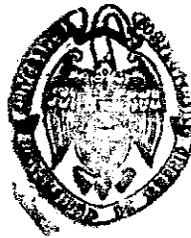


20.593

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA**



**ESTUDIO FENOMENOLOGICO Y MODELADO
CINETICO DE LA SINTESIS ENZIMATICA DE
ESTERES DE BAJO, MEDIO Y ALTO PESO
MOLECULAR**



ARCHIVO

**MEMORIA
Que para optar al Grado de
DOCTOR en Ciencias Químicas
PRESENTA**

**TOMAS GARCIA MARTIN
MADRID, DICIEMBRE 1995**

INDICE

1. INTRODUCCION	1
1.1 ACEITE DE JOJOBA	9
1.1.1 OBTENCION DEL ACEITE DE JOJOBA	10
1.1.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE DE JOJOBA	11
1.1.3 APLICACIONES DEL ACEITE DE JOJOBA	13
1.2 ACEITE DE CACHALOTE	18
1.2.1 OBTENCION DEL ACEITE DE CACHALOTE	20
1.2.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE DE CACHALOTE	21
1.2.3 APLICACIONES DEL ACEITE DE CACHALOTE Y SUS DERIVADOS	26
1.3 MIRISTATO DE MIRISTILO	28
1.3.1 OBTENCION DEL MIRISTATO DE MIRISTILO	30
1.3.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LAS GRASAS DE MIRISTACEAS	31
1.3.3 USOS Y APLICACIONES DE LAS MIRISTACEAS Y SUS DERIVADOS	32
1.4 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO	33
1.4.1 OBTENCION DEL 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO	34
1.4.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES	35
1.4.3 USOS Y APLICACIONES DEL 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO ..	37

1.5 PALMITATO DE ISOPROPILO	38
1.5.1 OBTENCION DEL PALMITATO DE ISOPROPILO	39
1.5.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES	40
1.5.3 USOS Y APLICACIONES DEL PALMITATO DE ISOPROPILO	42
1.6 OLEATO DE ISOPROPILO	44
1.6.1 OBTENCION DEL OLEATO DE ISOPROPILO Y DEL ACIDO OLEICO	45
1.6.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES	46
1.6.3 USOS Y APLICACIONES DEL OLEATO DE ISOPROPILO	51
1.7 METODOS PARA LA SINTESIS DE ESTERES	55
1.7.1 REACCIONES DE SOLVOLISIS	55
1.7.1.1 Reacciones a partir de cloruros de ácido.	55
1.7.1.2 Reacciones a partir de anhídridos de ácido.	56
1.7.1.3 Reacciones a partir de sales de ácidos y haluros de alquilo. . .	56
1.7.1.4 Reacciones a partir de ácidos carboxílicos y alcoholes orgánicos: Esterificación.	56
1.7.2 REACCIONES DE OXIDACION-REDUCCION	58
1.7.3 ESTERIFICACION CATALITICA	59
1.7.3.1 Catálisis clásica.	59
1.7.3.2 Catálisis por ácidos de Lewis.	61
1.7.3.3 Catálisis mediante zeolitas.	62
1.7.3.4 Catálisis enzimática.	63
1.8 VARIABLES DE OPERACION EN LOS PROCESOS DE ESTERIFICACION	78
1.9 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	80
1.10 BIBLIOGRAFIA	82

2. CINETICA ENZIMATICA	97
2.1 MODELOS PARA UN SOLO SUSTRATO	102
2.2 INHIBICION ENZIMATICA	108
2.2.1 INHIBICION COMPETITIVA	110
2.2.2 INHIBICION NO COMPETITIVA	112
2.2.3 INHIBICION ACOMPETITIVA	117
2.2.4 INHIBICION MIXTA	119
2.3 CINETICA ENZIMATICA PARA SISTEMAS MULTIREACTANTES	120
2.3.1 MECANISMO DE REACCION AL AZAR	121
2.3.2 MECANISMO PING-PONG	122
2.3.3 MECANISMO DE REACCION ORDENADO	124
2.4 BIBLIOGRAFIA	131
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	135
3.1 INSTALACION EXPERIMENTAL	139
3.1.1 SISTEMA DE REACCION	142
3.1.2 SISTEMA DE CALEFACCION Y CONTROL DE TEMPERATURA ..	143
3.1.3 SISTEMA DE AGITACION, REGULACION Y MEDIDA	144
3.1.4 SISTEMA DE VACIO	144
3.2 MATERIALES EMPLEADOS	145
3.2.1 REACTIVOS QUIMICOS	145
3.2.2 SISTEMAS CATALITICOS	148
3.3 CONDICIONES DE OPERACION	154
3.4 DESARROLLO DE UN EXPERIMENTO	157

3.5 BIBLIOGRAFIA	159
4. METODOS DE ANALISIS	161
4.1 CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO	164
4.1.1 ELECCION DE LA COLUMNA	164
4.1.2 CONDICIONES DE OPERACION	165
4.2 CROMATOGRAFIA DE GASES-ESPECTROMETRIA DE MASAS	166
4.2.1 ELECCION DE LA COLUMNA	166
4.2.2. CONDICIONES DE OPERACION	167
4.3 RESULTADOS Y DISCUSION DEL METODO DE ANALISIS ...	168
5. ELECCION DEL CATALIZADOR	183
5.1 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ALCOHOL OLEICO	186
5.2 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ALCOHOL CETILICO	189
5.3 ESTERIFICACION DE ACIDO MIRISTICO CON ALCOHOL MIRISTICO	192
5.4 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ISOPROPANOL ...	195
5.5 ESTERIFICACION DE ACIDO PALMITICO CON ISOPROPANOL	198
5.6 ESTERIFICACION DE ACIDO 2-METIL-BUTIRICO CON ALCOHOL OLEICO	201
5.7 IMPORTANCIA DEL TIPO DE SUSTRATO	204

6. RESULTADOS EXPERIMENTALES	207
6.1 SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO	211
6.1.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	212
6.1.2 INFLUENCIA DE LA PRESION	213
6.1.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	215
6.1.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	218
6.1.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE ESTER EN EL MEDIO DE REACCION	222
6.1.6 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE AGUA EN EL MEDIO DE REACCION	224
6.2 SINTESIS DE OLEATO DE CETILO	226
6.2.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	227
6.2.2 INFLUENCIA DE LA PRESION	228
6.2.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	229
6.2.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	232
6.2.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION	236
6.3 SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO	238
6.3.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	239
6.3.2 INFLUENCIA DE LA PRESION	240
6.3.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	241
6.3.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	244

6.3.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION	247
6.4 SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO	249
6.4.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	250
6.4.2 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	251
6.4.3 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	253
6.4.4 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION	257
6.5 SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO	259
6.5.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	260
6.5.2 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	261
6.5.3 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	263
6.5.4 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION	266
6.6 SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO	268
6.6.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	269
6.6.2 INFLUENCIA DE LA PRESION	270
6.6.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR	271
6.6.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL	274
6.6.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION	277
7. MODELADO CINETICO	279
7.1 MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO	292

7.1.1	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD	292
7.1.2	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD	299
7.2	MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE CETILO	302
7.2.1	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD	302
7.2.2	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD	308
7.3	MODELADO DE LA SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO	310
7.3.1	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD	310
7.3.2	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD	315
7.4	MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO	317
7.5	MODELADO DE LA SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO	323
7.6	MODELADO DE LA SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO	331
7.6.1	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD	332
7.6.2	ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD	339

7.7 EFECTO DE LA TEMPERATURA	340
7.7.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE K_m	342
7.7.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE K_i	345
8. SIMULACION TEORICA COMO BASE PARA LA OPTIMACION Y CAMBIO DE ESCALA DE UN PROCESO DE ESTERIFICACION	353
8.1 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO	356
8.2 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE CETILO	369
8.3 SIMULACION DE LA SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO	376
8.4 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO	383
8.5 SIMULACION DE LA SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO	388
8.6 SIMULACION DE LA SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO	392
9. RESUMEN Y CONCLUSIONES	399
9.1 RESUMEN	401
9.2 CONCLUSIONES	404
10. NOMENCLATURA	411
ANEXO I: ESTUDIO PARA LA PUESTA EN PLANTA DE UN PROCESO DE ESTERIFICACION	415

I.1 ESTUDIO PARA LA OPTIMACION DEL PROCESO	418
I.1.1 ELECCION DE LA RESPUESTA A MEDIR	419
I.1.2 ELECCION DE LAS VARIABLES DE OPERACION	419
I.1.3 ELECCION DE LOS INTERVALOS DE OPERACION PARA CADA UNA DE LAS VARIABLES DE OPERACION	420
I.1.4 PLANIFICACION DE EXPERIMENTOS	422
I.1.5 RESULTADOS DE LA OPTIMACION DEL PROCESO	423
I.1.6 ESTIMACION DEL ERROR COMETIDO	425
I.1.6.1 Estimación del error por el método Daniels.	426
I.1.6.2 Estimacion del error por el metodo de la replicacion de los puntos centrales.	427
I.1.7 DETERMINACION DE LOS MODELOS ESTADISTICO E INDUSTRIAL	428
I.2 ESTUDIO CINETICO DE LA SINTESIS DE MIRISTATO DE ISOPROPILO	431
ANEXO II: DISEÑO FACTORIAL DE EXPERIMENTOS	441
II.1 MODELOS MATEMATICOS	444
II.2 ESTIMACION DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES	445
II.3 ERROR EN LA RESPUESTA	446
II.4 SISTEMAS NO LINEALES	447
II.4.1 DISEÑOS COMPUESTOS: PLANIFICACION	448
II.4.1.1 Diseños compuestos centrales.	448
II.4.1.2 Superficies de respuesta.	449

El presente trabajo de investigación ha sido desarrollado en los laboratorios de Fisicoquímica de los Procesos Industriales del Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección de los Profesores Titulares Dr. José Aracil Mira y Dra. Mercedes Martínez Rodríguez, para quienes sólo tengo palabras de agradecimiento por sus enseñanzas, dedicación, paciencia y ayuda.

Así mismo, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos los compañeros y amigos del grupo de investigación, los cuales han estado dispuestos en todo momento a echarme una mano y han sabido demostrar tanto su paciencia como su apoyo, hasta la conclusión de esta memoria. Quiero que sepan que sin ellos nada hubiese sido lo mismo.

Madrid, diciembre de 1995.

A MIS PADRES

1. INTRODUCCION

Las grasas, aceites y ceras naturales se han venido utilizando, durante décadas como materias primas en la preparación de jabones, lubricantes para maquinarias con mayor o menor grado de desarrollo, preparados de carácter medicinal, obtención de ciertos perfumes y esencias, preparación de barnices y pinturas, y en la composición de ungüentos, geles, bálsamos y pomadas de uso tópico.

Con la aparición de las primeras industrias, estos compuestos de origen natural se han seguido empleando en la fabricación de diferentes productos de interés industrial hasta la mitad de este siglo. Desde entonces, la situación ha cambiado considerablemente: El aumento de la demanda de estos productos, la aparición de otros nuevos, la disminución de recursos naturales, el desarrollo de la industria del petróleo y la coyuntura económica han sido factores decisivos en el desarrollo de los mismos, sintéticamente. En algunos casos, ciertas sustancias se han podido sustituir por otras de origen vegetal, pero en la mayoría, dicha sustitución se hace imposible debido, principalmente, a su uso cotidiano. Por lo general, los productos derivados de grasas, aceites y ceras de origen natural, se emplean en la industria farmacéutica, cosmética, de la alimentación y en la preparación de aditivos, y, por lo tanto, los niveles de pureza e inocuidad exigidos son muy estrictos.

Debido a esto y para subsanar tanto la creciente demanda como la inminente escasez de recursos naturales de estos productos, actualmente se ha tenido que recurrir a la búsqueda de compuestos análogos obtenidos por síntesis química [AUSTIN, 1988]. En este sentido, el crecimiento del número de investigaciones y proyectos para el desarrollo de nuevos productos de química fina que sustituyan a los convencionales, está adquiriendo gran importancia en los últimos años.

Teniendo en cuenta que las grasas, aceites y ceras naturales son sustancias que pertenecen al grupo de compuestos orgánicos denominado lípidos, su obtención se lleva a cabo conjuntamente. Los lípidos se encuentran en la naturaleza formando parte importante de los constituyentes de animales y plantas, presentando como propiedad más importante su escasa o inexistente solubilidad en agua, aunque son solubles en disolventes orgánicos apolares. Este grupo de compuestos puede subdividirse a su vez en otros dos subgrupos atendiendo a su capacidad para ser hidrolizados al ponerse en contacto con una base acuosa. Cuando este hecho tiene lugar, se produce la saponificación de los reactivos y se dice que los lípidos de partida eran grasas, aceites o ceras. Cuando, por el contrario, la reacción de saponificación no tiene lugar, los lípidos de partida se denominan esteroides. Por esto, en el primer paso para acondicionar las materias primas, es importante purificar la mezcla de partida liberándola de esteroides, en mayor o menor grado, según las especificaciones del proceso para el que vayan a ser empleadas. En la tabla 1.1 se muestran algunas fuentes de obtención de estos compuestos, detallándose su composición y dos parámetros determinantes de la calidad de la materia prima obtenida, como son el índice de iodo y el índice de saponificación.

Tanto a las grasas como a los aceites y a las ceras se les considera ésteres de ácidos grasos, principalmente ácido oleico, esteárico y palmítico. Sin embargo, los términos grasa y aceite se refieren a los correspondientes ésteres formados con la glicerina, siendo los más comunes en la naturaleza los triglicéridos. La diferencia entre grasas y aceites viene dada por el estado de agregación de la materia que constituyen dichos ésteres, encontrándose las primeras como sólidos y los últimos como líquidos.

Tabla 1.1. Composición de las principales fuentes naturales de grasas, aceites y ceras.

	Indice	Indíce																					
	Indo	Sapon.	C4	C6	C8	C10	C12	C12:1	C14	C14:1	C15	C16	C16:1	C17	C18	C18:1	C18:2	C18:3	C20	C20:1	C22	C22:1	C24
Cabra	12-18	247-251	-	-	6.0	5.5	45.5	-	16.5	-	-	7.0	-	-	3.0	14.5	1.5	-	-	1.0	-	-	-
Mantequilla	25-42	210-235	3.0	1.0	1.5	3.0	3.5	-	9.0	-	-	28.0	-	-	10.5	36.0	4.5	-	-	-	-	-	-
Cacao	35-40	190-200	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	25.0	-	-	34.5	36.5	3.0	0.5	-	-	-	-	-
Coco	7-12	250-264	-	0.8	5.4	8.4	45.4	-	18.0	-	-	10.5	0.4	-	2.3	7.5	0.9	-	0.4	-	-	-	-
Maiz	118-128	186-194	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	9.7	-	-	3.6	30.4	55.6	0.2	-	-	-	-	-
Algodón	102-149	170-194	-	-	-	-	-	-	1.4	-	-	23.4	2.0	-	1.1	22.9	47.8	0.1	1.3	-	-	-	-
Arenque	55-75	190-199	-	-	-	-	-	-	7.0	-	-	8.0	18.0	-	-	9.0	13.0	-	-	20.0	-	25.0	-
Manteca	170-204	192-202	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-	26.0	-	-	11.5	58.0	3.5	-	-	-	-	-	-
Linaza	180-195	188-199	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.0	-	-	3.5	5.0	61.5	25.0	-	-	-	-	-
Mostaza	114-128	176-184	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0	0.5	-	6.5	22.0	22.5	15.5	0.5	11.5	-	18.0	-
Vacuno	65-75	190-199	-	-	-	-	-	-	0.7	4.2	-	16.9	9.4	-	2.7	64.4	-	-	0.1	1.6	-	-	-
Oliva	78-89	186-196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.0	-	-	2.3	82.5	6.0	-	-	0.2	-	-	-
Palma	45-55	195-205	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-	43.5	-	-	4.5	40.0	11.0	-	-	-	-	-	-
Almendra	14-24	245-255	-	-	3.5	4.0	48.5	-	16.5	-	-	8.5	-	-	2.5	14.5	2.0	-	-	-	-	-	-
Cacahete	93-98	188-196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.0	-	-	2.5	50.0	30.5	1.0	1.0	-	3.0	-	1.0
Perilla	193-208	186-197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5	-	-	8.0	38.0	46.5	-	-	-	-	-	-
Colza	97-106	169-179	-	-	-	-	-	-	1.5	-	-	-	-	-	1.6	20.2	14.5	2.1	0.5	-	-	57.2	2.4
Arroz	92-109	184-195	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	17.0	-	-	2.5	45.5	32.0	1.0	0.5	-	-	-	1.0
Azafrán	111-150	172-203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.9	-	-	4.7	16.7	71.3	3.4	-	-	-	-	-
Sardina	150-193	117-196	-	-	-	-	-	-	5.0	-	-	14.0	12.0	-	3.0	10.0	15.0	-	-	22.0	-	19.0	-
Sesamo	103-116	188-196	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	8.2	-	-	3.1	45.3	41.2	-	1.1	-	-	-	-
Soja	125-135	188-196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5	-	-	4.2	33.6	52.6	2.3	0.8	-	-	-	-
Cachalote	55-70	140-144	-	-	-	3.0	16.0	4.0	14.0	14.0	-	8.0	15.0	-	2.0	17.0	-	-	-	7.0	-	-	-
Girasol	128-136	186-196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.5	-	-	2.9	33.4	57.5	-	2.3	-	-	-	0.4
Tocino	128-133	186-196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	0.5	-	5.0	47.0	46.5	-	-	-	-	-	-
Sebo	40-50	192-202	-	-	-	-	-	-	3.5	1.0	0.5	25.0	4.0	2.5	19.5	41.0	2.5	-	0.5	-	-	-	-
Balfena	110-140	185-202	-	-	-	-	-	-	8.0	1.5	-	11.0	17.0	-	2.5	34.0	9.0	-	-	5.0	-	12.0	-

Las ceras, por su parte, se diferencian de las grasas y los aceites en que no son ésteres de la glicerina, sino ésteres de ácidos grasos de cadena larga y par monobásico, y alcoholes grasos de cadena larga y par que sólo posee un grupo hidroxilo terminal, siendo estas insaponificables cuando hierven con un álcali [HART & SCHUETZ, 1980].

En cuanto al proceso básico de obtención del crudo de dichos productos, se puede decir que ha cambiado muy poco en los últimos tiempos, ya que se reduce a procesos de prensado hidráulico o maceración, dependiendo del tipo de materia prima de partida, y a una serie de tratamientos de extracción con diferentes tipos de disolvente. En cambio, con el fin de aumentar la calidad del producto final, mejorar la eficacia de los procesos, reducir los costes de capital y evitar tanto la presencia de sustancias contaminantes como el deterioro del medioambiente, el posterior tratamiento del crudo ha sufrido bastantes cambios en las últimas décadas [MAG, 1994]. En la figura 1.1 se muestra el esquema básico empleado en el procesado de grasas, ceras y aceites.

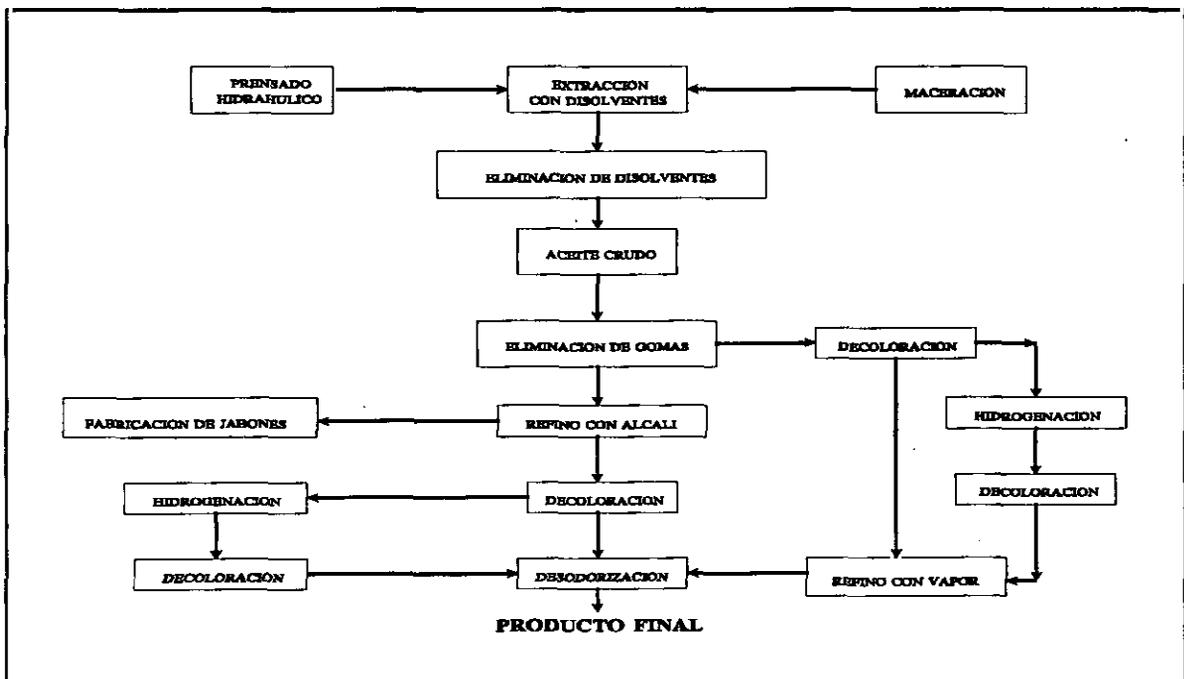


Figura 1.1. Esquema básico del procesado de grasas, aceites y ceras.

El consumo mundial de grasas, ceras y aceites fue, durante el año 1994, de unos 78.9 millones de toneladas métricas. Teniendo en cuenta que el precio medio mundial es de unos 400 \$/Tm, el volumen económico puesto en juego es de unos 31.56 billones de dólares anuales, lo que nos da una idea de la importancia del mercado de productos sobre la economía mundial. Para el año 2001, las previsiones parecen apuntar hacia un aumento de la demanda de entorno a un 13.6% sobre el total actual. Al parecer, el aumento de dicha demanda tendrá lugar mayoritariamente en los países orientales, concretamente en la India, China y Japón. En la figura 1.2 se muestran datos económicos del mercado de grasas, aceites y ceras en los últimos años. Como puede observarse, el principal productor está constituido por la Unión Europea, seguido de Estados Unidos y Canadá. La demanda casi se ha doblado en los últimos 15 años, siendo los productos de mayor consumo los obtenidos a partir de materias primas de origen vegetal [MIELKE; DIXON; BASIRON & IBRAHIM; MERGELL; OFIC'94, 1994].

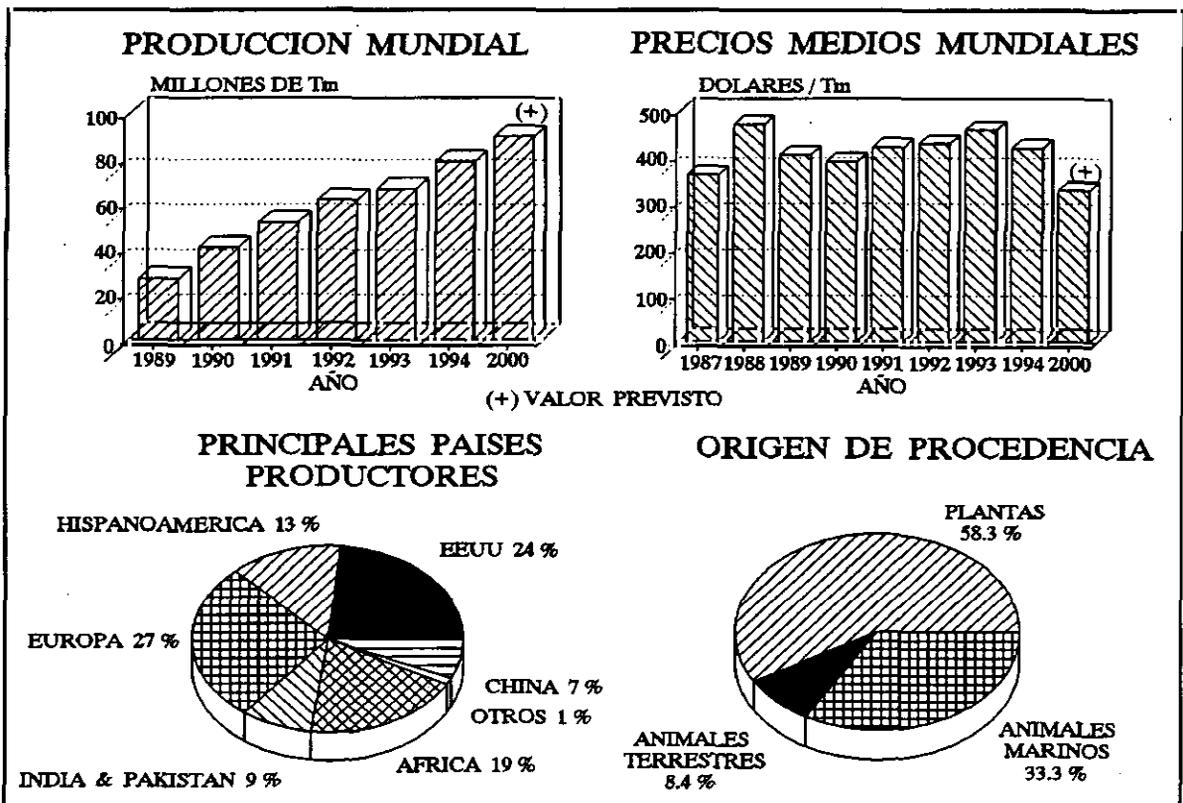


Figura 1.2. Datos económicos a nivel mundial para grasas, aceites y ceras.

Habida cuenta de lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo de investigación se ha llevado a cabo la obtención, el análisis y el modelado cinético para su posterior puesta en planta de productos de síntesis que puedan sustituir o complementar la creciente demanda del mercado, sin dejar de tener en cuenta el punto de vista económico-industrial.

Los productos que se han estudiado pueden encuadrarse, por definición, dentro del término Ceras, ya que son ésteres constituidos por monoácidos grasos y monoalcoholes grasos. La elección de los diferentes ésteres se ha llevado a cabo en base a la longitud de la cadena tanto del ácido como del alcohol, y teniendo en cuenta la presencia de insaturación en dichas cadenas. En la tabla 1.3 se hace un resumen de las ceras que se van a estudiar a continuación. Algunos de estos ésteres pueden emplearse como compuestos análogos a otros de origen natural, mientras otros, aún siendo sus materias primas de origen natural, son de origen sintético. No obstante, en todos los casos el éster objeto de estudio encuentra diferentes tipos de aplicación como producto de *Química Fina* dentro del sector químico industrial.

Tabla 1.2. Esteres objeto de estudio.

TIPO DE CERA	ACIDO	ALCOHOL	ESTER
PESO MOLECULAR ALTO	OLEICO	OLEICO	OLEATO DE OLEILO
	OLEICO	CETILICO	OLEATO DE CETILO
PESO MOLECULAR MEDIO	MIRISTICO	MIRISTICO	MIRISTATO DE MIRISTILO
	2-METIL-BUTIRICO	OLEICO	2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO
PESO MOLECULAR BAJO	OLEICO	ISOPROPILICO	OLEATO DE ISOPROPILO
	PALMITICO	ISOPROPILICO	PALMITATO DE ISOPROPILO

1.1 ACEITE DE JOJOBA

La jojoba (*Simmondsia Chinensis* Schneider) es una planta que crece en medio de un clima desértico, sobre los terrenos semiáridos del suroeste de los Estados Unidos, Méjico, algunas zonas de Latino América, Israel, zona sur de Africa, otras regiones africanas y Australia.

Las industrias que demandan el aceite de jojoba, debido a sus características, son las industrias de lubricantes, plásticos, cosmética, farmacéutica y alimentación, principalmente. Este aceite de origen natural presenta una serie de ventajas frente a los otros aceites del mismo tipo que lo hacen ser más codiciado por el sector industrial [AYERZA, 1993]. Las principales ventajas residen en que presenta una composición más uniforme, es inodoro, contiene menor número y cantidad de impurezas, es capaz de mantenerse en estado líquido después de haber sido sulfatado y puede ampliarse su campo de utilización empleando técnicas de hidrogenación para dar lugar a una cera dura y blanca. Debido a esto el aceite de jojoba, también puede reemplazar a otro tipo de ceras de origen natural, como puede ser el aceite de cachalote o esperma de ballena [BHATIA, 1990; SANCHEZ, 1992; BUSSON, 1994].

El principal inconveniente que se presenta a la hora de la obtención del aceite de jojoba reside en el ciclo de reproducción de la planta, que tiene una duración mínima de cinco a seis años, por lo que son necesarios importantes desembolsos económicos a medio y largo plazo. Hoy en día, se tiende al estudio de las mejoras del cultivo, por lo que se ha propuesto el empleo de plántones artificiales, a los que se llega a partir de plantas de crecimiento espontáneo mediante la técnica de clonación. Estos sistemas proporcionan una mayor resistencia frente a las condiciones medio-ambientales, así como un mayor rendimiento en cuanto a la producción de semillas y a su contenido en aceite.

Las principales líneas de investigación y desarrollo del aceite de jojoba se llevan a cabo en los campos de la cosmética, lubricación y farmacia [WISNIAK, 1988].

1.1.1 OBTENCION DEL ACEITE DE JOJOBA.

El método convencionalmente empleado para la obtención del aceite de jojoba es el prensado hidráulico, que permite la separación del aceite procedente de las semillas. Este método da lugar a una pérdida de rendimiento debido a que, junto con el residuo de las semillas, queda una apreciable cantidad residual de aceite; esto hace que la técnica de prensado hidráulico presente una baja eficacia. Con el fin de subsanar este tipo de deficiencias, se sometió el residuo del prensado, en un principio, a un sistema de extracción con disolventes, basado en la técnica convencional de la extracción del petróleo, pero utilizando como disolvente dióxido de carbono disuelto en sulfuro de carbono. Debido a la baja eficacia que proporcionaba la extracción con este tipo de disolvente [FRIEDRICH, 1998], el proceso se desestimó por su inviabilidad económica.

Actualmente, la técnica más empleada es la extracción directa con disolventes. Como las variables críticas a controlar son la naturaleza del disolvente (por su influencia directa sobre el rendimiento y la eficacia de la operación) y la calidad del producto, fue objeto de estudio el empleo de diferentes tipos de disolventes de origen orgánico, tales como el tetracloruro de carbono, benceno, hexano, heptano, alcohol isopropílico y tetracloroetileno. La conclusión a la que se llegó fue que el más efectivo era el alcohol isopropílico, pero, por cuestiones de tipo económico, se adoptó como disolvente el hexano, y, en algunos casos, la mezcla hexano-heptano.

Para conseguir un aprovechamiento integral de la semilla, una vez que se ha logrado extraer al máximo el aceite, se procede al aprovechamiento del residuo. Este residuo contiene, aproximadamente, un 32 % de masa proteica, que puede procesarse para producir comida para animales domésticos. Para llevar esto a cabo, es necesario proceder a la eliminación del grupo ciano de uno de los componentes que integran el residuo: Simmondsin (2-cianometilén-3-hidroxi-4,5-dimetoxiciclohexil-D-glucósido) [ELLIGER, 1975].

1.1.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE DE JOJOBA.

Según sea la procedencia y el origen de la planta en cuestión, se obtendrán semillas de diferente composición, que según su contenido en cera pueden clasificarse en dos grupos:

- (a) Semillas de elevado contenido en ceras, cuya composición máxima en ésteres es del 58.6 % y su contenido proteico del 28.5 %.
- (b) Semillas de bajo contenido en ceras, cuya composición mínima es del 43.2 % y su contenido proteico del 30.7 %.

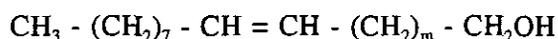
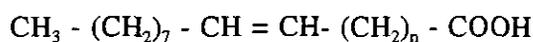
Las características organolépticas del aceite de jojoba vienen definidas por su color amarillo oscuro o ámbar, por su olor ligeramente graso y por su apariencia clara o ligeramente turbia. En cuanto a las características físico-químicas, las analogías entre el aceite de jojoba y el aceite de cachalote vienen detalladas por el peso específico y el índice de refracción de ambos, mientras que las diferencias más marcadas vienen dadas por el punto de fusión y el índice de viscosidad. No obstante, las características de ambos son bastante parecidas [ROEHR, 1910; MALINS, 1970; BAILEY, 1952; BUSSON, 1994]. En la tabla 1.3 se detallan las características del aceite de Jojoba.

Tabla 1.3. Características del aceite de jojoba.

	PURO	REFINADO
COLOR	amarillo-ámbar	incolore
OLOR	graso	inodoro
APARIENCIA	clara-turbia	clara
INDICE REFRACCION (25°C)	1.465	1.465
PESO ESPECIFICO (25°C)	0.863	0.863
PUNTO FUSION (°C)	6.8-7.0	6.8-7.0
PUNTO EBULLICION (°C)	398	398
VISCOSIDAD, 25°C, (cs)	58-60	58-60

En cuanto a los análisis realizados para la determinación de la composición, los resultados revelan que los principales alcoholes predominantes que integran el aceite de jojoba son el 13-Docosanol y el 11-Eicosanol, mientras que las estructuras ácidas predominantes son las correspondientes a los ácidos 11-Eicosanoico, 13-Docosanoico y 9-Octadecenoico (ver tabla 1.4).

Por tanto, las formulaciones que se ajustan a la composición media de las estructuras, tanto ácidas como alcohólicas, que integran el aceite de jojoba, son las siguientes [MIWA, 1971; STANSBY, 1981; BUSSON, 1994]:



Siendo n superior a 2 y m superior a 4.

Tabla 1.4. Estructuras ácidas y alcohólicas del aceite de jojoba.

Nº CARBONOS	ACIDO	ALCOHOL	%
12	Dodecanoico	-	Trazas
14	Tetradecanoico	Tetradecanol	0.1
15	Pentadecanoico	-	Trazas
16	Hexadecanoico	Hexadecanol	0.1-1.2
17	Heptadecanoico	Heptadecenol	Trazas
18	Octadecanoico 9-Octadecenoico 11-Octadecenoico	Octadecanol 9-Octadecenol 11-Octadecenol	0.2 10.1 0.7
19	Nonadecanoico	-	Trazas
20	Eicosanoico 11-Eicosenoico	Eicosanol 11-Eicosanol	0.1 71.3-43.8
21	-	12-Hencosenol	Trazas
22	Docosanoico 13-Docosenoico	Docosanol 13-Dococanol	0.2-1.0 13.6-44.9
24	Tetracosanoico 15-Tetracosenoico	- 15-Tetracosanol	Trazas 1.3-8.9

Por último, hay que tener en cuenta la composición del aceite de jojoba en cuanto a ésteres [WISNIAK, 1974,1975,1977], que son los principales responsables de las características que presenta este aceite. Los ésteres predominantes son todos de alto peso molecular. El principal éster integrante del aceite de jojoba es el eicosenoato de docosenilo, seguido del eicosenoato de eicosenilo. En la tabla 1.5 se muestra la composición del aceite de jojoba, teniendo en cuenta su contenido en ésteres.

Tabla 1.5. Contenido porcentual en ésteres del aceite de Jojoba.

Nº CARBONOS	TIPO DE ESTER	%
38	Octadecanoato de eicosenilo	5.9
	Eicosenato de octadecenilo	1.0
40	Eicosenato de eicosenilo	30.9
42	Docosenoato de eicosenilo	7.6
44	Eicosenoato de tetracosenilo	6.2
	Docosenoato de docosenilo	1.8
	Tetracosenoato de eicosenilo	0.8
46	Docosenoato de tetracosenilo	0.9

1.1.3 APLICACIONES DEL ACEITE DE JOJOBA

Las aplicaciones del aceite de jojoba dependen directamente de sus propiedades físicas, de su composición, de su comportamiento químico y de sus características en general. Sus propiedades y características pueden resumirse de la manera siguiente:

- 1.- Presenta una elevada pureza y una estructura perfectamente definida y conocida.
- 2.- Debido a su elevada estabilidad, el aceite de jojoba presenta una gran resistencia frente a la oxidación y a las reacciones de pardeo, por lo que puede permanecer varios años sin enranciarse.

- 3.- Presenta un doble enlace tanto en las estructuras ácidas como en las alcohólicas, por lo que permanece en estado líquido a temperatura ambiente.
- 4.- Cumple las especificaciones exigidas por la industria de lubricantes, por lo que puede ser utilizado como tal mediante un proceso de sulfuración.
- 5.- Presenta un potencial estimable para ser sometido a reacciones de hidrogenación y polimerización.

Por todas estas razones, sus aplicaciones son las que se indican a continuación:

Lubricante.

La elevada viscosidad del producto, unido a otra serie de características, tales como su baja presión, la ausencia de componentes volátiles, así como un punto de solidificación suficientemente bajo para permanecer en estado líquido a la temperatura de trabajo, dan lugar a que los ésteres de alto peso molecular posean unas excelentes propiedades para ser utilizados como lubricantes o como aditivos de estos para elevar su viscosidad [EIGTVED, 1988].

Debido a su elevada estabilidad y su escasa tendencia a oxidarse [BEANE, 1987], puede utilizarse en sistemas que operan bajo condiciones extremas de presión. Al no variar apreciablemente la viscosidad del aceite con la temperatura, su campo de utilización aumenta, pudiendo utilizarse como lubricante de frenos, armas y maquinarias que operan a elevada velocidad y temperatura. En su empleo como lubricante, el aceite de jojoba presenta una serie de ventajas frente al aceite de cachalote, como son su olor más suave, la ausencia de glicéridos y el no necesitar un refino previo para su utilización, entre otras.

El principal inconveniente que se presenta a la hora de su utilización como lubricante, en comparación con los aceites minerales, es su bajo índice de acidez; esto puede subsanarse mediante

un proceso de sulfuración parcial [BHATHIA, 1990], obteniéndose así unas condiciones más óptimas e, incluso, un aumento de la viscosidad.

Farmacía.

Debido a su naturaleza cética, el aceite de jojoba resulta una sustancia no digerible para la mayoría de los animales. Esto le confiere propiedades para ser utilizado como soporte de productos farmacéuticos. La técnica empleada consiste en incorporarlo a principios activos que atraviesan el estómago y no son liberados hasta que se encuentran en el intestino [HINDS, 1950]. También puede emplearse como soporte de varias formas de vitamina A, ya que inhibe la hidrólisis de esta; y para la preparación de productos que previenen y curan el acné, por su actividad reductora de las secreciones excesivas de las glándulas sebáceas.

Encuentra aplicación como emulgente, para dar soporte y textura adecuada a productos de aplicación externa. Su elevado contenido en ésteres de alto peso molecular, le confiere, además, propiedades óptimas para ser utilizado como purgante [GUNSTONE, 1986].

El aceite de jojoba también se emplea como agente protector y estabilizante de compuestos de la penicilina, como inhibidor del crecimiento de los bacilos de la tuberculosis, como sustituto del aceite de ricino en sus funciones dietéticas y como componente fundamental en la preparación de linimentos, ungüentos, bálsamos y lociones capilares [MIROV, 1952].

Cosmética.

La industria de la cosmética es la que más se sirve del aceite de jojoba para producir una mayor variedad de productos. Así, en forma de emulsión, constituye la fase discontinua y activa de los agentes corporales de protección, a la vez que puede servir para ajustar la viscosidad de las cremas y lociones [AVIDON, 1994].

Su condición c rea, le permite actuar como estructura y soporte de los aceites líquidos que se incluyen en las barras de labios y bálsamos. La cantidad y composición de las ceras utilizadas en este tipo de productos sirve para controlar su dureza, brillo, punto de fusión y facilidad de aplicación. Por ello, en la preparación de maquillajes puede utilizarse, junto con otras ceras, para producir una fina película sobre la piel [MASAYUKI, 1976]; permitiendo la posterior adherencia del cosmético, así como una mayor facilidad a la hora del desmaquillado.

También es empleado en la producción de champúes, suavizantes, geles de baño, jabones, espumas de afeitarse y todo tipo de cremas y aceites protectores, solares, hidratantes, para pieles delicadas y para niños [MASAYUKI, 1980; MAGDASSI,1990].

Alimentación.

El aceite de jojoba, debido a la estructura de sus componentes, puede utilizarse dentro del campo de la alimentación [MORI, 1964] para cocinar, como aceite crudo bajo en calorías y en la preparación de margarinas y mantecas mediante una hidrogenación parcial previa. Por tanto, su aplicación en alimentación est  orientada hacia la dietética.

Otras aplicaciones.

En general, el resto de las aplicaciones se consiguen mediante la modificación química del aceite de jojoba. Dichas modificaciones se llevan a cabo empleando el aceite como materia prima en reacciones de adición de los dobles enlaces que presenta en su composición, o bien, somet ndolo a procesos de polimerización, según vaya a ser su aplicación final.

El producto sulfurado, se emplea como lubricante de máquinas que trabajan a presiones extremas, mientras que cuando se presenta sulfatado encuentra aplicación en la industria textil [GISSER, 1975].

Cuando el aceite de jojoba se somete a un proceso de polimerización [MIROV, 1952], se obtienen gomas que se diferencian de otros polímeros de origen vegetal, por ser los primeros solubles en disolventes tales como el bencol y la gasolina. Estos productos se emplean en la fabricación de chicles, adhesivos, barnices y tintas [PAISLEY, 1961]. El aceite de jojoba puede incorporarse a una mezcla de polimerización para la obtención de plásticos primarios, tales como el DOP o TCP [FORE, 1958], pero en una concentración no superior al 5%, por ser incompatible con los polímeros de vinilo. Esta propiedad es debida a las insaturaciones que se presentan en su estructura, que pueden ser atacadas con ácido acético, dando lugar a un producto único por oxidación.

Para la hidrogenación del aceite de jojoba, se emplean catalizadores de Ni-Cu, sometiéndolo a temperaturas y presiones suaves. Mediante este proceso, se llega a la obtención de una cera cristalina y dura de color blanco, cuyo punto de fusión es de 70°C, y que se emplea para la fabricación de ceras, papel carbón, en el encerado de frutas y para impregnar recipientes de cartón resistentes al calor [KUBIE, 1960]. También es empleado para la fabricación de velas con las que se pretende conseguir una llama brillante, poco humo y gran duración. Esta cera hidrogenada, también, se utiliza como aditivo en la preparación de lubricantes cuya aplicación está destinada a maquinarias constituidas por metales maleables, tales como el cobre, magnesio y aluminio.

Los derivados bromados pueden obtenerse atacando la cera con N-Bromosuccinimida (NBS) en medio orgánico (Cl_4C), dando lugar a un producto de mayor densidad que puede emplearse para la fabricación de materiales ignífugos; mientras que si partimos de derivados altamente bromados, podemos conseguir sustancias polisaturadas, mediante la eliminación de ácido bromhídrico [SHANI, 1988], que se emplean para la preparación de pinturas de secado rápido.

En este trabajo, el estudio está orientado hacia la obtención de un compuesto sintético análogo al aceite de jojoba: Oleato de oleilo que, por sus características, puede reemplazar a dicho aceite.

1.2 ACEITE DE CACHALOTE

El Aceite de cachalote, también denominado Esperma de Ballena o Spermaceti, es una cera rica en ésteres de alto peso molecular obtenida principalmente de la cavidad craneal del cachalote, cuyo campo de aplicación se extiende a las industrias farmacéutica, de lubricantes, de plásticos, papelera, cosmética y alimentaria.

La persecución y captura de las ballenas para ser utilizadas como alimento, por su aceite ó para otros usos humanos (huesos, cosmética y farmacología) se practica por lo menos desde hace 1000 años. Como industria se cree que nació entono a 1550, en Inglaterra, Rusia, Dinamarca, Noruega y Holanda, al descubrirse la gran proliferación de grandes cetáceos en las aguas del norte y noroeste de Europa. De la misma manera se comenzó, a principios del siglo XVII, la caza costera en Norteamérica. La desaparición de las ballenas de las áreas costeras obligó a la pesca de altura, apareciendo los barcos balleneros. La historia de la caza de ballenas viene determinada por el criterio de la explotación rápida de los stocks más rentables (generalmente los más abundantes), por lo cual en cada momento, el interés se centraba en algunas especies de ballena, no más de tres, que eran sustituidas en función del interés comercial, una vez que habían sido reducidas a niveles infracomerciales.

Esto explica que tras la drástica reducción de las *ballenas Vasca, Franca y Gris* antes de finales del siglo XIX, el objetivo de la caza fuera la *Yubarta* hasta alrededor de 1915. Posteriormente, fue la ballena *Azul* la especie más perseguida, que al final de los años 30 se encontraba en peligro de extinción (se estima que se capturaron unas 320.000). Se emprendió entonces la caza del *Rorcual común* hasta el comienzo de los 60, y desde entonces *Rorcual boreal, Rorcual de Bryde* y posteriormente el *Cachalote* han constituido las últimas posibilidades para la caza de grandes cetáceos. En la Figura 1.3 se reflejan los volúmenes anuales de captura de las ballenas con interés comercial a los largo del presente siglo.

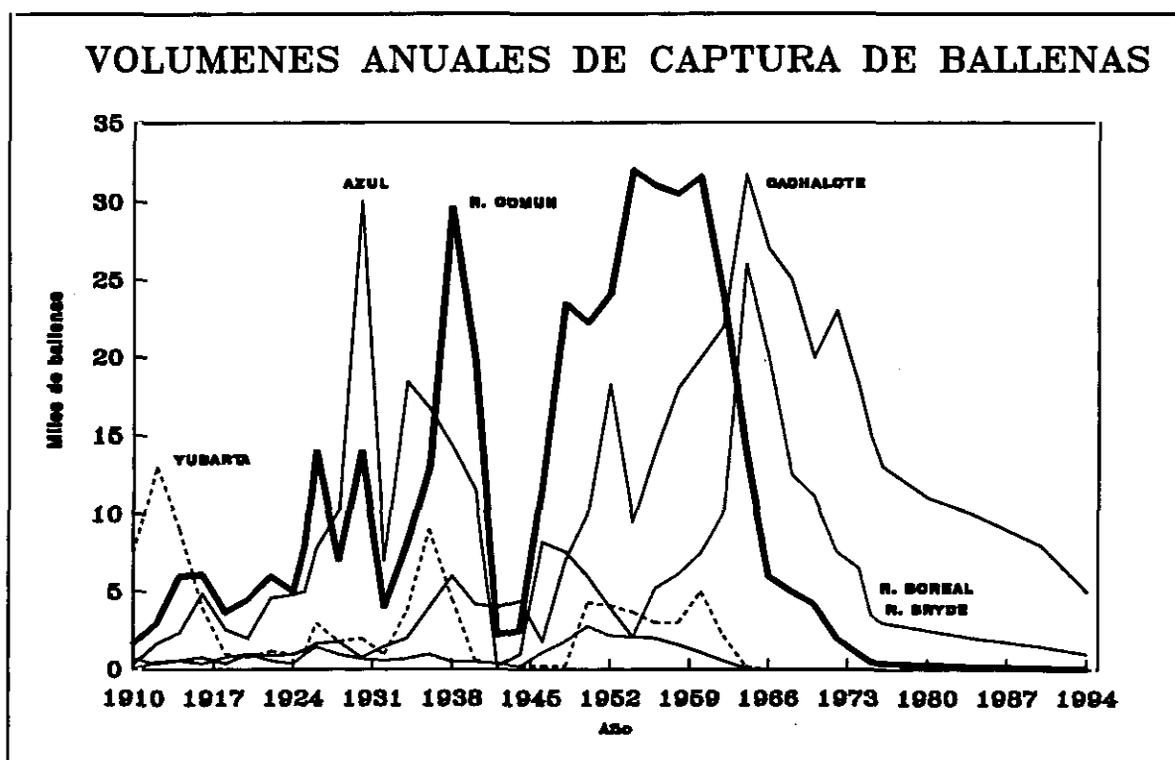


Figura 1.3. Volúmenes anuales de la caza de ballenas.

Para intentar controlar y racionalizar el número de capturas de ballenas se creó en Washington en 1946 la Comisión Ballenera Internacional (C.B.I.), la cual firmaba el día 2 de diciembre de ese mismo año el convenio internacional para la regulación de la pesca ballenera. La comisión ha tratado de reducir la captura de ballenas con escaso éxito. En lo referente a los cachalotes, a partir de la temporada pelágica de 1981/1982 se prohibió su captura excepto en el stock de la División Oeste de Pacífico Septentrional [CONVENIO, 1988].

Entre los días 10-14 de mayo de 1993 en Kioto, Japón, se celebró la asamblea anual de la CBI. Delegados de treinta y seis países decidieron sobre la conveniencia de reanudar la caza comercial de la ballena. Los países interesados en atenuar la moratoria eran, principalmente, Noruega y Japón, quienes argumentaban tradiciones culturales y el uso lícito de sus recursos naturales. El grupo opuesto lo encabezaban Francia, Gran Bretaña, Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda y España, quienes

mantenían la propuesta de mantener la moratoria sobre la caza comercial de la ballena, así como la creación de un santuario en la Antártida. Afortunadamente, la resolución de la CBI estuvo a favor de estos últimos, por lo que en la actualidad sólo se admiten capturas para fines científicos y para necesidades de poblaciones aborígenes.

Actualmente, el aceite de cachalote está considerado como una cera muy apreciada por la industria química, al estar compuestos por ésteres de alto peso molecular, y aunque su actividad comercial continúa por medio de los países que siguen cazando ballenas (Japón, Noruega e Islandia), el acuerdo del resto de países de no cazarlas, ha reducido en gran medida su producción, manteniéndose la pujanza de la demanda.

Debido a esto, se han desarrollado una serie de líneas de investigación dirigidas hacia la obtención de nuevas fuentes y procedimientos alternativos para conseguir grasa y ceras de con propiedades físicas y químicas análogas a las del aceite de cachalote [WOOD, 1976].

Esta situación induce a una búsqueda alternativa de grasas y ceras análogas a las usadas hasta ahora. La obtención de ésteres sintéticos de alto peso molecular por vía catalítica, empleando tanto catalizadores clásicos (inorgánicos), como enzimáticos, es fundamentalmente la línea que se sigue en la actualidad. En este trabajo, la alternativa objeto de estudio es el Oleato de cetilo.

1.2.1 OBTENCION DEL ACEITE DE CACHALOTE

El Aceite de cachalote se obtiene en general de la grasa de los cetáceos, siendo la procedente de la cavidad craneal del cachalote la más rica en este producto. El procedimiento más comúnmente extendido para su obtención es el que utiliza la técnica de enfriamiento. La mezcla de todas las grasas reunidas de la ballena se deja enfriar y reposar progresivamente de forma que se van solidificando poco

a poco los diferentes componentes. De esta manera se obtienen varias fracciones de grasas y ceras agrupadas por intervalos de puntos de fusión.

Por otro lado, para aprovechar el aceite remanente en el animal, este es prensado, obteniéndose una mezcla de agua y grasas de la que se separan las últimas por centrifugación, obteniéndose el llamado aceite de segunda presión. Una vez recogidas todas las fracciones se procede al proceso de clarificación, que se realiza lavando cada una de ellas con agua caliente, de forma que ésta arrastra las impurezas que contienen. La posterior separación de ambas fases se produce por centrifugación.

Las refinerías clasifican los aceites de ballena obtenidos por el procedimiento anterior en cuatro fracciones cuyos intervalos de fusión y rendimientos aproximados respecto del total de grasas obtenida se reflejan en la tabla 1.6.

Tabla 1.6. Fracciones obtenidas del aceite de cachalote.

FRACCION DE ACEITE	RENDIMIENTO	LIMITE DE SEPARACION
ACEITE DE INVIERNO	75 %	SOLIDIFICA A 3°C
ACEITE DE PRIMAVERA	9 %	SOLIDIFICA ENTRE 10-15.5°C
ACEITE DE SEGUNDA PRESION	5 %	FUNDE ENTRE 32-35°C
ESPERMACETI CRUDO	11 %	FUNDE A PARTIR DE 43-46°C

Finalmente, el espermaceti y el resto de los aceites se almacenan y envasan en lugares y recipientes secos, hasta su utilización o distribución.

1.2.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE DE CACHALOTE

El aceite de cachalote es un sólido cristalino a temperatura ambiente, de color blanco brillante. Las especiales propiedades físicas de esta cera están relacionados con su elevado contenido en ésteres

de alto peso molecular, 76 % y su relativamente bajo contenido en triglicéridos 23 % [MORI, 1964] en comparación con otros aceites de animales marinos. En la tabla 1.7 se muestran características físico-químicas del aceite de cachalote comercial [WISNIAK, 1977; BAYLEY, 1952; OIL SOAP, 1942; STANSBY, 1967].

Tabla 1.7. Características del aceite de cachalote.

COLOR	Blanco cristalino
OLOR	A pescado
APARIENCIA	Cérea
PESO ESPECIFICO, (25 °C)	0.905-0.96
INDICE REFRACCION, (25 °C)	1.470-1.477
PUNTO FUSION, (°C)	41-49
INDICE DE SAPONIFICACION	121-135
INDICE DE YODO	2.6-3.8
INDICE DE ACETILO	2.6
MATERIA SAPONIFICABLE (%)	52

La hidrólisis de los triglicéridos que constituyen el aceite de cachalote, realizada para las especies que proceden del Artico y Antártico, dio como resultado una composición en ácidos grasos que no era exactamente igual para ambas, aunque puede considerarse cualitativamente semejante [MORI, 1964]. Los ácidos grasos obtenidos eran todos de un número par de átomos de carbono, entre 14 y 22, fundamentalmente monoinsaturados, con claro predominio del ácido cis-9-octadecenoico, ácido oleico, seguido de los ácidos 9-hexadecenoico y 11-eicosenoico. A continuación se muestra, en la tabla 1.8 los principales ácidos grasos componentes del aceite de cachalote según la distinta procedencia de la captura. La diferencia en la composición de ácidos grasos en esta especie de ballenas procedentes de dos zonas diferentes se debe tanto a las variaciones estacionales como a la localización geográfica en la que habitan [STANSBY, 1981]. Ambos factores, sin embargo, están subordinados a otro más determinante: la naturaleza de la dieta alimenticia.

Tabla 1.8. Variación de los ácidos grasos componentes del aceite de cachalote según la zona de procedencia de la captura.

ACIDO	BALLENA ANTARTICA (%)	BALLENA ARTICA (%)
14:0	8.3	7.4
16:0	11.9	10.4
18:0	1.1	1.0
16:1	18.0	15.9
18:1	32.8	27.7
20:1	11.9	16.6
22:1	3.8	8.6
18:2	0.1	0.7

Por otro lado, la hidrólisis completa de la fracción de ésteres del aceite de cachalote produce ácidos y alcoholes orgánicos de cadena comprendida entre 10 y 20 átomos de carbono, con predominio de los que contienen un número par de los mismos. Los ácidos grasos más frecuentes en estos ésteres son el ácido *cis*-9-octadecenóico y el 9-hexanodecenóico, y los alcoholes más usuales el 9-octadecenol y el 1-hexadecanol (alcohol cetílico). En la tabla 1.9, se relacionan los ácidos y alcoholes obtenidos por hidrólisis de los ésteres contenidos en dicho aceite [NEVENZEL, 1970].

En cuanto a la estructura de los triglicéridos puede decirse que es compleja y que para determinarla se han realizado varios estudios con el fin de conocer la distribución de ácidos grasos. De dichos trabajos se concluye que en los mamíferos marinos, los ácidos poliinsaturados abundan las posiciones 1 y 3 [BROCKERHOFF, 1968] a diferencia de la estructura de los triglicéridos contenidos en aceites de pescado donde los ácidos poliinsaturados ocupan la posición 2; los saturados la posición 1 y los monoinsaturados las posiciones 1 y 3 [BROCKERHOFF, 1968; LITCHFIELD, 1972; MALINS, 1970].

Tabla 1.9. Relación de ácidos y alcoholes de esteres contenidos en el espermaceti.

HOMOLOGO	ALCOHOL (%)	ACIDO (%)
10:0	-	0.9
12:0	0.2	5.5
12:1	-	0.6
14:0	9.9	10.7
14:1	0.7	7.4
15:0	1.5	0.2
16:0	27.2	4.5
16:1	10.1	21.4
17:0	1.0	0.2
17:1	-	1.1
18:0	2.8	1.3
18:1	38.6	35.0
20:1	6.9	9.2

En la tabla 1.10 se detalla la distribución de ácidos grasos (sin diferenciar los diferentes isómeros de cada uno) en los triglicéridos de la grasa de uno de los cetáceos típicos, el *rorcual boreal* [BROCKERHOFF, 1968]. Los ácidos grasos monoetilénicos más frecuentes son, por lo tanto, el ácido 9-hexadecenoico (ácido palmitoleico), el ácido cis-9-octadecenoico (ácido oleico) y su isómero, el ácido cis-11-octadecenoico (ácido vacénico).

La existencia de unas cantidades apreciables de ácidos grasos poliinsaturados es una de las características de las grasas de los animales marinos. El ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico está relacionado aparentemente con el sistema nervioso de los vertebrados [CRAWFORD, 1974; LENAR, 1978]. Esto explica la presencia de este ácido graso en el aceite de cachalote, que procede de la cavidad craneal del cachalote.

Tabla 1.10. Porcentaje en moles de ácidos grasos en los triglicéridos de la grasa del rorcual boreal.

ACIDO GRASO	POSICION 1 (%)	POSICION 2 (%)	POSICION 3 (%)
14:0	3	12	4
16:0	13	6	6
16:1	3	12	2
18:0	4	1	2
18:1	14	29	7
18:2	1	5	1
18:4	1	4	1
20:1	33	10	28
20:4	5	6	3
20:5	3	5	6
22:1	10	2	16
22:5	1	1	3
22:6	6	3	16
Otros	3	4	2

Referente a este tipo de ácidos, recientes trabajos han sugerido que la asociación de ácidos grasos de cadena larga y altamente insaturados, especialmente los ácidos pentaicosanoico y docosohexenoico, son beneficiosos para el tratamiento de la arteriosclerosis [DYERBERG, 1978; BARLOW, 1980].

Respecto a la estructura de los ésteres, la mayoría son insaturados y monoinsaturados, debido al predominio en la composición de los alcoholes del 1-hexadecanol, el cual tiende a esterificarse principalmente con el ácido hexadecanoico (ácido palmítico), produciendo hexadecanoato de hexadecilo (palmitato de cetilo), que es el ester predominante en el aceite de cachalote, y en segundo lugar con los ácidos cis-9-octadecenoico y 9-hexadecenoico (ácido oleico y ácido palmitoleico), para producir octadecenoato de hexadecilo (oleato de cetilo) y hexadecenoato de hexadecilo (palmitoleato de cetilo)

[NEVENZEL, 1970]. La abundancia de ésteres saturados y monosaturados explica que el aceite de cachalote tenga un punto de fusión tan relativamente elevado, permaneciendo en estado sólido a temperatura ambiente.

1.2.3 APLICACIONES DEL ACEITE DE CACHALOTE Y SUS DERIVADOS

Las posibles aplicaciones del aceite de cachalote vienen determinadas por sus propiedades físicas, comportamiento químico ó por ambos conjuntamente. Debido a la analogía existente entre el aceite de cachalote y el aceite de jojoba, van a tener varias aplicaciones en común. Los principales usos a los que se destina el espermaceti se indican a continuación.

Lubricantes.

La elevada viscosidad del producto, unido a otra serie de características, como son su baja presión de vapor, la ausencia de componentes volátiles así como un producto de solidificación suficientemente bajo para estar en estado líquido a la temperatura de trabajo, conceden a los ésteres de alto peso molecular (PCT WO 86/00300) y especialmente al aceite de cachalote unas excelentes propiedades lubricantes en su uso tanto como lubricante base como aditivo de éstos para aumentar su viscosidad [EIGTVED, 1988]. Al igual que el aceite de jojoba, su alta estabilidad y su escasa tendencia a oxidarse le confieren características óptimas para emplearse en sistemas que operan bajo condiciones extremas, especialmente de presión, ya que estas características son las buscadas en este tipo de aplicaciones [BEANE, 1987].

