

# Obtención catalítica de biodiesel a partir de aceite de colza

Nelly María Rosas, Oswaldo Proaño y Marcelo Albuja

*Laboratorio de Operaciones Unitarias*

*Departamento de Ingeniería Química*

marcelo.albuja@epn.edu.ec

## Resumen

En el presente proyecto se desarrollaron las metodologías A y B, para obtener biodiesel a partir de aceite de colza Silvestre refinado. Se realizaron ensayos preliminares con cuatro variedades de colza de la provincia de Tungurahua, a través de los cuales se seleccionó la variedad de colza Silvestre por su alto contenido de aceite y por su elevada concentración en ácido erúico. Posteriormente, se realizó la extracción del aceite con un expeller y se refinó. Las metodologías fueron desarrolladas con tratamientos que incluyeron como parámetros definidos a la temperatura, el tiempo de reacción, la presión, la agitación y la cantidad de agua. Se consideraron como variables de estudio a la relación molar alcohol/aceite de colza refinado y la concentración de catalizador, en la reacción de síntesis. Para establecer las condiciones adecuadas en la metodología A, se evaluó el porcentaje de glicerina ligada en la fase glicérica y en la metodología B se evaluó el porcentaje de glicerina libre en la fase glicérica y la concentración de ésteres etílicos, que fue analizada por espectroscopia de absorción infrarroja.

Para 500 mL de aceite de colza, en la metodología A, se utilizó una relación molar metanol/aceite refinado de colza Silvestre de 7/1 y el 0,4 % de hidróxido de potasio; mientras que, para la metodología B se utilizó una relación molar de 6/1 de etanol al 95 %/aceite de colza refinado Silvestre, 833 mg de lipasa pancreática porcina, pH igual a 8 y 20 % agua/aceite. El producto obtenido luego de la transesterificación, se sometió a ensayos según las normas ASTM e INEN.

**Palabras claves:** Biodiesel, colza, aceite, lipasa pancreática porcina (PPL), transesterificación, metanol, etanol de 95 %.

## Abstract

Two methodologies, A and B, were developed in order to obtain biodiesel from wild rapeseed oil refined. Preliminary test were conducted using four varieties of rapeseed from Tungurahua Province, through which the wild rapeseed variety with the higher oil content and erucic acid was selected, followed by oil extraction with an expeller and further refining to obtain purified biodiesel.

Methodologies with defined parameters such as temperature, reaction time, pressure, agitation and amount of water were developed in the treatments and variables included the molar ratio alcohol/ refined rapeseed oil and catalyst concentration for the syntheses reaction. In establishing the appropriate conditions for Methodology A i.e. the percentage of linked glycerin in the glycerin phase; for Methodology B, i.e. the percentage of free glycerin in the glycerin phase and ethyl esters concentration were obtained using infrared absorption spectroscopy technique.

For 500 mL of rapeseed oil, with Methodology A the ratio methanol/wild rapeseed oil refined was 7/1 and 0.4 % of potassium hydroxide, while for Methodology B the ratio 95 % ethanol/wild rapeseed oil refined was 6/1, 833 mg of porcine pancreatic lipase, pH equal to 8 and 20 % water oil. The product obtained by transesterification, met the ASTM and INEN standards.

**Keywords:** Biodiesel, rapeseed, oil, pancreatic porcine lipase (PPL), potassium hydroxide, transesterification, methanol, ethanol 95 %.

## 1 Introducción

La colza (*Brassica napus*) es una planta anual, pubescente. Su semilla se adapta a las altas latitudes y a climas frescos. El aceite obtenido contiene más del 40 % de ácido erúico y un nivel de ácidos grasos saturados (ácidos palmítico y esteárico) alrededor del 6 % [7]. El biodiesel

es definido, por la American Society for Testing Materials, como los ésteres monoalquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de las fuentes lipídicas renovables [7]. La reacción de transesterificación para obtener biodiesel se realiza por sustitución de la glicerina de

los triglicéridos del aceite vegetal con un alcohol de cadena corta (metanol, etanol, butanol). Esta reacción es catalizada por ácidos, álcalis, resinas o enzimas, para formar los ésteres correspondientes de los ácidos grasos y glicerina. Se utilizan temperaturas que van desde la ambiental hasta 400 °C y presiones desde la atmosférica hasta 25 atm, de acuerdo con la tecnología y el uso o no de catalizadores [6], [7].

La transesterificación con álcalis se obtiene un alto porcentaje de rendimiento y representa un proceso de conversión directa. Además, se requiere que el aceite sea refinado, con una humedad cercana al 0 % y con una cantidad de ácidos grasos libres menor al 0,5 % [1], [3] y [27].

La transesterificación con biocatalizadores presenta ciertas ventajas sobre la catálisis básica, debido a que las enzimas son sustancias de naturaleza proteica con mayor especificidad y selectividad que los catalizadores químicos, no generan productos secundarios, por lo que se eliminan etapas de separación y purificación del producto terminado. Los inconvenientes que presenta el uso de enzimas son su alto costo, poca estabilidad y su dependencia con la temperatura, presión, pH, agitación y tiempo de reacción [6] y [29].

Las lipasas se denominan triacilglicerol éster hidrolasas. Pertenecen al grupo de las enzimas hidrolíticas cuya función biológica es catalizar la hidrólisis de los triglicéridos. Se encuentran en la mayoría de organismos vivos como micro-organismos, plantas y animales superiores. Las lipasas actúan sobre ésteres insolubles, principalmente aceites y grasas, como los triglicéridos de ácidos grasos de cadena larga [11], [21], [29] y [35].

En su estructura presenta el plegamiento típico de las  $\alpha/\beta$  hidrolasas, que consiste en una estructura central formada por al menos cinco láminas  $\beta$  interconectadas por varias hélices  $\alpha$ , empaquetadas a ambos lados de las láminas. El centro activo tiene tres aminoácidos catalíticos: Ser - His - Asp/Glu; el aminoácido Ser es el nucleófilo, His es el residuo básico y Asp o Glu es el residuo ácido, que se encuentran rodeados por aminoácidos hidrofóbicos primarios, cubiertos por una hélice  $\alpha$  anfifílica [11], [21] y [28].

