

**PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE TRES TIPOS DE SEMILLA DE  
*RICINUS COMMUNIS* (Higuerilla) MEDIANTE PROCESO QUÍMICO Y  
ENZIMÁTICO Y UTILIZACIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL  
ACEITE COMO BIOCOMBUSTIBLE**

**DANIELA ANDREA PERALTA GONZALEZ  
LEIDY PAOLA ROMERO PEREZ**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BUCARAMANGA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
INGENIERÍA EN ENERGÍA  
BUCARAMANGA  
2019**

**PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE TRES TIPOS DE SEMILLA DE  
*RICINUS COMMUNIS* (Higuerilla) MEDIANTE PROCESO QUÍMICO Y  
ENZIMÁTICO Y UTILIZACIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL  
ACEITE COMO BIOCOMBUSTIBLE**

**DANIELA ANDREA PERALTA GONZALEZ  
LEIDY PAOLA ROMERO PEREZ**

**Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniera en Energía**

**DIR: DRA. GRACIELA CHALELA ALVAREZ  
CO-DIR: M.SC. LUIS EDUARDO JAIMES  
ASESORA: M.SC. YOHANA CASTRO HERNANDEZ**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BUCARAMANGA  
FACULTAD DE INGENIERIAS  
INGENIERIA EN ENERGIA  
BUCARAMANGA  
2019**

Nota de Aceptación

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Presidente del Jurado

\_\_\_\_\_  
Jurado

\_\_\_\_\_  
Jurado

Bucaramanga (29, 11, 2019)

## **DEDICATORIA**

A Dios principalmente por darme esta oportunidad de cumplir uno de mis logros, mi madre que a pesar de las adversidades me forjo como la persona que soy, a mis hermanas que siempre estuvieron ahí conmigo acompañándome.

*Leidy Paola Romero Pérez.*

Quiero dedicar esta tesis primero que todo a Dios por que sin el nada sería posible en mi vida; a mi familia, por apoyarme, sostenerme, y motivarme en todos mis proyectos, y a aquellos profesores que se encargaron de instruirme con paciencia a lo largo de mi vida.

*Daniela Andrea Peralta González*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer primero que todo a Dios por las oportunidades, y bendiciones que me ha dado a lo largo de los años y por la oportunidad de culminar mi carrera; A mis padres, por la paciencia y el amor que me han tenido desde siempre, brindándome su apoyo y motivación en todo lo que me propongo; A mis amigos y compañeros por alegrar mis días de estudiante y a mis profesores que me educaron y enseñaron las bases para iniciar mi vida laboral.

*Daniela Andrea Peralta González*

Quiero agradecer a Dios por permitirme recorrer este camino; A mi Madre por ser mi ejemplo para seguir y por estar apoyándome en todas mis decisiones; A mis hermanas y amigos que han hecho posible que hoy pueda culminar este sueño; A mis compañeros con los que he podido recorrer esta travesía gracias por dejarme ser parte de sus vidas; A mis profesores que me han guiado y enseñado siempre a dar lo mejor.

*Leidy Paola Romero Pérez*

También queremos hacer un agradecimiento a todas las personas del centro de investigación de biotecnología, bioética y ambiente- CINBBYA de la UNAB, a la Dra. Graciela Chálela Álvarez, por ayudarnos a encontrar los caminos y brindarnos las herramientas para culminar este trabajo, a Yohana Castro, por poner a nuestra disposición sus conocimientos, a Pilar, Aida, Edwin, Yamile por su apoyo, ayuda y amabilidad en cada día de trabajo.

## CONTENIDO

INDICE DE TABLAS .....	VII
INDICE DE FIGURAS.....	IX
INDICE DE ANEXOS.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3. ANTECEDENTES.....	4
4. FUNDAMENTO TEÓRICO .....	9
4.1 RICINUS COMMUNIS (Higuerilla).....	9
4.1.1 Origen .....	9
4.1.2 Características culturales .....	9
4.1.3 Descripción de la planta .....	10
4.1.4 Usos de la higuerilla.....	12
4.1.5 Toxicidad.....	13
4.2 ACEITE DE RICINO .....	13
4.2.1 Características químicas del aceite de ricino .....	14
4.3 METODOS DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE RICINO .....	15
4.3.1 Extracción por solventes (método químico) .....	15
4.3.2 Extracción por prensado en frío (método físico).....	16
4.4 BIODIESEL.....	16
4.4.1 Ventajas .....	17
4.4.2 Desventajas .....	18
4.4.3 Proceso de transesterificación .....	18
4.4.4 Variables para tener en cuenta .....	19
4.4.5 Alcohol .....	19
4.4.6 Métodos catalíticos de producción de biodiesel .....	19

4.4.7	Lipasa.....	21
4.4.8	<i>Aspergillus niger</i> .....	23
4.5	BIODIESEL EN COLOMBIA .....	24
4.5.1	Normativa para biodiesel en Colombia.....	26
4.6	BIOCOMBUSTIBLES SOLIDOS.....	27
4.6.1	Ventajas .....	28
4.6.2	Normatividad para pellets.....	29
5.	DESARROLLO DEL PROYECTO Y RESULTADOS.....	31
5.1	FASE 1: CARACTERIZACION DE LAS SEMILLAS .....	34
5.1.1	Caracterización física .....	34
5.1.2	Determinación de Humedad.....	35
5.1.3	Determinación de dureza por abrasión (DPA).....	36
5.1.4	Determinación de densidad por peso hectolitrito (DPHL).....	38
5.1.5	Número de semillas por kilogramo .....	38
5.2	EXTRACCIÓN DEL ACEITE .....	40
5.3	FASE 2: CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE .....	41
5.3.1	Determinación del volumen.....	41
5.3.2	Determinación de la densidad.....	41
5.3.3	Índice de Acidez.....	42
5.3.4	Viscosidad.....	43
5.4	PRODUCCIÓN DE BIODIESEL POR EL MÉTODO QUÍMICO .....	44
5.5	PRODUCCIÓN DE BIODIESEL POR EL MÉTODO ENZIMÁTICO.....	46
5.6	LAVADO DEL BIODIESEL .....	49
5.7	FASE 3: CARACTERIZACIÓN DEL BIODIESEL .....	49
5.7.1	Rendimiento de la reacción de transesterificación .....	50
5.7.2	Determinación del volumen.....	50
5.7.3	Determinación de la densidad.....	50
5.7.4	Determinación del índice de acidez.....	51

5.7.5	Determinación de Humedad.....	52
5.7.6	Determinación de Triglicéridos.....	52
5.7.7	Determinación del Fósforo total .....	54
5.7.8	Cromatografía de gases.....	54
5.8	FASE 4: CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO .....	60
5.8.1	Determinación de la Humedad.....	60
5.8.2	Determinación de Fósforo (P) .....	60
5.8.3	Determinación de Azufre (S) .....	61
5.8.4	Determinación de Nitrógeno (N).....	62
5.8.5	Proceso de peletización .....	63
5.8.6	Medición de la Longitud y Diámetro de los pellets .....	65
5.8.1	Densidad de los pellets .....	65
5.8.2	Determinación de ceniza de los pellets .....	66
5.8.3	Determinación de solidos volátiles .....	68
5.8.4	Determinación de contenido de Carbono .....	69
5.9	FASE 5: PRODUCCIÓN DE LIPASA A PARTIR DEL HONGO <i>ASPERGILLUS NIGER</i> .....	70
6.	CONCLUSIONES .....	75
7.	RECOMENDACIONES.....	77
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	78
9.	ANEXOS.....	82

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resumen Antecedentes .....	4
<b>Tabla 2.</b> Composición química del aceite de higuera .....	14
<b>Tabla 3.</b> Nombre y propiedades del ácido ricinoleico .....	15
<b>Tabla 4.</b> Plantas de producción de Biodiesel en Colombia.....	25
<b>Tabla 5.</b> Requisitos del biodiesel .....	26
<b>Tabla 6.</b> Calidad de pellets según norma EN 14961-2 .....	29
<b>Tabla 7.</b> Características fisicoquímicas de pellets y briquetas .....	29
<b>Tabla 8.</b> Semillas de higuera usadas en el trabajo.....	34
<b>Tabla 9.</b> Resultado de caracterización física de las semillas.....	35
<b>Tabla 10.</b> Resultados de humedad de las semillas .....	36
<b>Tabla 11.</b> Resultado de dureza (DPA).....	37
<b>Tabla 12.</b> Resultado de densidad (DPHL) .....	38
<b>Tabla 13.</b> Resultado Numero de semillas por kilogramo .....	39
<b>Tabla 14.</b> Resultado de volumen obtenido de cada tipo de semilla.....	41
<b>Tabla 15.</b> Resultado de densidad obtenido de cada tipo de semilla.....	41
<b>Tabla 16.</b> Resultado de Índice de acidez y acidez obtenida las semillas .....	43
<b>Tabla 17.</b> Resultado de viscosidad para los aceites obtenidos .....	43
<b>Tabla 18.</b> Condiciones del diseño experimental 23 .....	44
<b>Tabla 19.</b> Condiciones del diseño experimental 23 .....	46
<b>Tabla 20.</b> Fotografía de biodiesel obtenido química y enzimáticamente .....	48
<b>Tabla 21.</b> Resultados del rendimiento .....	50
<b>Tabla 22.</b> Resultados del volumen obtenido de biodiesel.....	50
<b>Tabla 23.</b> Resultados de la Densidad de los biodiesel obtenidos.....	51
<b>Tabla 24.</b> Resultados de Índice de acidez y acidez obtenida de los biodiesel .....	52
<b>Tabla 25.</b> Resultados de la Humedad obtenida en los biodiesel .....	52
<b>Tabla 26 .</b> Resultado de la prueba de triglicéridos de los biodiesel obtenidos .....	53
<b>Tabla 27.</b> Resultado de la prueba de fósforo de los biodiesel obtenidos.....	54
<b>Tabla 28.</b> Resultados de cromatografía de cada biodiesel.....	57
<b>Tabla 29.</b> Resultados de contenido de humedad en el residuo .....	60
<b>Tabla 30.</b> Resultados de contenido de fosforo .....	61
<b>Tabla 31.</b> Resultados de contenido de azufre .....	62
<b>Tabla 32.</b> Resultados de contenido de nitrógeno .....	63
<b>Tabla 33.</b> Resultados longitud y diámetro Pellets.....	65
<b>Tabla 34.</b> Resultado densidad de pellets.....	66
<b>Tabla 35.</b> Resultados de porcentaje de cenizas del residuo .....	68

<b>Tabla 36.</b> Resultados de solidos volátiles.....	69
<b>Tabla 37.</b> Resultado contenido de Carbono .....	70
<b>Tabla 38.</b> El hongo <i>Aspergillus niger</i> cultivado en diferentes sutratos.....	71
<b>Tabla 39.</b> Primera prueba de lipasa a partir de <i>Aspergillus niger</i> .....	72
<b>Tabla 40.</b> Segunda prueba de lipasa a partir de <i>Aspergillus niger</i> .....	73

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fotografía planta de higuera.....	9
<b>Figura 2.</b> Tallo de la planta de higuera .....	11
<b>Figura 3.</b> Hoja de la planta de higuera.....	12
<b>Figura 4.</b> Flor de la planta de higuera .....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura del ácido ricinoleico .....	14
<b>Figura 6.</b> Proceso de extracción de aceite por el método químico.....	15
<b>Figura 7.</b> Prensa para extracción por el método frío .....	16
<b>Figura 8.</b> Reacción de transesterificación .....	19
<b>Figura 9.</b> Fotografía de la enzima lipasa comercial.....	22
<b>Figura 10.</b> Fotografía de cultivo de <i>Aspergillus niger</i> .....	24
<b>Figura 11.</b> Calibrador o pie de rey usado para la medición.....	35
<b>Figura 12.</b> Muestra de semilla 2 para determinar la humedad .....	36
<b>Figura 13.</b> Muestras de semilla 2 para determinación de DPA .....	37
<b>Figura 14.</b> Muestra de semilla 2 para determinación de DPHL.....	38
<b>Figura 15.</b> Muestra de semilla 2 para determinar número de semillas por kg .....	39
<b>Figura 16.</b> Prensa usada para la extracción del aceite CINBBYA.....	40
<b>Figura 17.</b> Proceso de extracción del aceite de ricino.....	41
<b>Figura 18.</b> Fotografía de prueba de Acidez de los aceites .....	43
<b>Figura 19.</b> Proceso de producción del biodiesel por vía química .....	45
<b>Figura 20.</b> Proceso de producción del biodiesel por vía química .....	45
<b>Figura 21.</b> Proceso de producción del biodiesel por vía enzimática.....	47
<b>Figura 22.</b> Proceso de lavado del biodiesel .....	49
<b>Figura 23.</b> Prueba de índice de acidez para el biodiesel.....	51
<b>Figura 24.</b> Espectrofotómetro usado para las pruebas de triglicéridos .....	53
<b>Figura 25.</b> Fotografía de las cubetas de fosfatos usadas.....	54
<b>Figura 26.</b> Fotografía del Cromatógrafo del CINBBYA usado en el proyecto .....	55
<b>Figura 27.</b> Comparación de la cromatografía de los biodiesel obtenidos.....	56
<b>Figura 28.</b> Cubetas utilizadas en la caracterización del residuo.....	60
<b>Figura 29.</b> Kit de Fósforo utilizado.....	61
<b>Figura 30.</b> Kit de Azufre utilizado .....	62
<b>Figura 31.</b> Kit de Nitrógeno utilizado .....	63
<b>Figura 32.</b> Gato Hidráulico usado para prensar el residuo.....	64
<b>Figura 33.</b> Pellets obtenidos de las tres semillas .....	64
<b>Figura 34.</b> Mufla usada para la prueba de cenizas .....	66

<b>Figura 35.</b> Residuo de las tres semillas usado para la prueba de cenizas.....	67
<b>Figura 36.</b> Residuos de las tres semillas después de calcinarse .....	67
<b>Figura 37.</b> Fotografía de crisoles en el horno a 105°C .....	68
<b>Figura 38.</b> Fotografía de crisoles en la mufla a 550°C .....	69
<b>Figura 39.</b> Fotografía de crisoles con 5 gr de las muestras .....	70
<b>Figura 40.</b> Fotografía del residuo luego se 4 horas en la mufla .....	70
<b>Figura 41.</b> Utilización de lipasa cruda como catalizador .....	74

## INDICE DE ANEXOS

Anexo A: FICHA TÉCNICA DE LIPASA UTILIZADA .....	82
--	----

## RESUMEN

Este trabajo presenta la investigación de tipo cuantitativo experimental referente a la producción de biodiesel a partir de tres diferentes semillas de *Ricinus communis* que se obtienen en Colombia, utilizadas para el proceso de transesterificación de tipo químico y un proceso biológico usando la enzima lipasa.

Se realizó la caracterización física de las semillas que se utilizaron y se realizó una caracterización química del aceite obtenido en donde se analizaron los parámetros de densidad, acidez, viscosidad, y triglicéridos. Después se obtuvo el biodiesel por medio de dos formas diferentes, la primera reacción de transesterificación se obtuvo usando aceite con metanol y el hidróxido de potasio como catalizador; la segunda reacción de transesterificación que se realizó se obtuvo mediante el aceite de ricino con metanol y la enzima lipasa, conjunto a esto, se hicieron pruebas para usar la enzima lipasa a partir del hongo *Aspergillus Níger*. Se caracterizaron los biodiesel obtenidos, y se les hizo pruebas de densidad, humedad, índice de acidez, porcentaje de fósforo y cromatografía. Todos los resultados de la caracterización fueron comparados con las especificaciones técnicas estipuladas en la Norma Técnica Colombiana NTC 5444 y la ASTM D6751 para biocombustibles.

**PALABRAS CLAVE:** Combustibles fósiles, Biocombustible, Higuera, Biodiésel, Lipasa, Transesterificación.

## ABSTRACT

This paper presents the research of experimental quantitative type concerning the production of biodiesel from three different seeds of *Ricinus communis* that are obtained in Colombia, used for the process of chemical transesterification and a biological process using the enzyme lipase.

We performed the physical characterization of the seeds that were used and we performed a chemical characterization of the oil obtained where we analyzed the parameters of density, acidity, viscosity, and triglycerides. After obtaining biodiesel by means of two different forms, the first transesterification reaction was obtained using oil with methanol and potassium hydroxide as catalyst; the second transesterification reaction that was performed was obtained by castor oil with methanol and the enzyme lipase, together with this, tests were made to use the enzyme lipase from the fungus *Aspergillus Niger*. The obtained biodiesel was characterized and tested for density, humidity, acidity index, phosphorus percentage and chromatography. All characterization results were compared with the technical specifications stipulated in the Colombian Technical Standard NTC 5444 and the ASTM D6751 for biofuels.

**KEY WORDS:** Fossil fuels, Biofuel, Higuierilla, Biodiesel, Lipase, Transesterification.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles no son inagotables, las reservas de petróleo, gas y carbón en el mundo son limitadas y cada año van disminuyendo debido a las grandes demandas de energía de la sociedad. No obstante, ésta no es la única razón por la cual la extracción de hidrocarburos debe limitarse, no es un secreto los efectos negativos que estos compuestos tienen en el planeta, las temperaturas van aumentando, según un estudio hecho por el Centro de Investigación de Energía de Reino Unido (UK Energy Research Centre) desde el 2015 al 2050, un tercio de las reservas de petróleo, el 40% de las reservas de gas y 80% de carbón, no deben ser explotadas, solo así se podrá conseguir que la temperatura de la tierra no se aumente más de 2° C respecto a los valores que había en la era preindustrial. [1]

Los problemas ambientales relacionados al uso de los combustibles fósiles hacen que cada día más el mundo se preocupe por buscar alternativas para mitigar los efectos contaminantes; una de estas alternativas para ayudar al planeta y no dejar de tener el mismo estilo de vida, es el uso de los biocombustibles, que son mezclas de sustancias orgánicas como la caña de azúcar, el maíz, el sorgo dulce, la remolacha azucarera, madera y aceites vegetales como el de girasol, soja, palma, colza, entre otros. En Colombia, se usa para la producción de biodiesel el aceite de palma africana, pero aunque se quiere hacer ver como una solución, realmente tiene aspectos no tan favorables, como por ejemplo, la tala de selvas tropicales que llevan a la pérdida de la biodiversidad [2], el uso de la tierra se limita aproximadamente a 20 años, ya que la planta de palma esteriliza la tierra, y sumándole a esto que este biodiesel provoca tres veces más emisiones de gases de efecto invernadero que los combustibles fósiles [3].