Cosmética.

La industria cosmética es la que más se sirve del espermaceti para preparar una mayor variedad de productos [DORGAN, 1983]. En forma de emulsión, constituyendo la fase discontinua actúa como agente corporal de protección, a la vez que puede servir para ajustar la viscosidad de cremas y lociones.

En estado sólido sirve la estructura y soporte para los aceites líquidos que se incluyen en las barras de labios y bálsamos. La cantidad y composición de las ceras usadas en estos productos sirve para controlar su dureza (evitando así su deterioro), brillo, punto de fusión y facilidad de aplicación. También en maquillajes se emplean espermaceti y otras ceras como base para producir una fina película sobre la piel que permita la posterior adherencia de polvos de colorete.

Farmacia.

Al igual que en el caso del aceite de jojoba, esta cera no es digerible por la mayoría de los animales y, por tanto, se emplea para incorporar principios activos que no deben ser liberados hasta su llegada al intestino [U.S. Patent, 1949].

Encuentra también aplicación como emoliente y, al igual que en cosmética, para dar el soporte y la textura adecuada a productos de aplicación externa.

Alimentación.

Para obtener un producto de estabilidad oxidativa adecuada para uso en la alimentación, el aceite de cachalote se hidrogena parcialmente el uso de catalizadores metálicos tipo Ni-Cu a presión relativamente reducida. De esta forma se utiliza en la producción de margarinas y mantecas [GUNSTONE, 1986].

Otras aplicaciones.

La grasa hidrogenada, debido al aumento de la dureza, resistencia y punto de fusión, se emplea en la fabricación de jabones, pinturas y barnices, tintas, protectores antihumedad, plastificantes de superficie de papel y cartón, así como en el tratamiento de pieles [SWERN, 1979].

1.3 MIRISTATO DE MIRISTILO

El Miristato de miristilo es un éster de origen sintético, que se encuentra en la naturaleza en proporciones muy pequeñas, en algunos aceites, ceras y grasas; y cuyo campo de aplicación está prácticamente limitado a la industria cosmética y de perfumería [GUNSTONE, 1982].

Los aceites naturales a partir de los cuales se obtienen las materias primas constituyentes de dicho éster son, básicamente, las denominadas *Grasas miristicáceas* o *Grasas miristáceas*. Este tipo de grasas se caracterizan por ser muy ricas en ácido mirístico y ácido láurico, predominando en su composición el primero. Casi todas ellas son sólidas, incluso en verano, debido al elevado punto de fusión que les confiere, precisamente, su contenido en ácido mirístico; mientras que el contenido de ácidos grasos inferiores suele ser exiguo. El índice de iodo es variable, generalmente bajo, dependiendo de la procedencia del aceite de partida. Entre las grasas de mayor contenido en ácido mirístico se destacan las siguientes: *manteca de nuez moscada*, *grasa de mangalore*, *aceite de macias*, *manteca de Kombo*, *grasa de otoa*, *sebo de virola*, *aceite de nueces de California*, y *grasa de ucuhuba* [MANGRANE, 1944].

La *manteca de nuez moscada*, es una grasa que está contenida en una proporción alrededor del 25-35% en las semillas de *Myrística officinales*, *Myrística moscata*, *Myrística fragans*, *Myrística argentea* y *Myrística tomentosa*, plantas que se encuentran en la mayoría de los países tropicales. La grasa tiene una consistencia parecida a la del sebo, un olor fuerte, sabor a nueces y presenta un color que puede ser más o menos rojizo, dependiendo de la planta de partida.

La *grasa de mangalore* se obtiene mediante extracción a partir de las semillas de *Myrística canaria*, y presenta un aspecto similar a la de nuez moscada, pero contiene un mayor número de ácidos volátiles, por lo que presenta una menor consistencia.

El *aceite de macias* se obtiene a partir de algunas plantas que crecen en Bombay, Penang, Macasar y Zanzíbar. Es un aceite semilíquido a temperatura ambiente, presenta un color amarillo más o menos oscuro y tiene un olor que recuerda al vegetal de partida.

La *manteca de kombo* procede de la planta *Myristica kombo*, que crece en algunas regiones del Congo y Gabón. Presenta un aspecto similar al del aceite de macias, pero se utiliza menos, debido a la limitación de su producción.

La *grasa de otoa* se extrae de las semillas de *Myristica otoa*, también llamada nuez moscada de Santa Fe, que crece en algunas zonas de Nueva Granada. Es de color amarillo pálido, de consistencia semejante a la del sebo y olor a nuez moscada. Durante su conservación se oscurece y se enrancia. Sus características dependen del contenido de insaponificables, que puede llegar hasta el 25%.

El *sebo de virola* se extrae de las semillas de *Myristica sebifera*, *Virola micheli*, *Virola sebifera* y *Virola venezuelensis*, plantas típicas de las Guayanas, Guatemala, islas Carolinas, etc., que contienen alrededor de un 40-50% de grasa. El sebo de virola presenta la consistencia del sebo de buey, pudiendo observarse la formación de pequeños cristales. Es amarillento, más o menos rojizo y tiene un olor semejante al de la nuez moscada y se enrancia rápidamente.

La *Grasa de ucuhuba* se extrae de las semillas de la planta *Myristica becuhyba*, típica de Brasil y que contiene alrededor de un 60% de una grasa semejante a la manteca de nuez moscada, pero presenta un olor muy desagradable y un sabor ácido.

Existen otras grasas miristáceas como el *aceite de nueces de california*, obtenido a partir del fruto de la planta *Tumion californicum*, que contiene cantidades variables de un aceite no secante; La grasa de las semillas de *Irya* de Ceilán y la India, que presenta características semejantes a la manteca

de nuez moscada; la *manteca de ochoco*, que se extrae de las semillas de *Seyphocephalum ochoca*, de las costas de África occidental, y que contiene un 60-70% de una grasa formada, casi exclusivamente, por trimiristina. También hay que tener en cuenta otras plantas, a partir de las cuales se pueden obtener compuestos, mayoritariamente constituidos por cadenas de estructura mirística, como son el *aceite de nuez de suri* y las *grasas de mirica* y otras plantas originarias de África y América del sur.

1.3.1 OBTENCION DEL MIRISTATO DE MIRISTILO

La obtención del miristato de miristilo se lleva a cabo principalmente mediante reacciones de esterificación directa entre el ácido mirístico y el alcohol mirístico [MILLER, 1988], para lo cual se pueden emplear los métodos de síntesis de ésteres que se detallan en el punto 1.7 de este capítulo. Generalmente el método más empleado es el de esterificación catalítica, donde el tipo de catalizador empleado juega un importante papel.

A partir de las grasas y aceites anteriormente descritas, se obtienen las materias primas para dicha reacción de esterificación. En ocasiones, cuando no se requiere una estricta pureza del producto final, se puede someter la grasa cruda a una reacción de esterificación, con lo que se llega a obtener una mezcla de ésteres de diferentes naturalezas, según sean los componentes de la materia prima de partida [PRYDE, 1979].

La obtención de la grasa se lleva a cabo, básicamente, como se indica en el esquema de la figura 1.1. De esta manera, para la extracción de la manteca de nuez moscada se emplean las nueces picadas o atacadas por insectos. Se tuestan, se pulverizan y se someten a prensado hidráulico. En el caso del sebo de virola, la extracción se lleva a cabo machacando las semillas e hirviéndolas en agua durante horas, dejando decantar posteriormente la grasa. La extracción a partir del resto de las semillas

mencionadas anteriormente, en general se lleva a cabo sometiendo a presión las semillas tostadas y pulverizadas.

1.3.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LAS GRASAS DE MIRISTACEAS

En general, los aceites, grasas y ceras de las miristáceas suelen ser sólidas a temperatura ambiente, debido principalmente a su composición. Sus propiedades físico-químicas dependen fundamentalmente de su composición, y estas, a su vez, dependen del terreno y la climatología donde crece y se desarrolla la planta. En la tabla 1.11 se relacionan los puntos de fusión, índices de refracción, índices de iodo e índices de saponificación de las grasas de las miristáceas más relevantes.

Tabla 1.11. Propiedades de las grasas de las miristáceas.

GRASA CERA ACEITE	PUNTO DE FUSION (°C)	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE SAPONIFICACION	INDICE DE IODO
Nuez moscada	39-42	1.466-1.471	173-200	31-60
Mangalore	-	-	215	-
Macias	25-32	1.001-5.121	169-192	50-81
Otoba	35-40	1.470	165-200	20-54
Virola	54-55	-	219-221	10-35
Nueces California	17-20	-	190-195	95
Ucuhuba	32-34	-	235-240	9-36
Ochoco	45-48	-	235-240	1-4

En cuanto a la composición de los aceites extraídos a partir de las diferentes plantas, puede decirse que presentan composiciones muy variables. Aunque el componente mayoritario, referido a ácidos, suele ser el ácido mirístico, en la mayoría de los casos va acompañado ácidos superiores, tales como el ácido palmítico y el ácido oleico. En otros casos, además va acompañado por ácidos inferiores, principalmente el ácido láurico. En la tabla 1.12 se presenta la composición, referida a ácidos grasos,

de los aceites, grasas y ceras extraídas a partir de las principales fuentes plantas miristáceas productoras del ácido mirístico [BOEKENOOGEN, 1941].

Tabla 1.12. Composición de las principales miristáceas.

FUENTE	C10	C12	C14	C16	C18:1	C18:2
Salvadora	6-7	47-48	28-30	-	11-12	1-2
Laurel	-	2-3	20-22	1-2	60-65	12-15
Mirica	-	-	60-63	35-38	1-2	-
Nuez moscada	-	1-2	60-78	9-11	8-12	1-2
Dika	-	18-40	50-75	-	8-12	-
Virola	-	20-22	70-75	0-1	5-10	-

1.3.3 USOS Y APLICACIONES DE LAS MIRISTACEAS Y SUS DERIVADOS

Como se ha mencionado anteriormente, el empleo de este tipo de grasas, aceites y ceras, tiene lugar principalmente dentro del campo de la cosmética y de la perfumería. Así se utilizan como soporte de algunos perfumes, para diluirlos, o en la preparación de cosméticos a base de aceites esenciales, donde dichos componentes grasos actúan como materia inerte para dar consistencia a dichos preparados [GUENTHER, 1955].

En cuanto al miristato de miristilo, puede decirse que está dentro de un grupo de ésteres que poseen excelentes propiedades grasas para su aplicación en la industria cosmética. Dichas propiedades se aprovechan para incluirlo dentro de la fabricación de cremas, lociones y todo tipo de emulsiones. Es especialmente válido como componente fundamental en la composición de emulsiones agua/aceite. La composición crítica de dichas formulaciones, hace que sean especialmente inestables, por lo que la naturaleza de los componentes empleados juega un papel importante en la obtención del producto final [PRYDE, 1979].

1.4 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

El 2-Metil-Butirato de oleilo es un éster de origen sintético que, en raras ocasiones, puede encontrarse en la naturaleza como tal. Sólo se encuentra en la naturaleza formando parte, en pequeñas cantidades, de las fracciones más volátiles del aceite de café, en el aceite de las raíces de angélica y en unos pocos aceites esenciales más [BAILEY, 1945].

El ácido precursor, 2-metil-butírico, también puede encontrarse libre o en la forma de ésteres inferiores en el aceite de la flor de Champaca, aunque en pequeñas cantidades. Debido a su escasez, la preparación de este ácido se lleva a cabo de forma sintética a partir de los cortes de las fracciones ligeras del petróleo con el fin de poder abastecer el pequeño mercado de este producto, que prácticamente se ve restringido a la industria cosmética, de insecticidas y potenciadores del sabor.

En la mayoría de los casos, este ácido se encuentra en la naturaleza formando mezclas inseparables con el ácido isovaleriánico. De esta forma podemos encontrarlo en numerosos aceites volátiles como en los aceites de adormideras, citronela, ciprés, bayas de laurel, menta americana, etc., y formando ésteres superiores en la espalda y la cavidad craneal de algunos cetáceos como los delfines y tiburones [MANGRANE, 1944].

En general, de las coníferas pueden extraerse aceites, en cuya composición está presentes este tipo de ácidos. Así, el aceite de *pino silvestre* se obtiene de las semillas de *Pinus silvestris*, que contienen entre un 25 y un 30% de un aceite secante algo viscoso, de color amarillo bastante oscuro y de olor a esencia de trementina. El aceite de *abeto* se obtiene a partir de las semillas de *Abies alba*, que contiene un 25-30% de aceite cuyas propiedades y características son similares a las del aceite de pino silvestre. El aceite de *pinastro* se puede extraer de las semillas de *Picea excelsa* y *Picea vulgaris*, cuya composición en aceite oscila entre un 25-35%. El aceite de *piñones* de las piñas de *Pinus*

momophylla que contienen un 12-15% de aceite semisecante, amarillento, de color y sabor desagradables. El aceite de *cedro* se obtiene a partir de la nuez de cedro que contiene hasta un 35% de un aceite amarillo dorado y de sabor suave y desagradable, mientras que el aceite de *ciprés* se obtiene a partir de sus semillas que contienen alrededor del 10% de un aceite de color amarillo oscuro.

Existen otros aceites a partir de los cuales pueden obtenerse estos ácidos, como son el aceite de perifolio, de aneto, zanahoria, apio, perejil, anís, comino, angélica silvestre, y otros vegetales de las mismas especies. Todos ellos presentan características similares en cuanto a sus aceites se refiere.

También pueden encontrarse estos ácidos en algunos aceites que se incluyen dentro del grupo de los llamados aceites de pescado. Concretamente en los aceites de tiburón y más corrientemente en los aceites de delfín [MANGRANE, 1944].

1.4.1 OBTENCION DEL 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

El 2-metil-butirato de oleilo se obtiene por esterificación directa, generalmente catalítica, entre el ácido 2-metil-butírico y el alcohol oleico [STAMATIS, 1993; OKUMURA, 1979], aunque también puede obtenerse por esterificación conjunta, al igual que el miristato de miristilo, de la grasa natural de procedencia del ácido en cuestión [SPENER, 1979].

Las mencionadas grasas se obtienen a partir de sus materias primas siguiendo el esquema general detallado al principio de este capítulo (figura 1.1). La única diferencia existente reside en que para los aceites de pescado, obtenidos principalmente de las cavidades óseas y del hígado, es necesaria una maceración y un filtrado previo. Normalmente, para su extracción se tritura la grosura y se hierve con agua o vapor en autoclaves. Según la intensidad de la extracción, el color y el olor son más o menos fuertes. Los aceites provenientes del hígado de este grupo se obtienen a baja temperatura,

dejando fluir el aceite de los trozos de hígado calentados suavemente, envueltos con trapos y amontonados. Los aceites de menos calidad se extraen por presión de los residuos anteriores y, finalmente, se lleva a cabo una fusión con agua o vapor directo o indirecto [MANGRANE, 1944].

1.4.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES

Como se ha indicado anteriormente la fuente de materia prima para la obtención de los aceites, grasas y ceras de este grupo la constituyen fundamentalmente la familia de las coníferas, la familia de las crucíferas y algunos aceites de pescado. Las propiedades y características de estas plantas varía mucho, dependiendo del lugar de crecimiento y de la naturaleza de las propias plantas. En la tabla 1.13 se muestran las propiedades típicas de las grasas y aceites procedentes de materias vegetales típicas.

Tabla 1.13. Propiedades de las grasas y aceites de partida.

GRASA CERA ACEITE	PUNTO DE FUSION (°C)	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE SAPONIFICACION	INDICE DE IODO
Pino silvestre	20-25	1.477-1.479	190-195	145-170
Abeto	10-15	1.487-1.489	190-192	118-121
Piñones	12-15	1.452-1.455	189-193	100-110
Cedro	18-20	1.475-1.477	190-196	158-180
Ciprés	2-4	1.485	187-195	169-196
Hinojo	0-4	1.478-1.481	180-182	95-102
Apio	5-14	1.476-1.480	176-180	90-100
Aneto	1-5	1.478-1.482	175-180	115-125
Anís	-3-0	1.474	175-180	105-115
Comino	5-10	1.471-1.473	176-181	176-181
Laurel	20-25	1.464	240-255	20-30
Champaca	12-20	-	190	135
Café	8-9	1.468-1.478	146-195	76-98

En cuanto a los aceites de pescado, también denominados por algunos autores como *tranes*, incluyen los aceites de balénidos, pescados osciculados, aceites de cachalotes, tiburones y de delfines. En este caso, los aceites de mayor interés para nosotros son los dos últimos. Los aceites de tiburón presentan un contenido de insaponificables muy variable, desde casi cero hasta un 90%, constituido, en parte, por escualeno. El aceite se extrae generalmente del hígado, y además de los ácidos grasos de este grupo, contienen cantidades variables de ácido selacoleico. Las especies más representativas de este grupos son el *Tiburón rojo*, *Tiburón gigante*, *Etmopletus*, *Esqualos acanthias*, *Somniosus*, *Esquino*, *Erizo marino*, *Alopias*, *Tiburón atigrado*, *Tiburón Lija*, *Pez sierra* y *Tiburón azul (Isuropsis)*. Los aceites de delfín, por su parte, presentan la particularidad de contener cantidades de los ácidos isovaleriánico y 2-metil-butírico, mucho más importantes que los aceites de tiburón. Así se observa en su composición un contenido de hasta un 30% de estos ácidos, mientras que el contenido en insaponificables oscila entre un 2 y un 20%. Las especies más preciadas para este fin son *Phocaena communis* y *Puerco marino (Delphinus phocaena)*. En la tabla 1.14 se muestran las propiedades de algunos de estos aceites, tanto de tiburón como de delfín [MANGRANE; 1944].

Tabla 1.14. Propiedades de los aceites de tiburón y delfín.

ACEITE	INSAPON. (%)	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE SAPONIFICACION	INDICE DE IODO
Tiburón rojo	80	1.490-1.493	23-54	264-345
Tiburón gigante	50	1.477-1.484	86-146	161-200
Etmopletus	10-25	1.474-1.476	146-188	110-146
Erizo marino	4-15	1.475-1.477	156-188	156-188
Tiburón atigrado	2-4	1.474-1.485	177-184	144-200
Tiburón azul	1	1.470-1.475	180	105-120
Pez sierra	-	1.480	180-182	170
P. communis	2-20	1.465-1.472	197-230	110
D. phocaena	2-20	1.462-1.470	210-230	119-132

1.4.3 USOS Y APLICACIONES DEL 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

Su empleo en la industria cosmética está básicamente ligado a su capacidad para hacer más estables las emulsiones agua/aceite, por lo que puede emplearse en la composición de lociones, cremas, ungüentos y cosméticos de características similares [SWERN, 1979].

También puede emplearse en la composición de algunos sprays insecticidas, en forma de *detergentes u otros materiales activos de superficie*. En algunos casos, este compuesto puede tener propiedades insecticidas por sí mismo, aunque, por lo general, se emplea junto con otros insecticidas de mayor potencia [BAILEY, 1945].

En algunos casos, el aceite, en su conjunto, esterificado puede emplearse como potenciador del sabor, sin embargo es poco empleado para este fin. En cambio, estos aceites sin esterificar, especialmente los de pescado, son una fuente importante de vitaminas A y D, por lo que pueden emplearse en la preparación de algunos productos medicinales [GUNSTONE, 1982].

1.5 PALMITATO DE ISOPROPILO

El palmitato de isopropilo es un éster de origen sintético, que no se encuentra en la naturaleza como tal. Debido a la naturaleza sintética del alcohol isopropílico, que suele obtenerse a partir de las fracciones más ligeras del petróleo, la síntesis del éster puede llevarse a cabo por diferentes métodos, aunque, por lo general, se emplea la reacción directa de esterificación catalítica entre el ácido palmítico y el alcohol isopropílico [LANZANI, 1986; SAROJA, 1986]. Lógicamente, al igual que en los casos anteriores, las grasas con elevado contenido en ácido palmítico pueden esterificarse en su conjunto dando lugar a una mezcla de ésteres que pueden tener aplicaciones dentro de la industria cosmética.

En cuanto a las fuentes de materia prima del ácido palmítico, puede decirse que son varias, principalmente todas ellas de origen vegetal. Tanto el aceite de *palma* como de *palmiste* suelen ir unidos en la producción y el comercio, ya que proceden, respectivamente, del fruto y de la almendra de la palma. Las palmas productoras de aceite crecen sobre todo en la parte occidental de África tropical y en algunos lugares de Brasil. Otras grasas con un contenido elevado en ácido palmítico son las llamadas *Sebo de Japón* y *Sebo de China*.

El primero se obtiene a partir de las semillas de las variedades de *rhus*. Los centros principales de producción se encuentran en Japón, aunque también se produce en Formosa y en Vietnam. Este aceite se emplea en la fabricación de bujías, cerillas, jabones, encerado de muebles, pomadas, cosméticos y conservación de cueros; el segundo se extrae de las semillas de *Stillingia sebifera* (árbol del sebo), que procede sobre todo de China, la India, Carolina del sur y Florida.

Otras fuentes de ácido palmítico son las grasas de las *sapindáceas* y las grasas de las *celastráceas* y *poligaláceas*. Al primer grupo pertenecen el aceite de *Macassar*, el sebo de *Rambután*, la denominada grasa del árbol del jabón, y los aceites de *akee*, *timbó* y *ungnadia*. El segundo grupo

está integrado por varios tipos de grasas y aceites. Hay que hacer notar, que por lo general, además de ácido palmítico, pueden existir en estas grasas cantidades apreciables de otros ácidos grasos, principalmente ácido láurico, mirístico y oleico; y en menores proporciones otros ácidos grasos de características similares.

1.5.1 OBTENCION DEL PALMITATO DE ISOPROPILO

Como se ha expuesto anteriormente, la obtención del palmitato de isopropilo se lleva a cabo por esterificación directa y, como se verá en el desarrollo del capítulo, suele emplearse la síntesis catalítica. También puede obtenerse por el mismo método, partiendo del conjunto de la grasa total extraída. En cuanto a los aceites de partida del ácido palmítico, se emplea el método de prensado hidráulico y posterior extracción con disolventes.

Cuando se requiere una pureza elevada del ácido palmítico, el crudo de aceite se somete a otro tipo de tratamientos que, en general, suelen ser operaciones de destilado con corriente de chorro de vapor y posteriores cristalizaciones para purificar convenientemente el ácido palmítico. Por regla general, estos tratamientos se complementan con posteriores operaciones para decolorar y refinar el aceite obtenido [PRYDE, 1979].

Después de la disociación de una grasa o un aceite, se separa el ácido palmítico comercial de la mezcla de ácidos grasos por dos procedimientos. Como los ácidos grasos no saturados de la misma longitud de cadena se presentan en cantidades importantes solamente en los aceites de animales marinos, es posible separar el ácido palmítico por destilación fraccionada de la mezcla de ácidos de otras grasas. El otro procedimiento importante para la preparación de ácido palmítico implica la cristalización fraccionada de mezclas de ácidos grasos en acetona o metanol. De la mezcla de ácidos grasos del aceite de palma, que tiene una proporción relativamente baja de ácido esteárico y es rica en

ácido palmítico y ácidos no saturados, los ácidos saturados se separan fácilmente de los no saturados y resulta una fracción rica en ácido palmítico. El ácido palmítico destilado fraccionadamente tiene una riqueza del 90% [GUNSTONE, 1982].

1.5.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES

Los principales aceites para la obtención de ácido palmítico se resumen a continuación, así como sus principales características y composición. Así el aceite de *Macassar*, también denominado aceite de Ketjatki, de Kusum y de Ko procede las semillas de *Schleichera trijuga*, que contienen entre un 35 y un 40% de grasa. Dicha planta crece en algunas zonas de Java, Ceilán, Timor, costas de Malabar y algunas regiones del Himalaya. La grasa presenta una consistencia mantecosa, color amarillento y sabor suave.

El sebo de *rambután* se obtiene de los frutos de *Nephelium lappaceum*, que contienen alrededor de un 35% de grasa. La grasa del *árbol del jabón* se extrae conjuntamente del fruto y de la semilla de *Sapindus trifoliatus*, que crece en la India y en Ceilán. Es una grasa amarillenta, sólida en invierno y líquida en verano, y se obtiene principalmente por extracción con disolventes de la semilla.

El aceite de *akee* se obtiene a partir de las semillas de *Blighia sávida* y también de *Hornea mauritania*, que crecen en algunas regiones de Brasil. Esta grasa suele ser amarilla, de consistencia mantecosa, olor suave y sabor desagradable.

También los aceites y grasas de las *celastráceas*, *poligaláceas* y semejantes son fuentes importantes de ácido palmítico. Estas grasas, generalmente solidifican a temperatura ambiente. Presentan una composición muy variable, siendo bastante ricas en ácido palmítico y láurico, y presentan cantidades variables de ácido mirístico.

Los aceites más representativos son el aceite de *bonetero* y el aceite de *celastro*. Las semillas de bonetero, *Evonimus europaeus* contienen un 25-35% de un aceite espeso, rojizo, de olor desagradable y sabor amargo. Las semillas de *Celastrus paniculatus*, por su parte, llegan a contener hasta un 50% de un aceite parecido al anterior, y son originarias de la India, Etiopía y Senegal. En la tabla 1.15 se muestran algunas de las propiedades de los aceites más característicos pertenecientes a estos grupos.

Tabla 1.15. Propiedades de los aceites más representativos.

ACEITE O GRASA	PUNTO DE FUSION (°C)	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE SAPONIFICACION	INDICE DE IODO
Bonetero	38	1.491	230	-
Mahuba	53	-	270-275	15-25
Lindera	45	1.476	220-285	10-70
Tangkallak	44-47	-	260-270	2-10
Aguacate	40	1.485	180	60
Litsea	41	-	245	34-48
Kusu	22-23	1.452	282-285	4-5
Malukang	30	1.454-1.456	250-254	49-52
Senega	-	-	192-195	80-83
Macassar	10-20	1.460	221-227	47-55
Rambután	42-46	-	192-196	38-42
Arbol del Jabón	23-30	-	190-195	55-60
Akee	25-35	-	188-195	42-53

En cuanto a la composición de los aceites extraídos a partir de las diferentes plantas, puede decirse que presentan composiciones muy variables. Aunque el componente mayoritario, referido a ácidos, suele ser el ácido palmítico, en la mayoría de los casos va acompañado ácidos superiores, siendo sus mayores competidores el ácido oleico y el ácido linólico. En otros casos, además va

acompañado por ácidos inferiores, principalmente el ácido mirfístico. En la tabla 1.16 se presenta la composición, referida a ácidos grasos, de los aceites, grasas y ceras extraídas a partir de las principales fuentes de obtención del ácido palmítico [BOEKENOOGEN, 1941].

Tabla 1.16. Composición de los principales aceites.

FUENTE	C14	C16	C18	C18:1	C18:2
Palma	1-5	34-45	3-6	40-52	7-11
Stillingia	3-6	57-72	-	1-2	-
Sebo de China	3-4	56-66	1-2	25-35	-
Cacao	2-3	24-30	30-35	30-40	2-4
Catapa	1	28-30	4-6	40-42	22-24
Café	2	20-25	1-9	12-27	23-38

1.5.3 USOS Y APLICACIONES DEL PALMITATO DE ISOPROPILO

Debido a las características de este compuesto, su aplicación fundamental tiene lugar dentro del campo de la cosmética, aunque también puede emplearse para la llamada lubricación de algunos materiales de la industria textil, especialmente cueros; e incluso en la preparación de sustancias que actúan como aceites hidráulicos.

Cosmética.

El Palmitato de Isopropilo, debido a que es un líquido transparente, inodoro y viscoso, se emplea como componente para diversos tipos de preparados cosméticos tales como cremas, ungüentos y lociones. Puede actuar como emulsificante y presenta propiedades excelentes para ser absorbido en la piel. Al ser aplicado, produce una sensación muy agradable, evitando el efecto grasiento y pegajoso, típico de algunos cosméticos. Este tipo de producto que puede emplearse como disolvente de aceites

esenciales e ingredientes activos ampliamente empleados dentro de la industria cosmética, que se comercializan como compuestos hidratantes que ejercen algún otro tipo de acción especial sobre la piel [GUENTHER, 1955; GUNSTONE, 1982].

Industria textil.

Las fibras acabadas en piel o cuero, deben ser lubricadas con una fina película de aceite, con el fin de que tengan un tacto suave y una flexibilidad adecuada. Para este fin se emplean diversos tipos de aceites, grasas y ceras, siendo el palmitato de isopropilo una de las ceras incluidas dentro de este grupo [SWERN, 1979].

Los cueros suaves se someten a un proceso de lubricación por goteo, para lo que se emplean emulsiones diluidas de este aceite en agua estabilizada con el propio aceite sulfonado. Dicho aceite sulfonado, sirve como medio de transporte a la emulsión hasta el interior de la piel, donde se deposita el aceite con la consiguiente ruptura de la emulsión. Cuando se lubrican cueros duros, el método empleado consiste en extender una capa de aceite o grasa sobre la piel, que hace de vehículo para que la emulsión penetre en su interior y, una vez realizado el proceso, debe procederse a la eliminación de la primera capa [BAILEY, 1945].

Aceites hidráulicos.

Algunos aceites se emplean para la preparación de fluidos hidráulicos y, particularmente, los que deben ser expuestos a bajas temperaturas, como es el caso de los circuitos de los automóviles o de los sistemas aeronáuticos. El palmitato de isopropilo, presenta características adecuadas para este uso, ya que además es compatible con otros líquidos polares de baja viscosidad, y no genera residuos sólidos en el interior de las conducciones [SWERN, 1979].

1.6 OLEATO DE ISOPROPILO

El oleato de isopropilo, al igual que el palmitato de isopropilo es un éster de naturaleza sintética, que se obtiene empleando cualquiera de los métodos disponibles para la obtención de ésteres que se detallan en el punto 1.7. Este producto no aparece en la naturaleza debido a que uno de sus constituyentes, el alcohol isopropílico, se obtiene de manera sintética mediante la reacción de la correspondiente olefina con el ácido sulfúrico, seguida de la hidrólisis del ácido alquilsulfúrico resultante. Utilizando la reacción con el ácido sulfúrico, se acometió la primera fabricación del alcohol isopropílico al final de la primera Guerra Mundial por la Melco Chemical Company por medio del proceso Ellis.

El otro constituyente del oleato de isopropilo es el ácido oleico. El ácido oleico (ácido cis-9-octadecenoico) es probablemente el más abundante de todos los ácidos grasos naturales. Sus glicéridos se encuentran en cantidades notables en todas las grasas de los animales terrestres y marinos y en todos los aceites vegetales. En las grasas animales es el principal componente: de 40 a 50% de la grasa; pero los mayores porcentajes se encuentran en los aceites vegetales; en el aceite de oliva 70-85% y en el aceite de almendras 75%, o más. Se encuentra también en las siguientes proporciones, aproximadamente: aceite de cacahuete, 57%, aceite de maíz, 45%; aceite de palma, 41%, aceite de semilla de calabaza, 37%, aceite de algodón, 35%, aceite de soja, 33%, aceite de girasol, 33%. Se han descrito dos formas cristalinas del ácido oleico: punto fusión 13.4 y 16.3°C.

Los usos del ácido oleico técnico son muy variados, por lo que tanto su producción, como su comercialización se lleva a cabo en grandes volúmenes. En 1992 se produjeron en los Estados Unidos aproximadamente 30 millones de toneladas de ácido oleico de calidad comercial (aceite rojo). De esta cantidad, se emplearon aproximadamente 7 millones de toneladas en la preparación de jabones para diversas aplicaciones textiles. Para la lubricación de fibras textiles se usaron aproximadamente 5

millones de toneladas de aceite rojo. Se empleó también en la fabricación de lubricantes y grasas (1.5 millones de toneladas), aceites sulfonados (1.6 millones de toneladas), detergentes sintéticos (1.451.000 Kg), caucho (771.000 Kg), productos intermedios (907.000 toneladas), revestimientos protectores (771.000 toneladas), resinas (953.000 toneladas), en operaciones para el trabajo de metales (1 millón de toneladas) y para diversas aplicaciones industriales (1.2 millones de toneladas).

1.6.1 OBTENCION DEL OLEATO DE ISOPROPILO Y DEL ACIDO OLEICO

Como se ha comentado anteriormente, el oleato de isopropilo se obtiene vía esterificación catalítica [KNEZ,1990; OKUMURA, 1979; LINFIELD, 1984] a partir del ácido oleico y el alcohol isopropílico (punto 1.7), aunque también puede obtenerse formando mezclas con otros ésteres esterificando el aceite o la grasa de partida. Sin embargo, cuando se pretende obtener el compuesto con cierta pureza, es necesario emplear como producto de partida el ácido oleico con una pureza aceptable.

El ácido oleico de calidad comercial, llamado comúnmente "aceite rojo", suele obtenerse industrialmente partiendo del sebo no comestible o grasa no comestible.

Por el procedimiento antiguo, los ácidos grasos obtenidos por hidrólisis ácida (método Twitchell) de las grasas se someten a una o varias destilaciones directas en vacío. El destilado, que consta de 40-50% de ácidos saturados, principalmente palmítico y esteárico, hasta 10% de ácido linoleico y 40-45% de ácido oleico, se recoge en pailas y se enfría lentamente hasta unos 4°C en una cámara refrigerada.

Las tortas así formadas se envuelven en tela y se someten a presión moderada en una prensa hidráulica. El líquido exprimido es aceite rojo, el sólido que queda como residuo, el "ácido esteárico de una sola presión".

1.6.2 CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DE LOS ACEITES

Los principales aceites que sirven de materia prima para la obtención de ácido oleico son los aceites de *oleáceas*, *betuláceas* y *teáceas*. Estos aceites están constituidos casi exclusivamente por glicéridos del ácido oleico, más del 80%, junto con pequeñas proporciones de ácido linólico, menos del 10%. Los ácidos sólidos están constituidos casi exclusivamente por ácido palmítico, generalmente menos del 10%, que eventualmente se encuentra mezclado junto con mínimas proporciones de ácido esteárico. Son, por tanto, fluidos a temperatura ordinaria, salvo algunas variedades del aceite de oliva y se incluyen dentro de la categoría de aceites no secantes.

El *aceite de-oliva* es el que se extrae de la aceituna, fruto del olivo (*Olea europea*), en sus dos formas, cultivada y silvestre, cuyo contenido en dicho aceite es muy variable. Aunque, por regla general, oscila entre el 15 y el 27%, estos límites llegan a veces al 10 y el 50%. Las variedades *picuda*, *nevadilla blanca y negra*, y *olivo negro*, contienen alrededor del 26%. En cambio, las variedades *manzanilla*, *gordal*, *carrasqueño* y *sevillana*, tienen un contenido del 22-23%, mientras que la aceituna *lechín* contiene sólo alrededor del 20% de aceite [BAILEY, 1945].

El aceite está contenido principalmente en la parte carnosa del fruto, aunque la almendra del hueso contiene también el 20-30% de su peso de un aceite cuyas características son esencialmente diferentes. En general, la pulpa contiene alrededor de un 25-35% de su peso; la almendra, alrededor del 25%, y la parte leñosa, menos del 1%.

La constitución de los ácidos grasos y de las constantes son, aproximadamente las mismas en todas las calidades del aceite de oliva. El sabor de este aceite constituye una característica de su comercio, que lo distingue del de todas las demás grasas vegetales; en este sentido, existen grandes diferencias, que dependen de la clase de aceituna, madurez de la misma, método de recolección,

conservación y extracción. La extracción del aceite de oliva difiere bastante de los métodos generales, debido principalmente a la importante proporción de agua que contiene la aceituna.

Las operaciones principales consisten en la limpieza de las aceitunas, molienda de las mismas y prensado de la aceituna molida. Dentro de la misma aceituna, la calidad del aceite va desmereciendo a medida que se fuerza la presión. El color del aceite es muy variable debido a la propia naturaleza de la aceituna y, en parte, debido a las condiciones de extracción del mismo. Por esto puede oscilar desde *amarillento pálido a amarillo verdoso bastante pronunciado*.

Una de las características de este aceite consiste en las grandes variaciones de acidez, las cuales no se presentan en la mayoría de los aceites de semillas. Esta característica depende principalmente de las condiciones de recogida y almacenamiento de la aceituna y de la fabricación y conservación del aceite.

El residuo de la prensa, denominado *orujo de oliva*, contiene todavía cantidades variables de aceite, cuya proporción depende de como se ha forzado la extracción por presión. El aceite de orujo se extrae principalmente con sulfuro de carbono, y en algunas fábricas con tricloruro de etileno. Dicho aceite es uno de los productos grasos más interesantes desde el punto de vista químico. La composición del aceite varía según el tiempo y circunstancias del almacenaje del orujo y de las condiciones en que se realiza el secado del orujo, antes de proceder a la extracción del aceite.

Cuando se procede a la extracción de los orujos inmediatamente después de haber sido prensados y extraído el aceite de oliva, la composición de los ácidos grasos y las constantes del aceite de orujo son prácticamente las del correspondiente aceite de oliva. Sólo en algunos casos, el aceite de orujo contiene hasta un 1% más de ácidos sólidos que el correspondiente aceite de oliva, siendo dicho aumento debido, principalmente, al ácido esteárico y al ácido palmítico. En cuanto a los aceites de

orujo comerciales ya refinados, no puede hacerse ninguna consideración, ya que la operación de desmargarización separa el exceso de glicéridos sólidos. Las principales características de los aceites de orujo, coinciden con las de su aceite de oliva de origen [GUNSTONE, 1982].

El aceite de *hueso de aceituna*, generalmente se extrae conjuntamente con el aceite de oliva y, sobre todo, con el aceite de orujo, por lo que no existe como tal producto comercializado. El hueso de la aceituna presenta una almendra cuyo peso equivale al 10% del hueso y en la cual está contenido casi todo el aceite que llega a constituir el 25% del peso de la almendra. Este aceite es amarillo, más o menos verdoso, dependiendo del tipo de aceituna, y cuando se ha extraído a partir de las almendras machacadas, presenta un sabor algo dulce y diferente al del aceite de oliva.

Existen otros aceites de las oleáceas como el extraído de las semillas de *tatú*, del Brasil, que contienen alrededor de un 15% de un aceite oscuro, inodoro y de sabor amargo. También existen otros aceites como el aceite de *fresno*, o el aceite de *isano*, que pueden llegar a contener una cantidad de aceite muy variable, pero es poco usado.

El principal representante de los aceites de las *betuláceas*, es el denominado aceite de *avellanas*. La avellana contiene entre un 50 y un 60% en peso de aceite, que se extrae separando la envoltura exterior, moliendo la almendra y prensando en frío al principio y en caliente más tarde. El aceite así obtenido presenta un color amarillento y es de olor y gusto agradables, pero puede enranciarse con relativa facilidad [MANGRANE, 1944].

Los *aceites de té*, también denominados, según la procedencia, aceites de *tsubaki* o aceites de *sasancua*, se extraen de las semillas de *Thea sinensis*, *Camelia japónica* y *Camelia oleifera*. La almendra de las semillas del primero contienen entre un 20 y un 25% de un aceite amarillo con una cierta tonalidad rojiza, su sabor es un tanto amargo y su olor suele ser un poco desagradable.

El aceite de *Camelia japónica*, también llamado aceite de té japonés o aceite de tsubaki, es bastante parecido al aceite de oliva. La almendra de la semilla contiene alrededor del 60-65% de aceite, el cual presenta la cualidad de enranciarse con menor facilidad, lo que se aprovecha para ser empleado en perfumería en la fabricación de ciertos cosméticos y brillantinas, e incluso en Japón se emplea dentro del campo de la alimentación [GUNSTONE, 1982].

Las semillas procedentes de *Camelia olífera* contienen alrededor del 40% de un aceite espeso, de olor y sabor poco agradables. Propiedades muy similares presenta el aceite denominado de sasancua, que se extrae de las semillas de *Thea sasanqua*, cuya almendra contiene alrededor de un 60% de aceite en peso. En la tabla 1.17 se muestran las características más relevantes de los aceites, a partir de los cuales se lleva a cabo la principal obtención de ácido oleico.

Tabla 1.17. Propiedades de los aceites a partir de los cuales se obtiene ácido oleico.

ACEITE	PUNTO DE FUSION (°C)	INDICE DE REFRACCION	INDICE DE SAPONIFICACION	INDICE DE IODO
Oliva	4-8	1.465-1.469	185-196	78-86
Hueso aceituna	4-6	1.463-1.475	179-198	68-86
Fresno	-	-	162-170	140-144
Avellanas	17-20	1.469-1.470	187-192	84-90
Té	9-21	1.467-1.470	188-197	77-85
Tsubaki	15-22	1.467-1.470	188-197	78-92
Sansaqua	9-10	1.462-1.470	190-194	80-85
Sésamo	3-6	1.469-1.472	187-195	103-112
Cacahuete	0-3	1.468-1.471	188-194	83-103
Soja	8-18	1.472-1.475	188-195	103-139
Colza	4-12	1.470-1.474	167-185	94-106
Mostaza negra	11-18	1.471-1.474	174-187	96-107
Mostaza blanca	8-16	1.469-1.471	170-185	92-109

Además de los aceites ya mencionados existen otros aceites ricos en ácido oleico que se obtienen a partir de materias vegetales diferentes. Este es el caso del aceite de *Cachuete* de la familia de las leguminosas, que están constiuidas principalmente por ácido oleico y linoleico. Dicho aceite proviene en un 75% de la almendra del cacahuete y el 25% restante se extrae de su corteza. El contenido total en aceite oscila entre un 40 y un 55% en peso del mismo, y dentro de los límites señalados, presentan mayor riqueza en aceite las almendras de los cacahuets de Rufisque, Senegal y Congo, 50%, seguidos de las de Hispanoamérica, Bombay y Japón, 45%, y por último las almendras de los cacahuets Georgianos y Espñoles, en torno al 35%. Para la extracción de estos aceites se parte de las almendras ya limpias y molidas, se tamizan y se trituran con cilindros de púas y estriados, para posteriormente ser sometidos a presión, primero a unos 30-40°C y después a unos 70°C.

Otros aceites empleados son los provenientes de la familia de las *papilionáceas*, en los que la composición está dominada por el ácido linoleico, seguido del ácido oleico en una proporción importante, aunque también están presentes los ácidos palmítico, esteárico y araquínico. De este grupo, el más representativo es el aceite obtenido a partir de las semillas de soja (*Soja hispida*) cuyo contenido en aceite está en torno al 20%. Algunos aceites de la familia de las *crucíferas*, tales como el aceite de *Colza* o *Mostaza*, también presentan un contenido importante en ácido oleico, pero son más interesantes dede el punto de vista industrial para la obtención de ácido erúico [SWERN, 1979].

En cuanto a la composición de dichos aceites, como ya se ha mencionado en los anteriores casos, puede decirse que es muy variable, dependiendo de la naturaleza de la planta de procedencia y del propio método de extracción empleado. En la tabla 1.18 se muestra la composición, referida a su contenido en ácidos grasos, de los aceites más relevantes que sirven de materia prima para la producción de ácido oleico. En esta tabla no se incluyen las posibles materias primas derivadas de animales tanto marinos como terrestres, por ser sobre todo estos últimos fuentes principales del ácido esteárico, que presenta otra serie de aplicaciones [MANGRANE, 1944; RATTRAY, 1984].

Tabla 1.18. Composición de los principales aceites para la obtención de ácido oleico.

FUENTE	C14	C16	C18	C18:1	C18:2	C18:3
Oliva y orujo	0-1	7-15	1-2	70-85	4-12	-
Hueso aceituna	-	4-6	2-4	75-85	4-10	-
Cacahuete	-	12-15	14-16	54-76	12-25	-
Almendra	-	5-8	-	75-80	2-4	-
Té	0-1	7-8	0-1	83-85	22-24	-
Avellanas	0-1	2-4	1-2	90-95	2-3	-
Soja	0-1	7-10	3-6	25-35	52-60	2-6
Maíz	-	7-8	2-4	45-50	40-45	5-10
Fruto de laurel	20-22	1-2	-	60-65	12-15	-
Laurel cerezo	1-2	6-9	1-2	70-75	12-14	-
Anacardio	-	6-7	11-12	74-75	7-8	-

1.6.3 USOS Y APLICACIONES DEL OLEATO DE ISOPROPILO

Las aplicaciones del oleato de isopropilo a nivel industrial son similares a las del palmitato de isopropilo, pero además, por presentar un doble enlace en su composición, tiene una mayor versatilidad en su empleo dentro de dichas industrias. Debido a esto se emplea dentro de la industria cosmética, industria de plásticos, lubricantes, preparación de aceites hidráulicos, industria textil, etc. A continuación se detallarán algunas de las aplicaciones más relevantes.

Cosmética.

El Oleato de Isopropilo, presenta propiedades similares a las del palmitato de isopropilo, es decir un líquido transparente, inodoro y viscoso, y por tanto se emplea como componente para diversos tipos de preparados cosméticos tales como cremas, ungüentos y lociones. Puede actuar también como emulsificante y presenta propiedades excelentes para ser absorbido en la piel [SWERN, 1979].

Al ser aplicado, produce una sensación muy agradable, evitando el efecto grasiento y pegajoso típico de algunos cosméticos cuya composición tiene un elevado contenido en sustancias excesivamente grasas [GUNSTONE, 1986].

Este tipo de producto que puede utilizarse como disolvente de aceites esenciales e ingredientes activos ampliamente empleados dentro de la industria cosmética, que se comercializan como compuestos hidratantes que ejercen algún otro tipo de acción especial sobre la piel [GUENTHER, 1955], y por tanto hacen de agente transportador de vitaminas, proteínas, etc.

Farmacia y Medicina.

Al ser un agente con excelentes propiedades transportadoras de principios inmediatos, puede ser empleado dentro de la industria farmacéutica en la preparación de jarabes y fármacos líquidos de ingestión oral. Además puede actuar como vehículo de transporte a través de la piel, formando parte de preparados de uso tópico para el tratamiento de trastornos traumatológicos [BAILEY, 1945; GUNSTONE, 1982].

Industria textil.

Las fibras acabadas en piel o cuero, deben ser lubricadas con una fina película de aceite, con el fin de que tengan un tacto suave y una flexibilidad adecuada. Para este fin se emplean diversos tipos de aceites, grasas y ceras, siendo el oleato de isopropilo, al igual que el palmitato de isopropilo, una de las ceras incluidas dentro de este grupo [SWERN, 1979].

Dentro de este campo, el oleato de isopropilo actúa tanto como vehículo de transporte para otros aceites, como de agente lubricante en el proceso de acabado de las prendas producidas por este tipo de industrias [BAILEY, 1945]. Siendo una de las ceras más versátiles para el lubricado tanto de cueros duros como de cueros blandos o pieles dedicadas a este fin.

Aceites hidráulicos.

Algunos aceites se emplean para la preparación de fluidos hidráulicos y, particularmente, los que deben ser expuestos a bajas temperaturas, como es el caso de los circuitos de los automóviles o de los sistemas aeronáuticos. El oleato de isopropilo, presenta características adecuadas para este uso, ya que además es compatible con otros líquidos polares de baja viscosidad, y no genera residuos sólidos en el interior de las conducciones [SWERN, 1979].

Lubricantes.

Por su condición de líquido viscoso, presenta propiedades reológicas que lo hacen apto para su empleo como lubricante de maquinarias delicadas. En general, puede emplearse para lubricar maquinarias tales como aparatos de relojería e instrumentos de cierta precisión, principalmente cuando se trata de instrumentos de medida, en los cuales es fundamental que, aunque no varíen drásticamente sus condiciones de operación, el sistema de lubricación sea muy eficaz para conseguir la precisión requerida [BAILEY, 1945].

Debido al elevado coste de este tipo de lubricantes, generalmente se emplean preparaciones que consisten en mezclas de esta cera con otros aceites naturales o sintéticos, que hacen que el producto final tenga un menor coste en el mercado.

Barnices y pinturas.

Las características del oleato de isopropilo, también lo hacen apto para su empleo dentro de la composición de algunos barnices, pinturas y recubrimientos que hacen de sustancias protectoras para todo tipo de superficies expuestas a un deterioro. Así puede emplearse en la preparación de algunas sustancias reparadoras de muebles, suelos de madera, ceras para automóviles, metales, etc. Generalmente forma parte de la composición cerosa de todos estos revestimientos que existen en el mercado [SWERN, 1979].

Industria de plásticos.

El Oleato de isopropilo, es uno de los ésteres más importantes dentro de la industria del procesado de plásticos. Su acción consiste en actuar como lubricante, especialmente en la fabricación de PVC, donde tiene básicamente dos funciones. En primer lugar, se emplea para regular las características del flujo de las partículas de PVC durante su procesado, donde además ejerce una acción de control sobre la capacidad de gelatinización de los plásticos. La segunda función del oleato de isopropilo, no menos importante, consiste en la formación de una película deslizante sobre la superficie de las paredes de los diferentes equipos con el fin de evitar que los polímeros no queden adheridos durante su procesado [PRYDE, 1979].

Los ésteres provenientes de ácidos grasos y alcoholes de cadena corta, tales como el oleato de isopropilo, son miscibles con el PVC, e incluso a elevadas concentraciones son capaces de producir un efecto de lubricación interna, sin afectar al acabado del producto final, por lo que se consideran como excelentes plastificantes [GUNSTONE, 1982].

1.7 METODOS PARA LA SINTESIS DE ESTERES

Las reacciones para la obtención de ésteres pueden dividirse en dos grandes grupos. En primer lugar están las denominadas reacciones de solvolisis, en las cuales el reactivo principal lo constituye un compuesto orgánico de naturaleza ácida o un derivado de ácido. Al segundo grupo pertenecen otro tipo de reacciones, cuyas materias primas de partida no tienen por qué ser un ácido graso o un derivado de ácido. Las reacciones más versátiles para la síntesis de ésteres son las reacciones de solvolisis, ya que permiten la obtención de ésteres a partir de un elevado número de productos de partida. Los tipos de reacciones más empleadas son las que se consideran a continuación.

1.7.1 REACCIONES DE SOLVOLISIS

En general, este tipo de reacciones tienen lugar vía sustitución nucleófila. Según el medio empleado y el tipo de catalizador tiene lugar la disociación parcial de las materias primas en mayor o menor medida, las cuales vuelven a reorganizarse para dar lugar al correspondiente producto de reacción. Dependiendo de los productos de partida, podemos clasificar estas reacciones como se indica a continuación:

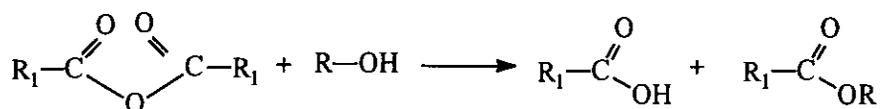
1.7.1.1 Reacciones a partir de cloruros de ácido.

Los reactivos empleados son, junto al cloruro de ácido, un alcohol orgánico y un catalizador básico, como por ejemplo, dimetilamina [HANSEN,1955] o piridina. El esquema de reacción general puede considerarse de la manera siguiente:



1.7.1.2 Reacciones a partir de anhídridos de ácido.

En este tipo de reacciones tiene lugar la formación de nuevos productos, además del éster que es el producto principal, también se forma un ácido orgánico. Para que se lleve a cabo la reacción, se parte del anhídrido y un alcohol orgánico, y es necesaria la presencia de catalizadores de tipo ácido, tales como el ácido sulfúrico [PRICHARD, 1955], cloruro de cinc [BAKER, 1955; BROWN, 1961], sulfato férrico [CALMAN, 1957], ácido clorosulfánico [ERDOS, 1951], metóxido sódico [STANSBY, 1965] o ácido p-toluensulfónico monohidratado [COPE, 1963]. El esquema general de reacción es el siguiente:



1.7.1.3 Reacciones a partir de sales de ácidos y haluros de alquilo.

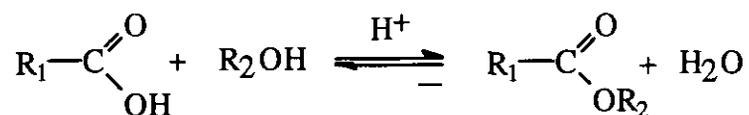
Para alcanzar altos rendimientos, se utiliza como catalizador la trietilenamina [MILLS, 1962], obteniéndose conjuntamente el éster deseado y la sal correspondiente, como se muestra a continuación:



1.7.1.4 Reacciones a partir de ácidos carboxílicos y alcoholes orgánicos: Esterificación.

El método de esterificación es el más empleado cuando los reactivos son asequibles. Para aumentar la velocidad de reacción y alcanzar, lo más rápidamente posible, el equilibrio, se utilizan catalizadores de carácter ácido, tales como el ácido sulfúrico, clorhídrico, ácidos sulfónicos, cloruros metálicos, etc. Cuando se precisa que el medio de reacción no sea fuertemente ácido, se pueden utilizar resinas de intercambio iónico como catalizador [BOCHNER, 1965].

El esquema de reacción coincide con el clásico sistema de esterificación, en el que se obtiene el éster deseado y agua como subproducto:



Para favorecer el rendimiento en éster se puede desplazar el equilibrio por adición de exceso de uno de los reactivos de partida (generalmente el alcohol), o también por eliminación del agua que se va formando en el medio de reacción (principio de Le Chatelier). Generalmente se elimina el agua por destilación azeotrópica del medio de reacción, sobre todo cuando las especificaciones del proceso requieren la operación equimolar.

La esterificación se lleva a cabo a elevada temperatura y en presencia de un sistema catalítico. La velocidad de formación del éster depende en gran medida del ácido carboxílico y del alcohol empleados. Los más ligeros reaccionan antes que los pesados. Así mismo los alcoholes primarios reaccionan con mayor prontitud que los secundarios y estos más rápidamente que los terciarios y dentro de cada serie reaccionan antes los más ligeros que los mas pesados. Aquellos de estructura lineal reaccionan antes que los ramificados, siendo la velocidad de esterificación especialmente más lenta si la ramificación es en la posición α .

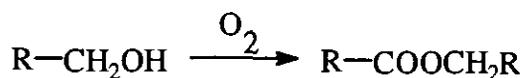
Más recientemente se han utilizado enzimas y zeolitas como catalizador, de manera que se evitan los problemas que provocan los catalizadores ácidos de Lewis que dan lugar a una dificultad de separación, con la consiguiente contaminación del producto de reacción; el cual es preciso someter a un tratamiento de purificación. En el punto siguiente, se hará referencia exclusivamente a la esterificación catalítica, por ser este el método más viable desde el punto de vista industrial para la obtención de los ésteres objeto de este estudio.

1.7.2 REACCIONES DE OXIDACION-REDUCCION

Las reacciones que no se incluyen dentro del grupo de las solvolíticas, pero que también pueden emplearse para la síntesis de ésteres a nivel industrial, son las reacciones denominadas de oxidación y reducción [MARCH, 1985].

Reacciones de oxidación.

Utilizando este tipo de reacciones, se consiguen ésteres simétricos. El producto de partida es un alcohol orgánico y como agente oxidante se emplea una disolución de dicromato potásico en ácido sulfúrico. La reacción transcurre vía hemiacetal.



Esta reacción no puede emplearse con reactivos insaturados, debido a que provocaría la oxidación de los dobles enlaces.

Reacciones de reducción.

Este tipo de reacciones precisa la utilización de reactores a presión y la presencia de catalizadores en forma de óxidos metálicos, tales como los óxidos de cinc, cromo y aluminio. El uso de hidrógeno como agente reductor y a alta presión, plantea problemas y riesgos en su manejo.

Por lo tanto, las reacciones de solvolisis son las más adecuadas para obtener ésteres de cualquier naturaleza y, dentro de ellas, las de esterificación son las más rentables, puesto que eliminan las operaciones adicionales de obtención y purificación de los productos de partida.

1.7.3 ESTERIFICACION CATALITICA

La esterificación es la reacción de formación de un éster a partir del ácido y el alcohol correspondientes al tipo de éster que se desee obtener. Para aumentar la velocidad con que se produce dicha reacción, lo más habitual es emplear algún tipo de sustancia que de lugar a una disminución de la energía de activación y el consiguiente aumento de la velocidad de la misma.

Los mejores rendimientos en la obtención de ésteres lógicamente se consiguen empleando catalizadores, pero el problema se presenta a la hora de la elección de los mismos. Obviamente dicha elección, desde el punto de vista industrial, no sólo pasa por la mejora del rendimiento de la reacción, sino que además será necesario tener en cuenta otros parámetros económico-industriales, tales como el acondicionamiento de las materias primas, la necesidad de purificación de los productos obtenidos con el fin de cumplir las especificaciones de mercado y el ahorro energético, entre otros. Según el tipo de catalizador que se emplee, se puede distinguir entre los diferentes tipos de procesos catalíticos que se detallan a continuación.

1.7.3.1 Catálisis clásica.

En este tipo de proceso se emplean como catalizadores ácidos minerales fuertes (ácido clorhídrico y ácido sulfúrico), sales de estaño, compuestos organometálicos, gel de sílice y resinas de intercambio iónico [BILBAO, 1984]. Este tipo de catálisis puede ser homogénea o heterogénea dependiendo de la naturaleza de los materiales puestos en juego a la hora de llevar a cabo la síntesis de los productos correspondientes.

Los catalizadores más importantes clásicamente empleados en la preparación de ésteres a escala industrial para su posterior comercialización, así como sus principales características son los que se indican a continuación:

- (a) La catálisis empleando ácidos minerales fuertes ha sido ampliamente estudiada en el caso de las reacciones de esterificación. El ácido de mayor aceptación ha sido el ácido sulfúrico, con el que se obtienen mayores conversiones y además no es tan corrosivo como el ácido clorhídrico [BERMAN, 1948; DANUKA, 1977; AL-SAADY, 1981; GOTO, 1991]. Puede presentar varios problemas debido a que un pequeño aumento de la concentración de catalizador o trabajando a temperaturas elevadas, puede provocarse la deshidratación del alcohol al éter u olefina correspondientes. Generalmente se emplea en concentraciones inferiores al 1 ó 2% en peso, sin embargo, en la mayoría de los casos, se producen compuestos secundarios que después es necesario eliminar, lo que supone un gasto adicional que repercute en el coste del producto final.
- (b) Los ácidos sulfónicos, bencenosulfónico, paratoluensulfónico o metasulfónico también pueden emplearse como catalizador en sustitución de los ácidos minerales fuertes, ya que debido a que son poco corrosivos, pueden emplearse en plantas industriales de proceso [ZHOU, 1984]. No obstante, requieren temperaturas elevadas de trabajo, por lo que pueden dar lugar a la oxidación de las especies involucradas en el medio de reacción, apareciendo coloraciones indeseables en el producto final.
- (c) Las resinas de intercambio iónico de carácter ácido se emplean en los procesos constituidos por lechos fluidizados, trabajando en régimen continuo. Generalmente, las resinas empleadas son de intercambio catiónico, siendo las más habituales las constituidas por grupos sulfónicos. El principal inconveniente que se presenta a la hora de la puesta en planta de procesos catalizados por estas resinas es su elevado coste y, en algunos casos, favorecen las reacciones de polimerización secundarias [ASTLE, 1955; SHARMA, 1972; DAKSHINAMURTY, 1984; GIMENEZ, 1987; GOTO, 1992].

- (d) El ácido fosfórico puede catalizar reacciones de esterificación, pero generalmente la velocidad que se consiguen son relativamente bajas. Las sales metálicas del ácido fosfórico reducen las reacciones colaterales. Su principal inconveniente es que precisan una temperatura de operación elevada, superior a la de los ácidos fuertes [ELVERS, 1990].

- (e) Algunos óxidos metálicos (óxido de cinc), cuya función es la de aumentar la velocidad de reacción en procesos de esterificación de ácidos grasos sintéticos con dioxano [RATREVICH, 1978; NAVROCIK, 1985], sin reducir la estabilidad térmica del alcohol.

- (f) Algunas sales como cloruro de tionilo. Se ha empleado también en la síntesis de ésteres céreos saturados en presencia de un medio orgánico y a temperatura ambiente, alcanzándose elevados rendimientos [PRABHUDE-SAI, 1978]. Recientemente se han sintetizado ésteres céreos saturados por reacción equimolecular de alcoholes de cadena larga y ácidos grasos en presencia de cloruro de tionilo como catalizador. El proceso tiene lugar en solución de benceno a temperatura ambiente, alcanzando rendimientos alrededor del 85%.