La lipasa actúa en la interfase lípido - agua, debido a que en su estructura tridimensional presenta un bucle anfifílico o tapadera, que cubre el centro activo de la enzima. La activación interfacial permite desplegar a totalidad la actividad catalítica. Este fenómeno ocurre con un desplazamiento de la tapadera, es decir, cuando la enzima pasa de la conformación cerrada (centro activo oculto) a la abierta (centro activo expuesto) [11], [21] y [29].

## 2 Materiales y Métodos

### 2.1 Materiales y Equipos

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó crudo de lipasa pancreática porcina tipo II del Laboratorio Sigma, sílica gel para cromatografía de columna con

tamaño de partícula de 70 - 270 mallas ASTM y agua destilada. Los demás reactivos empleados para los análisis y ensayos fueron de grado analítico.

Los equipos utilizados fueron: balanza analítica (ADAM), cromatógrafo de gases con registrador de datos (Varian), equipo Kjeldahl (Labconco y P Selecta), equipo Soxhlet (P Selecta), espectrofotómetro UV - visible (Shimadzu), estufa (W. C. Heraeus Hanau RT 360), expeller (Zehlendorfer Dermuehle), mufla (Lindberg), pHmetro portátil (Schott Glaswerke Mainz) y refractómetro (Schmidt Haensch), rotavapor (Büchi).

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Ensayos preliminares para la selección de la semilla de colza

Las pruebas preliminares se efectuaron con semillas de colza frescas, recolectadas en la ciudad de Ambato.

La selección de la variedad de semilla de colza, se realizó de acuerdo con la determinación del porcentaje de humedad, la extracción del aceite con solventes y la determinación de la composición de ácidos grasos del aceite [24].

Se seleccionó la variedad de semilla que presentó el mayor contenido de aceite y el mayor porcentaje en peso de ácido erúico.

Una vez seleccionada la variedad de semilla de colza se realizó la caracterización física de la semilla, que incluye la determinación del tamaño de partícula, la densidad real y aparente y el porcentaje de porosidad.

#### 2.2.2 Extracción y refinación del aceite

La extracción del aceite a partir de la semilla de colza se realizó en un expeller, con una alimentación de 4 kg de semilla de colza, con una humedad aproximada del 10 %.

Una vez realizada la extracción del aceite de las semillas de colza, se procedió al proceso de refinación del mismo, con las siguientes etapas: desgomado, neutralización, secado, blanqueado y winterización [12], [13] y [34].

#### 2.2.3 Evaluación de la calidad del aceite

Para la evaluación de la calidad del aceite crudo y refinado se encontraron la densidad, viscosidad cinemática, índice de refracción, índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación, materia insaponificable, índice de rancidez y contenido de fósforo según las normas INEN y AOCS, modificadas [22] y [9].

#### 2.2.4 Selección del proceso de trans-esterificación para la obtención de biodiesel

Para la transesterificación se siguió un diseño factorial 22, con una réplica. Se consideraron como variables del proceso a la relación molar alcohol/aceite y la concentración de catalizador. Para la optimización de la reacción

se consideró la cantidad de catalizador que se obtuvo del diseño experimental y se realizó un incremento en la relación molar alcohol/aceite.

#### a. Transesterificación catalítica -Metodología A

Se realizaron ensayos experimentales en los que se varió la relación molar metanol/aceite de colza y el porcentaje de hidróxido de potasio. En las Tablas 1 y 2 se indican los parámetros y variables que se establecieron, por referencia bibliográfica, para los ensayos.

**Tabla 1.** Parámetros para la obtención de biodiesel a partir de 60 mL de aceite de colza refinado, con la metodología A

PARÁMETRO	VALOR	REFERENCIA
Temperatura de reacción (°C)	50	Perry et al., [26]
Tiempo de reacción (h)	1.5	Nikiema y Heitz, [20]
Agitación (rpm)	250	Kumari et al., [17]
Presión (atm)	0,72	Luna et al., [19]

**Tabla 2.** Variables de experimentación para la obtención de biodiesel a partir de 60 mL de aceite de colza, según la metodología A.

TRATAMIENTO	T <sub>1A</sub>	T <sub>2A</sub>	T <sub>3A</sub>	T <sub>4A</sub>
Relación molar* (metanol/aceite)	4/1	4/1	6/1	6/1
% Catalizador** (peso KOH / peso aceite)	0,2	0,4	0,2	0,4

(\*Kumari et al., [17]; \*\*Nikiema y Heitz, [20])

Para la determinación del proceso de transesterificación, se cuantificó la cantidad de glicerina total y libre presente en la fase glicérica, después de 24 horas de decantación, siguiendo el procedimiento dado en la norma AOCS Ca 14-56.

#### b. Transesterificación biocatalítica -Metodología B

Antes de iniciar la transesterificación, se determinó la actividad de la lipasa pancreática porcina. Se siguió el método espectrofotométrico para determinar la actividad esterásica a valores de pH desde 7,0 a 9,5 [31].

Para la transesterificación se realizaron ensayos en los que se varió la relación molar etanol 95%/aceite de colza y la cantidad de lipasa pancreática porcina. En las Tablas 3 y 4 se indican los parámetros y variables que se establecieron por referencia bibliográfica. El pH de la solución tampón de la lipasa pancreática porcina se definió con el ensayo de la actividad esterásica.

**Tabla 3.** Parámetros para la obtención de biodiesel a partir de 60 mL de aceite de colza, con la metodología B.

PARÁMETRO	VALOR	REFERENCIA
Temperatura de reacción (°C)	50	Perry et al., [26]
Tiempo de reacción (h)	1.5	Nikiema y Heitz, [20]
Agitación (rpm)	250	Kumari et al., [17]
Presión (atm)	0,72	Luna et al., [19]
Cantidad de agua (% sustrato)	20	Paula et al., [25]

**Tabla 4.** Variables de experimentación para la obtención de biodiesel a partir de 60 mL de aceite de colza según la metodología B.