Este proyecto se basa en tres importantes eventos, el primero es dar a conocer una alternativa que no está bien desarrollada en Colombia la cual es el uso de una enzima para la fabricación de biodiesel y además de esto la producción de la enzima lipasa a partir del hongo *Aspergillus niger*. El segundo es hacer la comparación de la producción de biodiesel a partir de tres tipos de semillas de higuera, por vía tradicional y enzimática, haciendo su debida comparación y demostrar cual es óptimo y con propiedades más cercanas a lo que dicta la Norma Técnica Colombiana NTC 5444 y la ASTM D6751 para biocombustibles. El tercero es el aprovechamiento del residuo obtenido de la extracción de los aceites de las semillas de higuera, como bien se sabe el calentamiento global por el aumento en las emisiones de gases de efecto invernadero y el incremento en los precios de

combustibles fósiles han creado una nueva industria enfocada en la generación de energía proveniente de fuentes renovables, como lo es la biomasa siendo la principal fuente de energía térmica y la tercera principal de energía eléctrica. Los pellets tienen la ventaja de ser fáciles de transportar, poseen una alta densidad, dureza y resistencia, todo esto los hace una opción viable ante este problema.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Producir Biodiesel a partir de tres tipos de semilla de *Ricinus communis* mediante proceso químico y enzimático y utilización del residuo de la extracción del aceite como biocombustible.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físicamente los tipos de semillas de *Ricinus communis*: Mirante 10, Sipeal 28 y Sangue-De-Boi.
- Determinar las características fisicoquímicas del aceite producido a partir de las semillas, tales como: densidad, triglicéridos, humedad, viscosidad y acidez.
- Realizar el proceso de transesterificación de cada aceite obtenido mediante método químico y enzimático.
- Comparar la calidad del biodiesel obtenido de cada una de las semillas por medio de parámetros seleccionados de las normas NTC 5444 y ASTM D6751.
- Elaborar pellets a partir del residuo de la extracción de aceite de higuera.

### 3. ANTECEDENTES

Para elaborar el proyecto, se realizó una búsqueda de proyectos relacionados, dividida en cuatro partes, la primera consistió en antecedentes basados en la producción de biodiesel de manera química, se tomaron datos de guía como temperaturas, tiempo, cantidades, usadas para el diseño experimental, la segunda parte fue la búsqueda sobre producción de biodiesel por vía enzimática, que enzima se puede usar, que debía contener para ser lo suficientemente óptima, entre otras variables; la tercera parte de la búsqueda consistió en el uso del hongo *Aspergillus niger* para producir lipasa y conjunto a esto ser usada para la producción de biodiesel por vía enzimática; por último, para la elaboración de los pellets y sus respectivas pruebas, se buscó información de paletización y normas relacionadas.

**Tabla 1.** Resumen Antecedentes

NOMBRE	AUTOR	FECHA	RESÚMEN
Producción y caracterización de las lipasas de <i>Aspergillus niger</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i> .	Coca J, Hernández O, Berrio R, Martínez S, Díaz E, Dustet J.	2001 [4]	Se investigaron 12 microorganismos productores de lipasas, desarrolladas en aceite de oliva 2% como fuente de carbono. Se apreció la actividad lipolítica y características cinéticas de las lipasas extracelulares expresadas por los mejores productores, <i>Aspergillus niger</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i>
Caracterización de las propiedades de la <i>Jatropha</i> y la <i>Higuerilla</i> como insumos para la producción de biodiesel y su potencial en la mitigación de emisiones de gases	Fuentes A.	2006 [5]	Se caracterizan y documentan las propiedades de las semillas en la producción de biodiesel, así como la posible utilización energética alterna de los subproductos

de efecto invernadero.			
Determinación de las condiciones óptimas para la producción de Biodiesel a partir de aceite de higuera y aceite de palma.	Pérez N, Uribe J.	2008 [6]	Se desarrollo un diseño de experimentos de 3 factores y 2 niveles con una sola replica para la producción de biodiesel a escala de laboratorio a partir de aceite de higuera y aceite de palma.
Biodiesel a partir de aceite de higuera utilizando lipasa inmovilizada.	Palomino A, Bocanegra C, López J, Flores L.	2009 [7]	Se analizó la transesterificación del aceite de higuera con metanol, usando lipasa inmovilizada Mucor Miehei como catalizador de la reacción y un aditivo solvente.
Obtención de biodiesel por vía enzimática a partir de un aceite modelo de microalgas en medios no convencionales.	Calvo L, Ladero M.	2010 [8]	Se muestra la producción de biodiesel a partir de aceite de microalga obtenido por catálisis enzimática, usando novozyme y lipozyme
Obtención y caracterización de Biodiesel a partir de aceite de semillas de <i>Ricinus communis</i> (higuera) modificadas genéticamente y cultivadas en el eje cafetero.	Sánchez I, Huertas K.	2012 [9]	Se presenta una investigación experimental, con el fin de evaluar las características principales del biodiesel de aceite de semillas de higuera modificadas genéticamente.
Caracterización de aceite de higuera ( <i>Ricinus communis</i> )	Cornejo M, Estrada O.	2012 [10]	Se usaron dos tipos de semilla para hacer aceite de ricino, y realizar su

de dos variedades silvestres para la producción de biodiesel en la región del Valle de Mezquital, Hidalgo			correspondiente caracterización, y por consiguiente producir el biodiesel con estos aceites para hacer su comparación
Estudio de planta piloto para paletización de residuos madereros y su utilización como combustible en hornos ladrilleros	González A, García C, Talero G.	2013 [11]	El estudio piloto comparó el desempeño energético y ambiental del uso de combustibles a partir de dos tipos de biomasa paletizadas —residuos de podas de césped, arbustos y árboles de la ciudad y residuos de producción de muebles y aglomerados, aserrín
Sostenibilidad de los biocombustibles para autoconsumo en un entorno rural	Aguilera J.	2014 [12]	Se busca relacionar dos sectores (biocombustibles y el sector algodonero español) que sin tener nada en común pueden verse beneficiados por una solución que mejore la situación de ambos.
Estudio de la estabilidad del biodiesel obtenido a partir de aceite de higuera ( <i>Ricinus Communis</i> )	Pardo P.	2015 [13]	Se llevó a cabo un estudio de estabilidad de biodiesel de higuera bajo condiciones oxidantes, teniendo variables como aire, luz, temperatura evaluadas en nivel bajo (80°C) y en nivel alto (100°C) durante un periodo de 92 horas.
Biodiesel Production by <i>Aspergillus niger</i> Lipase Immobilized on Barium Ferrite Magnetic Nanoparticles	El-Batal A, Farrag A, Elsayed M, El-Khawaga A	2016 [14]	En este estudio, el hongo <i>Aspergillus niger</i> se irradiaron con rayos gamma para producir la enzima lipasa y luego se inmovilizaron en nano partículas de ferrita de

			bario magnético para la producción de biodiesel. Las actividades de la lipasa libre e inmovilizada se midieron a varios valores de pH y temperatura.
Producción de biodiesel mediante transesterificación enzimática de aceite extraído de residuos de la industria de alimentos	Polo L, Fontalvo M, Mendoza D.	2017 [15]	Se sintetizó biodiesel mediante transesterificación enzimática del aceite extraído de residuos del corozo <i>Bactris minor</i> , provenientes de una industria de jugos del departamento del Atlántico, usando como catalizador la lipasa de <i>Candida antarctica</i> . Se obtuvo un porcentaje optimizado de extracción del aceite del 40% usando el Método Soxhlet.
Producción enzimática de biodiesel con biomasa lignocelulosa	Alcalá D, Cujilema M, Ramos L.	2018 [16]	Se discute la estrategia de investigación y desarrollo tecnológico para crear condiciones que permitan la producción a escala piloto de bioetanol y biodiesel lignocelulósicos. Se muestra, como el desarrollo de biocombustibles lignocelulósicos es la vía más amigable con el medioambiente.
Producción de lipasas por fermentación sólida con <i>Aspergillus niger</i> . influencia del pH.	Cujilema M, León G, Rizo M, Taramona L.	2018 [17]	Se diseñó un experimento en el que se estudió este factor, así como el tiempo de fermentación en cinco niveles. La variable medida fue la actividad y

			productividad enzimática. Como resultado se logró que los valores máximos de productividad se alcanzaran a pH inicial bajo y a menor tiempo de fermentación
--	--	--	---

**Fuente:** *Elaboración propia*

## 4. FUNDAMENTO TEÓRICO

### 4.1 RICINUS COMMUNIS (Higuerilla)

#### 4.1.1 Origen

La planta es originaria de África de donde se extendió al Medio Oriente como planta silvestre. En la India y la China fue conocida hace unos 3000 años probablemente se introdujo en América después del descubrimiento. Los egipcios hace más de 4000 años, empleaban la higuerilla en la iluminación o alumbrado de sus casas, parece que era una planta altamente estimada porque en algunas tumbas egipcias se ha encontrado sus semillas [3].



**Figura 1.** Fotografía planta de higuerilla

**Fuente:** Alcaldía de Medellín 2012

#### 4.1.2 Características culturales

Siembra: La mejor época para la siembra es al inicio de las lluvias. Esta se hace de forma directa y su distancia de siembra depende de la variedad y del tipo de cultivo a establecer. Se siembra por sitio de 3-4 semillas a 3-5 cm de profundidad para conseguir un alto porcentaje de germinación, se recomienda usar semilla certificada. La germinación puede variar en un ciclo de 8-10 días. Durante los dos últimos meses del cultivo es importante que este no reciba agua. [18]

Fertilización: Los altos niveles de nitrógeno perjudican la cantidad de flores y frutos pues se incrementa el desarrollo de hojas innecesarias. Para obtener un adecuado equilibrio se debe hacer análisis de suelos y darles importancia a las aplicaciones de calcio y fósforo. [18]

Control de malezas: En el primer periodo de crecimiento de la higuierilla se debe evitar competencia con las malezas. [18]

Raleos: A los 8-10 días germinan las semillas y a los 30 días aproximadamente se debe realizar el primer raleo, eliminando las plantas más débiles con crecimiento defectuoso o con daños mecánicos, etc. [18]

Cosecha: Puede iniciarse a los 100-150 días después de la siembra. Los racimos se cortan con cuchillos afilados o tijeras podadoras. La mejor hora para hacer a la recolección son las de la mañana.

El corte de los racimos puede hacerse cuando éstos se han secado completamente, pero se corre el riesgo de que se hayan desgranado o se desgranen al tirar los racimos al suelo. Las variedades dehiscentes se desgranar naturalmente con el secado al sol, luego es necesario limpiar bien la semilla sea por ventilación o a mano. Las variedades indehiscentes deben descascararse a máquina. [18]

Secado: Los racimos deben secarse en patios de cemento o cajones grandes y pandos con fondo metálico, o artificialmente en máquinas secadoras. Es imprescindible estar removiendo los racimos para acelerar el secado.

Si la cápsula abre explosivamente y el grano es empujado violentamente es necesario cubrir los cajones con un marco de anjeo para evitar la pérdida de los granos. Generalmente cuando los racimos se recogen secos de la planta, solo necesitan de 12 a 16 horas de sol. [18]

Desgrane: En el manipuleo de la secada, si la variedad es altamente dehiscente un gran porcentaje de las cápsulas se desgranar en el proceso, el resto una vez separados los vástagos secos, es necesario desgranarlos manualmente. [18]

#### **4.1.3 Descripción de la planta**

Raíz: Es pivotante y puede alcanzar hasta 3 m de profundidad constituyéndose el anclaje principal de la planta. Presenta raíces secundarias numerosas y oblicuas, situadas a poca profundidad.[19]

Tallo: La planta está dotada de un tallo principal recto seccionado por entrenudos, hueco en su parte interior lo cual facilita la eliminación de la soca. Su color depende de la variedad puede ser verde, rosado o caoba. [19]



**Figura 2.** Tallo de la planta de higuera  
**Fuente:** Alcaldía de Medellín 2014[20]

Hojas: Alternas, pecioladas, palmeadas con 7 a 11 lóbulos, dentadas, con nerviación palmatinervia. Peciolos redondos de 8 a 50 cm de largo y de 10 a 20 cm de longitud; con dos glándulas nectaríferas en la unión con la lámina, dos glándulas en la unión con el peciolo; la lámina de la hoja tiene 10 a 75 cm de diámetro y de un color que va de verde a rojo. [19]



**Figura 3.** Hoja de la planta de higuera  
*Fuente: Alcaldía de Medellín 2014[20]*

Flores: Están agrupadas en una panícula terminal de 10 a 40 cm de largo, la cual es monoica, las flores femeninas están localizadas en la parte superior y las masculinas en la parte inferior de la inflorescencia. [19]



**Figura 4.** Flor de la planta de higuera  
*Fuente: Alcaldía de Medellín 2014[20]*

#### 4.1.4 Usos de la higuera

- En la antigüedad se usó para repeler los insectos de los cultivos por los principios tóxicos que tiene y aun algunos campesinos la utilizan para este fin.
- Se usa para dar sombra a los cultivos de cacao y café por su rápido crecimiento y por el tamaño y forma de su hoja.
- Debido a su composición química, el aceite de higuera conserva su viscosidad a altas temperaturas y resiste muy bajas sin congelarse, razón por la cual se emplea para motores de altas revoluciones.
- El aceite refinado se usa en cosméticos y en productos medicinales. El uso más común es como purgante, llamado aceite de ricino.
- El aceite de higuera sulfonato, se usa en la impresión y acabado de tejidos de algodón, lino, seda y en curtiembres.
- Deshidratado sirve de base para la preparación de líquidos para frenos y pinturas y por convertirse en aceite secante reemplaza con ventaja los aceites de tung y de linaza que se importan actualmente. [18]

#### **4.1.5 Toxicidad**

Las semillas son muy tóxicas, por la presencia de una proteína llamada ricina, ya que basta la ingestión de unas pocas, masticadas o tragadas, para que se produzca un cuadro de intensa gastroenteritis con deshidratación; puede dañar gravemente el hígado y el riñón e incluso producir la muerte. Es una de las toxinas biológicas más potentes que se conocen. La cantidad de toxina contenida en 8 o 10 semillas puede ser mortal para un adulto (3 semillas si se trata de un niño). Las intoxicaciones suelen ser casi siempre accidentales. El ricino aparece por esta razón como posible arma química. [21]

## **4.2 ACEITE DE RICINO**

El ácido ricinoleico (ácido 12-hidroxi-9-cis-octadecenóico) es un ácido graso omega 9 insaturado que se encuentra naturalmente en el aceite de ricino (*Ricinus communis* L., también llamado *castor* o *tártago*, Euphorbiaceae), extraído de semillas obtenidas de plantas maduras. Alrededor del 90% del contenido de ácido graso en el aceite de ricino se forma a partir de triglicéridos de ácido ricinoleico. Químicamente, se diferencia del ácido oleico por tener un hidroxilo en el décimo segundo carbono (a partir del carboxilo). [10]

Se obtiene a partir de las semillas de la planta *Ricinus communis*, que contienen aproximadamente un 40-50% de su peso del aceite. El aceite a su vez contiene el 70-77% de los triglicéridos del ácido ricinoleico. A diferencia de las propias semillas, no es tóxico. [22]

#### 4.2.1 Características químicas del aceite de ricino

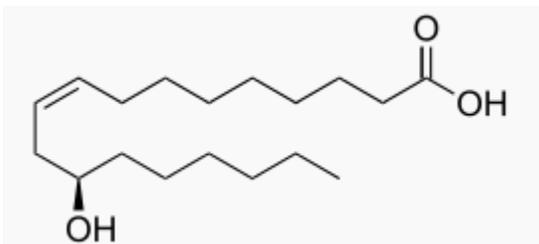
En la tabla 2, se observa la composición química del aceite de higuera, expresada en porcentajes, y la mayor concentración de ácido es el ricinoleico el cual es el responsable del proceso de transesterificación.

**Tabla 2.** Composición química del aceite de higuera

Componentes	%
Ácido Ricinoleico	70
Ácido Linoleico	12
Ácido Oleico	12
Índices	
Saponificación	181
Refracción (25°C)	1.47
Densidad (15°C)	0.964

**Fuente:** ASOCOINGRA (2010)

Producción del ácido ricinoleico: El ácido ricinoleico se fabrica industrialmente por saponificación o destilación fraccionada de aceite de ricino hidrolizado. El ricinoleato de zinc se utiliza en productos de cuidado personal, como desodorantes. [23]



**Figura 5.** Estructura del ácido ricinoleico

**Fuente:** ResearchGate.2014

En la figura 5 se observa la estructura del ácido ricinoleico, el cual se encuentra presente en las semillas de higuera y es un indicador para garantizar la producción de biodiesel.

**Tabla 3.** Nombre y propiedades del ácido ricinoleico

Nombre IUPAC	ácido (9Z,12R)-12-Hydroxyoctadec-9-enoico
Formula Molecular	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
Masa molar	298.461 g/mol

**Fuente:** PNAS

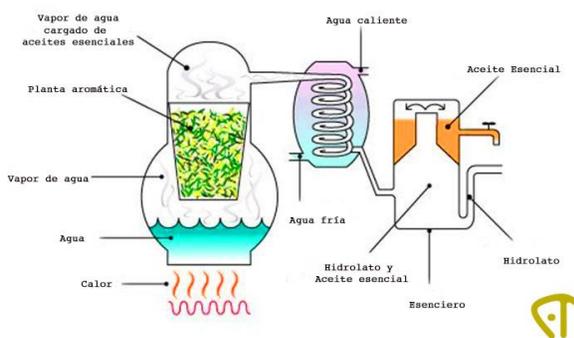
### 4.3 METODOS DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE RICINO

Existen dos métodos principales usados para la extracción del aceite de ricino, los cuales se explican a continuación.

#### 4.3.1 Extracción por solventes (método químico)

La extracción de lípidos con solventes químicos se ha utilizado tradicionalmente para obtener lípidos de fuentes animales y vegetales, para el caso de las microalgas el solvente es por lo general adicionado a la biomasa seca, aunque en algunos casos es utilizado en biomasa con cierta cantidad de agua, lo que disminuye los costos globales del proceso, pero disminuye también la eficiencia de la extracción.

Un inconveniente que presentan los métodos de extracción con solvente químico son las grandes cantidades de dichos solventes que se deben utilizar para obtener cantidades significativas de aceite esto implica mayores costos de operación, una alternativa para la disminución de estos costos es la reutilización de solvente, sin embargo, esto disminuye la eficiencia de la extracción ya que la pureza del solvente es la fuerza impulsora de la transferencia de masa. [24]



**Figura 6.** Proceso de extracción de aceite por el método químico

**Fuente:** Oto Stalin (2009)

### 4.3.2 Extracción por prensado en frío (método físico)

El proceso de prensado en frío es utilizado en su mayor parte para la extracción de plantas oleíferas y de cítricos. El prensado en frío se realiza haciendo pasar las semillas que se van a trabajar, por medio de planchas. Durante el desarrollo de este proceso la temperatura puede irse elevando, por lo que se recomienda que no llegue a altas temperaturas porque el aceite podría perder propiedades terapéuticas, vitamínicas y aromáticas.

