.13 se muestra la evolución temporal de los ácidos grasos en una reacción de esterificación de un aceite de soja con una acidez del 5 %p/p, RM 1:18 (Figura 6.13.A), RM 1:2 (Figura 6.13.B), y con una acidez inicial del 20 %p/p, RM 1:4 (Figura 6.13.C) a 120 °C con reflujo. Se ensayaron distintas concentraciones de PTSA (0,087; 0,17 y 0,35 eq/kg), y para el MSA solo se utilizó 0,17 eq/kg. En el caso del PTSA se puede observar que hay un aumento en la conversión al usar menores concentraciones de catalizador, lo que se debe al porcentaje de agua que aporta. En este caso, el agua en el sistema pasó de fracción molar 0,09 cuando se trabajó con 0,087 eq/kg a 0,2 para 0,35 eq/kg. En este caso se ve claramente el fuerte impacto que tiene el

agua presente en el PTSA en el comportamiento del sistema. En la Figura 6.13.B se evidencia que el MSA es más efectivo que el PTSA.

Usando un gran exceso de glicerina (FFA:GOH 1:18) para tratar un aceite de acidez inicial del 5 %p/p, solo se logra bajar a un 1,9 %p/p a los 60 min de reacción usando una concentración de PTSA de 0,17 eq/kg (Figura 6.13.A).

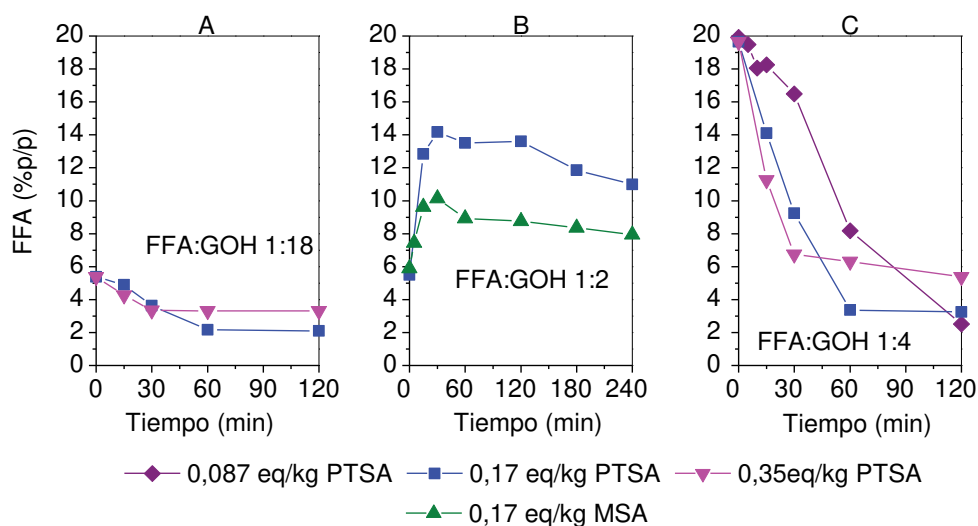


Figura 6.13: Evolución temporal de la acidez durante la reacción de esterificación de aceites ácidos con glicerina a 120 °C sin eliminar el agua. **A:** Aceite con 5 % en peso de acidez; FFA:GOH 1:18; 0,17 y 0,35 eq/kg de PTSA. **B:** Aceite con 5 % en peso de acidez; FFA:GOH 1:2; 0,17 eq/kg de PTSA y MSA. **C:** Aceite con 20 % en peso de acidez; FFA:GOH 1:4; 0,087, 0,17 y 0,35 eq/kg de PTSA.

Un comportamiento particular se observa cuando se limita la glicerina (Figura 6.13.B), en donde se ve un incremento en la acidez en los primeros minutos de la reacción, pasando por un máximo a los 30 min para luego bajar lentamente. Esto se debe a la hidrólisis de los triglicéridos. Inicialmente la fracción molar de los TG es 0,52 al usar PTSA, y 0,66 al usar MSA. La fracción molar de la glicerina es 0,05 para ambos casos. Esto significa que la concentración de glicerina es muy baja, y por tanto también lo es la velocidad de reacción de esterificación. Por otro lado, la fracción molar del agua presente en el sistema aportada por los catalizadores y la contenida en los reactivos, fue de 0,23 y 0,04 para el caso de PTSA y MSA respectivamente. Por estas razones, la velocidad de la reacción de hidrólisis de los triglicéridos es la más rápida al principio de la reacción, y conduce a un aumento de la acidez. En el caso del aceite con un 20 %p/p de acidez y una RM FFA:GOH 1:4 no se observó este comportamiento debido a que en estas condiciones la fracción molar de la glicerina fue mayor al 0,5 y la

de los TG no superó el 0,15, por lo que se ve favorecida la reacción de esterificación frente a la hidrólisis.

Para verificar la presencia de la reacción de hidrólisis de los triglicéridos, se realizó una experiencia en iguales condiciones a las anteriores, pero sin el agregado de la glicerina. Las condiciones fueron 120 °C con reflujo, un aceite de soja con 8,25 %p/p de acidez y 0,17 eq/kg de PTSA. En los primeros 15 min de la reacción se registró un aumento de 10 puntos en la acidez, llegando a 18,92 %p/p, incremento análogo al mostrado en la Figura 6.13.B. Esto muestra efectivamente que los TG se hidrolizan, en concordancia con lo discutido previamente. La acidez luego se mantuvo constante, en el valor de 18 %p/p, durante los 120 min en los que se siguió la reacción, lo cual se debe a que no ocurre la glicerólisis dada la ausencia de GOH en el medio.

La formación de productos secundarios no deseados, seguida por la coloración de la mezcla reaccionante, se dio en todos los casos estudiados. En el caso del aceite con un 5 %p/p de acidez, la mezcla de reacción se oscureció a partir de los 120 min, y en el del aceite con un 20 %p/p de acidez a partir de los 120 min (Foto 6.5). Este comportamiento se registró en todos los casos independientemente de la concentración y tipo de catalizador.

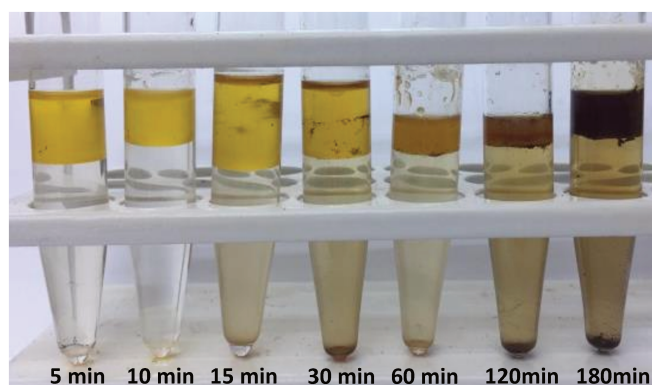


Foto 6.5. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con un aceite ácido (FFA = 20 %p/p), a reflujo, FFA:GOH 1:5, 0,087 eq/kg de PTSA y 120 °C.

En ninguna de las experiencias se logró bajar la acidez a menos del 1 %p/p, valor que se requiere en un aceite vegetal o grasa animal para el proceso convencional de producción de biodiesel con catálisis alcalina. Por lo tanto, se evaluó la reacción eliminando el agua que se forma en el sistema mediante la aplicación de vacío, que como ya se mostró en la Sección 6.3.1.3 mejora considerablemente la conversión. Para ello se ensayó un aceite con un 33,7 %p/p de acidez proveniente de una empresa de la zona que realiza a nivel industrial la reacción de glicerólisis autocatalítica. Las

condiciones de reacción fueron las anteriormente optimizadas: 100 °C, RM FFA:GOH 1:1, 0,35 eq/kg de MSA y vacío aplicado gradualmente hasta llegar a 10-20 cmHg. Efectivamente la aplicación de vacío mejoró la conversión, permitiendo llegar a una acidez de 0,89 %p/p a los 240 min de reacción. Estos resultados muestran la potencialidad de escalado industrial que posee la esterificación por catálisis ácida homogénea de los ácidos grasos con la glicerina.

➤ Reducción de acidez de biodiesel

Otra corriente a la que interesa bajar la acidez con la aplicación de la reacción en estudio es un biodiesel que se encuentre fuera de especificación. Las normas vigentes establecen un máximo de acidez del biodiesel de 0,5 mg_{KOH}/g [30]. Normalmente, al utilizar materias primas de buena calidad, lo cual es lo que sucede en grandes plantas, este valor de acidez se logra sin mayores problemas, o bien es excedido en cantidades muy pequeñas. En pequeñas plantas, es más común observar este problema, con casos en los cuales la acidez supera el 2 %p/p.

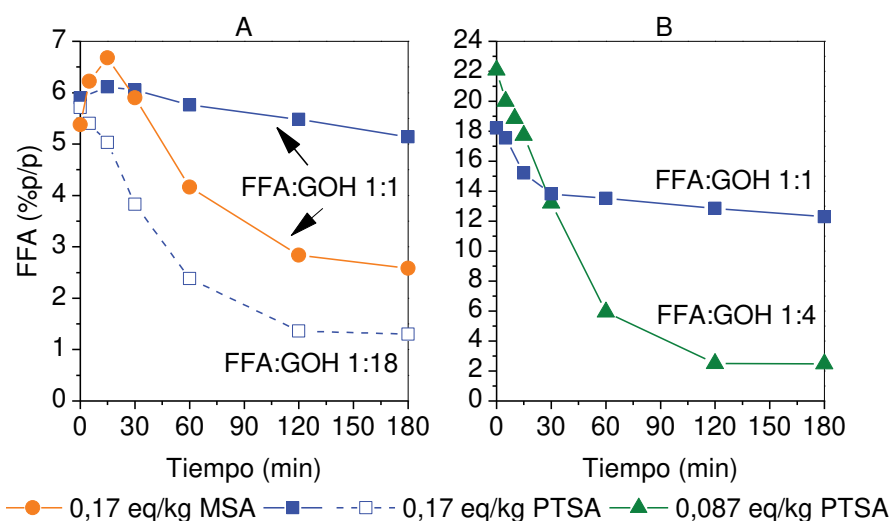


Figura 6.14: Evolución temporal de la acidez durante la reacción de esterificación de biodiesel ácido con glicerina a 120 °C sin eliminar el agua. **A:** Biodiesel con 5 %p/p de acidez; FFA:GOH 1:1 y 1:18; 0,17 eq/kg de PTSA y MSA. **B:** Biodiesel con 20 %p/p de acidez; FFA:GOH 1:1 y 0,087 eq/kg de PTSA; FFA:GOH 1:4 y 0,17 eq/kg de PTSA.

En la Figura 6.14 se muestra la evolución de la acidez en la reacción de esterificación de un biodiesel ácido con glicerina, en reflujo, 120 °C y catalizadores organosulfónicos. Se observan comportamientos similares a los ya estudiados con el aceite ácido. En el caso de un biodiesel con 5 %p/p de acidez se ve que al limitar la

glicerina, la reacción de hidrólisis de los metilésteres es significativa frente a la esterificación (Figura 6.14.A). Nuevamente se ve que el MSA es más activo que el PTSA a igual concentración.

En la Figura 6.14.B se muestra la acidez en el tiempo en la reacción de un biodiesel con 20 %p/p de acidez. Estos resultados muestran como optimizar el diseño de la reacción para bajar la acidez a los valores deseados. Por ejemplo, el aumento en la concentración de glicerina, pasando de una relación molar 1:1 a 1:4, permite reducir la acidez de 20 a 2,51 %p/p (Figura 6.14.B). El valor de acidez final podría reducirse aún más simplemente trabajando en condiciones de eliminación de agua, por ejemplo bajo vacío.

En esta sección se muestra que es posible bajar la acidez de distintas corrientes ácidas presentes en una biorefinería a valores por debajo del 1 %p/p, tal cual se había planteado en los objetivos iniciales, siendo determinante la eliminación del agua y el uso de GOH en exceso.

6.3.3. Reacción de esterificación: Glicerina grado técnico

En esta sección se estudia el uso de glicerina industrial grado técnica en la esterificación de los ácidos grasos. En la Tabla 6.5 se muestra la composición de la glicerina que se utilizó.

Tabla 6.5: Composición de la glicerina grado técnico

Análisis	Resultados
Cenizas g/100g	4,34
Glicerina g/100g	81,2
Agua g/100g	12,95
Metanol g/100g	0,03
pH	5,5
Cloruros g/100g	2,88
MONG g/100g	1,51

Se observa que las sales y el agua son las dos grandes impurezas presentes en la glicerina. Por lo tanto se estudiará el efecto que cada una de estas impurezas tiene en el

sistema. Para eso, se prepararon mezclas de una glicerina farmacopea con 5 %p/p de NaCl y con 10 %p/p H₂O.

En la Figura 6.15 se muestra la evolución de la acidez en las reacciones de esterificación a 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, sin evaporar el agua formada, con 0,087 eq/kg de catalizador, comparando el uso de GOH anhidra (■); GOH dopada con 10 %p/p H₂O (●); GOH con 5 %p/p de NaCl (▲); GOH grado técnico (◆).

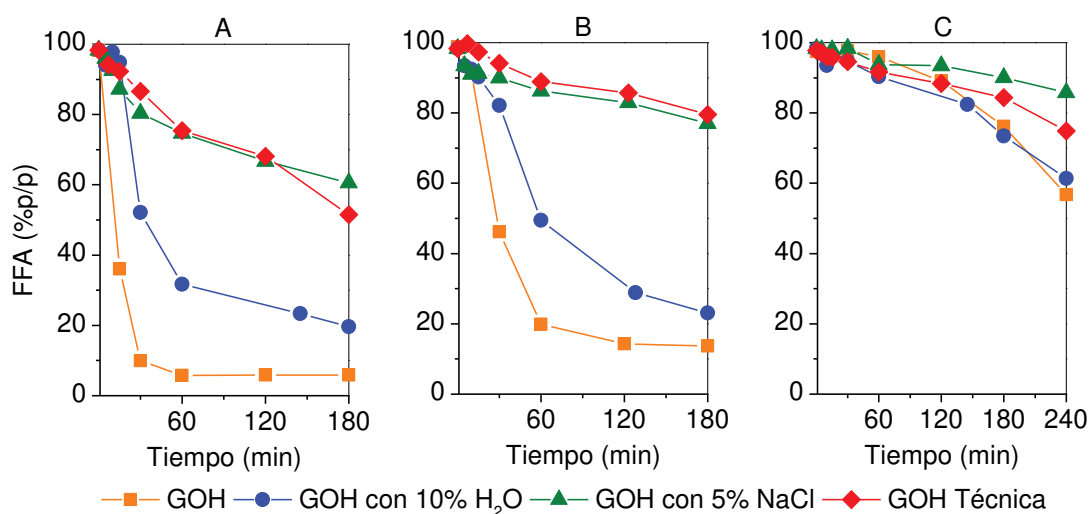


Figura 6.15: Evolución de la acidez en las reacciones de esterificación de los ácidos grasos con distintas purezas de glicerina a 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, sin evaporar el agua formada. Con 0,087 eq/kg de catalizador: A: PTSA; B: MSA; C: H₂SO₄.

➤ Efecto del agua

Es de esperar que el agregado de agua en la glicerina produzca una disminución en la conversión de equilibrio, ya que desplazaría el equilibrio a reactivos. Para evaluar este factor se realizaron reacciones a 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, sin evaporar el agua formada y con 0,087 eq/kg. En la Figura 6.15 se muestran los resultados de la evolución de la acidez en el tiempo para A: PTSA, B: MSA y C: H₂SO₄. Para el caso de los ácidos organosulfónicos se ve que efectivamente la presencia de agua desfavorece la conversión de los ácidos grasos (Figura 6.15.A y B). Al trabajar en vacío, o evaporando el agua, se lograría desplazar el equilibrio y obtener conversiones mayores, por lo que de esta forma se podría evitar los problemas asociados al agua presente en la glicerina técnica.

Por el contrario, en el caso del H_2SO_4 pareciera que el agregado de agua no modifica la velocidad de reacción (Figura 6.15.C). Estos experimentos fueron realizados por duplicado obteniéndose el mismo resultado.