TRATAMIENTO	T <sub>1B</sub>	T <sub>2B</sub>	T <sub>3B</sub>	T <sub>4B</sub>
Relación molar* (etanol de 95 % /aceite)	4/1	4/1	6/1	6/1
Biocatalizador** (mg lipasa pancreática porcina)	50	100	50	100

(\*Kumari et al., [17]; \*\*Nikiema y Heitz, [20])

Para la evaluación del proceso de transesterificación, se cuantificó la glicerina libre presente en la fase glicérica y se realizó el análisis por espectroscopia infrarroja en la fase éster con el FTIR Perkin Elmer Spectrum - One, equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (HATR) y un cristal de seleniuro de cinc.

### 2.2.5 Evaluación de las propiedades como combustible

De acuerdo con las condiciones de trans-esterificación de las metodologías A y B, se elaboró biodiesel a partir de 500 mL de aceite de colza Silvestre. Para la etapa de purificación del biodiesel se experimentó el uso de tierras de blanqueo activadas. La activación de las tierras consistió en colocarlas en la mufla a 500 °C por 4 horas. Se dejó enfriar en el desecador y se le añadió 2 % de agua destilada [23]. Para la evaluación de las propiedades del biodiesel como combustible se consideraron los métodos oficiales ASTM D 6751-07b<sub>1</sub>, INEN 1973 - 08 y AOCS Ca 14 - 56.

### 2.2.6 Caracterización de los subproductos y residuos del proceso de obtención del aceite y del biodiesel

#### a. Análisis de los residuos de extracción

El contenido de nitrógeno se determinó mediante el método de Kjeldahl para una muestra homogénea con una humedad máxima de 10 % [9].

El contenido de fósforo se determinó con el procedimiento dado en la norma AOCS Ca 12-55, utilizando una cantidad de muestra de 1,0 – 1,5 g de residuos.

El contenido de potasio se determinó por absorción atómica con emisión de llama, en un espectrofotómetro de absorción atómica AA Analyst 300.

#### b. Análisis de los subproductos de la elaboración del biodiesel

Los subproductos principales de la elaboración del biodiesel, glicerina cruda y alcohol, contenidos en la fase glicérica, se refinaron de esta fase según el método descrito por Esparta (2005) y se modificó para cada tipo de metodología.

Se recolectaron las fracciones resultantes de alcohol y de glicerina semi-purificada, para establecer su porcentaje de recuperación. En la fracción de glicerina semi-purificada se midió el índice de refracción a 20 °C, para estimar el porcentaje en peso de glicerina [18].

#### 2.2.7 Estimación de los costos de obtención de biodiesel purificado a escala de laboratorio

La estimación de los costos de obtención de biodiesel a escala de laboratorio, mediante las metodologías A y B con 500 mL (455 g) de aceite de colza refinado, se realizó con los costos de:

- Materia prima: aceite de colza refinado, alcohol metílico y etílico, catalizador básico y biocatalizador.
- Suministros básicos: agua destilada y energía eléctrica.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Ensayos preliminares para la selección de la semilla de colza y la obtención del aceite refinado

La variedad de semilla de colza que se seleccionó para realizar la extracción con expeller fue la especie de colza Silvestre. Esta selección se llevó a cabo mediante la evaluación del porcentaje de aceite obtenido por extracción con solventes y la composición en ácidos grasos del aceite extraído. En la Tabla 5, se presentan los resultados de las pruebas de contenido de aceite y humedad en las semillas.

Con base en los resultados obtenidos, el contenido de aceite y el porcentaje de humedad en las semillas de colza dependen del tipo de variedad. Las variedades Gladiador, Silvestre, Legacy y Gospel presentaron un contenido de aceite superior al valor expuesto por Carrillo (2004), cuyos valores están dentro del rango del 35 al 45 % de aceite. Los valores de humedad en las semillas, varían entre 5,92 y 7,78 % y están dentro de los parámetros recomendados para su almacenamiento, dados por Bragachini (1991) y Sánchez (2003).

**Tabla 5.** Resultados promedio y desviación estándar del contenido de aceite y humedad en la semilla de colza de las variedades ensayadas.

Propiedades evaluadas	Variedad de semilla de colza			
	Silvestre	Gladiador	Gospel	Legacy
Contenido de aceite (%)	48,249 ± 0,001	48,396 ± 0,007	45,536 ± 0,007	47,828 ± 0,004
Humedad a 110 °C (%)	6,828 ± 0,002	5,920 ± 0,001	5,979 ± 0,000	7,779 ± 0,001

Se realizó la transesterificación del aceite de colza de las variedades en estudio para la determinación de su composición en peso de ácidos grasos. La cuantificación del contenido de ácidos grasos presentes en el aceite de colza se realizó con los cromatogramas obtenidos. Los resultados se indican en la Tabla 6.

La variedad de colza Silvestre presentó un mayor número de ácidos grasos en su estructura, cuatro más respecto a las otras tres variedades, además, contiene ácido erúxico en mayor proporción, por lo que se considera como un aceite no apto para la alimentación humana. Su composición es similar a la descrita por Chamorro y Ta-

magno (2004) para el aceite de colza.

Las semillas de las variedades Gladiador, Gospel y Legacy no contienen dentro de su composición ácido erúxico, lo que permite considerarlas como semillas de colza de denominación cero; por tanto, pueden ser utilizadas en la alimentación humana.

Con los datos obtenidos en la Tabla 6 se advierte que las cuatro variedades contienen ácidos grasos altamente insaturados. En su estructura tienen alrededor del 24,3 al 29,6 % de aceites esenciales que pertenecen al grupo de los omega 3 y 6, que incluyen a los ácidos linoleico y linolénico.

**Tabla 6.** Resultados de la composición de ácidos grasos en el aceite de semilla de colza de las variedades en estudio.