La temperatura a la que la prensa trabaja está alrededor de los 27°C con un máximo de 49°C. En el interior de la máquina se realiza un proceso de molturación, que consiste en la trituración de la semilla para lograr conseguir una pasta semisólida. Ese proceso se hace por tiempos moderados y las semillas pasan a través de unas ruedas de granito o acero inoxidable donde se obtiene la pasta. Esa pasta semisólida es expulsada de la máquina de manera líquida, conteniendo el aceite de la semilla pasada. Este aceite contiene cierta cantidad de impurezas, es por esto por lo que se le realiza un proceso de filtrado para que estas sean removidas y quede un aceite puro, y, Por otro lado, de la extracción, se expulsan los residuos sólidos que quedaron de la semilla. [25]



**Figura 7.** Prensa para extracción por el método frío

**Fuente:** Mercado libre

## 4.4 BIODIESEL

El biodiesel es un combustible de origen vegetal que puede reemplazar al tradicional combustible de origen fósil, diésel o ACPM. Las razones para su uso en motores de combustión interna alternativos (MCIA) de encendido por compresión (diésel) son

principalmente dos: primero que todo, su naturaleza biodegradable y renovable convirtiéndolo en una alternativa de desarrollo sostenible; y segundo, la reducción de la emisión de contaminantes al medio ambiente en comparación con el diésel convencional.

Sin embargo, para poder utilizar el biodiesel en motores es necesario que cumpla con ciertas características o propiedades de tal manera que su efecto no sea más perjudicial que el diésel o ACPM tradicional. El biodiesel es un combustible no derivado del petróleo que consiste en esteres que se pueden derivar tanto de la transesterificación de los triglicéridos, presentes en los aceites vegetales, como de la esterificación de los ácidos grasos libres. Sus propiedades son similares a las del diésel convencional y puede ser utilizado como sustituto o en mezclas. Al ser un combustible obtenido de fuentes naturales tiene características que hacen de su uso un mecanismo favorable al medio ambiente. [26]

#### **4.4.1 Ventajas**

- Su producción es renovable.
- Su proceso de producción primaria y elaboración industrial determina un balance de carbono menos contaminante que los combustibles fósiles.
- Cumple con los requisitos de la Environmental Protection Agency (EPA) para los combustibles alternativos.
- Puede emplearse puro o combinado con los combustibles fósiles en cualquier proporción.
- No contiene azufre y por ende no genera emanaciones de este elemento, las cuales son responsables de las lluvias ácidas.
- Mejor combustión, que reduce el humo visible en el arranque en un 30%.
- Cualquiera de sus mezclas reduce en proporción equivalente a su contenido, las emanaciones de CO<sub>2</sub>, CO, partículas e hidrocarburos aromáticos. Dichas reducciones están en el orden del 15% para los hidrocarburos, del 18% para las partículas en suspensión, del 10% para el óxido de carbono y del 45% para el dióxido de carbono. Estos indicadores se mejoran notablemente si se adiciona un catalizador.
- Los derrames de este combustible en las aguas de ríos y mares resultan menos contaminantes y letales para la flora y fauna marina que los combustibles fósiles.

- Volcado al medio ambiente se degrada más rápidamente que los petrocombustibles.
- Su combustión genera menos elementos nocivos que los combustibles tradicionales reduciendo las posibilidades de producir cáncer.
- Es menos irritante para la epidermis humana.
- Actúa como lubricante de los motores prolongando su vida útil.
- Su transporte y almacenamiento resulta más seguro que el de los petroderivados ya que posee un punto de ignición más elevado. El biodiésel puro posee un punto de ignición de 148°C contra los escasos 51°C del gasoil.

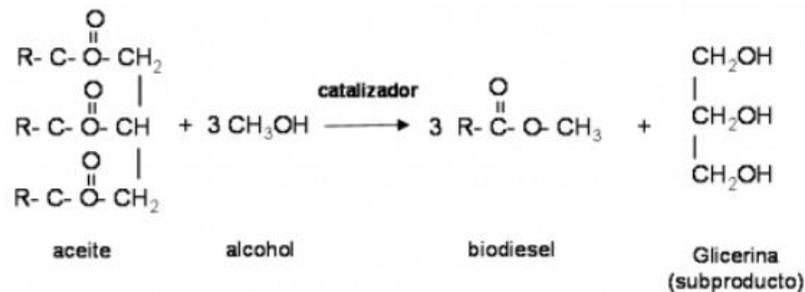
#### **4.4.2 Desventajas**

- El biodiésel presenta problemas de fluidez y congelamiento a bajas temperaturas (<0°C), especialmente el que se produce de palma africana.
- Los costos de la materia prima son elevados y guardan relación con el precio internacional del petróleo. Dichos costos representan el 70% de los costos totales del biodiésel, por lo que este actualmente es un producto relativamente costoso.
- Por su alto poder solvente se recomienda almacenar el biodiésel en tanques limpios; si esto no se hace, los motores podrían ser contaminados con impurezas provenientes de los tanques.
- El contenido energético del biodiésel es algo menor que el del diésel (12% menor en peso u 8% en volumen), por lo que su consumo es ligeramente mayor.
- El biodiésel de baja calidad (con un bajo número de cetano) puede incrementar las emisiones de NOx (óxidos de nitrógeno), pero si el número de cetano es mayor que 68, las emisiones de NOx serían iguales o menores que las provenientes del diésel fósil.
- Por sus propiedades solventes, puede ablandar y degradar ciertos materiales, tales como el caucho natural y la espuma de poliuretano. Es por esto por lo que puede ser necesario cambiar algunas mangueras y retenes del motor antes de usar biodiesel en él, especialmente con vehículos antiguos.

#### **4.4.3 Proceso de transesterificación**

El proceso de transesterificación consiste en combinar el aceite (normalmente aceite vegetal) con un alcohol ligero, normalmente metanol; dejando como residuo

glicerina que puede ser aprovechada por la industria cosmética, entre otras. Tal como se puede apreciar en la figura 8.



**Figura 8.** Reacción de transesterificación

*Fuente: Centro europeo de postgrado*

#### 4.4.4 Variables para tener en cuenta

Para la realización del proceso de transesterificación, se debe tener en cuenta ciertas variables como son:

- Materia Prima
- Temperatura de la reacción
- Relación molar alcohol/aceite
- Tipo y cantidad del catalizador
- Velocidad de agitación

#### 4.4.5 Alcohol

Con respecto a la elección entre metanol y etanol, el primero es más barato, más reactivo y los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) que se producen son más volátiles que los ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEE); sin embargo, el etanol es menos tóxico y se considera más renovable, porque se obtiene por fermentación de una fuente amilácea o sacarificable. Por el contrario, el metanol se obtiene principalmente del gas natural, una fuente no renovable. En cuanto a sus características como combustibles, los FAME y los FAEE muestran ligeras diferencias; por ejemplo, los FAEE tienen viscosidades más altas y puntos de nube y fluidez más bajos que los correspondientes FAME.[27]

#### 4.4.6 Métodos catalíticos de producción de biodiesel

La reacción de transesterificación puede ser catalizada por bases, ácidos o enzimas. Los triglicéridos son ésteres de cadenas largas, ácidos carboxílicos combinados con glicerol. Los ácidos carboxílicos  $\{R-C(=O)-O-H\}$  pueden ser convertidos dentro de los metil ésteres  $\{R-C(=O)-O-CH_3\}$  por la acción de un agente de transesterificación. Las bases pueden catalizar la reacción quitando un protón del alcohol, haciéndolo más reactivo, mientras que los ácidos pueden catalizar la reacción, por donación de un protón para el grupo carbonilo, haciéndolo más reactivo.

**Catalizador ácido:** El proceso de transesterificación es catalizado por ácidos, preferiblemente por ácidos sulfónico y sulfúrico. Estos catalizadores dan rendimientos muy altos en ésteres de alquilo, pero las reacciones son lentas, requiriendo, típicamente, temperaturas superiores a  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  y más de 3 h para alcanzar la conversión completa. Mostró que la metanolisis del aceite de soja, en presencia de 1% en moles de  $H_2SO_4$ , con una relación molar de alcohol / aceite de 30: 1 a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tarda 50 h en alcanzar la conversión completa del aceite vegetal (> 99%), mientras que la butanolisis (a  $117\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y la etanolisis (a  $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), usando las mismas cantidades de catalizador y alcohol, toman 3 y 18 h, respectivamente. La relación molar de alcohol / aceite vegetal es uno de los principales factores que influye en la transesterificación. Un exceso de alcohol favorece la formación de los productos. Por otro lado, una cantidad excesiva de alcohol dificulta la recuperación del glicerol, por lo que la relación alcohol / aceite ideal debe establecerse empíricamente, considerando cada proceso individual. [28]

**Catalizador básico:** La transesterificación catalizada por bases de aceites vegetales avanza más rápido que la reacción catalizada por ácido. Debido a esta razón, junto con el hecho de que los catalizadores alcalinos son menos corrosivos que los compuestos ácidos, los procesos industriales suelen favorecer los catalizadores básicos, como los alcóxidos e hidróxidos de metales alcalinos, así como los carbonatos de sodio o potasio. Los hidróxidos de metales alcalinos (KOH y NaOH) son más baratos que los alcóxidos de metales, pero menos activos. Sin embargo, son una buena alternativa, ya que pueden dar las mismas conversiones altas de aceites vegetales simplemente aumentando la concentración de catalizador a 1 o 2% en moles. Sin embargo, incluso si se usa una mezcla de alcohol / aceite sin agua, se produce algo de agua en el sistema por la reacción del hidróxido con el alcohol. La presencia de agua da lugar a la hidrólisis de algunos de los ésteres producidos, con la consiguiente formación de jabón. Esta reacción de saponificación

indeseable reduce los rendimientos de éster y dificulta considerablemente la recuperación del glicerol debido a la formación de emulsiones.[28]

Catalizador enzimático: Debido a su disponibilidad inmediata y la facilidad con la que se pueden manejar, las enzimas hidrolíticas se han aplicado ampliamente en síntesis orgánica. No requieren ninguna coenzima, son razonablemente estables y con frecuencia toleran solventes orgánicos. Su potencial para la síntesis regioselectiva y especialmente para la síntesis enantioselectiva los convierte en herramientas valiosas. Aunque los procesos de transesterificación catalizados por enzimas aún no se han desarrollado comercialmente, se han informado nuevos resultados en artículos y patentes recientes. Los aspectos comunes de estos estudios consisten en optimizar las condiciones de reacción (disolvente, temperatura, pH, tipo de microorganismo que genera la enzima, etc.) para establecer características adecuadas para una aplicación industrial. Sin embargo, los rendimientos de la reacción, así como los tiempos de reacción, siguen siendo desfavorables en comparación con los sistemas de reacción catalizados por bases.[28]

La producción enzimática (vía biológica) del biodiesel ha sido propuesta para superar los obstáculos del proceso de catálisis química, la cual, al utilizar catalizadores alcalinos como KOH y NaOH presenta algunos inconvenientes, como lo es la cogeneración de glicerol contaminado con el catalizador y la formación de jabones, lo que dificulta el proceso de purificación del biodiesel obtenido; Las enzimas encargadas de realizar la reacción de transesterificación entre un aceite y alcohol para producir biodiesel se denominan lipasas y se puede encontrar distribuidas en todos los tipos de organismos vivos.

#### **4.4.7 Lipasa**

Son enzimas que catalizan in vivo la hidrólisis de triacilglicéridos, in vitro pueden catalizar la hidrólisis o síntesis de una gran variedad de ésteres y la resolución de mezclas racémicas con una selectividad alta. La habilidad de catalizar la síntesis de esterés, lo hacen por medio de transesterificación e interesterificación. Dichas enzimas, al ser hidrolasas actúan sobre el grupo carboxilo de los enlaces éster presentes en los acilgliceroles para liberar ácidos grasos y glicerol.

A las lipasas se les considera un grupo importante de enzimas, relevantes biotecnológicamente con una inmensa aplicación en alimentos, detergentes e industrias farmacéuticas. La demanda industrial de lipasas activas con una apropiada especificidad y estabilidad al pH, temperatura, fuerza iónica y solventes orgánicos continúan estimulando la búsqueda para las nuevas fuentes de estas. Sin duda, hay un aumento constante en la necesidad de identificar, caracterizar y producir lipasas de una gran variedad de aplicaciones biotecnológicas con especial énfasis en biotransformaciones selectivas. [29]

LIPASA XX SPLIT 25 L Esterasa: La Lipasa XX Split 25L es una esterasa (E.C.3.1.1.3-Triacylglicerol Acilhidrolasa), de aspecto líquido, producida mediante fermentación sumergida de un microorganismo (*T. Lanuginosus*) modificado genéticamente. La proteína enzimática, no modificada genéticamente, se separa del organismo de producción y luego se purifica. La enzima es de un color amarillo de tenue a oscuro con ligero olor a fermentación. La característica de color no es un indicador de la actividad enzimática y puede cambiar de lote a lote de producción. Tiene diversos usos, entre ellos en procesamiento de papel, en formulaciones para tratamientos de aguas con presencia de grasas de origen animal o vegetal, elaboración de detergentes. Tiene alta capacidad para degradar aceites provenientes de cebos industriales, aceites de palma y coco y otros de origen vegetal. [30]



**Figura 9.** Fotografía de la enzima lipasa comercial  
**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 9 se observa la enzima lipasa comercial que se tiene en el laboratorio CINBBYA, la cual se utilizó como catalizador enzimático en

### **Desventaja de la Lipasa**

No obstante, a pesar del desempeño de una enzima en una reacción, éstas también presentan ciertos problemas para su utilización en procesos industriales ya que tienen baja estabilidad, su separación es complicada, su reutilización es muy limitada además de que la mayoría de las enzimas comerciales tienen un alto costo de producción. Por consiguiente, una estrategia para mejorar el desempeño de las lipasas es la inmovilización. La inmovilización de una enzima es un proceso en el que se le confina o localiza en un soporte, para dar lugar a formas insolubles que retienen su actividad catalítica y pueden ser reutilizadas repetidamente, lo cual es esencial desde el punto de vista económico, además mejora su desempeño al aumentar su termo-estabilidad y facilita su separación. [29]

#### **4.4.8 *Aspergillus niger***

El *Aspergillus* es un género de alrededor de 200 hongos. Puede existir en dos formas básicas: levaduras e hifas. El *Aspergillus* es filamentoso (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas, el tipo de hongos opuesto a las levaduras, que se componen de una sola célula redonda).

Es un hongo micelial ambiental, formado por hifas hialinas tabicadas. Es un hongo ubicuo de distribución mundial de vida saprófita. Esto quiere decir que su ciclo de vida es en la naturaleza, sin involucrar al hombre. Por tanto, su implantación en tejidos del humano es incidental a su ciclo normal.

El *aspergillus* es un grupo del hongo filamentoso, se puede cultivar fácilmente en las condiciones del laboratorio - significado que son, por lo tanto, uno de los grupos más estudiados del hongo. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza pudiéndose aislar de una gran variedad de substratos. Gracias a la facilidad de dispersión de sus conidias y a su pequeño tamaño, éstos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo de tiempo, por lo que el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación. [31]



**Figura 10.** Fotografía de cultivo de *Aspergillus niger*  
**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 9 se observa el cultivo de los *Aspergillus niger* en un medio de agar – malta, el cual se utilizará para sintetizar una enzima de lipasa cruda.

### **Usos de *Aspergillus niger***

Existen diversos tipos de especies del *Aspergillus* se saben para producir muchos diversos tipos de enzimas - haciéndolas muy útiles para la industria alimentaria - si están cultivados y adaptados correctamente. El *aspergillus niger* se puede adaptar para producir una gran cantidad de fructo oligosacáridos, debido a la actividad transfructosylating observable alta de las enzimas dentro de su superficie. [32]

Otro uso industrial del hongo del *Aspergillus niger* se aprovecha es la capacidad de la bioadsorción. Ciertos tipos de tinte requieren generalmente una determinada cantidad de lavado, que entonces requiere posiblemente sustancias de tinte-eliminación nocivas que las aguas residuales cerco una vez. Sin embargo, las aguas residuales del tinte cerco una vez y esterilizado, las *colonias del aspergillus niger* pueden ser agregadas para absorber el tinte. [32]

## **4.5 BIODIESEL EN COLOMBIA**

En Colombia, se empezó la utilización del biodiesel a raíz de la ley 939 del 2004 ya que en el 2001 se aprobó la obligatoriedad de la mezcla del diésel con el biodiésel, luego de las propuestas de sustitución de los combustibles tradicionales en Estados

Unidos y Europa por temas medioambientales y por la preocupación de la escasez de los combustibles fósiles. De acuerdo con el vocero de la Fedebiocombustibles, Alfonso Santos, la implementación de los biocombustibles al menos en Colombia, no fue con el propósito de reemplazar a los combustibles fósiles, sino más bien para ser una mezcla y reducir el impacto ambiental, en la combustión. [33]

Colombia tiene una posición privilegiada frente a muchos otros países al ser el mayor productor de aceite de palma en Latinoamérica y el quinto en el mundo. Es el cultivo oleaginoso que mayor cantidad de aceite produce por unidad de área sembrada y, por lo tanto, es la materia prima que ofrece mejores posibilidades para su producción a nivel nacional. En la actualidad, el Gobierno Nacional está promoviendo los cultivos de palma de aceite como parte de una política para impulsar el crecimiento en sectores estratégicos, creando incentivos y exenciones tributarias para la producción y comercialización de biodiesel para uso en motores diésel. Hoy se encuentran terminadas dos plantas con una capacidad cercana a los 300,000 litros por día y se están construyendo 5 más para una capacidad total de aproximadamente 1,800,000 litros día, las cuales emplearán aceite de palma como materia prima. Se espera que los rendimientos de conversión a biodiesel a partir de palma de aceite sean de 4,600 litros por hectárea, este cálculo se basa en el rendimiento promedio del cultivo de palma en Colombia equivalente a 3.93 ton/ha en 2006. [34]

**Tabla 4.** Plantas de producción de Biodiesel en Colombia

Región	Inversionista	Capacidad (t/año)	Capacidad (L/día)	Área sembrada (ha)	Fecha entrada
Norte Codazzi	Oleoflores	50.000	168.719	11.111	Enero 2008
Norte, Santa Marta	Ordin Energy	36.000	121.477	8.000	Agosto 2008
Norte, Santa Marta	Biocombustibles sostenibles del caribe	100.000	337.437	22.222	I T 2009
Oriental Facatativá	Bio D	100.000	337.437	22.222	I T 2009
<b>TOTAL</b>		<b>286.600</b>	<b>965.070</b>	<b>63.555</b>	

*Fuente: Ministerio de Minas y Energía*

[Comalfi.com.co](http://Comalfi.com.co)

Actualmente en el país se producen biocombustibles de primera generación, que son aquellos que provienen de cultivos agrícolas como el azúcar, la palma y la soya, pero también existen algunos más avanzados que son de segunda generación, provenientes de fuentes que no necesariamente son alimentos, como el bagazo de caña y otros residuos agrícolas. Colombia tiene todo para incentivar el desarrollo de infraestructura y producción de biodiésel y etanol, pero no hay que dejar de lado la producción y avance de combustibles de segunda generación, ya que con toda la biomasa que se da después del proceso de los alimentos, podría generarse energía sostenible, más allá de la eólica o la solar.

