



RESUMEN TESIS DE GRADO

AUTOR (ES):

NOMBRE (S): ISMAEL ENRIQUE

APELLIDOS: GARCÍA OCHOA

NOMBRE (S): YEILY ADRIANA

APELLIDOS: RANGEL BASTO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE (S): NÉSTOR ANDRÉS

APELLIDOS: URBINA SUÁREZ

TÍTULO DE LA TESIS: DISEÑO DE UN PROCESO DE TRANSESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIESEL UTILIZANDO ACEITE DE MICROALGAS SINTÉTICO

RESUMEN:

En la búsqueda de energías alternativas que puedan disminuir el impacto ambiental generado por combustibles fósiles, el presente estudio buscó diseñar un proceso de transesterificación enzimática para la producción de biodiesel utilizando aceite de *Chlorella sp* sintético. La cinética celular fue monitoreada cuantificando biomasa, sustrato, y productos, induciendo la acumulación de lípidos mediante la disminución de la concentración de NaNO_3 y la suplementación con NaHCO_3 . La determinación del perfil lipídico del aceite de *Chlorella sp* obtenido, permitió realizar un aceite sintético a partir de aceites vegetales, implementando un sistema de ecuaciones lineales. La transesterificación se realizó siguiendo un diseño factorial 2^2 evaluando dos temperaturas (33°C y 38°C) y dos concentraciones de lipasa XX 25 split líquida (5% y 10%), con una relación molar alcohol aceite 3:1, en un tiempo de reacción de 6 horas. La variable de respuesta evaluada fue la cantidad de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) producidos. El mejor biodiesel se obtuvo a una concentración de enzima del 5% sin presentar diferencias significativas ($p < 0,05$) al variar la temperatura. El porcentaje de FAME obtenido fue superior a 96.5%, alcanzando rendimientos de 91,348 % bajo esta misma concentración a 38°C de temperatura, generando un biodiesel de buena calidad.

Palabras claves: Biodiesel, microalgas, transesterificación enzimática, lipasa.

CARACTERÍSTICAS:

PAGINAS: 178

PLANOS:

ILUSTRACIONES:

CD-ROM: 1

DISEÑO DE UN PROCESO DE TRANSESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA
OBTENCIÓN DE BIODIESEL UTILIZANDO ACEITE DE MICROALGAS SINTÉTICO

ISMAEL ENRIQUE GARCÍA OCHOA

YEILY ADRIANA RANGEL BASTO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSE DE CÚCUTA

2015

DISEÑO DE UN PROCESO DE TRANSESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA
OBTENCIÓN DE BIODIESEL UTILIZANDO ACEITE DE MICROALGAS SINTÉTICO

ISMAEL ENRIQUE GARCÍA OCHOA

YEILY ADRIANA RANGEL BASTO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero biotecnológico

Director

NESTOR ANDRES URBINA SUAREZ

Magister en Biotecnología y Bioingeniería

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSE DE CÚCUTA

2015



ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 29 DE SEPTIEMBRE DEL 2015

HORA: 1100 A.M.

LUGAR: SALA 203 EDIFICIO DE POSGRADOS

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "DISEÑO DE UN PROCESO DE TRANSESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA PARA LA OBTENCIÓN DE BIODISEL UTILIZANDO ACEITE DE MICROALGAS SINTÉTICO".

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

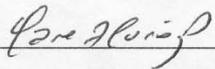
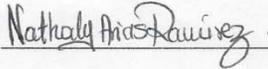
JURADOS:
YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA
NATHALY ARIAS RAMIREZ
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

DIRECTOR: NÉSTOR ANDRÉS URBINA SUÁREZ.

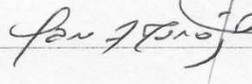
| NOMBRE DEL ESTUDIANTE | CODIGO | CALIFICACION |
|-----------------------------|---------|--------------|
| YEILY ADRIANA RANGEL BASTO | 1610620 | 5.0 |
| ISMAEL ENRIQUE GARCIA OCHOA | 1610624 | 5.0 |

OBSERVACIONES: LAUREADA

FIRMA DE LOS JURADOS:

Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular



Dedicatoria

A Dios, por proveerme de la fortaleza y entendimiento necesario para conquistar esta nueva meta iluminando cada paso que doy con su inmenso amor y bondad. A Él, sean todos mis sacrificios y el fruto de mis esfuerzos.