Ácido graso		Composición de ácidos grasos del aceite de colza (% masa)			
		Silvestre	Gospel	Legacy	Gladiador
Mirístico	C 14:0	Trazas	—	Trazas	0,06
Palmítico	C 16:0	3,21	5,00	4,63	4,90
Palmitoleico	C 16:1	0,15	Trazas	Trazas	0,40
Margárico	C 17:0	0,02	—	—	—
Esteárico	C 18:0	1,37	2,73	1,85	2,31
Oleico	C 18:1	14,42	63,98	62,19	62,92
Linoleico	C 18:2	14,30	16,66	16,21	15,44
Linolénico	C 18:3	9,99	11,03	13,40	11,53
Gradoleico	C 20:1	12,00	0,61	1,72	2,43
Eicosadienoico	C 20:2	0,11	—	—	—
Behénico	C 22:0	0,32	—	—	—
Erúcido	C 22:1	44,10	—	—	—

En la Tabla 7 se indican los pesos moleculares aproximados del aceite de las semillas de colza en estudio.

**Tabla 7.** Determinación de los pesos moleculares aproximados de los aceites de colza de las variedades en estudio.

Aceite	Peso molecular promedio (g/mol)
Colza Silvestre	958,16
Gospel	879,42
Legacy	880,26
Gladiador	880,38

Para estimar el peso molecular aproximado del aceite de colza se consideró que está formado por triglicéridos simples; es decir, que el radical del ácido graso es el mismo para todo el triglicérido.

El aceite de la variedad de colza Silvestre tiene un mayor peso molecular en comparación con el resto de las variedades, debido a que en su composición presenta el 44,10% de ácido erúcido cuyo triglicérido tiene un peso molecular igual a 1053,7 g/mol.

Las variedades de colza Gladiador, Gospel y Legacy presentaron pesos moleculares semejantes debido a su similar composición en peso de ácidos grasos.

### 3.2 Caracterización física de la semilla de colza

Según las pruebas preliminares realizadas en las semillas de colza, se determinó que las semillas de colza Silvestre son las más apropiadas para realizar los ensayos definitivos de la obtención de biodiesel. Esta variedad contiene en su estructura 44,10% de ácido erúcido y presenta un contenido de aceite de 48,13%. En la Tabla 8 se indican

los resultados obtenidos de la caracterización física de la semilla de colza Silvestre.

**Tabla 8.** Caracterización física de las semillas de colza Silvestre.

Propiedad	Valor
Densidad Aparente (g/ml)	0,67
Densidad Real (g/ml)	1,02
Porosidad (%)	34,45
Tamaño de partícula (mm)	1,93

Los valores obtenidos de densidad aparente, porosidad y tamaño medio de partícula, para la semilla de colza Silvestre son similares a los valores obtenidos por Bartosik (2008).

### 3.3 Extracción, refinación y evaluación de la calidad del aceite de colza de la semilla seleccionada

#### a. Extracción y refinación del aceite

En la Tabla 9 se indican los rendimientos obtenidos para los procesos de extracción y refinación del aceite de colza Silvestre.

**Tabla 9.** Rendimientos de extracción por expeller y refinación total de aceite crudo de colza Silvestre.

Procedimiento	Rendimiento
Extracción con expeller (% g aceite / g semilla)	34,20
Refinación total (% g aceite refinado / g aceite crudo)	77,80

Con base en los resultados obtenidos, la extracción con expeller presenta un rendimiento cercano al planteado por Bailey (1961) que es del 35%. En el proceso de refinación se tiene que más del 22% del

aceite crudo que ingresa al proceso se pierde. Esta cantidad de aceite corresponde a las impurezas que contiene y a la pérdida del mismo durante el proceso de refinación.

#### b. Evaluación de la calidad del aceite

En la Tabla 10 se indican los resultados obtenidos de la evaluación del aceite de colza Silvestre.

**Tabla 10.** Ensayos de evaluación de la calidad del aceite crudo y aceite refinado de colza Silvestre.

Ensayo	Aceite crudo	Aceite refinado
Densidad a 20 °C (g/mL aceite)	0,912±0,002	0,911±0,000
Índice de yodo (cg de yodo/g aceite)	104,39±0,01	104,27±0,02
Determinación de la acidez (mgKOH/g aceite)	0,83±0,01	0,11±0,00
Índice de saponificación (mgKOH/g aceite)	169,19±1,42	164,02±0,27
Materia Insaponificable (% en masa)	2,96±0,05	0,31±0,01
Índice de refracción 20 °C	1,48±0,01	1,48±0,00
Ensayo de rancidez (meq O <sub>2</sub> /kg aceite)	33,60±0,00	36,76±1,24
Viscosidad a 40 °C (mm <sup>2</sup> /s)	43,47±0,01	42,35±0,02
Contenido de fósforo (mg fósforo/kg aceite)	9,39±0,04	0,00

Los resultados obtenidos establecieron que no existe diferencia significativa entre los aceites crudo y refinado en los ensayos de densidad, índice de refracción y de rancidez. Sin embargo, en los ensayos de índice de yodo, índice de acidez, índice de saponificación, materia insaponificable, viscosidad y contenido de fósforo, existe una diferencia significativa entre los aceites crudo y refinado.

Al someter el aceite crudo al proceso de refinación se logró eliminar impurezas como ácidos grasos libres y fosfolípidos que se ven reflejadas en la disminución de los valores de los índices de acidez y de contenido de fósforo. Los valores obtenidos en la evaluación de la calidad del aceite de colza Silvestre refinado, están dentro de los parámetros aconsejados por la AOCS.

### 3.4 Determinación del proceso de transesterificación para la obtención del biodiesel

Se consideró que la concentración de catalizador y la relación molar alcohol/aceite de colza sean las variables del proceso, porque el efecto de su variación en el producto final de la reacción, permite determinar las condiciones del proceso de transesterificación. Además, se estableció que la relación molar de alcohol/aceite de colza sea mayor a la estequiométrica (3/1) en los tratamientos realizados, con el propósito de desplazar el equilibrio hacia la formación de ésteres y glicerina.

#### a. Transesterificación catalítica - Metodología A

La glicerina ligada es un parámetro que permite establecer la conversión a la que se llegó al final de la reacción de transesterificación, ya que indica el porcentaje de monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos que no reaccionaron durante el proceso y que permanecen disueltos en la fase glicérica. En la Tabla 11 se indican los valores del porcentaje de glicerina total, libre y ligada.