En la Tabla 6.6 se muestra la tensión superficial de cada uno de estos catalizadores en (glicerina+10% H_2O) a 25 °C. El agregado de agua aumenta la tensión superficial de la glicerina, pasando de 63 erg/cm^2 a 64,68 erg/cm^2 cuando se agrega un 10 % de agua. Además, se observó una tendencia similar a la ya mostrada en la Tabla 6.2, donde la tensión superficial de (GOH+10% H_2O) prácticamente no se modifica al agregar SO_4H_2 , mientras que el MSA y el PTSA la disminuyen. Para el caso de los ácidos organosulfónicos el agua tiene un efecto importante en la cinética y en el equilibrio. Para el caso del ácido inorgánico, el efecto del agua no fue marcado, si bien dada la muy baja conversión y la baja velocidad de reacción, el efecto puede quedar enmascarado.

Tabla 6.6. Tensión superficial de ácidos en glicerina+10% H_2O .

Líquido	Tensión superficial (erg/cm^2)
Agua	72
Glicerina	63
GOH+10% Agua	64,68
H_2SO_4 en (GOH+10% Agua)	64,78
MSA en (GOH+10% Agua)	60,33
PTSA en (GOH+10% Agua)	61,97

Concentración de catalizadores: 0,087 eq/kg. Temperatura 25 °C.

➤ Efecto de las sales

Otras de las impurezas presentes en la glicerina técnica son las sales. Para evaluar su efecto, se realizaron experiencias a 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, sin evaporar el agua formada, con 0,087 eq/kg de catalizador y 5 %p/p de NaCl agregado a la fase glicerina. En las reacciones en las cuales se agregó NaCl a la glicerina, se observó sistemáticamente una conversión significativamente menor que en ausencia de esta sal (Figura 6.15). Notar que el efecto de la sal fue más fuerte que el efecto del agua, lo cual es un resultado no esperado.

Se midió la tensión superficial de la mezcla de los catalizadores en (glicerina+5% NaCl) a 25 °C, los resultados se muestran en la Tabla 6.7. Al igual que con el agregado

de agua, la tensión superficial de la glicerina aumentó en igual proporción, pasando de 63 erg/cm² a 64.67 erg/cm². En el caso del agregado de H₂SO₄ a (GOH+5% NaCl) la tensión superficial prácticamente no cambia, y el agregado de MSA ó de PTSA la disminuyen, siendo significativa para este último. Las tensiones superficiales medidas no explican la menor conversión obtenida en presencia de sales, mostradas en la Figura 6.15, lo cual nos indica que la sal ejerce otro efecto, el cual requerirá un estudio adicional.

Tabla 6.7. Tensión superficial de ácidos en glicerina+5% NaCl.

Liquido	Tensión superficial (erg/cm ²)
Agua	72
Glicerina	63
GOH+5% NaCl	64,67
H ₂ SO ₄ en (GOH+5% NaCl)	64,22
MSA en (GOH+5% NaCl)	59,82
PTSA en (GOH+5% NaCl)	55,61

Concentración de catalizadores: 0,087 eq/kg. Temperatura 25 °C.

➤ Glicerina grado técnico

Se realizaron experiencias utilizando la glicerina grado técnico cuya composición se mostró en la Tabla 6.5, usando una relación molar FFA:GOH 1:1, a 120 °C, con reflujo del agua, y 0,087 eq/kg de catalizador, lo que representaría 1,87 %v/p PTSA, 0,57 %v/p MSA, y 0,25 %v/p H₂SO₄. Estos resultados se muestran en la Figura 6.15 en forma comparativa con los efectos en forma aislado de las distintas impurezas presentes en la GOH.

La evolución de la acidez en las reacciones en la que se usó glicerina técnica copió a las reacciones en las que se dopó la GOH pura con un 5 %NaCl. Esto nos estaría indicando que las sales producen una gran limitación en la velocidad de reacción, mientras que el agua produce un efecto de menor magnitud en la cinética.

Estas experiencias se repitieron en condiciones de vacío, y se midió una evolución de la acidez análoga a la registrada cuando la reacción se realizó con reflujo del agua (no mostrado). Esto refuerza el efecto que tienen las sales sobre la velocidad de reacción.

La presencia de sales tiene un efecto muy fuerte en la velocidad de reacción de la glicerólisis, el cual requiere un estudio adicional a fin de determinar la causa.

6.3.4. Reacciones secundarias

6.3.4.1. Reacción de alquilación del catalizador

Esta reacción tiene varios efectos importantes en este sistema de reacción. En primer lugar, consume tanto la glicerina como catalizador, y en segundo lugar, produce agua que tiene un efecto negativo tanto en la cinética, como en la conversión de equilibrio de los ácidos grasos libres.

Esta reacción fue abordada por Suwannakaen et al. [31] en el marco del estudio de la estabilidad del catalizador de zirconia sulfatada utilizado en la reacción de transesterificación de triglicéridos. La reacción se produjo entre los sulfatos disueltos en el medio de reacción y el alcohol a una temperatura de 120 °C, formando metilsulfatos. Por otro lado, la reacción fue cuantificada también en el marco de la tesis doctoral de la Dra. Pisarello [1], en la cual se estudió la esterificación de los ácidos grasos con metanol y etanol, con ácido sulfúrico como catalizador a 60 °C y 70 °C. En estas condiciones se pudo corroborar la esterificación del ácido sulfúrico con los alcoholes.

Se realizaron experiencias midiendo la acidez en función del tiempo para mezclas de glicerina con 0,17 eq/kg de catalizador (H_2SO_4 , MSA y PTSA) referido a la masa total que se tendría en un sistema de reacción con una relación molar FFA:GOH 1:1 a 120 °C. En la Figura 6.16.A se muestra la evolución de la acidez en mezclas. Se puede observar que la misma disminuyó en todos los casos estudiados, siendo importante solo en el caso del H_2SO_4 , cuya concentración disminuyó a aproximadamente la mitad del valor inicial. Este comportamiento tiene como consecuencia principal la pérdida de una fracción significativa del catalizador con la consiguiente reducción de la velocidad de reacción. Por otro lado, la producción de agua que limita la conversión de equilibrio, es una desventaja importante del H_2SO_4 en comparación con los catalizadores MSA y PTSA.

La Figura 6.16.B muestra la evolución de color en estas reacciones de glicerina con los catalizadores ácidos a 120 °C. En todos los casos hay un fuerte oscurecimiento a los 120 min, alcanzando un color negro a los 180 min. Esto significa que la degradación

y oscurecimiento del sistema se obtienen incluso en ausencia de FFA, y la descomposición de la glicerina en presencia de estos ácidos fuertes conduce a la formación de compuestos degradados oscuros.

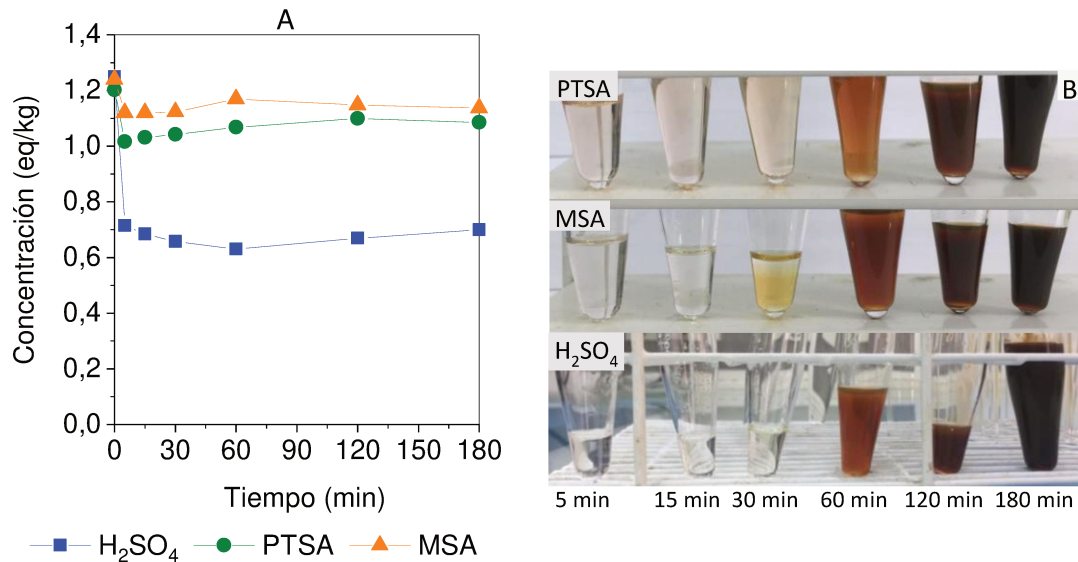


Figura 6.16: Evolución de la concentración de la acidez en la reacción de alquilación del catalizador con glicerina a 120 °C. 2,27 %v/p MSA (▲), 1 %v/p H₂SO₄ (■) y 7,48 %v/p PTSA (●).

Se hace notar que existe una concordancia perfecta entre los valores mostrados en la Tabla 6.4 (Equivalentes finales/iniciales) y los mostrados en la Figura 6.16. En la Sección 6.3.1.4 se mostró que la relación entre las cantidades finales e iniciales de equivalentes de ácido sulfúrico era 0,53, lo cual concuerda con lo mostrado en relación a la disminución de la concentración de H₂SO₄ al reaccionar con la glicerina, que disminuyó aproximadamente a la mitad.

Se verificó la reacción de alquilación del catalizador ocurre también en el medio de reacción, para lo cual se realizó una experiencia con glicerina y 0,35 eq/kg de H₂SO₄ disueltos en biodiesel de muy baja acidez (FFA=0,36%) a 120 °C y RM Biodiesel:GOH 1:1. En estas condiciones solo debería ocurrir la alquilación. La acidez fue medida en el tiempo de dos formas distintas, por un lado, se analizó toda la muestra tomada del reactor, y por el otro, lavada con el fin de eliminar todo el catalizador. Los resultados mostraron que la acidez medida a la mezcla de reacción disminuía a la mitad de su valor en los primeros 5 min, y luego se mantenía constante, comportamiento similar al visto en la Figura 6.16.A. En cambio, la acidez de la fase oleosa obtenida luego del lavado

acuoso se mantuvo invariante, por lo que los cambios en la acidez se atribuyen exclusivamente a la reacción de alquilación.

En conclusión se logró corroborar la presencia de la reacción de alquilación del catalizador con glicerina, y que esta reacción ocurre tanto en la mezcla glicerina-ácido sulfúrico, como en el sistema reaccionante en presencia de ésteres.

6.3.4.2. Reacción de degradación de la materia oleosa con el catalizador

Debido al gran poder oxidante del ácido sulfúrico, se estudia el efecto de su uso y sus derivados organosulfónicos en la materia oleosa. Se realizaron experiencias midiendo la acidez en función del tiempo y observando la evolución del color, para mezclas de ácidos grasos, biodiesel y aceite con 0,17 eq/kg de catalizadores (H_2SO_4 , MSA y PTSA), a diferentes temperaturas.

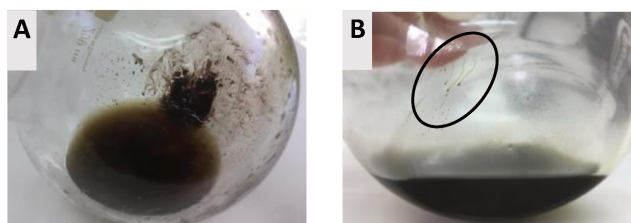


Foto 6.6. Fotos de la mezcla de los ácidos grasos con 0,17 eq/kg de catalizador y 120 °C. **A:** PTSA; **B:** MSA.

En la Foto 6.6 se muestran las mezclas de los ácidos grasos con los catalizadores organosulfónicos. La Foto 6.6.A corresponde al uso del PTSA y la Foto 6.6.B al MSA. El color de las mezclas indica degradación de la fase oleosa, lo cual fue acompañado de un olor fuerte. Al comenzar el calentamiento, la mezcla tomó un color marrón oscuro, formando gradualmente desechos carbonosos que se adhieren al fondo del reactor (ver Foto 6.6.A). Por otro lado, con el uso del MSA se notó la presencia de dos fases desde el inicio, lo que se puede evidenciar en las gotitas señaladas con un círculo en las paredes del reactor en la Foto 6.6.B. Al trabajar con aceite y biodiesel en iguales condiciones a las anteriores se observaron comportamientos similares al de los ácidos grasos.

Al no haber glicerina en el medio, en la cual se concentra el catalizador, los ácidos organosulfónicos están en íntimo contacto con la fase oleosa, lo que hace que se intensifiquen las reacciones de degradación. Es de esperar que en el medio reaccionante, en presencia de glicerina, estas reacciones ocurran más lentamente. Más adelante se

retomará este punto y se mostrará que efectivamente el exceso de glicerina, contribuye a que la mezcla no se coloree.

Para determinar si en el cambio de coloración participan los pigmentos presentes en las materias primas, se ensayaron dos de diferentes coloraciones. Por un lado, se estudió un aceite refinado de girasol dopado con un 5 %p/p de acidez y por el otro, ácidos grasos de origen animal. Las condiciones de reacción ensayadas fueron relación molar FFA:GOH 1:1, 120 °C, sin evaporar el agua formada y 0,17 eq/kg de PTSA.

En la Foto 6.7.A se muestran los ácidos grasos de origen animal, los cuales presentan un color blanco. En la Foto 6.7.B se muestra la evolución del color de la mezcla reaccionante al usar estos ácidos grasos. Se observa que se oscurece a partir de los 15 min de reacción, y toma color negro a los 180 min. En la Foto 6.7.C se presenta la evolución del color de la mezcla de reacción cuando se ensayó el aceite refinado. La misma se empezó a oscurecer gradualmente con el tiempo hasta llegar a tener un aspecto muy oscuro a los 120 min, muy similar al obtenido con los ácidos grasos de origen animal. Todo esto nos estaría indicando que la coloración se debe a las reacciones de oxidación y degradación de la materia oleosa y no a la presencia de pigmentos que se oscurecen.

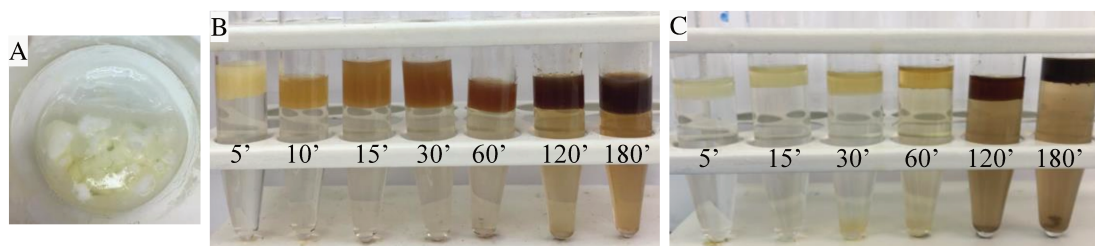


Foto 6.7. Foto evolución de la coloración de las mezclas de reacción a 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, sin evaporar el agua formada, 0,17 eq/kg de PTSA, partiendo de distintas fuentes de ácidos grasos.

A: Ácidos grasos de origen animal a tiempo inicial. **B:** Ácidos grasos de origen animal. **C:** Aceite refinado de girasol dopado con 5 %p/p de Acidez.

6.3.4.3. Impacto de las reacciones secundarias en las experiencias de reacción

Durante la esterificación de GOH con FFA en presencia de catalizadores ácidos, puede ocurrir un gran número de reacciones secundarias, como las mencionadas en la introducción. Este es un problema con respecto al rendimiento que se puede obtener. Existen algunas publicaciones en las que se describe este problema como un

oscurecimiento de la mezcla de reacción, pero en ninguna de ellas se presentó una cuantificación de estos subproductos. Además, es importante determinar en qué condiciones disminuye esta cantidad de impurezas. En este estudio, se encontró que la mezcla de reacción se volvió muy oscura dependiendo de la concentración de catalizador, la temperatura de reacción y la relación molar FFA: GOH.