#### 4.5.1 Normativa para biodiesel en Colombia

En Colombia se utiliza la norma NTC 5444, para determinar las propiedades fisicoquímicas que debe tener el biodiesel, la cual cumple con los parámetros internacionales de calidad. Esta norma cubre las especificaciones para los alquil ésteres de ácidos grasos para uso como combustible o como componente de mezclas con combustibles diésel, cuyas características están definidas en la NTC 1438. Tal como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5.** Requisitos del biodiesel

Propiedad	Unidades	Requisito
Densidad a 15° C	$kg/m^3$	860 - 900
Número de cetano	Cetanos	47 mínimo
Viscosidad	$mm^2/s$	1,9 - 6.0
Contenido de agua	$mg/kg$	500 máximo
Contaminación total	$mg/kg$	24 máximo
Punto de inflamación	° C	120 mínimo
Contenido de metanol o etanol	% en masa	0,2 máximo
Numero acido	Mg de KOH/g	0,5 máximo
Índice de Yodo	gr Yodo / 100 gr	120 máximo
Punto de nube	° C	Reportar (1)
Carbón residual	% en masa	0.3 máximo
Contenido de fosforo	$mg/kg$	10 máximo
Contenido de Ester	% en masa	96,5 mínimo
Glicerina Libre	% en masa	0,02 máximo
Glicerina Total	% en masa	0,25 máximo
Contenido de triglicéridos	% en masa	0,2 máximo

**Fuente:** ICONTEC

## 4.6 BIOCOMBUSTIBLES SOLIDOS

Los pellets están definidos como un biocombustible hecho a partir de biomasa triturada o molida, con o sin aditivos, y unificada como cilindros, generalmente con un diámetro < 25 cm, con longitud aleatoria y típica de entre 3.15 13 mm a 40 mm, con extremos fracturados, obtenidos por compresión mecánica (ISO, 2014). Por lo general, un pellet tiene un contenido de humedad menor al 15 % de su masa y Proviene básicamente de los desechos del sector forestal, agrícola y de cultivos específicos para la generación de energía, pero también de desechos orgánicos ganaderos y de las ciudades. Este tipo de biocombustible presenta la ventaja de aprovechar de manera sencilla la biomasa para densificarla, y así aumentar el valor calorífico por unidad de volumen, lo cual facilita su almacenamiento y transporte. La biomasa en forma de aglomerados puede ser utilizada directamente como un combustible sólido. [35]

El uso de la biomasa como recurso energético ha ido descendiendo en las últimas décadas, debido a la promoción de otros combustibles. Sin embargo, en la actualidad, las circunstancias han cambiado. La subida de precios de los combustibles convencionales, las necesidades de autosuficiencia energética y la conciencia medioambiental, han impulsado el desarrollo de nuevos proyectos.

La biomasa es el recurso energético que se ha usado tradicionalmente desde la antigüedad, quemando madera para calentar las viviendas, cabañas o cuevas y para hacer funcionar las primeras máquinas. Pero no era un recurso cómodo. Los humos, el gran volumen necesario para transporte o almacenamiento, la dependencia de las estaciones o el clima, la poca eficiencia en las calderas o chimeneas, etc., hicieron que no fuera competitivo frente a otros combustibles.

Los avances tecnológicos en el sector han hecho que la biomasa vuelva a ser competitiva. Según su uso se puede obtener energía térmica, dedicada al suministro de calor para calefacción, producción de ACS y/o procesos industriales. O energía eléctrica, tanto de forma exclusiva como mediante sistemas de cogeneración o sistemas de co-combustión, aunque la tecnología para la obtención de esta no está tan desarrollada como la térmica.

La biomasa, a diferencia del gas, el gasóleo o el carbón, es un tipo de energía renovable que presenta un balance neutro en el ciclo del CO<sub>2</sub>, contribuyendo a la reducción del efecto invernadero. Al usar biomasa estamos contribuyendo al desarrollo rural y reduciendo la dependencia de combustibles fósiles. También se fomenta la limpieza de los bosques y campos, disminuyendo así el riesgo de incendios y la propagación de enfermedades. Para su fabricación la materia prima es cribada para eliminar partículas de mayor tamaño, piedras y otros residuos. Posteriormente se realiza el secado del material hasta reducirlo a un 10% de humedad. El producto seco se almacena y previamente al proceso de peletización, el serrín es molido hasta obtener el tamaño apropiado.[36]

Tipos de Pellets:

- Pellet maderero: pequeñas porciones de materia vegetal comprimida utilizadas como combustible.
- Pellet anticonceptivo o anticonceptivo subdérmico, pequeño implante mezcla de un principio activo anticonceptivo y un sustrato.
- Pellet alimenticio: las porciones en las que suele presentarse el alimento balanceado para animales
- Pellet plástico: pequeñas concentraciones de resina.
- Pellet alimenticio: pequeños comprimidos de trigo saborizados con queso y aceite vegetal (Costa Rica En los procesos de centrifugado, se denomina «pellet» al material sedimentado. [37])

#### **4.6.1 Ventajas**

- Es un combustible económico.
- No se necesitan talar árboles, ya que normalmente se utilizan residuos de diferentes tipos.
- Al tener mucha densidad y estar en formato granulado ocupan muy poco espacio y se pueden transportar fácilmente.
- Es 100 % natural, por tanto, no es peligroso ni produce malos olores
- No produce casi humo, por lo que las estufas y calderas de pellets únicamente necesitan una salida de gases, no una chimenea grande como la de las estufas de leña.
- No caduca, mientras se guarden en un lugar seco puede aguantar todo el tiempo que quiera sin perder sus cualidades. [38]

#### 4.6.2 Normatividad para pellets

**Tabla 6.** Calidad de pellets según norma EN 14961-2

Calidad	Cenizas	PCI [MJ/kg]	Densidad [t/m <sup>3</sup> ]	Humedad
A1	>0,7%	16,5 a 19	0,650	10%
A2	>1,5%	16,3 a 19	0,650	10%
B	>3,5%	16 a 19	0,650	10%

*Fuente: libro "Curso biocombustibles sólidos"*

A1- Virutas y polvo

A2- Aserrín sin corteza y astillas

B – Rollo o leña y residuos agrícolas

En la tabla 6, se puede observar los valores que se encuentran en el rango de la normativa para cumplir la calidad de los pellets. [39]

**Tabla 7.** Características fisicoquímicas de pellets y briquetas

Parámetro	Unidad	Pellet	Briqueta
Diámetro (D)	Mm	4 -10	40 - 120
Longitud	Mm	<5*D	<400
Densidad a Granel	Kg/m <sup>3</sup>	>600	
Densidad de Partícula	Kg/m <sup>3</sup>	>1,12	>1
Contenidos de Agua	Wt%(b.h)	<10	<10
Contenido de Cenizas	Wt%(b.s)	<0,5	<0,5
Abrasión	Wt%(b.h)	<2,3	
Poder Calorífico Inferior	MJ/kg(b.s)	>18	>18
C	Wt%(b.s)	~50	~50,5
H	Wt%(b.s)	~6	~5,6
N	Wt%(b.s)	<0,3	<0,3
S	mg/kg (b.s)	<400	<400
Cl	mg/kg (b.s)	<200	<200
K	mg/kg (b.s)	~490	~600
Cd	mg/kg (b.s)	<0,5	<0,5
Pb	mg/kg (b.s)	<10	<10
Zn	mg/kg (b.s)	<100	<100
Cr	mg/kg (b.s)	<8	<8
Cu	mg/kg (b.s)	<5	<5

*Fuente: Tomada de Biomass and Bioenergy 27 (2004) 653–669 [40]*

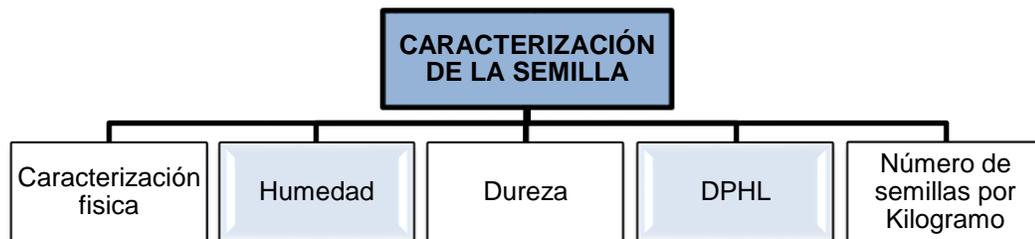
En la tabla 7 se observan las características fisicoquímicas de biocombustibles solidos como lo son los pellets y las briquetas según normativa internacional.

## 5. DESARROLLO DEL PROYECTO Y RESULTADOS

Las pruebas realizadas para este proyecto en su mayoría fueron llevadas a cabo en las instalaciones del Laboratorio CINBBYA de la UNAB, y el proceso de peletización se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Manufactura.



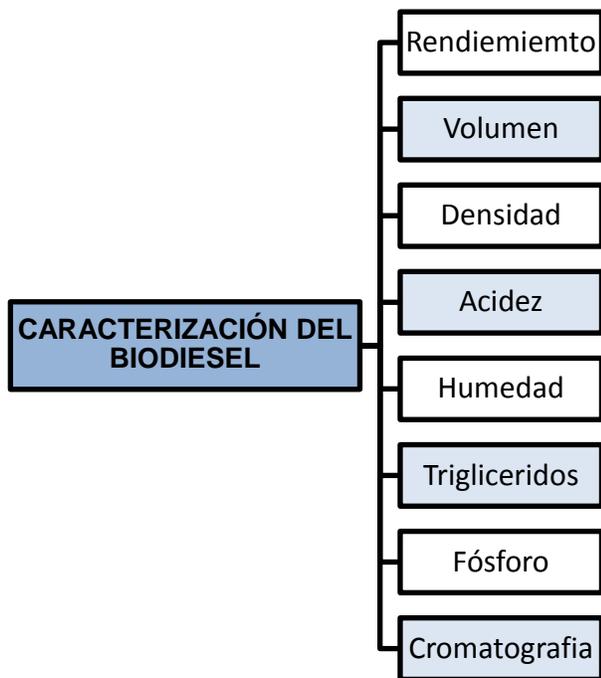
Realizar las diferentes pruebas físicas de reconocimiento de las semillas y caracterización de las distintas especies.



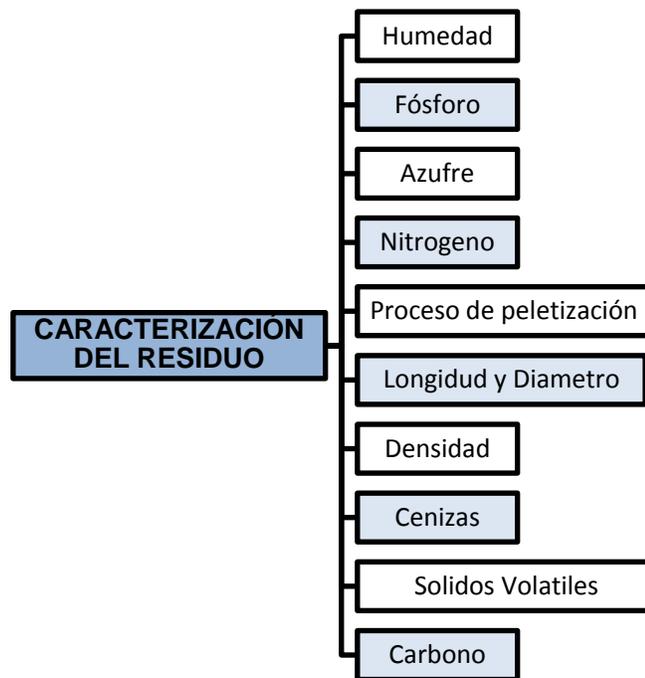
Obtener el aceite de cada tipo de semillas y realizar las diferentes pruebas fisicoquímicas para caracterizar cada uno de los aceites.



Obtener biodiesel mediante el proceso químico y enzimático, y realizar las pruebas de caracterización para comparar los resultados con la normativa vigente.



Caracterización de los residuos sólidos obtenidos del proceso del prensado de las semillas, determinando sus principales componentes y luego determinar la posibilidad de ser usado como recurso energético en forma de pellets.



Producción de la enzima cruda lipasa a través de inductores de producción como el hongo *Aspergillus niger*, para ser utilizada como catalizador.



## 5.1 FASE 1: CARACTERIZACION DE LAS SEMILLAS

En la tabla 8, se observan los tres tipos de semillas de higuerilla que se utilizaran en el desarrollo del proyecto las cuales se caracterizaran para la producción de aceite y posteriormente la producción de biodiesel, las semillas a utilizar fueron: Sipeal 28, Mirante 10 y Sangue-De-Boi:

**Tabla 8.** Semillas de higuerilla usadas en el trabajo

<b>Semilla 1</b>	
Nombre	Sipeal 28
Imagen	
<b>Semilla 2</b>	
Nombre	Mirante 10
Imagen	
<b>Semilla 3</b>	
Nombre	Sangue-De-Boi
Imagen	

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.1.1 Caracterización física

Se tomó una muestra de 20 semillas al azar, de cada tipo de semilla que se utilizó, luego se procedió a medir el largo, el ancho y lo grueso de cada semilla se calculo el promedio de estos datos, para clasificar cada una de las semillas, estas medidas se realizaron mediante el uso de un calibrador o pie de rey.



**Figura 11.** Calibrador o pie de rey usado para la medición

*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 11 se observa la herramienta utilizada para realizar las medidas de las semillas de la muestra. La caracterización física de las semillas nos permite compararlas y clasificarlas y así poder identificar cada tipo de semilla, en la tabla 9 se observa que la de mayor tamaño es la semilla 1 y que la más pequeña es la semilla 3.

**Tabla 9.** Resultado de caracterización física de las semillas

Semilla	Largo [cm]	Ancho [cm]	Grueso [cm]
Semilla 1	1,08	0,75	0,48
Semilla 2	1,34	1,07	0,66
Semilla 3	1,229	0,818	0,557

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.1.2 Determinación de Humedad

Esta prueba se basa en la pérdida de agua que sufrió la muestra al ser calentada, se tomaron 3 muestras de 100 gramos de semillas para posteriormente hornearlas a 131 °C durante 16 horas, tal cual se observa en la figura 12. Transcurrido ese tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente y se procede a pesarlas y determinar

la masa que perdió la semilla. El porcentaje de humedad se calculó bajo la siguiente formula [41].

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{m} * 100$$

Donde:

$P_1$  = Peso antes de ser secada (gr)

$P_2$  = Peso despues de ser secada (gr)

$m$  = Peso de la muestra (gr)



**Figura 12.** Muestra de semilla 2 para determinar la humedad

**Fuente:** *Elaboración propia*

La tabla 10 muestra que el porcentaje de humedad está en un rango similar para las 3 semillas, pero aun así la semilla 1 tiene porcentaje mayor de humedad en comparación con las otras dos semillas, lo cual indica que es necesario calentar previamente las semillas para disminuir esa variable.

**Tabla 10.** Resultados de humedad de las semillas

Semilla	Humedad (%)
Semilla 1	5,1382
Semilla 2	4,6721
Semilla 3	4,191

**Fuente:** *Elaboración propia*

### 5.1.3 Determinación de dureza por abrasión (DPA)

Se tomaron 3 muestras de 10 semillas cada una, las cuales se desplazan sobre una lija número 100, cada muestra es pesada antes y después de sufrir la abrasión. Tal

como se observa en la figura 13. La dureza se expresa como porcentaje de peso perdido y se calcula a partir de.[41]

$$DPA = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

$P_i$  = Peso inicial (gr)

$P_f$  = Peso final (gr)



**Figura 13.** Muestras de semilla 2 para determinación de DPA

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 11 encontramos que los valores varían, teniendo en cuenta que en el proceso se les aplicó la misma fuerza y se determinó que la semilla número 2, fue la que menos cantidad de masa perdió.

**Tabla 11.** Resultado de dureza (DPA)

Tipo de semilla	Peso Antes de raspar [gr]	Peso Después de raspar [gr]	Dureza	Promedio
<b>Semilla 1</b>	2,6386	2,6068	1,20	<b>1,5734</b>
	2,2868	2,2437	1,88	
	2,2379	2,2012	1,6403	
<b>Semilla 2</b>	5,6242	5,5921	0,5707	<b>0,5606</b>
	5,6992	5,6642	0,6141	
	5,3920	5,3652	0,497	
<b>Semilla 3</b>	2,6792	2,5435	5,0649	<b>4,2552</b>
	3,6231	3,5110	3,094	
	3,2295	3,0795	4,606	

**Fuente:** Elaboración propia

#### 5.1.4 Determinación de densidad por peso hectolitro (DPHL)

Se tomo una probeta (100, 250 ml) la cual se llena, para luego pesar las semillas que ocuparon ese volumen, tal cual como se observa en la figura 14. El cálculo se realizó de la siguiente manera. [41]

$$DPHL = \frac{P * 1000}{V}$$

Donde:

$P$  = Peso de las semillas (gr)

$V$  = Volumen de la probeta (ml)



**Figura 14.** Muestra de semilla 2 para determinación de DPHL

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 12.** Resultado de densidad (DPHL)

TOMA	1	2	3	Promedio
Semilla 1	578,343	573,460	563,806	571,8696
Semilla 2	551,0364	555,5972	546,5652	551,066
Semilla 3	585,2372	563,04	544,29	564,1908

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 12 se observa que las semillas tuvieron una densidad en un rango similar, este dato es similar ya que pertenece a la misma familia.