1.7.3.2 Catálisis por ácidos de Lewis.

Los ácidos de Lewis, y en especial los haluros metálicos, son los empleados para catalizar la esterificación de alcoholes y ácidos orgánicos de alto peso molecular [KLEIN, 1982]. Los más empleados son los cloruros de aluminio, boro, berilio, cinc, galio (III), titanio (IV), hierro (III) y bismuto (III). También se utilizan los bromuros de boro, galio (III), estaño (IV) y el fluoruro de boro.

La propiedad principal de estos compuestos es que el átomo metálico posee una deficiencia electrónica en su estructura, por lo que los electrones integrantes de los reactivos básicos son atraídos por el núcleo metálico del catalizador. Para acelerar la velocidad de reacción se emplean como

promotores bien donadores de protones (compuestos hidroxílicos y ácidos), o bien formadores de cationes (halógenos, oxígeno, azufre, etc.).

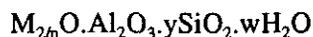
Los iniciadores o cocatalizadores pueden ser de dos tipos: Por una parte tenemos sustancias donadoras de protones, tales como compuestos hidroxilos (agua, alcoholes) y protones ácidos (cloruro de hidrógeno, ácido sulfúrico, ácidos orgánicos, ácido fosfórico, etc). También pueden estar constituidos por sustancias formadoras de cationes, que son especies donadoras de protones, tales como halógenos, oxígeno, azufre, etc.

El empleo de cloruros metálicos permite trabajar en fase homogénea, a la vez que evita la reacción con los dobles enlaces [URTEAGA, 1985]. El principal problema que se presenta con este tipo de catalizadores es que producen la coloración del producto obtenido, por lo que es obligado someterlo a un proceso de decoloración y purificación.

1.7.3.3 Catálisis mediante zeolitas.

Recientemente se han utilizado zeolitas clásicas y zeolitas ultraestables, debido a que están constituidas por centros ácidos (tanto de Lewis, como de Brönsted), que constituyen los centros activos del catalizador en las reacciones de esterificación.

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos de elementos del grupo IA y IIA como sodio, potasio, magnesio y calcio. Químicamente se pueden representar por la fórmula:



donde y está comprendido entre 2 y 10, n es la valencia del catión correspondiente y w representa el agua contenida en los huecos de la zeolita. La estructura básica está constituida por canales o huecos interconectados que se hallan ocupados por los cationes, que proporcionan neutralidad eléctrica a la estructura, y moléculas de agua. El agua puede eliminarse por simple calentamiento dejando una

estructura cristalina intacta atravesada por numerosos canales que incluye grandes cavidades que pueden llegar a suponer el 50% del volumen total del cristal, lo que hace que se denominen también tamices moleculares.

Este tipo de catalizadores se caracteriza por poseer una actividad superior a la de los ácidos convencionalmente empleados. Su actividad depende de la relación sílice/alúmina, del tamaño del cristal, del tamaño de poro y de la superficie específica principalmente [SANCHEZ, 1994]. Por poseer diámetros de poro con una o más distribuciones de tamaños y ser estos de orden molecular, las zeolitas pueden funcionar como tamices moleculares actuando catalizadores con selectividad de forma.

1.7.3.4 Catálisis enzimática.

Desde el principio de los tiempos, el hombre ha empleado grasas, aceites y ceras para una gran variedad de propósitos. La necesidad de aumentar y mejorar la producción, inicialmente dió lugar a la puesta a punto de procesos tales como la fermentación, que a penas ha empezado a evolucionar hasta ahora. La necesidad de mejorar y modernizar este tipo de procesos ha dado paso a una nueva rama dentro de la ingeniería química: la biotecnología [RATTRAY, 1984].

La biotecnología ha cobrado últimamente gran importancia, tanto a nivel industrial como a nivel de investigación. Los procesos enzimáticos constituyen una de las ramas más importantes dentro de esta disciplina debido a los continuos avances que se están consiguiendo dentro del campo de la ingeniería química con este tipo de sistemas. La antigua tecnología empleaba tejidos íntegros de animales o plantas, e incluso cepas de microorganismos completas. La tecnología actual ha hecho posible el aislamiento, purificación, caracterización, e incluso procedimientos de ingeniería genética, que han dado lugar al empleo de estos sistemas en forma de célula simple o sistemas enzimáticos (ver figura 1.4).

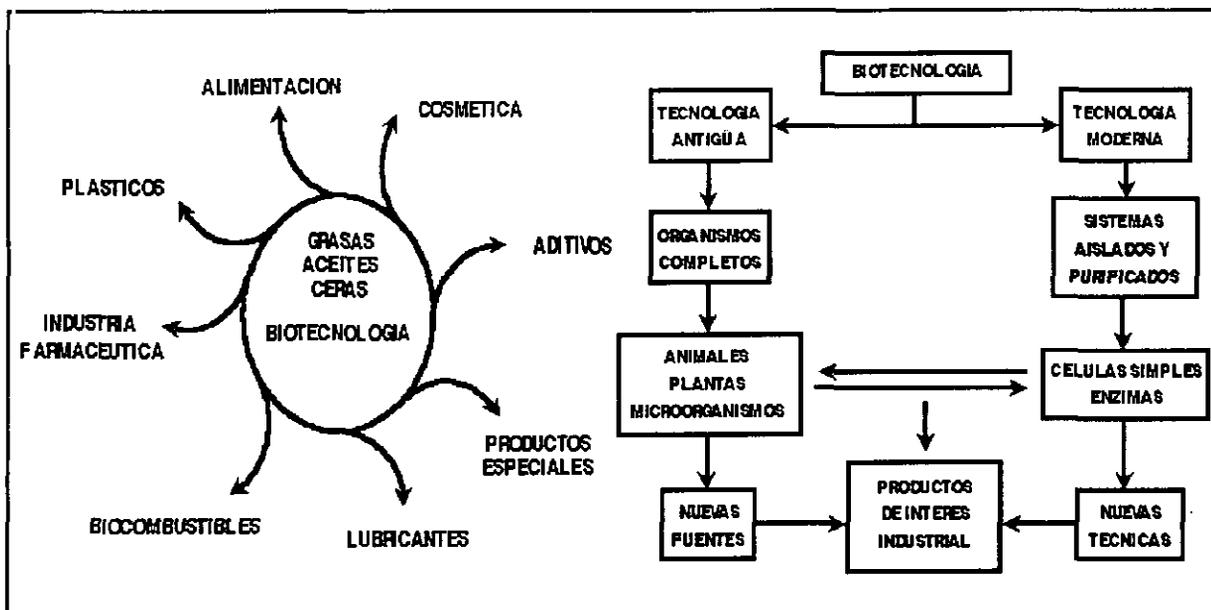


Figura 1.4. Desarrollo y aplicaciones de la Biotecnología.

Las enzimas son biomoléculas con actividad catalítica, generalmente de carácter proteico, es decir, están formadas mediante la polimerización de unidades peptídicas. Las enzimas utilizadas para la síntesis de ésteres son las denominadas lipasas, cuya especificidad varía en cada caso, dependiendo de su naturaleza [HILLS, 1990; BERGER, 1992]. En general muestran regioespecificidad hacia los grupos hidroxilos y una estereoespecificidad que puede permitir a algunas de ellas que actúen sobre un único isómero óptico [LAZAR, 1986; SANTANIELLO, 1993].

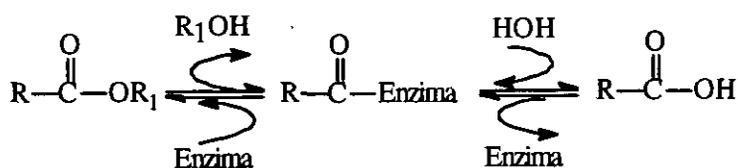
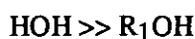
Se han desarrollado procedimientos con lipasas seleccionadas e inmovilizadas de forma que se aumenta su termoestabilidad y se retrasa su desactivación, a la vez que se facilita su manejo y la separación posterior de la mezcla de reacción [EIGTVED, 1988; IBRAHIM, 1988; CARTA, 1991].

La utilización industrial de los procesos enzimáticos ha sido muy limitada hasta ahora, por la inestabilidad relativa de las enzimas en disolución acuosa, que origina una rápida pérdida de la actividad catalítica. Otro factor de desventaja ha sido el coste de aislamiento y purificación [HUGE-

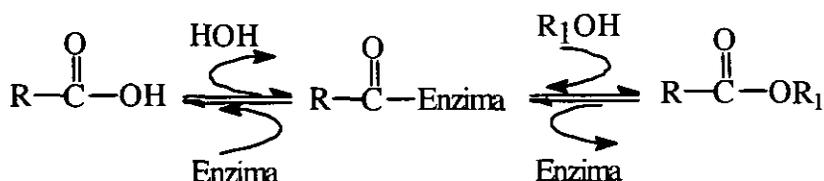
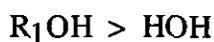
JENSEN, 1988], unido a las dificultades que supone la recuperación de la enzima una vez completado el proceso catalítico [HOQ, 1984; YAMANE, 1988; VAN DER PADT, 1992].

Las lipasas (triacilglicerol hidrolasas EC 3.1.1.3) se han venido empleando con éxito como biocatalizadores en reacciones de esterificación y reacciones de intercambio de grupos éster como acidólisis, alcoholólisis y transesterificación. El mecanismo de esterificación transcurre a través de un intermedio acil-enzima. La reacción tiene lugar en la interfase entre el agua y el sustrato insoluble. Esta interfase constituida por agua y aceite es esencial para conservar la conformación y la actividad catalítica de la enzima. En el caso de una enzima inmovilizada, la interfase se obtiene inmovilizando la cantidad necesaria de agua junto con la enzima. La reacción es reversible, y en condiciones de baja concentración de agua la enzima actuará a la inversa, es decir tendrá lugar la formación del éster en lugar de su hidrólisis [SCHUCH, 1989]. El esquema fundamental, que representa el mecanismo de la reacción en la están involucradas tanto la formación de éster como el agotamiento de este en favor de sus reactivos iniciales, es el que se muestra a continuación.

HIDROLISIS ENZIMÁTICA

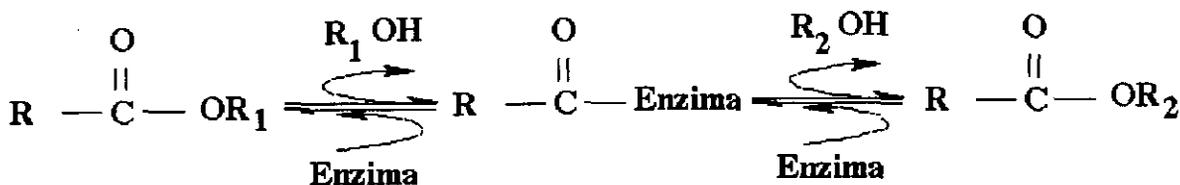


ESTERIFICACION ENZIMÁTICA

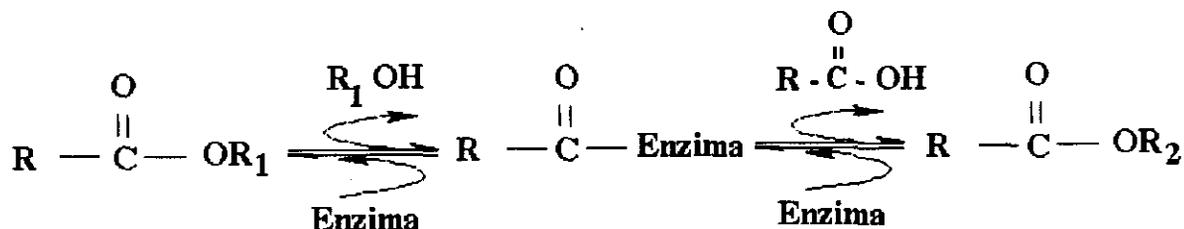


Como se ha mencionado anteriormente, además de las reacciones de esterificación e hidrólisis, las lipasas son capaces de producir ésteres empleando otro tipo de reacciones, interesterificación y transesterificación. Concretamente, el término transesterificación está referido a la obtención de un éster determinado, empleando otros dos ésteres de partida, los cuales, mediante catálisis enzimática, son capaces de intercambiar sus cadenas originales. El término interesterificación incluye las reacciones de alcoholisis y acidolisis, que fundamentalmente consisten en el intercambio de la cadena ácida o alcohólica con la correspondiente cadena del éster de partida, con lo que se consigue un éster diferente. Algunos autores incluyen dentro de este último término el de reacción de transesterificación, ya que el mecanismo de reacción de esta última no difiere básicamente de los anteriores. A continuación se muestran los esquemas correspondientes a estas reacciones [LINFELD, 1984; HANSEN, 1986].

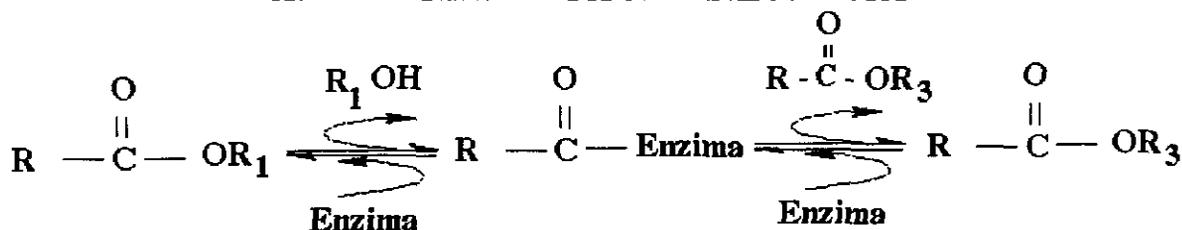
ALCOHOLISIS ENZIMATICA



ACIDOLISIS ENZIMATICA



TRANSESTERIFICACION ENZIMATICA



La enzimología moderna ha realizado grandes avances en el desarrollo de las técnicas de inmovilización de enzimas. La inmovilización elimina la gran parte de las desventajas anteriormente mencionadas y permite la utilización de las enzimas en los procesos continuos de manera similar a la utilización de los catalizadores clásicos [LIE, 1991; MOJOVIC, 1993].

Las enzimas inmovilizadas se definen como "enzimas que son físicamente confinadas o localizadas en ciertas regiones con retención de su actividad catalítica, y que pueden ser reutilizadas repetida y continuamente". El empleo de enzimas inmovilizadas supone una serie de ventajas sobre la utilización de enzimas en disolución [KENNEDY, 1983], estas ventajas consisten principalmente en la posibilidad de ser reutilizadas, la facilidad de recuperación del medio de reacción, la minimización de residuos e impurezas, la posibilidad de operar en continuo y, en algunos casos, la inmovilización contribuye a un aumento de la estabilidad de la enzima [MESSING, 1975].

Los métodos de inmovilización empleados pueden clasificarse según sean la naturaleza del soporte y de la interacción responsable de la inmovilización [CHIBATA, 1978]. En la figura 1.5 se muestra se recogen los métodos más empleados para la inmovilización de enzimas.

La posibilidad de incluir enzimas en microemulsiones acuosas permite el estudio de la transformación de sustratos insolubles en agua en cantidades moderadas parcialmente solubles en agua [BELLO, 1986]. El interés de la dispersión de un líquido en otro viene dado por la formación de un producto parcialmente acuoso que puede funcionar como agente tensioactivo.

Recientemente, la síntesis de ésteres procedentes de ácidos grasos mediante catálisis enzimática ha cobrado gran atención, ya que presenta claras ventajas sobre el procedimiento clásico, tales como la selectividad con que se da la reacción y las condiciones más suaves del proceso, que conllevan un gran ahorro energético [HOQ, 1984]. Si además la enzima se emplea inmovilizada sobre un soporte que

aumente tanto su estabilidad térmica como su resistencia mecánica, su utilización a nivel industrial adquiere un mayor interés [GERESH, 1991].

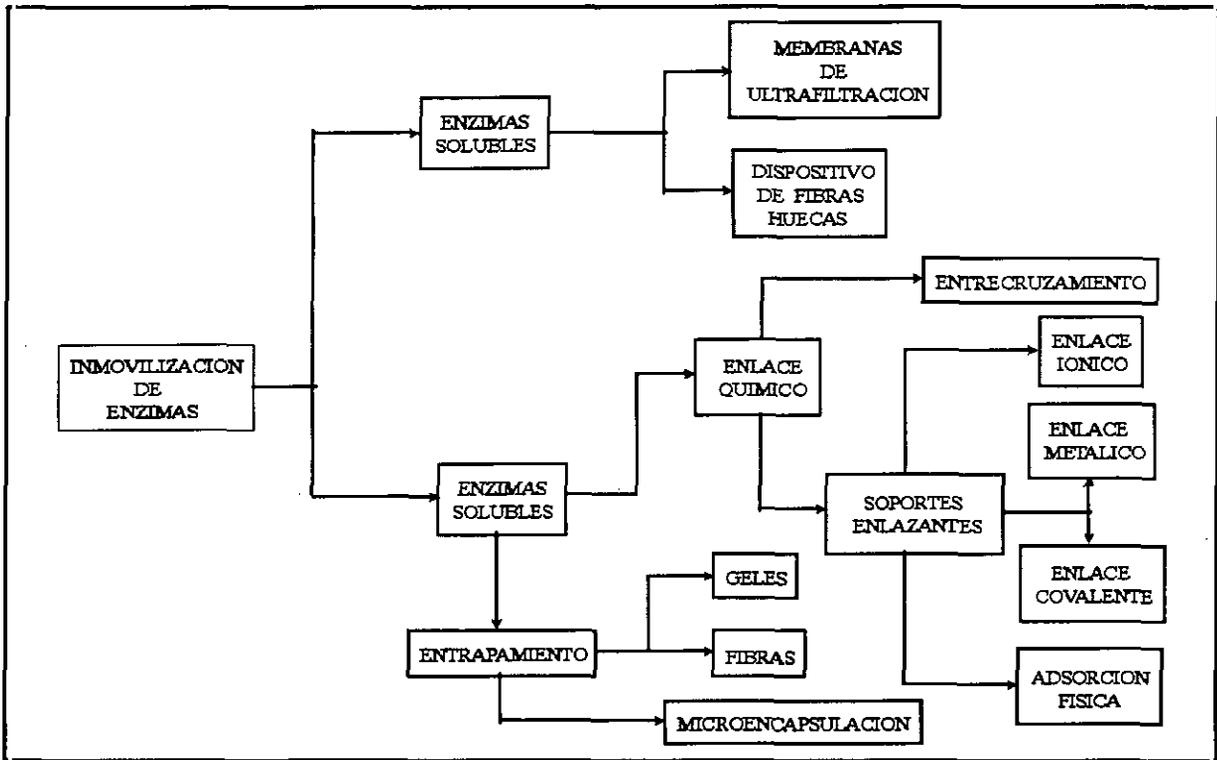


Figura 1.5. Clasificación de los métodos de inmovilización de enzimas.

Los beneficios que ofrece la utilización de enzimas a nivel industrial se resumen a continuación, y se considera que son principalmente tres [POSORSKE, 1984; LANGRAND, 1988]:

- La especificidad de la enzima da lugar a una modificación particular de las moléculas que se deseen transformar, según esto, basta elegir la enzima adecuada para obtener el producto deseado.

- Como una cantidad moderada de enzima permite alcanzar conversiones elevadas, podemos trabajar con relaciones enzima/reactivos bajas, con lo que los parámetros de diseño no se ven afectados por la utilización de un catalizador de tipo enzimático; además, las condiciones de presión y

temperatura son moderadas, por lo que los costes de operación y las necesidades energéticas no se ven incrementadas.

- Finalmente, los procesos enzimáticos tienden a un bajo coste de tratamiento. Normalmente las enzimas son biodegradables y su dosificación no suele exceder el 1% del sustrato, debido a esto, los efluentes de una planta que trabaje con enzimas catalíticas van a presentar una baja DBO, con lo cual, los posibles contaminantes se eliminan con facilidad.

Por otra parte, algunos autores [ZAKS, 1985; BOYER, 1990] han demostrado la necesidad de una pequeña cantidad de agua para potenciar la acción enzimática. Esta conclusión se ha alcanzado a través de la certeza de que el agua actúa directa o indirectamente sobre las interacciones no covalentes. La eliminación total del medio acuoso da lugar a la inactivación de la enzima [CARTA, 1991].

Los estudios realizados por Gatfield [GATFIELD, 1980] revelan que las enzimas precisan un cierta presencia de agua, pero que la conversión es inversamente proporcional al contenido de agua en el medio de reacción cuando se traspasa un límite ya que, al tratarse de una reacción de esterificación, cuando el aumento de la concentración de agua es elevado, el equilibrio se desplaza hacia la formación de reactivos. Lo mismo sucede cuando se emplea un disolvente orgánico y se elimina totalmente el contenido en agua del medio de reacción, puesto que es necesaria una pequeña cantidad de agua para que el mecanismo de reacción se verifique satisfactoriamente. Algunos autores [FABER, 1992] opinan además que una elevada concentración de agua en el medio puede ser contraproducente para la regulación y el control de la especificidad y la enantioselectividad del complejo enzimático por el sustrato que se desea modificar.

Halling [HALLING, 1990] afirma que las lipasas en sistemas bifásicos ofrecen un potencial considerable para la industria dedicada a la conversión catalítica de aceites, grasas y reactivos químicos

similares, y que debido a esto, algunos procesos serán comercializados en un futuro próximo. Además, concluye diciendo que los factores que influyen sobre el equilibrio en estos sistemas de reacción, lo hacen de manera lógica, pero que el conocimiento de las cinéticas de reacción, en cuanto a mecanismos se refiere, es todavía bastante limitado.

Z. Knez, junto con otros investigadores ha llegado a la conclusión de que la enzima Mucor Miehei cataliza la síntesis de ésteres, la cual depende principalmente del tipo de alcohol utilizado y de las condiciones de operación [KNEZ, 1990]. Afirma que presenta una actividad elevada especialmente para la síntesis de ésteres del ácido oleico.

Los estudios realizados por Macrae corroboran la necesidad de una pequeña cantidad de agua presente el medio para que las enzimas puedan ser utilizadas como catalizadores efectivos en los procesos de esterificación y coincide con la necesidad de desarrollar una tecnología enzimática adecuada y eficiente para introducir estos procesos definitivamente dentro del ámbito industrial [MACRAE, 1983 & 1989].

Algunos estudios realizados emplean diferentes tipos de enzimas, unas inmovilizadas y otras no, aplicándolas a los diferentes tipos de procesos estudiados, con el fin de llegar a una optimización sobre el tipo de enzima que se debe utilizar. Las enzimas de mayor interés industrial son las lipasas [SENIO, 1984; KOSUGI, 1987; SCHUCH, 1989; HIRATA, 1989].

Las lipasas son carboxilesterasas que hidrolizan los ésteres en medio acuoso. La diferencia las lipasas y otras carboxilesterasas, tales como las proteasas o pectinesterasas, es que mientras estas últimas actúan sobre los sustratos presentes en disoluciones acuosas homogéneas, las lipasas sólo actúan como enzimas hidrolíticas de ésteres en la interfase lipídica-acuosa de los sistemas heterogéneos. La especificidad de las lipasas depende directamente de la longitud de la cadena del sustrato que

pretendamos atacar y de la colocación de los grupos funcionales existentes en el mismo. Pero además de estos, debemos tener en cuenta otros factores a la hora de diseñar un proceso de esterificación enzimática [AIRES-BARROS, 1989; ROY, 1993]. El principal problema que presenta la esterificación a escala industrial es que los reactivos o bien son sólidos o bien son inmiscibles entre sí, por lo que caben dos posibilidades de actuación en el diseño de la reacción.

La primera posibilidad consiste en emplear un disolvente que sea capaz de mejorar la mezcla de reactivos y mejorar el contacto entre las fases para poder llevar a cabo la reacción. Se ha podido observar que dependiendo del disolvente que se utilice, las lipasas pueden variar su actividad catalítica, aumentándola o disminuyéndola, llegando incluso a permanecer totalmente inactivas. Aquellos disolventes en los que la lipasa se desactiva son los miscibles con el agua, lo que parece indicar que estos disolventes extraen el agua esencial de la estructura de la proteína, causando la ruptura de los puentes salinos y fuerzas hidrófobas y destruyen, por desnaturalización, la estructura enzimática. Desnaturalización que puede ser reversible dependiendo del grado de deshidratación alcanzado en la estructura de la lipasa. Este factor ha de ser tenido por tanto en consideración a la hora de proceder a la esterificación enzimática [HIRATA, 1989; JOHN, 1990; KNEZ, 1990; MILLER, 1988].

La segunda posibilidad consiste en trabajar en las condiciones más adecuadas desde el punto de vista termodinámico [PECNIK, 1992; ALVAREZ, 1993]. Es decir buscar condiciones de presión y temperatura en las que todos los reactivos se encuentren en fase líquida para que el contacto entre las fases mejore y la mezcla de reacción sea homogénea. Lógicamente, las limitaciones a esta posibilidad van a venir dadas por la naturaleza de las especies involucradas en el medio de reacción. Las presiones de vapor de los reactivos son un factor determinante en las reacciones de esterificación, y cuando el catalizador es una lipasa inmovilizada [MALACATA, 1990], el intervalo de trabajo se reduce aún más. En este caso la velocidad de agitación, cuando se trate de un reactor tipo tanque agitado, vendrá limitada por la resistencia mecánica del soporte sobre el que esté inmovilizada la lipasa

[CHEN, 1989; MALACATA, 1991]. La posibilidad de trabajar a vacío para eliminar el agua del medio de reacción, y así desplazar el equilibrio hacia la formación de productos, es viable, siempre y cuando esté garantizado el agua de constitución que precisa la enzima para mantener su actividad catalítica. Sin embargo, con el parámetro temperatura, las posibilidades son escasas [LOPES, 1993; VALIVETY, 1991].

Generalmente, aún cuando las lipasas están inmovilizadas en soportes que aumentan considerablemente su resistencia térmica, la temperatura de trabajo no puede superar los 80-100°C, lo que supone que en determinados casos, los reactivos permanezcan en fase sólida y la reacción no se pueda llevar a cabo fácilmente [ROY, 1993]. Cuando la temperatura aumenta por encima de la temperatura umbral permitida por la lipasa, la actividad comienza a caer a gran velocidad. Existe un intervalo por encima de dicha temperatura, en el cual la lipasa pierde su estructura globular con la consiguiente pérdida de actividad, pero si disminuye la temperatura la enzima es capaz de volver a recuperar su conformación original [LOPES, 1993]. Cuando este fenómeno tiene lugar, se dice que la enzima se desnaturaliza por acción térmica. En cambio, si la temperatura sigue aumentando, lo que sucede es que la lipasa se desactiva por efecto de la temperatura y la recuperación de su actividad es irreversible.

Debido a que la disponibilidad de lipasas en la naturaleza es muy variada y a que la especificidad de las mismas lo es aún más, la elección de una lipasa como sistema catalítico va a venir dada por las características del proceso que se vaya a poner a punto. Por tanto hay una necesidad fundamental de estudiar todos y cada uno de los parámetros que se ponen en juego en dicho proceso, tales como variables de operación y naturaleza de los diferentes sustratos que van a intervenir en la reacción. Pese a la dificultad existente en clasificar las lipasas desde el punto de vista de su empleo como catalizador, según las materias primas a partir de las cuales se obtienen este tipo de catalizadores, podemos dividir las lipasas en tres grupos fundamentales:

(a) Lipasas obtenidas a partir del páncreas de cerdo, del cuál sólo se obtienen esterasas de baja actividad, proteasas y amilasas.

(b) Lipasas obtenidas a partir del estómago de ciertos animales, estas enzimas catalizan la hidrólisis de los ácidos grasos de cadena corta presentes en la leche, para la preparación de quesos.

(c) Lipasas obtenidas por fermentación de cepas bacterianas, fúngicas y microbianas. Este tipo de lipasas, además de hidrolizar sustancias grasas, también las sintetizan, de ahí su elevado interés industrial. A este grupo pertenecen las especies *Aspergillus*, *Cándida cylindracea*, *Rhizopus*, *Mucor*, fosfolipasas y *pseudomonas*.

En cuanto a su empleo desde el punto de vista industrial dentro del campo del proceso de ceras grasas y aceites, en la tabla 1.19 se recogen las lipasas más empleadas en los procesos que emplean reactores de soporte de membrana. En la tabla 1.20 se recogen algunos de los procesos que emplean reactores de lecho fijo, la tabla 1.21 presenta los procesos en los que se emplean enzimas inmovilizadas en tanques agitados que operan en continuo y la tabla 1.22 los que emplean un tanque agitado que opera en discontinuo o por cargas. En ellas se detalla el tipo de reactor, la fuente de procedencia de la lipasa, el soporte sobre el que está inmovilizada, así como el método de inmovilización y el tipo de reacción que se lleva a cabo.

Tabla 1.19. Reactores de membrana.

Tipo de Reactor	Fuente de Lipasa	Método de Inmovilización	Soporte	Reacción	Referencia
Membrana sumergida	<i>Pseudomonas</i>	Entrapamiento	MBBA ^(*)	Hidrólisis	Karube 1977
	<i>Mucor</i>	Entrapamiento	MBBA	Hidrólisis	Suzuki 1977
Fibras cruzadas	<i>C. rugosa</i>	Adsorción	CHBP ^(*)	Esterific.	Van Der Padt 1990
	<i>C. rugosa</i>	Adsorción	Celulosa	Hidrólisis	Pronk 1988
Flujo tangencial	<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Celulosa	Hidrólisis	Hoq 1985
	<i>R. japonicus</i>	Adsorción	Polipropileno	Esterific.	Hoq 1985
	<i>M. miehei</i>		Polipropileno		
	<i>P. fluorescens</i>				
	<i>C. viscosum</i>	Adsorción		Esterific.	Hoq 1984
Flujo a través de membrana	<i>A. niger</i>	Adsorción	Polipropileno	Hidrólisis	Malacata 1990
	<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Polipropileno	Hidrólisis	Brady 1988
	<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Polipropileno	Hidrólisis	Brady 1986
	<i>T. lanuginosus</i>	Adsorción	Polipropileno Acrflica	Hidrólisis	Taylor 1986

^(*) CHBP: 4-ciano-4'-heptilbifenilo. MBBA: 4-metoxibencilideno-4'-butilanolina.

Tabla 1.20. Reactores de lecho fijo.

Fuente de Lipasa	Metodo de Inmovilización	Soporte	Reacción	Referencia
<i>Aspergillus niger</i> <i>Mucor miehei</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Macrae 1985
<i>Aspergillus niger</i> <i>G. candidum</i> <i>Rhizopus niveus</i>	Adsorción	Resina	Interesterificación	Macrae 1983
<i>Aspergillus niger</i> <i>P. fluorescens</i> <i>Rhizopus japonica</i> <i>Rhizopus delemar</i> <i>C. cylindracea</i> <i>Pancreas de cerdo</i>	Enlace covalente Adsorción	Vidrio poroso	Hidrólisis	Kobayashi 1980
<i>Pancreas de cerdo</i> <i>C. cylindracea</i> <i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Spherosil	Hidrólisis	Lavayre 1982
<i>C. cylindracea</i>	Entrapamiento Adsorción	ENTP (*)	Hidrólisis	Kimura 1983
<i>Humicola langinosa</i>	Entrapamiento Cross-linking	ENTP, Amberlita Alginato cálcico	Hidrólisis	Omar 1988
<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	HDPE (*)	Hidrólisis	Brady 1988
<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Polipropileno	Hidrólisis	Brady 1986
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Wisdom 1987
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Enlace celular	Fúngico	Hidrólisis	Bell 1981
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Enlace celular	Fúngico	Esterificación	Patterson 1979
<i>Mucor miehei</i>	Intercambio iónico	Resina	Interesterificación	Posorske 1988
<i>Mucor miehei</i>	Intercambio iónico	Resina	Interesterificación Esterificación	Hansen 1986
<i>Mucor miehei</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Ison 1988

(*) ENTP: Polipropilenglicol. HDPE: Polietileno de alta densidad.

Tabla 1.21. Reactores continuos tipo tanque agitado y lecho fluidizado.

Tipo de Reactor	Fuente de Lipasa	Metodo de Inmovilización	Soporte	Reacción	Referencia
Lecho fluidizado	<i>Pancreas cerdo</i>	E. Covalente Cross-linking	Metálico Poliacrilamida	Hidrólisis	Lieberman 1975
CSTR (*)	<i>C. cylindracea</i>	Adsorción	Zeolita Celulosa Gel de sílice Resina Alúmina CPG (*) Carbono Nylon HDPE (*) Polipropileno	Hidrólisis	Brady 1986 Brady 1987 Brady 1988
CSTR (*)	<i>R. arrhizus</i>	E. celular	Fúngico	Esterific.	Takahashi 1987

(*) CSTR: Reactor continuo tipo tanque agitado. CPG: Vidrio poroso controlado. HDPE: Polietileno de alta densidad.

Tabla 1.22. Reactores discontinuos tipo tanque agitado.

Fuente de Lipasa	Metodo de Inmovilización	Soporte	Reacción	Referencia
<i>Geotricum candidum</i>	Adsorción	Vidrio poroso	Esterificación	Marlot 1985
<i>Aspergillus niger</i>	Entrapamiento	Alúmina		
<i>Mucor miehei</i>		Zeolita		
<i>Pancreas de cerdo</i>		Poliuretano		
<i>Candida cylindracea</i>				
<i>Rhizopus arrhizus</i>				
<i>Aspergillus niger</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Macrae 1985
<i>Mucor miehei</i>				
<i>Aspergillus niger</i>	Adsorción	Resina	Interesterificación	Macrae 1986
<i>Candida cylindracea</i>				
<i>Geotricum candidum</i>				
<i>Pancreas de cerdo</i>	Enlace covalente	Sephadex Celulosa	Hidrólisis	Melius 1974
<i>Aspergillus niger</i>	Enlace covalente	Vidrio poroso	Hidrólisis	Kobayashi 1980
<i>P. fluorescens</i>	Adsorción	Sheparose		
<i>Rhizopus japonica</i>		Dowex		
<i>Candida cylindracea</i>				
<i>Pancreas de cerdo</i>	Enlace covalente	Sepharose	Hidrólisis	Patton 1988
<i>Candida cylindracea</i>	Entrapamiento	Duolite, Zeolita	Hidrólisis	Tahoun 1986
	Adsorción	CPG ^(*)		
<i>Rhizopus delemar</i>	Enlace covalente			
	Entrapamiento	Zeolita	Interesterificación	Yokoceki 1982
	Adsorción	Poliuretano		
		AEC, CPG ^(*)		
<i>Candida cylindracea</i>	Enlace covalente	Agarosa	Hidrólisis	Kilara 1977
		Sepharose	Hidrólisis	Kilara 1981
	Entrapamiento	Poliacrilamida		
<i>Semilla de algodón</i>	Enlace covalente	Poliamida	Hidrólisis	Rakhimov 1977
<i>Pancreas de cerdo</i>				
<i>Mucor javanicus</i>	Enlace covalente	AEC ^(*)	Hidrólisis	Ogiso 1972
	Intercambio iónico	Agarosa		
		Celulosa		
<i>Candida rugosa</i>	Entrapamiento	Polietilenglicol	Hidrólisis	Kwon 1987
<i>Rhizopus arrhizus</i>			Interesterificación	
<i>Rhizopus delemar</i>	Entrapamiento	Alginato cálcico	Hidrólisis	Kawashima 1976
		Alginato sódico		
<i>Humicola lauginosa</i>	Entrapamiento	AEC ^(*)	Hidrólisis	Omar 1988
	Adsorción	Poliuretano		
	Cross-linking	Amberlita		
<i>Aspergillus oryzae</i>	Microencapsulación	Manteca	Hidrólisis	Pannell 1989
<i>Aspergillus niger</i>				
<i>C. viscosum</i>	Microencapsulación	Silice, Dextrano	Hidrólisis	Kitajima 1969
<i>Pancreas de cerdo</i>	Adsorción	Vidrio	Hidrólisis	Hills 1989
<i>P. colza</i>	Adsorción	Zeolita	Esterificación	Kadyrova 1983
<i>Semilla de algodón</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Wisdom 1985
<i>Aspergillus niger</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	
		CPG ^(*)		
<i>Candida rugosa</i>	Adsorción	Sephadex	Hidrólisis	Kang 1988
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Adsorción	Zeolita	Interesterificación	Goderis 1987
<i>P. mephitica</i>	Adsorción	DADA ^(*)	Hidrólisis	Kosugi 1979
<i>Mucor miehei</i>	Intercambio iónico	Resina sintética	Esterificación	Miller 1988
<i>Rhizopus oryzae</i>	Enlace covalente	Alúmina	Hidrólisis	Neklyudov 1981
<i>P. fragi</i>	Enlace covalente	Magnetita	Esterificación	Takahashi 1987

(*) CPG: Vidrio poroso controlado. DADA: 1,12-Diaminododecano Agarosa. AEC: Aminoetilcelulosa.

Por otra parte, cuando se valora el potencial de aplicación de una nueva tecnología para su incorporación en una producción a escala industrial, deben tenerse en cuenta dos cuestiones fundamentales: a) Si el proceso es capaz de producir el producto final deseado con un rendimiento aceptable y si se obtiene el grado de pureza requerido (Viabilidad Técnica), y b) Si el proceso puede conseguir estos objetivos con unos costes razonables (Viabilidad Económica). El primer factor va a depender exclusivamente de los medios y de las materias primas empleadas. La lipasa empleada en el proceso va a jugar uno de los papeles más importantes, si no el más importante. Uno de los problemas que pueden presentarse es el fenómeno de la desactivación térmica, por eso es necesario trabajar dentro del intervalo que marquen las especificaciones de dicho catalizador sin que se produzca una caída drástica de la actividad catalítica con la consiguiente pérdida de rendimiento que esto supondría. La viabilidad económica del proceso va a pasar precisamente por el tiempo de vida medio de la enzima, por lo que es importante que esta funcione con una actividad adecuada, sin pérdida de actividad por desactivación térmica y, que el rendimiento se mantenga constante en el proceso.

Para aumentar la estabilidad térmica de la lipasa que se va a emplear como catalizador se acude a la técnica de inmovilización, pero hay ocasiones en que esta es insuficiente debido a las limitaciones impuestas por la propia naturaleza de la lipasa en cuestión. Para subsanar este hecho, se ha recurrido en muchos casos a otros métodos de estabilización térmica. Los métodos más empleados están constituidos por la ingeniería genética, la modificación química y algunos tratamientos físicos.

Son varios los autores que dedican su investigación a la caracterización e identificación de las lipasas para poder aplicarlas a procedimientos para la obtención de productos de química fina con una mayor selectividad y estabilidad. Algunos ejemplos incluyen el estudio de la cepa de *Aspergillus niger* que produce lipasas muy específicas para residuos ácidos de cadena corta [MACRAE, 1983], o la cepa de *Aspergillus Oryzae*, que produce lipasas capaces de generar cierto tipo de aditivos potenciadores del sabor [ARBIGE, 1986]. Las técnicas de recombinación de DNA han aumentado considerablemente

el potencial de nuevas investigaciones relacionadas con las lipasas. Este interés ha venido dado por su aplicación a la industria de coagulación de quesos [BARACH, 1985]. Los mecanismos de producción de las lipasas están controlados por los diferentes genes que constituyen su código genético y este será el que determine la estructura y las características del complejo enzimático. Para modificar estas estructuras proteicas hay que tener en cuenta tres factores fundamentales: Las interacciones existentes con los diferentes tipos de estructuras lipídicas, la degradación parcial efectuada por las proteasas que coexisten con las lipasas y el equilibrio de asociación-disociación de las subunidades que constituyen la estructura de la lipasa.

Los tratamientos químicos más comunmente empleados, involucrados en la modificación de lipasas o en la modificación de su actividad son los tratamientos con disolventes orgánicos. El disolvente más utilizado para este fin es el propilenglicol [TAKAHASHI, 1987]. Este procedimiento asegura la hidratación en los alrededores de la lipasa y permite su buen funcionamiento.

El otro procedimiento empleado para aumentar la estabilidad de las lipasas está constituido por los métodos de inmovilización, cuyas propiedades y beneficios aplicados a las enzimas en general y a las lipasas en particular ya han sido suficientemente detallados anteriormente.

1.8 VARIABLES DE OPERACION EN LOS PROCESOS DE ESTERIFICACION

Las variables que influyen en los procesos de esterificación catalítica que se llevan a cabo en reactores tipo tanque agitado que opera en discontinuo son las que se indican a continuación:

- Temperatura.
- Presión.
- Tiempo de operación.
- Catalizador: naturaleza y concentración.
- Relación molar entre reactivos.
- Velocidad de agitación.

El tiempo de operación para alcanzar una determinada conversión depende de la temperatura, presión y concentración de catalizador, y suele estar comprendido, en la mayoría de los procesos de esterificación, entre 90 minutos y 7 horas [McCRACKEN, 1967; NAVROCIK, 1985; GIMENEZ, 1987; GOTO, 1991 & 1992; GARCIA, 1993].

Los límites de temperatura y presión de trabajo vienen generalmente determinados por los puntos de fusión y ebullición de los reactivos y productos, y en nuestro caso, también por las especificaciones del sistema enzimático empleado como catalizador.

En la mayoría de la bibliografía consultada, las condiciones de presión varían entre trabajar a vacío y a presión atmosférica, mientras que los rangos de temperatura utilizados, para el caso de la catálisis enzimática, oscilan entre 40°C y 90°C.

Dependiendo del ácido y alcohol de partida, el éster obtenido puede ser de diferentes tipos. Así tendremos ésteres más o menos volátiles según sean las volatilidades de los reactivos de partida. Cuando los ésteres formados presentan una volatilidad media o alta, es necesaria la formación de azeótropos para la eliminación del agua formada en el medio de reacción, en el caso de que el rendimiento de la reacción no sea satisfactorio.

En el caso de los ésteres poco volátiles, pueden presentarse dos situaciones en relación con el ácido y el alcohol de partida: La primera es que ambos presenten baja presión de vapor y por tanto una baja volatilidad, por lo que, al ser estos ésteres poco volátiles, el componente más volátil de la mezcla de reacción va a ser el agua, el cual puede eliminarse del medio por una simple purga con un gas inerte o por destilación continua, aplicando condiciones de vacío. Por el contrario, cuando uno de los reactivos o los dos sean volátiles, segunda situación posible, presentarán presiones de vapor según las cuales el proceso de eliminación del agua aplicando vacío, es inviable, puesto que arrastraríamos los reactivos más volátiles con el agua. Por este motivo el sistema empleado no puede trabajar a presiones inferiores a la atmosférica. Si en esta situación los resultados son aceptables, no habría inconveniente en operar hasta alcanzar la conversión de equilibrio.

En el caso de que la anterior situación no tuviese lugar, sería necesario considerar la modificación del sistema de reacción para operar, por ejemplo, con un sistema de separación de los componentes de la fase vapor y recircular al reactor dicha corriente en fase líquida y exenta de agua. Lógicamente pueden emplearse otro tipo de procedimientos como pueden ser el empleo de tamices moleculares para la retención del agua, o una operación en semicontinuo por adición de los reactivos más volátiles.

En los casos que aquí se van a exponer, todos los compuestos involucrados en los diferentes medios de reacción presentan presiones de vapor que hacen viable trabajar en condiciones de vacío, a excepción de uno de los reactivos, el alcohol isopropílico, sin embargo la mezcla de reacción final trabajando a presión atmosférica sin eliminación de agua, presenta una conversión de equilibrio adecuada para su aplicación en el mercado.

1.9 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

Debido al elevado número de aplicaciones de las ceras objeto de la presente memoria y las limitaciones que presenta su obtención, en unos casos a partir de fuentes naturales y, en otros, mediante síntesis, es necesario sustituir los productos naturales por compuestos análogos en sus características físicas y químicas para su utilización por parte de las industrias interesadas en su aprovechamiento, y mejorar los procedimientos de síntesis con el fin de obtener mejoras de calidad y de tipo económico.

Los compuestos análogos para los aceites de jjoba y de cachalote, se obtendrán a partir del ácido oleico y los alcoholes oleico y cetílico respectivamente. Tanto el ácido oleico como el alcohol oleico pueden obtenerse a partir del aceite de oliva, mientras que el alcohol cetílico se obtiene a partir del aceite de palma. Estas materias primas son bastante comunes en España, por lo que el precio de las materias primas va a influir positivamente en el factor económico del proceso.

En cuanto a los demás productos objeto de síntesis, puede decirse que las materias primas de partida son bastante asequibles en cuanto a calidad, cantidad y precio. Si, además, tenemos en cuenta el elevado valor añadido de los productos obtenidos, así como sus numerosas aplicaciones y demanda por parte del mercado, la posibilidad de hacer viable el procedimiento de obtención puede considerarse atractiva, tanto desde el punto de vista económico, como técnico.

Por otra parte, la escasez de modelos cinéticos, según las fuentes bibliográficas consultadas, para la síntesis de este tipo de ésteres, empleando sistemas enzimáticos como catalizador, nos lleva a la proposición de determinar modelos cinéticos que describan el campo experimental ensayado, con el fin de obtener información útil tanto para el diseño del reactor, como para la puesta en planta del proceso.

Con el fin de conseguir los objetivos propuestos, se han planteado una serie de líneas de actuación que constituyen el presente plan de trabajo, y que se resume en los puntos que se muestran a continuación:

- 1- Realizar un estudio bibliográfico a cerca de las sustancias con que se va a trabajar y de los distintos modos de operación viables para nuestro caso concreto, con el fin de obtener la información necesaria para plantear el proceso de síntesis.
- 2- Puesta a punto del método de análisis con el fin de identificar las especies en el medio de reacción, así como cuantificar dichas especies lo largo tiempo transcurrido en proceso.
- 3- Estudio discriminatorio en la elección del sistema catalítico enzimático.
- 4- Estudio de las variables que influyen sobre el proceso de esterificación, así como la cuantificación y optimación de las mismas.
- 5- Realización de experimentos cinéticos con el fin de estimar la influencia de las variables de operación sobre la velocidad de reacción.
- 6- Elaboración y discusión de resultados dirigida hacia la proposición de modelos cinéticos que explique el comportamiento del proceso y permita el diseño del reactor.

1.10 BIBLIOGRAFIA

- AIRES-BARROS, M.R., CABRAL, J.M.S., WILLSON, R.C., HAMEL, J.F.P. and COONEY, C.L., "Esterification-coupled extraction of organic acids: Partition enhancement and underlying reaction and distribution equilibria", *Biotechnol. Bioeng.* **34** pg 909-915 (1989).
- AL-SAAD, A.N., and JEFFREYS, G.U., "Esterification of butanol in a two-phase liquid-liquid system. Quaternary phase equilibria studies", *AIChE J.*, **27** (5) pg 754-776 (1981).
- ALVAREZ, J. and MERAZ, M., "Control of enzyme activity in stirred bioreactors", *Chem. Eng. J.* **51** pg B11-B16 (1993).
- Anexo al Convenio Internacional para la Regulación de la Pesca de la Ballena* (1988).
- ARBIGE, M.V., FREUND, P.R., SILVER, F.G. and ZELKO, J.T., "Nobel lipase for cheddar cheese flavor development", *Food Technol.*, **40** pg 91-95 (1986).
- ASTLE, M.J., SCHAEFFER, B. and OBELAND, C.O., "Catalysis with cation-exchange resins", *J. Am. Chem. Soc.*, **77** pg 3643-3647 (1955).
- AUSTIN, G. T. "Shreve's Chemical Process Industries". 5th Ed. McGraw-Hill International Editions. Chemical Engineering Series. (1988).
- AVIDON, V. and SHANI, A., "Functionalization at the double bond region of Jojoba oil. Production of amines via azides", *JA OCS*, **71** (9) pg 993-997 (1994).
- AYERZA, R., "Effect of irrigation on jojoba oil production under arid chaco conditions II". *JA OCS*, **70** (12) pg 1225-1228 (1993).
- BAILEY, A.E. "Industrial Oil and Fat Products". Ed. Interscience Publishers Inc. New York (1945).
- BAKER, R. and BORDWELL, F.G., "Modification of alcohols using tin chloride". *Org. Syn. Coll.*, **3** pg 141-145 (1955).
- BARACH, J.T., TALBOT, L.L. and BUSCH, S., "Enzyme preparation for accelerating the aging process of cheese", *J. Dairy Sci.*, **68** pg 69-75 (1985).

- BARLOW, S.M. "Nutritional Evaluation of Long Chain Fatty Acids in Fish Oil". Ed. Academic Press. New York (1980).
- BASIRON, Y. and IBRAHIM, A., "Palm oil: Old myths, new facts" *INFORM*, 2 (9) pg 977-980 (1994).
- BAYLEY, B.E.; CARTER, N.M. and SWAIN, L., "The chemistry of marine oils", *Fish Res. B. Can. Ottawa Bull.*, 86 pg 413-418 (1952).
- BEANE, G.A.; GSCHWENDER, J.L. and SNYDER, C.E., "Military aircraft propulsion lubricants. Current and future trends", *J. Synth. Lubricants*, 3 (4) pg 263-267 (1987).
- BELL, G.; TODD, J.R., BLAIN, J.A., PATTERSON J.D.E. and SHAW, C.E., "Hydrolysis of triglycerides by solid phase lipolytic enzymes of *Rhizopus arrhizus* in continuous reactor systems", *Biotechnol. Bioeng.*, 23 pg 1703-1709 (1980).
- BELLO, M.; PIEVIC, M. and ADENIER, C. R., "Transesterification, interesterification and ester synthesis catalyzed by lipases in microemulsions", *Acad. Sci. Paris*, 3 serie III, (5) pg 296-300 (1986).
- BERGER, M.; LAUMEN, K. and SCHNEIDER, M.P., "Enzymatic esterification of glycerol I. Lipase-catalyzed synthesis of regiosomerically pure 1,3-sn-diacylglycerols", *JA OCS*, 69 (10) pg 955-960 (1992).
- BERGER, M.; LAUMEN, K. and SCHNEIDER, M.P., "Enzymatic esterification of glycerol II. Lipase-catalyzed synthesis of regioisomerically pure 1(3)-rac-Monoacylglycerols", *JA OCS*, 69 (10) pg 961-965 (1992).
- BERMAN, S.; MELNICHUK, J.L. and OTHMER, D.F., "Dibutyl phthalate reaction rate of esterification", *Ind. Eng. Chem.*, 40 (7) pg 1312-1319 (1948).
- BHATIA, V.K. and GULATI, I.B., "Chemistry and utilization of jojoba", *Chem. Era*, 17 pg 137-144 (1981).
- BHATIA, V.K., CHAUDRHY, A., SIVASANKARAN, G.A., BISHT, R.P.S. and KASHYAP, M., "Modification of jojoba oil for lubricant formulations", *JA OCS*, 67 (1) pg 1-7 (1990).

- BILBAO, J., GONZALEZ, J.R., GONZALEZ, J.A. and AGUAYO, A.T.**, "Kinetics of gas-phase esterification of acetic acid and n-butanol", *Anal. Quim.*, 80 pg 155-161 (1984).
- BOCHNER, M.**, "Ion exchange resin-catalyzed esterification of salicylic acid with methanol", *Ind. Eng. Chem. Fun.*, 4 pg 314-318 (1965).
- BOEKENOOGEN, M.**, "Determination of soap in refined oil". *Oli. Vett. Oliez.*, 26 pg 143-145 (1941).
- BOYER, J.L., GILOT, B. and GUIRAUD, R.**, "Heterogeneous enzymatic esterification: analysis of the effect of water", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 33 pg 372-376 (1990).
- BRADY, C., METCALFE, L., SLABOSZEWSKI, D. and FRANK, D.**, "Hydrolysis of fats", *U.S. Pat.*, 4,629,742 (1986).
- BRADY, C., METCALFE, L., SLABOSZEWSKI, D. and FRANK, D.**, "Hydrolysis of fats (extension)", *Ibid*, 4,678,580 (1987).
- BRADY, C., METCALFE, L., SLABOSZEWSKI, D. and FRANK, D.**, "Lipase immobilized on a hydrophobic microporous support for the hydrolysis of fats", *JA OCS*, 65 pg 917-922 (1988).
- BROCKERHOFF, H., HOYLE, R.J., HWANG, P.C. and LITCHFIELD, C.**, "Structural lipids in marine and vegetable oils". *Lipids*, 3 pg 24-30 (1968).
- BROWN, C.E. and COOK, C.D.**, "Antiwear lubricants containing B esters". *Org. Syn. Coll.*, 41 pg 79-82 (1961).
- BUSSON, B.J., FARINES, M. and SOULIER, J.**, "Jjoba wax: Its esters and some of its minors components", *JA OCS*, 71 (9) pg 999-1002 (1994).
- CALMAN, C. and KRESSMAN, T.R.E.**, "Ion Exchanger on Organic Chemistry and Biochemistry".
- CARTA, G., GAINER, J.L. and BENTON, A.H.**, "Enzymatic synthesis of esters using an immobilized lipase", *Biotech. Bioeng.* 37 pg 1004-1009 (1991).
- CHEN, C.S. and SIH, C.J.**, "General aspects and optimization of enantioselective biocatalysis in organic solvents: The use of lipases", *Angw. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 pg 695-707 (1989).
- CHIBATA, I.**, "Immobilized enzymes-research and development". Codansha, tokyo (1978).

- COPE, A.C. and HERRICK, E.C., "Esterification of monohydrated p-toluensulphonic acid". *Org. Syn. Coll.* 4 pg 304-307 (1963).
- CRAWFORD, M.A., "Structural lipids and their polyenoic constituents in human milk". *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 49 pg 302-308 (1974).
- DAKSHINAMURTY, P., RAMAO, M.V.S. and RAMACHANDRAMURTY, Ch.V., "Kinetics of catalytic esterification of 1-propanol with propanoic acid using cation-exchange resins", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 34 pg 257-261 (1984).
- DHANUKA, V.R., MALSHE, V.C. and CHANDOLIA, S.B., "Kinetics of the liquid phase esterification of carboxylic acids with alcohols in the presence of acid catalysts; reinterpretation of published data", *Chem. Eng. Sci.*, 32 pg 551-556 (1977).
- DIXON, P., "Vegetable oil import barriers. An overview", *INFORM*, 5 (9) pg 974-976 (1994).
- DORGAN, P.D., "On the use of marine oils in cosmetic compositions". *Drugs and Cosmetic Ind.*, (12) pg 30-37 (1974).
- DYERBERG, J.; BANG, H.O.; SHOFFERSON, E.; MONCADA, S. and VANE, J.R. "Plasma Cholesterol Concentration in Caucasian Daney". *Ed. Lancet*. pg 117-125 (1978).
- EIGTVED, P.; HANSEN, T.T. and MILLER, C.A. "Proceedings of the World Conference on Biotechnology for the Fats and Oils Industry". Ed. Thomas H. Applewhite. American Oil Chemists' Society (1988).
- ELVERS, B.; HAWKINS, S. and SCHULZ, G. "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry". 5th Ed. VCH. Weinheim. Germany (1990).
- ELLIGER, C.A., WAISS, J.A.C. and BOOTH, A.N., "Isolation of a toxic factor from a jojoba oil". *U.S. Pat.*, 3 929:432, 11 Nov. (1975).
- ERDOS, J., "Electrochemical methods in the synthesis of esterols", *Angew. Chem.*, 63 pg 329-332 (1951).
- FABER, K. and RIVA, S., "Enzyme-Catalyzed Irreversible Acyl Transfer", *Shynthesis* 10 pg 895-910 (1992).

- FORE, S.P.; MAGNE, F.C. and BICKFORD, W.G., "Epoxidized Jojoba oil as a stabilizer for vinyl chloride plastics", *JA OCS* 35 pg 469-474 (1958).
- FRIEDRICH, J.P., "Estimation of supercritical fluid-liquid solubility parameter differences for vegetable oils". *JA OCS*, 65 (1) pg 30-36 (1988).
- GARCIA, T.; MARTINEZ, M. and ARACIL, J. "Enzymatic synthesis of an analogue of jojoba oil: Optimization by statistical analysis". *Enz. Microb. Technol.*, 15 (6) pg 607-610 (1993).
- GARCIA, T.; MARTINEZ, M. and ARACIL, J. "Kinetics of the enzymatic synthesis of an analogue of jojoba oil". *Trans IChemE. part C*, 71 (3) pg 47-51 (1993).
- GATFIELD, I.L., "The enzymatic synthesis of esters in nonaqueous systems", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, pg 569-572 (1980).
- GERESH, S. and GILBOA, Y., "Enzymatic syntheses of alkyds. II: Lipase-catalyzed polytransesterification of dichloroethyl fumarate with aliphatic and aromatic diols", *Biotech. Bioeng.*, 37 pg 883-888 (1991).
- GIMENEZ, J.; COSTA, J. and CERVERA, S., "Vapor phase esterification of acetic acid with ethanol catalyzed by a macroporous sulfonated styrene divinylbenzene (20%) resin", *Ind. Eng. Chem. Res.* 26 pg 198-202 (1987).
- GISSER, H.; MESSINA, J. and CHASA, D., "Jojoba oil as sperm oil substitute", *Wear* 34 pg 53-58 (1975).
- GODERIS, H.L.; AMPE, G.; FEYTEN, M.P.; FOUWE B.L. and GUFFENS, W.M., "Lipase-catalyzed ester exchange reactions in organic media with controlled humidity", *Ibid* 30:258 (1987).
- GOTO, S.; TAKEUCHI, M. and MATOUQ, M.H., "Kinetics of esterification of Palmitic Acid with Isobutyl Alcohol", *Int. J. Chem. Kin.* 23 pg 17-26 (1991).
- GOTO, S.; TAKEUCHI, M. and MATOUQ, M.H., "Kinetics of esterification of palmitic acid with isobutyl alcohol on ion-exchange resin pellets", *Int. J. Chem. Kin.* 24 pg 587-592 (1992).

- GOTO, M., GOTO, M., NAKASHIO, F., YOSHIZUKA, K., INOUE, K. and BABA, Y., "Mechanism of hydrolysis of triolein with lipase in a hollow fiber membrane-bioreactor", *Int. J. Chem. Kin.* 34 pg 410-416 (1994).
- GOTO, M., GOTO, M., KAMIYA, N., and NAKASHIO, F., "Enzymatic interesterification of Triglyceride with surfactant-coated lipase in organic media", *Biotech. Bioeng.*, 45 pg 27-32 (1995).
- GUENTHER, E. and ALTHAUSEN, D. "Essential Oils". Ed. Van Nostrand Co. Inc.. New York. March (1955).
- GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, S.L. and PADLEY, F.B. "The Lipid Handbook". Ed. Chapman and Hall (1986).
- GUNSTONE, F.D. and NORRIS, F. "Lipids in Foods ". Ed. Pergamon Press. London (1982).
- HALLING, P. J., "Lipase-Catalysed modification of oils and fats in organic two phase systems", *Fat Sci. Technol.*, 92 (2) pg 314-320 (1990).
- HANSEN, C.R., "Photochemical oxidation of fatty acid esters with and without chloropyll. Ultraviolet and infrared studies of products". *Org. Sun. Coll.* 3 pg 142-148 (1955).
- HANSEN, T.T. and EIGTVED, P. "A new immobilized lipase for interesterification and ester synthesis", Actas of the World Conference on Emerging Technology of Fats and Oils in the Industry. Ed. American Oil Chemist's Society. pg 365-369. U.S.A. (1986).
- HART, H. and SCHUETZ, R.D. "Organic Chemistry". 4th Ed. ISE. Cap. 11, pg 256-265 (1980).
- HILLS, M.; KIEWITT, I. and MUKHERJEE, K.D., "Enzymatic fractionation of fatty acids: Enrichment of gamma-linoleic acid and docosahexanoic acid by selective esterification catalyzed by lipases", *JA OCS*, 67 (9) pg 561-564 (1990).
- HILLS, M.; KIEWITT, I. and MUKHERJEE, K.D., "Esterification reaction catalyzed by immobilized lipase from oilseed rape (*Brassica napus* lipase)", *Biochem. Soc. Trans.*, 17 pg 478-482 (1989).
- HINDS, W.E., "Penicillium products", *U.S. Pat.*, 2 929:432, 8 Nov. (1949).

