

## **APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS DEL DESGOMADO DE ACEITE ESTUDIOS CON CATÁLISIS ENZIMÁTICA**

**Rubel, Melissa / Racca, Augusto**

*Instituto de Investigaciones en Catálisis y Petroquímica INCAPE (FIQ-UNL/CONICET)*

**Área:** Ingeniería

**Sub-Área:** Ingeniería Química

**Grupo:** X

**Palabras clave:** fosfolípidos, enzimas, fosfolipasa.

### **INTRODUCCIÓN**

El procesamiento del aceite tanto para uso comestible como para la industria del biodiesel, requiere la separación de las impurezas denominadas gomas, que están compuestas principalmente por fosfolípidos. Estas representan un 5% del aceite tratado, siendo una importante cantidad de residuos en una planta de gran capacidad. Por tanto, debe buscarse la manera de recuperar valor de este residuo, que contiene aproximadamente 30% de aceite ocluido, 40% de fosfolípidos, y 30 % agua.

En la actualidad, este subproducto constituye un problema debido a la falta de mercado, por lo que surge la oportunidad de utilizarlos para aumentar la producción de biodiesel, y fundamentalmente para dar valor a este subproducto. Es conocido que se pueden recuperar los ácidos grasos de residuos del desgomado del aceite 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, además de problemas de corrosión y emisiones de olores debido a la producción de aldehídos, aminas, etc. Esto constituye un serio problema ambiental, además de generar residuos complicados de disponer. Existen enzimas que actúan sobre los fosfolípidos (de nombre trivial fosfolipasas), produciendo la ruptura de distintos enlaces y por lo tanto conduciendo a diferentes productos.

En el presente trabajo se estudió el empleo de solventes para mejorar los problemas de fluidización de la materia prima. La viscosidad de las gomas varían fuertemente con el contenido acuoso (Willem van Nieuwenhuyzen, 1976 y Willem van Nieuwenhuyzen and Mabel C. Tomás, 2008). Se estudió la hidrólisis de los fosfolípidos presentes en las gomas con catálisis enzimática. Se trabajó fuertemente en la caracterización de la materia prima y los productos de reacción. También se evaluó el efecto de la temperatura y la agitación en el medio de reacción.

### **OBJETIVOS**

El objetivo central de esta investigación es desarrollar procesos enzimáticos para procesar los residuos del desgomado de aceites, recuperando el aceite ocluido en las emulsiones y la materia grasa presente en los fosfolípidos, ya sea como ácidos grasos, mono o di-glicéridos.

### **METODOLOGÍA**

Para la caracterización de la materia prima los principales parámetros analizados son la acidez, el contenido de humedad y la cantidad de fosfolípidos

Proyecto: PICT-2013-1252 " Procesos de purificación de biodiesel y aprovechamiento de residuos del desgomado de aceites".

Director del proyecto: Carlos Querini

Director de los becarios: Ma. Laura Pisarello

presentes. El contenido de ácidos grasos se expresa como acidez (gr ácidos grasos/ 100 gr de muestra) se determina mediante un análisis volumétrico, siguiendo la norma EN 14104. El contenido de humedad se obtiene por la norma AOCS Ja 2-46.

La determinación del contenido de fosfolípidos se realiza empleando diferentes técnicas. El Material Insoluble en Acetona (AIM) conforme a la norma AOCS Ja 4-46 determina el contenido de fosfolípidos como tal. Mientras que mediante la norma AOCS Ca 12-55 se determina el contenido de fósforo de la muestra y este se puede expresar como fosfolípidos multiplicando por un factor de  $31,7 \pm 0,9$  (JAOS 55 1978 521) (List G.R., Heakin A.J., Evans C.D., Black L.T., Mounts, T.L., 1978.).

La reacción se lleva a cabo en un reactor de vidrio, en forma batch, en un baño de agua a diferentes temperaturas de trabajo. La agitación de la mezcla de reacción es otro parámetro de estudio.

Como materia prima se utilizaron residuos de desgomados cedidos por industrias aceiteras de la zona. La mezcla de enzimas empleadas contiene fosfolipasas A2 (PLA2) y C (PLC), con una actividad de 16900PLCU/g, marca Purifine®.

Una vez finalizada la reacción la mezcla se centrifuga y en todos los casos se observan 2 o más fases para las diferentes experiencias. Se cuantifican las fases y se caracterizan los productos obtenidos. La fase superior tiene características oleosas (rica en di- y tri-glicéridos), y en la parte inferior, en menor proporción, se observan sedimentos y en algunas experiencias una pequeña fase se caracteriza por ser acuosa.

Además de la determinación de fosfolípidos y/o fósforo, se analiza el contenido de glicéridos y de acidez en la fase superior oleosa. La cantidad de mono-, di- y triglicéridos se realiza por cromatografía gaseosa similar a lo descrito por las normas ASTM D 6584 y UNE-EN 14105.