#### 5.1.5 Número de semillas por kilogramo

Para determinar el número de semillas que hay por kilogramo, se procede a tomar 8 muestras de 100 semillas cada una, como se puede observar en la figura 14, la cual se pesa por separado en gramos, para luego estimar ese valor, se procede así. [42]

$$N_s = \frac{(100 \text{ semillas} * 1000 \text{ gr})}{P_s}$$

Donde:

$P_s = \text{Peso promedio (gr)}$



**Figura 15.** Muestra de semilla 2 para determinar número de semillas por kg

**Fuente:** *Elaboración propia*

**Tabla 13.** Resultado Numero de semillas por kilogramo

Numero de muestra	Semilla 1		Semilla 2		Semilla 3	
	gramos	Numero de semillas por kg	gramos	Numero de semillas por kg	gramos	Numero de semillas por kg
1	22,1012	4524,64	55,2815	1808,92	37,9340	2636,15
2	20,5808	4858,89	55,2833	1808,86	35,7113	2800,2341
3	22,5387	4436,81	55,3452	1806,84	39,5352	2529,39153
4	20,2401	4940,68	53,8113	1858,34	41,2591	2423,70774
5	21,3255	4689,22	51,6732	1935,23	37,7341	2650,12283
6	20,7097	4824,65	53,6205	1864,95	40,2922	2481,86994
7	21,9294	4560,08	53,7948	1858,91	38,4495	2600,81405
8	21,6745	4612,71	50,4466	1982,31	39,1441	2554,66341
<b>Promedio</b>	<b>4680,96</b>		<b>1865,545</b>		<b>2584,62014</b>	

**Fuente:** *Elaboración propia*

En la tabla 13 se obtiene el número de semillas encontradas en un kilogramo, de cada semilla, tomando 8 muestras, además las semilla 1 requirió un mayor número

y la semilla 2 necesito un número menor, esta prueba es importante para en caso de que utilice la semilla para un cultivo.

## 5.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE

El primer paso para la extracción del aceite es desactivar la toxina ricina presente en las semillas, para esto se ponen las semillas en agua destilada hasta llegar a su punto de ebullición, se dejan por treinta minutos más y se ponen a secar a temperatura ambiente durante un día. Pasado este tiempo, las semillas se ponen a calentar en el horno durante media hora a 70 ° C, con el fin de obtener un buen rendimiento en el proceso de la extracción. Por ultimo las semillas son pasadas a la prensadora en frío, vertiéndolas lentamente. El aceite obtenido al tener residuos de la molienda se filtra mediante el uso de papel de filtro y se deposita en la probeta mediante un embudo al residuo obtenido se tritura manualmente y es pesado, para ser usado más adelante en la paletización.



**Figura 16.** Prensa usada para la extracción del aceite CINBBYA

*Fuente: Elaboración propia*



**Figura 17.** Proceso de extracción del aceite de ricino

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.3 FASE 2: CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE

#### 5.3.1 Determinación del volumen

El volumen del aceite se obtiene sumando las cantidades de aceite ocupado en las probetas que se usaron para filtrar el aceite.

**Tabla 14.** Resultado de volumen obtenido de cada tipo de semilla

Tipo de Semilla	Volumen (ml)
Aceite Semilla 1	250
Aceite Semilla 2	225
Aceite Semilla 3	220

*Fuente: Elaboración propia*

En la tabla 14 los resultados del volumen de la producción de aceite a partir de 1 kg de semillas se encuentran en un rango similar, indicando que sin importar las diferencias físicas de las semillas, se obtiene una cantidad de aceite similar.

#### 5.3.2 Determinación de la densidad

La densidad se calcula por medio de una relación de masas en aire a una temperatura determinada. Con la ayuda de un picnómetro con un volumen dado se calculan las masas. La medida de este parámetro se determina por la norma **NTC 336**. [43]

**Tabla 15.** Resultado de densidad obtenido de cada tipo de semilla

Tipo de Semilla	Densidad (gr/ml)
Aceite Semilla 1	0,9563
Aceite Semilla 2	0,9259
Aceite Semilla 3	0,9933

*Fuente: Elaboración propia*

La determinación de la densidad en los aceites presenta una baja dispersión entre los datos, al ser valores altos, les da a los aceites la propiedad de ser miscible con cualquier alcohol en cualquier concentración, además influye en la calidad del

biodiesel producido ya que, a mayor densidad en el aceite, mayor será la densidad de los metilésteres producidos.

### 5.3.3 Índice de Acidez

El índice de acidez es la suma de los ácidos grasos no combinados, que son el resultado de la hidrólisis o la descomposición lipolítica de algunos triglicéridos. Este índice es definido como el número de miligramos (mg) de KOH que se requieren para neutralizar los ácidos grasos contenidos en un gramo de grasa. Para la caracterización de esta propiedad física se tuvo en cuenta la norma técnica colombiana **NTC 218**, que se basa en tres métodos diferentes para la determinación del índice de acidez y acidez de grasas y aceites vegetales y animales. Dos de estos tres métodos son por medio de titulación y el tercer método es por medio de un potenciómetro. [44]

Para calcular el índice de acidez se procedió de esta manera:

$$\frac{56,1 * V * c}{m}$$

Donde:

*V* = volumen en ml de KOH usada.

*c* = concentración en  $\text{mol/l}$  de KOH.

*m* = masa en gramos de la porción de aceite usada.

En la prueba del aceite, se tomó una concentración de  $0.1 \left(\text{mol/l}\right)$  de KOH, y se tomo una masa de 7 gramos de aceite.

Y para determinar la acidez se procedió de esta manera:

$$\frac{V * c * M}{10 * m}$$

Donde:

*V* = volumen en ml de KOH usada.

*c* = concentración en  $\text{mol/l}$  de KOH.

*M* = masa molar  $\text{gr/mol}$  del ácido escogido.

$m = \text{masa en gramos de la porción de aceite usada.}$



**Figura 18.** Fotografía de prueba de Acidez de los aceites

**Fuente:** Elaboración propia

Los resultados de índice de acidez y acidez en los aceites presentan una dispersión, sin embargo, según la NTC 2781, el valor máximo es de 4%, esto quiere decir que la semilla 1 y la semilla 2 están dentro del rango, y la semilla 3 tiene un margen de error del 50%. Tal como se observa en la tabla 16.

**Tabla 16.** Resultado de Índice de acidez y acidez obtenido las semillas

Tipo de Semilla	Índice de Acidez	Acidez [%]
Aceite Semilla 1	4,0877	2,0545
Aceite Semilla 2	1,5227	0,7654
Aceite Semilla 3	11,9412	6,0025

**Fuente:** Elaboración propia

#### 5.3.4 Viscosidad

Este parámetro se obtuvo mediante el uso del viscosímetro que se encuentra instalado en el Laboratorio de Planta Piloto, para lo cual se tomó el valor que el dispositivo dio.

**Tabla 17.** Resultado de viscosidad para los aceites obtenidos

Tipo de Semilla	Viscosidad [cp.]
Aceite Semilla 1	650,3
Aceite Semilla 2	633,6
Aceite Semilla 3	654.8

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 17 se observan que los resultados de la viscosidad se tienen en un rango similar sobre todo en la semilla 1 y 3, en cambio la viscosidad del aceite de la semilla 2 es un poco menor que los otros dos.

#### 5.4 PRODUCCIÓN DE BIODIESEL POR EL MÉTODO QUÍMICO

Para evaluar la relación molar aceite/metanol adecuada, se realizó un diseño experimental de  $2^3$ , en el cual se establecieron ocho experimentos; las variables y condiciones a tomar en cuenta se describen en la tabla 18. La velocidad de agitación se mantuvo constante a 350 RPM.

**Tabla 18.** Condiciones del diseño experimental  $2^3$

Factores	Niveles
Temperatura	50°C
	60°C
Tiempo	1 hora
	2 horas
Relación molar aceite/metanol	1:6
	1:12

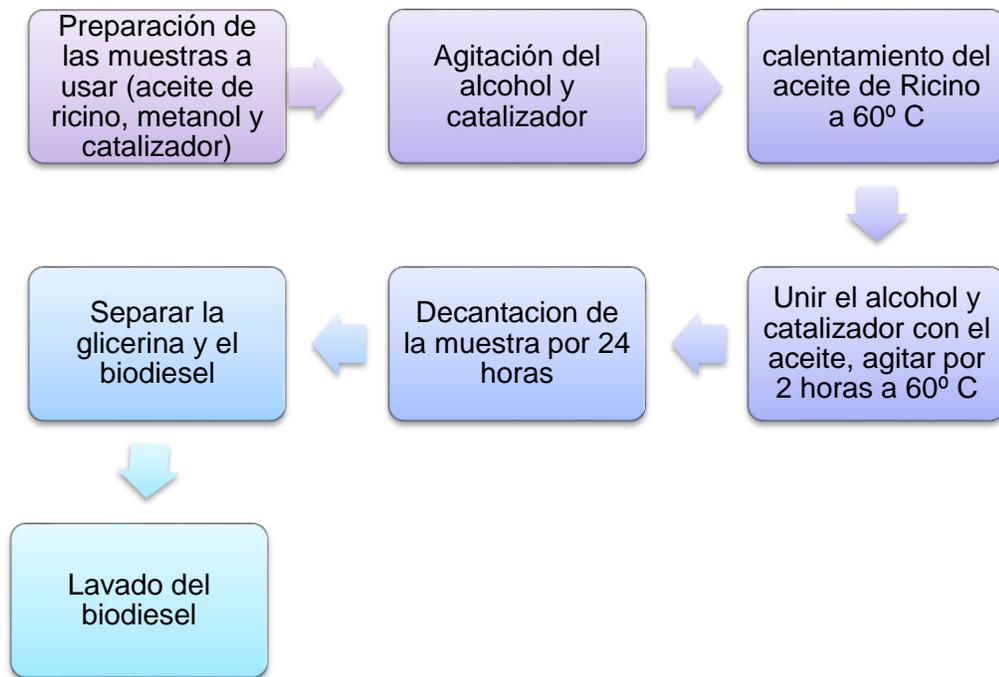
*Fuente: Elaboración propia*

#### Condiciones de reacción final:

Temperatura de 60°C  
 Relación molar 1:2 aceite/alcohol  
 Agitación 350 rpm  
 1.5% del peso del aceite en KOH -  
 Aceite de Ricino 150 gramos  
 Metanol 32 gramos  
 Tiempo de reacción 2 horas

La reacción se llevó a cabo en una placa de calentamiento con agitación, acoplada a un condensador de reflujo, se disolvió el catalizador (KOH <sup>-</sup>) en el alcohol (metanol) y posteriormente se agregó al aceite previamente calentado a 60° C, se mantuvo en esta temperatura por dos horas, agitándose constantemente para alcanzar la máxima conversión. Después del tiempo de reacción, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se pone a decantar en un separador de fases por 24

horas, pasado este tiempo se procede a separar la glicerina del biodiesel resultante, y finalmente se hace el lavado en frio del biodiesel.



**Figura 19.** Proceso de producción del biodiesel por vía química

*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 19 se observa el paso a paso utilizado en la producción del biodiesel por vía química.



**Figura 20.** Proceso de producción del biodiesel por vía química

*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 20 se observa el proceso de la producción de biodiesel por vía química en cuatro partes, en la primera se observa el calentamiento del aceite, en donde se mantiene hasta que alcanza la temperatura del aceite a 70°C esto con el fin de eliminar ciertas impurezas, en la segunda se observa el proceso de hidratación del KOH con el metanol, ya que se encuentra en estado de cristales, y se mantiene en agitación constante hasta que se diluya completamente el KOH en el Metanol para posteriormente ser integrado al aceite de ricino como se muestra en la tercera parte, que sería el proceso de reacción de transesterificación, en donde se mantiene en agitación y temperatura constante durante dos horas, y periódicamente se toma el dato de la temperatura, para garantizar que el proceso se mantenga en la temperatura deseada, por último se observa el proceso de separación en dos fases las cuales serían biodiesel y glicerina, la separación se realiza luego de 24 horas de reposo en un embudo de separación.

## 5.5 PRODUCCIÓN DE BIODIESEL POR EL MÉTODO ENZIMÁTICO

Para evaluar la relación molar aceite/metanol más adecuada, se realizó un diseño experimental, en el cual se establecieron doce experimentos; las variables y condiciones a tomar en cuenta se describen en la tabla 19. La velocidad de agitación se mantuvo constante a 250 RPM, y la relación molar aceite/metanol fue de 1:2

**Tabla 19.** Condiciones del diseño experimental 2<sup>3</sup>

Factores	Niveles
Temperatura	30°C
	40°C
Tiempo	1 hora
	2 horas
Biocatalizador/aceite	5%
	10%
	20%

**Fuente:** Elaboración propia

Como catalizador enzimático se utilizó la enzima Lipasa (acil-hidrolasas de triacilglicerolos) que es capaz de catalizar eficientemente la reacción de transesterificación para producir biodiesel, como se ha comprobado en muchos estudios previos.

Condiciones de reacción final:

Temperatura de 30°C

Relación molar 1:2 aceite/alcohol

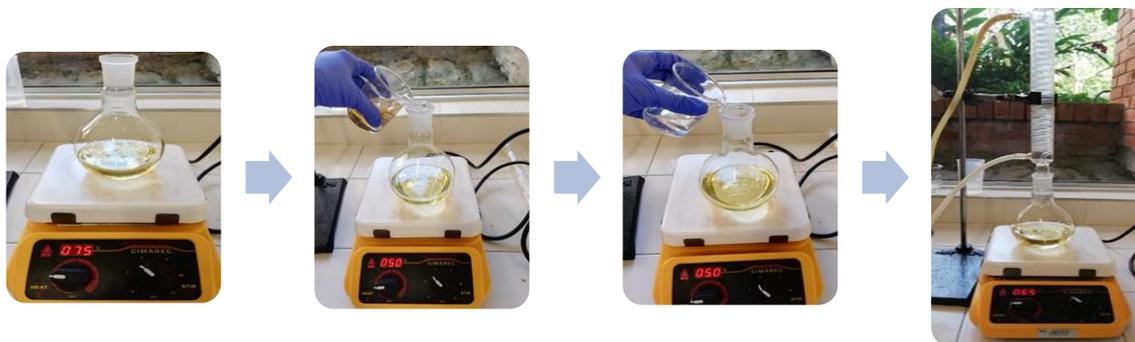
Agitación 250 rpm

Biocatalizador 20% del peso del aceite

Aceite de Ricino 150 gramos

Metanol 32 gramos

Tiempo de reacción 2 horas



**Figura 21.** Proceso de producción del biodiesel por vía enzimática

**Fuente:** *Elaboración propia*

En la figura 21 se observa el proceso de la producción de biodiesel por vía enzimática en cuatro partes, en la primera se observa el calentamiento del aceite, en donde se mantiene hasta que alcanza la temperatura del aceite a 30°C, en la segunda se observa el proceso de integrar la enzima lipasa junto con el aceite de ricino hasta que se diluya completamente para posteriormente agregar el metanol y comenzar la reacción de transesterificación en donde se mantiene en agitación y temperatura constante durante una hora, y periódicamente se toma el dato de la temperatura, para garantizar que el proceso se mantenga en la temperatura deseada, por último se realiza el proceso de separación en dos fases las cuales serían biodiesel y glicerina, la separación se realiza luego de 24 horas de reposo en un embudo de separación.

**Tabla 20. Fotografía de biodiesel obtenido química y enzimáticamente**

Biodiesel Vía Química	Biodiesel Vía Enzimática
 <p>Three glass bottles containing yellow biodiesel produced via chemical synthesis. Labels indicate traditional methods with varying molar ratios and temperatures.</p>	 <p>Three glass bottles containing yellow biodiesel produced via enzymatic synthesis using lipase. Labels specify enzyme type, molar ratio, and temperature.</p>
Glicerina Vía Química	Glicerina Vía Enzimática
 <p>Six petri dishes showing glycerol produced via chemical synthesis, appearing as dark brown and black residues.</p>	 <p>Six petri dishes showing glycerol produced via enzymatic synthesis, appearing as light-colored, translucent residues.</p>
Lavado Vía Química	Lavado Vía Enzimática
 <p>Three glass bottles showing the washing process of chemically produced biodiesel, with varying amounts of white residue.</p>	 <p>Three glass bottles showing the washing process of enzymatically produced biodiesel, with varying amounts of white residue.</p>

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 20 se encuentra una comparación en la producción de biodiesel mediante dos procesos de catalizadores, un método químico con KOH como catalizador y un método enzimático con Lipasa como catalizador.

## 5.6 LAVADO DEL BIODIESEL

Posteriormente a la transesterificación y separación en dos fases (biodiesel y glicerina) se requiere un proceso de purificación del biodiesel para asegurar que cumpla con los estándares de calidad, pues este aun contiene impurezas derivadas del proceso: metanol en exceso, partículas de agua y glicerina, o trazas de catalizador.

Primero, se pone el biodiesel a calentar a 50° C, mientras que se calienta agua destilada a 70° C; en un separador de fases se vierte el biodiesel y con un atomizador, se rocía el agua por la parte superior del recipiente y se decanta por 24 horas, finalmente se separa el agua restante.



**Figura 22.** Proceso de lavado del biodiesel  
*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 23 se observa el proceso de lavado del biodiesel, en donde se observan dos fases, el biodiesel y una fase acuosa, se deja en reposo durante 24 horas y se procede a retirar la fase acuosa.

## 5.7 FASE 3: CARACTERIZACIÓN DEL BIODIESEL

### 5.7.1 Rendimiento de la reacción de transesterificación

Tabla 21. Resultados del rendimiento

Semillas	Porcentaje de rendimiento Biodiesel Químico	Porcentaje de rendimiento Biodiesel enzimático
1	75,8%	70,2%
2	80,7%	58,9%
3	86,81%	63,20%

*Fuente: Elaboración propia*

En la tabla 21 se observa el resultado del rendimiento de transesterificación en la producción de biodiesel a través de dos métodos de catalizadores.

### 5.7.2 Determinación del volumen

Este parámetro se determina a partir del espacio ocupado del biodiesel en una probeta luego se haber sido sometido a un proceso de lavado con el fin de retirar glicerina y algunas otras impurezas.

Tabla 22. Resultados del volumen obtenido de biodiesel

Semillas	Volumen Biodiesel Químico [ml]	Volumen Biodiesel Enzimático [ml]
1	138	149
2	147	126
3	158	134

*Fuente: Elaboración propia*

En la tabla 22 se muestran los resultados de la producción de biodiesel luego del proceso de lavado, en donde todos los resultados se obtuvieron a partir de 150 ml de aceite.