**Tabla 11.** Porcentaje promedio y desviación estándar de glicerina total, libre y ligada determinadas en la fase glicérica resultante de los tratamientos obtenidos con la metodología A.

Tratamiento	% Glicerina total	% Glicerina libre	% Glicerina ligada
T <sub>1A</sub>	58,86±0,09	14,22±0,23	44,65±0,14
T <sub>2A</sub>	63,12±0,49	15,71±0,70	47,42±0,21
T <sub>3A</sub>	48,39±0,41	37,37±0,14	11,02±0,27
T <sub>4A</sub>	46,81±0,14	39,65±0,07	7,16±0,20

Las fases glicéricas de los productos obtenidos con los tratamientos T<sub>3A</sub> y T<sub>4A</sub> presentaron mayores porcentajes de glicerina libre y menores porcentajes de glicerina total y ligada, respecto a las fases glicéricas de los productos obtenidos con los tratamientos T<sub>1A</sub> y T<sub>2A</sub>. Esto se debe a que al aumentar la relación molar metanol/aceite de colza, de 4/1 a 6/1, se obtuvo mayor conversión a ésteres metílicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla 11, se establece que un incremento en la relación molar metanol/aceite de colza Silvestre refinado favorece la reacción de transesterificación y la concentración de catalizador establecida por experimentación fue del 0,4 %.

Para realizar la optimización del proceso de transesterificación catalítica y con el fin de establecer si existe mayor conversión a ésteres metílicos, se realizó el tratamiento T<sub>5A</sub>, con una relación molar metanol/aceite igual a 7/1, una concentración de catalizador del 0,4 % y con los parámetros dados en la Tabla 1. Se evaluó la fase glicérica obtenida con este tratamiento y los resultados se indican en la Tabla 12.

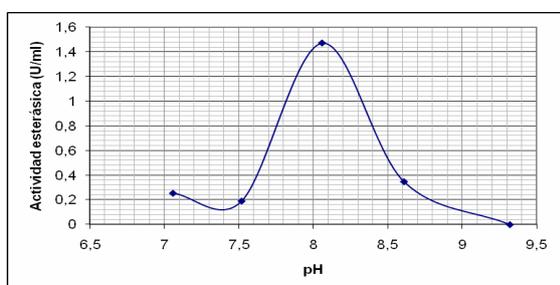
**Tabla 12.** Evaluación de la fase glicérica obtenida al aplicar el tratamiento T<sub>5A</sub>.

PARÁMETRO	VALOR
% Glicerina total	44,74 ± 0,03
% Glicerina libre	39,68 ± 0,02
% Glicerina ligada	5,06 ± 0,01

Con base en los resultados obtenidos en la Tabla 12 se observa una disminución en el valor del porcentaje de glicerina ligada presente en el producto obtenido con el tratamiento  $T_{5A}$  respecto a los resultados obtenidos con el tratamiento  $T_{4A}$ . Las condiciones para la obtención de biodiesel están dadas por el Tratamiento  $T_{5A}$ .

#### b. Transesterificación biocatalítica -Metodología B

La determinación de la actividad esterásica sirve como una referencia para establecer que la lipasa pancreática porcina se encuentra activa y que puede ser utilizada como biocatalizador en procesos de transesterificación. En la Figura 1 se graficaron los valores obtenidos de actividad esterásica frente al pH.



**Figura 1.** Actividad esterásica de la lipasa pancreática porcina a diferentes condiciones de pH desde 7,0 a 9,5.

El pH óptimo determinado experimentalmente para la solución tampón de la lipasa pancreática porcina fue 8,0.

El análisis de espectroscopia de absorción infrarroja que se realizó en la fase éster en el rango de 1600 a 1850  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la banda del grupo éster del ácido carboxílico, permitió establecer la concentración de ésteres etílicos que existe en esta fase. En la Tabla 13, se indican los valores de los porcentajes de glicerina libre presente en la fase glicérica y la concentración del éster del grupo carbonilo en la fase del éster etílico de los productos obtenidos al aplicar los tratamientos.

**Tabla 13.** Porcentajes promedio y desviación estándar de glicerina libre y de concentración del éster etílico para los tratamientos realizados según la metodología B.

Tratamiento	% Glicerina libre	Concentración del éster etílico
Aceite de colza	—	41,387±0,0E+00
$T_{1B}$	—	42,982±8,6E-03
$T_{2B}$	32,10±0,41	43,760±7,5E-03
$T_{3B}$	13,30±0,22	43,561±5,0E-03
$T_{4B}$	35,47±0,30	44,759±1,1E-03

De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 13, se establece que un incremento en la relación molar etanol de 95%/aceite de colza Silvestre refinada favorece la reacción de transesterificación, debido a que se obtiene una mayor conversión a ésteres etílicos y que la cantidad de lipasa pancreática porcina establecida es igual a 100 mg.

Para realizar la optimización del proceso de transesterificación biocatalítica y con el fin de establecer si existe mayor conversión a ésteres etílicos, se realizó los tratamientos  $T_{5B}$  y  $T_{6B}$ , con una relación molar etanol de 95%/aceite de colza Silvestre refinado de 7/1, con 100 mg de lipasa pancreática porcina, con los parámetros dados en la Tabla 3 y se varió el porcentaje de agua, para la activación de la lipasa pancreática porcina, de 18 y 30 % del sustrato. Se cuantificó la concentración de ésteres etílicos en la fase éster por espectroscopia infrarroja y los resultados se indican en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Evaluación de la fase glicérica de los biodiesel obtenidos al aplicar los tratamientos  $T_{5A}$  y  $T_{6A}$ .

Tratamiento	Concentración del éster etílico
$T_{5B}$ con 30 % de agua	25,287
$T_{6B}$ con 18 % de agua	42,759

De acuerdo con los resultados que se indican en la Tabla 14, se establece que en las fases glicéricas de los productos obtenidos con los tratamientos  $T_{5B}$  y  $T_{6B}$ , las concentraciones de ésteres etílicos presentan valores inferiores a los determinados para el aceite de colza Silvestre refinado y el tratamiento  $T_{1B}$  que se muestran en la Tabla 13.