La Foto 6.8 muestra la evolución del color del medio de reacción usando PTSA a 120 °C (0,087 eq/kg) con diferentes relaciones molares FFA:GOH. Estos resultados corresponden al experimento que se muestra en la Figura 6.6.B. Al aumentar la relación FFA:GOH, el medio de reacción se oscurecen en tiempos más cortos. Por ejemplo, en una relación molar FFA:GOH de 1:3 (Foto 6.8.A) a los 60 min, la reacción es de color marrón claro, mientras que en una relación molar FFA:GOH de 3:1 (Foto 6.8.B) es negra. Esto se atribuye a que el catalizador se concentra en la fase de glicerina, por lo que en el primer caso (1:3) el PTSA se diluye en un volumen mayor de glicerina, mientras que en el caso de una relación molar 3:1 el catalizador se concentra en un volumen menor, que en este caso corresponde al 25% del volumen total. Esta mayor concentración acelera las reacciones secundarias e incluso la descomposición de la glicerina en productos oscuros, como ya se corroboró en el punto anterior (Sección 6.3.4.1). Se observó que la mezcla se oscurecía en función del tiempo con los tres catalizadores. Esto significa que la reacción secundaria y el oscurecimiento del sistema de reacción no necesitan la presencia simultánea de FFA y glicerina, y que tienen lugar reacciones de descomposición con cada componente del sistema de reacción.

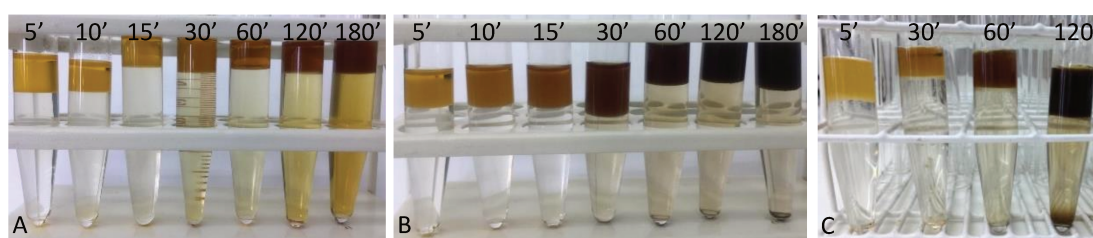


Foto 6.8. Evolución del color de la mezcla reaccionante de la glicerina con ácidos grasos (FFA = 98 %p/p) sin eliminar el agua formada, 0,087 eq/kg de PTSA, 120 °C y FFA:GOH A: 1:3; B: 3:1; C: 1:1.

Para tener una cuantificación de este fenómeno, se calculó la suma de las composiciones (FFA+MG+DG+TG). En la fase rica en FFA, en principio, solo están presentes estos compuestos. Sin embargo, esta suma resultó ser menor del 100 %p/p. La diferencia entre esta cantidad (FFA+MG+DG+TG) y el 100% representan los

compuestos formados debido a las diferentes reacciones secundarias que también conducen al oscurecimiento del medio de reacción.

La Figura 6.17.A muestra la suma de los componentes identificados en función del tiempo obtenido con PTSA 0,087 eq/kg en diferentes proporciones FFA:GOH (los experimentos corresponden a la Figura 6.7.D, E y F). La diferencia entre la cantidad total de (FFA+MG+DG+TG) y el 100% aumenta en función del tiempo, lo que indica el progreso de la formación de subproductos. La mayor cantidad de subproductos se formó en el caso de la relación molar FFA:GOH de 3:1, es decir, en el caso en el que el catalizador se concentró en el volumen más pequeño de la fase de glicerina. La menor formación de subproductos se observó en el caso de la relación molar FFA:GOH de 1:3. Estos resultados concuerdan con los cambios de color en función del tiempo para cada relación molar FFA:GOH. La reacción realizada con FFA:GOH 3:1 es aquella en la que se alcanzó el color negro en menor tiempo, como se muestra en la Foto 6.8.

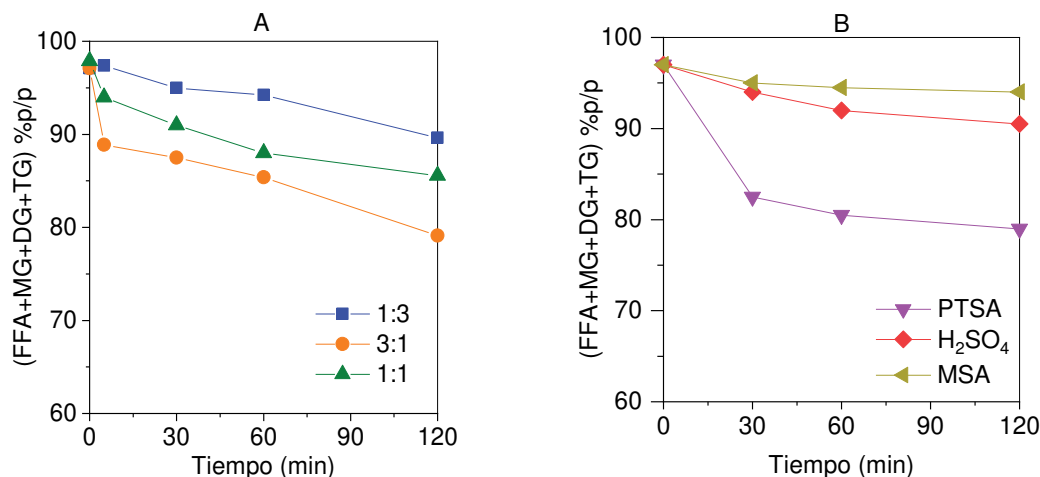


Figura 6.17: Cantidad total de productos identificados en función del tiempo. **A:** PTSA 0,087 eq/kg, 120 °C, a diferentes relaciones molares FFA:GOH; **B:** Concentración de catalizador 0,35 eq/kg, 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1.

La Figura 6.17.B muestra la evolución de la cantidad total de compuestos identificados (FFA+MG+DG+TG) en función del tiempo para los tres catalizadores a 120 °C y una relación molar FFA:GOH de 1:1 y 0,35 eq/kg de concentración. Estos resultados corresponden a los experimentos mostrados en la Figura 6.4. El catalizador con mayor formación de subproductos fue PTSA, mientras que H₂SO₄ y MSA formaron cantidades similares de productos secundarios. Esto se asocia a que el PTSA se concentra preferentemente en la interfase, favoreciendo tanto la degradación de cada

uno de los compuestos como las reacciones entre FFA y GOH. Los datos mostrados en la Figura 6.17 también indican que la cantidad de subproductos aumenta a medida que aumenta la concentración de catalizador, como se puede concluir comparando las curvas para PTSA en una relación FFA:GOH 1:1 en la Figura 6.17.A obtenido con una concentración de catalizador de 0,087 eq/kg, con la curva de PTSA en la Figura 6.17.B obtenida con una concentración de catalizador de 0,35 eq/kg.

El uso de vacío durante la reacción permite operar a temperaturas más bajas como se explicó en la Sección 6.3.1.3. En la Foto 6.4 se mostró la evolución del color de muestras tomadas durante la reacción entre FFA y GOH usando MSA como catalizador (0,35 eq/kg) a 100 °C. Se puede observar que el color permanece en un marrón claro, no volviéndose negro a pesar de alcanzar una acidez final de 0,9 %p/p en 90 min (ver Figura 6.9.B). La cantidad total de (FFA+MG+DG+TG) medida al final de la reacción fue del 95 %p/p. Esta cantidad fue significativamente menor en el caso de PTSA a 80 °C (78 %p/p) y a 120 °C (68 %p/p). Todos estos experimentos se llevaron a cabo en vacío y corresponden a los resultados mostrados en la Figura 6.11. De acuerdo a todos estos resultados, la formación de productos secundarios es mayor cuando se usa PTSA que en el caso de usar MSA como catalizador, cuando se trabaja a mayores relaciones molares FFA:GOH, y cuando se trabaja a mayor temperatura.

6.3.5. Mecanismo de reacción

La cinética de este sistema de reacción es bastante compleja debido al hecho de que hay dos fases líquidas. Una fase tiene baja polaridad y contiene los ácidos grasos libres, y la otra fase de alta polaridad contiene principalmente glicerina. Si se utiliza un catalizador homogéneo como el ácido sulfúrico, se disuelve en la fase glicerina. En algunos casos se han utilizado modelos cinéticos muy sencillos. Anderson et al. [34] y Williamson et al. [35] ajustó la evolución de la concentración de FFA con una expresión cinética de pseudo-primer orden, asumiendo una reacción irreversible. Gole y Gogate [17] ajustaron los datos experimentales utilizando una cinética de segundo orden (primer orden para ambos reactivos). Hamerski et al. [21] presentaron un modelo cinético para esta reacción utilizando un hidróxido doble estratificado de un complejo $MgAlCO_3$, asumiendo una reacción homogénea, y sucesivas etapas de esterificación reversibles, obteniendo un buen ajuste de los datos experimentales.

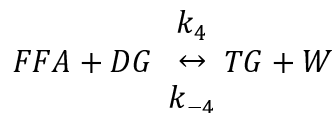
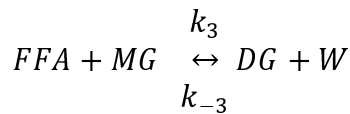
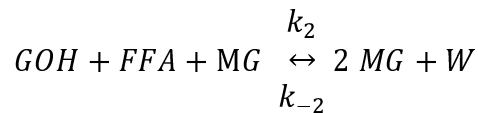
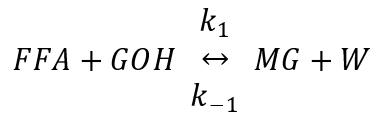
Se propuso un modelo que si bien es simplificado en cuanto se supone pseudohomogéneo, incluye aspectos no considerados en los modelos publicados. El modelo que se estudió es de gran utilidad para proporcionar información sobre el efecto de diferentes variables en las velocidades de reacción.

La Figura 6.4 muestra las importantes diferencias cualitativas entre los comportamientos de los diferentes catalizadores a una determinada concentración, teniendo el H₂SO₄ una evolución de concentraciones de FFA y MG con un período de inducción. Además, la Figura 6.3 muestra que MSA y PTSA a bajas concentraciones también tienen un comportamiento cualitativo similar al mostrado por H₂SO₄. Este comportamiento no se puede reproducir usando un modelo pseudo-homogéneo asumiendo reacciones de segundo orden. De acuerdo con las mediciones de tensión superficial discutidas anteriormente, y la discusión realizada en secciones anteriores, la presencia de componentes tensoactivos aumenta la velocidad de reacción debido a un aumento del área interfacial entre las fases GOH y FFA. Dado que los MG tienen comportamiento tensoactivo, la hipótesis es que al aumentar la concentración de MG, aumenta la velocidad de reacción. Este es un mecanismo similar a las reacciones autocatalíticas, en las que el producto aumenta la velocidad de reacción. Por tanto, se incluye en el sistema de reacción una reacción con una estequiometría similar a la de la reacción autocatalítica, como sigue:



Con W: Agua.

El sistema de reacciones en estudio será entonces:



Se tomara un sistema de pseudo-segundo orden cuyas expresiones de las velocidades de reacción son:

$$\begin{aligned} \frac{dFFA}{dt} &= -k_1.FFA.GO H + k_{-1}.MG.W - k_2.FFA.GO H.MG + k_{-2}.MG.MG.W \\ &\quad - k_3.FFA.MG + k_{-3}.DG.W - k_4.DG.FFA + k_{-4}.TG.W \\ \frac{dGOH}{dt} &= -k_1.FFA.GO H + k_{-1}.MG.W - k_2.FFA.GO H.MG + k_{-2}.MG.MG.W \\ \frac{dMG}{dt} &= k_1.FFA.GO H - k_{-1}.MG.W + k_2.FFA.GO H.MG - k_{-2}.MG.MG.W - k_3.FFA.MG \\ &\quad + k_{-3}.DG.W \\ \frac{dDG}{dt} &= k_3.FFA.MG - k_{-3}.DG.W - k_4.DG.FFA + k_{-4}.TG.W \\ \frac{dTG}{dt} &= -k_4.DG.FFA + k_{-4}.TG.W \\ \frac{dW}{dt} &= k_1.FFA.GO H - k_{-1}.MG.W + k_2.FFA.GO H.MG - k_{-2}.MG.MG.W + k_3.FFA.MG \\ &\quad - k_{-3}.DG.W + k_4.DG.FFA - k_{-4}.TG.W \end{aligned}$$

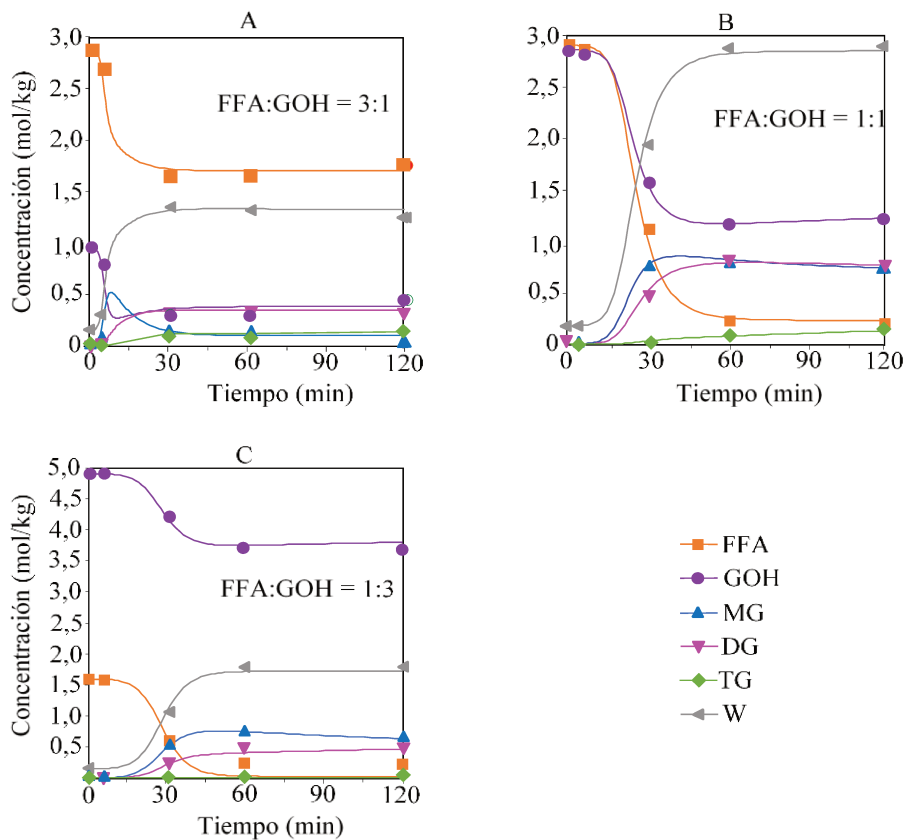


Figura 6.18: Distribución de productos obtenidos con 0,087 eq/kg PTSA, a 120 °C, relación molar FFA:GOH **A:** 3:1; **B:** 1:1; **C:** 1:3. Las líneas corresponden al ajuste con el modelo cinético, mientras que los símbolos son las medidas experimentales.

En estas ecuaciones, los nombres de los compuestos representan sus respectivas concentraciones en mol/kg. Los resultados experimentales que se muestran en la Figura 6.4 se han modelado utilizando este conjunto de ecuaciones diferenciales, estimando las constantes cinéticas que minimizan los errores. Las concentraciones se expresan en moles por kg de mezcla de reacción (FFA+GOH).

Los resultados obtenidos con PTSA a diferentes relaciones molares FFA:GOH se presentan en La Figura 6.18. Puede verse que el ajuste del modelo es muy bueno, reproduciendo el período de inducción observado experimentalmente.