### 5.7.3 Determinación de la densidad

Se realiza esta caracterización siguiendo el mismo procedimiento mediante el uso de los picnómetros usados en la determinación de la densidad del aceite siguiendo la norma **NTC 336**. [43]

**Tabla 23.** Resultados de la Densidad de los biodiesel obtenidos

Semillas	Densidad Biodiesel Químico [g/ml]	Densidad Biodiesel Enzimático [g/ml]
1	0,9263	0,9294
2	0,8895	0,9594
3	0,9398	0,9371

**Fuente:** Elaboración propia

Según la NTC 5444 la densidad de un biodiesel debe estar dentro del rango de 860-900  $kg/m^3$ , en los biodiesel producidos de manera química y enzimática, podemos observar que no todos están dentro del rango, sin embargo, el margen de error no pasa del 7%.

#### 5.7.4 Determinación del índice de acidez

Se aplica lo descrito en la **NTC 218**, mediante la de determinación del volumen usado en la titulación de KOH en muestra del biodiesel.[44]



**Figura 23.** Prueba de índice de acidez para el biodiesel

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 24.** Resultados de Índice de acidez y acidez obtenida de los biodiesel

Semillas	Índice De Acidez Biodiesel Químico	Índice De Acidez Biodiesel Enzimático
1	0,520928	10,0178
2	0,4407	6,8922
3	2,4844	7,94416
Semillas	Acidez Biodiesel Químico	Acidez Biodiesel Enzimático
1	0,2767	5,853571
2	0,2341	3,6611
3	1,3197	4,2198

*Fuente: Elaboración propia*

Los valores de acidez presentan una variación entre el método químico y enzimático, sin embargo, dentro de cada método, la variación es baja respecto a las semillas, se puede ver que, en el método químico, si está dentro del rango según la norma, pero en el método enzimático, tienen valores más altos

#### 5.7.5 Determinación de Humedad

**Tabla 25.** Resultados de la Humedad obtenida en los biodiesel

Semillas	Humedad Biodiesel Químico [% de masa]	Humedad Biodiesel Enzimático [% de masa]
1	3,98%	4,60%
2	4,63%	0,76%
3	1,32%	7,08%

*Fuente: Elaboración propia*

La humedad en un biodiesel debe ser un porcentaje mínimo, debido a que un alto valor puede causar daños al motor, el biodiesel con la humedad más apropiada fue el producido enzimáticamente con la semilla 2, a pesar de que la semilla 2 no era la menos humedad de las tres, esto se puede deber al lavado que se le dio al biodiesel.

#### 5.7.6 Determinación de Triglicéridos

Este parámetro se realizó siguiendo las indicaciones del laboratorio Wiener, mediante el uso de reactivos incluidos en el Kit **TG Color GPO/PAP AA**. En donde se homogenizo la muestra antes de usar, y se usaron cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Estándar) y D (Desconocido). Después de mezclar, se

incuba por 5 min a 37°C, se enfría y se lee en el espectrofotómetro que se muestra en la figura 25.[45]

Para el cálculo de los resultados se procede así:

$$TG (g/l) = D * factor$$

Donde:

$$factor = \frac{2 \text{ g/l}}{S}$$



**Figura 24.** Espectrofotómetro usado para las pruebas de triglicéridos

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 26 .** Resultado de la prueba de triglicéridos de los biodiesel obtenidos

Semillas	Triglicéridos Biodiesel Químico	Triglicéridos Biodiesel Enzimático
1	0,0727	4,07232
2	1,2909	1,6181
3	3,10878	7,90

**Fuente:** Elaboración propia

La tabla 26 muestra el valor de triglicéridos presentes en la muestra en donde se observa como varían cada biodiesel producido.

### 5.7.7 Determinación del Fósforo total

Este parámetro se determina con los kits del laboratorio de Spectroquant de "Test En Cubetas Fosfatos". En donde se prepara una muestra siguiendo la metodología propuesta del kit.



**Figura 25.** Fotografía de las cubetas de fosfatos usadas  
*Fuente: Elaboración propia*

**Tabla 27.** Resultado de la prueba de fósforo de los biodiesel obtenidos

Semillas	Fósforo Biodiesel Químico [mg/l]	Fósforo Biodiesel Enzimático [mg/l]
1	6,9	9,7
2	6,3	5
3	6,2	7,4

*Fuente: Elaboración propia*

En esta prueba se determinó la cantidad de fósforo total presente en las muestras de biodiesel tal como se observa en la tabla 27.

### 5.7.8 Cromatografía de gases

Se utilizó el equipo de cromatografía "DANI", el cual trabaja con gases tales como aire comprimido, Nitrógeno e Hidrógeno. Se programó el equipo con una rampa de temperaturas de 50,100,180,200,250 luego 200,180,100 y 50, el proceso duró 30 min. por cada prueba, primero se pasó el patrón el cual es un biodiesel elaborado en un laboratorio certificado y después se pasan las muestras de biodiesel químico y enzimático. Todos los biodiesel fueron disueltos en etanol al 90%

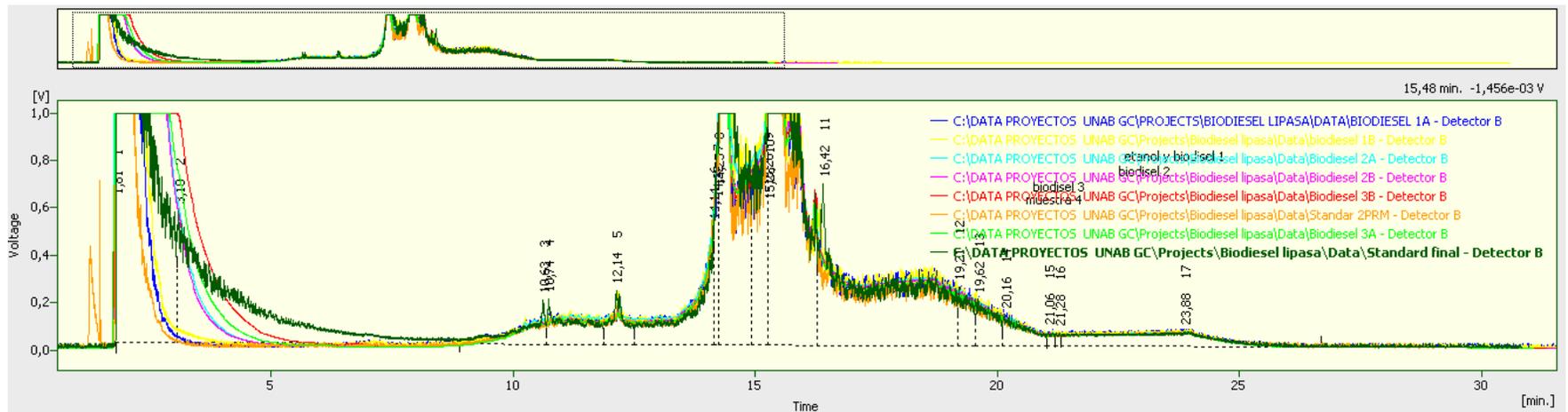
Para esta prueba se tomaron muestras de los biodiésel obtenidos y se comparó sus curvas y sus picos con un biodiesel estándar además de tener de referencia resultados de cromatografía realizadas a otro biodiesel que cumple con la normativa.

De acuerdo con las superposiciones de los cromatogramas de los biodiesel obtenidos en el laboratorio y el biodiesel estándar (Cromatograma verde) observado en la figura 27, las curvas de cromatografía son similares, los tiempos de retención en los picos son análogos y las alturas exactamente iguales. Esto indica que se puede afirmar que los biodiesel obtenidos en el desarrollo del proyecto a través de dos métodos diferentes tienen un comportamiento similar.



**Figura 26.** Fotografía del Cromatógrafo del CINBBYA usado en el proyecto

***Fuente:*** Elaboración propia



**Figura 27.** Comparación de la cromatografía de los biodiesel obtenidos

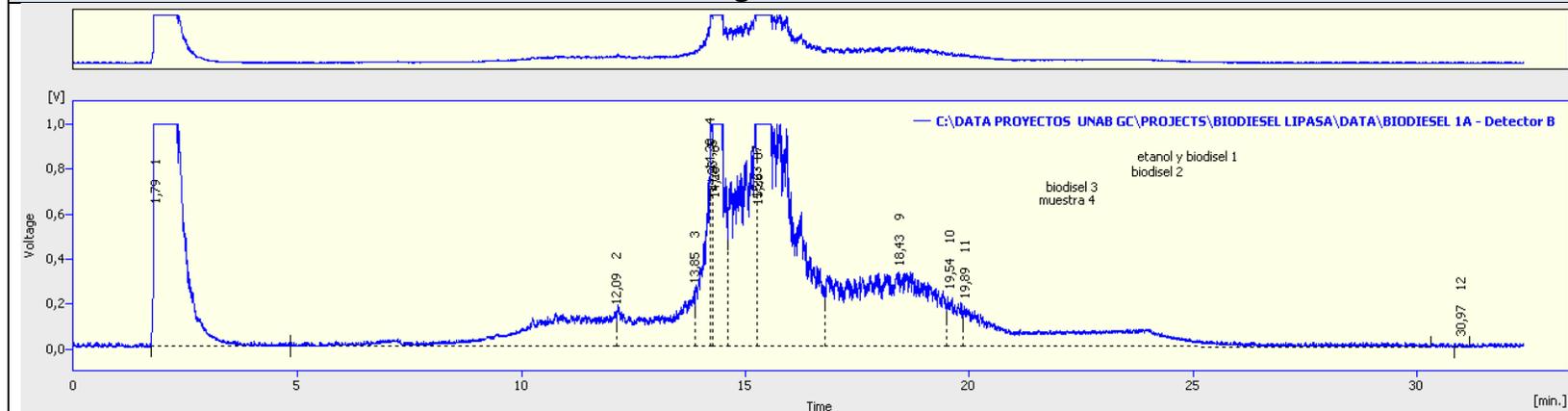
**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 27 se superponen todas las gráficas obtenidas en el cromatógrafo, se puede observar que en los curvas, picos y alturas se comportan todos los biodiesel de una manera similar.

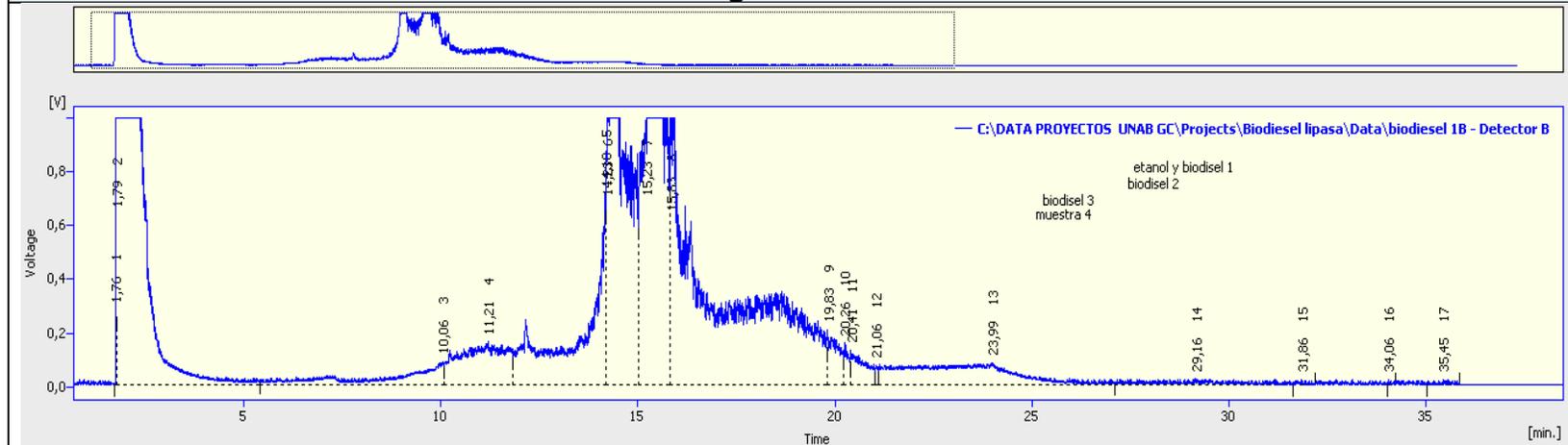
**Tabla 28.** Resultados de cromatografía de cada biodiesel

**Resultados cromatografía de los biodiesel obtenidos**

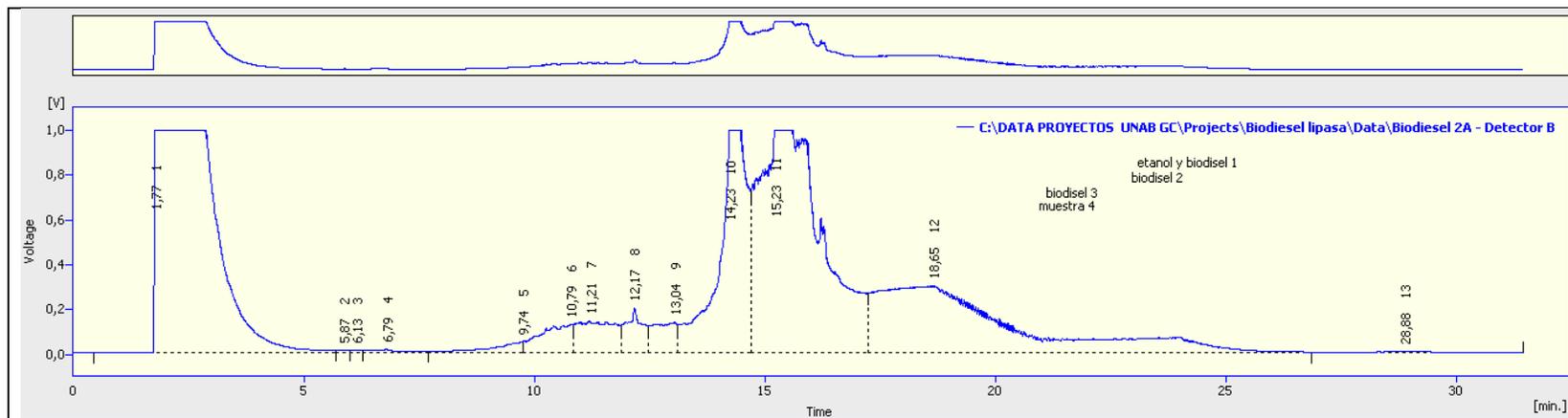
**Cromatografía biodiesel 1<sup>a</sup>**