A mi familia por ser mi inspiración y el motor que da energía a mi vida, por alentarme y darme todo su apoyo aun cuando el tiempo para compartir se hacía tan corto. A ellos les debo todo lo que soy:

A mi madre Rosa Basto, por dedicar todo su tiempo a mi educación, por su gran apoyo, comprensión, consejos y amor incondicional, que junto con sus fuerzas me dieron alas para llegar lejos. Gracias por creer en mi mami! A ti toda mi admiración.

A mi padre Juan Rangel, por su gran apoyo, cariño y esfuerzo, por brindarme siempre sus consejos, moldeando mi formación. Gracias papi, por tus enseñanzas, y por darle fuerza y cuidado a mis pasos!

A mi hermanita Mylena Carvajal, por su inmenso cariño y apoyo, por enseñarme a creer en mí y a perseguir mis sueños, por darme mi hermoso *angelito Santy*, que irradia de amor, ternura y energía nuestras vidas, y a mi *cuñado Martín*, quién siempre ha estado ahí para apoyarnos. Mil Gracias.

A mi compañero de tesis Ismael García, que más que un amigo se ha convertido en un hermano, brindándome siempre su apoyo, y transformando todos esos momentos de dificultad y agotamiento en un carnaval de risas.

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor,

La electricidad y la energía atómica:

La voluntad”. - Albert Einstein

Mil Gracias a Todos.

Yeily Rangel Basto.

Dedicatoria

En primer lugar a Dios, quien supo guiarme y darme la fuerza y sabiduría necesaria para alcanzar este logro en mi vida y no decaer ante los problemas que se presentan.

A mi madre Raquel Ochoa, quien hizo posible este logro, por su apoyo incondicional, por su constante motivación, por ese valor mostrado para superar los obstáculos, pero sobre todo por su infinito amor.

A mis hermanos José Luis y Jesús Daniel, por estar siempre a mi lado y que vean en mi un ejemplo a seguir.

A mi abuela Teresa Lara y mi tío Orlando Ochoa, porque siempre me brindaron su apoyo y consejos que han sido de gran ayuda en mi vida.

A mi compañera de tesis Yeily Rangel por brindarme su amistad y por tenerme la paciencia necesaria para alcanzar este logro en común.

Ismael Garcia Ochoa

Agradecimientos

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos a:

DIOS, por habernos iluminado el camino y permitirnos llegar a este punto de nuestras vidas, por su inmensa bondad y amor al acompañarnos en cada paso que damos, por habernos concedido una familia y aquellas personas que también han sido nuestro soporte y compañía durante todo el periodo de nuestro estudio. Gracias por la salud y la fortaleza, Porque todas las cosas proceden de él, y existen por él y para él. ¡A él sea la gloria por siempre! Amén. Romanos 11:36.

M. Sc. Néstor Andrés Urbina Suárez, por haber confiado en nosotros al darnos la oportunidad de desarrollar este proyecto, por su calidad de docente para guiarnos y hacer todo lo necesario en el proceso de desarrollo de la tesis, por su colaboración, paciencia, asesoramiento y tiempo dedicado para con nosotros.

C Phd. Andres Fernando Barajas Solano y PhD. Alba Lucia Roa Parra, nuestros asesores por su colaboración y aportes para este proyecto.

Ing. Mónica Reyes, por su acompañamiento y colaboración durante el desarrollo práctico del presente proyecto.

Ing. Yaneth Muñoz y docentes del plan de estudios de ingeniería biotecnológica, que nos apoyaron y nos brindaron su colaboración en el desarrollo de la tesis.

Universidad Francisco de Paula Santander, por el apoyo, colaboración y permitirnos llevar a cabo nuestro proyecto en sus instalaciones.

Nuestros amigos y todas aquellas personas que de una manera u otra nos ayudaron en el transcurso de nuestro desarrollo profesional.

Finalmente agradecemos a quien lee este apartado y demás contenido del proyecto, por permitir a nuestra investigación incurrir dentro de su repertorio de información biotecnológica y por su tiempo dedicado en este acto.

Gracias.