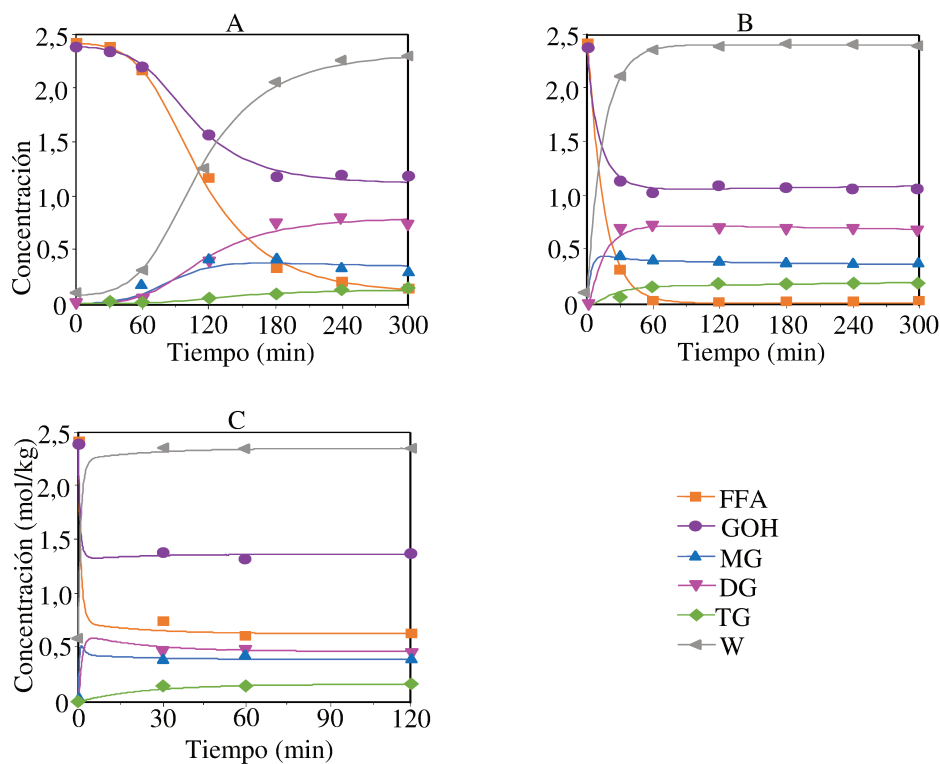


Figura 6.19: Distribución de productos obtenidos con: **A:** H₂SO₄; **B:** MSA; **C:** PTSA, a 120 ° C, relación molar FFA:GOH 1:1, concentración de catalizador 0,35 eq/kg. Las líneas corresponden al ajuste con el modelo cinético, mientras que los símbolos son las medidas experimentales.

La Figura 6.19 muestra como ejemplo los resultados obtenidos con H₂SO₄, MSA y PTSA a 0,35 eq/kg, con el fin de comparar dos comportamientos diferentes y la capacidad del modelo cinético para representar los datos. Las líneas punteadas incluidas en esta figura corresponden a la estimación realizada con el modelo cinético y los puntos corresponden a la medición experimental. El modelo ajusta los resultados experimentales en los tres casos. Es muy interesante el hecho de que el período de

inducción claramente observado en el caso de H₂SO₄ como catalizador, se ajusta bien mediante una etapa autocatalítica en la que los MG actúan aumentando la velocidad de reacción debido a su propiedad tensoactiva. Este hecho es la contribución más importante de este modelo cinético, dando una evidencia indirecta adicional de este concepto.

Las constantes cinéticas obtenidas en los experimentos mostrados en la Figura 6.18 y la Figura 6.19 se presentan en la Tabla 6.8. La constante cinética para la reacción directa de la formación de MG (k_1) aumenta en el orden H₂SO₄, MSA y PTSA. Se puede observar un comportamiento similar comparando las constantes cinéticas para las reacciones de formación de DG (k_3) y formación de TG (k_4). El PTSA tiene los valores más altos en todos los casos. Por otro lado, la constante cinética en la dirección directa para el paso autocatalítico (k_2) tiene el valor más alto en el caso de la H₂SO₄, que como ya se explicó, tiene la actividad más baja debido a su tendencia a ubicarse en la fase de glicerina. Las constantes cinéticas directas disminuyen a medida que disminuye la relación FFA:GOH, de acuerdo con la discusión anterior. A medida que aumenta la concentración de GOH, el catalizador tiene una mayor dilución y, en consecuencia, hay menores velocidades de reacción.

Tabla 6.8: Constantes cinéticas de la reacción de esterificación de glicerina con ácidos grasos obtenidas a 120°C y reflujo de agua.

Constantes cinéticas	H ₂ SO ₄	MSA	PTSA	PTSA 0.087 eq/kg		
	FFA/GOH = 1:1 - 0,35 eq/kg			3:1	1:1	1:3
k_1	5,39e-05	2,06e-02	3,88e-02	5,68e-04	5,69e-04	3,02e-05
k_{-1}	1,08e-03	1,53e-04	2,71e-03	2,19e-01	2,09e-03	3,30e-04
k_2	1,63e-02	2,92e-03	2,14e-04	4,80e-01	4,89e-02	4,68e-02
k_{-2}	4,01e-05	1,01e-03	7,76e-02	2,54e-02	1,57e-05	1,07e-03
k_3	1,82e-02	6,87e-02	7,62e-02	1,02e-01	3,88e-02	7,15e-02
k_{-3}	1,56e-04	2,59e-04	1,60e-02	3,52e-02	8,00e-04	1,35e-05
k_4	1,96e-03	1,23e-02	1,46e-01	3,01e-02	5,92e-03	3,94e-05
k_{-4}	1,06e-04	9,86e-05	1,59e-01	9,34e-02	5,76e-05	3,48e-02

Debe enfatizarse que este es un modelo simplificado que se usa solo para verificar la hipótesis del comportamiento autocatalítico dada por los MG, y no proporciona una imagen completa del sistema de reacción. Aunque el modelo puede reproducir los resultados experimentales con buena precisión, carece de consistencia

porque la constante de equilibrio estimada para cada reacción como la relación de la constante cinética directa e inversa, cambia al cambiar el catalizador o la relación molar FFA:GOH. Por lo tanto, este modelo requiere un mayor refinamiento para obtener una buena representación de este sistema. Sin embargo, representa una mejora con respecto a todos los modelos reportados hasta ahora en la literatura para este sistema de reacción.

6.4. CONCLUSIONES

Los tres ácidos utilizados en este Capítulo para catalizar la reacción entre los ácidos grasos libres y la glicerina son activos. Sin embargo, las actividades de PTSA y MSA son mucho más altas que las de H_2SO_4 , siendo posible disminuir la acidez de los FFA puros muy por debajo del 10 %p/p usando concentraciones bajas de estos dos ácidos, a temperaturas del orden de 120 °C o menores. .

Los tres catalizadores muestran un período de inducción en el que la velocidad de reacción es baja y luego se acelera. Esto es particularmente notable en el caso de H_2SO_4 , y se observa con PTSA y MSA solo a baja concentración de catalizador o bajas temperaturas. Esto se explicó teniendo en cuenta la tensión superficial de la fase glicerina conteniendo el catalizador. A medida que la tensión superficial disminuye, el área interfacial aumenta y, en consecuencia, la reacción entre FFA y GOH se produce más rápidamente. Los ácidos orgánicos usados en este estudio como catalizadores tienen una cabeza no polar y por lo tanto tienen tendencia a acumularse en la interfase, siendo más activos que el H_2SO_4 que se concentra en la mayor parte de la fase de glicerina. Los MG también actúan como tensoactivos y, a medida que avanza la reacción, la formación de MG conduce a una disminución de la tensión superficial. El efecto final del aumento de la concentración de MG es el aumento de la velocidad de reacción. Este fenómeno explica el período de inducción observado en este sistema de reacción. Se utilizó un modelo cinético que incluye este paso autocatalítico para ajustar los datos experimentales, obteniendo muy buen ajuste de los resultados.

La relación molar FFA:GOH juega un papel clave. Por un lado, cambiando esta relación es posible obtener más MG o TG dependiendo de las necesidades de la biorrefinería. Los MG se ven favorecidos en proporciones bajas de FFA:GOH. Por otro lado, el catalizador se concentra principalmente en la fase rica en glicerina. Por lo tanto,

a medida que aumenta la cantidad de esta fase, más diluido está el catalizador en el sistema. Este hecho tiene dos consecuencias: menores velocidades de reacción para la esterificación de glicerina y menor formación de subproductos. Los productos de degradación se forman también a partir de glicerina en contacto con el catalizador sin necesidad de la presencia de FFA.

La formación de subproductos se ve favorecida por una mayor concentración de catalizador, temperaturas más altas y relaciones molares FFA:GOH más altas, siendo el PTSA el catalizador que conduce a una mayor cantidad de compuestos indeseables en el producto a una concentración de catalizador determinada. Es posible disminuir este problema trabajando al vacío a bajas temperaturas (100 °C) con baja concentración de catalizador. Trabajando al vacío es posible obtener una conversión prácticamente completa de los FFA formando bajas cantidades de productos secundarios.

Otra conclusión importante es que el catalizador se concentra en la fase de glicerina. Este hecho tiene dos consecuencias muy importantes. Por un lado, no se necesita un tratamiento especial para purificar el producto (mezcla de acilglicéridos), y en segundo lugar, *el catalizador se puede reutilizar reciclando la fase de glicerina* al reactor, que podría operar al vacío para eliminar el agua favoreciendo la conversión de la FFA.

6.5. REFERENCIAS

- [1] M. L. Pisarello, B. Dalla Costa, G. Mendow, C. A. Querini. *Fuel Processing Technol* 91 (2010) 1005–1014.
- [2] S. Chongkhong, C. Tongurai, P. Chetpattananondh. *Biomass Bioenergy* 31 (2007) 563–568.
- [3] J.M. Marchetti, A. F. Errazu, A.F. *Biomass Bioenergy* 32 (2008) 892–895.
- [4] G. G. Kome, K. A. Temu, T. K. Lee. *Adv. Chem. Eng. Sci.* 3 (2013) 248–254.
- [5] O. Aboelazayem, M. Gadalla, B. Saha. *Renewable Energy* 143 (2019) 77-90.
- [6] M. Berrios, J. Siles, M.A. Martín, A. Martín. *Fuel* 86 (2007) 2383–2388.
- [7] S. Vilas Ghadge, H. Raheman. *Biomass and Bioenergy* 28 (2005) 601-608.
- [8] D. Aranda, R. Santos, N. Tapanes, A. Dantas Ramos, O. Antunes. *Catalysis Letters* 122 (2008) 20-25.
- [9] Q. Tu, M. Lu, G. Knothe. *Journal of Cleaner Production* 162 (2017) 504-511.
- [10] G. G. Kombe. *Biofuels* 6 (2015) 31-36.
- [11] A.C. Bhattacharyya, D.K. Bhattacharyya. *JAOCS* 64 (1987) 128-131.
- [12] A. Islam, H. R. F. Masoumi, S. H. Teo, Y. Abdollahi, J. Janaun, Y. H. Taufiq-Yap. *Fuel* 174 (2016) 133–139.
- [13] S. H. Teo, A. Islam, H. R. F. Masoumi, Y. H. Taufiq-Yap, J. Janaun, E. S. Chan. *Renewable Energy* 111 (2017) 892-905.
- [14] M. D. Supardan, Y. Adisalamun, Y. M. Lubis, Y. Annisa, Y., Satriana, W. A. Mustapha. *Pertanika Journal of Science & Technology* 25 (2017) 1203-1210.
- [15] L. Dosso, P. J. Luggren, J. I. Di Cosimo. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 97 (2020) 551-561.
- [16] M. S. Alvarez Serafini, S. G. M. Tonetto. *International Journal of Chemical Reactor Engineering* 17 (2019) 1-13.
- [17] L. V. Gole, P. R. Gogate. *Fuel Processing Technology* 118 (2014) 110–116.
- [18] C.O. Åkerman, Y. Gabera, N.A. Ghanid, M. Lämsäe, R. Hatti-Kaula. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 72 (2011) 263-269.

- [19] A. Coteron, M. Martinez, J. Aracil. *J. Org. Chem.* 75 (1998) 657-660.
- [20] T.A. Isbell, R. Kleiman, A. Beth. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71 (1994) 169-174.
- [21] F. Hamerski, M.A. Prado, V.R. da Silva, F.A. Pedersen Voll, M.L. Corazza. *Reac. Kinet. Mech. Cat.* 117 (2016) 253-268.
- [22] J. Showell, D. Swern, W.R. Noble. *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* 33 (1968) 2697-2704.
- [23] C.H. Zhou, J.N. Beltramini, G.Q. Lu. *Chem. Soc. Rev.* 37 (2008) 527-549.
- [24] W.-W. Cheng, G.-Q. Liu, L.-Q. Wang, Z.-S. Liu. *Rev. Food Sci. Food Saf.* 16 (2017) 263-281.
- [25] E. Bognár, G. Hellner, A. Radnóti, L. Somogyi, Z. Kemény. *Hung. J. Ind. Chem.* 46 (2018) 67-71.
- [26] I. Diaz, F. Mohino, J. Pérez-Pariente, E. Sastre. *Applied Catalysis A: General* 205 (2001) 19–30.
- [27] Y. Pouilloux, S. Metayer, J. Barrault. *Chemistry* 3 (2000) 589–594.
- [28] J.W. Eaton, D. Bateman, S. Hauberg, R. Wehbring. GNU Octave Version 5.1.0 Manual: a High-level Interactive Language for Numerical Computations. URL (2019) <https://www.gnu.org/software/octave/doc/v5.1.0/>.
- [29] J.P. Guthrie. *Can. J. Chem.* 56 (1977) 2342-2354.
- [30] Secretaría de Energía. COMBUSTIBLES. Resolución 6/2010. URL <http://servicios.infoleg.gov.ar/infolegInternet/anexos/160000-164999/163911/norma.htm>
- [31] K. Suwannakarn, E. Lotero, J. G. Goodwin Jr., Changqing Lu. *Journal of Catalysis* 255 (2008) 279–286.
- [32] P. Felizardo, J. Machado, D. Vergueiro, M. J. N. Correia, J. Pereira Gomes, J. M. Bordado. *Fuel Processing Technology* 92 (2011) 1225–1229.
- [33] E. Villarruel, J. F. Filho, J. Almeida, P. Romano, D. Aranda, *Chemical Engineering & Technology*. Manuscript ID: ceat.202100336. (En corrección).
- [34] E. Anderson, M. Addy, Q. Xie, H. Ma, Y. Liu, Y. Cheng, N. Onuma, P. Chen, R. Ruan. *Bioresour. Technol.* 200 (2016) 153-160.
- [35] S.T. Williamson, K. Shahbaz, F.S. Mjalli, I.M. AlNashef, M.M. Farid. *Renew. Energy* 114 (2017) 480-488.



CAPÍTULO 7

ESTERIFICACIÓN DE GLICERINA CON ÁCIDOS GRASOS: CATÁLISIS HETEROGÉNEA

En este capítulo se estudia la esterificación de glicerina con ácidos grasos libres utilizando catalizadores sólidos ácidos, del tipo SBA-15 funcionalizados con grupos mercaptopropil-trimetoxi-silano. Se analiza el efecto de diferentes variables como la temperatura, la concentración y tipo de catalizador, y las distintas relaciones molares de los reactivos.

7.1 INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior se estudió la esterificación de glicerina con ácidos grasos usando catalizadores líquidos.

La utilización de catalizadores heterogéneos en reemplazo de los minerales líquidos actualmente empleados, tiene como objetivo la sustitución de estos peligrosos y corrosivos ácidos, así como también simplificar las etapas de purificación.

En la introducción se han mencionado varios tipos de sólidos ácidos en la reacción de glicerólisis, sin embargo, en esos estudios, los objetivos estuvieron relacionados en su gran mayoría con producir fracciones con altas conversiones a monoglicéridos, minimizando la producción de triglicéridos. El objetivo que se plantea en esta tesis es lograr la conversión de los ácidos grasos, sin ser relevante la selectividad a monoglicéridos. Esto otorga un grado de libertad muy importante a fin de diseñar estos procesos.

La fuerza ácida requerida para catalizar la esterificación es alta, por lo que los ácidos fuertes como los líquidos ya mencionados, o los sólidos de alta acidez son adecuados. Si bien se han ensayado zeolitas microporosas, se ha encontrado que los problemas difusivos aumentan la selectividad a monoglicéridos, y desfavorecen la formación de di- y triglicéridos [1]. Por otro lado, se estudiaron zeolitas Y con y sin proceso de dealuminización, encontrando una mejora muy importante en la conversión, llegando a 98 % en la zeolita dealuminizada [2]. Este resultado sugiere que no sólo la fuerza ácida, sino el tipo y densidad de sitios, puede jugar un papel muy importante en la actividad de los catalizadores para esta reacción, además de la estructura porosa. Los catalizadores meso y macroporosos son por lo tanto *a priori*, adecuados para utilizar en esta reacción.

En el caso de las sílices mesoporosas tipo SBA-15, la acidez puede modificarse por funcionalización con grupos mercaptopropil-trimetoxi-silano (MPTMS), los cuales presentan una acidez fuerte. En la bibliografía estos materiales han sido poco estudiados en la reacción de esterificación de glicerina con ácidos grasos.