Las condiciones para obtener biodiesel sin purificar a partir de 60 mL de aceite de colza de acuerdo con la metodología B fueron una cantidad de agua para la activación de la lipasa pancreática porcina libre de 20 % (agua/aceite) como lo establece Paula (2007), una relación molar etanol de 95%/aceite de colza Silvestre refinado de 6/1 y 100 mg de lipasa pancreática porcina.

### 3.5 Evaluación de las propiedades como combustible

En la Tabla 15 se indican los resultados de la evaluación como combustible de los biodiesel obtenidos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 15, se establece que los biodiesel obtenidos con las metodologías A y B, están dentro de los límites permisibles para ciertos ensayos dados por las Normas ASTM D 6751-07b<sup>e1</sup> e INEN 1973-08.

**Tabla 15.** Evaluación de los biodiesel obtenidos como combustible de acuerdo con las metodologías A y B.

Ensayo	Catálisis Básica	Catálisis Enzimática
Combinación de calcio y magnesio (mg/kg)	26,77	8,73
Densidad a 15 °C (kg/m <sup>3</sup> )	877,2	906,8
Punto de nube inflamación en copa cerrada (°C)	151	161
Agua y sedimentos (% volumen)	0,0	0,0
Contenido de agua (% volumen)	0,0	0,0
Viscosidad cinemática a 40 °C (mm <sup>2</sup> /s)	7,51	20,50
Cenizas sulfatadas (% masa)	0,000	0,000
Azufre (% masa)	0,018	0,018
Corrosión a la lámina de cobre	1 A	1 A
Punto de nube (°C)	-2	-4
Índice de yodo (g yodo/100 g)	101,82	103,36
Contenido de fósforo (% masa)	0,000	0,000
Combinación de sodio y potasio (mg/kg)	1,86	1,33

Los productos obtenidos al aplicar las metodologías A y B están fuera del límite máximo permitido para el ensayo de viscosidad, que es de 6,0 mm<sup>2</sup>/s. El producto obtenido a partir de la metodología B tiene un valor de densidad superior al límite máximo que es de 900 kg/m<sup>3</sup>. Los resultados de los ensayos de combinación de calcio y magnesio de los productos obtenidos con las metodologías A y B, no cumplen con la especificación de 5 mg/kg.

### 3.6 Caracterización de los subproductos y residuos del proceso de obtención del aceite de colza silvestre y del biodiesel purificado

#### a. Análisis de los residuos de extracción

En la Tabla 16 se indican los resultados de la evaluación de los residuos de extracción del aceite con expeller.

Con base en los resultados obtenidos se observa que los residuos de extracción del aceite de colza Silvestre, se pueden considerar como abonos naturales ternarios, debido a que en su composición contiene nitrógeno, fósforo y potasio en cantidades suficientes.

**Tabla 16.** Resultados de la evaluación de los residuos de extracción con expeller de la semilla de colza silvestre.

Contenido	Resultado experimental
Nitrógeno (%)	4,94
Fósforo (mg/kg muestra)	897,90
Potasio (%)	1,52

#### b. Análisis de los subproductos de la elaboración del biodiesel

De acuerdo con los datos del balance de masa, se estableció el porcentaje de recuperación de alcohol y glicerina semipurificada. Además, la concentración en peso de glicerina con el índice de refracción según Lange (1941). Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 17.

**Tabla 17.** Porcentaje de recuperación de alcohol, de glicerina y concentración de glicerina en la fase glicérica.

Parámetro	Catálisis básica	Catálisis enzimática
Alcohol recuperado/alcohol total	1,89 %	2,30 %
Glicerina recuperada/fase glicérica	21,59 %	18,94 %
Concentración de glicerina en peso	85,18 %	89,02 %

Con base en los resultados obtenidos el alcohol recuperado puede ser nuevamente ingresado al proceso de transesterificación. La glicerina obtenida puede ser utilizada con fines industriales pero debe ser purificada por procesos de adsorción con carbón activado o con resinas de intercambio iónico.

### 3.7 Estimación de los costos de obtención de biodiesel purificado a escala de laboratorio

La estimación de los costos de obtención catalítica de biodiesel a escala de laboratorio, de acuerdo con las metodologías A y B para obtener 1 litro de biodiesel a partir de aceite de colza Silvestre refinado, se realizó con las cantidades requeridas de acuerdo a los balances de masa y el costo unitario de las materias primas y de los insumos básicos. En las Tabla 18 y 19 se indican los costos totales de materia prima e insumos para la producción de biodiesel purificado de acuerdo con la metodología A y B.

**Tabla 18.** Estimación de los costos de materia prima e insumos para la metodología A.

Materias primas e insumos	Costo total
Aceite de colza Silvestre refinado (g)	1,36
Alcohol metílico (g)	0,27
Hidróxido de potasio (g)	0,03
Tierras de blanqueo (g)	0,06
Energía Eléctrica (kWh)	0,14
<b>Costo Total</b>	<b>1,86</b>

**Tabla 19.** Estimación de los costos de materia prima e insumos para la metodología B.

Materias primas e insumos	Costo total
Aceite de colza Silvestre refinado (g)	1,46
Alcohol etílico (g)	0,66
Lipasa pancreática porcina (g)	0,51
Tierras de blanqueo (g)	0,05
Agua destilada (g)	0,09
Energía Eléctrica (kW * h)	0,33
<b>Costo Total</b>	<b>3,10</b>

De los valores obtenidos en las Tablas 18 y 19, se establece que el costo de obtención del biodiesel purificado, a escala de laboratorio, de acuerdo con la metodología A con un rendimiento del 93 % es de 1,86 USD/l y el costo para el biodiesel obtenido de acuerdo con la metodología B con un rendimiento del 90 % es de 3,10 USD/l. Para ambos casos el costo de la materia prima representa más del 75 % del costo de producción.

Se estableció que el biodiesel obtenido con catálisis enzimática presenta un costo de producción superior, respecto al obtenido con catálisis básica, esto se debe al mayor consumo de energía eléctrica y a los altos costos del alcohol etílico y de la lipasa pancreática porcina.