- HIRATA, H.; HIGUCHI, K. And YAMASHINA, Y., "Enzyme Reaction in Organic Solvent III. Effect of water content. Inhibition of alcohol for the lipase catalyzed transesterification in tributyrin containing 1-octanol", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 38 (1) pg 48-52 (1989).
- HOQ, M.M., YAMANE, T., SHIMIZU, S., FUNADA, T. and HISHIDA, S., "Continuous synthesis of glycerides by lipase in a microporous membrane bioreactor", *JA OCS*, 61 pg 776-780 (1984).
- HOQ, M.M., TAGAMI, H., YAMANE, T. and SHIMIZU, S., "Bioreactor for enzymic reaction of fat and fatty acid derivatives. Part II. Some characteristics of continuous glyceride synthesis by lipase in a microporous hydrophobic membrane bioreactor", *Agric. Biol. Chem.*, 49 pg 335-339 (1985).
- HUGE-JENSEN, B.; GALLUZZO, D.R. And JENSEN, R.G., "Studies on free and immobilized lipases from *Mucor Miehei*", *JA OCS* 65 (6) pg 905-909 (1988).
- IBRAHIM, C.O., SAEKI, H., NISHIO, N. and NAGAI, S., "Hydrolysis of triglycerides by immobilized thermostable lipase from *Humicola lanuginosa*", *Agric. Biol. Chem.*, 52 (1) pg 99-105 (1988).
- ISON, A.P., DUNNILL, P. and LILLY, M.D., "Hydrolysis of fats using immobilized enzymes", *Enz. Microb. Technol.*, 10 pg 47-51 (1988).
- JOHN, V.T. and ABRHAM, G. "Biocatalysis for industry", Ed. In. Dordick, J., New York (1990).
- KADYROVA, Z.K., ABDURAKHIMOV, A.S. and KHALNIYAZOV, K.K., "Enzymic synthesis of glycerides", *Khimi. Prir. Soedin.* 4 pg 439-444 (1983).
- KANG, S.T. and RHEE, J.S., "Effect of water on hydrolysis of olive oil by immobilized lipase in reverse phase systems", *Biotechnol. Lett.* 10 pg 341-344 (1988).
- KARUBE, I.W., YUGETA, Y. and SUZUKI, H., "Electric field control of lipase membrane activity", *Biotechnol. Bioeng.* 17 pg 1401-1406 (1977).
- KAWASHIMA, K. and UMEDA, K., "Granular immobilized enzyme" *Agric. Biol. Chem.* 40 pg 1143-1148 (1976).
- KENNEDY, J. F. and CABRAL, J. M., "Solid phase biochemistry: Immobilized enzymes". Ed. John Willey and sons. New York (1983).
- KILARA, A., "Immobilized proteases and lipases", *Process Biochem.* 16 pg 25-30 (1981).

- KILARA, A. and WAGNER, F.W., "Preparation and characterization of immobilized lactose", *Biotechnol. Bioeng.* 19 pg 1703-1708 (1977).
- KIMURA, Y., TANAKA, A., SONOMOTO, K., NIHIRA, T. and FUKUI, S., "Application of immobilized lipase to hidrolisis of trioleylglycerine". *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17 pg 107-112 (1983).
- KITAJIMA, M., MIYANO, S. and KONDO, A., "Enzyme-containing microcapsules". *Kog. Kagak. Zass.* 72 pg 493-498 (1969).
- KLEIN, J. and WIDDECKE, H., "Alkilation of phenols with gaseous olefins", *Chem. Eng. Tech.* 54 (6) pg 595-596 (1982).
- KNEZ, Z.; LIETGEB, M.; ZAVRSNIK, D. and LAVRIE, B., "Synthesis of Oleic acid esters with immobilized Lipase", *Fat Sci. Technol.* 92 (4) pg 169-172 (1990).
- KOBAYASHI, J., KATO, I., OHMIYA, K. and SHIMIZU, S., "Application of immobilized alkaline protease to cheese-making". *Agric. Biol. Chem.* 44 pg 413-415 (1980).
- KOSUGI, Y.; IGUSA, H. and TOMIZUKA, N., "Glyceride production from hihg free fatty acid rice bran oil using immobilez lipase", *Yukagaku* 36 pg 769-775 (1987).
- KOSUGI, Y.; SUZUKI, H. and KAMIBAYASHI, A., "Immobiliztion of lipases", *Jpn. Kok. Tok. Koh. Pat.* 79:76,892 (1979).
- KUBIE, W.L., "Cold forming lubricants", *U.S. Pat.* 2 921:874, 19 Jan. (1960).
- KWON, R.A.; KIM, K.H. and RHEE, J.S., "Hydrolysis of triglycerides in two-phase systems using immobilized lipase". *Kor. J. Appl. Microb. Bioeng.* 15 pg 122-128 (1987).
- LANGRAND, G., TRIANTAPHYLIDES, C. and BARATTI, J., "Lipase catalized formation of flavour esters", *Biotech. Lett.*, 10 (8) pg 549-554 (1988).
- LAVAYRE, J. and BARATTI, J., "Preparation and properties of immobilized lipases", *Biotechnol. Bioeng.* 24 pg 1007-1012 (1982).

LANZANI, A., BONDIOLI, P., GILA, L. and FEDELI, E., "Esterificazione degli acidi grassi. Metilazione, etilazione e isopropilazione di acidi grassi liberi in miscela", *Riv. Sost. Gras.*, 63 pg 19-24 (1986).

LAZAR, G. A.; WEISS, s. and SCHIMD, R. D., "Proceedings of the world conference emerging technology, fats and oils industry". Ed. A. R. Baldwin, 365-370, American Oil Chemists' Society. Champaign, I. L. (1986).

LENAR, Ch., "Composition of fatty structures in marine oils" *Rev. Franc. Corps. Gras.*, 25 pg 303-307 (1978).

LIE, E. and MOLIN, G., "Hydrolysis and esterification with immobilized lipase on hydrophobic and hydrophilic zeolites", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 50 pg 549-553 (1991).

LIEBERMAN, R.B. and OLLIS, D.F., "Compositions to enhance tall oil soap preparation". *Biotechnol. Bioeng.* 17 pg 1401-1407 (1975).

LINFIELD, W.M., BARAUSKAS, R.A., SIVIERI, L., SEROTA, S. and STEVENSON, R.W., "Enzymatic fat hidrolysis and synthesis", *JA OCS*, 61 (2) pg 191-195 (1984).

LITCHFIELD, D. "Analysis of Triglycerides". Ed. Academic Press. New York (1972).

LOPES, T.I. and MALACATA, F.X., "Optimal deign of a series of CSTR's for biochemical reactions in the presence of enzyme deactivation", *J. Chem. Eng. Jpn.*, 26 (1) pg 94-98 (1993).

MACRAE, A. R., "Tailored triacylglycerols and esters", *Biochem. Soc. Trans.* (6) pg 421-428 (1989).

MACRAE, A. R., "Lipase catalyzed interesterification of oils and fats", *JA OCS* 60 (12) pg 291-295 (1983).

MACRAE, A. R., "Biocatalysts in Organic Synthesis" Ed. J. Tramper, H.C. Van der Plaas and P. Linko. Ed. Elsevier. pg 195-205. Amsterdam (1985).

MAG, T.K., "How processing has improved oil quality", *INFORM*, 5 (8) pg 926-929 (1994).

MAGDASSI, S. and SHANI, A., "Surface activity of quaternary ammonium salts derived from jojoba oil", *JA OCS*, 67 (9) pg 605-606 (1990).

- MALACATA, F.X., HILL, C.G. and AMUNDSON, C.H., "Hydrolysis of butteroil by immobilized lipase using a hollow-fiber reactor: Part II. Uniresponse kinetic studies", *Biotech. Bioeng.*, 38 pg 853-868 (1991).
- MALACATA, F.X., HILL, C.G. and AMUNDSON, C.H. Actas of IFT Annual Meeting, Anaheim CA (1990).
- MALACATA, F.X., REYES, H.R., GARCIA, H.S., HILL, C.G. and AMUNDSON, C.H., "Immobilized lipase reactions for modification of fats and oils. A review", *JA OCS*, 67 (12) pg 890-910 (1990).
- MALINS, D. and VARANASI, U.S., "Unusual wax esters from the mandibular canal of the porpoise (*Tursiops gilli*)". *Prog. Chem. Fats other Lipids*, (10) pg 337-346 (1970).
- MANGRANE, D. "Progresos en la Química de los Aceites, Grasas y Derivados Industriales". Ed. Espasa-Calpe. Madrid (1944).
- MASAYUKI, T. "Test Results on Safety on Jojoba Oil to be User for Cosmetics". Proceedings of second International Conference on Jojoba Oil and their Uses. Ensenada. Méjico (1976).
- MASAYUKI, T. and TAKESHI, K., "Creams substitutes compositions". *Cosmet. and Toil.* 95 pg 39-46 (1980).
- MARCH, J. "Advanced Organic Chemistry: Reactions Mechanism and Structure". 3th Ed. John Willey and sons. New York (1985).
- MARLOT, C.; LANDGRAND, g. TRIANTAPHYLIDES, C. and BARATTI, J., "Ester synthesis in solvents catalyzed by lipases immobilized on hydrophobic supports", *Biotechnol. Lett.*, 7 pg 647-652 (1985).
- McCRACKEN, D. J. and DICKSON, P. F., "Reaction kinetics of cyclohexanol-acetic acid esterification", *Ind. Eng. Chem. Proc. Res. Dev.* 6 286-290 (1967).
- MELIUS, P. and WANG, B.C., "On the use of enzymes in advanced fatty acid hydrolysis methods". *Adv. Exp. Med. Biol.*, 42 pg 339-345 (1974).
- MERGELL, A., "IASC president urges freer trade, food aid", *INFORM*, 5 (11) pg 1281-1287 (1994).

- MESSING, R. A., "Immobilized enzymes for industrial reactors", Ed. Academic Press. New York (1975).
- MIELKE, T., "Oil usage forecast to rise 47% in 20 years", *INFORM*, 5 (6) pg 715-717 (1994).
- MIELKE, T., "Emerging markets poised for rebound", *INFORM*, 5 (8) pg 872-884 (1994).
- MILLER, C.; AUSTIN, H.; POSORSKE, L. and GONZALEZ, J., "Characteristics of an immobilized Lipase for the commercial synthesis of esters", *JA OCS*, 65 (6) pg 927-931 (1988).
- MILLS, R.H., "Association of polyhydroxy compounds with cations in solution". *Chem. Ind.*, pg 2144-2149 (1962).
- MIROV, N.T., "Composition of gum turpentine dimers", *Econ. Bot.*, 6 pg 41-46 (1952).
- MIWA, T.K., "Jjoba oil wax esters and derived fatty acids and alcohols. Gas chromatographic analysis", *JA OCS*, 48 (2) pg 259-264 (1971).
- MOJOVIC, L.; SILER-MARINKOVIC, S.; KUKIC, G. and VUNJAK-NOVAKOVIC, G., "Rhizopus arrhizus lipase-catalyzed interesterification of the midfraction of palm oil to a cocoa butter equivalent fat", *Enz. Microb. Technol.*, 15 (5) pg 438-443 (1993).
- MORI, M.; IWAKARI, Y.; OZAWA, A. and SHIBATA, S., "Technical uses of marine oils". *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 30 pg 161-165 (1964).
- NAVROCIK, J., NOREK, J. and NOVROCIKONA, M., "Esterification of phthalic anhydride by primary alcohols in the presence of titanium dioxide" *Chemic. Prum.*, 35 (1) pg 31-33 (1985).
- NEKLYUDOV A.D., SHVEDOV, B.D. and TSIBANOV, V.V., "Properties of an immobilized lipase preparation from *Rhizopus oryzae*" *Prikl. Biokh. Microbiol.* 17 pg 510-515 (1981).
- NEVENZEL, J.C., "Wax esters in marine copepods", *Lipids*, 5 pg 308-314 (1970).
- OGISO, T.; SUGIURA, N. and KATO, Y., "Enzymes. Bite sensitive lipase. Action pattern and mechanism of lipolysis by *Mucor* lipase", *Chem. Pharm. Bull.* 20 pg 2542-2547 (1972).
- Oil Soap*, 19 pg 140-148 (1942).
- OFIC'94, "Palm oil in spotlight at Kuala Lumpur conference", *INFORM*, 5 (11) pg 1212-1223 (1994).

- OKUMURA, S., IWAI, M. and TSUJISAKA, Y., "Synthesis of various kinds of esters by four microbial lipases", *Biochim. Biophys. Acta*, 575 pg 156-165 (1979).
- OMAR, I.C., SAEKI, H., NISHIO, N. and NAGAI, S., "Hydrolysis of Triglycerides by immobilized thermostable lipase from *Humicola lanuginosa*", *Agric. Biol. Chem.*, 52 pg 99-115 (1988).
- PAISLEY, D.M., "Polymerization reactions of the acrylate and methacrylate esters of oils from *Simmondsia chinensis* seed oil. Polymerization reactions of organophosphorous compounds", *Diss. Abstr.*, 21 pg 3635-36 (1961).
- PATTERSON J.D.E., BLAIN, J.A., SHAW, C.E.L., TODD, R. and BELL, G., "Synthesis of glycerides and esters by fungal cell-bound enzymes in continuous reactor systems", *Biotechnol. Lett.* 1 pg 211-216 (1979).
- PATTON, J.S. and ANDERSSON, L., "Immobilized pancreatic lipase and colipase for purification studies", *FEBS Lett.*, 86 pg 179-184 (1978).
- PECNIK, S. and KNEZ, Z., "Enzymatic fatty ester synthesis", *JA OCS*, 69 (3) pg 261-265 (1992).
- POSORSKE, L. H., "Industrial-scale application of enzymes to the fats and oil industry", *JA OCS* 61 (11) pg 38-42 (1984).
- POSORSKE, L. H., LEFEBVRE, G.K., MILLER, C.A. HANSEN, T.T. and GLENVIG, B.L., "Process considerations of continuous reactors for modification with immobilized lipase", *JA OCS* 65 pg 922-927 (1988).
- PRABHUDE-SAI, A. V. and VISWANATHAN, C. V., "Preparation and purification of wax esters a different approach", *Chem. Phys. Lipids*, 22, pg 71-75 (1978).
- PRICHARD, L., "Whats ahead for fats and oils", *Org. Syn. Coll.*, 3 pg 452-456 (1955).
- PRONK, W., KERKHOF, P.J., VAN HELDEN, C. and VAN'T RIET, K., "The hydrolysis of triglycerides by immobilized lipase in a micropore membrane reactor", *Biotechnol. Bioeng.*, 32 pg 512-516 (1988).
- PRYDE, E.H. "Fatty Acids". Ed. American Oil Chemists' Society. U.S.A. (1979).

- RAKHIMOV, M.M.; DZHANBAEVA, N.R. and BEREZIN, I.V.**, "Role of hydrophobic interactions in the manifestation of catalytic activity of lipolytic enzymes", *Dokl. Biochem.* 229 pg 389-393 (1977).
- RATKEVICH, J.; MASHKIN, S.S. and ROMANKOV, R.K.**, "Study of the use of zinc oxide in the esterification stage during the preparation of a cold resistant oksoplast plasticizer", *Neft. Neftek.* 7 pg 34-38 (1978).
- RATTRAY, J.B.M.**, "Biotechnology and the fats and oil industry. An overview", *JA OCS*, 61 (11) pg 1701-1712 (1984).
- ROY, S.S. and BHATTACHARYYA, D.K.**, "Distinction between enzymically and chemically catalyzed interesterification", *JA OCS*, 70 (12) pg 1293-1294 (1993).
- SANCHEZ, N., MARTINEZ, M., CORMA, A. and ARACIL, J.**, "Synthesis of Oleyl Oleate as a jojoba oil analog", *JA OCS*, 69 pg 1150-1154 (1992).
- SANCHEZ, N.**, "Diseño de sistemas zeolíticos como catalizadores de síntesis de productos de química fina", Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid. (1994).
- SANTANIELLO, E., FERRABOSCHI, P. and GRISENTI, P.**, "Lipase-catalyzed transesterification in organic solvents: Applications to the preparation of enantiomerically pure compounds", *Enzy. Microb. Technol.*, 15 pg 367-382 (1993).
- SAROJA, M. and KAIMAL, T.N.B.**, "A convenient method of esterification of fatty acids. Preparation of alkyl esters, sterol esters, wax esters and triacylglycerols", *Shynt. Comm.*, 16 pg 1423-1430 (1986).
- SENIO, H.**, "Enzymatic Synthesis of Carbohidrole esters of Fatty Acid (1) Esterificación of sucrose, glucose, fructose and sorbitol", *JA OCS* 61 (11) pg 832-836 (1984).
- SCHUCH, R. and MUKHERJEE, K. D.**, "Lipase catalyzed reactions of fatty acids with glycerol and acyl glycerol", *Appl. Microb. Biotechnol.* 30 pg 332-337 (1989).
- SHARMA, O.N., NAGESHWAR, G.D. and MENE, P.S.**, "Lipase-catalyzed reactions of fatty acids with long chain alcohols". *Indian J. Tech.*, 10 pg 221-226 (1972).
- SHANI, A.**, "Functionalization at the double bound region of jojoba oil. Part 5", *JA OCS*, 63 (8) pg 812-816 (1988).

- SPENER, F., "Preparation of common and unusual waxes", *Chem. Phys. Lip.*, 24 pg 431-448 (1979).
- STAMATIS, H., XENAKIS, A., PROVELEGION, M. and KOLISIS, F.N., "Esterificacion reactions catalyzed by lipases in microemulsions: The role of enzyme localization in relation to its selectivity", *Biotech. Bioeng.*, 42 pg 103-110 (1993).
- STANSBY, M.E., "Fatty acid patterns in marine, freshwater and anacromus fish", *AVI Westport*, (1967).
- STANSBY, M.E., "Reliability of fatty acid values purposing for representation conditions of oil fish from different sources of fish", *JA OCS*, 58 (1) pg 13-17 (1981).
- SUZUKI, S. and KARUBE, I., "New industrial uses of enzymes. Controlling the activity of immobilized enzymes", *Jpn. Kokai Pat.*, 77:156,990 (1977).
- SWERN, D. "Bailey's Industrial Oil and Fat Products". 1-3 4th Edition. Ed. John Wiley & Sons. New York (1979).
- TAKAHASHI, K., TAMAURA, Y., KODERA, Y., MIHAMA, T. SAITO, Y. and INADA, Y., "Magnetic lipase actives in organic solvents", *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 142 pg 291-296 (1987).
- TAYLOR, F., PANZER C.C., CRAIG, J.C. and O'BRIEN D.J., "Continuous hydrolysis of tallow oil with immobilized lipase in macroporous membrane reactor", *Ibid*, 28:1318 (1986).
- TOHOUN, M.K., "Use of natural oils with low caloric properties". *Food Chem.*, 22 pg 297-303 (1986).
- URTEAGA, L. "Análisis Cinético de la Reacción de Esterificación empleando Alcohol y Acido de Alto Peso molecular", Tesis de Licenciatura, U. C. M., Fac. cc. Químicas (1985).
- VALIVETY, R.H.; JOHNSTON, G.A.; SUCKLING, C.J. and HALLING, P.J., "Solvent effects on biocatalysis in organic systems: Equilibrium position and rates of lipase catalyzed esterification", *Biotechnol. Bioeng.*, 38 pg 1137-1143 (1991).
- VAN DER PADT, A.; KEURENTJES, J.T.F.; SEWALT, J.J.W.; VAN DAM, E.M.; VAN DORP, J.L. and VANT RIET, K., "Enzymatic synthesis of monoglycerides in a membrane bioreactor with an in-line adsorption column", *JA OCS*, 69 (8) pg 748-754 (1992).
- VAN DER PADT, A.; EDEMA, M.J.; SEWALT, J.J.W. and VANT RIET, K., "Enzymatic acylglycerol synthesis in a menbrane bioreactor", *JA OCS*, 67 pg 347-751 (1990).

WISDOM, R.A., DUNNILL, P. and LILLY, M.D., "Effect of carboxylate group modification on enzymic and cardiotoxic of phospholipases". *Enz. Microb. Technol.*, 7 pg 567-572 (1985).

WISDOM, R.A., DUNNILL, P. and LILLY, M.D., "Enzymic interesterification of fats. Lab and pilot-scale studies with immobilized lipase from *Rhizopus arrhizus*", *Biotechnol. Bioeng.*, 29 pg 1081-1087 (1987).

WISNIAK, J. and STEIN, S., "Hydrogen solubility in aqueous solutions of sugars and sugar alcohols", *JA OCS*, 51 (4) pg 482-488 (1974).

WISNIAK, J. and LIBERMAN, D., "Physical properties of simmondsin oil" *JA OCS*, 52 (2) pg 259-264 (1975).

WISNIAK, J. and ALFANDARY, P., "Geometrical isomerization of jojoba oil", *Ind. Eng. Chem. Proc. Res. Dev.*, 14 (3) pg 177-185 (1975).

WISNIAK, J. and BENAJAHU, H., "Sulphurization of jojoba oil", *Ind. Eng. Chem. Proc. Res. Dev.*, 14 (4) pg 247-251 (1975).

WISNIAK, J., "Jojoba oil and derivates", *Prog. Chem. Fats other Lipids*, 5 (5) pg 167-175 (1977).

WISNIAK, J. 7th International Conference on Jojoba and its uses. Phoenix. January (1988).

WOOD, J. M. "Biochemical and Biophysical perspectives in Marine Biology". Ed. Malins. Academic Press. 3 London. (1976).

YAMANE, T., HOQ, M.M. and SHIMIZU, S., "Continuous synthesis of glycerides by lipase by a macroporous membrane bioreactor", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, pg 558-568 (1985).

YOKOZEKI, K., YAMANAKA, S. and KUKUI, S., "Application of immobilized lipase to regiospecific interesterification of triglycerides in organic solvents", *Ibid*, 14 pg 1-8 (1982).

ZAKS, A. and KLIBANOV, A. M., "Enzyme-catalyzed processes in organic solvents", *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88 pg 3192-397 (1985).

ZHOU, M., GILOT, B. and DOMENECH, S., "Modelisation d'un reacteur d'esterification. Esterification de l'acide oleique par le methanol. Determination des donnees thermodynamiques et cinetiques", *Entropie*, 120 pg 3-27 (1984).

2. CINETICA ENZIMATICA

El empleo adecuado de algunos catalizadores como los sistemas enzimáticos, dentro ciertos campos de aplicación técnica inmediata, como lo son en el desarrollo de la síntesis de algunos metabolitos específicos, en el diagnóstico clínico o en el análisis de alimentos, requiere el conocimiento exhaustivo de la cinética involucrada en dichos procesos. Cuando estos sistemas enzimáticos se purifican, encuentran muchas aplicaciones directas dentro del campo de la ingeniería química. Los denominados reactores enzimáticos emplean como catalizador enzimas inmovilizadas, en algún soporte sólido que aumenta sus propiedades mecánicas y térmicas. Su empleo es fundamentalmente en la síntesis de productos de química fina, en donde se requiere que no tengan lugar reacciones colaterales, o que sean despreciables frente a la reacción principal. El diseño de dichos reactores es evidentemente un problema cinético, de ahí la importancia de conocer los parámetros cinéticos que intervienen en el proceso.

En algunos casos, debido a determinadas especificaciones, interesa que la actividad enzimática cese. Este caso se da principalmente, en acciones terapéuticas de interés farmacológico. Para conseguir este cese de actividad, se emplean sustancias inhibitoras de dichas enzimas. Los inhibidores actúan reconociendo el centro activo de la estructura proteica que constituye la enzima, y se fijan en él,

impidiendo que tengan lugar otro tipo de reacciones, indeseables en este caso. El caso extremadamente opuesto sería el papel que desempeñan las coenzimas, cuya misión es fijarse en un centro activo específico, con el fin de que el centro activo en el que se va a dar la reacción que nos interesa, adquiera una configuración tal que pueda ser reconocido el sustrato, se fije en dicho centro y tenga lugar la reacción. En el campo de la ingeniería química, generalmente lo que sucede es lo contrario. Es decir ciertas sustancias son capaces de inhibir la acción del catalizador, de modo que es necesario conocer las condiciones más adecuadas para que este fenómeno no tenga lugar. En cualquier caso, es totalmente necesario el conocimiento de los factores cinéticos que constituyen dichos procesos, con el fin de maximizarlos o minimizarlos, según convenga [ENGEL, 1981]. En cualquier caso, a la hora de preparar un sistema catalítico de estas características, uno de los factores fundamentales es la medida de la actividad de dicho sistema. Dicha actividad va a estar sujeta a un pequeño intervalo impuesto por las variables de operación. En general cuando se habla de la actividad catalítica de una enzima, dicha actividad se refiere a unas condiciones de operación muy concretas, ya que una pequeña variación de estas condiciones da lugar a una caída drástica de dicha actividad.

Por regla general, para medir dicha actividad se emplea un medio en el cual las condiciones de operación son las más adecuadas y, por tanto, la enzima sea lo más estable posible y no exista peligro de desnaturalización o desactivación. Una vez conseguido esto, la actividad se mide empleando para ello una reacción prueba, en la cual se lleva a cabo un seguimiento de la velocidad con la que tiene lugar dicha reacción. Las unidades correspondientes a dicha actividad van a venir dadas por *la cantidad de enzima que es capaz de convertir un μmol de sustrato por minuto* bajo las condiciones en que se lleva a cabo la reacción que se tomarán como *condiciones standard*.

Desde el punto de vista de la ingeniería química, las enzimas inmovilizadas en soportes sólidos presentan una serie de ventajas evidentes respecto a las enzimas solubles cuando se aplican en procesos de interés industrial. Sin embargo, a pesar de que se ha diversificado el empleo de los más variados

sistemas de contacto enzima inmovilizada-sustrato, fundamentalmente a escala de laboratorio, son muy escasos los modelos matemáticos generalizados que aparecen en la literatura representando la descripción de tales sistemas [CHARTON & MACRAE, 1993].

Los parámetros tomados como básicos para introducirse dentro del estudio, más complejo, de la cinética de este tipo de sistemas, corresponden a hipótesis que tienen en cuenta reacciones con un sólo sustrato para dar un producto determinado, suponiendo para ello una cinética de primer orden [TAYYAB, 1992].

Lógicamente, son estos los modelos más desarrollados por ser los más simples, independientemente de que haya más de uno. Estos modelos coinciden en que el tratamiento más adecuado para explicar el comportamiento de la cinética enzimática, consiste en proponer como modelo básico la denominada ecuación de Michaelis-Menten. Dicho análisis cinético permite obtener una serie de parámetros fijando las condiciones de operación (presión, temperatura, concentraciones iniciales, empleo de disolventes, etc.). Los parámetros que se obtienen son la velocidad máxima de reacción, constituida por el producto de la concentración total de catalizador y la constante cinética de la reacción de formación de producto, y la constante de Michaelis-Menten con respecto al sustrato interviene en la formación de un complejo con la enzima, a partir del cual transcurre la reacción principal del proceso. Combinando esta reacción con la posible aparición de complejos indeseables, producidos por el enlace entre la enzima libre y supuestos inhibidores de la misma, pueden obtenerse otros parámetros denominados constantes de inhibición [ZAKS, 1985; MALACATA, 1992].

Debido a que los estudios cinéticos que involucran sistemas enzimáticos como catalizadores, están basados en los modelos matemáticos para las reacciones simples de un solo sustrato, a continuación se comentarán someramente dichos modelos matemáticos.

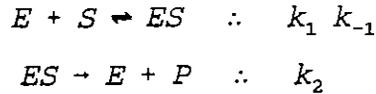
2.1 MODELOS PARA UN SOLO SUSTRATO

Desde principios de siglo, la mayoría de los autores que han estudiado el comportamiento cinético de este tipo de sistemas, lo han hecho, casi exclusivamente, basándose en los datos de equilibrio de dichas reacciones. La primera ecuación general aparece con unos estudios realizados por Henri en 1903. El modelo matemático en el que concluyen dichos estudios está constituido por un sistema de primer orden de reacción con respecto al sustrato. La velocidad de reacción que se describe no aumenta linealmente con la concentración de sustrato, sino que el valor de la velocidad de reacción tiende a un valor máximo. Las hipótesis en las que se basa dicho estudio son las siguientes:

- El sistema enzimático se comporta exclusivamente como un catalizador.
- La enzima y el sustrato reaccionan a elevada velocidad para dar lugar a la formación de un complejo enzima-sustrato.
- Sólo están involucrados en el mecanismo de reacción un único sustrato y un único complejo enzima-sustrato, el cual se transforma dando lugar a la liberación de un producto y de la enzima libre.
- La enzima, el sustrato y el complejo enzima-sustrato están en equilibrio, de manera que la velocidad de disociación del complejo enzima-sustrato en sustrato y enzima libre es muy superior a la de formación producto y liberación de la enzima.
- La concentración de sustrato es mucho mayor que la concentración de enzima, por lo que la formación del complejo enzima-sustrato no produce alteraciones en la concentración de sustrato.
- La velocidad global del proceso está controlada por la velocidad de liberación de la enzima libre y el producto final de reacción.
- Cuando la velocidad del proceso se mide a tiempos cortos de reacción, la velocidad de la reacción inversa es insignificante.

Diez años más tarde, Michaelis y Menten confirmaron la investigación experimental de Henri y presentaron una versión modificada de la expresión de velocidad de reacción inicialmente propuesta.

La expresión de la ecuación general presentada por Henri en un principio, y comprobada y contrastada posteriormente por Michaelis y Menten, es la que se muestra a continuación:



$$(-r_s) = \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_s + [S]} \quad [2.1]$$

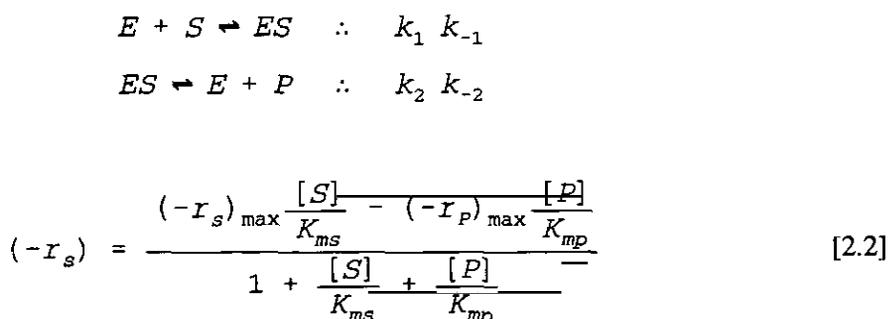
Partiendo de esta ecuación, pueden suponerse dos casos fundamentales: (a) que la velocidad con que se alcanza el equilibrio de formación del complejo enzima-sustrato es muy rápida, o (b) asumir la hipótesis del estado estacionario para dicho complejo. En el primer caso la concentración de dicho complejo puede ponerse en función de la concentración de enzima libre, de la concentración de sustrato libre y de la constante de Michaelis-Menten, empleando para ello las correspondientes ecuaciones cinéticas para cada uno de los pasos del supuesto esquema de reacción y la ecuación de conservación de materia para la concentración de enzima. La expresión final va a dar lugar a una ecuación que explica el sistema de equilibrio, y si se desea obtener la ecuación cinética es necesario introducir el término de concentración del complejo enzima-sustrato [SEGEL, 1993].

En el segundo caso propuesto, es decir cuando se tiene en cuenta la hipótesis del estado estacionario, se llega a la deducción de la expresión propuesta por Briggs-Haldane. En 1925, Briggs y Haldane propusieron que no era necesario que el complejo enzima-sustrato estuviesen en equilibrio con la concentración de enzima libre y de sustrato, sin embargo suponían que un segundo antes de que tuviese lugar la disociación del complejo en enzima libre y producto, la concentración de dicho complejo debía ser constante. Es decir que se supone que el sistema está en estado estacionario y por tanto la velocidad de formación del complejo es igual a la velocidad de desaparición del mismo y la variación de la concentración del complejo con respecto del tiempo vale cero.

En ambos casos, la forma de la ecuación obtenida es la misma (ecuación 2.1), la diferencia estriba en la naturaleza de la constante K_m . En el primer caso la constante obtenida, es una constante de equilibrio de formación del complejo enzima-sustrato, mientras que en el segundo caso, la constante es de pseudoequilibrio, ya que además tiene en cuenta la desaparición del complejo debido a su disociación para liberar el producto de reacción y la enzima libre. Por esta razón la aproximación del estado estacionario es más rigurosa y se emplea cuando los modelos son más complejos.

Por tanto los parámetros característicos del modelo van a venir dados por la velocidad máxima de reacción y la constante de Michaelis-Menten. La velocidad máxima sería la velocidad correspondiente a un tiempo cero y una concentración de sustrato igual a la inicial. La constante de Michaelis-Menten, por su parte, se define como la concentración del reactivo o producto al que esté referida, para la cual la velocidad de reacción toma un valor igual a la mitad del valor de la velocidad máxima de desaparición de sustrato o de formación de producto.

Por otra parte, cabe la posibilidad de considerar la reacción como un sistema reversible, en el cual se produce un equilibrio impuesto por la propia reacción que puede desplazarse añadiendo reactivos o eliminando productos. En cualquier caso, tendremos que tener en cuenta una velocidad de desaparición de reactivos y una velocidad de desaparición de productos, por lo que aparecerán dos nuevos términos en la ecuación de velocidad, quedando esta de la siguiente manera:



En cuanto al orden de una reacción catalizada por un sistema enzimático, puede decirse que cuando se examina una curva típica de velocidad frente a concentración de sustrato, ver figura 2.1, pueden observarse tres zonas claramente diferenciadas:

- Cuando la concentración de sustrato es mucho menor que el valor de la constante de Michaelis-Menten, la reacción se comporta como si fuese de primer orden.
- Cuando la concentración de sustrato es mucho mayor que el valor de la constante de Michaelis-Menten, la reacción se comporta como si fuese de orden cero.
- En los casos intermedios, el orden de reacción es variable, y va tomando valores entre uno y cero, a medida que va aumentando la concentración de sustrato.

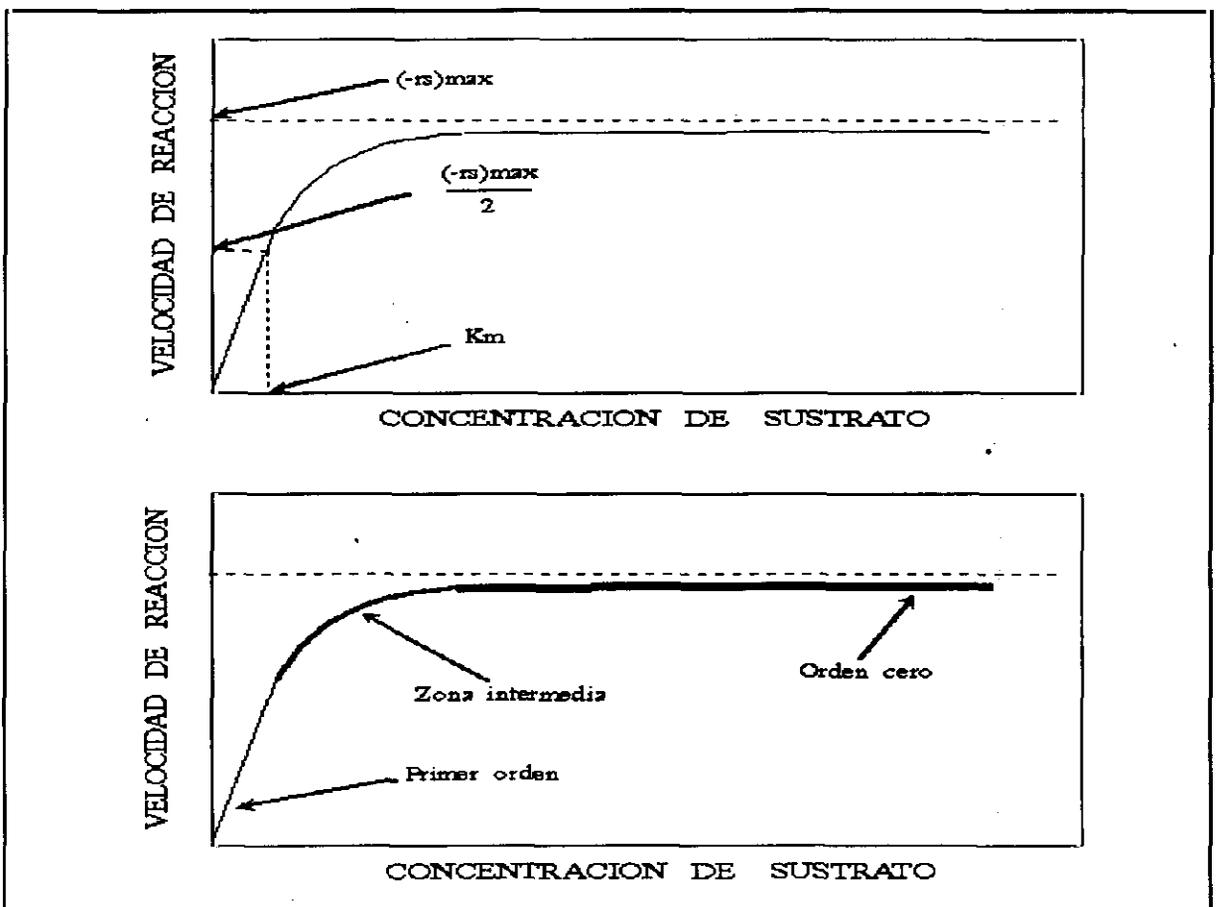


Figura 2.1. Curva típica correspondiente a una cinética enzimática.

La resolución de estos modelos puede llevarse a cabo empleando métodos numéricos o linealizando las ecuaciones y resolviéndolas por regresión lineal a partir de los datos experimentales. Los primeros autores que resolvieron estos modelos matemáticos, linealizando la ecuación y representándola gráficamente, sistematizaron sus gráficos, de forma que el método de solución lleva su propio nombre [SEGEL,1993].

Así en 1934, se propuso el método gráfico de **Lineweaver-Burk**, sugerido inicialmente por Haldane y Stern en 1932. Este método está basado en la transformación a un modelo lineal de la ecuación de **Henri-Michaelis-Menten**, es el método más popular y consiste en representar el valor inverso de la velocidad de reacción frente al valor de la inversa de la concentración de sustrato. La solución gráfica de esta ecuación lineal, nos va a dar una ordenada en el origen y una pendiente a partir de las cuales se obtienen directamente la velocidad máxima de reacción y la constante de Michaelis-Menten.

Si se representan los valores experimentales de velocidad de reacción frente a la relación velocidad de reacción/concentración de sustrato, se obtiene el denominado gráfico de **Eadie-Hofstee**, cuya ordenada en el origen nos da el valor de la velocidad máxima y la pendiente el valor de la constante de Michaelis-Menten. Algunas variantes de este gráfico son las representaciones gráficas propuestas por **Woolf-Augustinsson-Hofstee** o **Eadie-Scatchard**, en cuyos modelos los grupos de variables a representar están reordenados de diferentes maneras, pero el tipo de representación final es muy similar. Este grupo de modelos está considerado como más inexacto que el primero, ya que en los casos extremos de concentración de sustrato, pueden existir dispersiones considerables.

En 1974, **Eisenthal y Cornish-Bowden** observaron que representando los valores experimentales de concentración de sustrato sobre un eje horizontal negativo frente a los valores de velocidad de reacción en el eje vertical; las líneas que unen cada pareja de valores se cortan en el mismo punto del

primer cuadrante, cuyo par ordenado está compuesto por los valores de velocidad máxima y constante de Michaelis-Menten. Otra variante de este método es el denominado gráfico de **Dixon**, que se basa en la determinación de la velocidad máxima empleando para ello datos experimentales de reacciones con exceso de sustrato, haciendo el cálculo de la constante de Michaelis-menten a partir del valor de la velocidad máxima.

Lógicamente, todos estos modelos encuentran solución numérica, empleando para ello algoritmos matemáticos capaces de resolver las ecuaciones cinéticas planteadas a partir del esquema de reacción que se haya supuesto [ROZZELL, 1992].

2.2 INHIBICION ENZIMATICA

La velocidad de una reacción catalizada por una enzima puede modificarse dependiendo de los posibles sustratos que se encuentran en el medio de reacción. En el caso de que dicha velocidad aumente, se dice que lo hace debido a un activador. En cambio, cuando la velocidad de reacción disminuye, puede deberse a dos causas, la primera viene dada por la desactivación de la propia enzima y la segunda puede ser debida a una sustancia presente en el medio que actúa como inhibidor. Este último caso es el que ahora nos ocupa, ya que el estudio de dichas sustancias encuentra aplicaciones prácticas directas. Así, en un principio, se descubrió que los inhibidores eran las sustancias responsables de que las enzimas presentasen o no actividad frente a determinados metabolitos y ejerciesen un control exhaustivo sobre la degradación de los mismos. Después, el estudio se orientó principalmente hacia la acción de determinadas sustancias tóxicas para el organismo, tales como drogas, pesticidas u otras. En la actualidad, el estudio se ha extendido a la acción cinética ejercida en los procesos catalíticos en general.

El estudio del fenómeno de la inhibición supone conseguir información sobre tres aspectos de la actividad enzimática. Por una parte puede obtenerse información sobre la selectividad de la propia enzima con respecto a los diferentes tipos de sustrato presentes en el medio. También puede proporcionar información sobre las características físicas y químicas de los centros activos en los que tiene lugar la reacción química. Y, por último, puede obtenerse información sobre el posible mecanismo de reacción que gobierna el proceso enzimático.

En el caso de las reacciones de esterificación e hidrólisis, es habitual el fenómeno de la inhibición de la lipasa que actúa como catalizador. Por lo general, el propio ácido u alcohol tiende a ser la sustancia inhibidora y, aunque el mecanismo exacto no está del todo claro todavía [MALACATA, 1992], se cree que las moléculas de ácido, alcohol y éster se acumulan en la interfase

acuosa/lipídica, bloqueando el acceso de uno de los reactivos o de los dos [PRAZERES, 1993]. Otros factores que favorecen la inhibición de las lipasas, vienen dados por la presencia de alcoholes de bajo peso molecular, cationes ligeros y pesados y algunos disolventes orgánicos.

Los iones calcio, generalmente, ejercen gran influencia tanto en las reacciones de hidrólisis como en las de esterificación, aumentando notablemente las velocidades de reacción. La presencia de iones sodio también producen un incremento de la actividad enzimática, pero producen una inhibición parcial de la misma. Los metales pesados, por su parte, inhiben el sistema enzimático en todos los casos, generalmente la inhibición es reversible cuando el tiempo de exposición es corto, pero para largos períodos de contacto la enzima se desactiva [MALACATA, 1992].

En cuanto a los disolventes orgánicos se refiere, puede decirse que los efectos ejercidos por los mismos son de una gran variedad. Pueden influir sobre la velocidad de reacción aumentándola o disminuyéndola, facilitar el equilibrio entre la conformación activa e inactiva de la lipasa, desnaturalizar el sistema enzimático, reaccionar con el mismo e, incluso, actuar como sustancia inhibidora compitiendo con el sustrato [JANSSEN, 1993]. Por regla general, la inhibición debida a la presencia de algunos disolventes en el medio de reacción se produce debido a que se impide la movilidad conformacional del sistema enzimático, ya que las pequeñas variaciones de la concentración de agua dan lugar a que la lipasa adquiera una conformación no deseable, con la consiguiente pérdida de actividad. Este fenómeno es también el primer paso que se da en la desactivación térmica, por lo que este hecho explica la inactividad de algunas lipasas que se emplean con disolventes polares o miscibles con el agua, ya que la enzima se deshidrata y se incumple el requisito fundamental de la existencia de pequeñas cantidades de agua en las inmediaciones de la enzima, que afectan directamente a los puentes salinos intramoleculares y a las interacciones hidrófobas del sistema catalítico. A continuación se comentarán brevemente los diferentes tipos de inhibición enzimática más frecuentes, ya que este fenómeno influye directamente sobre la cinética de reacción.

2.2.1 INHIBICION COMPETITIVA

Se considera que una sustancia actúa como agente de inhibición competitiva cuando se combina con la enzima libre existente en el medio, adelantándose o evitando la formación del complejo principal enzima-sustrato. El sustrato y el inhibidor compiten por los centros activos libres de la estructura enzimática y se excluyen mutuamente. Este tipo de inhibidores pueden ser sustancias no metabolizables análogas al sustrato principal, o un derivado del sustrato o una sustancia que lo acompañe o, incluso, el propio producto de reacción.

En la figura 2.2 se muestran posibles situaciones de exclusión entre el inhibidor y el sustrato que compiten por la formación de complejo con la enzima libre.

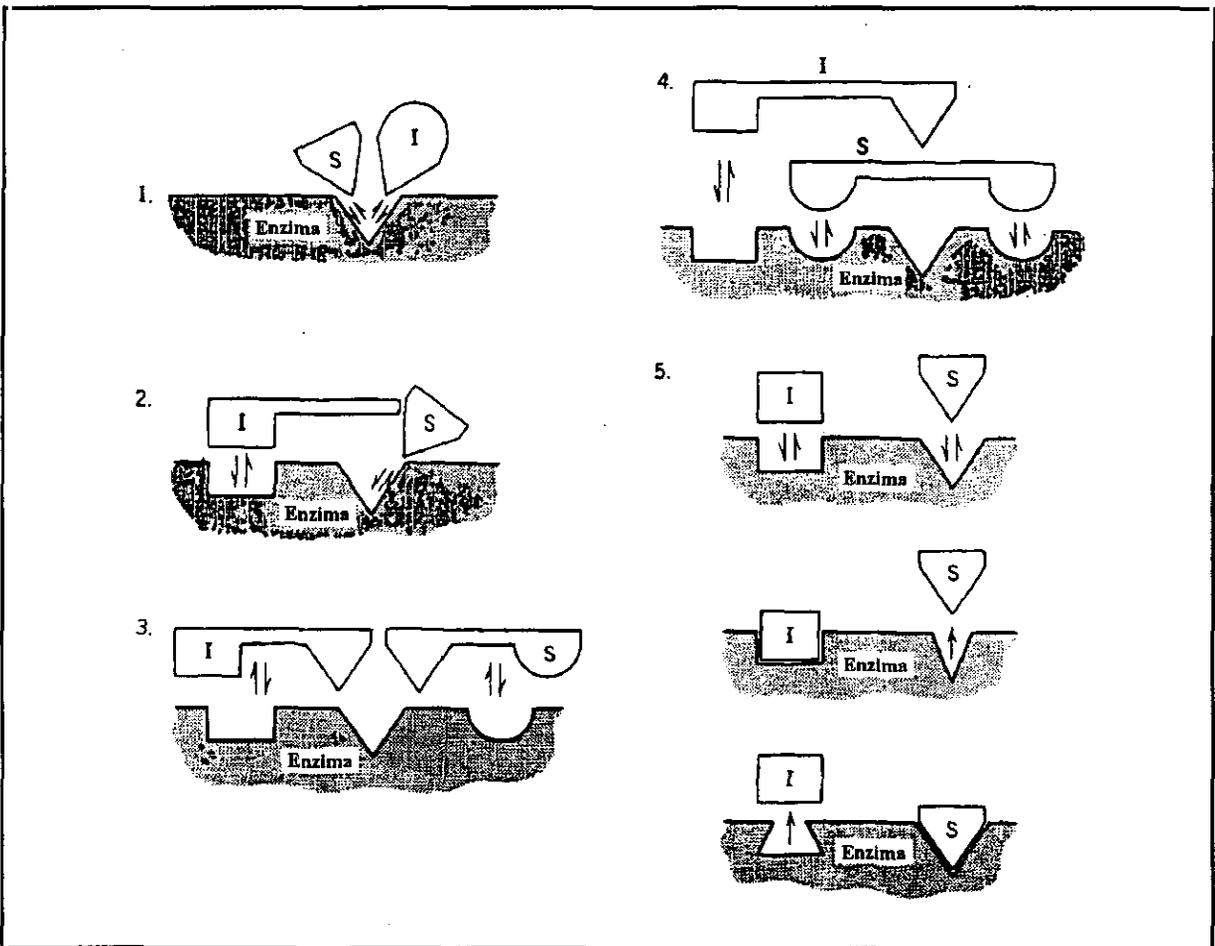
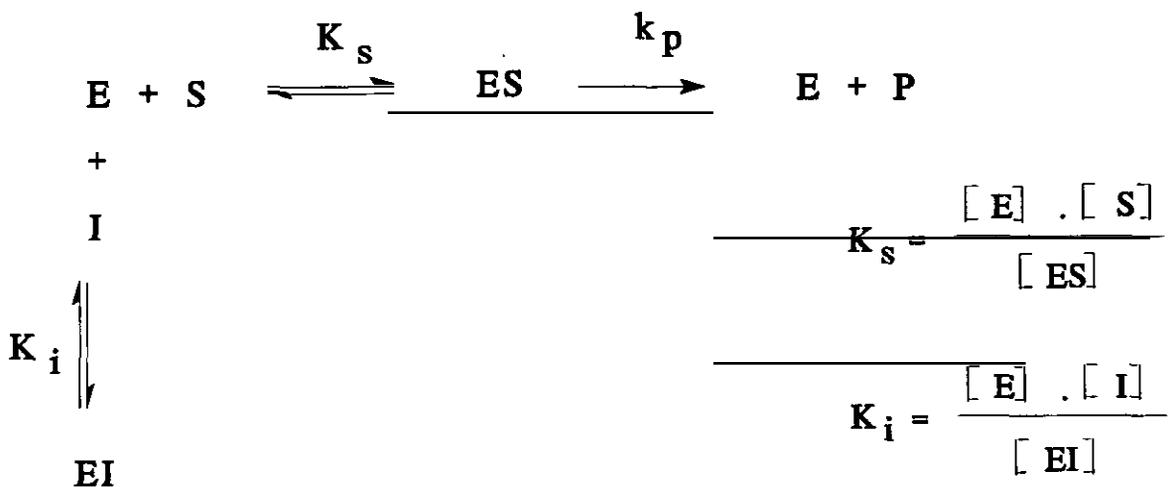


Figura 2.2. Modelos para inhibición competitiva (S: sustrato. I: inhibidor).

El modelo 1 representa el modelo clásico de inhibición competitiva. El sustrato y el inhibidor compiten por el mismo centro activo, ya que ambos son estructuralmente análogos. En el caso del modelo 2, el sustrato y el inhibidor se excluyen mutuamente debido únicamente a un efecto de impedimento estérico. En el modelo 3, como puede observarse, la exclusión de ambos va a venir dada por la presencia de un grupo enlazante común a ambos, sobre uno de los centros activos de la enzima. El modelo 4 representa un sistema en el cual los centros activos son distintos para sustrato e inhibidor, sin embargo dichos centros están solapados, por lo que uno de ellos queda excluido cuando se forma el complejo con el otro. En cuanto al modelo 5, la exclusión tiene lugar debido a que se produce un cambio conformacional en la estructura terciaria o cuaternaria de la enzima cuando uno de las dos sustancias competidoras es capaz de unirse a su centro activo.

En cualquier caso, sea cual sea el modelo al que se ajuste la inhibición, el esquema representativo de la inhibición competitiva es el que se muestra a continuación, el cual pone de manifiesto la exclusión existente entre la formación de uno u otro complejo.



La velocidad de reacción va a ser proporcional a la concentración del complejo enzima-sustrato ES, por lo tanto la velocidad de reacción en presencia de un inhibidor puede igualarse a la velocidad que existiría si el inhibidor no estuviese en el medio cuando la concentración de sustrato sea muy elevada, y por tanto la velocidad máxima de reacción no se ve afectada por la presencia de un inhibidor competitivo; hecho que ha sido comprobado experimentalmente [TSAI, 1991]. La expresión de velocidad de reacción quedará, por tanto, de la siguiente manera:

$$(-r_s) = \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_{ms} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad [2.3]$$

Por tanto, el grado de inhibición debida a un inhibidor competitivo depende de la concentración de sustrato de la concentración de la sustancia inhibidora, de la constante de Michaelis-Menten para el sustrato y de la constante de inhibición. Un aumento de la concentración de la sustancia inhibidora, para una concentración de sustrato constante da lugar a un aumento del grado de inhibición.

2.2.2 INHIBICION NO COMPETITIVA

La denominada clásicamente inhibición no competitiva, es aquella en la cual el inhibidor no afecta, en absoluto, a la formación del enlace entre el sustrato principal y la enzima libre. En este caso, tanto la sustancia inhibidora como el sustrato se fijan en diferentes centros activos de manera reversible e independiente. Es decir, que el inhibidor puede unirse bien a la enzima libre, bien al complejo enzima-sustrato, y el sustrato puede fijarse a la enzima libre o al complejo enzima-inhibidor, sin que el enlace de uno de los ligandos afecte a la constante de disociación del otro. No obstante, el complejo formado triple inhibidor-enzima-sustrato es totalmente inactivo. En la figura 2.3 se muestra un modelo clásico para un sistema enzimático, en el cual se da la inhibición no competitiva.

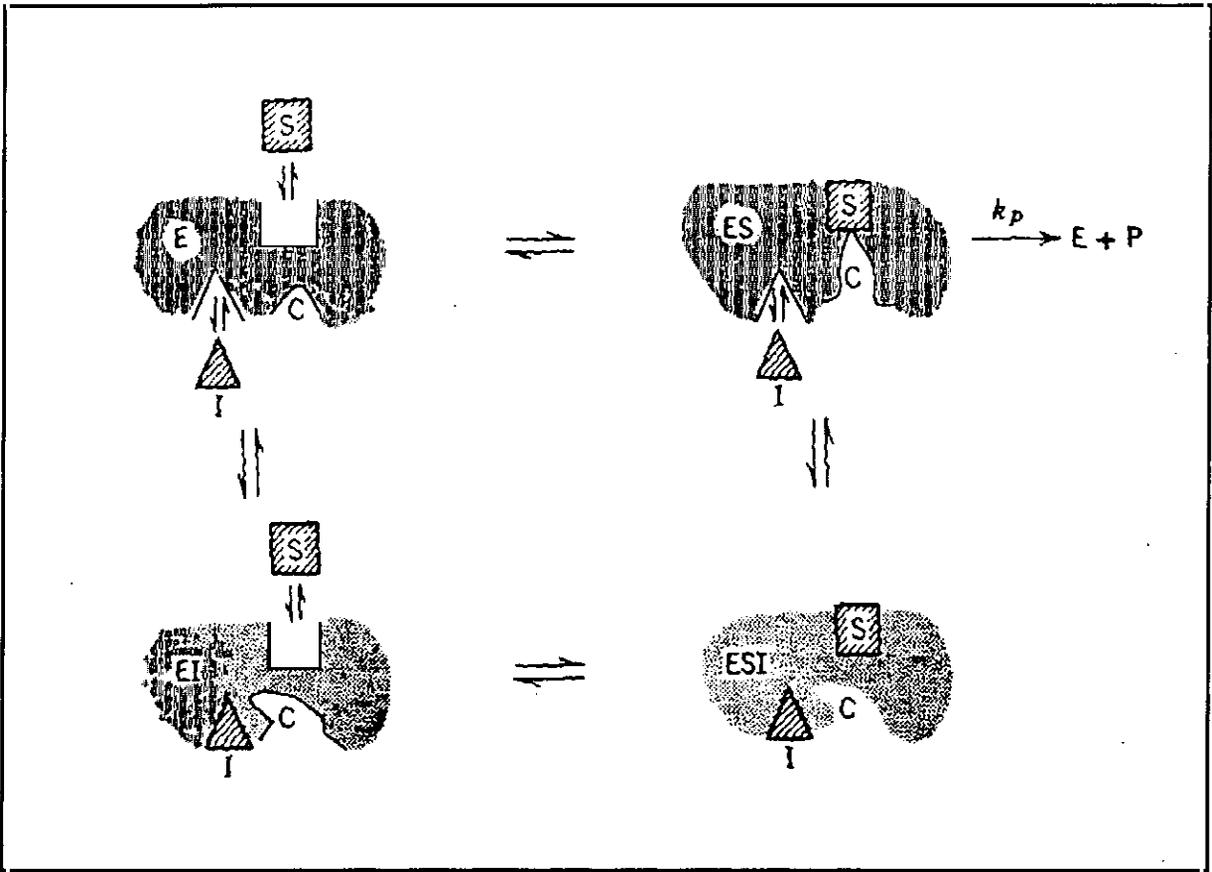


Figura 2.3. Modelo clásico para la inhibición no competitiva (S: sustrato, I: inhibidor).

En este caso el sustrato y la sustancia inhibidora, como puede observarse, no se excluyen, sino que pueden llegar a formar un complejo ternario que es catalíticamente inactivo. Cuando el sustrato se fija a la enzima, esta sufre un cambio conformacional dando lugar a que el complejo sea catalíticamente activo. Por el contrario, cuando se forma el enlace con la sustancia inhibidora, el complejo pasa a su forma no activa, independientemente de que el sustrato se encuentre formando complejo o no con la enzima; sin embargo el inhibidor no interviene en ningún momento en la formación del enlace con dicho sustrato.

Una situación similar se produce en el modelo de la figura 2.4. En este caso no tiene lugar el equilibrio entre los complejos enzima-sustrato y sustrato-enzima-inhibidor, pero de la misma manera, las cuatro especies están en equilibrio.

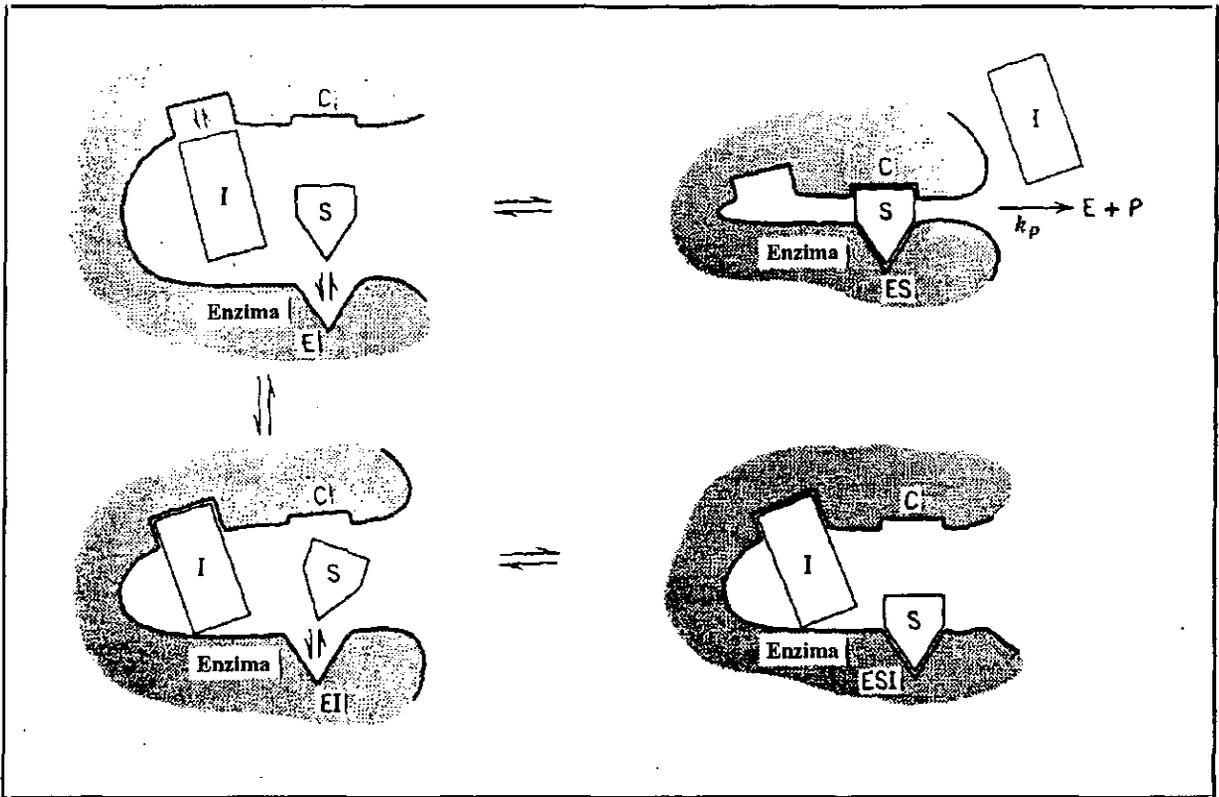
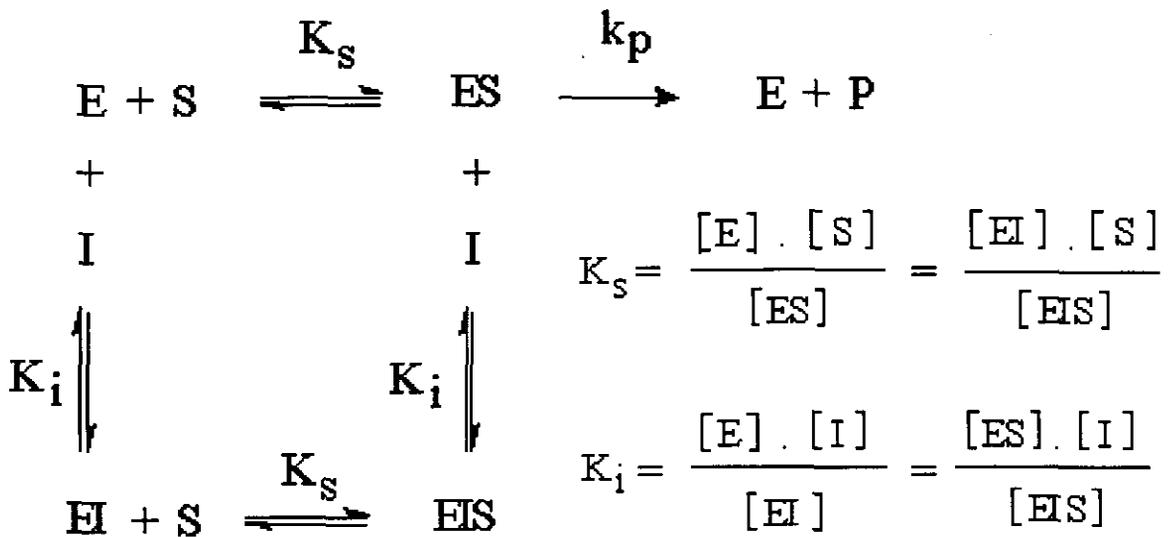


Figura 2.4. Posible mecanismo de inhibición no competitiva.