Hermida et al. [3-5] estudiaron el uso de SBA-15 funcionalizadas con grupos MPTMS en la síntesis de monoglicéridos a partir de ácido láurico y glicerina. Reportaron una conversión de ácidos grasos mayor al 90 % con una selectividad a MG del 70 % para una carga del 5 %p/p de catalizador, relación molar FFA:GOH 1:4, 160 °C y vacío a las 6 h con un catalizador sintetizado con 1 ml de MPTMS cada gramo de SBA-15.

El estudio de estos catalizadores también fue abordado para comparar su actividad con la sílice funcionalizada SO₃H-MCM-41, en la esterificación de la glicerina con el ácido láurico y palmítico para la síntesis de MG [6-8]. Alrouh et al. [6] ensayaron estos catalizadores para reducir la acidez del aceite de orujo de oliva, el cual se consideró compuesto solo de ácido oleico a 110 °C, FFA:GOH 1:6, 2 %mol (respecto al ácido oleico) de grupos sulfónicos durante 24 h. Reportaron selectividades a MG del 40 % y conversiones del ácido graso del 90 % con SO₃H-MCM-41, mientras que con la SO₃H-SBA15 fue 12 y 90 % respectivamente. Por otro lado, Jeenpadiphat et al. [7] en iguales condiciones reportaron rendimientos máximos a TG del 30,5 % con conversiones del ácido oleico del 81 % en 360 min con SO₃H-MCM-41; y con SO₃H-SBA15 del 37,8 y 88,8 % respectivamente a los 120 min.

Las sílices mesoporosas tipo SBA también han sido estudiadas en algunos trabajos, incluyendo diferentes grupos ácidos, como el ácido silicotúngstico [8], 12-tungstofosfórico [10] o sulfato-zirconia [1]. Generalmente, se ha trabajado a temperaturas por encima de 100 °C, hasta aproximadamente 200 °C.

En general en los trabajos antes citados, no se realiza un estudio detallado de la reacción, limitándose al uso de un único tipo de ácido graso, sin mencionar rendimientos globales de la reacción y la presencia de reacciones secundarias. Tampoco se han abordado los mecanismos de desactivación de los catalizadores sólidos, habiéndose realizado en algunos pocos casos, ensayos de reutilización en pocos ciclos a fin de verificar la estabilidad de los materiales.

Además, en estos trabajos preliminares se puede ver que el enfoque convencional requiere condiciones severas y tiempos de reacción más largos, lo que hace que la glicerólisis sea una operación intensiva en energía.

Por lo tanto, se ensayaron los sólidos ácidos SO₃H-SBA15 de manera tal de encontrar las condiciones óptimas de reacción que maximicen los rendimientos, y también reduzcan los requerimientos de energía y el costo de procesamiento.

7.2. EXPERIMENTAL

7.2.1. Reacción de esterificación

Las experiencias de reacción se llevaron a cabo en forma batch en un reactor de vidrio, en un baño termostatzado a diferentes temperaturas (120 – 160 °C), con agitación magnética aplicando un vacío de 60 cmHg durante las primeras 2 horas y luego vacío total (76 cmHg). Se tomaron alícuotas de muestras en el tiempo a las cuales se les realiza una etapa de centrifugado a fin de separar el catalizador y la glicerina, de la fase oleosa que contiene los ácidos grasos y los glicéridos formados para su posterior análisis y caracterización.

Se ensayaron tres catalizadores sólidos ácidos, del tipo SBA-15 funcionalizados con grupos mercaptopropil-trimetoxi-silano (MPTMS) a fin de regular su acidez. El MPTMS se agregó de modo de tener cargas del 5, 10 y 15 % en moles de grupos funcionales manteniendo constante los moles de silicio agregados. Los materiales fueron rotulados como HSO₃(X)SBA15 con el valor entre paréntesis igual al porcentaje teórico de grupos sulfónicos. En la Tabla 7.1 se resumen las propiedades texturales y la acidez de los catalizadores sintetizados. El catalizador se utilizó en concentraciones de 0,6; 1,2; 2 y 3 %p/p referida a la masa total de la mezcla reaccionante.

Tabla 7.1: Propiedades texturales y acidez de los catalizadores SBA15 funcionalizados con grupos sulfónicos.

Catalizador	S/Si (% mol)	S _{BET} (m ² /g)	V _p (cm ³ /g)	D _{pBaB} (nm)	Acidez (mmol/g)	Sitios ácidos (1/nm ²)
HSO ₃ (5%)SBA15	3,8	498	1,07	10	0,34	0,41
HSO ₃ (10%)SBA15	8,5	681	1,38	10	0,92	0,81
HSO ₃ (15%)SBA15	12,1	709	0,88	7,9	1,44	1,22

Como materias primas se utilizaron: ácidos grasos de soja puros ($A > 98\%$) producidos en el laboratorio y glicerina anhidra $99,5\%$ proanálisis, marca Cicarelli.

La reacción fue evaluada a distintas temperaturas comprendidas en el rango de 120 a $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ con incrementos de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, y también se varió la relación molar (RM) de reactivos FFA:GOH $1:1$, $3:1$ y $1:3$.

7.2.2. Toma de muestra y análisis

Se tomaron alícuotas de muestras en el tiempo, prolongándose la reacción hasta 300 min . La muestra se centrifugó de manera tal de eliminar el catalizador y la glicerina. A la fase oleosa (ácidos grasos y glicéridos formados), que queda en la parte superior, se le analizaron las siguientes propiedades para determinar el grado de avance de la reacción:

- Ácidos grasos libres: siguiendo la norma UNE-EN 14104, la cual prevé la disolución de una cantidad conocida de la muestra y posterior titulación. Los ácidos grasos se expresan como gramos de ácido oleico por cada 100 gramos de muestra.
- Contenido de glicéridos formados (mono- (MG), di- (DG) y triglicéridos (TG)): se analiza mediante cromatografía gaseosa según lo descrito por las normas ASTM D-6584 y UNE-EN 14105 adecuadas al rango de concentraciones requeridas en este caso.

7.2.3. Caracterización del catalizador

El catalizador luego de la reacción se lavó con acetona, filtró y secó en estufa, y se le determinó:

- *Contenido de Si y S*: mediante fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (ED-XRF), usando un equipo Shimadzu, modelo EDX-720.
- *Acidez*: La cantidad de sitios ácidos se determinó mediante valoración potenciométrica con butilamina empleando acetonitrilo como solvente, usando un electrodo de LiCl saturado en etanol conectado a un medidor de pH Metrohm 913. Normalmente, se suspendieron 30 mg de sólido con 40 ml

de acetonitrilo en un Erlenmeyer de 50 ml con agitación vigorosa y se mantuvieron hasta estabilización. Luego, se bombeó una solución de butilamina 0,01 M en acetonitrilo a una velocidad de 0,10 ml/min registrando el potencial hasta que los valores alcanzaron una meseta clara. El punto de equivalencia se determinó como la intersección de la tangente en el punto de inflexión y la tangente en la meseta final de la curva potencial vs volumen.

7.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.3.1. Reacción de esterificación

Se evaluó en primer lugar la actividad del catalizador sólido SBA-15 funcionalizado con 5 %p/p de grupos sulfónicos, en las condiciones optimizadas en el capítulo de catálisis homogénea (Capítulo 6). En las mismas condiciones se realizaron otras dos experiencias, una en ausencia de catalizador y otra con PTSA. La carga de catalizador fue de 0,002 eq/kg referido a la mezcla de reactivos, lo cual representó 0,6 %p/p para HSO₃(5%)SBA15 y 0,5 %v/p para el PTSA. La cantidad de sitios ácidos en ambos casos fue la misma (0,003 eq/kg) a fin de comparar la actividad intrínseca del catalizador sólido con la del líquido. Las condiciones de las experiencias fueron 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, agitación magnética y vacío en etapas (2 h a 60 cmHg y luego a 76 cmHg).

En la Figura 7.1 se muestra el avance de la reacción, expresada en términos de la desaparición de los ácidos grasos, para las reacciones catalizadas por PTSA y HSO₃(5%)SBA15 en comparación con la autocatalítica. Se puede ver que en estas condiciones de reacción el catalizador sólido no mostró una actividad apreciable, siendo el aporte de la reacción autocatalítica la responsable del avance de la reacción. Se puede observar que frente a las mismas condiciones el catalizador homogéneo es mucho más eficiente que el heterogéneo, llegando a una conversión del 96 % a las 2 h, valor muy alto comparado al 10 % que se alcanza con la reacción autocatalítica.

El catalizador sólido en estas condiciones no presenta actividad, lo cual puede deberse al menos en parte, a que el mismo se ubica en la fase glicerina. Como ya se

mencionó en el Capítulo 6 la reacción ocurre en la interface glicerina-ácido graso. Dado que éste se ubica en el seno de la glicerina y no queda accesible a los ácidos grasos, el avance de la reacción ocurre sólo por el aporte de la autocatálisis.

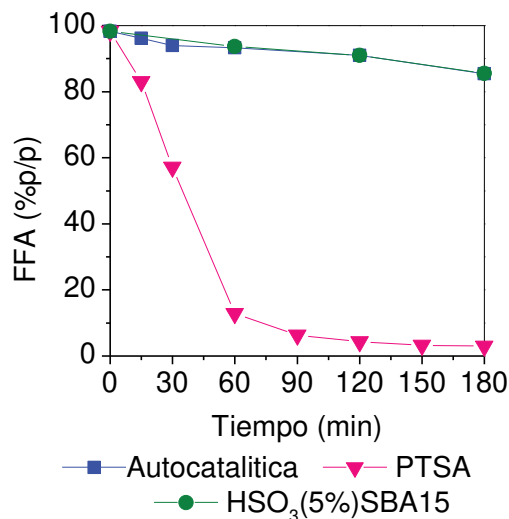


Figura 7.1. Evolución de la acidez en la reacción de esterificación de glicerina con ácidos grasos. Relación molar FFA:GOH 1:1, 120 °C, en vacío (2 h a 60 cmHg y luego a 76 cmHg) con 0,002 eq/kg de catalizador: (▼) PTSA, (●) HSO₃(5%)SBA15 y sin agregado de catalizador (■).

7.3.1.1. Efecto del catalizador y la temperatura de reacción

Debido a que en las condiciones anteriores el catalizador sólido no mostró actividad apreciable se duplicó la carga del catalizador, y se ensayaron los catalizadores con mayor cantidad de grupo ácidos. También se realizaron experiencias a mayor temperatura, tanto para favorecer la cinética como para aumentar la solubilidad mutua de los compuestos glicerina y ácidos grasos, que son muy poco miscibles entre sí. La mayor temperatura también favorece la transferencia de masa entre las fases del sistema.

➤ Efecto de la carga y acidez del catalizador. Resultados preliminares

Se evalúa la actividad de dos muestras de SBA-15 funcionalizadas con distintas concentraciones de grupos sulfónicos (5 y 10 %) con el doble de carga que en las experiencias anteriores. Es decir, se usa 1,2 %p/p de carga de catalizador, 120 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, agitación magnética y vacío en dos etapas (2 h a 60 cmHg y luego 76 cmHg).

En la Figura 7.2.A se muestra el efecto de duplicar la carga del catalizador $\text{HSO}_3(5\%)\text{SBA15}$ en comparación con la autocatálisis. Se observa que en el período de tiempo estudiado el catalizador sólido no mostró una conversión apreciable, siendo nuevamente el aporte de la autocatálisis el responsable de la disminución de la acidez.

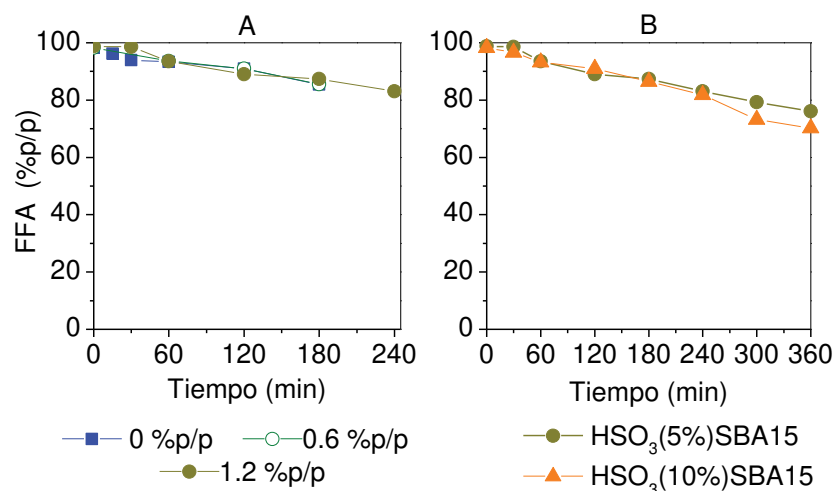


Figura 7.2. Evolución de la acidez en la reacción de esterificación de glicerina con ácidos grasos. Relación molar FFA:GOH 1:1, 120 °C, en vacío (2 h a 60 cmHg y luego a 76 cmHg). **A:** Efecto de la concentración del catalizador. Catalizador $\text{HSO}_3(5\%)\text{SBA15}$. **B:** Efecto de la concentración de sitios ácidos. Carga de catalizador: 1,2 %p/p.

En la Figura 7.2.B se muestra la evolución de la acidez en el tiempo obtenida usando 1,2 %p/p del catalizador sólido y con diferente cantidad de sitios ácidos. En la Tabla 7.1 se reporta la acidez medida de los catalizadores, la cual fue de 0,34 mmol/g para $\text{HSO}_3(5\%)\text{SBA15}$ y 0,92 mmol/g para $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$. A pesar de casi triplicarse la acidez al pasar de un sólido al otro, el comportamiento mostrado fue similar entre ambos, viendo una leve diferencia en la actividad a largos tiempos de reacción. Nuevamente prima el aporte de la reacción autocatalítica. Estos resultados sugieren o bien que estos catalizadores no presentan actividad, o que el hecho de acumularse en la fase glicerina limita fuertemente la cinética de la reacción.

➤ *Efecto de la temperatura de reacción*

Para evaluar el efecto de la temperatura se ensayaron los tres catalizadores ($\text{HSO}_3(5\%)\text{SBA15}$; $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$ y $\text{HSO}_3(15\%)\text{SBA15}$) a 140 y 160 °C en forma comparativa con la reacción autocatalítica. Las condiciones fueron 1,2 %p/p de carga del catalizador, relación molar FFA:GOH 1:1, agitación magnética y vacío en dos etapas (2 h a 60 cmHg y luego 76 cmHg).

En la Figura 7.3 se muestran los resultados de estos ensayos, pudiéndose observar que efectivamente al aumentar la temperatura se incrementa la velocidad de reacción. A 140 °C (Figura 7.3.A) no se observaron cambios significativos al trabajar con y sin catalizador, siendo las conversiones obtenidas a los 360 min de 52,71 y 53,18 % para la reacción de autocatálisis y en la que se empleó HSO₃(5%)SBA15 respectivamente, y de 59,96 % para HSO₃(10%)SBA15 y 64,03 % para HSO₃(15%)SBA15. Por otro lado, al trabajar a 160 °C (Figura 7.3.B) el catalizador HSO₃(5%)SBA15 recién después de 240 min de reacción presentó una leve actividad. Los catalizadores HSO₃(10%)SBA15 y HSO₃(15%)SBA15 mostraron actividad similares entre si y significativamente mayores, siendo de 94,86 y 92,68 % respectivamente a los 360 min.