Los parámetros o condiciones de reacción que se estudiaron fueron la temperatura a la cual ocurre la misma, las proporciones de materia prima y solvente, la concentración de enzimas y el contenido acuoso.

## RESULTADOS

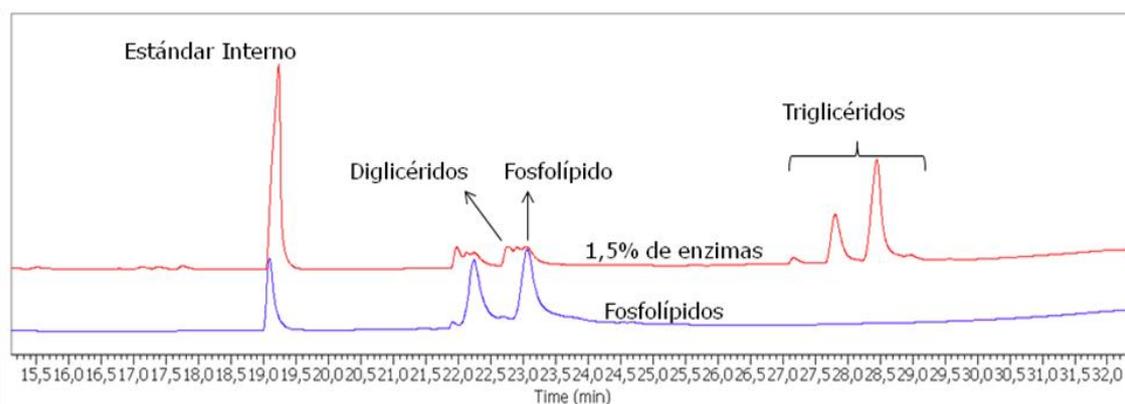
De las experiencias de caracterización de la muestra de gomas se determinó su composición: 50.5 % de fosfolípidos (AIM), 37.5% de humedad y 7% de acidez. Por otro lado, los análisis de fósforo realizados, permitieron obtener resultados concordantes a los determinados mediante el análisis de AIM. Estos resultados se conciben con los expuestos en numerosas publicaciones acerca de la composición del residuo de desgomado. Por lo tanto, se tiene seguridad de que los métodos elegidos como caracterización son los adecuados (Scholfield, C.R., 1981).

Para intentar solucionar los problemas de fluidización de la materia prima, se hicieron mezclas con diferentes solventes y se evaluó el comportamiento de las mismas. Se realizaron pruebas con n-heptano, alcohol etílico absoluto, n-hexano, agua y metil éster.

A pesar de haber obtenido resultados bastante favorables con solventes como el alcohol etílico, se encontró que la mejor forma de fluidizar este residuo es con el uso de metil éster. Esto tiene la ventaja de que, una vez finalizada la reacción, no será necesaria la separación del producto de reacción con el metil éster, ya que el objetivo final es la producción de biodiesel. Por lo que, las experiencias de reacción se realizan con diferentes proporciones de metil ésteres, variando la concentración entre el 50% y 15%. Se observa que concentraciones de metil ésteres por debajo del 40% no resultan convenientes. También se evaluó el empleo de agitación magnética y mecánica de altas revoluciones (Ultra-Turrax T25 digital) logrando un buen mezclado con ambos métodos empleados.

## Acción catalítica de las enzimas

En la **Figura 1** se muestran los cromatogramas correspondientes a los fosfolípidos aislados de las gomas y a la mezcla producto de reacción de las gomas. Dicha experiencia se realizó con una proporción 50:50 de residuo de desgomado y metil éster, con una concentración de la solución de enzimas del 1,5%, por 2,5 horas a 50°C. Dicha figura pone en evidencia que se produjo una transformación de los fosfolípidos en diglicéridos.



**Figura 1:** Cromatogramas de los fosfolípidos aislados y la mezcla producto de reacción

Por otro lado, se realizaron experiencias con diferentes concentraciones de enzimas (1% y 3,5%) a 50°C, con un 45% de metil éster en la mezcla de reacción, por 2,5 horas. Se pudo observar que con una mayor cantidad de enzimas se aprecia una disminución de la altura del pico correspondiente a los fosfolípidos, y un aumento de la altura de los picos de diglicéridos. Esto demuestra una mayor conversión a medida que se aumenta la concentración de enzimas en la mezcla de reacción.

Se determinó la acidez una vez finalizada la reacción, obteniéndose 9,10% y 11,8% para una concentración de enzimas de 1% y 3,5 % respectivamente. Esto se condicen con el hecho de que, a mayor concentración enzimática, mayor conversión. El aumento de la acidez en la muestra con mayor concentración de la solución enzimática está relacionado a que se produjo mayor cantidad de ácidos grasos a partir de los fosfolípidos.