Ismael García & Yeily Rangel

Contenido

| | pág. |
|------------------------------------------------------------------|-------------|
| Introducción | 22 |
| 1. El Problema | 24 |
| 1.1 Título | 24 |
| 1.2 Planteamiento del Problema | 24 |
| 1.3 Formulación del Problema | 25 |
| 1.4 Justificación | 25 |
| 1.5 Objetivos | 27 |
| 1.5.1 General | 27 |
| 1.5.2 Específicos | 27 |
| 1.6 Delimitación | 28 |
| 1.7 Limitación | 28 |
| 2. Marco Referencial | 29 |
| 2.1 Antecedentes | 29 |
| 2.2 Marco Teórico | 31 |
| 2.2.1 Situación actual de los biocombustibles | 31 |
| 2.2.2 Clasificación de los biocombustibles | 34 |
| 2.2.3 Biocombustibles en Colombia | 36 |
| 2.2.3.1 Producción de alcohol carburante (bioetanol) en Colombia | 38 |
| 2.2.3.2 Producción de biodiesel en Colombia | 39 |
| 2.2.4 Microalgas | 44 |
| 2.2.4.1 Métodos de cultivo | 45 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.4.1.1 Estanques exteriores o sistemas abiertos | 46 |
| 2.2.4.1.2 Sistemas cerrados o Fotobiorreactores | 46 |
| 2.2.4.2 Potencial de las microalgas en la producción de biodiesel | 50 |
| 2.2.4.3 Contenido lipídico de las microalgas | 52 |
| 2.2.4.4 Requisitos para el crecimiento microalgas | 54 |
| 2.2.5 <i>Chlorella sp</i> | 56 |
| 2.2.5.1 Cinética de crecimiento | 59 |
| 2.2.5.2 Síntesis de lípidos | 61 |
| 2.2.6 Métodos de recuperación de biomasa. | 63 |
| 2.2.7 Extracción de lípidos en las microalgas | 64 |
| 2.2.7.1 Extracción Soxhlet | 66 |
| 2.2.7.2 Método de Bligh and Dyer | 66 |
| 2.2.8 Transesterificación de triglicéridos | 67 |
| 2.2.8.1 Tipos de transesterificación | 71 |
| 2.2.9 Lipasas | 76 |
| 2.2.9.1 Plegamiento y aminoácidos catalíticos | 79 |
| 2.2.10 Biodiesel | 81 |
| 2.2.10.1 Técnicas de análisis para aceites | 83 |
| 2.2.10.2 Técnicas de análisis de los metilésteres (biodiesel) | 85 |
| 2.2.10.3 Determinación cuantitativa de los metil ésteres en el biodiesel por medio de cromatografía de gases | 88 |
| 2.3 Marco Legal | 89 |
| 3. Metodología | 93 |
| 3.1 Tipo de Investigación | 93 |

| | |
|------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2. Población y Muestra | 93 |
| 3.3 Hipótesis | 93 |
| 3.3.1 Hipótesis nula | 93 |
| 3.3.2 Hipótesis alternativa | 93 |
| 3.4 Variables | 94 |
| 3.5 Fases de la Investigación | 94 |
| 3.5.1 Reactivación de la cepa <i>Chlorella sp</i> | 95 |
| 3.5.2 Producción de biomasa a escala de 2 litros | 95 |
| 3.5.3 Producción de biomasa a escala de 10 litros | 96 |
| 3.5.4 Recuperación de biomasa | 97 |
| 3.5.5 Extracción lipídica de la biomasa microalgas | 99 |
| 3.5.6 Diseño de un aceite de microalgas sintético | 99 |
| 3.5.8 Transesterificación enzimática | 101 |
| 3.5.8.1 Diseño factorial de experimentos | 101 |
| 3.5.8.2 Montaje experimental | 102 |
| 3.5.8.3 Lavado y secado del biodiesel | 105 |
| 3.5.9 Caracterización fisicoquímica del biodiesel obtenido | 105 |
| 3.5.10 Análisis de metil ésteres de ácidos grasos | 105 |
| 3.5.11 Técnicas de análisis y procesamiento de datos | 106 |
| 4. Resultados y Análisis | 107 |
| 4.1 Cinética de 2 Litros | 107 |
| 4.2 Cinética de 10 Litros | 111 |
| 4.3 Inducción de Lípidos | 114 |
| 4.4 Cinética 10L Medio Modificado | 117 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.5. Producción de un Aceite de Microalgas Sintético | 120 |
| 4.6 Análisis fisicoquímico del aceite de <i>Chlorella sp</i> sintético | 123 |
| 4.7 Transesterificación Enzimática | 125 |
| 4.8 Caracterización Fisicoquímica del Biodiesel Obtenido | 130 |
| 4.9 Análisis de FAME en el Biodiesel Obtenido | 135 |
| 5. Conclusiones | 141 |
| 6. Recomendaciones | 143 |
| Referencias Bibliográficas | 144 |
| Anexos | 163 |