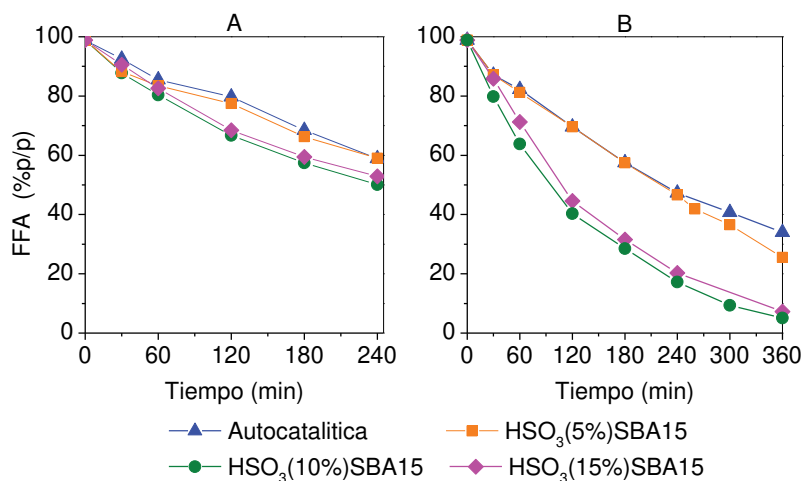


Figura 7.3. Evolución de la acidez para la reacción de esterificación de glicerina con ácidos grasos. Efecto de la temperatura. Relación molar FFA:GOH 1:1, en vacío (2 h a 60 cmHg y luego a 76 cmHg). Catalizador: (■) HSO₃(5%)SBA15; (●) HSO₃(10%)SBA15; (◆) HSO₃(15%)SBA15; (▲) Autocatalítica. A: 140°C y B: 160°C.

Los catalizadores SBA-15 con cargas del 10 % y 15 % presentaron similar actividad para la reacción de esterificación. Sin embargo, con el catalizador con 10 % de grupos sulfónicos se observaron conversiones levemente mejores que para el que contiene 15 %. Este comportamiento se explica teniendo en cuenta la caracterización textural de los catalizadores, en la cual se vio que el caso del catalizador con la mayor carga de grupos sulfónicos (15%) el ordenamiento de la estructura se modificó. Como se mostró en la Tabla 7.1, las HSO₃(15%)SBA15 poseen un menor volumen de poro y menor diámetro de poros, lo que podría ser la causa de la menor conversión obtenida con este catalizador.

Paralelamente, se siguió la aparición de los glicéridos y desaparición de los ácidos grasos en el tiempo en las reacciones catalizadas con 1,2 %p/p de $\text{HSO}_3(15\%)\text{SBA15}$, a 140 °C y 160 °C, relación molar FFA:GOH de 1:1 y vacío en dos etapas como en las experiencias anteriores.

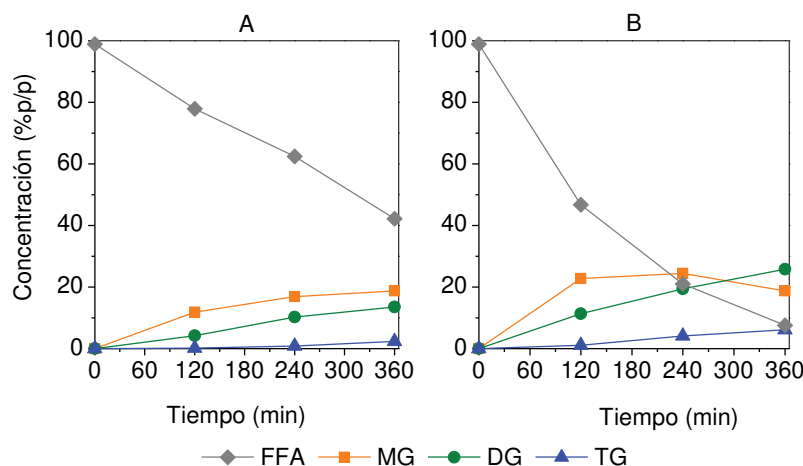


Figura 7.4: Distribución de productos obtenidos a **A:** 140 °C; **B:** 160 °C, con 1,2 %p/p $\text{HSO}_3(15\%)\text{SBA15}$, relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

Como se observa en la Figura 7.4, por tratarse de una reacción secuencial, en primera instancia se produce la formación del monoglicérido, luego a expensas de éste se forma el diglicérido y posteriormente el triglicérido. La concentración de MG pasa por un máximo, mientras que la de los DG y TG crecen (Figura 7.4.B). A 140 °C la reacción evoluciona más lento. Analizando el comportamiento del sistema a similar conversión, por ejemplo a 360 min para 140 °C y 150 min para 160 °C, la distribución de productos es la misma, lo que indica que el mecanismo es exactamente el mismo a ambas temperaturas.

La evaluación de los productos secundarios se realizó con el mismo método que en el caso de catálisis homogénea. Se calculó como la diferencia entre 100 y la suma de las concentraciones de los compuestos (FFA+MG+DG+TG). La diferencia se hace más notable con la temperatura y el avance de la reacción. Por ejemplo, a 140 °C la sumatoria de compuestos identificados en la mezcla de reacción fue de 80% y a 160 °C fue de 67% a los 360 min. Una diferencia importante con lo observado en las reacciones con catálisis homogénea es que la mezcla reaccionante no se pone oscura, tal como se mostró en el Capítulo 6. Esto indica que la naturaleza de los compuestos secundarios no

es exactamente la misma al llevar a cabo la reacción con catálisis homogénea o heterogénea.

En la Figura 7.5 se muestra la distribución de los productos para los distintos catalizadores a similares conversiones (~50%) para la reacción a 160 °C. Esto corresponde a las muestras tomada a los 240 min para HSO₃(5%)SBA15 y 120 min para HSO₃(10%)SBA15 y HSO₃(15%)SBA15 (ver Figura 7.3.B). Para estos dos últimos catalizadores se obtienen perfiles similares, siendo el MG el producto principal y el TG el que se obtiene en menores concentraciones, por debajo de 1,2 %p/p. En la reacción catalizada con HSO₃(5%)SBA15, se obtuvo menor concentración de MG y aumentó la del DG y TG.

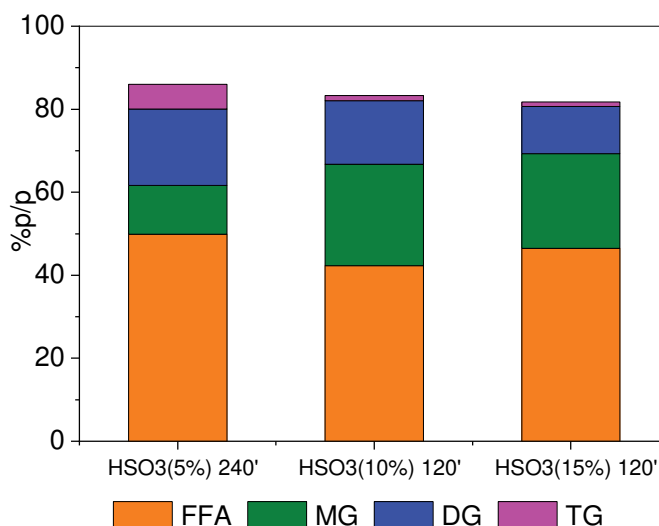


Figura 7.5: Distribución de productos a igual conversión (50%), reacción a 160 °C con una relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

En conclusión, teniendo en cuenta este conjunto de resultados, se selecciona como carga óptima la que corresponde a la relación de S/Si del 10% (HSO₃(10%)SBA15) y una temperatura de 160°C. Los estudios que se presentan a continuación fueron realizados con estos parámetros ya optimizados.

➤ *Efecto de la carga del catalizador*

Manteniendo la temperatura de reacción en 160 °C, se varió la concentración del catalizador HSO₃(10%)SBA15 entre 1,2; 2 y 3 %p/p. Las experiencias se realizaron con una relación molar FFA:GOH de 1:1 y aplicando vacío como en las experiencias anteriores .

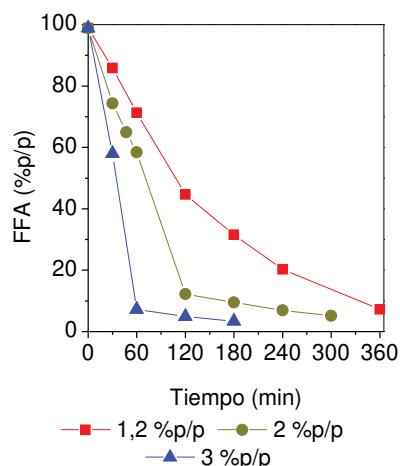


Figura 7.6: Concentración en el tiempo de los ácidos grasos, reacción a 160°C con una relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 7.6. Puede notarse que existe un efecto significativo de la concentración de catalizador sobre la velocidad de reacción. Para una carga de catalizador del 3 %p/p se obtuvo un valor de conversión del 92,6 % a los 60 min, valor alcanzado a los 180 min (90,3 %) con 2 %p/p y a los 360 min (90,54 %) con 1,2 %p/p.

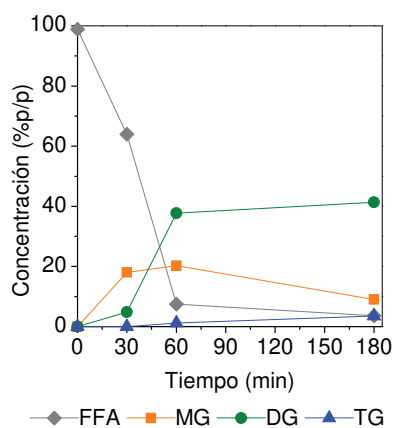


Figura 7.7: Distribución de productos obtenidos a 160 °C, con 3 %p/p HSO₃(10%)SBA15, relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

La Figura 7.7 muestra la evolución de los FFA y la distribución de productos obtenida con 3 %p/p de HSO₃(10%)SBA15. El producto principal es el DG, alcanzando una concentración de 37 %p/p a la hora de reacción. Nuevamente se observa que los MG pasan por un máximo, mientras que los DG y TG crecen durante toda la reacción, por tratarse de una reacción secuencial.

Un aspecto importante, es el incremento en las conversiones de las reacciones secundarias, lo cual se reflejó en la disminución en la suma de glicéridos formados más ácidos grasos sin convertir a medida que aumenta la conversión. Según los datos de la Figura 7.7, para una conversión del 92%, la cual se alcanza a los 60 min con un 3 %p/p de catalizador la suma de (FFA+MG+DG+TG) fue del 60%. En la Figura 7.8 se muestra la superposición de los cromatogramas de las muestras analizadas correspondientes a la Figura 7.7. Se observa como a medida que avanza la reacción empiezan a aparecer otros compuestos producto de las reacciones secundarias. Se pueden indicar tres zonas bien marcadas de su aparición, antes del estándar interno (19 min de tiempo de retención aproximadamente), después de los DG (26-27 min) y después de los TG (32 min). Estos compuestos no pueden ser relacionados con los vistos en las reacciones homogéneas, dado que en estas no se evidenciaba en los cromatogramas la presencia de picos no identificados. Además, las muestras de las reacciones heterogéneas nunca presentaron una coloración oscura.

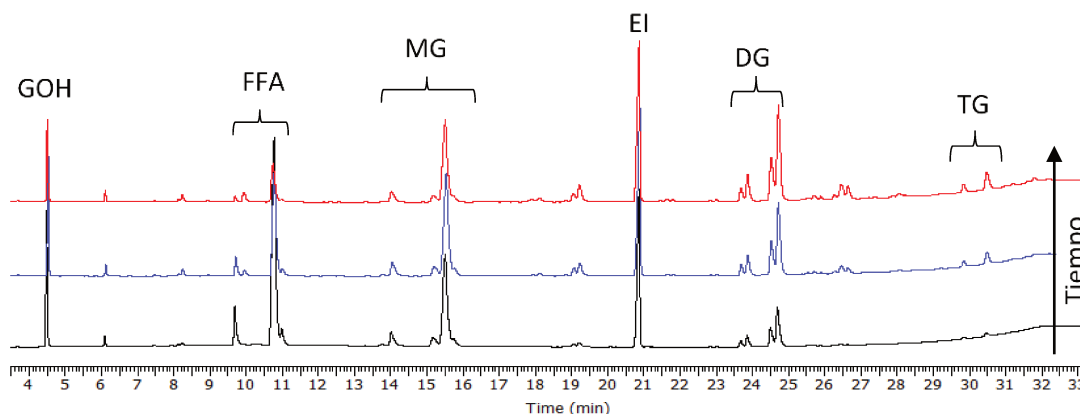


Figura 7.8: Cromatogramas de las muestras analizadas en el tiempo obtenidas a 160 °C, con 3 %p/p HSO₃(10%)SBA15, relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

7.3.1.2. Efecto de la Relación molar

Para estudiar el efecto de la relación molar FFA:GOH, se realizaron experiencias con la relación estequiométrica a monoglicéridos (1:1), a triglicéridos (3:1) y en exceso de glicerina (1:3). Los estudios se realizaron a 160 °C, 2 %p/p HSO₃(10%)SBA15, y aplicando vacío con la misma secuencia que en las experiencias anteriores.

Los resultados de la reacción se muestran en la Figura 7.9. La conversión final obtenida con la relación FFA:GOH 3:1 fue la más baja, indicada por una mayor acidez final, mientras que la más alta correspondió a la relación FFA:GOH 1:3. Por un lado, se

debe tener en cuenta que la esterificación de la glicerina con ácidos grasos es una reacción reversible, por lo que un exceso de glicerina produciría un desplazamiento de la reacción hacia productos aumentando la conversión de los FFA. No obstante, dado que la glicerina y los FFA son muy poco miscibles entre sí, durante la reacción se mantiene una distribución de los reactivos con pocos cambios en la concentración de glicerina en la fase oleosa, y por tanto la cinética y el equilibrio no deberían afectarse significativamente por la relación molar, excepto para concentraciones muy pequeñas de glicerina. Cuando se trabajó con FFA:GOH 3:1 la acidez final obtenida fue del 40 %p/p. En este caso, claramente el sistema se estabiliza en conversiones intermedias, dado que la glicerina está en proporciones estequiométricas. Al aumentar la proporción de glicerina hay un aumento importante en la conversión, alcanzando un valor de acidez final de 5 y 2 %p/p cuando se usa una relación molar FFA:GOH de 1:1 y 1:3 respectivamente. Es interesante notar la pendiente de las curvas en el origen, que indican que la velocidad inicial más alta se obtuvo con la relación molar 3:1, lo que se explica por la mayor concentración efectiva del catalizador, que se acumula en la fase glicerina. En este caso, el volumen de fase glicerina es menor que en las relaciones 1:3 y 1:1. En el otro extremo, el mayor volumen de fase glicerina corresponde a la relación 1:3, y correspondientemente se obtiene la menor pendiente en el origen.

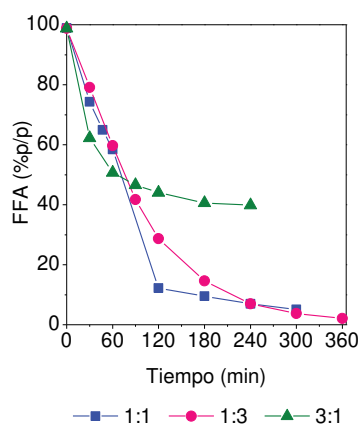


Figura 7.9: Efecto de la relación molar FFA:GOH sobre la conversión de FFA a 160 °C, con 2 %p/p HSO₃(10%)SBA15 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

Otro aspecto importante para resaltar en este sistema, es que el agua producida en la reacción se acumula en la fase glicerina. A menor volumen de esta fase, mayor concentración del agua, y por tanto mayor es el efecto limitando la conversión de equilibrio.

Para complementar el estudio de las relaciones molares se determinó la composición mediante cromatografía gaseosa de las mezclas de reacción a los 240 min de manera tal de identificar la distribución de los productos, la cual se muestra en la Figura 7.10. Para la relación molar estequiométrica hacia la formación de triglicéridos (FFA: GOH igual a 3:1), los productos principales fueron los DG y TG, y se observó una concentración muy baja de monoglicéridos (0,21 %p/p). Por el contrario, cuando la glicerina se agregó en exceso, en una relación FFA: GOH 1:3, los productos principales fueron di- y monoglicéridos, con una concentración muy baja de triglicéridos (2,6 %p/p). En el caso de la relación estequiométrica a MG, FFA:GOH de 1:1, aparecen los tres grupos de compuestos, siendo nuevamente los diglicéridos el producto principal. Este comportamiento fue análogo al reportado en las reacciones homogéneas en el capítulo anterior.

