

PUESTA A PUNTO Y OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIODIESEL PRODUCIDO A PARTIR DE ACEITES COMESTIBLES USADOS

Nahuel Francisco, Silvana R. Matkovic

Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas –Dr. Jorge J. Ronco (CINDECA), Univ. Nac. La Plata, Centro Científico Tecnológico La Plata, 47 N° 257, 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

nahuelfrancisco88@gmail.com

RESUMEN: En los últimos años, el biodiesel ha ganado considerable atención debido a la creciente preocupación por los problemas ambientales asociados con el uso de combustibles fósiles. Los estudios e investigación que se presentan en este trabajo comienzan con la puesta a punto y optimización de técnicas volumétricas para la cuantificación de glicerol. El método está destinado a cuantificar glicerol libre y total a fin de determinar el rendimiento en la producción de biodiesel. Adicionalmente, se procedió a la investigación de la reacción de trans-esterificación de aceite comestible usado con metanol a fin de obtener biodiesel por catálisis enzimática.

PALABRAS CLAVE: biodiesel, aceite usado, biocatálisis, biocombustibles, Novozym® 435.

El biodiesel es un biocombustible producido a partir de recursos biológicos como aceites vegetales refinados, grasas animales o hasta incluso aceite comestible usado. Se produce por trans-esterificación de triglicéridos con metanol en presencia de un catalizador para obtener una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME).

El método más popular para la producción de biodiesel es la trans-esterificación de aceites vegetales en presencia de un catalizador:



En la actualidad se investiga la utilización de biocatalizadores como las lipasas (hidrolasas E.C. 3.1.1.3.). Estas son un grupo de enzimas cuya función biológica consiste en catalizar la hidrólisis reversible de triglicéridos o sus productos intermedios como mono y diglicéridos. En particular, el biocatalizador comercial Novozym® 435 consiste en la lipasa B de *Candida antarctica* (CALB) adsorbida físicamente sobre esferas de polimetilmetacrilato conocidas como LEWATIT VP OC 1600. Las partículas esféricas de Novozym® 435, según lo reportado en la ficha de este producto, poseen un tamaño de 0,315-1,00 mm (> 80%), densidad aparente de 0,65-0,80 g/mL, superficie de aproximadamente 130 m²/g (BET) y alta estabilidad térmica (-20-100 °C). Novozym® 435 es muy tolerante al calor y presenta una actividad máxima entre los 70-80 °C, aunque se recomienda su uso entre los 40- 60 °C para una productividad óptima.

El trabajo publicado por *Pisarello et al.* presenta un método volumétrico alternativo para la cuantificación de biodiesel [1]. Esta metodología no implica el uso de equipos costosos, y por lo tanto, es particularmente útil para el control de calidad en pequeñas instalaciones productoras del biocombustible. Otra ventaja del método es que supera las deficiencias del procedimiento convencional por cromatografía gaseosa, tales como límites de detección y el tipo de materia prima utilizada para producir biodiesel.

METODOLOGÍA

Los experimentos se realizaron en un equipo preparado para trabajar a escala laboratorio y en batch. El mismo consta de un reactor de vidrio de

tres bocas. A dos bocas del reactor se le adicionaron un refrigerante para reflujo y un agitador de paleta de teflón con regulación de velocidad; las cuales varían de 40 a 700 rpm. La tercera boca se mantuvo tapada con un tapón esmerilado y por la misma se agregaron los reactivos. El reactor contiene además un septum que posee un tubo de vidrio en contacto con el medio de reacción donde se coloca un termómetro. Se utilizó un horno eléctrico como medio de calefacción con un sistema de control electrónico.

Se colocó en el reactor una masa de aceite comestible usado con agitación de 4,5 en la escala del agitador mecánico. El sistema se llevó a 65°C ya que es conocido que es la temperatura óptima para la actividad del catalizador [2, 3]. Posteriormente se añadieron 0,0020 g de Novozym® 435 y se agregaron 2,5 mL de metanol absoluto (Carlo Erba, 99 %). El sistema se mantuvo en las condiciones antes mencionadas durante 24 h y cumplido ese lapso de tiempo se procedió a la toma de muestra. El estudio del blanco consistió en la evaluación del sistema de reacción en las mismas condiciones de trabajo recién mencionadas pero en ausencia del catalizador.

A fin de desarrollar la determinación de glicerol total, se pesaron aproximadamente 8 g de muestra y se llevó a una temperatura final de 65 °C. Se agregó un volumen de metóxido de sodio [(35 g de NaOH (Carlo Erba) / 1 L de metanol absoluto (Carlo Erba, 99 %)]. El volumen agregado corresponde al 40 % v/v de la muestra pesada. Se dejó actuar durante 30 minutos. En el caso de la determinación de glicerol libre, la muestra se llevó a 65 °C sin agregar metóxido de sodio. Luego, ambas determinaciones continúan de la misma manera. Posteriormente, se realizaron tres lavados de 15 minutos cada uno, dos de ellos con HCl 5 % p/p y uno con agua destilada. Entre cada lavado la muestra se colocó en una ampolla de decantación, siendo la fase acuosa recolectada. Para cuantificar la cantidad de glicerol presente, se agregó a la fase acuosa rojo de fenol (6,8 – 8), luego se añadió NaOH 2 N hasta que el indicador viró al violeta. Se agregó HCl al 5% p/p hasta que la solución viró nuevamente al amarillo. Posteriormente, se hirvió 3 minutos y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se agregó NaOH 0,1 N (el mismo que se utilizará en la titulación posteriormente) hasta aparición de color violeta (pH= 8).