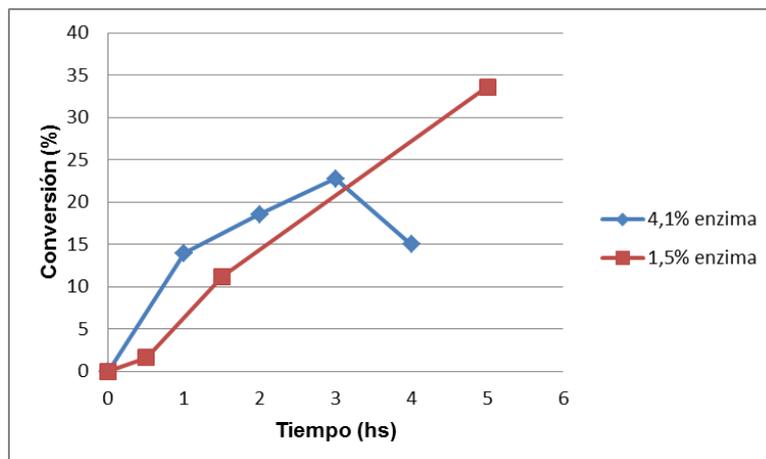
Se realizaron experiencias de reacción a diferentes temperaturas (45, 50 y 55 °C). En todos los casos se empleó un 1,5% de la mezcla de enzimas referido a la masa de gomas y un 45% de metil éster en la mezcla de reacción. Se pudo determinar que la concentración de ácidos grasos libres y de diglicéridos prácticamente no variaron. Esto indicaría que la conversión no se modifica para este rango de temperaturas de reacción. 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.

## Evolución de la reacción en el tiempo

Por ser un sistema que presenta múltiples fases como productos de reacción resulta difícil su cuantificación-caracterización, es por ello que se tomaron alícuotas de la mezcla de reacción sin separar las fases y se analizó el material insoluble en acetona (AIM). Dicha medición representa la concentración de fosfolípidos no reaccionados. En la **Figura 2** se muestra la conversión de fosfolípidos en el tiempo para las experiencias realizadas con gomas, empleando metil ésteres como solvente

(45%p), a 50°C y empleando como catalizador la solución de enzimas en una concentración del 1,5% y 4,1% respectivamente.

La experiencia catalizada con 1,5% de enzimas muestra un aumento de la conversión en el tiempo estudiado, alcanzando una conversión del 34%. En el caso de la experiencia realizada con 4,1% de enzimas, inicialmente se observa una mayor velocidad de reacción que la experiencia realizada con menor concentración de enzimas. Sin embargo, luego de las 3 horas de



**Figura 2:** Conversión de fosfolípidos en el tiempo para experiencias con distintas concentraciones de enzimas a 50°C. Solvente: metil ésteres (45%p)

reacción se observa una disminución de la conversión. Si bien podría pensarse en algún error en el análisis de dicha muestra, ya sea por una toma de muestra no homogénea o bien un error en el procedimiento del análisis, este comportamiento también se observó en otras experiencias. Esto nos llevó a pensar que algunos de los productos de reacción sean insolubles en acetona, al igual que los fosfolípidos. Para dilucidar ello se realizaron experiencias complementarias y se pudo verificar la presencia de compuestos insolubles en acetona en una fase acuosa posterior a la reacción.

## CONCLUSIONES

En el desarrollo de esta investigación, se trabajó fuertemente en la caracterización de los productos de reacción; se cuantificaron y se realizaron los análisis correspondientes a cada fase, se determinaron los fosfolípidos y/o fósforo y se analizó el contenido de glicéridos y de acidez en la fase superior oleosa y sedimentos.

La fase oleosa ha sido analizada por cromatografía gaseosa, sin embargo, existe la superposición de algunos picos de reactivo y producto (fosfolípido y diglicérido) lo cual permite un análisis cualitativo y semicuantitativo. Para intentar solucionar ello, se trabajó con distintos métodos de identificación (HPLC y FRX), sin embargo aun no se tuvo repetitividad en los resultados.

Los análisis indican, que los sedimentos obtenidos al finalizar la reacción no corresponderían a fosfolípidos no reaccionados. Sin embargo, será necesario profundizar en la caracterización de los mismos para determinar su composición.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- List G.R., Heakin A.J., Evans C.D., Black L.T., Mounts, T.L., 1978. J. Am. Oil Chem. Soc., 55, 521.
- Scholfield, C.R., 1981 J. Am. Oil Chem. Soc., 58, 889.
- Willem van Nieuwenhuyzen, 1976. J. Am. Oil Chem. Soc., 53, 425–427.
- Willem van Nieuwenhuyzen and Mabel C. Tomás, 2008. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 110, 472–486.