

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

Resumen

La necesidad de generar combustibles alternativos de carácter renovable que puedan reemplazar de manera parcial o total al gasoil y cuya combustión genere emisiones de escape menos tóxicas ha intensificado los esfuerzos en estas líneas de investigación. Así un biocombustible ampliamente usado en zonas ambientalmente protegidas de U.S.A y países europeos (Austria, Alemania, Italia entre otros) es el "biodiesel" (ésteres metílicos o etílicos de ácidos grasos). Actualmente, por razones de índole económica las plantas industriales destinadas a la producción de biodiesel emplean metanol, aceites vegetales o grasas animales y catalizadores básicos de origen químico, habiendo quedado postergada la alcohólisis enzimática mediante lipasas a un plano experimental secundario.

Con la finalidad de disminuir dichos costos han surgido múltiples métodos de inmovilización de enzimas para facilitar su rehuso y recupero en reactores continuos y discontinuos; pero además es esencial ajustar debidamente una serie de parámetros asociados a la naturaleza proteica de las lipasas para conservar su actividad catalítica.

La Tesis fue dividida en seis capítulos y un anexo, cuatro de ellos dan un marco teórico para comprender las relaciones entre las estructuras complejas de las lipasas y el proceso catalítico propiamente dicho; los métodos para la inmovilización de enzimas y los factores que influyen positiva y negativamente en la producción del biodiesel por métodos químicos y enzimáticos. El capítulo quinto describe los resultados experimentales de la obtención de biodiesel a escala de laboratorio por una reacción de alcohólisis entre aceite de girasol y etanol absoluto, pero catalizada por una lipasa microbiana de origen comercial (Lipozyme de Novo Nordisk). Las conclusiones generales del trabajo se presentan en el capítulo sexto, mientras que en el anexo I se exponen parámetros experimentales asociados con la cromatografía.

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

El Capítulo 1 desarrolla las propiedades generales del ciclo catalítico, origen y fuentes de las lipasas microbianas. Se describen sus estructuras proteicas (primaria, secundaria y terciaria) y su relación con los fenómenos de activación interfacial, responsables de la actividad catalítica de estas enzimas.

El Capítulo 2 profundiza sobre la naturaleza de las lipasas inmovilizadas, analizando los diferentes métodos para su inmovilización, el efecto sobre la actividad catalítica y la estabilidad del derivado inmovilizado. Finalmente se describen las diferentes habilidades de las lipasas microbianas para actuar sobre sustratos de diversos orígenes; es decir su especificidad y regioselectividad.

En el Capítulo 3 se definen los biocombustibles, en especial los ésteres alquílicos de ácidos grasos o "biodiesel". Este combustible o aditivo para el gasoil es totalmente renovable dada la naturaleza de sus materias primas y con un menor impacto ambiental. Se tratan aspectos generales de la alcohólisis por catálisis química básica así como la importancia en la formulación de los estándares de biodiesel, los que resultarían imprescindibles para impulsar su comercialización.

En el Capítulo 4 se desarrollan aquellos aspectos asociados con la producción del biodiesel pero por una vía catalítica enzimática. Se describen los factores que influyen en la conversión de los triacilglicerolos hacia ésteres alquílicos de ácidos grasos, como por ej. naturaleza de las lipasas, actividad del agua, cantidad y naturaleza del alcohol, entre otros.

El Capítulo 5, de índole experimental, explica la obtención de biodiesel a escala de laboratorio por una etanólisis libre de solventes con aceite de girasol refinado catalizada por Lipozyme, una lipasa inmovilizada de *Rhizomucor miehei* (Novo, Nordisk). La cuantificación de los diferentes componentes de la mezcla en el tiempo, es decir ésteres etílicos de ácidos

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

grasos, glicéridos y glicerol permitieron evaluar el progreso de la reacción en el tiempo a través de la conversión; habiendo sido necesario para ello la puesta a punto de una técnica por cromatográfica gaseosa. Además se analiza la influencia de diferentes parámetros de reacción como son: la relación molar de alimentación entre alcohol absoluto/aceite de girasol, la naturaleza del alcohol, la temperatura y la cantidad de catalizador sobre el rendimiento del biodiesel en un reactor discontinuo.