Se agrega NaIO₄ (Biopack) (6 g/100 mL de agua recientemente preparado). Se dejan transcurrir 5 minutos en oscuridad. Una vez transcurrido este tiempo, se agregó etilenglicol (Biopack) para neutralizar el exceso de NaIO₄ y se dejó nuevamente 5 minutos en oscuridad. Luego se realizó la titulación con NaOH 0,1 N y se calculó el porcentaje de glicerol según las siguientes ecuaciones:

$$\%GL = V_{NaOH} \times N_{NaOH} \times (PMGL/1000) \times (100/g \text{ muestra})$$

$$V_{NaOH} = \text{Volumen de NaOH (mL) gastados en la titulación}$$

$$N_{NaOH} = \text{Normalidad de la solución de NaOH}$$

$$\text{Rendimiento (\%)} = (GL \text{ libre} / GL \text{ total}) \times 100$$

La determinación del índice de acidez consistió en la titulación de aproximadamente 1 g de muestra como expresa la normativa española UNE-EN [4].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de una serie de experimentos a partir de sistemas blancos de reacción, se logró optimizar el volumen y la concentración de los reactivos a utilizar en ambas determinaciones. En la Tabla 1 se muestran los valores para la determinación de glicerol libre y total.

Tabla 1. Cantidades de reactivos optimizados en sistemas blancos de reacción.

	Glicerol libre	Glicerol total
Masa aceite usado	8,0426 g	8,0187 g
Volumen de metóxido de sodio	-----	6,0 mL
1° lavado con HCl 5 % p/p	6,0 mL	6,0 mL
2° lavado con HCl 5 % p/p	1,5 mL	1,5 mL
Volumen de HCl 5 % p/p	2,0 mL	1,8 mL
Volumen de NaOH 0,09502 N	7,60 mL	13,00 mL
Volumen de NaIO ₄	10,0 mL	20,0 mL
Volumen de etilenglicol	2,0 mL	5,0 mL
Volumen de NaOH 0,09502 N	-----	15,00 mL
% glicerol (% p/p)	-----	1,641

En el caso de la determinación de glicerol libre, antes de realizar la titulación el indicador viró al violeta donde se deduce que no hay glicerol libre presente en las muestras de aceite comestible usado.

Con los resultados obtenidos se procedió a estudiar sistemas de reacción en presencia de catalizador, utilizando los volúmenes y concentraciones de reactivos previamente optimizadas. En primer lugar se agregó metanol al sistema en una sola alícuota de 2,5 mL y luego se realizó un nuevo experimento donde se agregó el metanol en alícuotas sucesivas de 0,5 mL cada 22,5 minutos. Una vez obtenidos los valores de glicerol libre y total se calculó el rendimiento de la reacción. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

En estos experimentos podemos observar una mejora en el rendimiento al agregar el metanol en alícuotas sucesivas, donde se favorecería la reacción de trans-esterificación.

La determinación del índice de acidez no presentó variaciones por lo cual se concluye que no se producen ácidos grasos libres durante la reacción de trans-esterificación.

Tabla 2. Obtención enzimática de biodiesel a partir de aceite usado.

	Agregado de 2,5 mL de metanol			
	Una alícuota		alícuotas sucesivas	
	Glicerol libre	Glicerol total	Glicerol libre	Glicerol total
Aceite usado (gr)	7,9848	8,0120	8,0087	8,0648
Metóxido de Na (mL)	-----	6,0	-----	6,0
1° lavado HCl (mL)	6,0	6,0	6,0	6,0
2° lavado HCl (mL)	1,5	1,5	1,5	1,5
Volumen de HCl (mL)	1,0	2,0	1,0	2,0
NaOH 0,09502 N (mL)	12,40	16,50	6,60	12,20
NaIO ₄ (mL)	10,0	20,0	10,0	20,0
Etilenglicol (mL)	2,0	5,0	2,0	5,0
NaOH 0,09502 N (mL)	3,00	15,80	5,60	13,50
% glicerol (% p/p)	0,330	1,726	0,612	1,465
Rendimiento (%)		19,1		41,8

CONCLUSIONES

Los ensayos permitieron concluir que el rendimiento en la obtención biocatalizada de biodiesel a partir de aceite comestible usado aumenta notablemente con el agregado secuencial de metanol en pequeñas alícuotas. Novozym® 435 no catalizó la hidrólisis de los triglicéridos por lo cual, no se detectaron ácidos grasos libres y en consecuencia es posible asegurar que el glicerol obtenido refleja la cantidad de biodiesel formado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los subsidios otorgados por CONICET (PIP 112 201301 00171) y la UNLP (proyecto 11 X-626)

REFERENCIAS

- [1] M.L. Pisarello, B.O. Dalla Costa, N.S. Veizaga, C.A. Querini, "Volumetric method for free and total glycerin determination in biodiesel", *Ind. Eng. Res.* 49, **2010**, 8935–8941.
- [2] J.F. Nilsson en: "Investigación de Nuevos Materiales Catalíticos Inorgánicos y Enzimáticos Orientada a la Generación de Nuevas Tecnologías en la Producción de Biodiesel", Tesina de Grado, Fac. Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, **2013**.
- [3] C. José, G.B. Austic, R.D. Bonetto, R.M. Burton, L.E. Briand, "Investigation of the stability of Novozym® 435 in the production of Biodiesel", *Catal. Today* 213, **2013**, 73-80.
- [4] UNE-EN 14104 Normativa española AENOR **2003**. "Productos derivados de aceites y grasas. Esteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Determinación del índice de acidez".