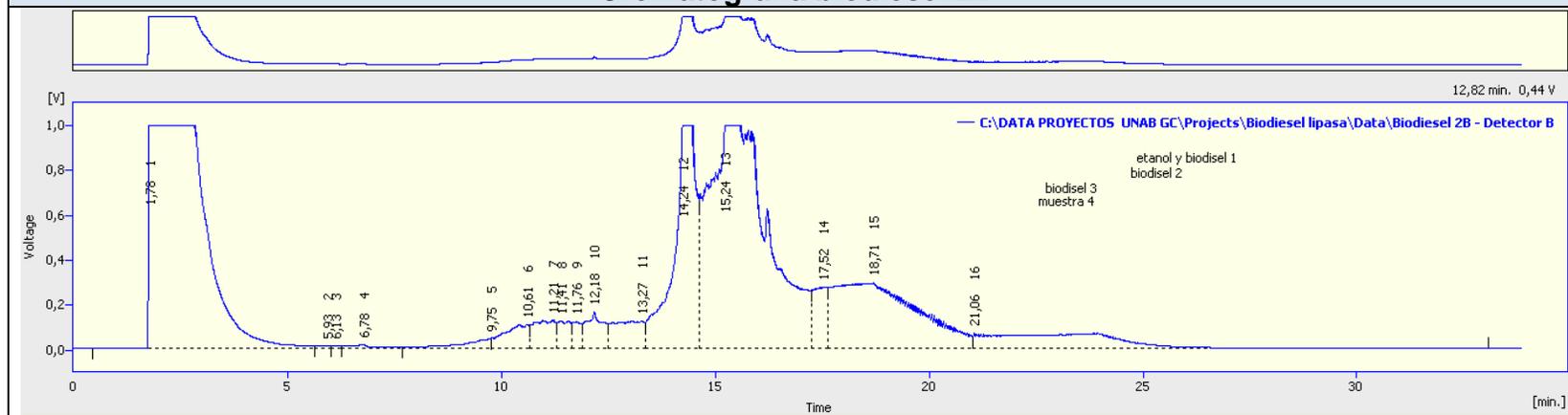
**Cromatografía biodiesel 1B**



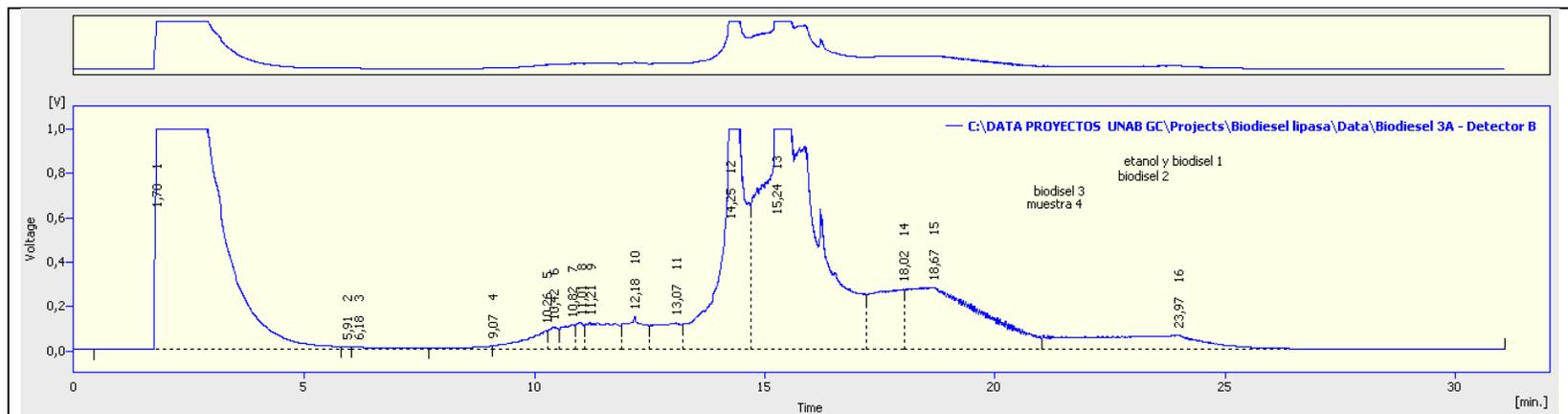
**Cromatografía biodiesel 2A**



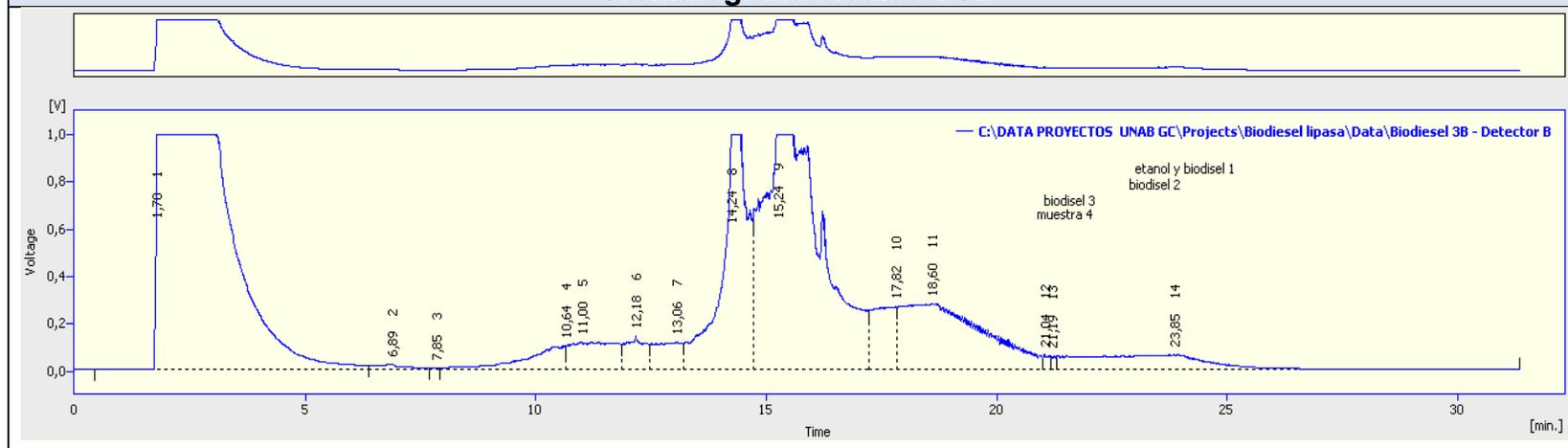
### Cromatografía biodiesel 2B



### Cromatografía biodiesel 3A



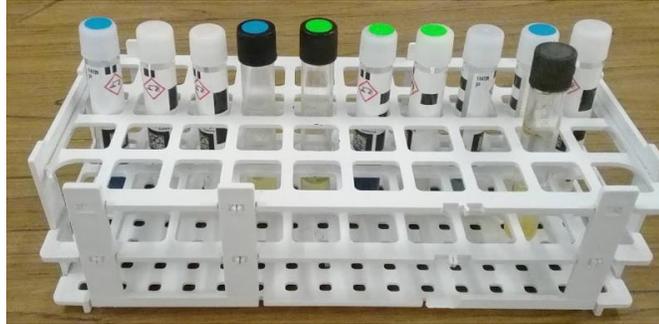
### Cromatografía biodiesel 3B



Fuente: Elaboración propia

En la tabla 28 se tienen los resultados de la prueba de cromatografía de gases que se realizó a cada biodiesel obtenido.

## 5.8 FASE 4: CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO



**Figura 28.** Cubetas utilizadas en la caracterización del residuo

*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 28, se tienen todos los tubos de ensayos con las muestras para las pruebas de Fosforo, Nitrógeno y Azufre.

### 5.8.1 Determinación de la Humedad

Se realiza siguiendo la metodología que se usó en las caracterizaciones de las semillas.

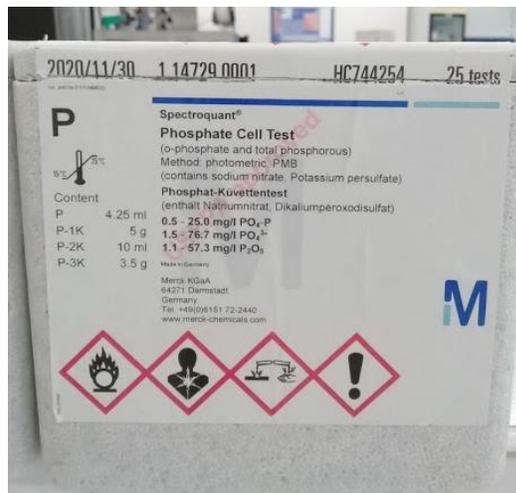
**Tabla 29.** Resultados de contenido de humedad en el residuo

Residuo de Semillas	Contenido de agua
1	8,9116%
2	9,3738%
3	8,3574%

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.8.2 Determinación de Fósforo (P)

Para la determinación de fósforo en el residuo que se obtuvo de la extracción del aceite de la semilla, se usó un kit de spectroquant “Test en cubetas Fosfatos”, el cual consiste en preparar una muestra del residuo con agua destilada, y luego se añade cada reactivo siguiendo la metodología de la prueba, en este caso es necesario el uso de un termorreactor.



**Figura 29.** Kit de Fósforo utilizado  
**Fuente:** *Elaboración propia*

**Tabla 30.** Resultados de contenido de fosforo

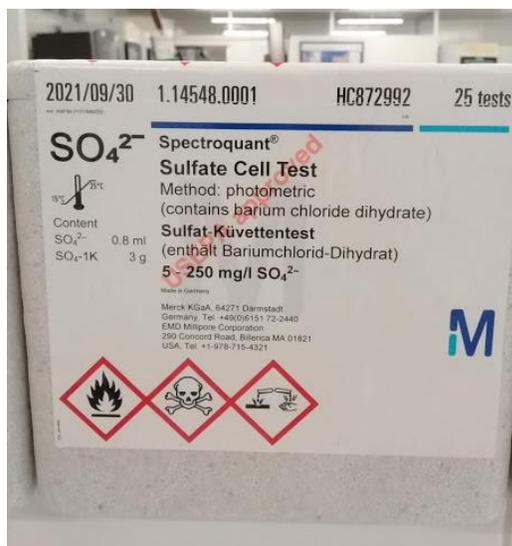
Residuo de Semillas	Contenido de Fosforo [mg/l]
1	20,5
2	20,2
3	20,7

**Fuente:** *Elaboración propia*

En la tabla 30 se observan los resultados de la cantidad de fosforo presentes en los residuos de las 3 semillas, este valor es muy similar en todas las semillas.

### 5.8.3 Determinación de Azufre (S)

Para la determinación de azufre en el residuo que se obtuvo en la extracción del aceite de la semilla, se usó un kit de spectroquant “Test en cubetas Sulfatos” el cual consiste en preparar una muestra del residuo diluida en agua destilada, y se procede a añadir cada reactivo siguiendo la metodología propuesta.



**Figura 30.** Kit de Azufre utilizado  
**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 31.** Resultados de contenido de azufre

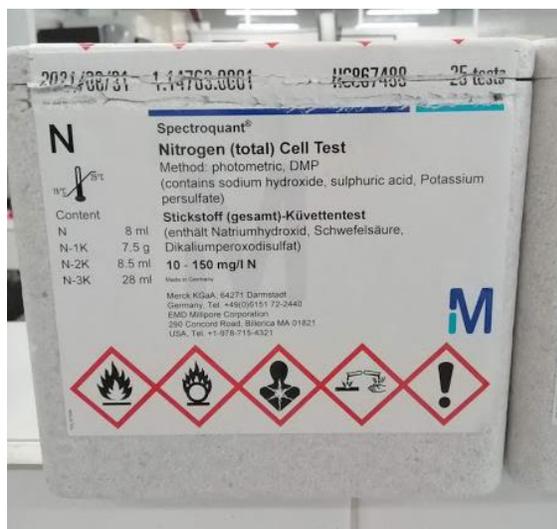
Residuo de Semillas	Contenido de Azufre [mg/l]
1	>250
2	>250
3	210

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 31 se observa que el contenido de azufre en las tres semillas está en el mismo rango, este resultado es de azufre total en toda la muestra que se analizó.

#### 5.8.4 Determinación de Nitrógeno (N)

Para la determinación de nitrógeno en el residuo que se obtuvo en la extracción del aceite de la semilla, se usó un kit de spectroquant “Test en cubetas Nitrógeno” el cual consiste en preparar una muestra del residuo diluida en agua destilada, y se procede a añadir cada reactivo siguiendo la metodología propuesta.



**Figura 31.** Kit de Nitrógeno utilizado  
**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 32.** Resultados de contenido de nitrógeno

Residuo de Semillas	Contenido de N [mg/l]
1	38
2	52
3	20

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 32 observamos que el residuo de las tres semillas tiene un contenido de nitrógeno en un rango de 20 – 52 (mg/l), lo que indica que puede ser usado también en forma de abono.

### 5.8.5 Proceso de peletización

Para la producción de los pellets a base del residuo de las semillas de higuera, en donde primero, se muele todo el residuo con el fin de poder mezclar bien el residuo para poder compactarlo. A la mezcla del residuo de las semillas se les agrega aserrín con el fin de mejorar las características físicas de cada pellet, además de que de esta forma se puede hacer cada pellet de forma más rápida. Para esto, se mezcló: El residuo previamente molido, aserrín (1/4) volumen del residuo y se le adiciona agua con el fin de ser usado como pegamento. Y se procedió a ingresar la

mezcla en un embudo que tiene un embolo y se procedió a usar el gato hidráulico para compactar la materia y así fabricar los pellets.



**Figura 32.** Gato Hidráulico usado para prensar el residuo

**Fuente:** *Elaboración propia*

Después de varios experimentos se encontró una relación que permitía la formación de pellets en donde se mantenía en estado más compacto. Los pellets que se obtuvieron se muestran en la figura 33.



**Figura 33.** Pellets obtenidos de las tres semillas

**Fuente:** *Elaboración propia*

### 5.8.6 Medición de la Longitud y Diámetro de los pellets

Se realiza la medición de la longitud y diámetro de 3 pellets por residuo de las 3 semillas, para sacar un promedio:

**Tabla 33.** Resultados longitud y diámetro Pellets

Pellets de los residuos	Promedio de longitud [cm]	Promedio de diámetro [cm]
1	1,35	5,975
2	1,275	6,025
3	1,475	5,95

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.8.1 Densidad de los pellets

La densidad es otro factor de respuesta importante a considerar, ya que entre mayor densidad mayor aporte calorífico; además permite reducir costos por transporte cuando la densidad es alta.

Densidad Unitaria o Individual: es la densidad promedio por pellet  $\rho_p$  en  $g/cm^3$ ; para ello se determina de forma individual, calculando el volumen del pellet  $V_p$  ( $cm^3$ ) mediante las mediciones de diámetro  $D$  (cm) y la longitud  $L$  (cm), y pesando el pellet en una balanza para determinar su masa  $m_p$  (g), se usan las ecuaciones:

Volumen de los pellets:

$$V_p = \frac{\pi D^2}{4} * L$$

Donde:

$V_p$  = Volumen del pellet ( $cm^3$ )

$D$  = Diámetro (cm)

$L$  = Longitud (cm)

Densidad de los pellets:

$$\rho = \frac{m_p}{V_p}$$

Donde:

$\rho$  = Densidad del pellet ( $g/cm^3$ )

$m_p$  = Peso del pellet (g)

$V_p$  = Volumen del pellet ( $cm^3$ )

**Tabla 34.** Resultado densidad de pellets

Pellets de los residuos	Volumen de los pellets [cm <sup>3</sup> ]	Densidad de los pellets [g/cm <sup>3</sup> ]
1	37,85	0,767
2	36,35	0,743
3	41,012	0,984

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.8.2 Determinación de ceniza de los pellets

El porcentaje de cenizas indica la cantidad de materia sólida no combustible por kilogramo de material. En los procesos térmicos de aprovechamiento de la biomasa que incluyen la combustión, es importante conocer el porcentaje contenido de ceniza en la biomasa, ya que en algunos procesos puede causar un deterioro de los equipos por formación de escorias. Se desecó y posteriormente se incineró a 550 °C ± 10 °C en una mufla. Tras determinar un periodo de tiempo, la muestra se acondicionó a temperatura ambiente y se volvió a pesar. El proceso se repitió hasta alcanzar peso constante. Se calculó el contenido de cenizas como la cantidad de cenizas referidas a la muestra inicial desecada, por diferencia de peso y expresado en porcentaje. [30]



**Figura 34.** Mufla usada para la prueba de cenizas

*Fuente: Elaboración propia*

En la figura 34, se aprecia la mufla que se usara para alcanzar temperaturas de 550° C.



**Figura 35.** Residuo de las tres semillas usado para la prueba de cenizas  
**Fuente:** *Elaboración propia*

En la figura 35 se observa los crisoles con muestras de cada pellet serán sometidos a la temperatura de 550°C.



**Figura 36.** Residuos de las tres semillas después de calcinarse  
**Fuente:** *Elaboración propia*

En la figura 36 se observa los crisoles con muestras de cada pellet luego de ser sometidos a la temperatura de 550°C durante 2 horas.

Se emplearon 5 gramos del residuo triturado; se colocaron en crisoles previamente pesados con y sin el residuo. Posteriormente se colocaron en la mufla a una temperatura de 550 °C y se dejaron por 2 horas; esto para que las muestras pudieran quemarse en su totalidad. Al transcurrir el tiempo, la mufla se apagó y se dejaron enfriar los crisoles en un desaireador para enfriar y evitar que las muestras absorbieran humedad. Finalmente, los crisoles se pesaron en la balanza analítica y se registró el peso. La ceniza se calculó en base al peso inicial menos el peso final, y considerando el peso del crisol como muestra la ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(P - p)}{M} * 100$$

Donde:

P= Peso del crisol con las cenizas en gramos (g)

p= Peso del crisol vacío en gramos (g)

M= Peso de la muestra en gramos (g)

**Tabla 35.** Resultados de porcentaje de cenizas del residuo

Residuo de Semillas	% Cenizas
1	20,5749%
2	11,3908%
3	22,0358%

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.8.3 Determinación de sólidos volátiles

Se determinó la cantidad de sólidos que tienen los residuos, que es la materia que puede volatilizarse por el efecto de calcinación a una temperatura de 550 °C. Para ello las muestras se colocaron en crisoles; posteriormente se colocaron en la estufa a una temperatura de 103 a 105 °C, durante una hora. La muestra evaporada se colocó en la mufla y se incineró a una temperatura de 550 °C, por dos horas, Los resultados se obtuvieron por medio de la ecuación:

$$\% \text{ Sólidos volátiles} = \frac{(A-B)}{PS} * 100$$

Dónde:

A = Peso del crisol con las muestras, después de la evaporación (peso constante) en gramos (g)

B = Peso del crisol con el residuo después de la calcinación en gramos (g)

PS = Peso de la muestra seca (g)



**Figura 37.** Fotografía de crisoles en el horno a 105°C

*Fuente: Elaboración propia*



**Figura 38.** Fotografía de crisoles en la mufla a 550°C  
**Fuente:** *Elaboración propia*

**Tabla 36.** Resultados de solidos volátiles

Pellets de los residuos	% Solidos volátiles
1	78,326
2	77,99
3	77,06

**Fuente:** *Elaboración propia*

#### 5.8.4 Determinación de contenido de Carbono

El método para determinar el contenido de carbono se basó en el método descrito por Kalra y Maynard en su Manual “Methods manual for forest soil and plant analysis” (Kalra y Maynard, 1991). Con este método se determinó el carbono orgánico total (COT) contenido en los residuos por medio de pérdida por ignición (Loss on Ignition, LOI por sus siglas en inglés). Para ello, se usaron 5 gramos de cada residuo y se calcinaron a una temperatura de 375 °C en la mufla por 4 horas. Las muestras, después de ser sometidas a esta temperatura, se dejaron enfriar a 150 °C en el horno apagado; posteriormente se pasaron al desecador para enfriarse a temperatura ambiente, y se pesaron registrando los pesos obtenidos. La cantidad de materia orgánica se calculó por medio de la ecuación:

$$\% LOI (materia orgánica) = \frac{(A - B)}{A} * 1000$$

Donde:

A = peso del residuo seco en la estufa en gramos  
 B = Peso del residuo después de la calcinación en gramos



**Figura 39.** Fotografía de crisoles con 5 gr de las muestras  
*Fuente: Elaboración propia*



**Figura 40.** Fotografía del residuo luego se 4 horas en la mufla  
*Fuente: Elaboración propia*

**Tabla 37.** Resultado contenido de Carbono

Pellets de los residuos	% Contenido de carbono
1	35,283
2	34,35
3	49,78

*Fuente: Elaboración propia*

### 5.9 FASE 5: PRODUCCIÓN DE LIPASA A PARTIR DEL HONGO *ASPERGILLUS NIGER*

Para la siembra del hongo *Aspergillus niger*, se usó una relación de 30 ml de aceite y 5 ml de cloruro sódico peptona y tween 80, este proceso se realizó en la cámara de bioseguridad y se realizó el mismo procedimiento con 6 muestras de cada aceite.

**Tabla 38.** El hongo *Aspergillus niger* cultivado en diferentes sustratos

<b>Aceite de Girasol</b>		
Fecha de incubación	02/10/19	
<b>Aceite de Oliva</b>		
Fecha de incubación	02/10/19	
<b>Aceite de Coco</b>		
Fecha de incubación	02/10/19	
<b>Aceite de Girasol</b>		
Fecha de incubación	16/10/19	
<b>Aceite de Ricino</b>		
Fecha de incubación	16/10/19	
<b>Aceite de Oliva</b>		

Fecha de incubación	16/10/19	
---------------------	----------	--

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 38 se puede observar los diferentes medios y aceites en donde se sembró el hongo *Aspergillus niger*, en diferentes días de incubación.

**Tabla 39.** Primera prueba de lipasa a partir de *Aspergillus niger*.

Caja Petri	Muestras de caja petri y enzima cruda I
	
Muestras de caja petri y enzima cruda II	Muestras de caja petri y enzima cruda III
	

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 39, se observa la primera prueba que se realiza a la enzima cruda que se forma en el sobrenadante de las muestras anteriores, esta prueba se realiza con manteca en donde se aplica una muestra de 3ml del sobrenadante a la manteca que se encuentra en la caja de Petri, y se espera que el sobrenadante realice un proceso enzimático, cambiando las características solidas de la manteca.

**Tabla 40.** Segunda prueba de lipasa a partir de *Aspergillus niger*

EC. Oliva1	EC. Coco	EC. Ricino	EC. Girasol 1	EC. Oliva 2
				
EC.Girasol2		Lipasa comercial		
				

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla 40 se observan tubos de ensayo en donde se agrega 10 ml de agua destilada con manteca previamente diluida y se le adiciona la enzima cruda o sobrenadante con el fin de observar su comportamiento y determinar si las enzimas crudas que se generaron podían ser usadas en un proceso de transesterificación.