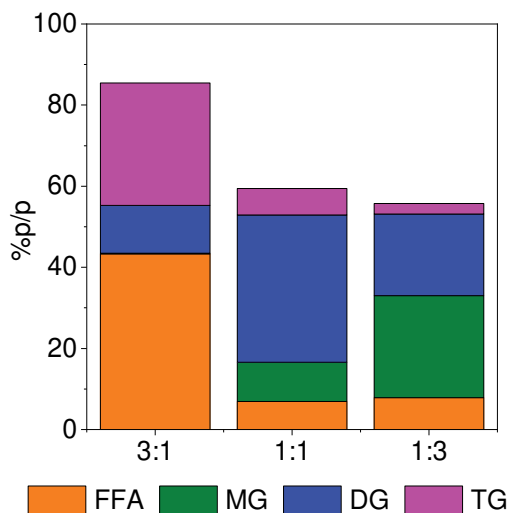


Figura 7.10: Distribución de ácidos grasos y glicéridos en una reacción a 160°C, 240 min, con una relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

Nuevamente se hace notar el impacto de las reacciones secundarias lo cual se reflejó en la disminución en la suma de glicéridos formados más ácidos grasos sin convertir a medida que avanza la conversión. Como se puede observar en la Figura 7.10, las pérdidas de rendimiento fueron aproximadamente del 40% para las relaciones molares FFA:GOH 1:1 y 1:3, siendo las conversiones mayores al 90%.

7.3.1.3. Comparación entre las reacciones con catálisis homogénea y heterogénea

Como se pudo observar en la Figura 7.6, a 160 °C, relación molar FFA:GOH 1:1 y empleado el catalizador $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$ se logran conversiones mayores al 90%. Para poder comparar su eficiencia con la de los catalizadores líquidos, se realizó una experiencia con PTSA, de manera tal de obtener una conversión similar a la del catalizador sólido, y se compararon los mmol de H^+ por gramo de mezcla de reacción necesarios para lograr esa conversión.

Se realizó una experiencia a 160 °C, relación molar FFA:GOH 1:1, con vacío (2 h a 60 cmHg y luego a 76 cmHg) y como catalizador 0,1 %p/p de PTSA. La curva que surge de seguir los FFA en el tiempo se comparó con la obtenida con 3 %p/p del catalizador $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$. Esto se muestra en la Figura 7.11. Ambos catalizadores mostraron una evolución de la acidez similar. La diferencia radica en la cantidad de sitios ácidos usados en cada caso. Mientras que con el PTSA se agregaron 0,45 mmol/100 g_{mezcla} , con el catalizador sólido se requirió casi 5 veces más, 2,53 mmol/100 g_{mezcla} . Esto permite concluir que cada sitio ácido es más activo en el catalizador homogéneo que en el heterogéneo.

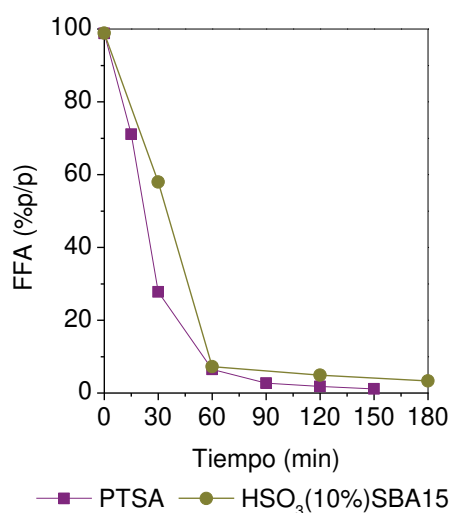


Figura 7.11: Concentración en el tiempo de los ácidos grasos. Reacción a 160 °C con una relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg).

En la Figura 7.12.A se muestra la evolución de los FFA y la distribución del producto obtenida con 0,1 %p/p de PTSA. Se observa que los DG y MG son los productos principales, teniendo concentraciones similares entre sí, mientras que el TG

se obtiene en muy baja concentración. Comparando con el perfil observado para el catalizador sólido (Figura 7.7), se observa una diferencia significativa en los MG, los cuales presentaron una concentración de aproximadamente la mitad de los DG.

Una diferencia muy importante entre estos catalizadores está en el incremento en las reacciones secundarias, lo cual se reflejó en la disminución en la suma de glicéridos formados más ácidos grasos sin convertir, cuando se usó el catalizador sólido. Esto se muestra en la Figura 7.12.B, en donde se puede observar como a medida que avanza la reacción crece la concentración de otros compuestos, productos de las reacciones secundarias que disminuyen la suma de (FFA+MG+DG+TG). En el caso del catalizador $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$, para una conversión del 92 %, la cual se alcanzó a los 60 min con un 3 %p/p de catalizador (Figura 7.7) la suma de (FFA+MG+DG+TG) fue del 67%, mientras que para el catalizador homogéneo PTSA al mismo tiempo de reacción y una conversión similar del 93 % (Figura 7.12.A) la suma dio 80%.

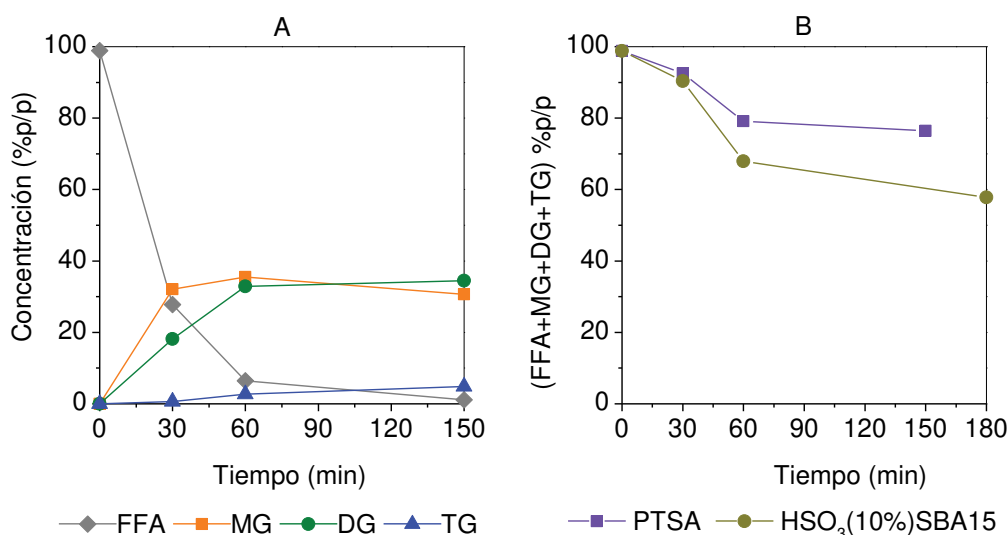


Figura 7.12: Distribución de productos obtenidos a 160 °C, relación molar FFA:GOH 1:1 y vacío (2 h a 60 cmHg y después a 76 cmHg). **A:** 0,1 %p/p de PTSA; **B:** (FFA+MG+DG+TG) %p/p, 3% $\text{HSO}_3(10\%)\text{SBA15}$, 0,1 %p/p de PTSA.

En conclusión, los catalizadores homogéneos resultaron ser más efectivos que los heterogéneos. No solo son más activos, lo cual se reflejó en la menor concentración requerida para obtener similares conversiones, sino que la suma de (FFA+MG+DG+TG) es mayor, en otras palabras los catalizadores sólidos catalizan otras reacciones que disminuyen significativamente los rendimientos a los productos deseados.

7.3.2. Caracterización del catalizador usado

Al catalizador usado se lo extrajo de la mezcla reaccionante mediante centrifugación, se lo lavó con acetona, se filtró y luego se secó toda la noche en estufa. Una vez seco, se determinó la acidez mediante titulación potenciométrica y la relación S/Si mediante fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (ED-XRF).

Los análisis se realizaron en los catalizadores usados en las experiencias en las que se varió la relación molar y la carga. En la Tabla 7.2 se muestra la acidez de los catalizadores antes y después de la reacción. Se puede observar que en todos los casos la misma se redujo significativamente, haciéndose más notable cuando aumenta la relación molar (3:1).

Tabla 7.2: Acidez de los catalizadores SBA15 funcionalizados con grupos sulfónicos en función de las condiciones de reacción, antes y después de la reacción.

Catalizador	Carga (% p/p)	Relación molar FFA:GOH	Acidez (mmol/g)	
			sin usar	usado
HSO ₃ (10%)SBA15	3	1:1	0,92	0,235
HSO ₃ (10%)SBA15	2	1:1	0,92	0,2
HSO ₃ (15%)SBA15	1,2	1:1	1,44	0,143
HSO ₃ (15%)SBA15	2	3:1	1,44	0,086
HSO ₃ (15%)SBA15	2	1:3	1,44	0,143

Para poder determinar si esta reducción en la acidez se debe a pérdidas en la estructura del catalizador o a otro factor se midió la relación S/Si. En la Tabla 7.3 se observa que la relación prácticamente no se modificó, lo que estaría indicando que durante la reacción no se pierden los grupos funcionales.

Se deberían de realizarse estudios complementarios como por ejemplos ensayos de oxidación a temperatura programada (TPO), experiencias de extracción con solventes, y análisis por FTIR, para determinar la naturaleza de los compuestos retenidos por el catalizador que provocaron su desactivación, y así obtener información para diseñar posibles estrategias de regeneración.

Tabla 7.3: Relación S/Si los catalizadores SBA15 funcionalizados con grupos sulfónicos en función de las condiciones de reacción, antes y después de la reacción.

Catalizador	Carga (% p/p)	Relación molar FFA:GOH	S/Si (% mol)	
			sin usar	usado
HSO ₃ (10%)SBA15	3	1:1	8,5	8,55
HSO ₃ (10%)SBA15	2	1:1		8,30
HSO ₃ (15%)SBA15	1,2	1:1	12,1	11,94
HSO ₃ (15%)SBA15	2	3:1		10,29
HSO ₃ (15%)SBA15	2	1:3		12,11

7.4. CONCLUSIONES

Para los catalizadores sólidos se pudo estudiar el efecto de las distintas condiciones de reacción en la actividad catalítica. No se observaron diferencias significativas entre las reacciones empleando los tres catalizadores al reaccionar a 120 °C.

Por otro lado, para obtener conversiones significativamente superiores a la reacción autocatalítica es necesario trabajar a mayores temperaturas (160 °C), sin embargo, en estas condiciones también se producen reacciones secundarias que disminuyen el rendimiento de la reacción.

La reacción muestra versatilidad en cuanto al glicérido que se quiera favorecer en la mezcla de productos al variar la relación molar con que se trabaje. El producto de reacción (mezcla de glicéridos con baja acidez, también llamado aceite de segunda generación) podría ser mezclado con el aceite de alimentación a la producción de biodiesel o en la industria oleoquímica, aumentando así el rendimiento global del proceso.

Si bien los catalizadores heterogéneos utilizados en este trabajo son mucho menos eficientes que los ácidos homogéneos, es importante profundizar su estudio debido a que evitan problemas de corrosión y manipulación en las instalaciones.

7.5. REFERENCIAS

- [1] M. Yusoff, A. Abdullah, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 60 (2016) 199–204
- [2] M. C. Penci, D. T. Constenla, A. Carelli. Food Chemistry 120 (2010) 332-338.
- [3] L. Hermida, A. Z. Abdullah, A. R. Mohamed. Journal of Applied Sciences 10 (2010) 3199-3206.
- [4] L. Hermida, A. Z. Abdullah, A. R. Mohamed. Chemical Engineering Journal 174 (2011) 668-676.
- [5] L. Hermida, A. Z. Abdullah. Journal Porous Mater 19 (2012) 835-846.
- [6] F. Alrouh, A. Karam, A. Alshaghel, S. El-Kadri, Arabian Journal of Chemistry 10 (2017) S281
- [7] S. Jeenpadiphat, E. M. Björk, M. Odén. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 410 (2015) 253-259.
- [8] J. Pérez-Pariente, I. Díaz, F. Mohino, E. Sastre, Appl. Catal. A: Gen. 254 (2003) 173.
- [9] V. Simsek, L. Degirmenci K. Murtezaoglu, R.. Kin. Mech. Catal 117 (2016) 773–788.
- [10] P Y Hoo, A Z Abdullah, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 36 (2016) 012-037.



CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

En esta tesis se abordó el estudio del aprovechamiento del residuo del desgomado del aceite de soja y el agregado de valor de la corriente obtenida.

Se mostró que, debido a la variabilidad en composición del residuo a tratar, siendo función del clima, zona del cultivo, tecnología empleada en el proceso de desgomado, entre otras, es necesario ajustar en cada caso previamente a la reacción, la forma de lograr la fluidización de los residuos. Se encontró que los alcoholes, que tienen índices de polaridad intermedios, son los compuestos más adecuados para fluidizar estos residuos. Entre los alcoholes, el etanol es el más indicado, no solo porque logra fluidizar fácilmente los distintos tipos de residuos del desgomado estudiados, sino porque también puede producirse a partir de biomasa, es de baja toxicidad y costo relativamente bajo. Desde el punto de vista de un escalado a nivel industrial, el más indicado sería el metanol debido a que en general ya es utilizado en la biorefinería para producir biodiesel, motivo por el cual no se descarta su uso. Con este mismo criterio también se ensayó el uso de aceite y biodiesel en la fluidización de estos residuos con buenos resultados de fluidización.

Se estudió el uso del tratamiento enzimático y alcalino del residuo del desgomado del aceite de soja en reemplazo del tratamiento en presencia de un ácido fuerte como el sulfúrico, lográndose encontrar las condiciones en las cuales presenta la mayor recuperación.

Son bien conocidas las ventajas del uso de enzimas como alternativa a los procesos químicos, desde el punto de vista de la especificidad, condiciones de reacción suaves y a menudo, una solución más limpia para procesos industriales, haciéndolas amigables al medio ambiente. Sin embargo, se mostró que usando la mezcla enzimática no se logró una buena recuperación de la fracción lipídica del residuo del desgomado, lo que se debe a la especificidad de la enzima fosfolipasa C (PLC), la cual solo logra hidrolizar los fosfolípidos fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), haciéndolo en forma total sobre la primera y parcial sobre la segunda, dejando el fosfatidilinositol (PI) y el ácido fosfatídico (PA) sin hidrolizar. Además, para otras materias primas, como la lecitina, la enzima sufrió una saturación con el sustrato, lo que implicaría incrementar la dosificación de la enzima a valores económicamente inviables.

El uso de un tratamiento alcalino permitió recuperar completamente la fracción lipídica de los fosfolípidos, presentando grandes ventajas desde el punto de vista operacional y de rendimientos, que permite disminuir los costos y el impacto ambiental frente a la metodología actualmente en uso.

En conclusión, se desarrolló un proceso, basado en la hidrólisis alcalina, para el aprovechamiento de la fracción lipídica del residuo del desgomado del aceite de soja compuesto por cuatro etapas: fluidización, reacción, neutralización y separación. Cabe destacar la versatilidad del mismo, que dependiendo de las condiciones de reacción se puede obtener una materia oleosa destinada a:

- Producción de biodiesel: si la corriente que se obtiene es rica en ésteres y triglicéridos (TG), puede ingresar directamente al reactor de transesterificación. Si tiene un alto contenido de ácidos grasos debe de ingresar al de esterificación con metanol.
- Producción de aceite de segunda generación: una corriente rica en ácidos grasos puede ingresar a un reactor de esterificación con glicerina para dar lugar a la formación de TG. Este producto se conoce como aceite de segunda generación y presenta un precio diferencial en el mercado europeo.
- Producción de ácidos grasos: estos se pueden comercializar como tal, pudiéndose ingresar al mercado un producto libre de azufre lo cual representa una ventaja competitiva. Recordemos que en la actualidad las gomas se tratan con ácido sulfúrico generando mezclas ricas en ácidos grasos, pero con la presencia de compuestos degradados y azufrados.

En una siguiente etapa, se estudió la esterificación de la glicerina con ácidos grasos para darle valor agregado a la fracción lipídica recuperada del residuo del desgomado del aceite mediante la producción de aceites de segunda generación. Además, se estudia su implementación para el aprovechamiento de otras corrientes ácidas presentes en una biorefinería, como son aceites ácidos, biodiesel fuera de especificación y las oleínas. Se abordó el uso de catalizadores líquidos y sólidos, demostrando la amplia eficiencia de los primeros, no solo se logran valores de acidez menores al 1 % en menos de una hora, sino que la temperatura de reacción fue menor, al igual que la carga de catalizador, y lo más importante que las reacciones secundarias fueron menos importantes. Dentro de los catalizadores líquidos, los organosulfónicos como el para-toluensulfónico (PTSA) y metanosulfónico (MSA) mostraron una mayor

actividad que el ácido sulfúrico (H_2SO_4), lo cual se atribuyó a una disminución en la tensión superficial debido a su estructura química, con un extremo polar, y el otro no polar.