El equilibrio de inhibición no competitiva va a venir dado por el esquema de reacción que se muestra a continuación:



Como puede deducirse de dicho esquema, una concentración de sustrato lo suficientemente elevada no es capaz de conducir toda la enzima a la forma activa enzima-sustrato. Para cualquier concentración de la sustancia inhibidora está presente el complejo ternario inactivo y, por lo tanto, la velocidad de reacción siempre va a ser inferior a la velocidad máxima de reacción, independientemente de que la concentración de sustrato tienda a infinito. En cambio, la constante de Michaelis-Menten para el sustrato va a permanecer invariable.

La inhibición no competitiva puede ser reversible o irreversible, según sea la naturaleza de la enzima y del sustrato. Aunque generalmente sea reversible, puede diferenciarse la acción de cada una de las posibilidades. En el caso de que la inhibición sea irreversible, la velocidad máxima de reacción se hace nula cuando la concentración de enzima coincide con la concentración de enzima inhibida, mientras que en el caso de la inhibición no competitiva reversible, la velocidad máxima de reacción se hace nula cuando la concentración de enzima en el medio es nula. Cabe destacar que, en ocasiones, el fenómeno de desactivación de la enzima por acción de una sustancia indeseable en el medio se confunde con el fenómeno de inhibición no competitiva irreversible y se trata erróneamente como tal.

El modelo matemático sencillo que gobierna un proceso enzimático en el que se da el fenómeno de inhibición no competitiva, considerando un solo sustrato y un único inhibidor, puede obtenerse siguiendo el mismo razonamiento empleado en la obtención de los anteriores modelos, considerando un equilibrio rápido o la hipótesis del estado estacionario. En ambos casos la ecuación que se obtiene es la siguiente:

$$(-r_s) = \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_{ms} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad [2.4]$$

Los estudios realizados por Noble [NOBLE, 1990] corroboran este modelo, que se ha comprobado experimentalmente para la obtención de glucosa a partir de celobiosa, empleando para ello un sistema enzimático inmovilizado por encapsulación, constituido por la enzima β -D-glucoxidasa.

Otro modelo posible para explicar el fenómeno de inhibición no competitiva puede ser el que se muestra en la figura 2.5. En este caso, la inhibición viene dada por el impedimento estérico que ejerce la sustancia inhibidora al combinarse con la enzima libre o con el complejo enzima-sustrato. En cualquier caso, sigue cumpliéndose que los complejos en los que se ve involucrado el inhibidor son totalmente inactivos para dar lugar a la formación de producto, y que la sustancia inhibidora no influye sobre el enlace del sustrato con la enzima. Lógicamente, los modelos matemáticos que se obtienen siguiendo las aproximaciones del estado estacionario y del equilibrio rápido, son idénticos y coinciden con la ecuación [2.4].

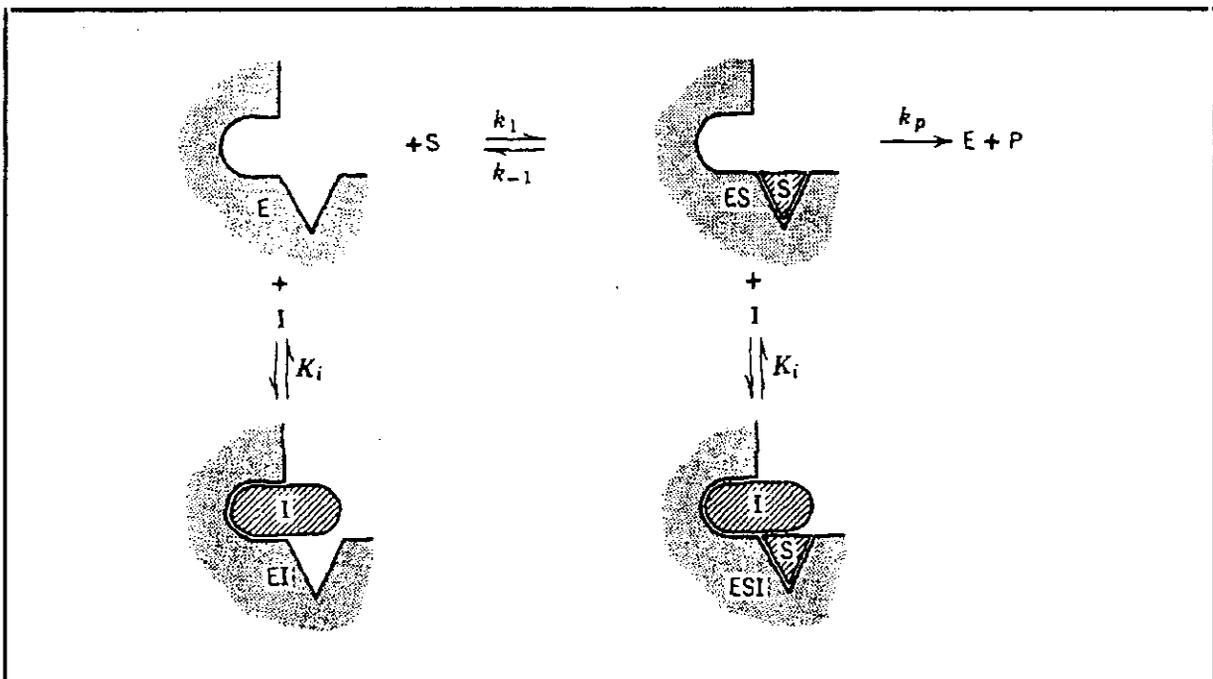


Figura 2.5. Tercer modelo para la inhibición no competitiva.

2.2.3 INHIBICION ACOMPETITIVA

Se dice que una sustancia da lugar a una inhibición acompetitiva cuando se combina de manera reversible únicamente con el complejo enzima-sustrato, dando lugar a un nuevo complejo sustrato-enzima-inhibidor catalíticamente inactivo. En la figura 2.6 se representa un modelo clásico que explica como tiene lugar este tipo de inhibición.

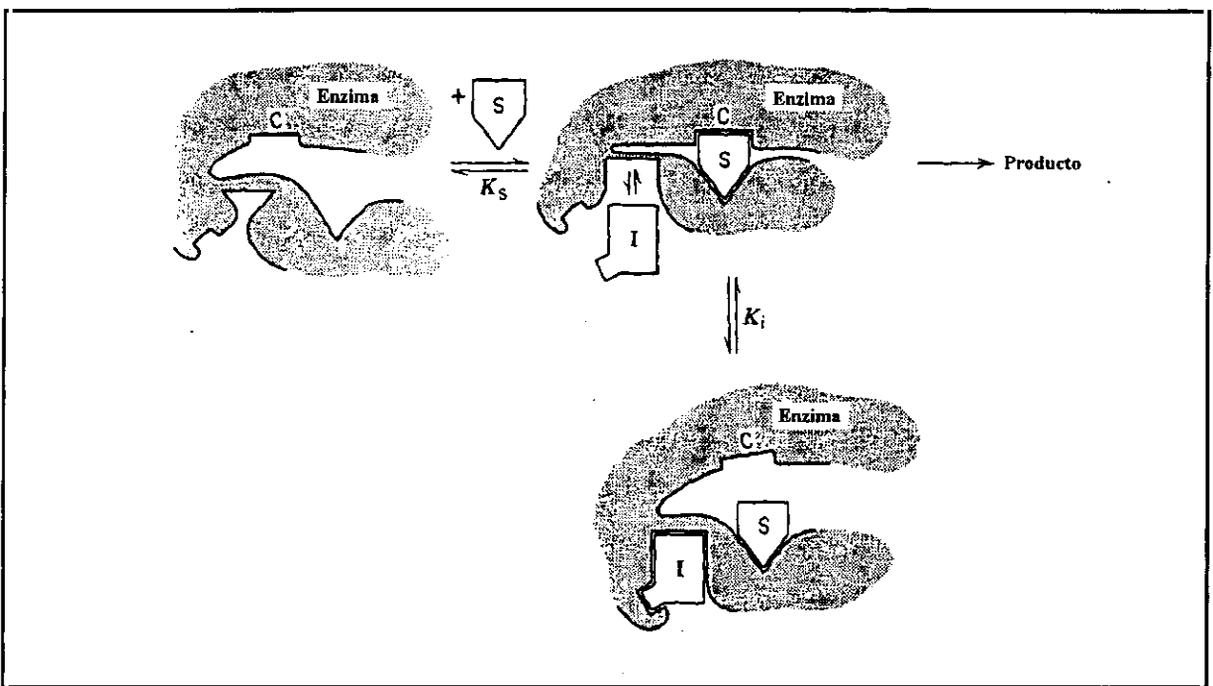
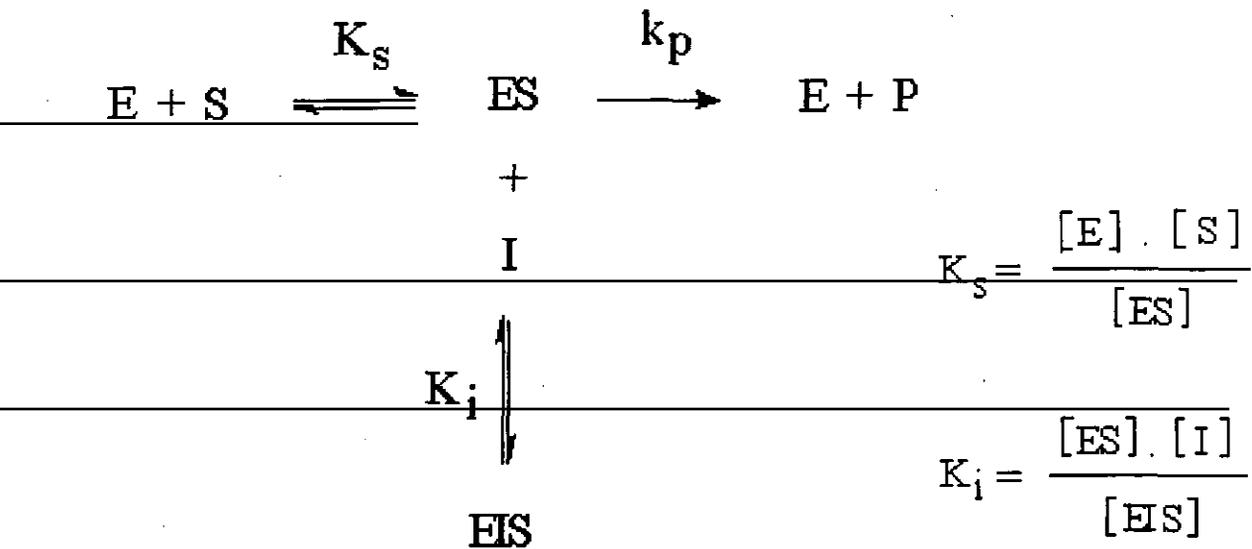


Figura 2.6. Modelo para la inhibición acompetitiva (S:sustrato, I:inhibidor, C:centero activo).

La inhibición acompetitiva pura, también denominada inhibición anticompetitiva o inhibición acoplada, raras veces tiene lugar en los sistemas monoreactantes, en cambio puede tener lugar en los sistemas en los que la adición de varios ligandos a una enzima debe llevarse a cabo de una manera secuencial (sistemas multirreactantes).

En este caso, una elevada concentración de sustrato no impide que se forme el complejo ternario inactivo, ya que en presencia de la sustancia inhibidora, la formación de dicho complejo

siempre estará favorecida. En consecuencia, puede decirse que el valor de la velocidad máxima de reacción siempre va a ser inferior al valor esperado cuando la reacción tiene lugar en ausencia de inhibidor. El esquema de reacción para este tipo de procesos es el que se muestra a continuación:



Al contrario que en el caso de la inhibición no competitiva, la constante de Michelis-Menten puede variar con la concentración de inhibidor presente en el medio. Generalmente, dicha constante disminuye debido a que la formación del complejo ternario hace disminuir la concentración del complejo enzima-sustrato. Bajo determinadas condiciones de operación, un inhibidor de tipo mixto puede dar lugar a los mismos efectos.

El modelo que gobierna este tipo de inhibición se deduce de las ecuaciones de conservación, empleando el mismo razonamiento que en los casos anteriores, adquiriendo este la siguiente forma:

$$(-r_s) = \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_{ms} + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad [2.5]$$

2.2.4 INHIBICION MIXTA

Un sistema enzimático también puede estar constituido por varias enzimas o varias formas de la misma enzima que catalizan la misma reacción. En este caso, las diferentes especies catalíticas pueden tener diferentes selectividades con respecto a una sustancia inhibidora determinada, aunque catalicen el proceso con velocidades de reacción similares. Frecuentemente, estos procesos se tratan, de manera errónea, suponiendo que todas las especies se comportan de la misma manera. Sin embargo, no sucede así realmente, sino que la velocidad global del proceso va a venir dada por la suma de los diferentes efectos catalíticos de cada una de las especies enzimáticas presentes en el medio.

Si suponemos que el complejo enzimático está constituido por dos especies cuyas velocidades máximas de reacción y constantes de Michaelis-Menten son similares respecto del sustrato que se desea convertir, pero sólo una de ellas es susceptible de ser modificada, en su acción enzimática, por una sustancia presente en el medio de reacción que actúa como inhibidor competitivo, por ejemplo, la expresión que predice la velocidad de reacción global del proceso adquirirá la siguiente forma:

$$(-r_s) = (-r_s)_1 + (-r_s)_2$$

$$(-r_s) = \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_{ms} + [S]} + \frac{(-r_s)_{\max} [S]}{K_{ms} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad [2.6]$$

Es obvio que pueden coexistir varios tipos de inhibición dentro de un mismo proceso, por lo que el planteamiento de las ecuaciones cinéticas pasa por la suposición de posibles esquemas de reacción para, posteriormente, estudiar por separado cada uno de los fenómenos de inhibición y solucionar el modelo acoplando los diferentes fenómenos y obteniendo su validez comprobando el modelo experimentalmente.

2.3 CINÉTICA ENZIMÁTICA PARA SISTEMAS MULTIREACTANTES

La mayoría de los sistemas enzimáticos que presentan más de un reactante dan lugar a tal número de especies en el medio de reacción que no pueden describirse satisfactoriamente empleando las hipótesis del equilibrio rápido. En este caso, la distribución de especies en las que se encuentra involucrada la enzima depende de las constantes de equilibrio de todos y cada uno de los pasos de la reacción, incluido el paso de formación de producto. Las ecuaciones de velocidad que gobiernan el proceso pueden obtenerse algebraicamente teniendo en cuenta las hipótesis del estado estacionario. No obstante, al ser el número de especies en el medio tan elevado, el desarrollo matemático se hace muy complicado y tedioso.

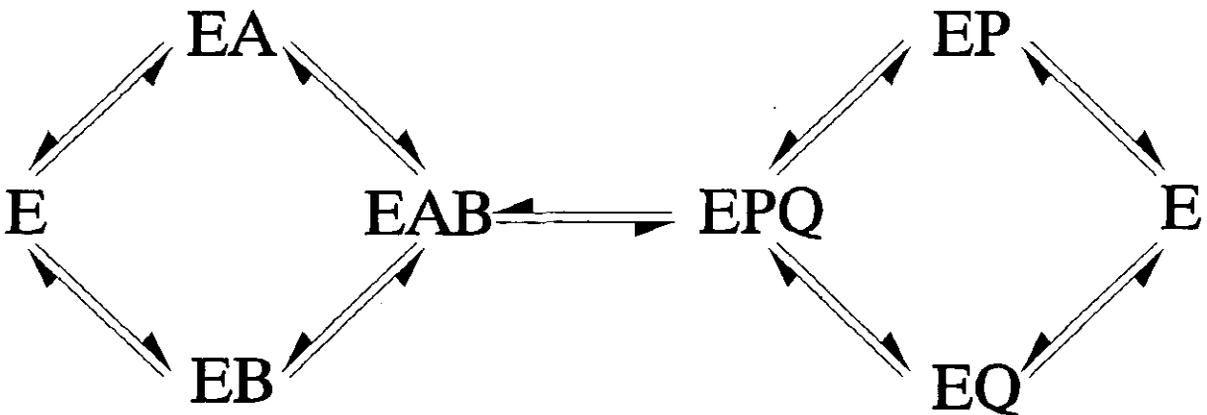
Para evitar esto, **King y Altman** propusieron un método en 1956 que facilitaba la obtención algebraica de estas expresiones. Este método consiste en poner las expresiones para la distribución relativa de las especies en función de la concentración de sustrato y varias constantes de velocidad que se obtienen agrupando los parámetros correspondientes a cada uno de los pasos de la reacción.

Cuando en el medio de reacción coexisten dos reactivos y dos productos y el sistema catalítico es puro o monoenzimático, es decir la enzima no está contaminada con especies enzimáticas de otra naturaleza, los métodos más empleados a la hora de plantear el esquema de reacción y el posterior modelo cinético son tres:

- Suponer que la formación de los complejos con los sustratos y la liberación de productos es al azar y, en cualquier caso, la reacción que tiene lugar es la esperada: mecanismo al azar.
- Suponer que a cada adición de sustrato a la enzima, le sigue una liberación de producto de reacción y, por tanto, nunca se daría un complejo ternario: mecanismo Ping-Pong.
- Suponer que los reactivos y los productos se adicionan y se liberan siguiendo un orden determinado: mecanismo ordenado o forzado.

2.3.1 MECANISMO DE REACCION AL AZAR

Aceptando las hipótesis del equilibrio rápido, el esquema global para la reacción sería el que se muestra a continuación:

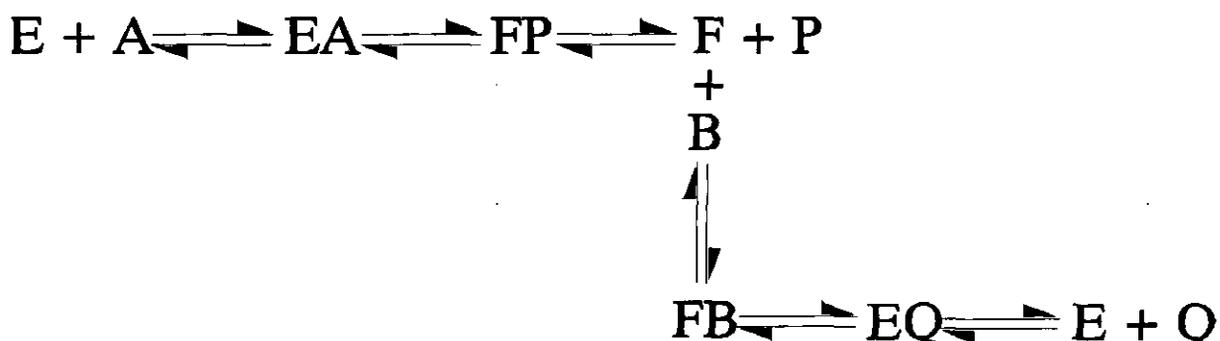


Como puede observarse, el número de complejos que puede formarse por inhibición de sustratos o productos es bastante elevado. Debido a esto, la solución del modelo pasaría por estudiar independientemente cada uno de los efectos ejercidos por los diferentes tipos de complejos sobre el mecanismo cinético. Lo que sucede es que la hipótesis del equilibrio rápido se cumple parcialmente y las constantes de varían con la concentración de inhibidor de acuerdo con un modelo hiperbólico, por lo que el número de parámetros aumenta considerablemente.

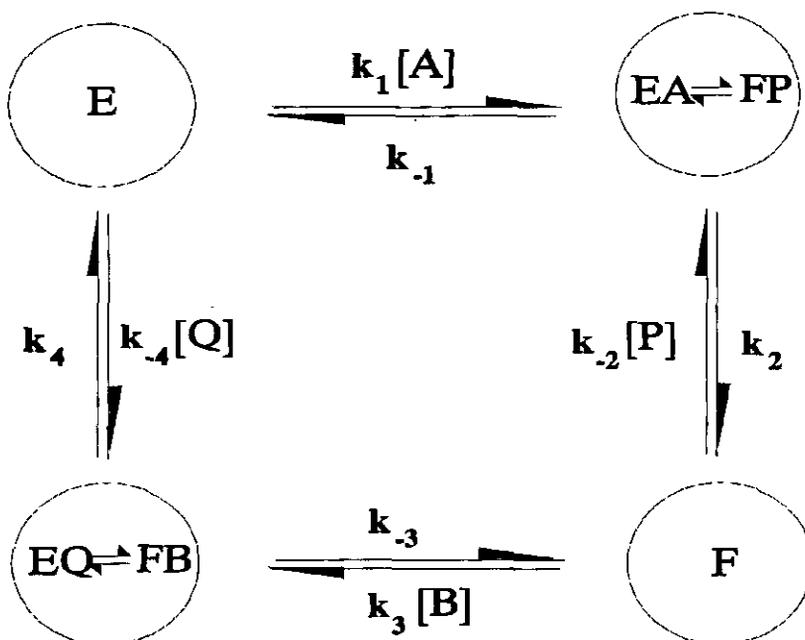
Cuando se asume la hipótesis del estado estacionario, el tratamiento matemático para obtener las ecuaciones de velocidad se hace incluso más complicado, apareciendo en el denominador de la expresión del orden de unos cuarenta términos, ya que las constantes no varían con la concentración de las especies presentes en el medio según una función lineal, parabólica o hiperbólica, sino que lo hacen según funciones no lineales y el número de parámetros a calcular se multiplica.

2.3.2 MECANISMO PING-PONG

Se dice que un sistema de reacción responde a un mecanismo ping-pong cuando entre las adiciones de dos sustratos a una enzima se libera un producto. El esquema de reacción para este tipo de mecanismo es el que se expresa a continuación:



Atendiendo a este esquema de reacción el modelo planteado, siguiendo la técnica propuesta por King-Altman, estaría formado por cuatro especies enzimáticas presentes en el medio y podría ser el siguiente:



Siguiendo este esquema pueden deducirse las ecuaciones que expresan las concentraciones de las especies constituidas por complejos enzimáticos en función de las constantes de formación y desaparición de dichos complejos:

$$\frac{[E]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_{-1} k_{-2} [P] + k_2 k_3 [B] k_4 + k_3 [B] k_4 k_{-1} + k_{-3} k_{-2} [P] k_{-1}}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[EA] + [FP]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_1 [A] k_{-2} [P] + k_{-4} [Q] k_{-3} k_{-2} [P] + k_3 [B] k_4 k_1 [A] + k_{-3} k_{-2} [P] k_1 [A]}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[F]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_1 [A] k_2 + k_{-4} [Q] k_{-3} k_2 + k_{-1} k_{-4} [Q] k_{-3} + k_{-3} k_1 [A] k_2}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[FB] + [EQ]}{[E]_T} = \frac{k_{-2} [P] k_{-1} k_{-4} [Q] + k_{-4} [Q] k_2 k_3 [B] + k_{-1} k_{-4} [Q] k_3 [B] + k_1 [A] k_2 k_3 [B]}{DENOMINADOR}$$

$$DENOMINADOR = [E]_T = [E] + [EA] + [FP] + [F] + [FB] + [EQ]$$

[2.7]

Sustituyendo las expresiones de concentración en la ecuación de velocidad de reacción y reagrupando coeficientes, podemos definir las constantes según las expresiones [2.8]. Teniendo esto en cuenta, y reagrupando términos, podemos llegar a la expresión general de velocidad [2.9], en la que no se incluyen los términos debidos a la inhibición.

$$(-r_A) = k_1 [E] [A] - k_{-1} [EA] [FP]$$

$$K_{m_A} = \frac{Coef_B}{Coef_{AB}} \quad \therefore \quad K_{m_B} = \frac{Coef_A}{Coef_{AB}}$$

$$K_{m_P} = \frac{Coef_Q}{Coef_{PQ}} \quad \therefore \quad K_{m_Q} = \frac{Coef_P}{Coef_{PQ}}$$

$$K_{i_A} = \frac{Coef_P}{Coef_{AP}} = \frac{Const}{Coef_A} \quad \therefore \quad K_{i_Q} = \frac{Coef_B}{Coef_{BQ}} = \frac{Const}{Coef_Q}$$

$$(-r_A)_{\max}^d = \frac{Num_1}{Coef_{AB}} \quad \therefore \quad (-r_A)_{\max}^i = \frac{Num_2}{Coef_{PQ}} \quad \therefore \quad K_{eq} = \frac{Num_1}{Num_2} \quad [2.8]$$

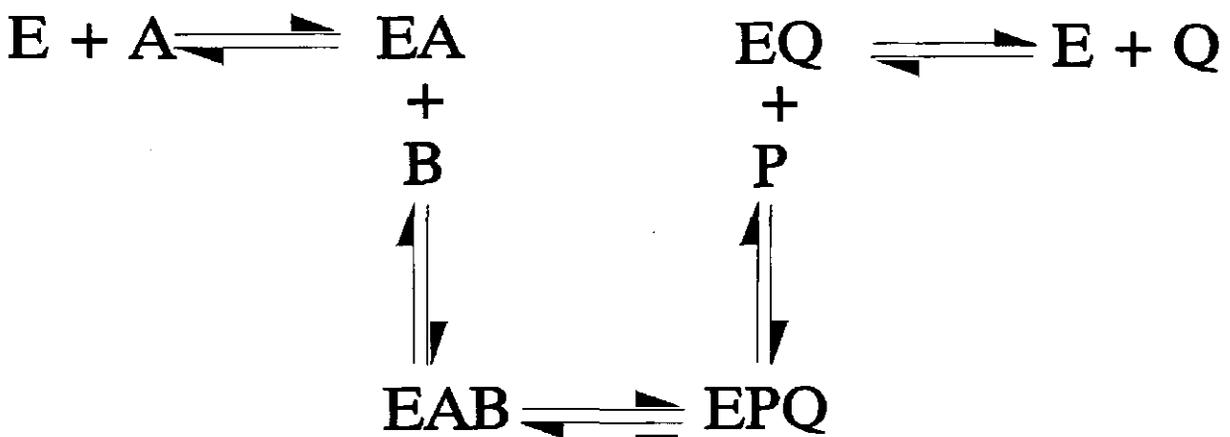
$$(-r_A) = \frac{(-r_A)_{\max}^d (-r_A)_{\max}^i ([A] [B] - \frac{[P] [Q]}{K_{eq}})}{(-r_A)_{\max}^i K_{m_B} [A] + (-r_A)_{\max}^i K_{m_A} [B] + \frac{(-r_A)_{\max}^d K_{m_P} [P]}{K_{eq}} + \frac{(-r_A)_{\max}^d K_{m_Q} [Q]}{K_{eq}} + (-r_A)_{\max}^i [A] [B] + \frac{(-r_A)_{\max}^d [A] [P]}{K_{eq} K_{i_A}} + \frac{(-r_A)_{\max}^i [P] [Q]}{K_{eq}} + \frac{(-r_A)_{\max}^i K_{m_A} [B] [Q]}{K_{i_Q}}$$

[2.9]

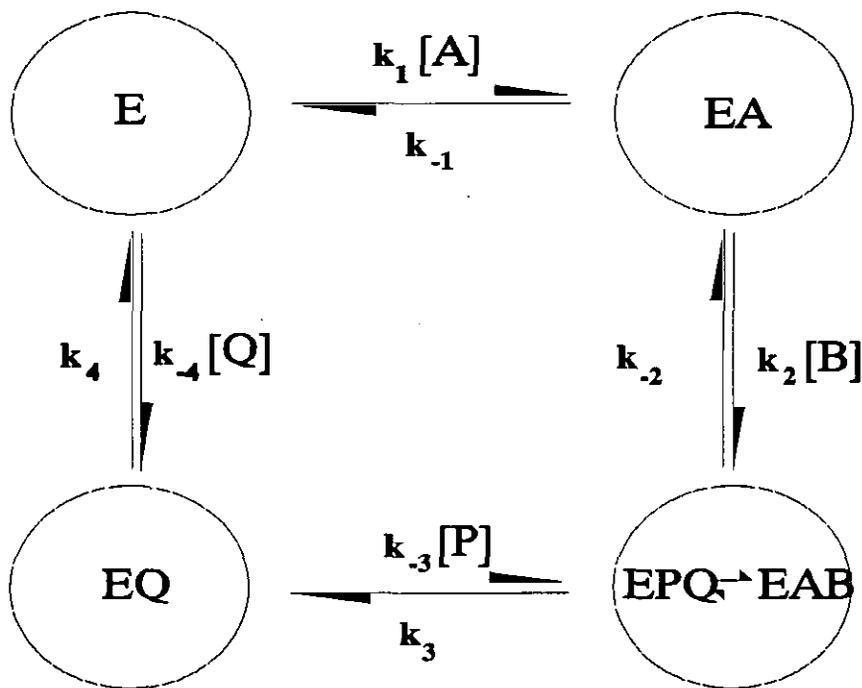
Lógicamente, habría que incluir en este modelo los debidos a la inhibición por parte de los reactivos, productos u otras especies involucradas en el medio de reacción.

2.3.3 MECANISMO DE REACCION ORDENADO

Cuando en una reacción enzimática entre dos reactivos, para dar dos productos, la combinación de la enzima libre con los reactivos se lleva a cabo siguiendo un orden determinado, y la liberación de los productos es igualmente ordenada, se dice que el mecanismo de reacción es ordenado o forzado. Dicha reacción puede representarse según el siguiente esquema:



Atendiendo a este esquema, y siguiendo el método propuesto por King-Altman, la figura representativa correspondiente a dicho esquema es la siguiente:



Por tanto, la distribución de las especies enzimáticas obtenidas según dicha figura, responderá a las siguientes expresiones de concentración:

$$\frac{[E]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_{-1} k_{-2} + k_{-2} k_{-3} [P] k_{-1} + k_2 [B] k_4 k_3 + k_3 k_4 k_{-1}}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[EA]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_1 [A] k_{-2} + k_1 [A] k_2 k_{-3} [P] + k_{-4} [Q] k_{-2} k_{-3} [P] + k_3 k_4 k_1 [A]}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[EAB] + [EPQ]}{[E]_T} = \frac{k_4 k_1 [A] k_2 [B] + k_1 [A] k_{-3} [P] k_2 [B] + k_2 [B] k_{-4} [Q] k_{-3} [P] + k_{-1} k_{-4} [Q] k_{-3} [P]}{DENOMINADOR}$$

$$\frac{[EQ]}{[E]_T} = \frac{k_{-2} k_{-1} k_{-4} [Q] + k_1 [A] k_3 k_2 [B] + k_2 [B] k_{-4} [Q] k_3 + k_{-1} k_3 k_{-4} [Q]}{DENOMINADOR}$$

$$DENOMINADOR = [E]_T = [E] + [EA] + [EAB] + [EPQ] + [EQ]$$

Sustituyendo las expresiones de concentración en la ecuación de velocidad de reacción y reagrupando coeficientes, podemos definir las constantes según las expresiones [2.11]. Teniendo esto en cuenta, y reagrupando términos, podemos llegar a la expresión general de velocidad de reacción [2.12], que se expresan a continuación.

$$\begin{aligned}
 (-r_A) &= k_1 [E] [A] - k_{-1} [EA] \\
 K_{m_A} &= \frac{\text{Coef}_B}{\text{Coef}_{AB}} \quad \therefore \quad K_{m_B} = \frac{\text{Coef}_A}{\text{Coef}_{AB}} \\
 K_{m_P} &= \frac{\text{Coef}_Q}{\text{Coef}_{PQ}} \quad \therefore \quad K_{m_Q} = \frac{\text{Coef}_P}{\text{Coef}_{PQ}} \\
 K_{i_A} &= \frac{\text{Coef}_P}{\text{Coef}_{AP}} = \frac{\text{Const}}{\text{Coef}_A} \quad \therefore \quad K_{i_Q} = \frac{\text{Coef}_B}{\text{Coef}_{BQ}} = \frac{\text{Const}}{\text{Coef}_Q} \\
 K_{i_B} &= \frac{\text{Coef}_{PQ}}{\text{Coef}_{BPQ}} \quad \therefore \quad K_{i_P} = \frac{\text{Coef}_{AB}}{\text{Coef}_{ABP}}
 \end{aligned} \tag{2.11}$$

$$(-r_A)_{\max}^d = \frac{\text{Num}_1}{\text{Coef}_{AB}} \quad \therefore \quad (-r_A)_{\max}^i = \frac{\text{Num}_2}{\text{Coef}_{PQ}} \quad \therefore \quad K_{eq} = \frac{\text{Num}_1}{\text{Num}_2}$$

$$\begin{aligned}
 (-r_A) &= \frac{(-r_A)_{\max}^d (-r_A)_{\max}^i ([A] [B] - \frac{[P] [Q]}{K_{eq}})}{(-r_A)_{\max}^i K_{i_A} K_{m_B} + (-r_A)_{\max}^i K_{m_B} [A] + (-r_A)_{\max}^i K_{m_A} [B] + \frac{(-r_A)_{\max}^d K_{m_Q} [P]}{K_{eq}} +} \\
 &+ \frac{(-r_A)_{\max}^d K_{m_P} [Q]}{K_{eq}} + (-r_A)_{\max}^i [A] [B] + \frac{(-r_A)_{\max}^d K_{m_W} [A] [P]}{K_{eq} K_{i_A}} + \frac{(-r_A)_{\max}^d [P] [Q]}{K_{eq}} + \\
 &+ \frac{(-r_A)_{\max}^i K_{m_A} [B] [Q]}{K_{i_Q}} + \frac{(-r_A)_{\max}^i [A] [B] [P]}{K_{i_P}} + \frac{(-r_A)_{\max}^d [B] [P] [Q]}{K_{i_B} K_{eq}}
 \end{aligned} \tag{2.12}$$

Los estudios cinéticos de las reacciones que emplean enzimas como catalizador son relativamente escasos y han empezado a tomar auge en los últimos años. El modelo cinético a emplear en este tipo de estudios no está todavía muy claro, ya que depende de la suposición del mecanismo propuesto para la reacción. Así Khmelnsky y colaboradores estudiaron la deshidrogenación de varios alcoholes, para lo cual emplearon una enzima alcohol deshidrogenasa en disolución de buffer de fosfato para conseguir pH 8.8 a 25°C, que resultaron ser las condiciones de operación óptimas para dicha enzima. El modelado cinético de este tipo de reacciones resultó ajustarse a un modelo sencillo de tipo Michaelis-Menten, obteniéndose diferentes velocidades de reacción máximas, así como las constantes de Michaelis correspondientes [KHMELNITSKY, 1990].

Por otra parte, Deleuze pudo constatar, empleando dos lipasas diferentes (*Candida cylindracea* y *Mucor miehei*), que el estudio cinético de las reacciones de hidrólisis, esterificación y transesterificación en medio orgánico, en un reactor tipo tanque agitado discontinuo a 40°C de temperatura respondían a un esquema de reacción con un mecanismo del tipo ping-pong, en el cual la enzima forma un primer enlace con el ácido graso, seguido de la liberación de una molécula de agua, con la consecución de un complejo enzimático distinto al inicial y dispuesto a adicionar una molécula de alcohol, para liberar a continuación la correspondiente molécula de éster, quedando la molécula de enzima en el mismo estado inicial y dispuesta a formar de nuevo enlace con una nueva molécula de ácido graso [DELEUZE, 1987].

Posteriormente Tsai et al propusieron un mecanismo del tipo Michaelis-Menten sencillo para la hidrólisis de aceite de oliva en medio orgánico, empleando isoctano como disolvente. El sistema catalítico empleado consistía en una disolución de la lipasa de *Candida rugosa* en buffer de fosfato para conseguir un pH adecuado para su actividad (7.1). El mecanismo de reacción supone la existencia de un único sustrato, aceite de oliva, y un único producto, ácido oleico; considerando que el producto de reacción da lugar a una inhibición competitiva [TSAI, 1991].

Miller, por su parte, dedujo que en las reacciones de hidrólisis, interesterificación y transesterificación de triglicéridos del ácido láurico, el mecanismo de reacción de las lipasas, pasaba por la formación de un complejo intermedio acil-enzima, sin la formación del cual la reacción no tiene lugar. En sus estudios, también incluyó la reacción de esterificación del ácido láurico, empleando como catalizador una disolución de la lipasa de *Candida cylindracea* en buffer de fosfato para conseguir un pH de 7.7. El modelo propuesto es de tipo Michaelis-menten, sencillo sin inhibición cuando se emplea como disolvente orgánico ciclohexano y la reacción tiene lugar a 35°C [MILLER, 1991].

De forma análoga, los estudios de Guit proponen un mecanismo similar al anterior, considerando un sistema monosustrato en la hidrólisis de triglicéridos del ácido acético en un reactor tipo flujo pistón constituido por una membrana anular sobre la que va inmovilizada la lipasa de *Candida cylindracea*, cuya temperatura óptima de operación es de 30°C. Dicho modelo supone que el sustrato principal es el triglicérido, y que la reacción tiene lugar exclusivamente mediante la formación de enlaces acil-enzima [GUIT, 1991].

Los estudios de Lortie, revelan que la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el glicerol para obtener mono, di y triglicéridos de dicho ácido sigue un mecanismo cinético forzando a que la reacción tenga lugar vía formación del complejo acil-enzima con el ácido oleico, con la posterior formación de éster en la posición uno, que por isomerización hacia la posición dos, puede dar lugar a una nueva adición para obtener el diéster y, posteriormente, el triéster. La reacción se lleva a cabo en un reactor discontinuo de mezcla perfecta a 60°C, empleando un catalizador comercial constituido por una lipasa de *Mucor miehei* inmovilizada [LORTIE, 1992].

Otros autores proponen, en cambio, un mecanismo de reacción de tipo ping-pong, empleando el mismo catalizador para la síntesis de acetato de geranilo, partiendo de acetato de n-propilo y geraniol, a 40°C de temperatura y 140 bares de presión, aceptando que la reacción está forzada a un

paso previo de formación del complejo acil-enzima, y que se produce inhibición competitiva debido a la presencia de geraniol. La comprobación de dicho modelo se lleva a cabo a partir de experimentos con disolventes orgánicos, tales como n-hexano y dióxido de carbono [CHULALAKSANANUKUL, 1992 & 1993].

El equipo de investigación de Shiraishi, estudiando el comportamiento catalítico de la enzima de *Rhizopus niveus* inmovilizada sobre un material cerámico, para la hidrólisis de almidón comprobó que la catálisis de esta glucoamilasa a 50°C, se correspondía con un mecanismo cinético sencillo de tipo Michaelis-Menten [SHIRAISHI, 1993].

Stamartis et al. decidieron considerar un mecanismo de tipo ping-pong para reacción de esterificación entre el ácido láurico y el mentol al emplear una disolución catalítica de la enzima de *Penicillium simplicissimum* en una microemulsión a pH 5 y 35°C de temperatura, aunque el modelo cinético propuesto sólo considera la reacción directa [STAMARTIS, 1993].

De nuevo, en este caso Prazeres et al., se vuelve a considerar el estudio cinético de la hidrólisis de los triglicéridos del aceite de oliva en medio orgánico, empleando isooctano como disolvente a 30°C, mientras que el catalizador es la lipasa de *Chromobacterium viscosum* disuelta en un tampón cuyo pH es 7. El estudio concluye en que la cinética responde a un Modelo del tipo Michaelis-Menten considerando un único sustrato, que propone que la inhibición con respecto del producto de reacción es de orden tres [PRAZERES, 1993].

Los estudios sobre la hidrólisis de celulosa y celobiosa, en un reactor de mezcla perfecta a 30°C, confirma de nuevo que la reacción sigue un modelo cinético sencillo de tipo Michaelis-Menten, cuando se emplea la lipasa de *Trichoderma reesei* en disolución de buffer de acetato para un pH 4.8 [NIDETZKY, 1994].

En cambio, los estudios de Ramamurthi vuelven a considerar un mecanismo ping-pong para la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el metanol en n-hexano a 25°C. apreciándose una clara inhibición competitiva por la presencia de un exceso de metanol. En este caso el catalizador es comercial y está constituido por una lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada sobre una resina de intercambio. Una vez más se confirma que para que la reacción tenga lugar es necesaria la formación del complejo vía acil-enzima [RAMAMURTHI, 1994].

Los estudios de Reyes, basados en la acidólisis de los triglicéridos del aceite de oliva y de algunas grasas animales, empleando para ello ácido octanóico y ácido linolénico, revelan que la lipasa de *Pseudomonas cepacia* en disolución de buffer de fosfato (pH 7), da lugar a una cinética catalítica que responde a dos modelos de tipo Michaelis-Menten con inhibición competitiva por parte del ácido de partida. Uno de los modelos corresponde a la desaparición del ácido libre de partida, mientras que el segundo modelo corresponde a la velocidad de aparición del nuevo ácido graso [REYES, 1994].

Teniendo en cuenta los estudios de los diferentes autores consultados, queda suficientemente claro que la cinética enzimática debe abordarse teniendo en cuenta el razonamiento propuesto por Michaelis-Menten. También queda desechado totalmente el mecanismo de reacción al azar, ya que para que la reacción de esterificación enzimática tenga lugar, es imprescindible que se forme el complejo acil-enzima, por lo que el primer paso del mecanismo va a venir dado por la adición del ácido graso a la lipasa.

2.4 BIBLIOGRAFIA

- CHARTON, E. and MACRAE, A.R., "Specificities of immobilized *Geotrichum candidum* CMICC 335426 lipases A and B in hydrolysis and ester synthesis reactions in organic solvents", *Enz. Microb. Technol.* **15** (6), pg 489-493 (1993).
- CHULALAKSANANUKUL, W., CONDORET, J.S. and COMBES, D., "Kinetics of geranyl acetate synthesis by lipase-catalysed transesterification in n-hexane", *Enz. Microb. Technol.* **14** (4) pg 293-298 (1992).
- CHULALAKSANANUKUL, W., CONDORET, J.S. and COMBES, D., "Geranyl acetate synthesis by lipase-catalyzed transesterification in supercritical carbon dioxide", *Enz. Microb. Technol.* **15** (8) pg 691-698 (1993).
- DELEUZE, H., LANGRAND, G., MILLET, H., BARATTI, J., BUONO, G. and TRIANTAPHYLIDES, C., "Lipase-catalyzed reactions in organic media: competition and applications", *Biochim. Biophys. Acta* **911** pg 117-120 (1987).
- ENGEL, P.C. "Enzyme Kinetics. The Steady-State Approach". Ed. Chapman and Hall. 2nd Ed. London (1981).
- GUIT, R.P.M., KLOOSTERMAN, M., MEINDERSMA, G.W., MAYER, M. and MELJER, E.M., "Lipase kinetics: Hydrolysis of triacetin by lipase from *Candida cylindracea* in a hollow-fiber membrane reactor", *Biotechnol. Bioeng.*, **38** pg 727-732 (1991).
- JANSSEN, A.E.M., VAN DER PADT, A., VAN SONSBEK, M.V. and VAN'T RIET, K., "The effect of organic solvents on the equilibrium position of enzymatic acylglycerol synthesis", *Biotechnol. Bioeng.*, **41** pg 95-103 (1993).
- JANSSEN, A.E.M., VAN DER PADT, A. and VAN'T RIET, K., "Solvent effects on lipase-catalyzed esterification of glycerol and fatty acids", *Biotechnol. Bioeng.*, **42** pg 953-962 (1993).

- KHMELNITSKY, Y.L., NEVEROVA, I.N., POLYAKOV, V.I., GRINBERG, V.Y., LEVASHOV, A.V. and MARTINEK, K., "Kinetic theory of enzymatic reactions in reversed micellar systems. Application of the pseudophase approach for partitioning substrates", *Eur. J. Biochem.*, **190** pg 155-159 (1990).
- LORTIE, R., TRANI, M. and ERGAN, F., "Kinetic study of the lipase-catalyzed synthesis of triolein", *Biotechnol. Bioeng.*, **41** pg 1021-1026 (1993).
- MALACATA, F.X., REYES, H.R., GARCIA, H.S., HILL, C.G. and AMUNDSON, C.H., "Kinetics and mechanisms of reactions catalysed by immobilized lipases", *Enz. Microb. Technol.*, **14** (6) pg 426-446 (1992).
- MILLER, D.A., PRAUSNITZ, J.M. and BLANCH, H.W., "Kinetics of lipase-catalysed interesterification of triglycerides in cyclohexane", *Enz. Microb. Technol.*, **13** (2) pg 98-103 (1991).
- NIDETZKY, B., ZACHARIAE, W., GERCKEN, G., HAYN, M. and STEINER, W., "Hydrolysis of cellooligosaccharides by *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases: Experimental data and kinetic modeling", *Enz. Microb. Technol.*, **16** (1) pg 43-52 (1994).
- NOBLE, R.D., "Analysis of enzyme catalysis under batch conditions", *Chem. Eng. J.*, **44** pg B47-B50 (1990).
- PRAZERES, D.M.F., LEMOS, F., GARCIA, F.A.P. and CABRAL, J.M.S., "Modeling lipolysis in a reversed micellar system: Part I. Conventional batch reactor", *Biochnol. Bioeng.*, **42** pg 759-764 (1993).
- PRAZERES, D.M.F., LEMOS, F., GARCIA, F.A.P. and CABRAL, J.M.S., "Modeling lipolysis in a reversed micellar system: Part II. Membrane reactor", *Biochnol. Bioeng.*, **42** pg 765-771 (1993).
- RAMAMURTHI, S. and McCURDY, A.R., "Lipase-catalyzed esterification of oleic acid and methanol in hexane. A kinetic study", *JA OCS*, **71** (9) pg 927-930 (1994).
- REYES, H.R. and HILL, C.G.J., "Kinetic modeling of interesterification reactions catalyzed by immobilized lipase", *Biochnol. Bioeng.*, **43** pg 171-182 (1994).
- ROZZELL, D. and WAGNER, F. "Biocatalytic Production of Amino Acids & Derivatives". Ed. Hanser. Germany (1992).

- SEGEL, I.H. "Enzyme Kinetics. Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems". Ed. John Willy & Sons. New York (1993).
- SHIRAIISHI, F., "Experimental evaluation of the usefulness of equations describing the apparent maximum reaction rate and apparent Michaelis constant of an immobilized enzyme reaction", *Enz. Microb. Technol.*, 15 (2) pg 150-154 (1993).
- STAMATIS, H., XENAKIS, A., MENGE, U. and KOLISIS, F.N., "Esterificacion reactions catalyzed by lipases in microemulsions: The role of enzyme localization in relation to its selectivity", *Biotechnol. Bioeng.*, 42 pg 103-110 (1993).
- STAMATIS, H., XENAKIS, A., MENGE, U. and KOLISIS, F.N., "Kinetic study of lipase catalyzed esterification reactions in water-in-oil microemulsions", *Biotechnol. Bioeng.*, 42 pg 931-937 (1993).
- TAYYAB, S. and QAMAR, S., "A look into enzyme kinetics: Some introductory experiments", *Biochem. Educ.*, 20 (2) pg 116-118 (1992).
- TASAI, S.W. and CHIANG, C.L., "Kinetics, mechanism and time course analysis of lipase-catalyzed hydrolysis of high concentration olive oil in AOT-isoctane reversed micelles", *Biotechnol. Bioeng.*, 38 pg 206-211 (1991).
- TASAI, S.W., WU, G.H. and CHIANG, C.L., "Kinetics of enzymatic hydrolysis of olive oil in biphasic organic-aqueous systems", *Biotechnol. Bioeng.*, 38 pg 761-766 (1991).
- ZAKS, A. and KLIBANOV, A., "Enzyme-catalyzed processes in organic solvents", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82 pg 3192-3196 (1985).

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Teniendo en cuenta que los productos de síntesis objeto de estudio de este trabajo están considerados como productos de química fina desde el punto de vista industrial, su producción a gran escala no puede ser considerada empleando operaciones en continuo. Más bien se trata de proponer pequeñas producciones de varios productos que se procesan en equipos de dimensiones relativamente pequeñas, en comparación con los empleados en la industria química clásica para un único producto, y que operan en discontinuo, por lo que el tiempo de operación puede ser relativamente elevado en comparación con el tiempo de residencia de las especies químicas en el interior del reactor.

En contrapartida, los productos finales obtenidos son de un elevado valor añadido, lo que compensa el tiempo de operación invertido en el proceso, así como las producciones pequeñas. Debido a esto el reactor empleado en este estudio es un reactor tipo tanque agitado que opera en discontinuo o por cargas.

En los ensayos de reacción para la obtención de los diferentes ésteres objeto de estudio en un reactor discontinuo, puede considerarse que todos los reactivos permanecen en condiciones de mezcla completa, salvo en los casos en que el agua que se extrae continuamente del interior del reactor para

desplazar el equilibrio hacia la formación del producto final. En cualquier caso, se busca que la composición de la masa de reacción en todos los puntos del tanque sea la misma, con el fin de que la reacción tenga un comportamiento lo más homogéneo posible. Esto, lógicamente, va a depender de los parámetros de diseño del reactor, de su forma, capacidad, potencia de agitación y el flujo de fluidos en el interior de dicho reactor.

Las condiciones de flujo en el interior del reactor, están influenciadas por su geometría, forma y potencia del agitador empleado, así como por las dimensiones relativas de éste respecto al reactor. Para obtener una turbulencia óptima, las dimensiones relativas que deben tener el diámetro del agitador (d_a), la altura del líquido sobre el mismo (h) y el diámetro del reactor (d), deben calcularse según las correlaciones que aparecen en la bibliografía [MEHTA, 1971].

Habitualmente, el agitador es perpendicular y está centrado en el reactor, generándose el movimiento desde el centro del tanque hacia las paredes del mismo. La velocidad de giro vendría dada por dos componentes una axial y otra radial, si las condiciones de operación fuesen ideales. Sin embargo, aparece una tercera componente de velocidad, tangencial, que va a dar lugar a la generación de un vórtice que hace que exista un régimen de circulación laminar en la superficie de la mezcla, con la consiguiente modificación tanto de la transmisión de calor como de la transferencia de materia y perdiéndose así la condición de mezcla perfecta.

Este efecto se ve más acentuado cuando el catalizador está constituido por partículas sólidas, ya que la acción de la fuerza centrífuga favorece la circulación de partículas hacia las paredes del tanque, donde colisionan y tienden a caer hacia el fondo del reactor. Para paliar esto, se hace necesario el empleo de tabiques deflectores que cortan las líneas de flujo tangencial y, por tanto, favorecen la permanencia del régimen turbulento con lo que se produce una mayor aproximación a la mezcla perfecta, que es el objetivo deseado [RASE, 1977].

3.1 INSTALACION EXPERIMENTAL

La instalación empleada para realizar los experimentos correspondientes al estudio de las reacciones de esterificación que aquí nos ocupan, va a variar dependiendo de las condiciones de presión en que se trabaje. Así cuando la reacción se lleva a cabo a presión atmosférica, el reactor debe ir provisto de un refrigerante de reflujo con el fin de que los componentes más volátiles del medio de reacción no se pierdan al pasar a la fase de vapor por efecto de la temperatura, obligándolos a pasar de nuevo a la fase líquida. En este caso, el sistema se considera que opera en condiciones de reversibilidad, ya que el equilibrio no se verá modificado por la eliminación de reactivos o productos del medio de reacción.

Por otra parte, cuando interese desplazar dicho equilibrio por eliminación de alguno de los componentes de la mezcla de reacción, variando, para ello, la presión de operación, con el fin de trabajar en condiciones de vacío, la instalación experimental se verá modificada, sustituyendo el sistema de condensación de reflujo por un sistema de vacío capaz de mantener la presión de reacción por debajo de la atmosférica. En este caso, puesto que el equilibrio de reacción se verá alterado por la eliminación del medio de alguno de los componentes del mismo, consideraremos que el sistema opera en condiciones de irreversibilidad.

Teniendo esto en cuenta, los esquemas básicos de las instalaciones montadas y utilizadas para llevar a cabo las reacciones objeto de este estudio, se presentan en la figura 3.1 para el primer caso y en la figura 3.2 para el segundo. En ambas figuras puede observarse que la instalación se divide en cinco partes fundamentales, que se describirán posteriormente: sistema de reacción, sistema de calefacción y control de temperatura, sistema de regulación y control de la agitación, sistema de toma de muestras y sistema de vacío o de condensación de reflujo, según sea el tipo de reacción que se desee llevar a cabo.

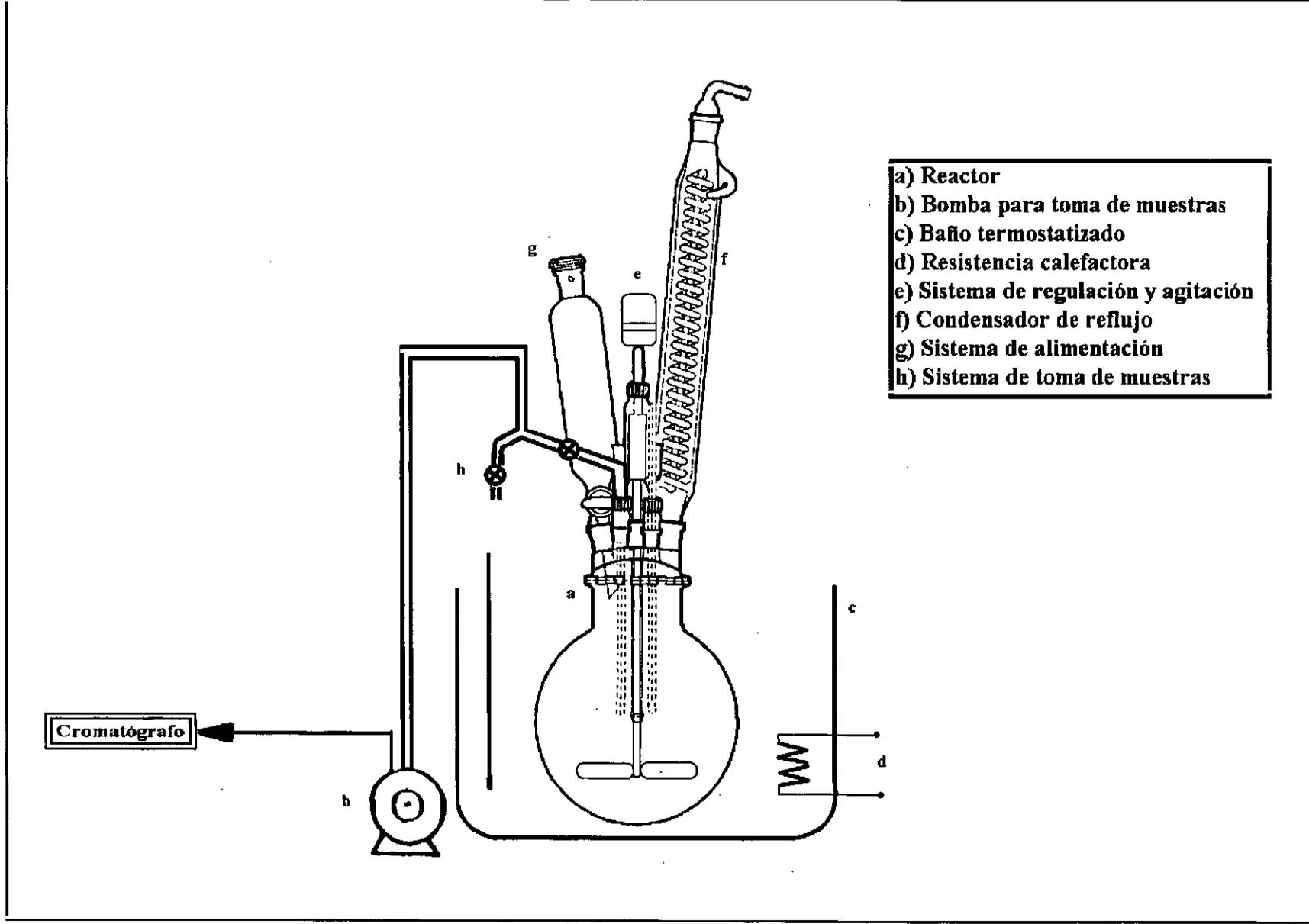
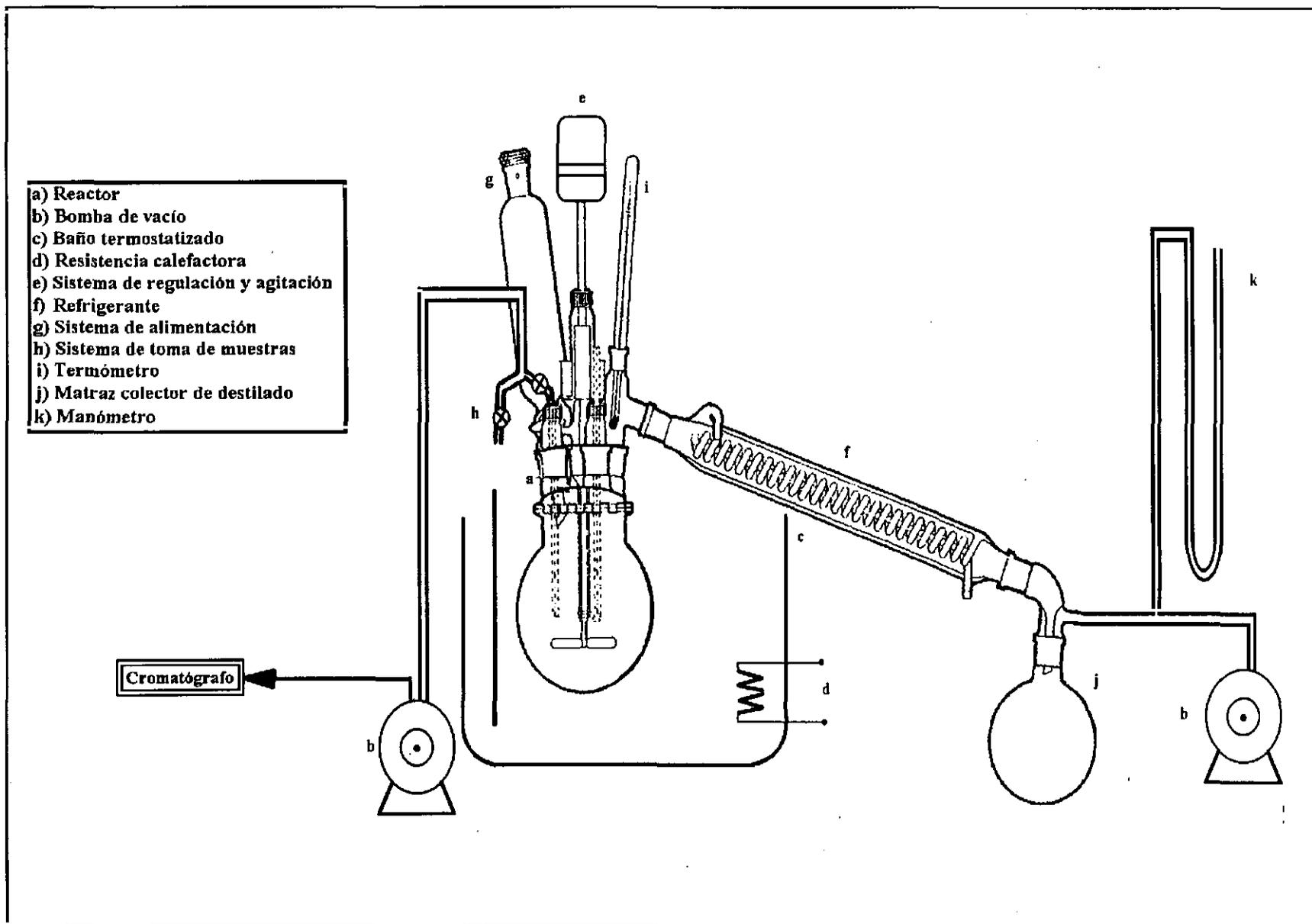


Figura 3.1. Esquema del sistema a presión atmosférica.