**Figura 41.** Utilización de lipasa cruda como catalizador  
**Fuente:** *Elaboración propia*

Como se observa en la figura 41, la reacción de transesterificación no funcionó con la enzima cruda que se obtuvo a partir de *Aspergillus niger*, pero a pesar de que no se obtuvo biodiesel si hubo un cambio físico en los aceites utilizados por lo tanto se afirma que en la mezcla si hubo presencia de lipasa.

## 6. CONCLUSIONES

- A partir de los diseños experimentales tanto en la transesterificación química como enzimática, se pudo concluir que la relación molar más adecuada de aceite/alcohol era de 1:2, pudiendo notar en los experimentos y en literatura, que el tiempo de reacción, la temperatura y la velocidad de agitación son puntos fundamentales, el rendimiento será mayor con un tiempo de 2 horas, una temperatura de 50-60° y una velocidad de 350 RPM.
- Los biodiesel obtenidos a partir de la semilla 1 y 2, y por el método de transesterificación química cumplen con la mayoría de los parámetros evaluados según la NTC 544 tales como densidad, Acidez, triglicéridos y cromatografía.
- El biodiesel obtenido de la semilla 3 por vía química presenta un alto valor de acidez (1,3197 mg KOH/g aceite), lo cual es una desventaja ya que esta característica puede ocasionar corrosión en el sistema.
- Aplicando la transesterificación enzimática con el uso de la Lipasa comercial (XX Split 25 L) es posible la obtención de biodiesel a partir del aceite de higuera utilizando metanol, con mínima producción de desechos contaminantes. No se presentó en ninguno de los experimentos formación de emulsiones u otro tipo de fenómenos que pudieran dificultar la purificación de biodiesel.
- De las 3 semillas usadas en la transesterificación enzimática, la semilla 2 fue la que más cumplió los parámetros según la NTC 544, los cuales son densidad, humedad y triglicéridos.
- La cantidad de residuo generado por la extracción de aceite de las semillas de higuera fue suficiente para ser considerada una opción como combustible sólido.
- El residuo de la semilla 3 puede ser considerado el óptimo para uso como combustible debido a su bajo porcentaje de agua y su alto contenido de cenizas que indica que la reacción de combustión sería más rápida que con

los otros dos residuos, sin embargo, los otros dos residuos también tienen un poder de combustión óptimo.

- El porcentaje de Carbono en la materia orgánica debe contener 58 % de C aproximadamente, según esto los pellets elaborados a partir del residuo de la semilla 3 fueron los más cercanos según la norma.
- El contenido de cenizas es una variable importante ya que representa todo el material que no fue quemado y está compuesto por materiales inorgánicos, derivados de potasio, calcio, magnesio y otros. De los pellets elaborados, el contenido de cenizas fue mayor al que dicta la norma, sin embargo, esto no representa problemas mayores para la disposición final de estos, la causa podría ser que el contenido de cenizas depende de la biomasa utilizada.
- De los cromatogramas se puede concluir que el cambio del catalizador no influye en la calidad del biodiesel, ya que se observó que todos los biodiesel obtenidos tenían un comportamiento similar.

## 7. RECOMENDACIONES

- Se debe calentar previamente el aceite antes del proceso de reacción, para eliminar cualquier rastro de humedad.
- Es importante que después de la extracción del aceite hacerle una limpieza, para eliminar partículas indeseables que puedan producir un biodiesel de menor calidad.
- Se recomienda en el método enzimático dejar la reacción más de 24 horas en el embudo de separación, ya que se observó que se tiene una mejor apreciación de las fases que se formaron de biodiesel y glicerina.
- Realizar la prueba de poder calorífico a los pellets mediante la bomba calorífica para obtener este parámetro y saber si los pellets obtenidos a partir del residuo pueden ser aprovechados.
- Se debe buscar una forma para poder realizar los pellets de manera industrializada, y no mecánicamente.
- De otra manera se necesita realizarles pruebas a las cenizas obtenidas para saber que uso final darles.
- Es importante realizar la prueba de esteres a los biodiesel obtenidos para determinar si pueden si cumplen con este parámetro y saber si pueden ser utilizados comercialmente.
- Es importante realizar el estudio necesario para determinar los principales beneficios e inconvenientes en un cultivo de higuera utilizado de forma para la producción de biodiesel.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Dufey, "Producción y comercio de biocombustibles y desarrollo sustentable: los grandes temas," *Inst. Internacional para el Medio Ambiente y Desarro. Londres*, p. 69, 2006.
- [2] J. Stratta, "Biocombustibles: los aceites vegetales como constituyentes principales del biodiesel," *Bols. Comer. Rosario*, pp. 1–15, 2000.
- [3] R. Cabrales, J. Marrugo, and J. Abril, *Rendimientos en semilla y calidad de los aceites del cultivo de higuierilla (Ricinus communis L) en el valle del Sinú, departamento de Córdoba*. 2014.
- [4] J. Coca, O. Hernández, R. Berrio, S. Martínez, E. Díaz, and J. C. Dustet, "Producción y caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*," 2001.
- [5] A. Fuentes, "CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LA JATROPHA Y LA HIGUERILLA COMO INSUMOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL Y SU POTENCIAL EN LA MITIGACIÓN DE EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO," 2006.
- [6] J. Uribe Morón and N. Pérez Muñoz, "DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE HIGUERILLA (*Ricinus Communis*) Y ACEITE DE PALMA MIL PESOS (*Oenocarpus bataua*) NATALIA PÉREZ MUÑOZ," 2007.
- [7] A. Palomino, C. Bocanegra, J. López, and L. Flórez, "Biodiesel a partir de aceite de higuierilla utilizando lipasa inmovilizada," vol. 12, no. 1, pp. 9–18, 2010.
- [8] M. Ladero and L. Calvo, "OBTENCIÓN DE BIODIESEL POR VÍA ENZIMÁTICA A PARTIR DE UN ACEITE MODELO DE MICROALGAS EN MEDIOS NO CONVENCIONALES," 2010.
- [9] I. Sánchez and K. Huertas, "OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE SEMILLAS DE *Ricinus communis*. (HIGUERILLA) MODIFICADAS GÉNÉTICAMENTE Y CULTIVADAS EN EL EJE CAFETERO," 2012.
- [10] M. F. Cornejo Martinez and O. Estrada Urbano, "Caracterización de aceite de higuierilla (*Ricinus communis*) de dos variedades silvestres para la producción de biodiesel en la región del Valle de Mezquital, Hidalgo," 2012.
- [11] A. González Hassig, C. A. García Ubaque, and G. F. Talero Rojas, "Estudio de planta piloto para peletización de residuos madereros y su utilización como combustible en hornos ladrilleros," *Rev. Tecnura*, vol. 18, no. 40, p. 62, 2014.
- [12] J. Aguilera, "Sostenibilidad de los biocombustibles para autoconsumo en un entorno rural," 2014.
- [13] P. Pardo, "ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DEL BIODIÉSEL OBTENIDO A PARTIR DE ACEITE DE HIGUERILLA (*RICINUS COMMUNIS L.*)," 2015.
- [14] A. I. El-Batal, A. A. Farrag, M. A. Elsayed, and A. M. El-Khawaga, "Biodiesel production by *aspergillus Niger* lipase immobilized on barium ferrite magnetic

- nanoparticles,” *Bioengineering*, vol. 3, no. 2, 2016.
- [15] L. Polo Rodriguez, M. Fontalvo Gómez, and D. Mendoza Meza, “Producción de biodiesel mediante transesterificación enzimática de aceite extraído de residuos de la industria de alimentos,” *Prospectiva*, vol. 16, pp. 26–33, 2018.
- [16] D. D. Alcalá-Galiano Morell, M. C. Cujilema Quitio, G. León Revelo, L. Baryolo González, and L. B. Ramos Sánchez, “Producción enzimática de biodiesel con biomasa lignocelulósica,” 2017.
- [17] M. C. Cujilema-Quitio, G. León Revelo, M. Rizo Porro, L. Taramona Ruiz, and L. Ramos Sanchez, “PRODUCCIÓN DE LIPASAS POR FERMENTACIÓN SÓLIDA CON ASPERGILLUS NIGER: INFLUENCIA DEL PH LIPASE,” 2018.
- [18] “Higuerilla (Planta) - EcuRed.” [Online]. Available: [https://www.ecured.cu/Higuerilla\\_\(Planta\)](https://www.ecured.cu/Higuerilla_(Planta)). [Accessed: 17-Nov-2019].
- [19] “(No Title).” [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu/pdf/caz/v45n4/caz01418.pdf>. [Accessed: 11-Nov-2019].
- [20] Universidad EIA, “Higuerilla (*Ricinus communis*),” 2014. [Online]. Available: <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/261>. [Accessed: 29-Nov-2019].
- [21] M. Fernandez Garcia, P. Alonso Álvarez, B. Gros Bañeres, and V. Bertol Alegreb, “Intoxicación por semillas de ricino | Atención Primaria,” 1996. [Online]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-intoxicacion-por-semillas-ricino-14333>. [Accessed: 21-Nov-2019].
- [22] A. Benavides, P. Benjumea, and V. Pashova, “EL BIODIESEL DE ACEITE DE HIGUERILLA COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO PARA MOTORES DIESEL,” *DYNA, Volumen 74, Número 153, p. 141-150, 2007. ISSN electrónico 2346-2183. ISSN impreso 0012-7353.*, 2007. [Online]. Available: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/951/11642>. [Accessed: 18-Nov-2019].
- [23] A. T. JAMES, H. C. HADAWAY, and J. P. WEBB, “THE BIOSYNTHESIS OF RICINOLEIC ACID.,” *Biochem. J.*, vol. 95, pp. 448–452, 1965.
- [24] L. (KMEC) Henan Kingman Mechanical & Electrical Complete Plant Co., “¿Qué es la extracción con solvente?” [Online]. Available: <http://www.plantasaceiteras.com/procesos-de-extracci-n-por-solventes.html>. [Accessed: 18-Nov-2019].
- [25] “Prensado en frio, la elaboracion mas natural del aceite de semillas.” [Online]. Available: [http://www.prensadoenfrio.com/71041\\_es/prensado-en-frio-la-elaboracion-mas-natural-del-aceite-de-semillas/](http://www.prensadoenfrio.com/71041_es/prensado-en-frio-la-elaboracion-mas-natural-del-aceite-de-semillas/). [Accessed: 18-Nov-2019].
- [26] R. Steinberg, “BIODIESEL biocarburante liquido de origen biológico (vegetal o animal),” pp. 1–35, 2008.
- [27] K. Bozbas, “Biodiesel as an alternative motor fuel: Production and policies in the European Union,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 12, no. 2, pp. 542–552, Feb-2008.
- [28] U. Schuchardt, R. Sercheli, and R. M. Vargas, “Transesterification of

- Vegetable Oils: a Review,” 1998.
- [29] U. Schuchardt, R. Sercheli, and R. Matheus, “Transesterification of Vegetable Oils : a Review,” vol. 9, no. 1, pp. 199–210, 1998.
- [30] DK an A.Enzyme JP company, “Additives for Industry LIPASA XX SPLIT 25 L ©,” p. 25, 2019.
- [31] P. Hinton-Sheley, “What is aspergillus niger?,” 2018. [Online]. Available: [https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Aspergillus-niger-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Aspergillus-niger-(Spanish).aspx). [Accessed: 19-Nov-2019].
- [32] EcuRed, “Aspergillus niger,” 2016. [Online]. Available: [https://www.ecured.cu/Aspergillus\\_niger](https://www.ecured.cu/Aspergillus_niger). [Accessed: 19-Nov-2019].
- [33] R. Dinero, “El biodiésel como un sustituto de los combustibles fósiles no funciona del todo,” 2015. [Online]. Available: <https://www.dinero.com/pais/articulo/biodiesel-colombia/214602>. [Accessed: 11-Nov-2019].
- [34] B. Herrera, S. Leyva, V. Ortiz, J. Cardenas, and E. Lozano, “BIOCOMBUSTIBLES EN COIOMBIA,” 2009.
- [35] C. Forero, C. Guerrero, and E. Sierra, “Producción y uso de pellets de biomasa para la generación de energía térmica : una revisión a los modelos del proceso de gasificación,” *ITECKNE*, vol. 9, no. 1692–1798, pp. 21–30, 2012.
- [36] D. Trejo, “PRODUCCIÓN DE PELLETS DE RESIDUOS DE CULTIVO DE FRIJOL CON MÁXIMO CONTENIDO ENERGÉTICO,” UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO, 2018.
- [37] Ecoticias, “Energía de la biomasa: los pellets,” <http://www.vidasostenible.org/>, 2014. [Online]. Available: <http://www.vidasostenible.org/informes/energia-de-la-biomasa-los-pellets/>. [Accessed: 29-Nov-2019].
- [38] T. Biomasa, “Qué son los pellets,” 2015. [Online]. Available: <https://tiendabiomasa.com/pellet>. [Accessed: 19-Nov-2019].
- [39] E. Riegelhaupt, “Biocombustibles Sólidos,” *Curso Biocombustibles Sólidos*, 2014.
- [40] I. Obernberger and G. Thek, “Physical characterisation and chemical composition of densified biomass fuels with regard to their combustion behaviour,” vol. 27, pp. 653–669, 2004.
- [41] E. Pérez Cruz, “Caracterización fisicoquímica de semillas de *Cylindropuntia imbricata*; *Opuntia matudae*; *O. heliabravoana*; *O. joconostle* y *O. ficus-indica* cultivadas en el estado de Hidalgo,” *200.34.44.252*, pp. 1–91, 2007.
- [42] I. Quiroz, E. García, G. Marta, P. Chung, and H. Soto, “Vivero Forestal: Producción de plantas nativas a raíz cubierta,” *INFOR*, 2009.
- [43] INCONTEC 336, “GRASAS Y ACEITES ANIMALES Y VEGETALES. MÉTODO DE LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD (MASA POR VOLUMEN CONVENCIONAL),” 2002.
- [44] INCONTEC 218, “Grasas Y Aceites Vegetales Y Animales. Determinación de Índice de Acidez,” 1999.

[45] Wiener lab, "TG Color GPO/PAP AA," pp. 1–2, 2000.

## 9. ANEXOS

### Anexo A: FICHA TÉCNICA DE LIPASA UTILIZADA

DK an A.Enzyme JP Company



#### LIPASA XX SPLIT 25 L<sup>®</sup>

Esterasa

La *Lipasa XX Split 25L* es una enzima Esterasa (E.C.3.1.1.3-Triacylglicerol Acylhidrolasa), de aspecto líquido, producida mediante fermentación sumergida de un microorganismo (*T. Lanuginosus*) modificado genéticamente. La proteína enzimática, no modificada genéticamente, se separa del organismo de producción y luego es purificada.

La enzima es de un color amarillo de tenue a oscuro con ligero olor a fermentación. La característica de color no es un indicador de la actividad enzimática y puede cambiar de lote a lote de producción.

Tiene diversos usos, entre ellos en procesamiento de papel, en formulaciones para tratamientos de aguas con presencia de grasas de origen animal o vegetal, elaboración de detergentes. Tiene alta capacidad para degradar aceites provenientes de cebos industriales, aceites de palma y coco y otros de origen vegetal.

#### Declaración de Ingredientes.

Enzima Lipasa, Conservante Proxel, Propilenglicol y/o sorbitol USP como estabilizantes.

Solubilidad	Soluble en Agua
Color	Amarillo hasta ámbar tenue
sp. Gr	N / A
Actividad	Mín. 3,030 FIP/g
Forma	Líquido de olor típico

#### Niveles de Uso Sugeridos

Se sugiere el uso de 300 a 600 gramos de *Lipasa XX Split 25L* por tonelada métrica de aceite como sustrato.

El uso de *Lipasa XX Split 25L* en otras aplicaciones, sugiere una evaluación preliminar con niveles de uso que van desde 0,2 % a 1,0 % sobre el peso de sustrato que contenga el material a procesar.

En formulaciones para detergentes, use de 0,1 a 0,8 % sobre la base detergente final.

En esta aplicación, debe incorporarse a la mezcla cuando el detergente se encuentre estabilizado en términos de pH. No se recomienda incorporar simultáneamente con agentes que puedan causar su inactivación o con elevados valores de pH.

Additives for Industry



Es necesario evaluar el uso de la *Lipasa XX Split 25L* observando el desempeño y resultado finales, hasta encontrar la dosis con resultado óptimo.

La estabilidad del producto en detergentes, es mayor cuando se usan Propilenglicol o sorbitol o derivados del ácido bórico tales como boratos, para las formulaciones líquidas.

En todo caso la mejor estabilidad se logra con el diluyente apropiado.

#### Efecto de la Temperatura

El rango efectivo de temperatura está entre los 30 ° C y los 40 ° C.

#### Efecto del pH

Optimo de pH	:	7.5
Rango efectivo de pH	:	5.0 a 8.0.
Estabilidad al pH	:	7.0 a 10.0

#### Manejo

Evite atomización o formación de aerosoles finos del producto concentrado.

Una repetida inhalación del aerosol puede causar sensibilización y reacciones de tipo alérgico en individuos sensibles.

Si se ingiere debe acudir al médico inmediatamente.

#### Empaque, Almacenamiento / Vida útil

El envase comercial de nuestro producto es el bidón plástico por 20 kilos neto; otras presentaciones están disponibles para volúmenes inferiores o superiores al estándar. El producto ha sido formulado para mantener una estabilidad óptima. Almacénese a 10 ° C preferiblemente, en su envase original. Se recomienda refrigeración. Puede resultar necesario aumentar la dosis si la enzima ha experimentado un almacenamiento prolongado en condiciones adversas, incluyendo humedad o temperatura altas.

La pérdida de actividad en condiciones frescas y secas, puede ser inferior al 10 % en un año. Si se almacena a 10 °C o por debajo, la vida útil en almacenamiento puede extenderse y la pérdida de actividad enzimática puede ser inferior al 5 % en un año.

♦♦

Los datos señalados en esta ficha técnica, son de carácter orientativo y se ofrecen de buena fe, pero no implican garantía expresa de nuestra parte ni del fabricante, ya que el manejo dado por cada usuario o las condiciones de uso de cada consumidor en particular, se encuentran fuera de nuestro control.

Proenzimas S.A. garantiza que la actividad enzimática dada por el método es la anunciada en la ficha técnica, pero no se hace responsable por los resultados de tratamientos efectuados con la enzima.