## 4 Conclusiones

1. Se estableció que el contenido de aceite en las semillas de colza varía según el tipo de variedad, en la variedad Silvestre el contenido de aceite es de 48,25 %, en la Gladiador de 48,49 %, en la Gospel de 45,54 y en la variedad Legacy de 47,83 %.
2. Se logró seleccionar la variedad de semilla de colza que presentó mayor contenido de aceite y un elevado porcentaje de ácido erúico en su composición, esta especie fue la de colza Silvestre. Las variedades de colza Gospel, Gladiador y Legacy son semillas exentas de ácido erúico y presentaron similares composiciones en peso de ácidos grasos.

3. Al realizar la caracterización física de la semilla de colza Silvestre se estableció que los valores obtenidos son similares a los citados en bibliografía para este tipo de semilla.
4. El rendimiento obtenido en la extracción del aceite con solventes fue igual a 48,25 % y para la extracción con expeller fue igual a 34,20 %. Por lo tanto, el proceso de extracción con solventes es más eficiente en un 14,05 % respecto a la extracción con expeller.
5. El proceso de refinación del aceite de colza Silvestre crudo, permitió eliminar impurezas como fosfolípidos, ácidos grasos libres, pigmentos, entre otros. Esto se ve reflejado en la disminución de los valores de los índices de acidez de 0,83 a 0,11 (mg KOH/g aceite), en materia saponificable de 2,96 a 0,31 (% masa) y en el contenido de fósforo de 9,39 a 0,00 (mg fósforo/kg aceite) para el aceite crudo y refinado.
6. Con base en el diseño experimental 22, se estableció que en la metodología A se puede obtener una mayor conversión cuando se incrementa la relación molar alcohol metílico/aceite a 7/1 y se mantiene la cantidad de hidróxido de potasio en 0,4 %, bajo estas condiciones el rendimiento fue del 93,41 % (biodiesel/aceite de colza Silvestre refinado).
7. En el proceso de transesterificación con la lipasa pancreática porcina se estableció que la cantidad de agua requerida para la activación de la enzima es del 20 % en peso respecto al sustrato (aceite) y el pH que se fijó fue de 8,0.
8. En la metodología B para la transesterificación de 500 mL de aceite de colza, se logró una mayor conversión con una relación molar alcohol etílico de 95%/aceite igual de 6/1 y con una cantidad de enzima de 0,883 g, bajo estas condiciones se obtuvo un rendimiento del 90,11 % (biodiesel/aceite de colza Silvestre refinado).
9. Al realizar los balances de masa de las metodologías A y B se estableció que la cantidad de alcohol que se puede recuperar en las etapas de evaporación de la fase glicérica y de la fase éster es del 5 al 6 % del total de alcohol que ingresó al proceso.
10. Se obtuvo a escala de laboratorio biodiesel con catálisis básica y enzimática que cumplen con el 77 % de los requisitos establecidos por las Normas ASTM D 6751-07 e INEN 2482:2009, que se realizaron en el laboratorio. Los valores de los productos obtenidos con las metodologías A y B de la combinación de magnesio y calcio, densidad y viscosidad, están fuera de los límites establecidos por las normas.

11. La torta de extracción del aceite se puede utilizar como complemento para abonos en el cultivo. Si se logra eliminar el aceite contenido en la torta puede servir como alimento para ganado. En cuanto a la glicerina semi-purificada obtenida después del proceso de transesterificación, puede tener usos en la cosmetología y en la industria oleoquímica.
12. Los costos estimados de producción, a escala de laboratorio, de los biodiesel obtenidos de acuerdo con las metodologías A y B son 1,86 y 3,10 USD/L.