Figura 3.2. Esquema del sistema en condiciones de vacío.



3.1.1 SISTEMA DE REACCION

El sistema de reacción está constituido por un recipiente de vidrio Pyrex de forma cilíndrica, de 500 c.c. de capacidad, cuyas partes principales se detallan en la figura 3.3. La parte superior del mismo consta de cinco bocas esmeriladas, con las siguientes funciones:

- Colocación del refrigerante, para condensar el agua que se va formando en el transcurso de la reacción, y que es eliminada del medio de reacción con el fin de favorecer el desplazamiento de la misma hacia la formación de los productos, en el caso de que la reacción se lleve a cabo en condiciones de presión inferior a la atmosférica. Cuando no es así, el sistema de vacío se sustituye por un sistema de condensación de reflujo, cuya misión es la romper el equilibrio de la fase líquida con la fase vapor, producida por acción de la temperatura, de los componentes más volátiles de la mezcla de reacción, que pueden ser el agua formado en el transcurso de la reacción, y en algunos casos los propios reactivos de partida.
- Colocación del sistema de regulación y control de la agitación, cuya misión fundamental es que el flujo de fluidos tenga lugar en régimen turbulento para que las condiciones se aproximen a la mezcla perfecta.
- Colocación del sistema de toma de muestras: Cuando se trabaja a presión reducida, ya que los reactivos son productos de elevado punto de ebullición, se extraen las muestras con una aguja hipodérmica, que se introduce en el reactor a través de un cierre de goma hermético, y se extrae la muestra con una bomba de vacío, evitando, de esta manera, que se produzcan grandes variaciones de la presión en el interior del sistema de reacción. En el caso de que el sistema opere a presión atmosférica, el sistema de toma de muestras puede sustituirse por una simple rama sumergida en el medio de reacción y conectada a una bomba.
- Colocación del sistema de medida de la temperatura en el medio de reacción.
- Colocación del sistema de carga o adición de reactivos.

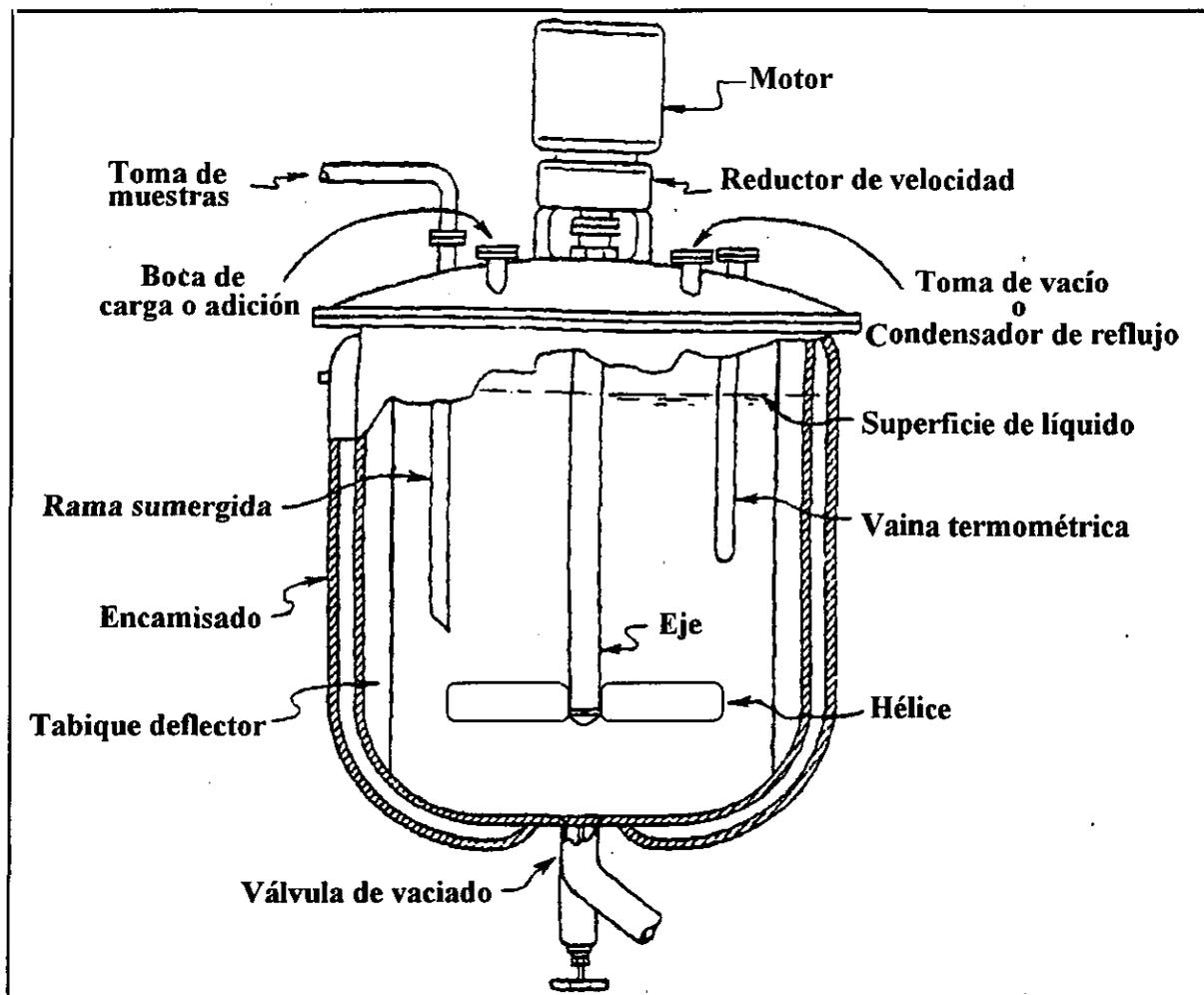


Figura 3.3. Reactor empleado para la experimentación.

3.1.2 SISTEMA DE CALEFACCION Y CONTROL DE TEMPERATURA

El sistema de calefacción, está constituido por un baño termostático, el cual se consta de un recipiente cilíndrico lleno con un fluido calefactor, que en este caso es agua, debido a que la temperatura de operación está por debajo de los 100°C, puesto que las especificaciones de las especies catalíticas así lo requieren. La temperatura se estabiliza y mantiene constante mediante un termostato marca *S. Investar*, el cual lleva incorporado un termómetro de contacto eléctrico, controlador de la temperatura, que no permite variaciones apreciables de la misma, por lo que puede considerarse que el sistema trabaja en régimen isoterma.

3.1.3 SISTEMA DE AGITACION, REGULACION Y MEDIDA

Está constituido por un agitador de hélice, colocado a una distancia del nivel del líquido, aproximadamente igual a un medio del diámetro del recipiente, siendo la altura del líquido del orden del diámetro del reactor.

El agitador está conectado a un motor Anderson Mark IV de 1/30 HP., 220 v., 50 cps., provisto de un regulador de velocidad que alcanza un intervalo de 100 a 6000 rpm. El control del agitador se efectúa a distancia mediante un autotransformador, independiente del mismo, con múltiples posiciones, proporcionando velocidades altamente estabilizadas, con una gran fuerza de torsión a bajas velocidades.

La medida de las revoluciones del agitador, se realiza mediante un sistema de célula fotoeléctrica acoplada a un tacómetro, que indica las revoluciones de 0 a 6000 rpm.

3.1.4 SISTEMA DE VACIO

El sistema de vacío consta de una bomba tipo AIT-25, de motor trifásico, 220/380 v., 1/4 HP., 50 Hz., que se alcanza 1420 rpm., una válvula reguladora de presión, una llave conectada a la atmósfera y un vacuómetro de columna de mercurio, para la lectura de la presión reinante en el sistema.

3.2 MATERIALES EMPLEADOS

Los materiales empleados en la elaboración de este trabajo pueden clasificarse en dos grandes grupos. Por una parte se emplearon varios sistemas catalíticos con el fin de elegir el más adecuado para nuestros propósitos y, por otra, pueden considerarse los diferentes reactivos químicos empleados en la síntesis de los seis tipos de ésteres estudiados.

En primer lugar se tendrán en cuenta estos últimos, es decir las especies químicas de partida, con el fin de hacer una breve identificación de los sistemas de reacción objeto de estudio.

3.2.1 REACTIVOS QUIMICOS

Acidos grasos empleados.

Los ácidos grasos empleados han sido el ácido oleico, ácido palmítico, ácido mirístico y el ácido 2-metil-butírico. Los tres primeros suministrados por la empresa Henkel-Ibérica S.A. y el último por Aldrich Química. En todos los casos de calidad reactivo. En la tabla 3.1 se muestran las propiedades físicas más relevantes de dichos ácidos. Los puntos de fusión y ebullición de los diferentes compuestos son propiedades definitivas a la hora de elegir las condiciones de operación, así como las presiones de vapor de los mismos.

En la figura 3.4 se muestran los gráficos correspondientes a los diferentes ácidos empleados, en los cuales están representadas las presiones de vapor de cada uno de ellos en función de la temperatura de trabajo. Según estos gráficos podremos fijar tanto la temperatura como la presión del sistema de reacción, teniendo en cuenta el estado en el que se desee que se encuentren dichos ácidos en el medio de reacción.

Tabla 3.1. Constantes físicas de los ácidos empleados.

	Oleico	Palmítico	Mirístico	2-metil-butírico
Punto de fusión (°C)	13.3-16.4	63.1	53.9-58	-7
Punto ebullición (°C)	360-365	353.8	318.2	176.5
Densidad (20°C) (g/cc)	0.8905-0.8935	0.8534	0.858	0.936
Indice refracción (20°C)	1.4582	1.4309	1.4273	1.4055
Peso molecular	282.47	256.42	228.36	102.13
Indice neutralización	198.6	218.8	245.68	77.6
Indice iodo	89.87	-	-	-
Solubilidad: etanol	parcialmente	parcialmente	soluble	soluble
éter	soluble	soluble	poco	soluble
acetona	soluble	parcialmente	soluble	soluble
benceno	soluble	soluble	soluble	soluble

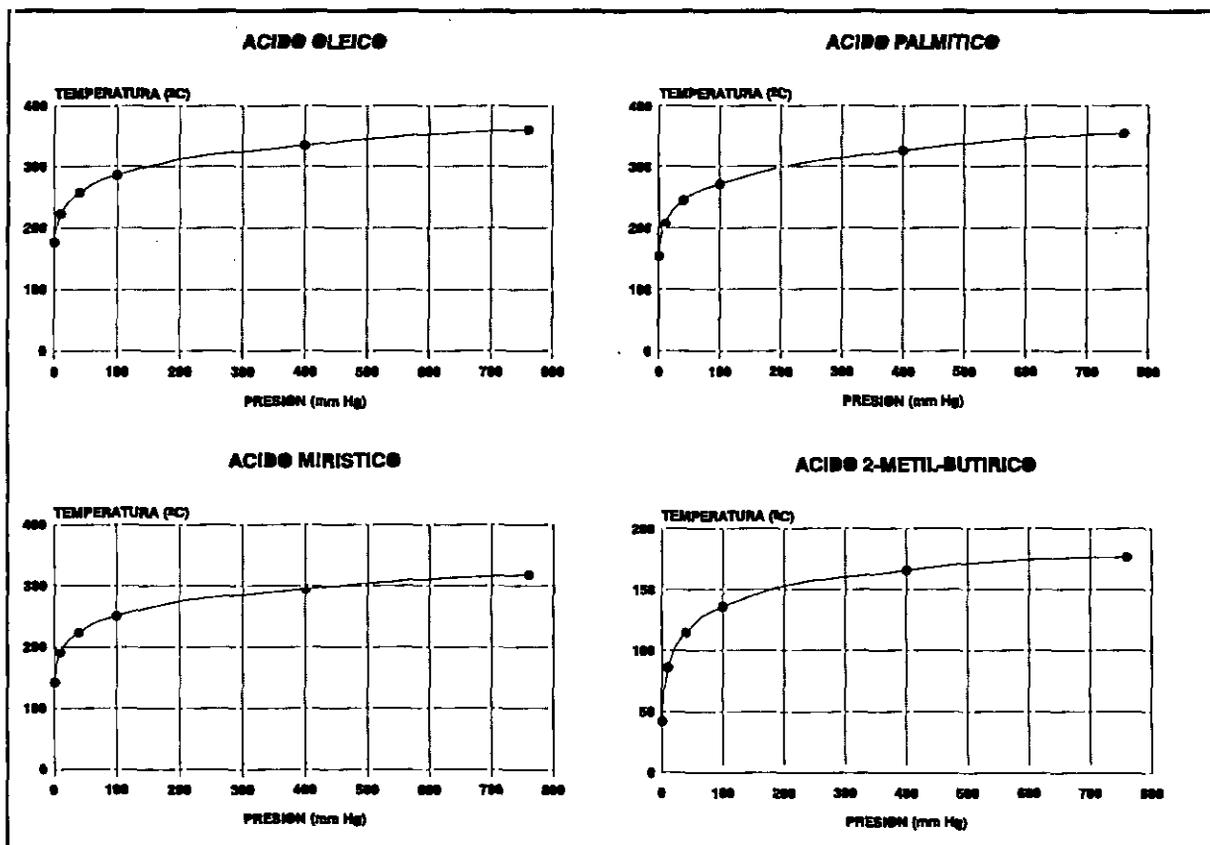


Figura 3.4. Presiones de vapor de los ácidos grasos empleados.

Alcoholes grasos empleados.

Los alcoholes empleados fueron el oleico, isopropílico, cetílico y mirístico. Todos ellos de la marca Henkel-Ibérica y con una calidad correspondiente a la de reactivo. En la tabla 3.2 se muestran las propiedades físicas más representativas de dichos alcoholes, y en la figura 3.5 las correspondientes representaciones de presión de vapor frente a temperatura de operación.

Tabla 3.2. Constantes físicas de los alcoholes empleados.

	Oleico	Cetílico	Mirístico	Isopropílico
Punto de fusión (°C)	6-7	50	39-40	-89.5
Punto ebullición (°C)	335-340	334	263.2	82.4
Densidad (20°C) (g/cc)	0.8489	0.8176	0.8236	0.7855
Índice refracción (20°C)	1.4606	1.4283	1.4012	1.3776
Peso molecular	268.49	242.45	214.40	60.11
Solubilidad: etanol	soluble	poco	soluble	soluble
éter	soluble	soluble	soluble	soluble
acetona	parcialmente	soluble	soluble	soluble
benceno	parcialmente	soluble	soluble	soluble

Otros reactivos.

Otros reactivos empleados han sido básicamente disolventes, involucrados en la recuperación de las enzimas inmovilizadas y en la limpieza de equipos. Dichos disolventes fueron etanol, metanol, cloruro de metileno, acetona e isopropanol, suministrados por la marca Panreac, con una pureza superior al 98%.

En la preparación de las muestras para el análisis cromatográfico se utilizó como disolvente de las especies constituyentes del medio de reacción, sulfuro de carbono, marca Panreac, con calidad de reactivo para análisis.

Los gases empleados en el sistema de análisis cromatográfico fueron helio, como gas portador y auxiliar, y aire e hidrógeno en el detector. Todos ellos suministrados por Liquid Carbonic Española con una calidad L-48 para el helio y L-40 para el hidrógeno y el aire.

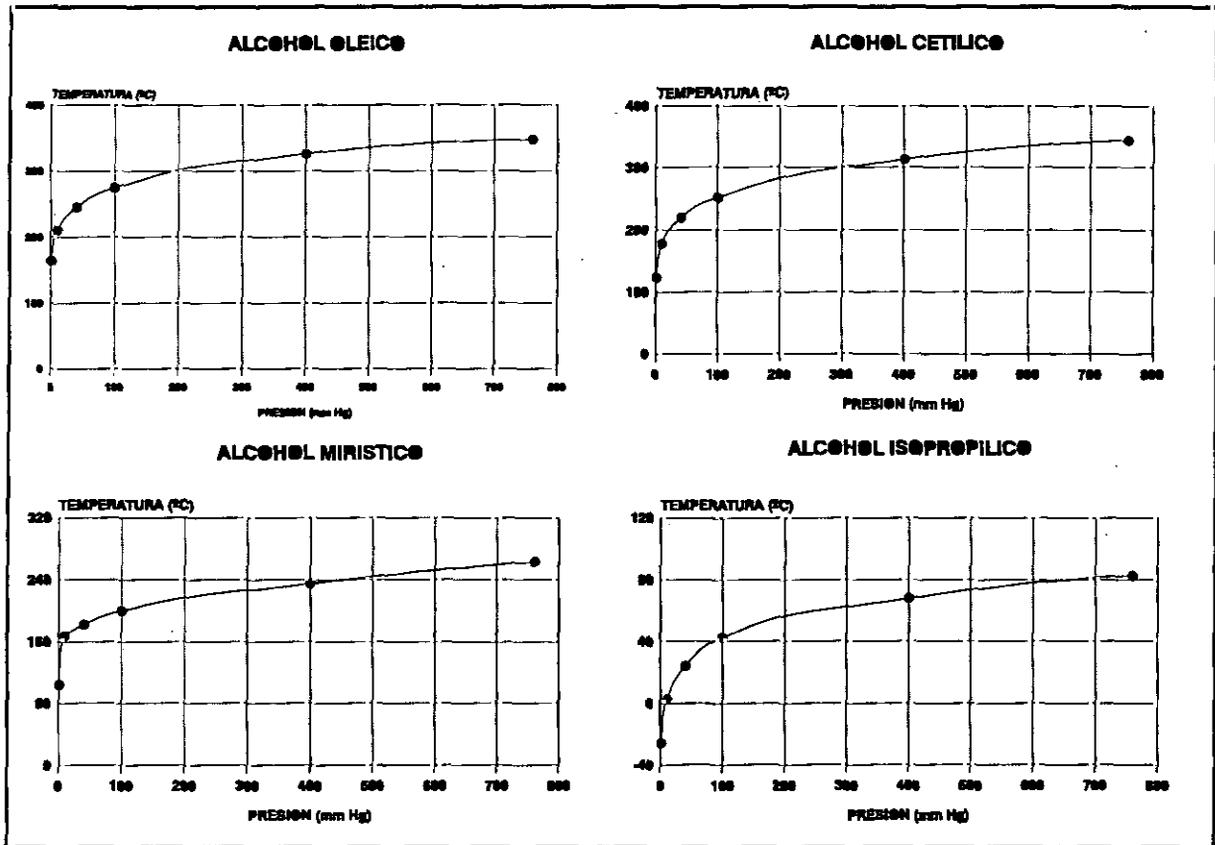


Figura 3.5. Presiones de vapor de los alcoholes empleados.

3.2.2 SISTEMAS CATALITICOS

Los sistemas catalíticos empleados en este trabajo fueron varios catalizadores enzimáticos comerciales, todos ellos provenientes de dos especies fúngicas: *Mucor miehei* y *Candida antarctica*. Todos ellos fueron suministrados por la firma comercial Novo Nordisk Bioindustries.

Los preparados enzimáticos comerciales de *Mucor miehei* fueron cuatro: Lipozyme IM-20, Lipozyme IM-50, Lipozyme IM y Lipozyme 10.000 L. Esta última está presentada como enzima en disolución con una actividad nominal de 10.000 LU/g, siendo un LU (Lipase Unit) la cantidad de enzima capaz de liberar un micromol de ácido butírico por minuto partiendo de una emulsión del triglicérido correspondiente, a 30°C de temperatura y a pH 7.0. La densidad del preparado original es de 1.15 g/ml, siendo este soluble en agua en todas las proporciones. En la figura 3.6 se muestran los efectos ejercidos por la temperatura y el pH sobre la actividad de dicha lipasa.

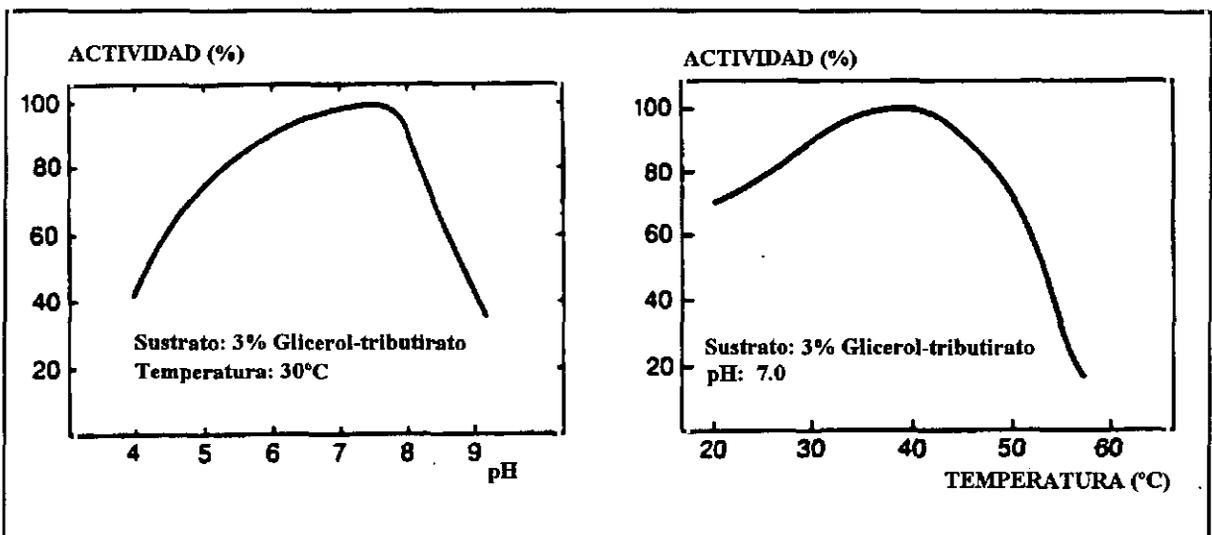


Figura 3.6. Especificaciones de la lipasa Lipozyme 10.000.

Los tres primeros preparados están constituidos por la misma lipasa, triacilglicerolhidrolasa (EC 3.1.1.3) producida por dicha especie fúngica, e inmovilizada sobre resinas de intercambio aniónico con diferentes propiedades cada una de ellas, y a diferentes concentraciones. La actividad de dichas enzimas viene dada en BIU/g, siendo un BIU, Batch Interesterification Unit, el número de μ moles de ácido palmítico transformados con trioleína por minuto utilizando la enzima inmovilizada en cuestión a una temperatura de 40°C. En la tabla 3.3 se muestran las actividades de dichos catalizadores, así como las principales características de los soportes sobre los que están inmovilizadas las enzimas.

Los sistemas enzimáticos producidos por la segunda especie fúngica (*Candida antarctica*) utilizados en este estudio son los preparados comerciales SP-435 A, SP-435 L y Novozym 435. Dichos catalizadores se han producido empleando la tecnología de recombinación del DNA mediante la transferencia del código genético de la especie *Candida antarctica* a la especie *Aspergillus Oryzae*. La lipasa obtenida a partir de esta nueva especie, triacilglicerol hidrolasa (EC 3.1.1.3), se presenta comercialmente inmovilizada sobre diferentes resinas macroporosas, de naturaleza acrílica. La actividad de dichos sistemas catalíticos viene dada en PLU/g, siendo un PLU (Propyl Laurate Units) el número de micromoles de laurato de n-propilo obtenidos partiendo de ácido láurico y 1-propanol durante un tiempo de 15 minutos de reacción a 60°C. En la tabla 3.3 se muestra la actividad de los diferentes sistemas catalíticos, así como las propiedades representativas, superficie específica y diámetro de poro medio de los diferentes soportes sobre los que están inmovilizadas dichas lipasas, obtenidas empleando un equipo BET.

Tabla 3.3. Propiedades características de las enzimas inmovilizadas empleadas.

Espece Fúngica	Catalizador Comercial	Tipo de Soporte (Resina)	Superficie Específica (m ² /g)	Diámetro de Poro Medio (Å)	Actividad Enzimática
<i>Mucor miehei</i>	Lipozyme IM-20	Intercambio aniónico	35.80	142.1	31 BIU
	Lipozyme IM	Intercambio aniónico	59.88	175.9	60 BIU
	Lipozyme IM-50	Intercambio aniónico	61.78	243.4	58 BIU
<i>Candida antarctica</i>	SP-435 A	Acrílica Macroporosa	29.17	291.7	10200 PLU
	SP-435 L	Acrílica Macroporosa	67.23	210.1	7800 PLU
	Novozym 435	Acrílica Macroporosa	95.50	179.2	7000 PLU

Las dos especies enzimáticas pueden ejercer con elevada efectividad la acción de lipasa o la acción de carboxilesterasa y, también en ambos casos, la especificidad de dichas enzimas puede ser posicional o no dependiendo del tipo de sustrato que se desee modificar con ellas. Cuando el sustrato es adecuado, la especificidad de dichas enzimas esta dirigida hacia las posiciones 1,3 de los correspondientes sustratos.

En cuanto al efecto de la temperatura de operación sobre la actividad de estas enzimas inmovilizadas, puede decirse que el aumento de la estabilidad viene dado por el tipo de soporte empleado en la inmovilización de las mismas y que al ser las resinas, en ambos casos, de la misma naturaleza, la diferencia de estabilidad entre los diferentes preparados comerciales es despreciable. En la figura 3.7 se presentan las curvas medias correspondientes a las lipasas de *Mucor miehei* y de *Candida antarctica*.

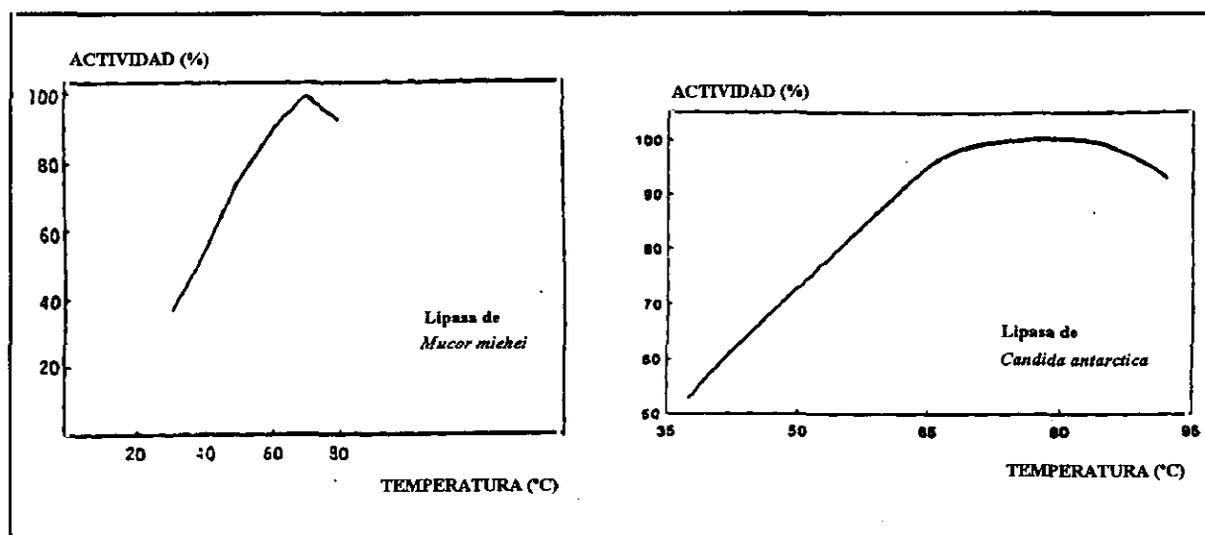


Figura 3.7. Especificaciones de las lipasas de *Mucor miehei* y *Candida antarctica*.

Aunque la estructura de estas lipasas ha sido estudiada por algunos autores [BRADY, 1990; BRZOZOWSKI, 1991], la localización de los centros activos de dichas estructuras no está, todavía,

muy claro. Los análisis realizados mediante la técnica de rayos X revelan que las lipasas están constituidas por estructuras proteicas con conformación globular, formadas por una cadena de polipéptidos con más de 269 residuos, cuyo peso molecular oscila entre 29.000 y 30.000 umas.

Según dicho estudio, puede considerarse que el centro activo de la proteína está constituido por una triada catalítica de aminoácidos cuya secuencia es Serina-Histidina-Asparagina, junto con una molécula de Serina activa situada bajo un fragmento helicoidal prolongación de una superficie curva y alargada. Al parecer la activación de la lipasa en las inmediaciones de la interfase acuoso-lipídica depende de muchos factores, siendo los más acentuados la concentración de sustrato en dicha interfase, la orientación del enlace a romper, la reducción de la película acuosa que rodea a las moléculas de lípido, o el cambio conformacional que se produce en la enzima.

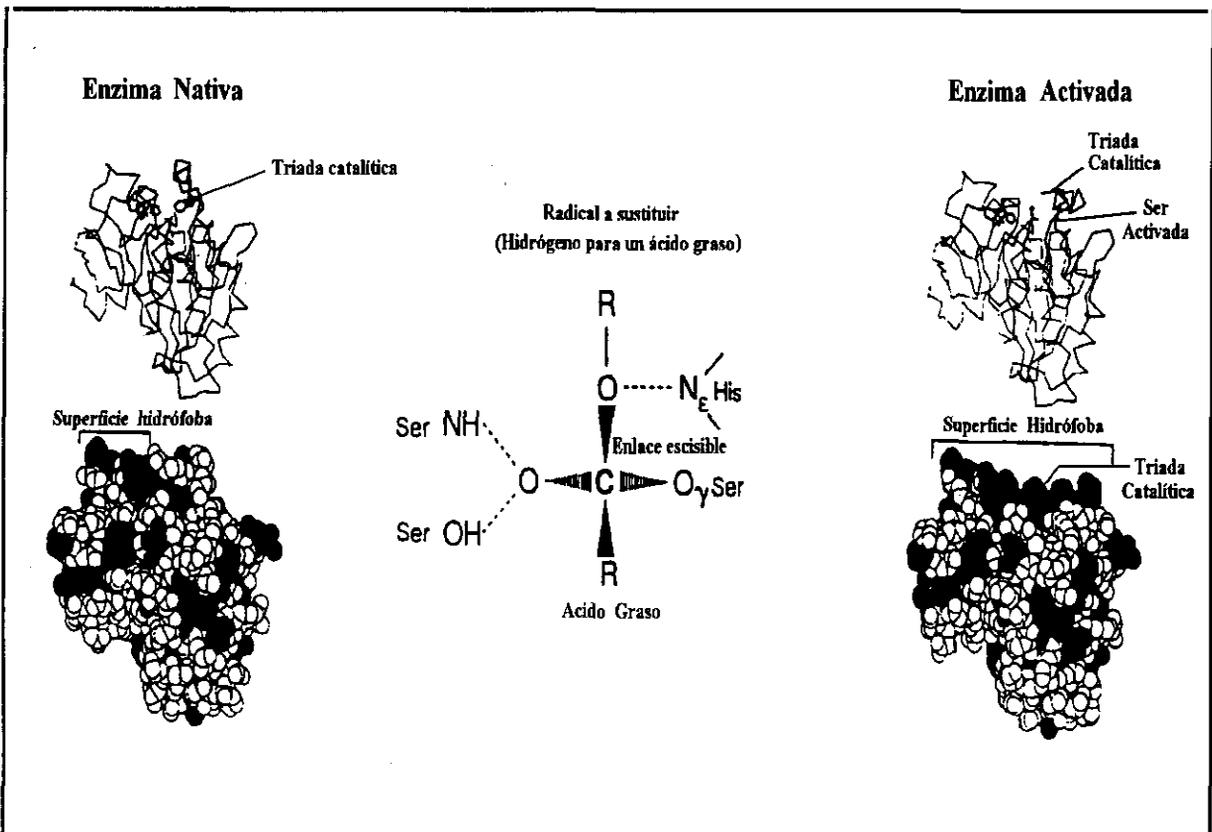


Figura 3.8. Esquema del cambio conformacional de la lipasa.

El cambio de conformación de la lipasa puede describirse como un movimiento simple del cuerpo rígido de su parte helicoidal. Consiste en una translación del centro de gravedad en unos ocho amstrons y una rotación de 167 grados sobre un eje casi paralelo al de la hélice. Dicho cambio conformacional esta estrechamente ligado a la formación del complejo enzima sustrato, en el que interviene la serina activa que acompaña a la triada catalítica, formando un enlace covalente con el carbono terminal del grupo ácido perteneciente a la molécula de sustrato.

Los grupos amino e hidroxilo pertenecientes a la serina de la triada catalítica, se encargan de estabilizar el oxígeno carboxílico correspondiente, mientras que el grupo constituido por el átomo de nitrógeno correspondiente a la histidina se encarga de estabilizar el oxígeno del grupo hidroxilo perteneciente al sustrato. En la figura 3.8 se muestra un esquema correspondiente al cambio conformacional de la lipasa, así como una aproximación de la formación de enlaces con el sustrato correspondiente.

3.3 CONDICIONES DE OPERACION

En general, las variables que ejercen una mayor influencia en los procesos de esterificación catalítica son temperatura, presión, tiempo de operación, agitación, estructura química y proporciones relativas de los reactivos de partida, y naturaleza y concentración del catalizador empleado.

En función de los reactivos que se vayan a emplear en las reacciones de esterificación correspondientes, las condiciones de operación quedaran fijadas dependiendo de los puntos de fusión y ebullición de los mencionados reactivos y productos, así como de las especificaciones marcadas por el tipo de catalizador utilizado.

Debido a que los ésteres objeto de estudio presentan un punto de ebullición relativamente elevado, en principio podría pensarse que el equilibrio de reacción puede desplazarse hacia la formación de productos eliminando el agua de reacción trabajando a presiones reducidas, ya que este sería el componente más volátil del medio de reacción y a temperaturas moderadas se encontraría en fase vapor [IPATIEFF, 1936]. No obstante, en el caso en el que uno de los reactivos sea más volátil que el agua, dicho reactivo sería arrastrado junto con él. En nuestro caso se da este fenómeno cuando trabajamos con el alcohol isopropílico, por lo que en dicha situación tendremos que trabajar a presión atmosférica y a temperaturas inferiores a los 83°C.

Por otra parte, no conviene trabajar a presiones excesivamente bajas, ya que un vacío demasiado efectivo podría dar lugar a una inestabilidad del sistema catalítico, ya que el agua de constitución y el agua junto con el que está inmovilizada la enzima daría lugar a una desnaturalización de la misma. En los casos en que los que es viable operar a presión reducida, el límite inferior para la presión ha sido fijado en 60 mmHg, valor para el cual no se ha observado pérdida de actividad apreciable.

Según las especificaciones de las lipasas empleadas, está claro que la temperatura de operación no puede ser superior a los 80°C, ya que a partir de esta temperatura la actividad catalítica de las enzimas cae bruscamente, por lo que este valor marcará el límite superior desde el punto de vista catalítico. También según dichas especificaciones, el límite inferior para la temperatura quedaría fijado en 60°C, ya que por debajo de este valor, la actividad enzimática toma valores inferiores al 90% de la actividad máxima. Según esto, los límites de temperatura quedarían fijados desde el punto de vista de la actividad catalítica.

Sin embargo, para fijar la temperatura también es necesario tener en cuenta los puntos de fusión y ebullición de los reactantes. Así, cuando el alcohol de partida es el isopropanol, el límite superior para la temperatura se ha fijado en 75°C, con el fin de conseguir que la mayor parte del alcohol se encuentre en estado líquido. Por otra parte, en los casos en los que el ácido o el alcohol de partida presentan puntos de fusión relativamente elevados (ácido palmítico y alcohol cetílico), el límite inferior para la temperatura se ha fijado en 65°C, con el fin de disminuir la viscosidad de la mezcla de reacción y conseguir un flujo de fluidos adecuado para nuestros propósitos.

Aunque, en un principio, podría considerarse que las condiciones de temperatura impuestas por el catalizador no son favorables para las reacciones de esterificación, hay que hacer notar que además del consiguiente ahorro energético que suponen, en comparación con los procesos clásicos, dan lugar a una ventaja adicional.

Cuando la temperatura de operación es elevada, el salto energético necesario para que tenga lugar la reacción es mucho menor, pero también se favorecen reacciones secundarias no deseadas, así como la degradación de algunos productos de la mezcla de reacción por simples procesos de oxidación o polimerización. Por tanto, trabajando dentro de los límites fijados para la temperatura eliminamos dichas reacciones indeseables.

Las especificaciones del catalizador, también nos fijan la concentración del mismo en el medio de reacción. Según las mismas, el límite inferior quedaría fijado en un 1% en peso de catalizador con respecto a la masa total de reacción, ya que por debajo de esta concentración la reactividad no varía linealmente con la concentración, mientras que el límite superior queda fijado en un 7% en peso, ya que por encima de dicha concentración, el sistema deja de comportarse como homogéneo o pseudohomogeneo.

El tiempo de reacción requerido va a depender de como se hayan fijado el resto de las condiciones de operación. Los valores observados en otros procesos oscilan entre los 90 minutos y las 7 horas de reacción, aunque en algunos casos no se alcanza la concentración de equilibrio hasta después de transcurridos varios días [McCRACKEN, 1967]. En nuestro caso se ha podido observar que el equilibrio se alcanza entorno a las dos-tres horas de reacción.

La velocidad de agitación empleada debería ser lo más elevada posible, con el fin de que el flujo de fluidos se aproxime lo máximo posible a la aproximación de mezcla perfecta, es decir que el régimen de operación sea turbulento y que los fenómenos de transferencia de materia sean despreciables frente a la etapa constituida por la reacción química. La velocidad de agitación recomendada para que se produzca esta situación, depende de la viscosidad de la mezcla de reacción, y puede estimarse en un intervalo de entre 300 y 800 rpm., dependiendo de la estabilidad del sistema.

Por último, queda por fijar la proporción relativa de los reactivos de partida. Normalmente, cuando interesa desplazar el equilibrio de la reacción se trabaja en exceso de alcohol, ya que trabajar con exceso de ácido da lugar a un producto final que no puede destinarse a usos cosméticos o farmacológicos. En nuestro casos interesa trabajar con relaciones molares 1:1, ya que el producto final se obtiene con una conversión suficientemente elevada, cumpliéndose así las especificaciones comerciales impuestas sin necesidad de una posterior purificación del producto final.

3.4 DESARROLLO DE UN EXPERIMENTO

La experimentación se llevó a cabo de modo que siempre atendiese a la misma sistemática, con el fin de que todos los experimentos fuesen comparables desde el punto de vista de las condiciones de operación. Así, el inicio de cada experimento se realizó cargando el reactor con la mezcla de reacción: alcohol, ácido y enzima inmovilizada como catalizador.

Las cantidades de los reactivos y catalizador vienen determinadas por las concentraciones deseadas para la realización de cada experimento, y por el nivel del líquido que ocupa la mezcla de reacción en el reactor, que debe ser tal que la agitación proporcionada sea la adecuada, según las consideraciones anteriormente expuestas.

Una vez alcanzada la temperatura de operación en el baño termostatzado, así como en el reactor cargado que esta introducido dentro del mismo; se conecta el sistema de vacío, el cual proporciona un incremento de altura en la columna de mercurio determinado, según la presión a la que se lleve a cabo la reacción. Lógicamente, en el caso en el que la reacción se realice en términos de presión atmosférica, el sistema de vacío no se conectará.

Simultáneamente, se pondrá en funcionamiento el sistema de agitación, y se conectará el refrigerante que hace condensar el agua que se va formando en el reactor, y que se recoge en otro matraz a la salida del refrigerante. En el caso en que la reacción se lleve a cabo a presión atmosférica, se conectará el refrigerante de reflujo, con el fin de que la mayor parte de los componentes volátiles permanezcan en fase líquida en el seno de la mezcla de reacción.

Para que las condiciones de operación no varíen durante el transcurso de la reacción, evitando así retrasos en la consecución del estado estacionario o inestabilidades dentro del propio sistema, será

necesario emplear sistemas de instrumentación y control capaces de mantener constantes los siguientes parámetros:

- (a) La presión del sistema; esto se consigue manteniendo constante la diferencia de alturas entre las ramas del manómetro de mercurio, regulando para ello la cantidad de la mezcla aire-vapor succionada por la bomba de vacío.
- (b) La temperatura del baño termostatzado; valiéndose para ello de un termómetro de contacto acoplado a un termostato que se encarga de conectar o desconectar la resistencia calefactora.
- (c) El número de revoluciones del agitador; que es regulado mediante un selector de velocidades acoplado al motor de agitación.

Las muestras, de unos 0.5 cm^3 aproximadamente, se extraen con un intervalo de tiempo de diez minutos durante la primera media hora de reacción, y con un intervalo de media hora para las restantes. La extracción se realiza mediante una aguja acoplada a un sistema de vacío; la toma de muestras debe ser rápida para no producir perturbaciones que puedan dar lugar a variaciones de presión apreciables en el interior del reactor.

Las muestras extraídas se conservan en recipientes cerrados y sometidos a refrigeración con el fin de congelar la reacción para que su composición no sea alterada. Posteriormente se procede a la preparación de dichas muestras para el consiguiente análisis, el cual se detallará en el capítulo siguiente.

Una vez finalizada la reacción, se procede a la recuperación de la enzima. Para ello se utiliza un sistema de filtrado a vacío, con el que se obtiene por una parte la mezcla de reacción resultante (ácido-alcohol-éster) y por otra la enzima inmovilizada. Esta última deberá someterse posteriormente

a un sistema de lavado con disolventes para dejarla exenta de los posibles productos acumulados durante la reacción y conseguir la eliminación de la posible cantidad de agua depositada.

Por último, se somete el catalizador a un sistema de secado con aire a presión, con el fin de que quede listo para ser reutilizado en una nueva carga de reacción; mientras que los disolventes empleados en las operaciones anteriores se recuperan mediante una operación de destilación para evitar la pérdida de los mismos.

3.5 BIBLIOGRAFIA

BRADY, L., BRZOZOWSKI, A.M., DEREWENDA, Z.S., DODSON, E., DODSON, G., TOLLEY, S., TURKENBURG, J.P., CHRISTIANSEN, L., HUGE-JENSEN, B., NORSKOV, L., THIM, L. and MENGE, U., "A serine protease triad forms the catalytic center of a triacylglycerol lipase", *Nature* 343 (2) pg 767-770 (1990).

BRZOZOWSKI, A.M., DEREWENDA, U., DEREWENDA, Z.S., DODSON, G.G., LAWSON, D.M., TURKENBURG, J.P., BJORKLING, F., HUGE-JENSEN, B., PATKAR, S.A. and THIM, L., "A model for interfacial activation in lipases from the structure of a fungal lipase-inhibitor complex", *Nature* 351 (6) pg 491-494 (1991).

IPATIEFF, V.N. and GOSSE, A.V., "Alkilation of paraffins with olefins in the presence of Aluminium trichloride", *J. Am. Chem. Soc.* 58 pg 915-918 (1936).

McCRACKEN, D.I. and DICKSON, P.F., "Reaction Kinetics of ciclohexanol -AcOH esterification", *Ind. Eng. Chem. Proc. Res. Dev.* 6 pg 286-291 (1967).

MEHTA, V.D., "Mass transfer in mechanically agitated gas-liquid contactors", *Chem. Eng. Sci.* 26 pg 461-467 (1971).

RASE, H.F., "Chemical Reactor Design for Process Plants. Principles & Techniques". Ed. John Willey & Sons. New York (1977).

4. METODOS DE ANALISIS

En el presente capítulo se detalla el estudio realizado para la elección de los métodos de análisis para el seguimiento e identificación de las especies químicas presentes en la síntesis enzimática de ésteres de ácidos y alcoholes grasos. La identificación de las especies presentes en el medio de reacción es necesaria para asegurarse de que la mezcla de reacción es la deseada. Sin embargo, el seguimiento de las concentraciones de las mismas puede llevarse a cabo mediante el estudio de una de las especies, una vez conocidas las reacciones que tienen lugar en el seno de la reacción. Los ácidos grasos para los cuales se ha llevado a cabo dicho estudio han sido los ácidos oleico, palmítico y mirístico. Mientras que los alcoholes en los que se basa el seguimiento de las conversiones correspondientes, fueron el oleico y el cetílico. Por tanto, en las muestras de reacción, caben esperarse como especies mayoritarias dichos ácidos y alcoholes grasos, así como los ésteres correspondientes, según sea el tipo de reacción que se vaya a analizar.

Entre las técnicas analíticas conocidas, las que mejores resultados proporcionan a la hora de la determinación, tanto cuantitativa como cualitativa, de los reactivos y productos de síntesis objeto de interés en este trabajo, son la cromatografía gas-líquido y la espectrometría de masas, cuya fiabilidad está sobradamente demostrada.

4.1 CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO

El análisis cuantitativo y el seguimiento en el tiempo de las especies químicas presentes en el sistema de reacción, se ha realizado mediante Cromatografía Gas-Líquido. Dicha cuantificación se ha llevado a cabo mediante la técnica cromatográfica basada en el empleo de patrón interno.

El campo de aplicación de la cromatografía de gases es bastante amplio en cuanto al análisis de materias grasas se refiere. Aunque la volatilidad de este tipo de compuestos es escasa, el empleo de esta técnica es viable empleando para ello métodos de derivatización que disminuyen el punto de ebullición de los mismos, o empleando fases estacionarias estables a elevadas temperaturas.

Los análisis realizados para el desarrollo del análisis de estos productos se han llevado a cabo en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 Series II.

4.1.1 ELECCION DE LA COLUMNA

Las columnas de tipo capilar o semicapilar son las más adecuadas para este tipo de análisis, ya que, además de ser muy versátiles, permiten trabajar con flujos gaseosos relativamente elevados, lo que da lugar a mejoras considerables en la transferencia de materia existente entre la fase móvil y la fase estacionaria de la columna. Este hecho redundará en la obtención de unos picos mucho más simétricos y, por tanto, en una mejora de la cuantificación de las especies analizadas.

Con objeto de seleccionar la columna apropiada para los sistemas en cuestión, se llevó a cabo una revisión bibliográfica de las columnas empleadas en esta técnica de análisis, así como una selección entre las diferentes marcas comerciales, lo que dio lugar a la elección de una columna capilar de sílice fundida con un contenido del 5% de fenilmetilsilicona.

4.1.2 CONDICIONES DE OPERACION

Las condiciones de operación para el análisis cromatográfico dependen, lógicamente, de todas y cada una de las especies presentes en la muestra a analizar. Por eso fue necesario tener en cuenta las propiedades físico-químicas de dichas especies.

Salvo el programa de temperaturas empleado en el horno cromatográfico para resolver el método de análisis de cada una de las diferentes muestras, las condiciones de operación para el análisis y el equipo empleado fueron las mismas en todos los casos. En la tabla 4.1 se detallan dichas condiciones de análisis, generales para todos los casos.

Tabla 4.1. Condiciones de operación del cromatógrafo HP 5890 Series II.

COLUMNA	MATERIAL	silice fundida crosslinked con un 5% de fenilmetilsilicona
	DIAMETRO INTERNO	0.31 mm
	LONGITUD	25 m
	ESPEJOR PELICULA	0.71 μ m
TEMPERATURAS	PORTAL INYECCION	270°C
	DETECTOR (FID)	270°C
GAS PORTADOR	NATURALEZA	Helio
	CAUDAL	1 ml/min
	PRESION	21 p.s.i.
MUESTRA INTRODUCIDA	SISTEMA INYECCION	splitless (50 s)
	CONCENTRACION	1 μ l (0.025 g en 1.8 g de disolvente)
	DURACION ANALISIS	20 - 40 min

En cuanto los programas de temperaturas empleados para llevar a cabo dicho análisis, se proponen dos. En la tabla 4.2 se detallan dichos programas. El primero de ellos se empleó para resolver el análisis de los ésteres más volátiles: oleato de isopropilo, palmitato de isopropilo y 2-metil-butirato de oleilo. El segundo programa de temperaturas se utilizó para solucionar el análisis de los ésteres más pesados: miristato de miristilo, oleato de oleilo y oleato de cetilo.

Tabla 4.2. Programas de temperaturas del cromatógrafo HP 5890 Series II.

	PROGRAMA 1	PROGRAMA 2
TEMPERATURA INICIAL	150°C	170°C
TIEMPO INICIAL	1 min	1 min
VELOCIDAD DE CALENTAMIENTO	5.5°C/min	10°C/min
TEMPERATURA FINAL	200°C	270°C
TIEMPO FINAL	15 min	20 min

4.2 CROMATOGRAFIA DE GASES-ESPECTROMETRIA DE MASAS

La identificación de las especies químicas producidas en el medio de reacción, se ha llevado a cabo mediante la técnica de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/EM). El análisis de las muestras se realizó en un aparato compacto de cromatografía de gases-espectrometría de masas Hewlett-Packard, modelo 5992B, provisto de una columna capilar.

4.2.1 ELECCION DE LA COLUMNA

La elección de la columna se realizó igual que en el caso de la cromatografía gas-líquido y, lógicamente, esta resultó ser una columna capilar de sílice fundida con un contenido del 5% de fenilmetilsilicona.

4.2.2. CONDICIONES DE OPERACION

Las condiciones de operación para el análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas se han elegido de la misma forma que en el caso del análisis mediante cromatografía gas-líquido. Dichas condiciones generales se detallan en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Condiciones de operación del equipo HP 5992B.

COLUMNA	MATERIAL	sflice fundida crosslinked con un 5% de fenilmetilsilicona
	DIAMETRO INTERNO	0.31 mm
	LONGITUD	12 m
	ESPEJOR PELICULA	0.71 μ m
ENERGIA DE IONIZACION		70 e.v.
RANGO DE MASAS EMPLEADO		150-550 u.m.a.
TEMPERATURA DEL PORTAL INYECCION		275°C
GAS PORTADOR	NATURALEZA	Helio
	CAUDAL	1 ml/min
	PRESION	10 p.s.i.
MUESTRA INTRODUCIDA	SISTEMA INYECCION	splitless (30 s)
	CONCENTRACION	1 μ l (0.020 g en 1.8 g de disolvente)
	TIEMPO DE ELUCION DEL DISOLVENTE	2 min

También en este caso el programa de temperaturas varía dependiendo de la volatilidad de los ésteres que se vayan a analizar, por eso, al igual que en el punto anterior, será necesario emplear dos programas de temperaturas. Dichos programas se detallan en la tabla 4.4. El primero se emplea para las muestras que presentan oleato de isopropilo, palmitato de isopropilo, 2-metil-butirato de oleilo y miristil miristato, mientras que el segundo se empleará para el oleato de oleilo y el oleato de cetilo.

Tabla 4.4. Programas de temperaturas del cromatógrafo HP 5890 Series II.

	PROGRAMA 1	PROGRAMA 2
TEMPERATURA INICIAL	150°C	170°C
TIEMPO INICIAL	5 min	1 min
VELOCIDAD DE CALENTAMIENTO 1	5.5°C/min	10°C/min
TEMPERATURA 1	200°C	270°C
TIEMPO 1	15 min	20 min
VELOCIDAD DE CALENTAMIENTO 2	50°C/min	50°C
TEMPERATURA FINAL	300°C	300°C
TIEMPO FINAL	5 min	5 min

4.3 RESULTADOS Y DISCUSION DEL METODO DE ANALISIS

A continuación se exponen los resultados obtenidos mediante Cromatografía Gas-Líquido. En las figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6 se puede observar los cromatogramas típicos correspondientes a las muestras de las reacciones de esterificación entre los diferentes ácidos y los alcoholes grasos correspondientes. En las Tablas 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 y 4.10 se recogen los picos obtenidos en los análisis, los tiempos de retención correspondientes a cada uno de los picos y el nombre de los compuestos correspondientes a los picos identificados.

Exceptuando los picos correspondientes a los ácidos y alcoholes grasos de partida, el resto son desconocidos. La identificación de estos picos, se llevará a cabo empleando la técnica de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas.

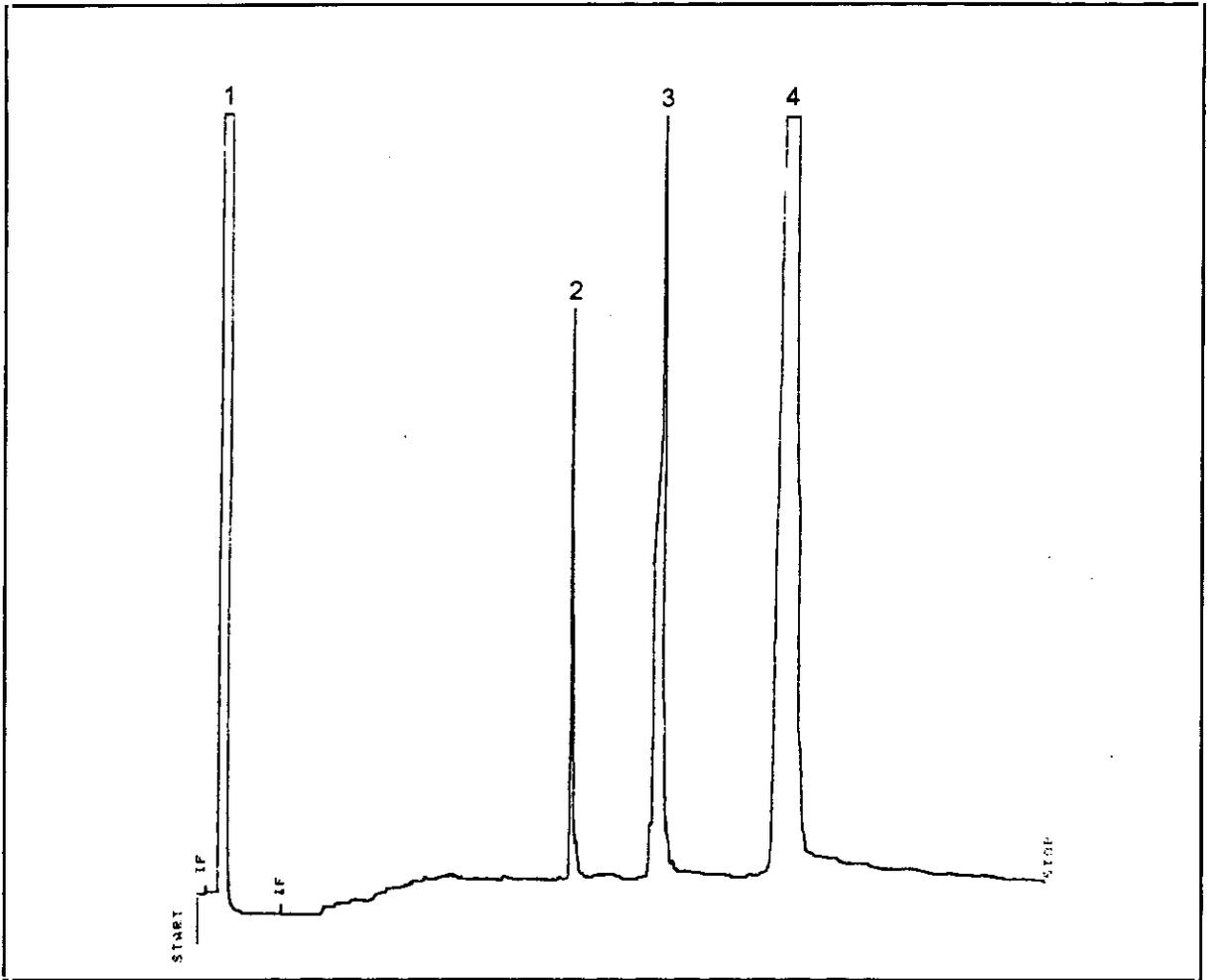


Figura 4.1. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol oleico.

Tabla 4.5. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido oleico con alcohol oleico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	13.728	Alcohol Oleico
3	19.981	Acido Oleico
4	32.557	Desconocido

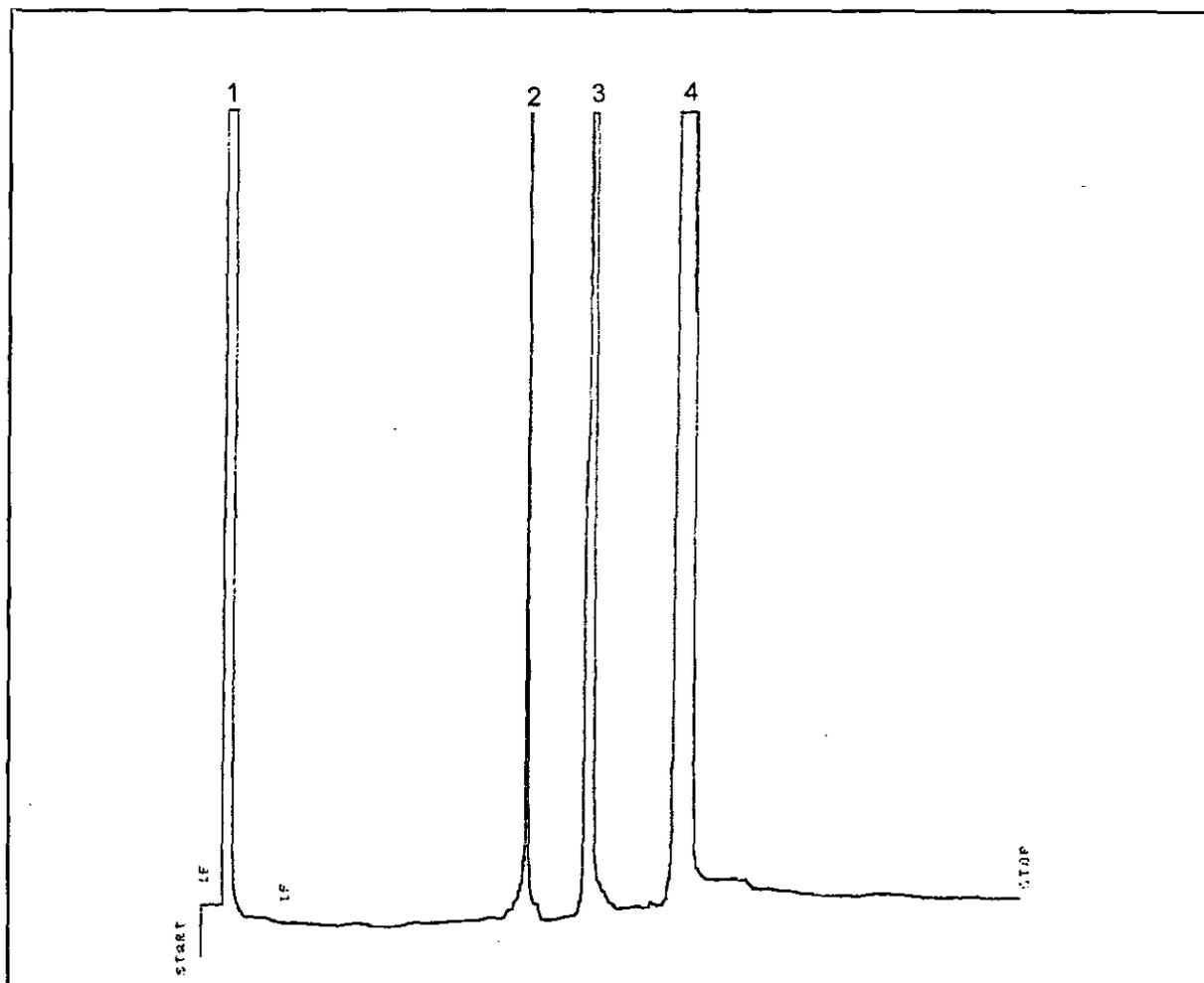


Figura 4.2. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol cetílico.