El Capítulo 6 resume las conclusiones generales de los parámetros asociados a la producción de biodiesel. Finalmente en el anexo I se presentan los tiempos de retención de cada uno de los componentes calibrados así como los factores de respuesta calculados y empleados para cuantificar la extensión de las reacciones de etanólisis ensayadas.

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

Abstract

The necessity of generate alternative fuels of renewable character than can replace partial o totally the gas oil and which combustion generates less toxic exhaust emissions, has intensified the efforts in these research lines. So, a biocombustible widely used in environmentally protected zones in U.S.A. an European countries (Austria, Germany, Italy, etc) is the biodiesel (fatty acids methylic or ethylic esters). At present, due to economic reasons, the biodiesel is produced in industry using methanol, vegetable oils or animal fats and basic catalysts of chemical origin, having postponed the enzymatic alcoholysis through lipases to secondary experimental plane.

With the aim of decreasing these costs, several methods of enzyme immobilization have arisen to facilitate its recovery and reuse in continuos and discontinuous reactors; besides, it is essential to fit properly a parameter series associated to the lipases protein nature to maintain its catalytic activity.

The Thesis was divided in six chapters and one appendix. Four of them give a theoretical framework to understand the relationships between the lipases complex structures and the catalytic process; the methods to the enzymes immobilization and the factors that influence positively and negatively on the production of biodiesel by enzymatic and chemical methods. Chapter 5 includes the results biodiesel obtention at laboratory scale by means of an alcoholysis reaction between sunflower oil and absolute ethanol, catalysed by a microbial lipase from commercial origin (Lipozyme of Novo Nordisk). Chapter 6 presents the general conclusions of this job, while the Appendix I includes experimental parameters associated with the chromatography.

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

Chapter 1 develops the catalytic cycle general properties, origin and the microbial lipases sources. The proteic structures (primary, secondary and tertiary) and their relationship with the interfacial activation phenomenon (responsible for the catalytic activity of these enzymes) are also described.

Chapter 2 focuses on the immobilized lipases nature, the different methods in order to their immobilization, the effect on the catalytic activity and the immobilized derivative stability. Finally, it is described the different microbial lipases abilities to act on substrates of diverse origins; i.e. their specificity and regioselectivity.

Chapter 3 deals with the biocombustibles, particularly fatty acids alkylic esters or biodiesel. Due to the nature of its raw materials, this fuel (or additive to the diesel fuel) is totally renewable and presents a minor environmental impact. General aspects of the alcoholysis reaction by basic chemical catalysis are discussed, as well as the importance in the formulation of the biodiesel standards, which would result indispensable to impulse its marketing.

Several aspects associated with the enzymatic biodiesel production are analyzed in Chapter 4. The influence of the lipases nature, water activity, quantity and alcohol nature on the conversion of triacylglycerols to fatty acids alkylic esters is discussed.

Chapter 5, includes the biodiesel obtention in laboratory by solvent-free ethanolysis of edible sunflower oil, catalyzed by Lipozyme, a commercial immobilized lipase of *Rhizomucor miehei* (Novo, Nordisk). The quantification by gas chromatography of the different compounds of reacting mixture, i.e., ethylic esters, fatty acids, glycerides and glycerol allowed to evaluate the progress of the reaction in time. In addition, the influence of

Título de la Tesis: “Análisis de Reacciones de Alcohólisis Enzimática de Aceites Vegetales”

Magister en Ingeniería Química

Autor: Pérez, Graciela Beatriz

Director: Dr. Daniel O. Borio

different reaction parameters (inicial molar ratio, alcohol nature, temperature and the amount of catalyst) on the biodiesel yield in a batch reactor is analyzed.

Chapter 6 summarizes the general conclusions about the parameters associated to the biodiesel production. Finally, Appendix I presents the retention times of each one of the calibrated components, as well as the response factors calculated and used to quantify the extension of the tried ethanolysis reactions.