## Referencias

- [1] Alessandro, J., 2006. *La producción de biocombustibles*. <http://eco.unne.edu.ar/contabilidad/costos/SanLuis2006/area7b.pdf>, (Enero, 2009).
- [2] Bartosik, R., 2008. *Manejo en la Poscosecha de Colza* [http://www.engormix.com/manejo\\_poscosecha\\_colza\\_s\\_articulos\\_1915\\_AGR.htm](http://www.engormix.com/manejo_poscosecha_colza_s_articulos_1915_AGR.htm), (Enero, 2009).
- [3] Behzadi, S y Farid, M., 2007. *Review: examining the use of different feedstock for the production of biodiesel*. <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/115805159/PDFSTART>, (Marzo, 2009).
- [4] Bailey, A., 1961. *Aceites y grasas industriales*. Editorial Reverté, Barcelona, España, pp. 21, 24, 34 - 35, 136 - 137, 422 -471.
- [5] Bragachini, M., Carrizo, R., Bonetto, L., 1991. *Cosecha de colza, Talleres Gráficos Galetto, Córdoba, Argentina*, pp. 9, 17, 31.
- [6] Camps, M. y Marcos, F., 2008. *Los Combustibles*. <http://site.ebrary.com/lib/epnsp/edf.action?p00=biocombustibles&docID=10268727&page=2>, (Febrero, 2009).
- [7] Carrillo, L., 2004. *Energía de Biomasa*. <http://www.unsa.edu.ar/matbib/ebiomasa.pdf>, (Enero, 2009).
- [8] Chamorro, A. y Tamagno, N., 2004. *Producción de materia seca aérea y radical de colza primaveral (Brassica napus L. ssp oleifera forma anual)*. <http://site.ebrary.com/lib/epnsp/docDetail.action?docID=10091053&p00=chamorro%20tamagno>, (Diciembre, 2008).
- [9] Cox, H., y Pearson, D., 1962. *The Chemical Analysis of foods*, Chemical Publishing CO., Inc., EEUU, pp. 33 - 36, 416 - 432.
- [10] Esparta, A., 2005. *Proyecto básico para obtención de la autorización ambiental integrada de una planta de biodiesel en Punta Sollana (Zierbena)*. [http://www.euskadi.net/r33-2288/es/contenidos/informacion/planta\\_biodiesel\\_moyresa/eu\\_moyresa/adjuntos/ProyectoBasico.doc](http://www.euskadi.net/r33-2288/es/contenidos/informacion/planta_biodiesel_moyresa/eu_moyresa/adjuntos/ProyectoBasico.doc), (Mayo, 2009).
- [11] García, M., 2005. *Hidrólisis enzimática de triglicéridos en emulsiones O/W. aplicación a formulaciones detergentes*. <http://hera.ugr.es/tesisugr/15750796.pdf>, (Febrero, 2009).
- [12] Hegsted, M. y Breare, J., 1997. *Tema 5 Refinación de aceites vegetales*. <http://www.uam.es/personalpdi/ciencias/alimento/Apuntes/TCAC-T5-Refinacion-aceites.pdf>, (Marzo, 2009).
- [13] Hernández, C., Alberto Mieres, Zulay Niño y Sergio Pérez, 2007. *Efecto de la refinación física sobre el aceite de la almendra del corozo (Acrocomia aculeata)*. [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642007000500008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642007000500008&script=sci_arttext), (Marzo, 2009).
- [14] Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, 1973 - 08.
- [15] Instituto cuatoriano de Normalización, INEN, 2009 - 03.
- [16] Janeiro, A., 2007. *Obtención de biodiesel a partir de la colza*. <http://193.146.36.56/aulaempresa/trabajos/Trabajos%202007/Andrea%20Janeiro/Biodiesel%20a%20partir%20de%20colza.pdf>, (Diciembre, 2008).
- [17] Kumari, A., Mahapatra, P., Garlapati, V., Banerjee R., 2009. *Enzymatic transesterification of Jatropha oil*. <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/2/1/1>, (Marzo, 2009).
- [18] Lange, N., 1941. *Handbook of Chemistry*, 4ta edición, Handbook Publishers, Inc., Ohio, Estados Unidos, p. 867.
- [19] Luna, D.; Caballero, V.; Campelo, J.; Marinas, J., 2008. *Procedimiento de producción de biodiesel mediante el uso de lipasa pancreática del cerdo como biocatalizador enzimático*. <http://www.freepatentsonline.com/W02008009772.html>, (Octubre, 2008).
- [20] Nikiema, J. y Heitz, M., 2008. *Le biodiesel. II. Production une synthèse*. <http://article.pubs.nrc-cnrc.gc.ca/RPAS/rpv?hm=HInit&journal=cjce&volume=35&aftp=107-122.pdf>, (Febrero, 2009).
- [21] Nolasco, H., Del Monte, A., Hinojosa, P., Civera, R. y Vega, F., 2006. *Digestibilidad in vitro de Lípidos Alimentarios para el Camarón*. <http://w3.dsi.uanl.mx/publicaciones/maricultura/viii/pdf/23Nolasco.pdf>, (Febrero, 2009).
- [22] Osorio, 1977. *Métodos Oficiales de Análisis Aceites y Grasas*. <http://www.usc.es/caa/MetAnalisisStgo1/4%20GRASAS%2059%20PARAMETROS.pdf>, (Enero, 2009).

- [23] Panreac Química, 2008. *Métodos Oficiales de Análisis Aceites y Grasas*. <http://www.scribd.com/doc/3955121/Metodos-Oficiales-de-Analisis-Aceites>, (Agosto, 2009).
- [24] Parreño, M., 2005. *Laboratorio de Análisis Instrumental*, Quito, Ecuador, pp. 39 - 40.
- [25] Paula, A.; Urioste, D.; Santos, J.; De Castro, H., 2007. *Porcine pancreatic lipase immobilized on polysiloxane-polyvinyl alcohol hybrid matrix: catalytic properties and feasibility to mediate synthesis of surfactants and biodiesel*. <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/114173565/PDFSTART>, (Febrero, 2009).
- [26] Perry, R., Green, D., Maloney, J., 2001. *Manual del Ingeniero Químico*, 4ta edición en español, Volumen I, McGraw Hill, Madrid, España, pp. 2-74, 2-77.
- [27] Recinos, G., Rodríguez, A., Hernández, C., Yeomans, J., 2005. *Metodología para la fabricación de biodiesel a partir del aceite de palma africana (Elais guineensis) y aceite de soya usado*. [http://usi.earth.ac.cr/tierratropical/archivos-de-usuario/Edicion/8\\_v107\\_RodriguezRecinos.pdf](http://usi.earth.ac.cr/tierratropical/archivos-de-usuario/Edicion/8_v107_RodriguezRecinos.pdf) (Enero, 2009).
- [28] Ruiz, C., 2005. *Resumen (Summary)*. [http://www.tesisenxarxa.net/TESIS\\_UB/AVAILABLE/TDX-0426106-094306//02.CRR\\_Summary\\_Spanish.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0426106-094306//02.CRR_Summary_Spanish.pdf), (Junio, 2009).
- [29] Sánchez, A., 1998. *Recuperación, purificación y caracterización de lipasas producidas por Candida rugosa. Aplicación a la resolución de compuestos quirales y diseño del reactor enzimático*. [http://www.tdcat.cesca.es/TESIS\\_UAB/AVAILABLE/TDX-0331108132326/asfide2.pdf](http://www.tdcat.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0331108132326/asfide2.pdf), (Diciembre, 2008).
- [30] Sánchez, M., 2003. *Procesos de elaboración de alimentos y bebidas*. [http://books.google.com.ec/books?id=PxrIhy9UbZkC&printsec=frontcover&source=gbs\\_summary\\_r&cad=0#PPP1,M1](http://books.google.com.ec/books?id=PxrIhy9UbZkC&printsec=frontcover&source=gbs_summary_r&cad=0#PPP1,M1), (Enero, 2009).
- [31] Sinche, M., 2009, Aislamiento, purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género Vasconcella, Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, EPN, Quito, Ecuador, pp. 46, 47.
- [32] The American Oil Chemists' Society A.O.C.S., 1963.
- [33] The American Society for Testing and Materials A.S.T.M., 2008.
- [34] Torres, M., Angulo, O., Oliart, R., Medina, L., 2009. *Efecto de la refinación física sobre la calidad química y sensorial del aceite de coco*. <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/download/551/565>, (Marzo, 2009).
- [35] Yabar, E., 2003. *Bioquímica General*. <http://www.uncp.edu.pe/Facultades/Industrias/descargas/ENZIMAS.pdf>, (Junio, 2009).