Tabla 4.6. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido oleico con alcohol cetílico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	12.012	Alcohol Cetílico
3	19.982	Acido Oleico
4	30.176	Desconocido

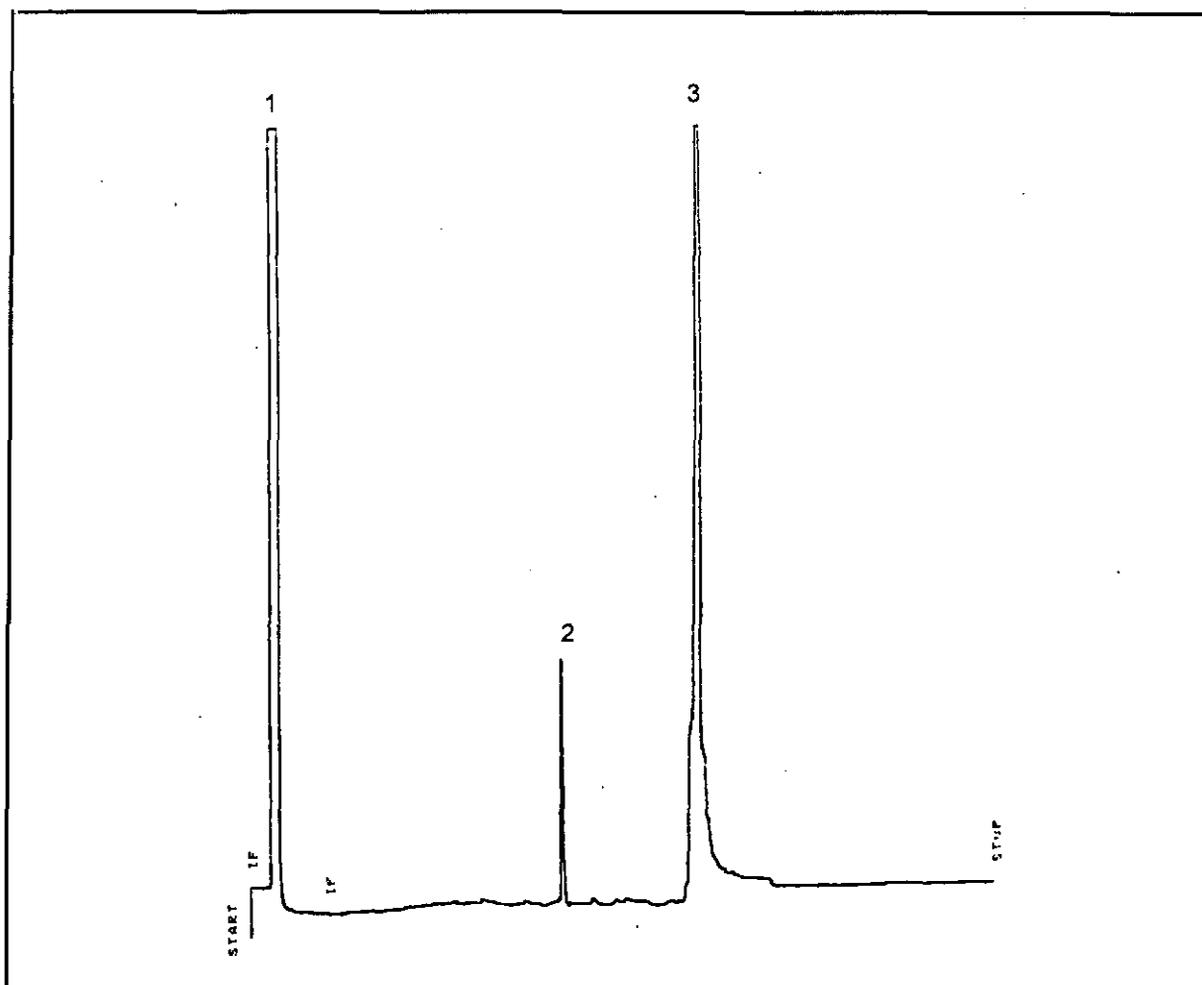


Figura 4.3. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol isopropílico.

Tabla 4.7. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido oleico con alcohol isopropílico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	25.752	Acido Oleico
3	28.957	Desconocido

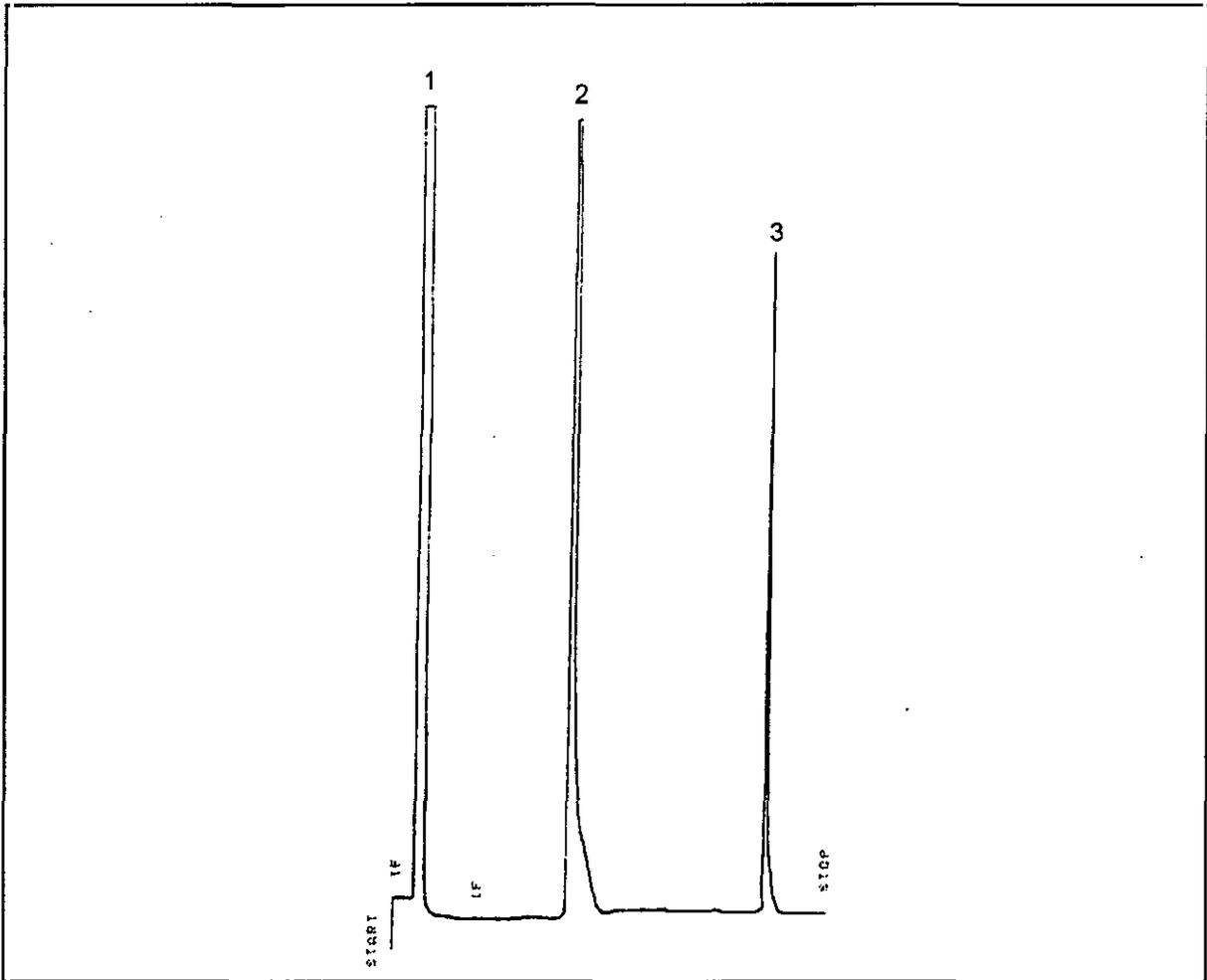


Figura 4.4. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido palmítico y el alcohol isopropílico.

Tabla 4.8. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido palmítico con alcohol isopropílico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	18.528	Acido Palmítico
3	20.311	Desconocido

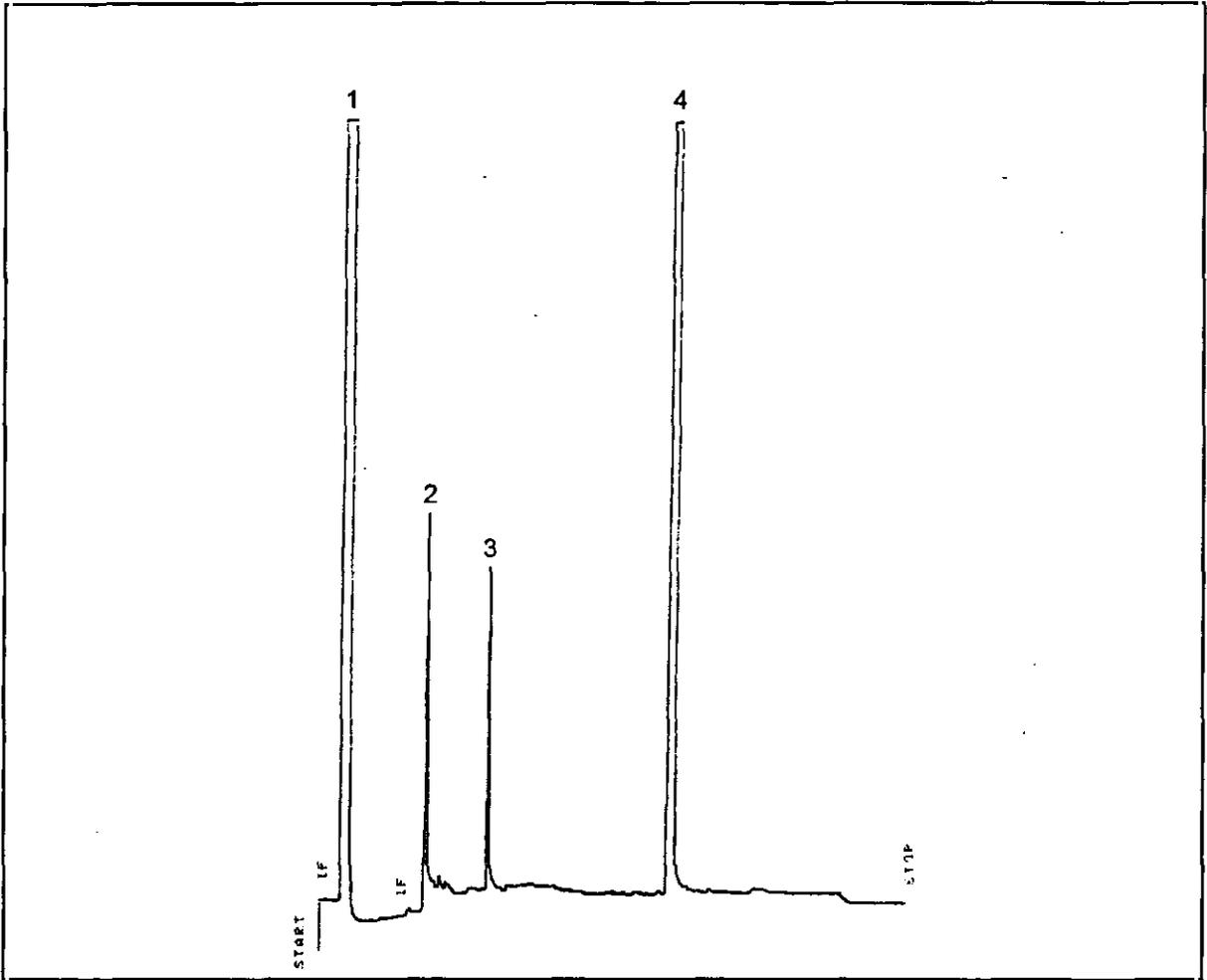


Figura 4.5. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido mirístico y el alcohol mirístico.

Tabla 4.9. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido mirístico con alcohol mirístico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	6.635	Alcohol Mirístico
3	8.469	Acido Mirístico
4	22.395	Desconocido

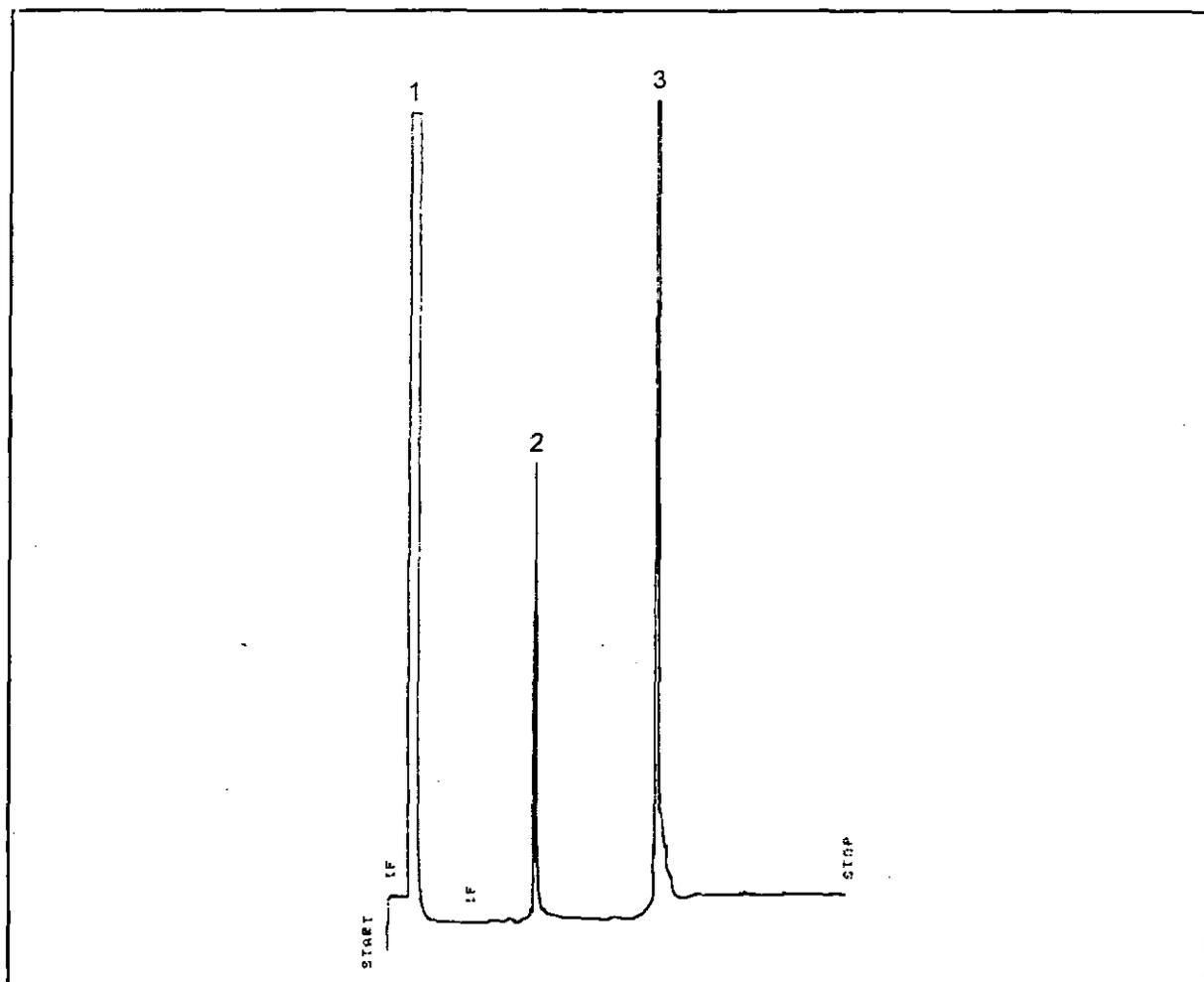


Figura 4.6. Cromatograma tipo de la reacción de esterificación entre el ácido 2-metil-butírico y el alcohol oleico.

Tabla 4.10. Tiempos de retención de las especies de reacción en la esterificación del ácido 2-metil-butírico con alcohol oleico.

PICO	TIEMPO RETENCION (min)	COMPUESTO
1	-	Disolvente
2	16.757	Alcohol Oleico
3	19.406	Desconocido

Del análisis realizado empleando la técnica de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas, se obtuvieron los correspondientes espectros en términos de abundancias relativas de cada fragmentación en relación al pico base.

En las Figuras 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 y 4.12 se muestran, los espectros correspondientes a las muestras de reacción analizadas. Analizando los espectros de masas correspondientes a los productos mayoritarios de los seis tipos de muestra de reacción, se pudo comprobar que los compuestos desconocidos correspondían a los ésteres objeto de síntesis.

En la Tabla 8 se recogen los tiempos de retención de los picos desconocidos en cromatografía de gases, así como la masa molecular a la que corresponden dichos compuestos según el análisis de los espectros obtenidos por espectrometría de masas, lo que conduce a la identificación de los compuestos en cuestión.

Tabla 4.11. Interpretación de los espectros. Identificación del los productos de reacción.

SISTEMA REACCION	TIEMPO RETENCION (min)	MASA (u.m.a.)	COMPUESTO
ácido oleico alcohol oleico	32.557	532	Oleato de Oleilo
ácido oleico alcohol cetílico	30.176	506	Oleato de Cetilo
ácido oleico alcohol isopropílico	28.957	324	Oleato de Isopropilo
ácido palmítico alcohol isopropílico	20.311	298	Palmitato de Isopropilo
ácido mirístico alcohol mirístico	22.395	424	Miristato de Miristilo
ácido 2-metil-butírico alcohol oleico	19.406	352	2-metil-butirato de Oleilo

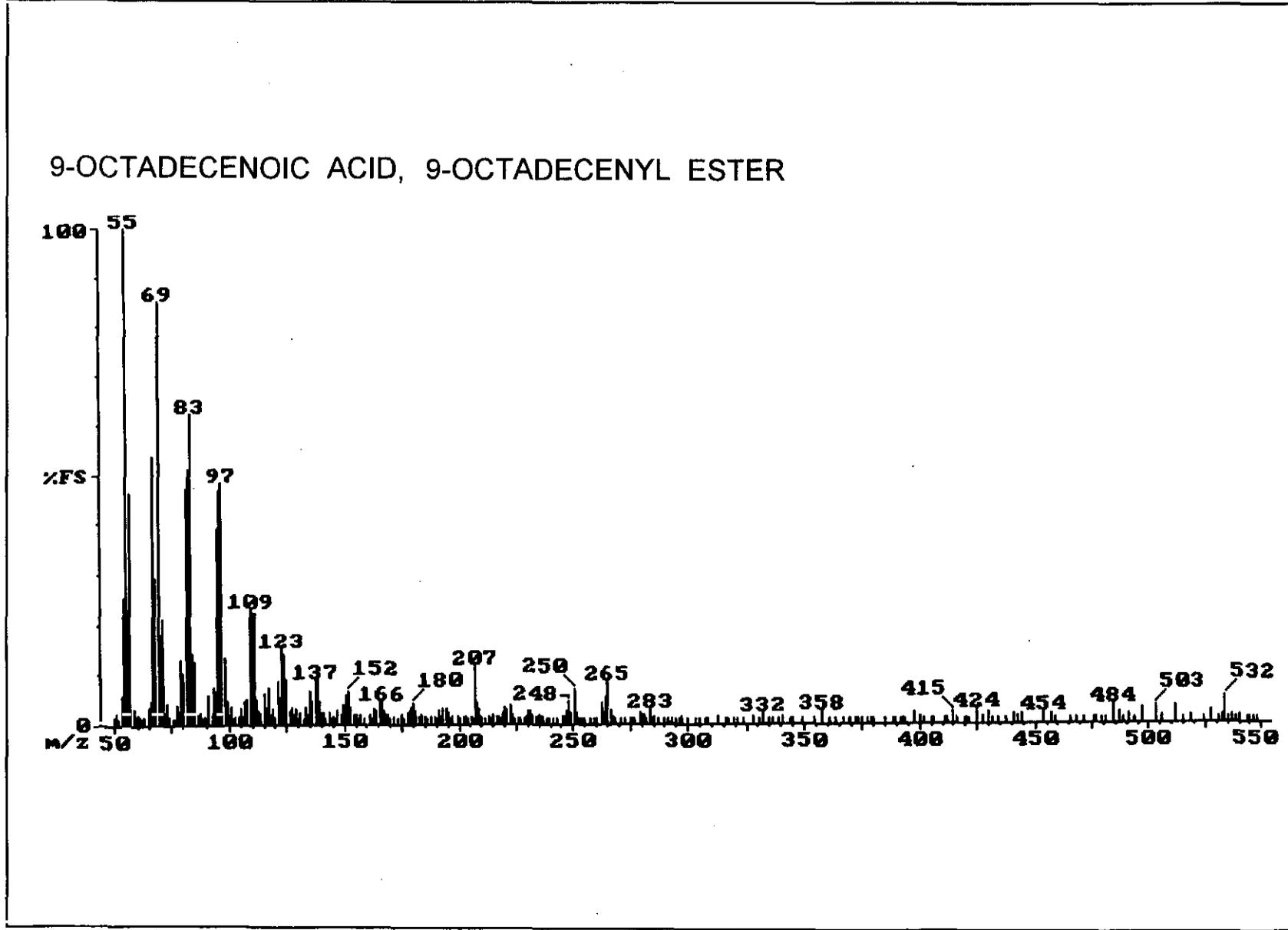


Figura 4.7. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido oleico con alcohol oleico.

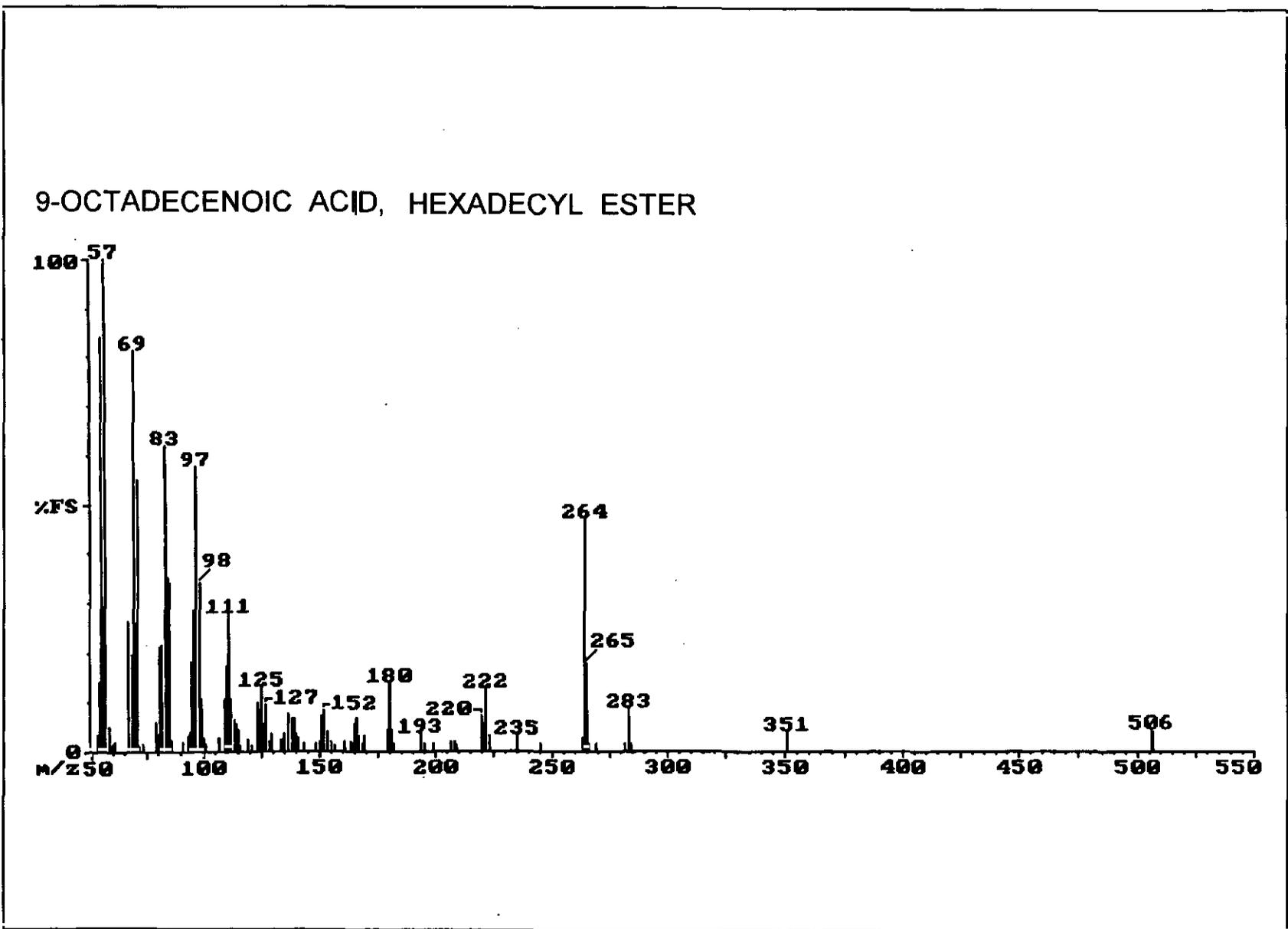


Figura 4.8. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido oleico con alcohol cetílico.

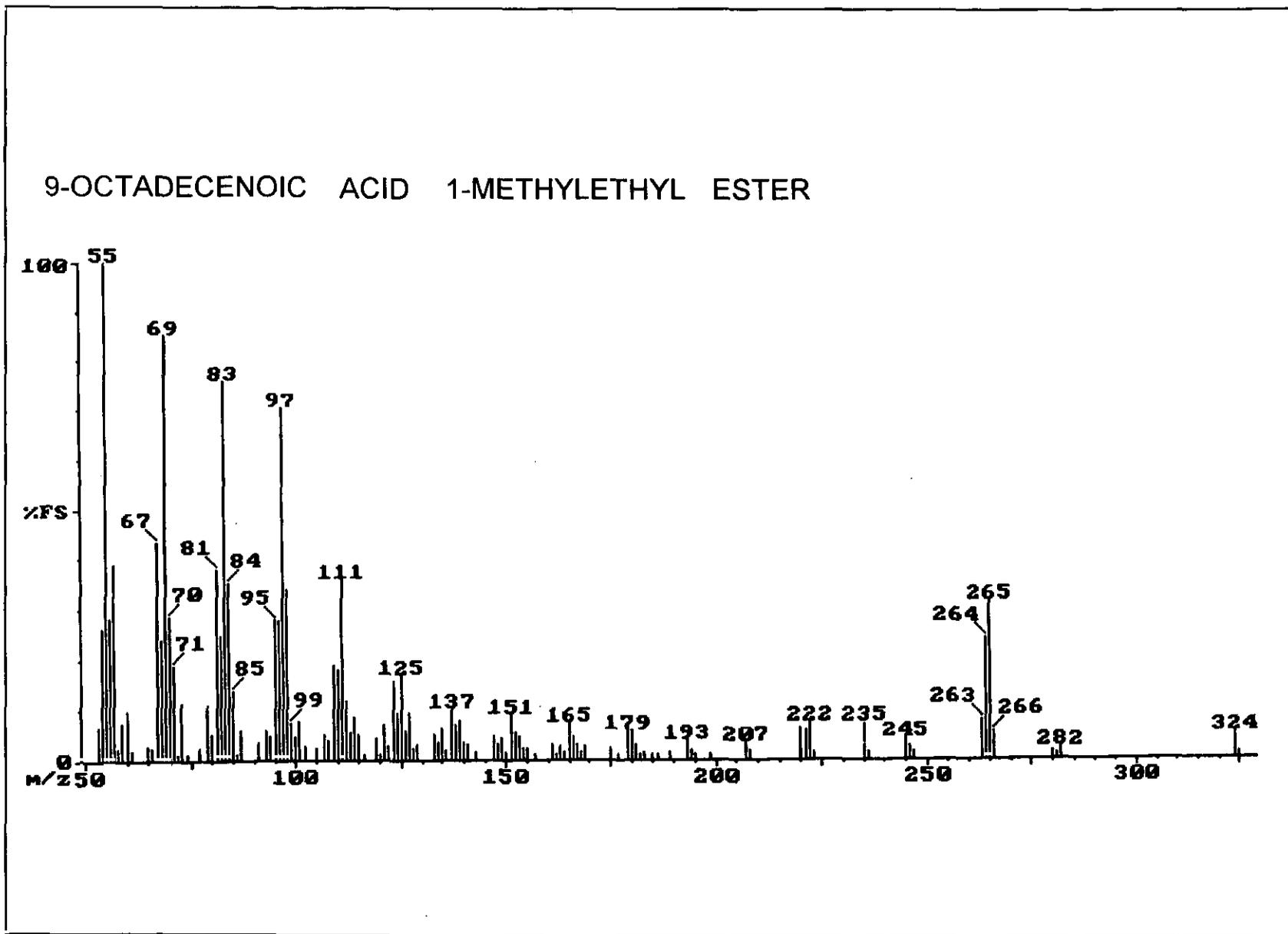


Figura 4.9. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido oleico con alcohol isopropílico.

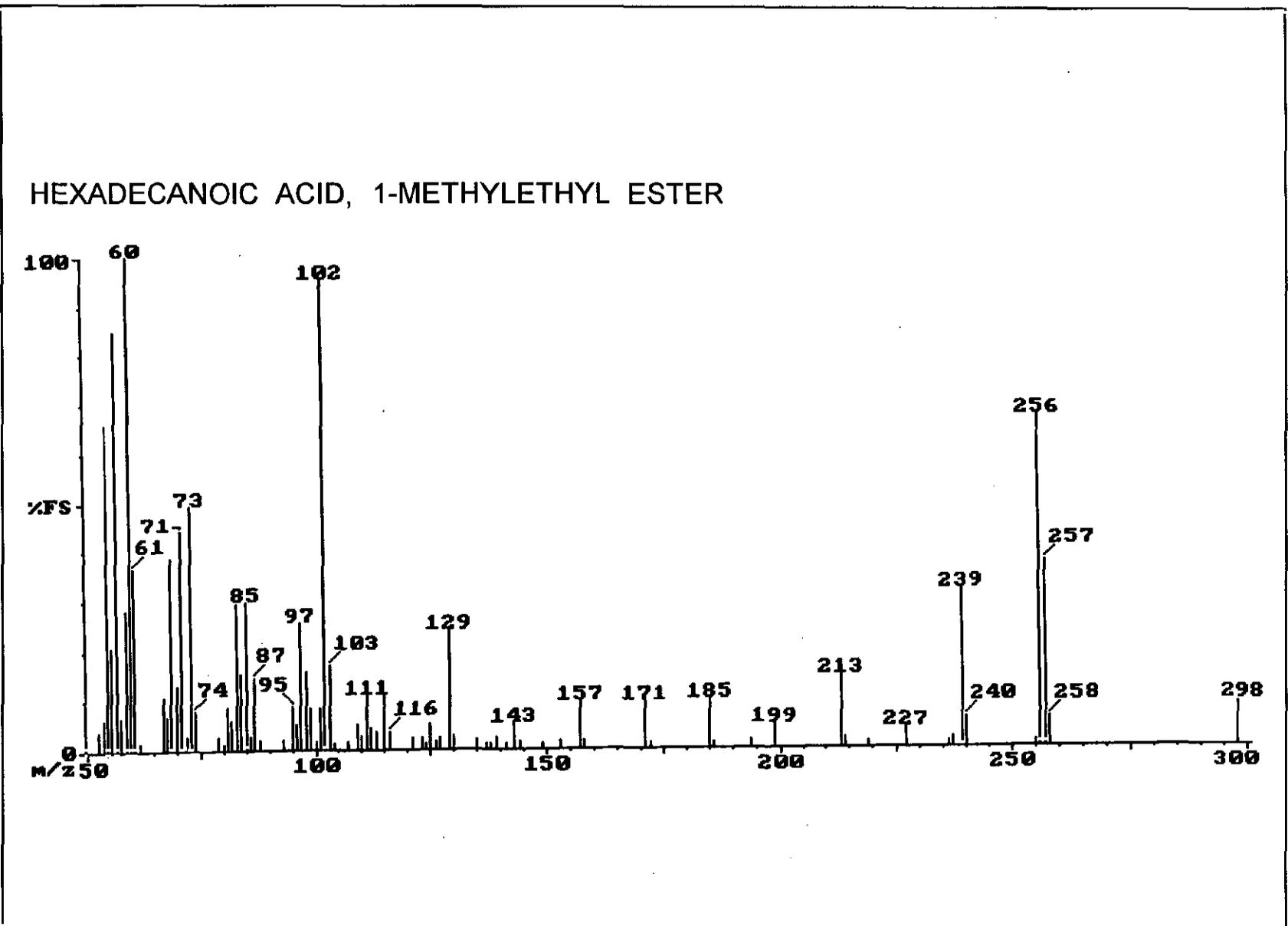


Figura 4.10. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido palmítico con alcohol isopropílico.

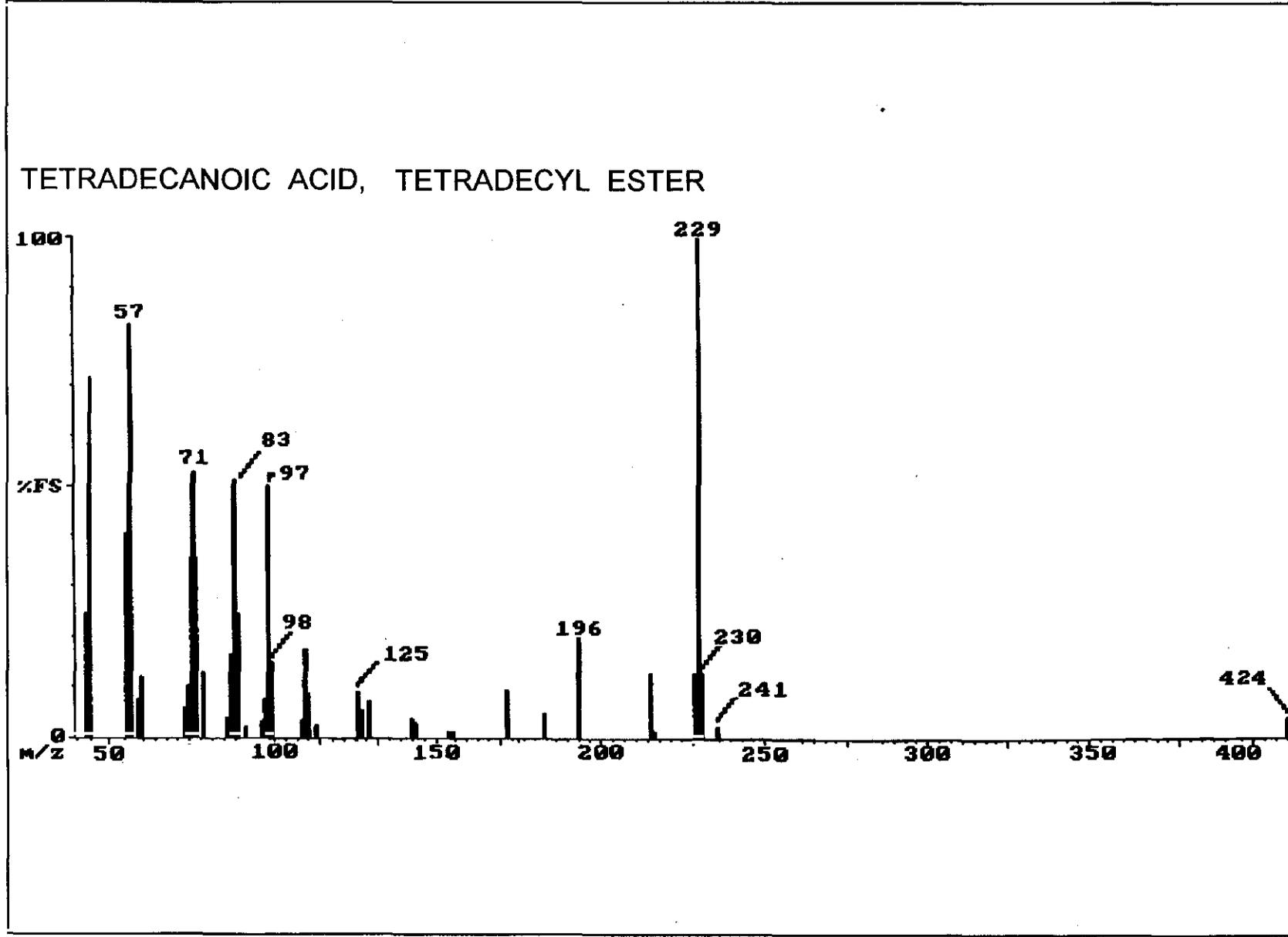


Figura 4.11. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido mirístico con alcohol mirístico.

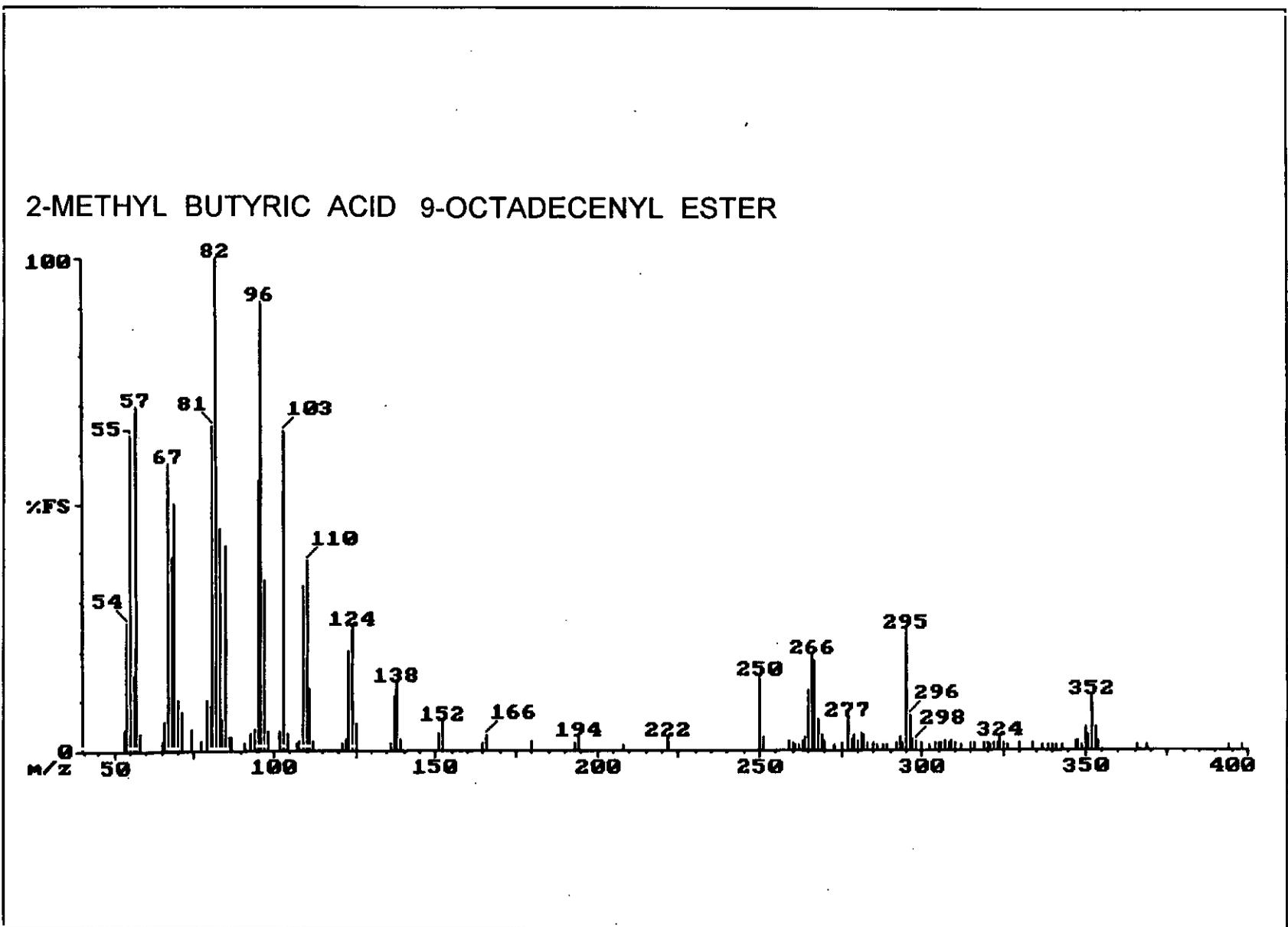


Figura 4.12. Espectro de masas correspondiente a una muestra de la reacción de esterificación de ácido 2-metil-butírico con alcohol oleico.

Habida cuenta de la necesidad de cuantificar las especies existentes en el medio de reacción, una vez identificadas dichas especies, así como sus correspondientes tiempos de retención en Cromatografía Gas-Líquido, se procedió al cálculo de las rectas de calibrado para los diferentes ácidos grasos empleados como productos de partida en la reacción de esterificación con isopropanol.

Dichas rectas de calibrado, se han obtenido relacionando la razón entre el peso de ácido graso y el peso de la sustancia patrón, con la razón entre las áreas de ácido graso y de sustancia patrón correspondientes a dichos pesos, cuyo valor se ha mantenido dentro del intervalo que cabe ser esperado para cada una de las muestras de reacción.

5. ELECCION DEL CATALIZADOR

Con el fin de conocer el comportamiento de los diferentes sistemas estudiados frente a los diferentes sistemas catalíticos disponibles, se llevaron a cabo una serie de experimentos previos que se detallaran en el presente capítulo. Los sistemas catalíticos empleados a tal fin están constituidos por una sal metálica, cloruro de estaño (II) pentahidratado, cuatro formas comerciales de la lipasa de *Mucor miehei* y tres formas comerciales de la lipasa de *Candida antarctica*.

Para cada uno de los sistemas de reacción planteados, se realizaron los experimentos correspondientes, uno por cada tipo de catalizador. Las condiciones de operación para cada serie de experimentos se fijaron inicialmente, teniendo en cuenta las limitaciones planteadas en el capítulo tres. Obviamente, es necesario mantener dichas condiciones de operación constantes durante la reacción para que los experimentos sean comparables desde el punto de vista de la actividad catalítica. En este sentido, la validez de cada una de las especies catalíticas propuestas se comprobó midiendo la conversión del ácido graso de partida en el ester buscado, a lo largo del tiempo de reacción.

Como se verá a continuación, la elección del catalizador se realizó teniendo en cuenta tanto la conversión como la selectividad de los diferentes sistemas catalíticos.

5.1 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ALCOHOL OLEICO

Con el fin de cumplir los objetivos propuestos se realizaron ocho experimentos, cuyas condiciones de operación se resumen en la tabla 5.1. En todos los casos los reactivos de partida fueron el ácido oleico y el alcohol oleico.

Tabla 5.1. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Oleato de Oleilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
POO1	Lipozyme IM20	1:1	70	60	5
POO2	Lipozyme IM50	1:1	70	60	5
POO3	Lipozyme IM	1:1	70	60	5
POO4	Lipozyme 10.000	1:1	40	710	5
POO5	SP 435-A	1:1	70	60	5
POO6	SP 435-L	1:1	70	60	5
POO7	Novozym 435	1:1	70	60	5
POO8	SnCl ₂ .5H ₂ O	1:1	180	60	1

El tiempo de reacción total fue de tres horas para todas las reacciones, salvo en el caso en que el catalizador empleado es cloruro de estaño, donde el tiempo total de reacción fue de siete horas. En el primer caso se pudo comprobar que las variaciones en la conversión de ácido en éster a partir de las dos horas de reacción era en todos los casos inferior al 2%, por lo que se puede considerar que para dicho tiempo de reacción se ha alcanzado el equilibrio.

En la figura 5.1 se representan las diferentes conversiones alcanzadas a las dos horas de reacción para los diferentes sistemas catalíticos. Como puede observarse, se dan dos casos en los que la conversión está muy por debajo del valor medio obtenido con los demás sistemas catalíticos. El primer caso corresponde a la lipasa de *Mucor miehei* en disolución, en el que la conversión obtenida

a las dos horas es del 30.05%. Este valor tan bajo puede deberse a dos factores: Por una parte, la temperatura de trabajo es muy inferior por motivos de estabilidad de la propia lipasa, lo que influye directamente sobre el salto energético necesario para que la reacción tenga lugar. Por otra parte, al estar la lipasa en disolución, existe una concentración de agua en el medio de reacción que le es desfavorable al equilibrio de formación de productos, por lo que la conversión en ester se ve notablemente disminuida, aunque podría mejorarse aumentando el tiempo de reacción.

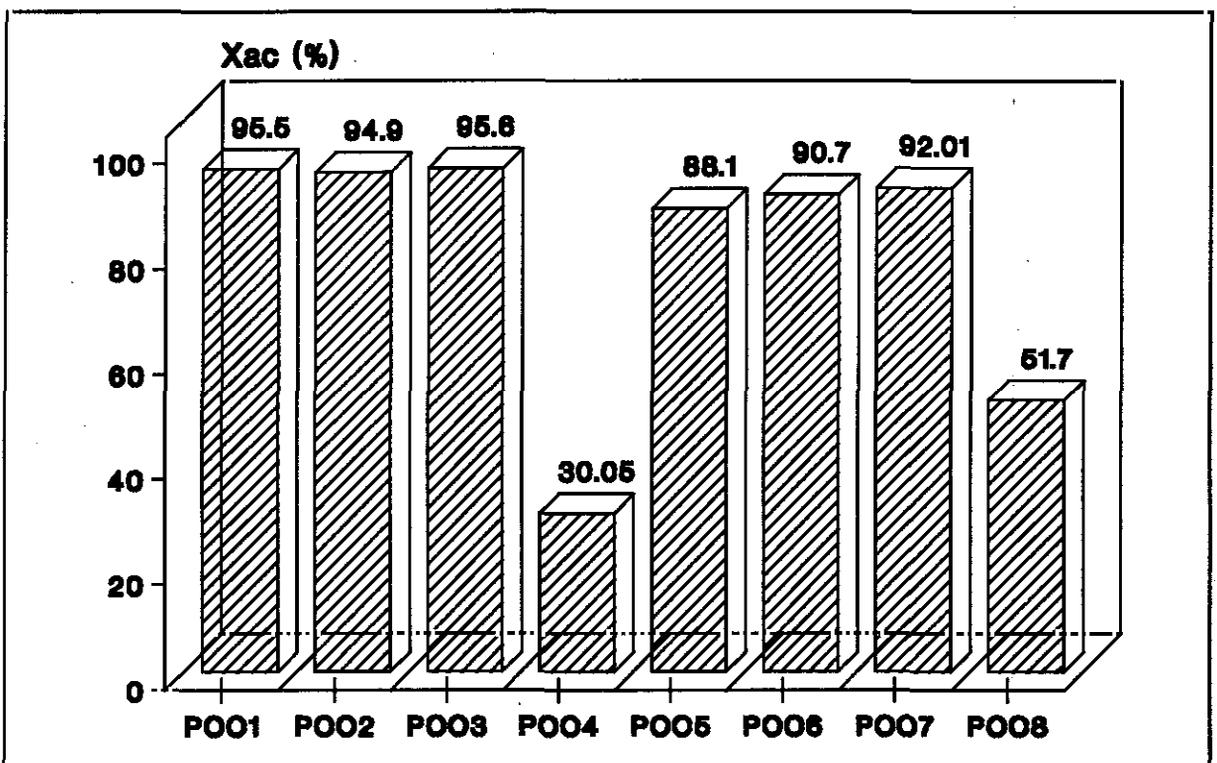


Figura 5.1. Conversiones en oleato de oleilo a las dos horas de reacción.

Cuando la conversión a las dos horas sólo alcanza el 51.7%, el catalizador empleado es cloruro de estaño. En este caso, la conversión obtenida a las siete horas de reacción casi alcanza el 80%, sin embargo, la temperatura necesaria es de 180°C, lo que da lugar a la aparición de reacciones secundarias de oxidación y polimerización, por lo que este sistema catalítico tampoco es adecuado para nuestros objetivos, ya que sería necesario someter el producto a operaciones de purificación.

En cuanto al resto de los sistemas catalíticos empleados, puede observarse que las conversiones obtenidas con lipasas inmovilizadas de *Mucor miehei* son ligeramente superiores a las obtenidas con las lipasas inmovilizadas de *Candida antarctica*, lo que indica que aunque los dos tipos de lipasas presentan una actividad similar hacia ambos sustratos, los catalizadores constituidos por la primera de ellas son más adecuados para esta síntesis. De los tres sistemas catalíticos elegidos, puede observarse que la menor conversión obtenida, 94.9% se obtiene cuando el catalizador es el sistema Lipozyme IM-50 que, curiosamente, es el que mayor actividad nominal presenta en las especificaciones. Esto indica que la especificidad de los catalizadores no sólo depende de la cantidad de enzima inmovilizada sobre el soporte en cuestión, sino que también depende de los parámetros característicos de dicho soporte.

Si comparamos la superficie específica de los catalizadores, podemos observar que tanto para la lipasa Lipozyme IM, como para la Lipozyme IM-50, el valor observado es del mismo orden de magnitud, 60 m²/g, mientras que para la lipasa Lipozyme IM-20, el valor obtenido es casi la mitad, 35.8 m²/g. Como para los preparados IM e IM-20, las conversiones son muy similares, esto indicaría que la conversión no se ve afectada por este parámetro en las condiciones de reacción fijadas.

Sin embargo, si comparamos los valores del diámetro medio de poro, podemos observar que en el caso del sistema Lipozyme IM-50, el valor obtenido, 243.4 Å, es mayor que en los otros dos casos, 142.1 Å para el sistema Lipozyme IM-20 y 175.9 Å para el Lipozyme IM. Esto se traduce en un aumento de la conversión a medida que el diámetro de poro medio disminuye.

A la vista de estos resultados, puede decirse que la reacción tiene lugar exclusivamente en la superficie, puesto que de no ser así, al disminuir el diámetro medio de poro la conversión disminuiría, ya que tanto los reactivos como los productos encontrarían una mayor resistencia en las posibles etapas de difusión interna, llegando al bloqueo de los canales porosos en los casos extremos. No obstante esta etapa no tiene lugar, puesto que no se ha apreciado muestra alguna de desactivación.

5.2 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ALCOHOL CETILICO

La elección de catalizador para esta síntesis se llevó a cabo de forma análoga. Los reactivos de partida fueron ácido oleico y alcohol cetílico. Las condiciones de operación para estos experimentos previos se fijaron según la metodología descrita en el capítulo tres. En la tabla 5.2 se resumen las condiciones de operación para dicho sistema de esterificación.

Tabla 5.2. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Oleato de Cetilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
POC1	Lipozyme IM20	1:1	75	60	5
POC2	Lipozyme IM50	1:1	75	60	5
POC3	Lipozyme IM	1:1	75	60	5
POC4	Lipozyme 10.000	1:1	55	710	5
POC5	SP 435-A	1:1	75	60	5
POC6	SP 435-L	1:1	75	60	5
POC7	Novozym 435	1:1	75	60	5
POC8	SnCl ₂ ·5H ₂ O	1:1	180	60	1

A excepción de las reacciones en las que se emplea como catalizador cloruro de estaño y Lipozyme 10.000, cuyo tiempo total de reacción fue de siete horas, en el resto de los experimentos el tiempo total de operación fue de tres horas, aunque no se obtuvieron variaciones importantes en la conversión a partir de las dos horas de reacción.

En la figura 5.2 se muestra el valor de la conversión obtenido a las dos horas de reacción para los ocho sistemas catalíticos probados. Como puede observarse la conversión obtenida empleando cloruro de estaño como catalizador alcanza el 43.5%, mientras que para las siete horas de reacción se llega hasta un 81.2%. Al igual que en caso anterior se observa un pardeo importante, típico de la

oxidación de la mezcla de reacción, así como una disminución en la selectividad del catalizador, puesto que aparecen productos indeseables en el medio de reacción procedentes de reacciones secundarias que deben eliminarse vía purificación para que el producto final cumpla especificaciones.

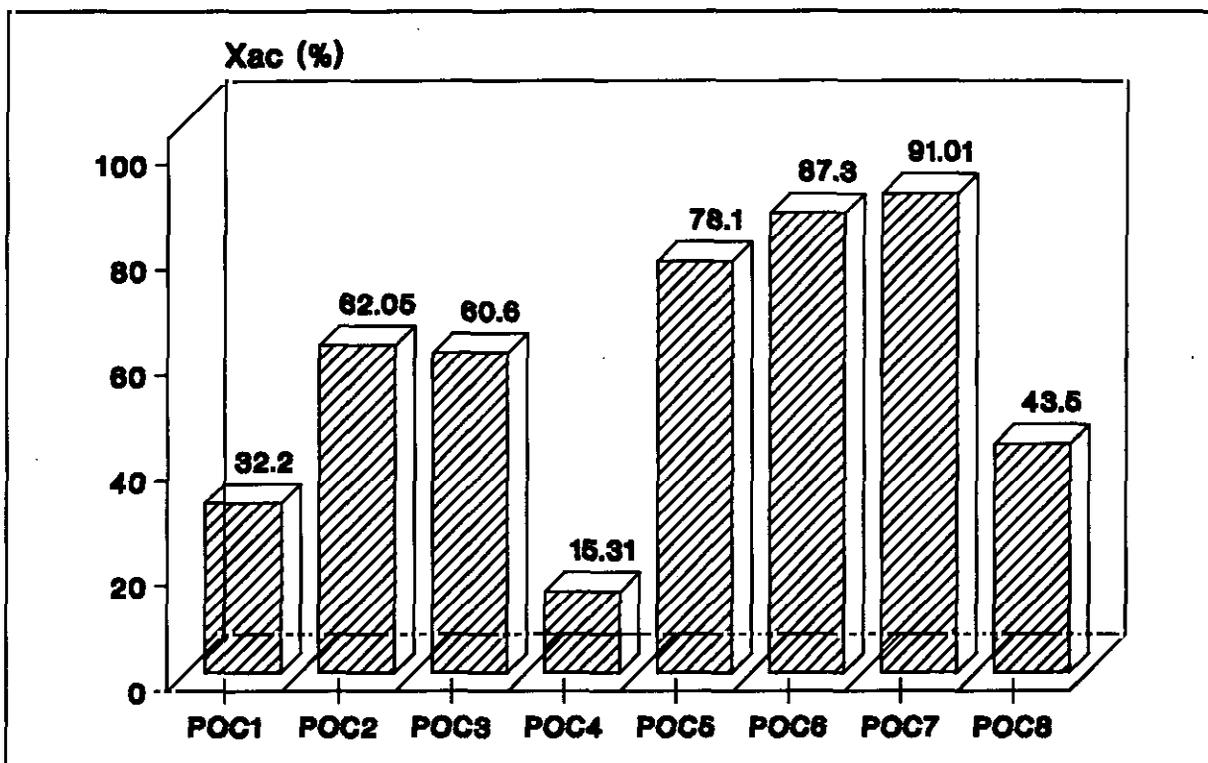


Figura 5.2. Conversiones en oleato de cetilo a las dos horas de reacción.

Como puede observarse, la actividad de los sistemas catalíticos constituidos por la lipasa de *Candida antarctica* frente a los reactivos de partida es muy superior a la observada en los sistemas enzimáticos obtenidos a partir de la lipasa de *Mucor miehei*. Lo que indica que esta última se ve parcialmente inhibida por la presencia del alcohol cetílico.

En cuanto a los catalizadores de *Candida antarctica*, podemos decir que para el preparado de mayor actividad catalítica nominal, SP-435 A, se obtiene una menor conversión (78.1%). Esto significa que las características de los soportes juegan un papel relativamente importante. El soporte del

catalizador SP-435 A presenta una superficie específica de $29.17 \text{ m}^2/\text{g}$, menos de la mitad que el sistema catalítico SP-435 L, $67.23 \text{ m}^2/\text{g}$, y menos de una tercera parte de la superficie específica del preparado Novozym 435, $95.50 \text{ m}^2/\text{g}$. En estos dos últimos casos, se observa un aumento de la conversión hasta un 87.3% en el primero y hasta un 91.01% en el segundo.

Por otra parte, el diámetro medio de poro aumenta desde 179.2 \AA en el sistema Novozym 435 hasta 210.1 \AA para el sistema SP-435 L, y 291.7 \AA para el catalizador SP-435 A. Según estos valores, puede decirse que el rendimiento del proceso se mejoraría empleando sistemas enzimáticos procedentes de lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada sobre soportes con elevada superficie específica y pequeño diámetro de poro medio.

El aumento de la conversión con el aumento de la superficie específica, puede explicarse teniendo en cuenta que la formación de enlaces entre los centros activos de la lipasa y los correspondientes sustratos tiene lugar en la superficie del soporte, lo que indica también que la lipasa debe inmovilizarse por adsorción, puesto que la cantidad de enzima que no se encuentre en la superficie del catalizador no va a ser efectiva para que la reacción tenga lugar.

Por otra parte, un aumento de la conversión con la disminución del tamaño de poro medio implica que los reactivos no es necesario que se de un transporte de los reactivos a través de los poros del soporte, puesto que si fuese así, bien los reactivos, bien los productos de reacción bloquearían dichos canales, con la consiguiente desactivación del sistema catalítico.

Este hecho confirma que la reacción tiene lugar en la superficie externa del catalizador y que, por tanto, interesa emplear sistemas con superficie externa elevada y diámetro de poro medio mínimo. Por eso el sistema catalítico elegido fue el preparado Novozym 435, por ser este el que mejores condiciones reúne para este sistema de reacción.

5.3 ESTERIFICACION DE ACIDO MIRISTICO CON ALCOHOL MIRISTICO

Los reactivos empleados en este grupo de experimentos previos fueron ácido mirístico y alcohol mirístico en todos los casos. Al igual que en los casos anteriores las condiciones de operación se fijaron teniendo en cuenta el razonamiento propuesto en el capítulo tres de este trabajo. En la tabla 5.3 se muestran dichas condiciones de operación.

Tabla 5.3. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Miristato de Miristilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
PMM1	Lipozyme IM20	1:1	70	60	5
PMM2	Lipozyme IM50	1:1	70	60	5
PMM3	Lipozyme IM	1:1	70	60	5
PMM4	Lipozyme 10.000	1:1	60	710	5
PMM5	SP 435-A	1:1	70	60	5
PMM6	SP 435-L	1:1	70	60	5
PMM7	Novozym 435	1:1	70	60	5
PMM8	SnCl ₂ ·5H ₂ O	1:1	180	60	1

Como en los casos anteriores, el tiempo de reacción se fijó en tres horas, observándose que transcurridas dos horas puede considerarse que se ha alcanzado el equilibrio. También se mantuvieron operando los reactores durante siete horas para las reacciones catalizadas por cloruro de estaño y Lipozyme 10.000. En estos dos últimos casos, la conversión aumentó en las cinco horas siguientes desde 38.7% a 65.2% y de 6.51% a 8.25% respectivamente. Lo que indica que en ninguno de los dos casos el sistema catalítico sea competitivo frente a los demás sistemas empleados. Puesto que en el primer caso se produce una notable coloración debida a las reacciones secundarias, mientras que en el segundo se produce una caída de la conversión considerable, probablemente por el valor en el que se ha fijado la temperatura de operación para mantener los reactivos en estado líquido.