Es de interés profundizar el estudio del uso de la glicerina técnica, determinando cuales son los factores por el cual la presencia de sales afecta en forma desfavorable la velocidad de reacción.

Otro aspecto relevante es evaluar la reutilización del catalizador líquido, dado que se concentra en la fase de glicerina y se puede reciclar al reactor, que podría operar al vacío para eliminar el agua favoreciendo la conversión de los ácidos grasos.

Se debe de también avanzar en el estudio y caracterización de los productos de las reacciones secundarias durante la esterificación de glicerina con ácidos grasos, de manera tal de poder diseñar estrategias que permitan suprimirlas o en su defecto disminuirlas.

Por último, si bien los catalizadores heterogéneos utilizados en este trabajo son mucho menos eficientes que los ácidos homogéneos, es importante profundizar su desarrollo debido a que evitan problemas de corrosión y manipulación en las instalaciones.



ANEXO 1

En este anexo se presentan en forma detallada todos los análisis realizados en la etapa de caracterización que fueron mencionados en el Capítulo 2.

Acidez (gr ácido oleico/100 gr muestra):

Procedimiento:

1- Pesar una cantidad exacta de la muestra a analizar (0,5 a 1 gr) en un elermeyer de 250 ml.

2- en otro elermeyer de 250 ml colocar 100 ml del disolvente (Tolueno:etanol 1:1), agregar gotas de fenostaleina y neutralizar con la solución de NaOH 0,1 N.

3- Agregar el disolvente neutralizado a la muestra y valorar con NaOH 0,1 N. La muestra debe de permanecer homogénea durante la titulación, en caso de ser necesario agregar más solvente.

Calculo:

$$A = (28,2 * N_{NaOH} * V_{NaOH}) / m_{mtra}$$

A = gr ácido oleico / 100 gr

V_{NaOH} = Volumen gastado en la valoración (ml)

N_{NaOH} = Normalidad de la solución de NaOH (N)

m_{mtra} = masa de muestra (g)

Fósforo (gr fósforo/100 gr muestra)

Procedimiento:

- 1- Pesar de 3,3 – 3,2 g de la muestra en un crisol limpio y rotulado.
- 2- Agregar 0,5 g ZnO.
- 3- Preparar blanco de reactivo (sin muestra, solo con los 0,5 g de ZnO).
- 4- Calentar levemente hasta que espese la muestra. Aumentar levemente el calentamiento hasta carbonizar completamente.
- 5- Llevar a mufla a 550 °C durante 2 h. Enfriar a temperatura ambiente.
- 6- Agregar a cada crisol 5 ml de H₂O destilada caliente (a ebullición suave) y 5 ml de HCl concentrado con pipeta, lavando las paredes del crisol.
- 7- Cubrir inmediatamente con vidrio reloj y calentar hasta ebullición suave (presencia de gotas condensadas en el vidrio reloj).
- 8- Filtrar en matraces de 50 ml para muestras que se suponen que poseen nulo-bajo contenido de P, 100 o 200 ml para muestras de bajo-moderado contenido de P y 500 ml para alto contenido. Hacerlo con ayuda de un vigilante de vidrio, lavar el vidrio y el crisol con pequeñas porciones de agua destilada caliente.
- 9- Enfriar a temperatura ambiente y neutralizar hasta aparición de precipitado blanco de ZnO, con una pequeña cantidad de solución de KOH al 50 %p/p. agregar HCl concentrado en pequeñas cantidades hasta redisolución del sólido, y agregar 2 gotas más. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con H₂O destilada, tapar mezclar cuidadosamente.
- 10- Pipetear 10 ml de la solución preparada anteriormente en matraz de 50 ml (bien limpio y seco).
- 11- Agregar 8 ml de solución de sulfato de hidracina (N₂H₆SO₄) y 2 ml de solución de molibdato de sodio (Na₂MoO₄·2H₂O) en ese orden (si no se realiza así, no se desarrollara color).
- 12- Tapar e invertir 2 o 3 veces para mezclar bien. Sacar la tapa y calentar 10±0,5 min en baño de agua hirviendo vigorosamente.

13- Sacar del baño, enfriar a temperatura ambiente, llevar a volumen con agua destilada, tapar y mezclar cuidadosamente.

14- Transferir a una cubeta limpia y seca. Con la lámpara del espectrofotómetro encendida un tiempo antes para que se caliente bien, medir absorbancia a 825 nm con el equipo ajustado 100% Abs para la cubeta con el blanco de reactivos. En el caso de realizar mediciones de varias muestras, realizarlo por orden creciente de contenido de P (visualmente, del azul más claro al más oscuro).

15- Con absorbancia medida, calcular el contenido de P en mg con la ecuación de la curva del equipo:

$$Abs = 17,088 * mgP + 0,005$$

Para la curva de calibrado se realizan distintas disoluciones de una solución de KH_2PO_4 en agua destilada y se opera de igual forma a partir del punto 11.

Preparación de soluciones:

- Molibdato de sódio ($N_2H_6SO_4$): Agregar 140 ml de H_2SO_4 a 300 ml de agua destilada. Enfriar a temperatura ambiente y agregar 12,5 g de Molibdato de sodio sólido. Diluir a 500 ml de agua destilada. Dejar en reposo al menos 24 h antes del uso.
- Sulfato de Hidracina ($N_2H_6SO_4$) al 0,015 %p/p: Disolver 0,150 g de sulfato de hidracina em 1 l de agua destilada.
- Hidróxido de Potássio (KOH) al 50%: dissolver 50 g de KOH en 50 ml de agua destilada.

Material Insoluble en Acetona (AIM) (gr AIM/100 gr muestra)

1- Pesar de 1,9 – 2 g de muestra bien mezclada en un tubo de centrifuga con agitación. Previo se debió haber registrado el peso del tubo de centrifuga y la tapa.

2- agregar 15 ml de acetona de acetona a 5 °C agitar bien hasta disolución, agregar el resto de la acetona hasta llegar 45 ml. Dejar en el baño a 5 °C por 15 min.

4- poner a centrifugar por 5 min (1900±100 rpm). Trasvasar a un vaso de precipitados el material insoluble en acetona.

5- Llenar el tubo de centrifuga hasta 40 ml con acetona, agitar y repetir los pasos 3-4.

6- Después de la segunda centrifugación, retirar la solución de acetona. Colocar el tubo en la posición horizontal para que se evapore la acetona remanente. Dejar hasta pesada constante.

Calculo:

$$\%AIM = \frac{M_i - M_f}{m} * 100$$

Con

M_i = masa del tubo de centrifuga y la tapa

M_f = masa final del tubo de centrifuga, la tapa y el sólido que quedo de la extracción con acetona.

m = masa de muestra pesada.

Contenido de humedad: determinación agua Dean-Stark (gr agua/100 gr muestra):

Procedimiento:

- 1- Colocar la muestra homogeneizada, alrededor de 8 g, en un balón de 500 ml.
- 2- Agregar 500 ml de tolueno y piedritas de cuarzo.
- 3- Homogeneizar la mezcla agitando.
- 4- Colocar la trampa de agua Dean-Stark y el refrigerante.
- 5- Calentar y mantener en ebullición hasta que el nivel de agua en la trampa no varié.
- 6- sacar el refrigerante y con un alambre despegar las gotas de la pared de la trampa, si fuese necesario, y registrar el volumen.

Calculo:

$$\%H_2O = \frac{V_{H_2O}}{m}$$

Con:

V_{H_2O} = ml de agua registrados en la trampa.

m = masa de la muestra.

Jabones (gr oleato de sodio/100gr de muestra) y Catalizador Alcalino (gr de catalizador por kilogramo de muestra)

Procedimiento:

1- Pesar 0,1 a 1 g de la muestra y diluir con una solución Tolueno:Etanol 1:1. Agregar del disolvente hasta obtener un volumen adecuado para disolver la muestra (~50 ml).

2- Agregar fenolftaleína.

3- Titular con HCl 0,1 N hasta viraje del fucsia al incoloro.

4- Registrar el volumen (V1) y completar la bureta.

5- Agregar Azul de Bromo Fenol y titular con HCl 0,1 N hasta viraje del azul al amarillo. Registrar el volumen (V2).

Calculo:

Contenido de Catalizador (NaOH):

$$\%Cat \left(\% \frac{p}{p} \right) = \frac{4 V_1 N}{m}$$

Contenido de Jabones (gr de oleato de sodio cada 100 g muestra):

$$\%J \left(\% \frac{p}{p} \right) = \frac{29,3 V_2 N}{m}$$

Con:

V₁ = Primer volumen titulado.

V₂ = Segundo volumen titulado.

N = Normalidad del HCl.

m = masa de muestra.

Calibración de triglicéridos (gr/100 gr muestra)

Se determinaron los factores de calibración para los triglicéridos formados en la reacción usando como soluciones patrones distintas concentraciones de un aceite disuelto en un biodiesel que se sabe que tiene buena conversión.

Las soluciones preparadas fueron 10, 20 y 50 %p/p de aceite en biodiesel. El análisis cromatográfico se siguió tal cual se describió en el Capítulo 2, Sección 2.2.3. Cada punto se determinó por duplicado. Para la obtención del factor de respuesta se relacionan las áreas y masas de la muestra con concentraciones de TG conocidas con las del patrón interno, tricaprina. En la Figura 1 se muestra resultados obtenidos con la correspondiente línea de tendencia.

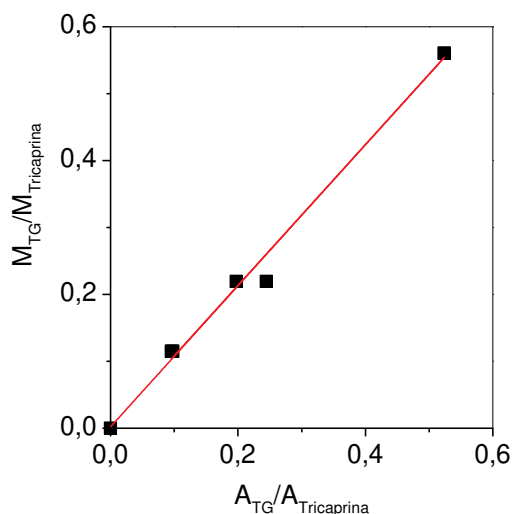


Figura 1: Curva de calibración de los Triglicéridos.

Factor de respuesta:

$$\frac{M_{TG}}{M_{Tricaprina}} = 1,2682 \cdot \frac{A_{TG}}{A_{Tricaprina}}$$

$$R^2 = 0,993$$

Calibración de Ácidos grasos (gr/100 gr muestra)

Se determinaron los factores de calibración para los triglicéridos formados en la reacción usando como soluciones patrones distintas concentraciones de un aceite disuelto en un biodiesel que se sabe que tiene buena conversión.

Las soluciones preparadas fueron 10, 20 y 50 %p/p de ácidos grasos (FFA) en tetrahidrofurano. El análisis cromatográfico se siguió tal cual se describió en el Capítulo 2, Sección 2.2.3. Cada punto se determinó por duplicado. Para la obtención del factor de respuesta se relacionan las áreas y masas de la muestra con concentraciones de FFA conocidas con las del patrón interno, tricaprina. En la Figura 2 se muestra resultados obtenidos con la correspondiente línea de tendencia.

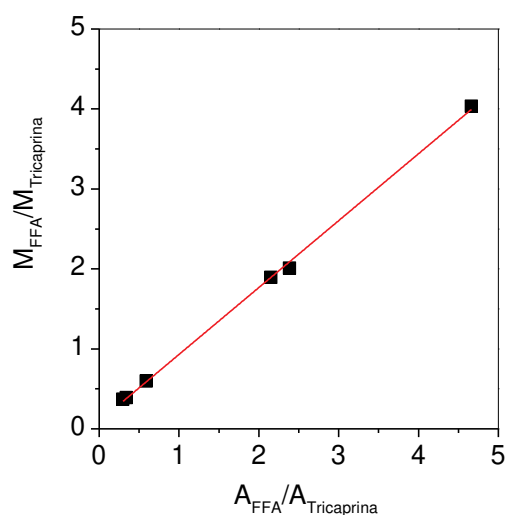


Figura 2: Curva de calibración de los Ácidos grasos.

Factor de respuesta:

$$\frac{M_{FFA}}{M_{Tricaprina}} = 0,8667 \cdot \frac{A_{FFA}}{A_{Tricaprina}}$$

$$R^2 = 0,9968$$

Calibración de Metil Esteres (gr/100 gr muestra)

Se determinaron los factores de calibración para los triglicéridos formados en la reacción usando como soluciones patrones distintas concentraciones de un aceite disuelto en un biodiesel que se sabe que tiene buena conversión.

Las soluciones preparadas fueron 40, 50 y 60 %p/p de Metilester (Me-Es) en tetrahidrofurano. El análisis cromatográfico se siguió tal cual se describió en el Capítulo 2, Sección 2.2.3. Para la obtención del factor de respuesta se relacionan las áreas y masas de la muestra con concentraciones de Me-Es conocidas con las del patrón interno, tricaprina. En la Figura 3 se muestra resultados obtenidos con la correspondiente línea de tendencia.

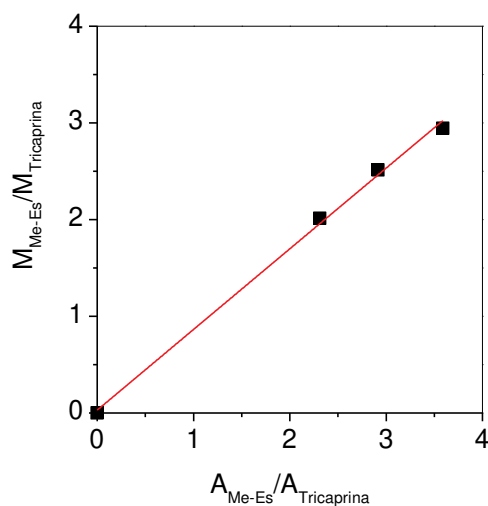


Figura 3: Curva de calibración de los Metil ester.

Factor de respuesta:

$$\frac{M_{Me-Es}}{M_{Tricaprina}} = 0,8342 \cdot \frac{A_{Me-Es}}{A_{Tricaprina}}$$

$$R^2 = 0,9975$$

Calibración de Etil Esteres (gr/100 gr muestra)

Se determinaron los factores de calibración para los triglicéridos formados en la reacción usando como soluciones patrones distintas concentraciones de un aceite disuelto en un biodiesel que se sabe que tiene buena conversión.

Las soluciones preparadas fueron 20, 30, 50 y 60 %p/p de Etilester (Et-Es) en tetrahidrofurano. El análisis cromatográfico se siguió tal cual se describió en el Capítulo 2, Sección 2.2.3. Para la obtención del factor de respuesta se relacionan las áreas y masas de la muestra con concentraciones de Et-Es conocidas con las del patrón interno, tricaprina. En la Figura 4 se muestra resultados obtenidos con la correspondiente línea de tendencia.

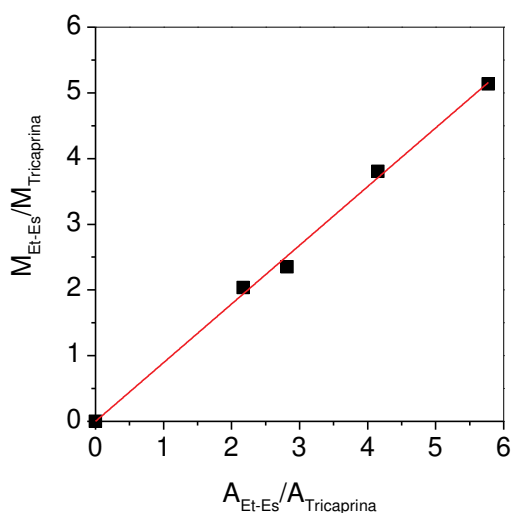


Figura 3: Curva de calibración de los Etil ester.

Factor de respuesta:

$$\frac{M_{Et-Es}}{M_{Tricaprina}} = 0,8933 \cdot \frac{A_{Et-Es}}{A_{Tricaprina}}$$

$$R^2 = 0,9969$$