En la figura 5.3 se muestran valores obtenidos para la conversión de ácido en éster a las dos horas de reacción para los diferentes sistemas catalíticos empleados.

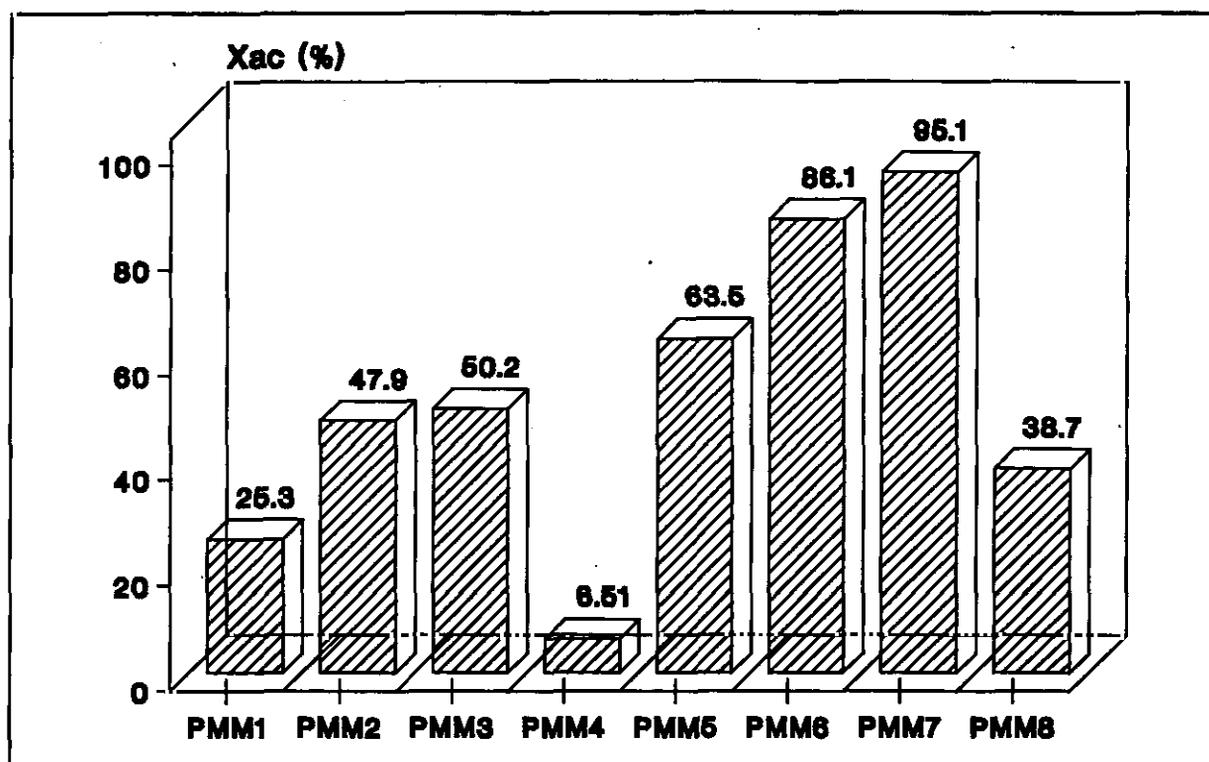


Figura 5.3. Conversiones en miristato de miristilo a las dos horas de reacción.

En este caso también se observa un mayor rendimiento por parte de los catalizadores constituidos por la lipasa de *Candida antarctica*. Esto indica una disminución considerable en la selectividad de la lipasa de *Mucor miehei* frente a este tipo de reactantes, que puede estar justificada por sus respectivos puntos de fusión, ya que tanto los pesos moleculares como la longitud de la cadena de ambos es menor que en los casos anteriores, hechos que, en un principio, podrían favorecer un aumento de la actividad enzimática, así como de su selectividad.

La disminución en la conversión en cuanto a los catalizadores constituidos por la lipasa de *Candida antarctica* también aumenta con respecto a los anteriores sistemas de reacción, lo que indica

que la naturaleza de los reactivos de partida influye negativamente en el proceso de reacción. Dentro de este grupo de catalizadores, de nuevo se observa que el valor mínimo de la conversión se obtiene para el sistema catalítico de mayor actividad nominal, SP-435 A (10.200 PLU), lo que supone una dependencia de la conversión de ácido graso en ester con la naturaleza de los soportes sobre los que se encuentra inmovilizada la lipasa.

La diferencia de conversiones obtenidas entre estos tres catalizadores es similar a la observada en el sistema de reacción ácido oleico-alcohol cetílico. Esto significaría que los efectos ejercidos por los valores de superficie específica y diámetro medio de poro de los soportes son básicamente idénticos a los ejercidos en el sistema anterior. Por lo tanto, en este caso también el proceso se ve favorecido por sistemas de la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada sobre soportes con superficie específica elevada y diámetro medio de poro mínimo.

Una vez más se confirma que la reacción tiene lugar en la superficie externa del catalizador y que a medida que el diámetro de poro aumenta, se favorece un transporte de moléculas a través de los poros del catalizador que se traduce bien en un ensuciamiento del mismo, bien en un fenómeno de inhibición de la enzima, por lo que, en ambos casos, la actividad catalítica se ve parcialmente disminuida.

Según los valores obtenidos para la conversión de ácido mirístico en miristato de miristilo, 63.5%, 86.1% y 95.1% para los tres sistemas catalíticos procedentes de la lipasa de *Candida antarctica*, SP-435 A, SP-435 L y Novozym 435 respectivamente, puede decirse que el catalizador más adecuado para la reacción objeto de estudio es este último, puesto que ofrece, dentro del intervalo de operación, las mejores posibilidades.

5.4 ESTERIFICACION DE ACIDO OLEICO CON ISOPROPANOL

Para la elección del sistema catalítico más adecuado para esta reacción de esterificación, se llevaron a cabo ocho experimentos previos, en los que las condiciones de operación se fijaron en base a las características y especificaciones de los componentes del medio de reacción (capítulo tres). En este caso las condiciones de operación vienen impuestas, principalmente por la naturaleza del alcohol de partida, isopropanol. En la tabla 5.4 se hace un resumen de dichas condiciones de operación.

Tabla 5.4. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Oleato de Isopropilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
PIPO1	Lipozyme IM20	1:1	70	710	5
PIPO2	Lipozyme IM50	1:1	70	710	5
PIPO3	Lipozyme IM	1:1	70	710	5
PIPO4	Lipozyme 10.000	1:1	40	710	5
PIPO5	SP 435-A	1:1	70	710	5
PIPO6	SP 435-L	1:1	70	710	5
PIPO7	Novozym 435	1:1	70	710	5
PIPO8	SnCl ₂ ·5H ₂ O	1:1	70	710	1

El tiempo de reacción se fijó en tres horas, observándose que transcurridas dos horas puede considerarse que se ha alcanzado el equilibrio, puesto que el aumento en la conversión es prácticamente despreciable en la última hora de reacción. Excepto para las reacciones catalizadas por cloruro de estaño y Lipozyme 10.000, cuyo tiempo de reacción total fué de siete horas. En estos dos últimos casos, la conversión pasó de un valor de 62.3% y 5.33% a las dos horas de reacción a tomar valores de 80.2% y 6.31%, a las siete horas, respectivamente. Cuando el catalizador es cloruro de estaño, el medio de reacción se oscurece, al igual que sucedía en los sistemas anteriores debido a posibles reacciones de oxidación o de formación de polímeros, lo que hace necesario un tratamiento de

purificación tanto para eliminar dichos productos secundarios como para eliminar los metales pesados provenientes del propio catalizador, ya que se requiere que el producto final sea inocuo.

En cuanto a los resultados obtenidos, cuando se emplea como catalizador la lipasa en disolución, puede decirse que dejan mucho que desear, ya que las conversiones son ridículas en comparación con los demás sistemas empleados. En la figura 5.4 se representan las conversiones obtenidas al cabo de las dos horas de reacción con los diferentes sistemas catalíticos empleados.

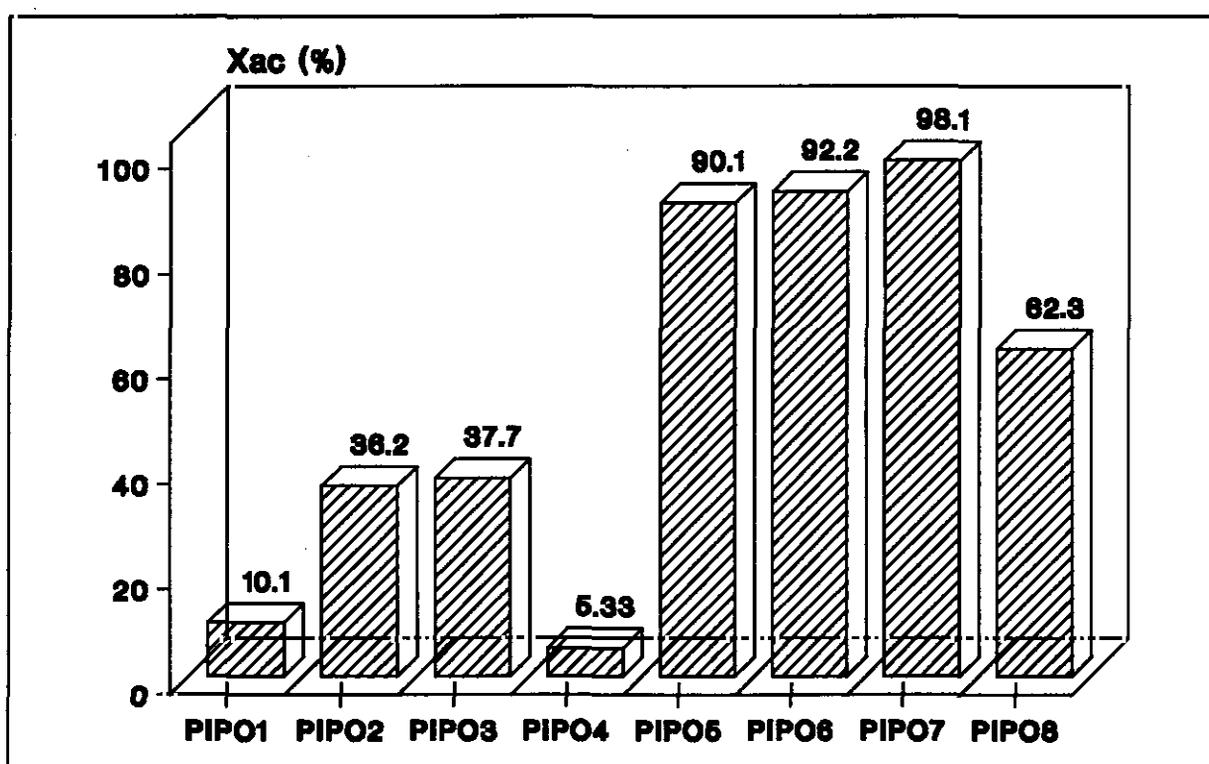


Figura 5.4. Conversiones en oleato de isopropilo a las dos horas de reacción.

En este caso también puede observarse claramente una mayor reactividad dada por el empleo de lipasas de *Candida antarctica* inmovilizadas, obteniéndose conversiones en oleato de isopropilo superiores al 90% en los tres casos en los que el catalizador está constituido por este tipo de lipasa. Por el contrario, cuando el sistema catalítico lo conforma la lipasa de *Mucor miehei*, las conversiones

alcanzadas a las dos horas de reacción no llegan al 40% en los casos más favorables, cayendo, incluso, hasta un 10.1% cuando el catalizador empleado es el sistema Lipozyme IM-20 que presenta un soporte con baja superficie específica, 35.8 m²/g, pequeño diámetro medio de poro, 142.1 Å y baja actividad catalítica nominal, 31 BIU. No obstante, si comparamos los resultados con el primer sistema de reacción estudiado, se puede observar que la presencia de alcohol isopropílico ejerce una inhibición importante sobre el sistema enzimático, probablemente debida a la colocación del grupo hidroxilo en la posición dos de la cadena. Puesto que la lipasa es específica para las posiciones uno y tres de los triglicéridos, podría suponerse que sucede un fenómeno similar en el caso de otros sustratos, lo que se traduce en una disminución clara de la conversión.

Cuando se emplean sistemas catalíticos constituidos por la lipasa de *Candida antarctica*, los resultados obtenidos son mucho mejores. Esto puede ser debido tanto a la naturaleza de los reactivos como a la no especificidad de la propia lipasa, estando, en cualquier caso, favorecida la formación del complejo activo enzima-sustrato que va a dar lugar a la formación de oleato de isopropilo.

La variación de la conversión al emplear estos tres catalizadores sigue un camino similar al observado en los casos anteriores. Las conversiones obtenidas son del 90.1%, 92.2% y 98.1% para los tres catalizadores, SP-435 A, SP-435 L y Novozym 435, siendo este último el que menor actividad nominal presenta según las especificaciones, 7000 PLU. Este hecho demuestra, de nuevo, que la actividad catalítica real depende además de las características del soporte sobre el que está inmovilizada la lipasa, consiguiéndose mayores niveles de actividad cuando la superficie específica del mismo aumenta y su diámetro medio de poro disminuye.

Según esto, el catalizador más adecuado para llevar a cabo la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol isopropílico, debido tanto a sus características, como a los niveles de conversión que proporciona, es el denominado Novozym 435.

5.5 ESTERIFICACION DE ACIDO PALMITICO CON ISOPROPANOL

Para conocer como se comporta el sistema ácido palmítico-alcohol isopropílico frente a los diferentes catalizadores se realizaron otros ocho experimentos previos. Según lo expuesto en el capítulo tres, las propiedades que tienen un mayor peso a la hora de elegir las condiciones de operación en que se va a llevar a cabo la reacción, son las correspondientes al ácido palmítico y al isopropanol. En la tabla 5.5 se presenta un resumen de dichos experimentos, así como de las condiciones en las que se van a llevar a cabo los mismos.

Tabla 5.5. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Palmitato de Isopropilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
PIPP1	Lipozyme IM20	1:1	70	710	5
PIPP2	Lipozyme IM50	1:1	70	710	5
PIPP3	Lipozyme IM	1:1	70	710	5
PIPP4	Lipozyme 10.000	1:1	65	710	5
PIPP5	SP 435-A	1:1	70	710	5
PIPP6	SP 435-L	1:1	70	710	5
PIPP7	Novozym 435	1:1	70	710	5
PIPP8	$\text{SnCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1:1	70	710	1

El tiempo de operación se fijó, al igual que en los casos anteriores, en tres horas para todos los experimentos, menos para los casos en los que se emplean cloruro de estaño y lipasa en disolución, que fue de siete horas. En estos dos casos se obtienen similares a las del sistema anterior, siendo las conversiones alcanzadas de 4.13% y 47.2% a las dos horas de reacción y de 5.25% y 53.27% a las siete horas. También en este caso, ambos catalizadores quedan descartados para nuestros propósitos, por razones obvias: coloración del producto final debido a la aparición de reacciones secundarias y necesidad de emplear procesos de purificación en el caso de emplear cloruro de estaño, y conversiones

pequeñas, probablemente al nivel de temperatura empleado para mantener el ácido palmítico en estado líquido, al emplear la lipasa en disolución como sistema catalítico. En la figura 5.5 se pueden observar las conversiones obtenidas a las dos horas de reacción para los diferentes sistemas catalíticos empleados.

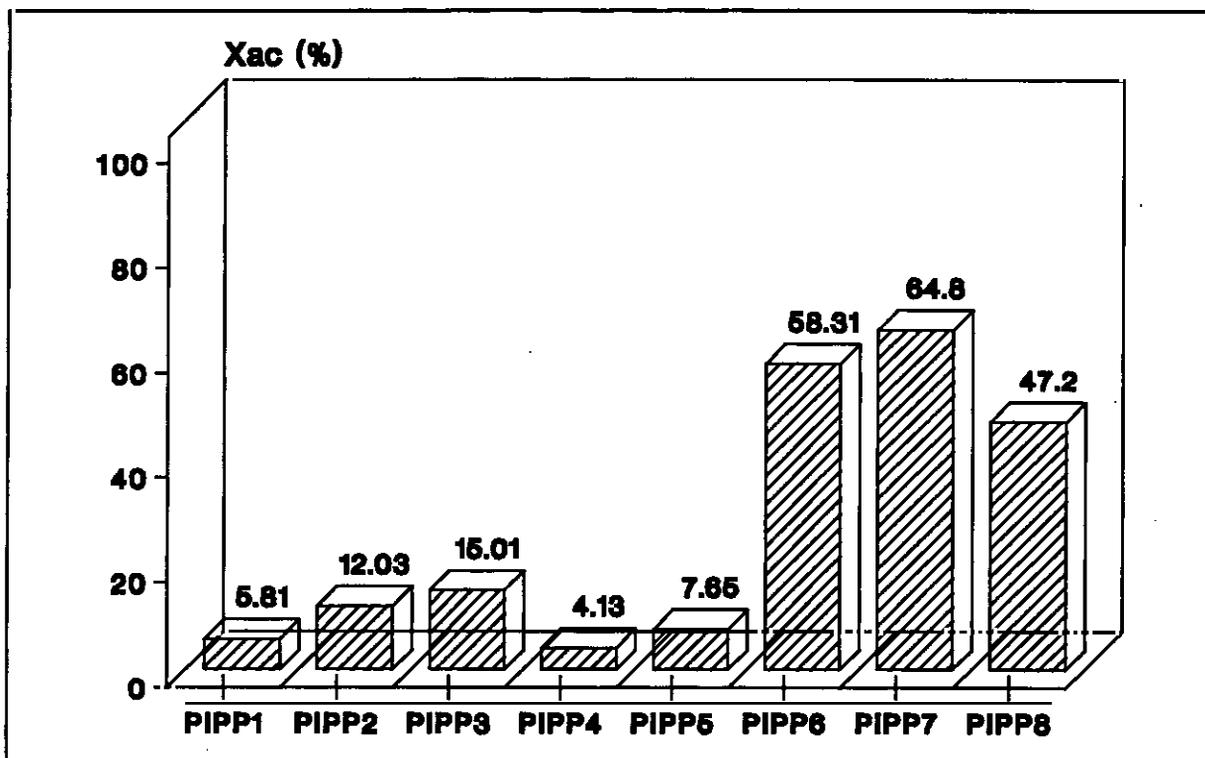


Figura 5.5. Conversiones en palmitato de isopropilo a las dos horas de reacción.

Como puede observarse en la figura, hay una clara disminución de la conversión en todos los casos con respecto al sistema anterior, lo que se traduce en una disminución global por parte de la reactividad del ácido palmítico, así como de la propia actividad enzimática. Los casos más favorables se dan cuando los catalizadores empleados son SP-435 L y Novozym 435, ambos obtenidos por inmovilización de la lipasa de *Candida antarctica* que, como es notorio, presenta una mayor selectividad y actividad frente a este tipo de sustratos, en comparación con la lipasa obtenida a partir de las cepas de *Mucor miehei*.

Para los catalizadores constituidos por esta última lipasa, el aumento de conversión resultante sigue el camino esperado. Así la conversión a las dos horas de reacción pasa de 5.81% a 12.03% y 15.01% para los sistemas catalíticos Lipozyme IM-20, Lipozyme IM-50 y Lipozyme IM, respectivamente. Lo que indica que para actividades nominales similares, el rendimiento catalítico aumenta con la superficie específica del catalizador y disminuye a medida que el diámetro medio de poro de las partículas catalíticas es mayor.

En cuanto a los catalizadores obtenidos por inmovilización de la lipasa de *Candida antarctica*, el efecto ejercido por la naturaleza y propiedades físicas del soporte se observa de una forma más acusada en el caso del catalizador SP-435 A. En el que, a pesar de presentar la actividad nominal más elevada, 10200 PLU, tiene la superficie específica más pequeña, 29.17 m²/g, y el diámetro medio de poro más elevado, 291.7 Å, por lo que la conversión obtenida, 7.65%, es muy inferior a la observada en los otros dos catalizadores procedentes de la misma lipasa, 58.31% y 64.8% para las especies catalíticas SP-435 L y Novozym 435.

Esta disminución en la conversión de ácido en éster, con respecto al sistema ácido oleico-alcohol isopropílico, lógicamente se debe a la presencia de ácido palmítico en el medio, que es en este caso el sustrato principal. Aunque la propia naturaleza química del ácido palmítico pueda dar lugar a una disminución en el rendimiento de la reacción, también es probable que tenga lugar la formación de complejos indeseables con el propio sistema enzimático, lo que se traduce en un fenómeno de inhibición enzimática con respecto a la formación del complejo principal.

A la vista de los resultados obtenidos, el sistema catalítico elegido para esta síntesis ha sido correspondiente al experimento siete, es decir Novozym 435, por ser este con el que mejores resultados se han obtenido.

5.6 ESTERIFICACION DE ACIDO 2-METIL-BUTIRICO CON ALCOHOL OLEICO

Para este sistema de esterificación se han llevado a cabo ocho experimentos previos, tomando como reactivos iniciales ácido 2-metil-butírico y alcohol oleico. Los catalizadores empleados fueron los mismos que en los casos anteriores, y las condiciones de operación se fijaron según lo expuesto en el capítulo tres, siendo la especie más decisiva el catalizador. En la tabla 5.6 se hace un resumen de los experimentos planificados, así como de las condiciones de operación en las que se llevaron a cabo las diferentes reacciones.

Tabla 5.5. Resumen de los experimentos previos para la síntesis de Palmitato de Isopropilo.

REACCION	TIPO DE CATALIZADOR	R. MOLAR AC:AL	T (°C)	P (mm Hg)	W (%)
PMBO1	Lipozyme IM20	1:1	70	60	5
PMBO2	Lipozyme IM50	1:1	70	60	5
PMBO3	Lipozyme IM	1:1	70	60	5
PMBO4	Lipozyme 10.000	1:1	40	710	5
PMBO5	SP 435-A	1:1	70	60	5
PMBO6	SP 435-L	1:1	70	60	5
PMBO7	Novozym 435	1:1	70	60	5
PMBO8	SnCl ₂ .5H ₂ O	1:1	100	60	1

El tiempo de operación se fijó, al igual que en los casos anteriores, en siete horas para las reacciones en las que el catalizador fue cloruro de estaño o Lipozyme 10.000 y en tres horas para el resto de los experimentos, observándose que a partir de la segunda hora de reacción, las variaciones en la conversión eran inferiores al 2% de su valor. El valor de conversión obtenido cuando se emplea la lipasa en disolución fue de un 2.16% a las dos horas de reacción, alcanzándose a las siete horas un

valor similar, lo que indica que sistema catalítico no es adecuado para nuestro proceso, ya que la lipasa no presenta, prácticamente actividad alguna frente al sustrato ácido.

Los resultados obtenidos para el cloruro de estaño son similares a los del primer sistema de esterificación, oleato de oleilo, presentándose los mismos problemas que en casos anteriores: aparición de productos secundarios debidos a reacciones colaterales de oxidación y polimerización, con el consiguiente aumento de costes de purificación para que el producto final cumpla las especificaciones de mercado, lo que es prohibitivo desde el punto de vista industrial. En la figura 5.6 se muestran las conversiones obtenidas a las dos horas de reacción para los diferentes sistemas catalíticos probados en el sistema de reacción con el fin de llevar a cabo un análisis discriminatorio que nos permita elegir el más adecuado para nuestros propósitos.

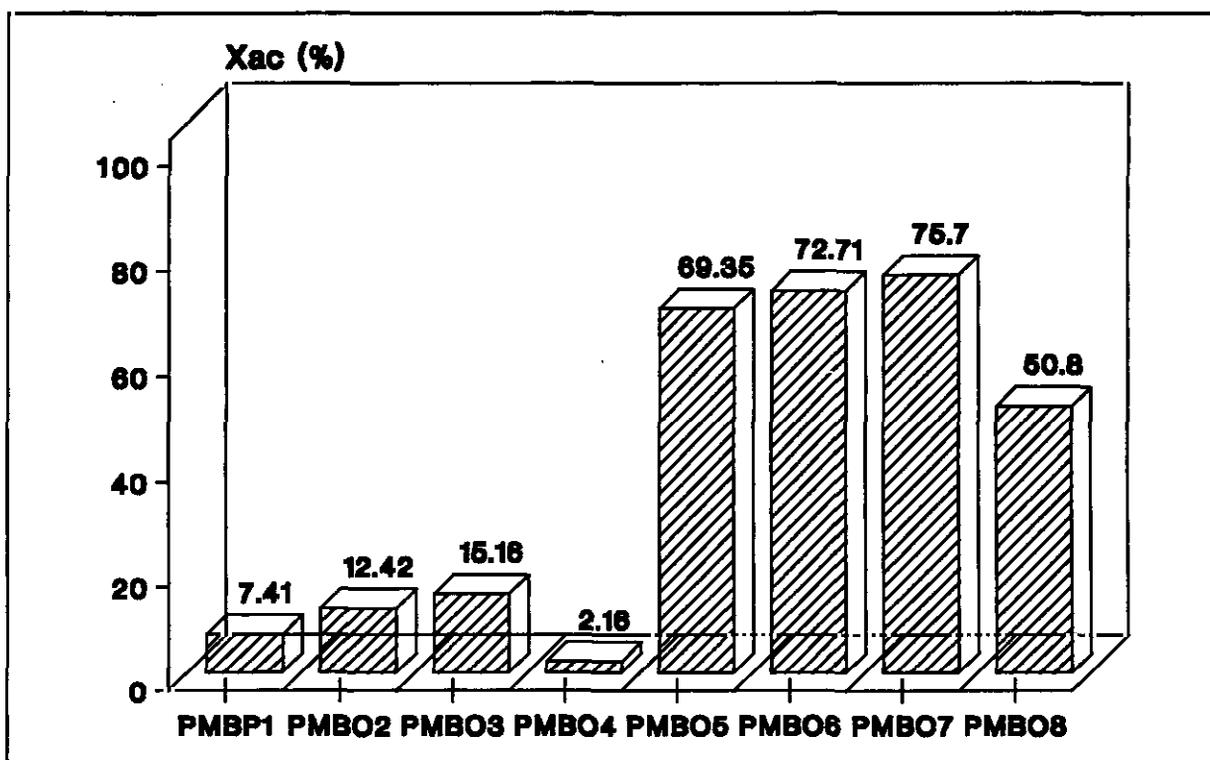


Figura 5.6. Conversiones en 2-metil-butirato de oleilo a las dos horas de reacción.

De dicha figura se deduce el claro descenso en la conversión si comparamos los resultados con los obtenidos en el primer sistema de reacción estudiado. Obviamente, el empleo de ácido 2-metil-butírico en sustitución del ácido oleico es el responsable de esta situación. La lipasa de *Mucor miehei* es prácticamente inactiva frente a este sustrato, por lo que las conversiones obtenidas no alcanzan el 16%, quedando descartadas para su empleo en este sistema. No obstante, la variación de conversión sigue el camino esperado, es decir mejores conversiones para soportes con mayor superficie específica y menores valores de diámetro de poro medio.

En cuanto a los sistemas catalíticos formados por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada, puede decirse que las variaciones observadas en la conversión también corresponden a lo esperado, siendo los valores obtenidos de 69.35%, 72.71% y 75.7% para las especies catalíticas SP-435 A, SP-435 L y Novozym 435 respectivamente. Estos valores corroboran, una vez más, que la actividad del catalizador no sólo depende de la actividad nominal de la especie enzimática, sino que también dependen de las propiedades de los soportes sobre los que se hallan inmovilizadas. Por lo que la reacción se ve favorecida cuando los soportes presentan una elevada superficie específica y un valor bajo del diámetro de poro medio.

Por tanto para este proceso de esterificación, el sistema catalítico que mejores resultados proporciona, dentro del intervalo considerado para las condiciones de operación, es el que corresponde con el valor máximo de conversión obtenido, Novozym 435.

Con el fin de conocer, a grandes rasgos, el comportamiento de las lipasas frente a diferentes tipos de sustrato, a continuación se comentará brevemente como influye el empleo de los diferentes sustratos involucrados en los procesos objeto de estudio, sobre las especies enzimáticas empleadas como catalizador de los mismos.

5.7 IMPORTANCIA DEL TIPO DE SUSTRATO

Si comparamos los resultados obtenidos en estas seis series de experimentos previos, para cada una de las especies enzimáticas que constituyen los diferentes sistemas catalíticos, podremos conocer como varía la actividad enzimática de dichas especies en función de los reactivos presentes en el medio de reacción. Para realizar este estudio comparativo, se han considerado conjuntamente por una parte los tres catalizadores comerciales obtenidos por inmovilización de la lipasa de *Mucor miehei* (Lipozyme IM-20, Lipozyme IM-50 y Lipozyme IM) y por otra los tres catalizadores obtenidos por inmovilización de la lipasa de *Candida antarctica* (SP-435 A, SP-435 L y Novozym 435). El catalizador Lipozyme 10.000, constituido por la lipasa de *Mucor miehei* en disolución, no se ha tenido en cuenta en este análisis, ya que en algunos experimentos ha sido necesario trabajar a temperaturas superiores a la temperatura óptima de trabajo de la lipasa, para mantener los reactivos en estado líquido y que el sistema se comportase como un sistema pseudohomogéneo.

Si comparamos las conversiones obtenidas con los diferentes ácidos grasos de partida, podemos observar que cuando la especie catalítica es la lipasa de *Mucor miehei*, el valor medio de conversión, considerando los tres tipos de reacción en los que el ácido de partida es el ácido oleico, es de un 58.3%, tomando un valor medio en la síntesis de oleato de oleilo del 95.3% y un valor máximo del 95.5%. Los valores obtenidos para la síntesis de oleato de cetilo revelan un valor medio para la conversión de un 51.6%, siendo el valor máximo de un 60.6%. Mientras que el valor medio obtenido en la síntesis de oleato de isopropilo disminuye hasta un 28%, y el valor máximo alcanzado corresponde a un 37.7%.

Por otra parte el valor medio obtenido para la síntesis de palmitato de isopropilo, empleando la misma lipasa de *Mucor miehei*, alcanza el 11%, siendo el valor máximo obtenido del 15%; mientras que en las síntesis de miristato de miristilo y 2-metil-butirato de oleilo, los valores medios y máximos

obtenidos para la conversión son de un 41.1% y 50.2% para el primero y 11.66% y 15.16% para el segundo.

En lo que a la reactividad de los sistemas catalíticos obtenidos por inmovilización de la lipasa de *Candida antarctica*, se refiere, los resultados obtenidos revelan una situación similar a la anterior, desde el punto de vista cualitativo. El valor medio de la conversión de ácido oleico, teniendo en cuenta conjuntamente las tres reacciones en que este se emplea como sustrato toma un valor del 89.75%. Concretamente, para la síntesis de oleato de oleilo el valor medio obtenido es del 90.27%, alcanzándose un valor máximo del 92.01%. En cambio, el valor medio de conversión obtenido en la síntesis de oleato de cetilo disminuye hasta un 85.47%, siendo el máximo alcanzado de un 91.01%; mientras que los valores medio y máximo a los que se llega en la síntesis de oleato de isopropilo son del 93.5% y el 98.1% respectivamente.

En cuanto a los valores obtenidos para los demás sistemas de esterificación estudiados, palmitato de isopropilo, miristato de miristilo y 2-metil-butirato de oleilo, los valores de conversión media y conversión máxima obtenidos corresponden a niveles de conversión de 43.6% y 64.8%, 81% y 95.1%, y 72.59% y 75.7% respectivamente. Lo que supone un apreciable aumento con respecto a los valores obtenidos al emplear catalizadores constituidos por la lipasa de *Mucor miehei*, hecho que confirma la existencia de una mayor selectividad de esta última por el tipo de ácido graso empleado como sustrato, con respecto a la lipasa de *Candida antarctica*, que es mucho menos específica.

Por otra parte, puede comprobarse que, para las dos lipasas, la reactividad con respecto de los ácidos grasos probados, aumenta cuando el ácido graso es insaturado (caso del ácido oleico), mientras que cuando los ácidos grasos empleados son saturados (palmítico y mirístico), la reactividad del sistema enzimático es menor. También puede observarse que para un mismo tipo de cadena, la reactividad, con respecto del ácido graso, disminuye al aumentar la longitud de la cadena principal.

Según esto, la reactividad del ácido 2-metil-butírico debería ser superior a la observada, sin embargo, la presencia de un grupo metilo en la posición alfa, da lugar a una disminución drástica de la reactividad, que en este caso se ve compensada por la longitud de la cadena del ácido butírico.

Haciendo el análisis desde el punto de vista de la reactividad de los alcoholes empleados, puede observarse que la situación que se presenta es similar a la anterior. En general, la reactividad aumenta al disminuir el número de átomos de carbono que constituyen la cadena de alcohol. Sin embargo, cuando el alcohol es insaturado, la reactividad es superior que cuando no lo es, mientras que en el caso en el que el alcohol es secundario, alcohol isopropílico, la reactividad disminuye, hecho que se observa de forma más marcada cuando se emplea la lipasa de *Mucor miehei*, como catalizador.

6. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Teniendo en cuenta los experimentos previos expuestos en el capítulo anterior, se llevaron a cabo series de experimentos para cada uno de los ésteres objeto de estudio, con el fin de alcanzar los objetivos propuestos en este trabajo. Los experimentos realizados se han planificado con el fin de obtener tanto los mecanismos y modelos cinéticos de las reacciones de esterificación catalítica entre los ácidos y alcoholes propuestos, como la influencia de las variables de operación sobre cada proceso de obtención, empleando como catalizador la lipasa inmovilizada elegida para cada caso.

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio dirigido hacia el conocimiento de la influencia que ejercen las diferentes variables de operación sobre las reacciones para los procesos de síntesis propuestos. Para ello, se realizaron series de experimentos fijando, en cada una de ellas, todas las variables de operación excepto una de ellas. Variando esta última para cada experimento, se pudo observar el comportamiento del sistema de reacción en cuestión, así como el efecto producido por la modificación de dicha variable. Las variables estudiadas son las que, según los estudios encontrados en la bibliografía y la experiencia del grupo investigador, influyen más significativamente en este tipo de sistemas. Dichas variables corresponden a la temperatura de operación, presión de trabajo, concentración inicial de catalizador, relación molar de reactivos y velocidad de agitación.

Las variables presión, temperatura y concentración inicial de catalizador se modificaron en cada experimento comparativo, atendiendo a los intervalos fijados en un principio, teniendo en cuenta tanto la naturaleza de los reactivos y productos como las especificaciones impuestas por los diferentes catalizadores empleados.

La velocidad de agitación se fijó para todos los experimentos realizados en 700 rpm, por ser esta una velocidad adecuada para nuestros propósitos de considerar un comportamiento homogéneo de la mezcla de reacción, haciendo que el sistema se comporte de manera tal que los fenómenos involucrados en la etapa constituida por la reacción química controlen el proceso global.

La relación molar ácido/alcohol se modificó en las siguientes series de experimentos, dirigidos principalmente hacia el estudio cinético del proceso. En este segundo grupo de experimentos se tuvieron en cuenta dos posibilidades, según el tipo de producto a obtener. La primera posibilidad está basada en el hecho de poder desplazar el equilibrio hacia la formación de productos, eliminando uno de ellos del medio de reacción a medida que esta va teniendo lugar y, logrando así, que el sistema se comporte como irreversible. Esto puede conseguirse trabajando a presión reducida, disminuyendo así la presión de vapor de las especies constituyentes del medio de reacción, consiguiendo que sólo uno de los productos (el agua) pase a la fase vapor y pueda eliminarse continuamente del medio, permaneciendo en el mismo los reactivos de partida y el otro producto de reacción (el éster). Esto es viable en todos los casos ensayados, excepto cuando uno de los reactivos de partida es el alcohol isopropílico, cuya presión de vapor es siempre menor que la del agua.

La segunda posibilidad consistió en trabajar a presión atmosférica o, lo que es lo mismo, trabajar en condiciones tales que el sistema de reacción se comporte como reversible, lo que es viable para los seis sistemas de reacción considerados en este trabajo.

Como se ha indicado anteriormente, los procesos estudiados en la presente memoria de investigación han sido los de obtención de oleato de oleilo, oleato de cetilo, miristato de miristilo, oleato de isopropilo, palmitato de isopropilo y 2-metil-butirato de oleilo. Para ello se han considerado los datos experimentales conversión-tiempo o velocidad de reacción-concentración. Los datos de velocidad de reacción se han obtenido como derivada del número de moles con respecto del tiempo, mediante un soporte informático basado en el algoritmo de Stirling, capaz de derivar gráficamente los valores experimentales y obtener los valores de derivada en cada punto.

6.1 SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO

Para estudiar la influencia de las variables de operación sobre la reacción de esterificación para la síntesis de oleato de oleilo, se realizaron experimentos fijando la velocidad de agitación en 700 rpm y la relación molar ácido/alcohol en 1/1. El catalizador empleado en esta serie de experimentos fue el elegido según los experimentos previos: Lipozyme IM-20, constituido por la lipasa de *Mucor miehei* inmovilizada sobre una resina de intercambio aniónico. Los efectos estudiados fueron los correspondientes a la variación de temperatura, presión y concentración de catalizador.

Algunos de estos experimentos también se incluyeron dentro del estudio realizado con una segunda serie de experimentos, que se verá más adelante, cuyo objetivo es el de obtener algunos parámetros cinéticos para modelar el sistema. En la tabla 6.1 se muestran los experimentos realizados para conocer la influencia que ejercen las variables de operación sobre la conversión.

Tabla 6.1. Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables sobre la reacción de síntesis de Oleato de Oleilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
OO1	60	60	3
OO2	60	60	5
OO3	60	60	7
OO4	70	60	3
OO5	70	60	4
OO6	70	60	5
OO7	70	60	7
OO8	80	60	3
OO9	80	60	5
OO10	80	60	7

Tabla 6.1 (Continuación). Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables sobre la reacción de síntesis de Oleato de Oleilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
OO11	60	710	3
OO12	60	710	5
OO13	60	710	7
OO14	70	710	3
OO15	70	710	5
OO16	70	710	7
OO17	80	710	3
OO18	80	710	5
OO19	80	710	7

6.1.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Para conocer como varía la conversión de ácido en éster con la temperatura de operación, se representaron los resultados experimentales en gráficos de conversión frente a tiempo de operación, para los casos comparables, es decir, manteniendo constantes las demás variables de reacción. En todos los casos pudo observarse que la conversión obtenida a lo largo del tiempo de reacción aumentaba con la temperatura de operación.

A modo de ejemplo, en la figura 6.1 se muestran las representaciones correspondientes a la evolución de la conversión de ácido oleico en oleato de oleilo para las tres temperaturas ensayadas, 60°C, 70°C y 80°C, habiendo fijado la presión en 60mmHg, la concentración inicial de catalizador en un 5%, la relación molar ácido oleico/alcohol oleico en 1 y el tiempo total de reacción en 3 horas. Como puede observarse en dicha figura, el aumento de la temperatura de reacción favorece un incremento en la conversión de ácido oleico en oleato de oleilo.

Al aumentar la temperatura de 60 a 70°C, el aumento de la conversión para un tiempo de reacción de 180min es tan sólo de un 4%, mientras que al pasar de 70 a 80°C, el aumento de la conversión tiene lugar en un 8.54%.

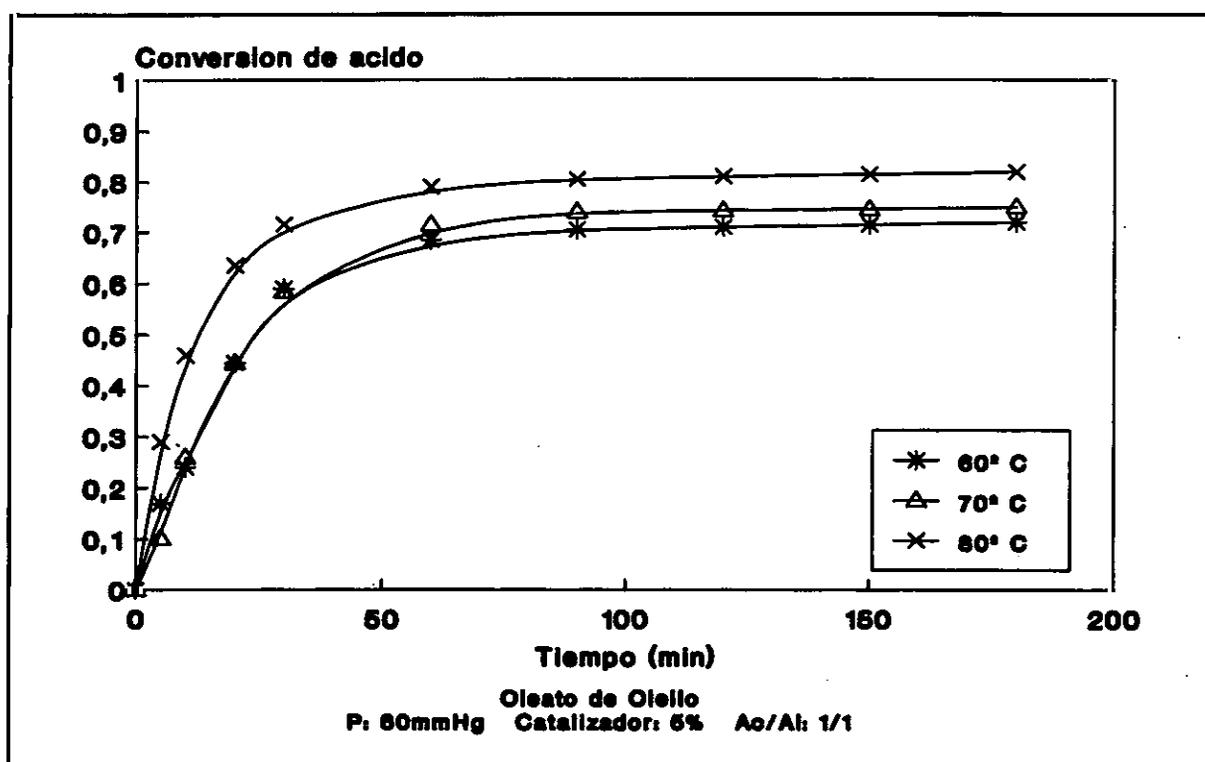


Figura 6.1. Influencia de la temperatura en la síntesis de Oleato de Oleilo.

6.1.2 INFLUENCIA DE LA PRESION

De forma análoga se llevaron a cabo las correspondientes representaciones conversión-tiempo, fijando los valores de las variables para las diferentes presiones de operación ensayadas. Los resultados obtenidos al comparar dichas representaciones fueron los esperados para este tipo de reacciones, en los que la presión de operación tiene una influencia negativa sobre el nivel de conversión obtenido, independientemente de la variación de las demás variables de operación.

En la figura 6.2 se muestra la representación correspondiente al valor superior del intervalo de temperatura fijado, 80°C, y al valor superior para la concentración inicial de catalizador, 7% en peso, siendo la relación molar ácido/alcohol de 1.

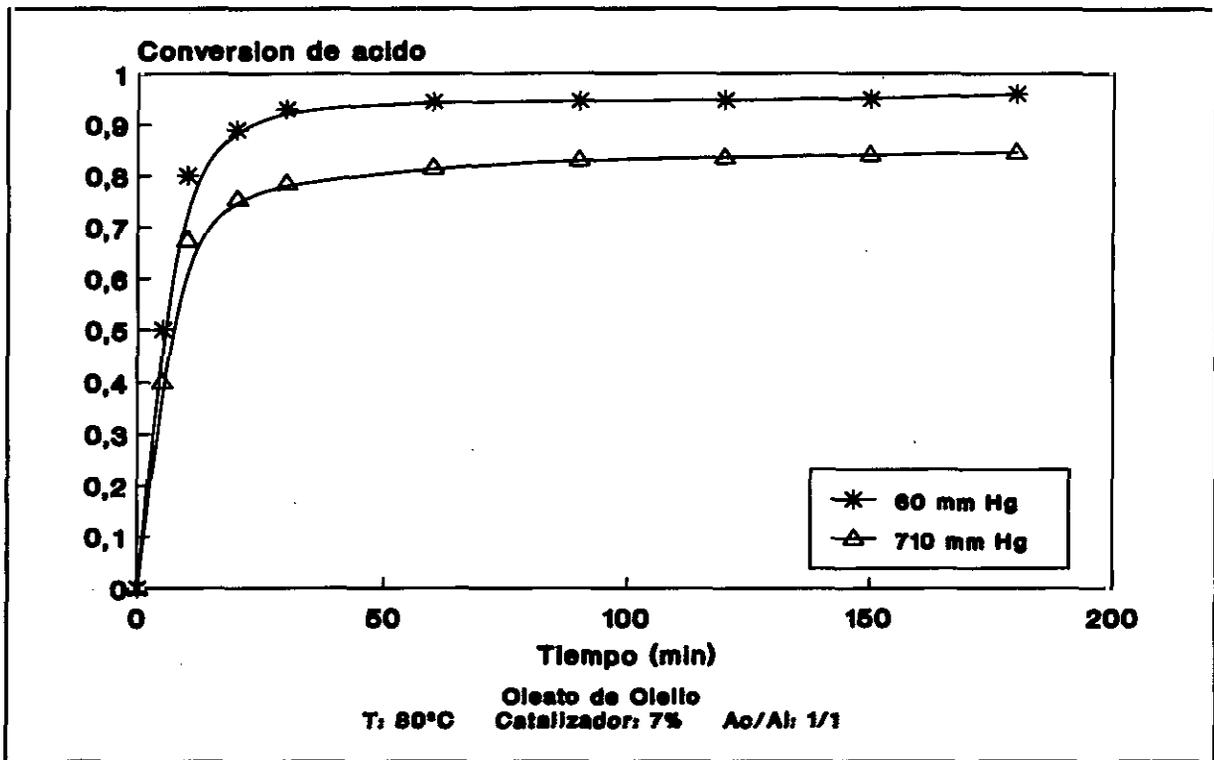


Figura 6.2. Influencia de la presión en la síntesis de Oleato de Oleilo.

Como puede observarse, al aumentar la presión de 60mmHg a 710mmHg, presión atmosférica, la conversión de ácido oleico en oleato de oleilo pasa de un valor de 0.96 a 0.845 para un tiempo de operación de 180min., lo que indica un descenso de casi un 13%.

Dicho descenso corresponde a un comportamiento normal del sistema, ya que al aumentar la presión de trabajo para una temperatura de operación fijada, la presión de vapor del agua que se va formando a medida que tiene lugar la reacción también aumenta, por lo que al no pasar al estado de vapor no puede ser eliminada del medio de reacción, evitando así que el equilibrio se desplace hacia

la formación de productos y, por tanto, el equilibrio de reacción se obtiene para niveles de conversión más pequeños, justificándose así la disminución de la misma.

6.1.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

Representando las curvas conversión-tiempo de ácido oleico en oleato de oleilo, para una misma temperatura, presión y concentración inicial de reactivos, pudo observarse que al variar la concentración inicial de catalizador, la conversión obtenida aumentaba cuando se incrementaba la concentración de catalizador para cualquier tiempo de reacción fijado. Dicho efecto es el que, por otra parte, se observa en la mayoría de los procesos de esterificación, puesto que se produce un aumento de la velocidad de reacción.

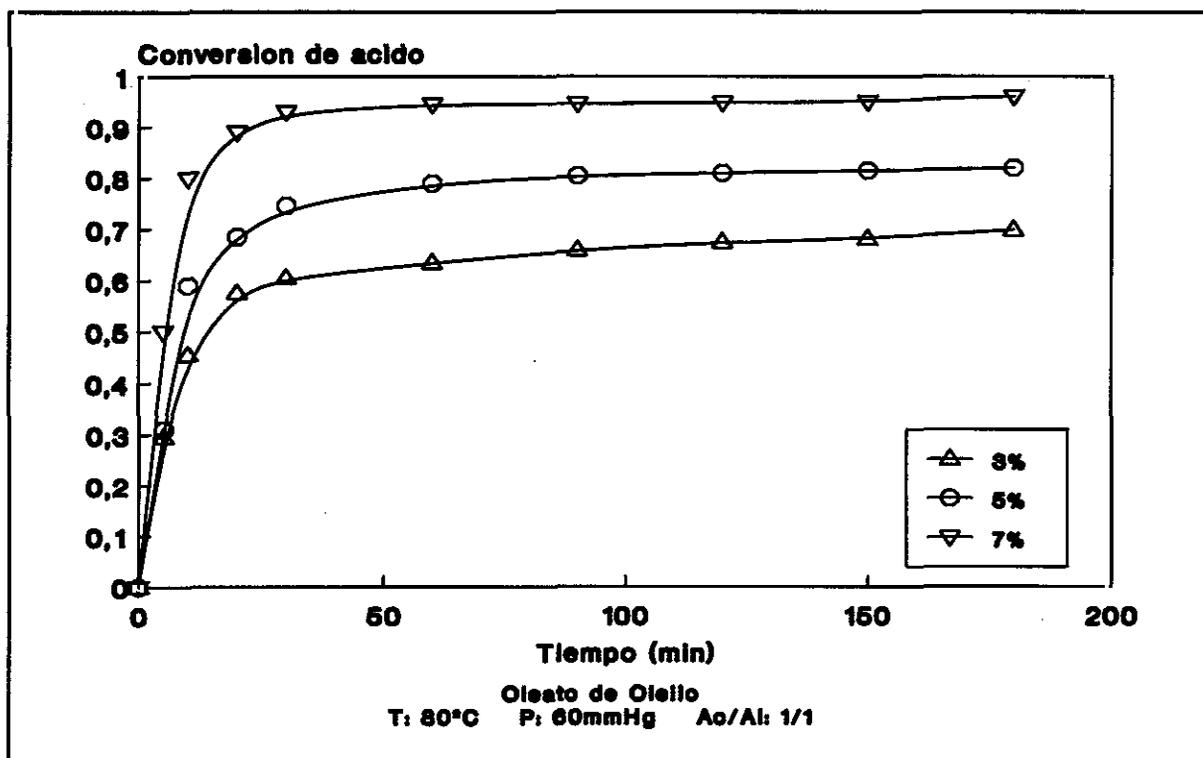


Figura 6.3. Influencia de la concentración inicial de catalizador en la síntesis de Oleato de Oleilo.

Este fenómeno puede observarse claramente en la figura 6.3, en la que se representan las curvas correspondientes a una temperatura de 80°C, presión inferior a la atmosférica (60mmHg) y relación molar ácido/alcohol con un valor de 1. El incremento experimentado en la conversión de ácido oleico para un tiempo de reacción de 180min., al aumentar la concentración inicial de catalizador de un 3% a un 5%, supone un 14.75% con respecto al valor inicial; siendo dicho incremento de un 14.58%, cuando la concentración inicial de catalizador pasa de ser un 5% a un 7%. Dichos resultados suponen que la dependencia de la conversión con respecto a la concentración inicial de catalizador, viene dada por una variación, a simple vista, lineal. Con el fin de comprobar esta suposición, se tomaron valores de la conversión de ácido para diferentes tiempos de reacción, a diferentes valores de presión y temperatura, con una relación molar ácido/alcohol fija. En las figuras 6.4 y 6.5 se muestran dichas representaciones, en las que, puede observarse el hecho anteriormente expuesto.

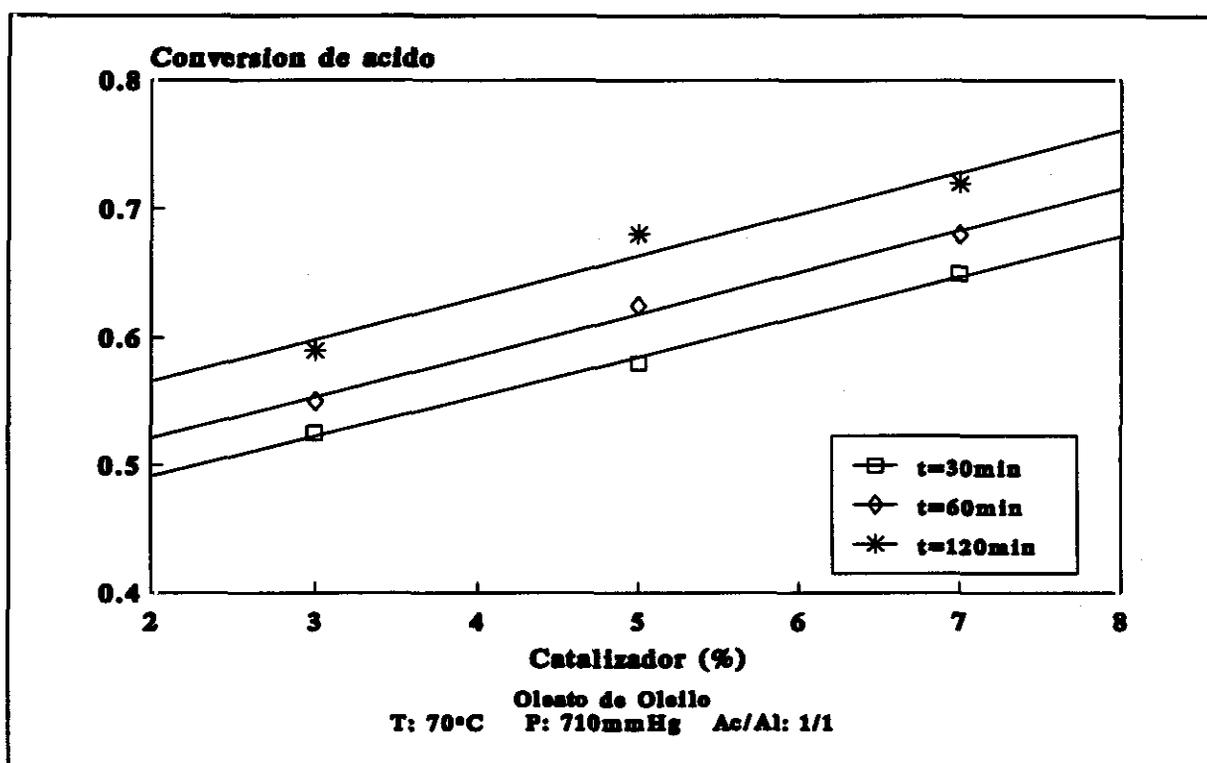


Figura 6.4. Síntesis de Oleato de Oleilo. Variación conversión-concentración-tiempo. P: 710mmHg.

En la figura 6.4, se muestra esta dependencia de la conversión con la concentración de catalizador cuando la reacción se lleva a cabo en condiciones de reversibilidad, presión atmosférica, mientras que en la figura 6.5 se considera el proceso en condiciones de irreversibilidad o a presión reducida, 60mmHg. En ambos casos se observa que la variación es lineal a lo largo de los diferentes tiempos de reacción ensayados.

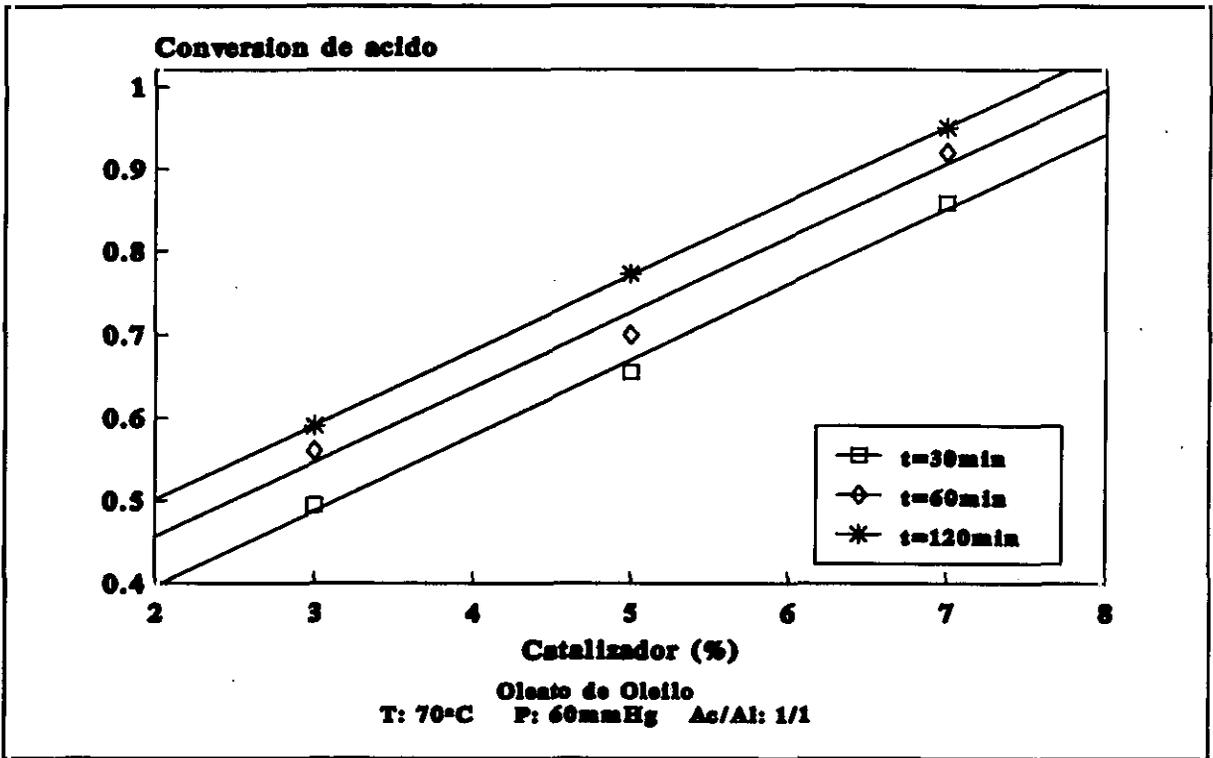


Figura 6.5. Síntesis de Oleato de Oleilo. Variación conversión-catalizador-tiempo. P: 60mmHg.

A la vista de los resultados obtenidos para las tres temperaturas de reacción ensayadas, así como para los dos valores de la presión, puede decirse que la variación de la conversión de ácido oleico en éster con la concentración inicial de catalizador es lineal, y que, por tanto, la velocidad de reacción responde a una cinética de primer orden con respecto a la concentración de catalizador, no observándose en ningún caso discontinuidad alguna ni saturación por parte de la concentración de catalizador, al menos dentro del intervalo fijado para este estudio.

6.1.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

Para el estudio de la influencia de este parámetro se han llevado a cabo varios experimentos en exceso de ácido y en exceso de alcohol. Este segundo grupo de experimentos se llevó a cabo de forma que la información obtenida a partir de ellos sirviese para el análisis cinético correspondiente. Teniendo esto en cuenta, se consideró la relación molar ácido/alcohol como variable independiente de la experimentación, fijándose el resto de parámetros para una misma serie de experimentos. De este modo se realizaron varias series de experimentos, una para cada uno de los valores de temperatura. En la tabla 6.2 se muestra un resumen de este segundo grupo de experimentos, que podría denominarse como grupo de experimentos cinéticos.

Esta serie de experimentos se llevó a cabo fijando la presión de operación en su valor mínimo, 60mmHg, es decir en condiciones de irreversibilidad; mientras que la concentración inicial de catalizador empleada se fijó en el valor medio del intervalo propuesto, es decir en un 5% de la masa total de reacción.

Tabla 6.2. Experimentos cinéticos para la síntesis de Oleato de Oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
OO20	60	5	60	0.066
OO21	60	5	60	0.1
OO22	60	5	60	0.2
OO23	60	5	60	0.5
OO24	60	5	60	1
OO25	60	5	60	2
OO26	60	5	60	5
OO27	60	5	60	10
OO28	60	5	60	15

Tabla 6.2 (continuación). Experimentos cinéticos para la síntesis de Oleato de Oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
OO29	70	5	60	0.066
OO30	70	5	60	0.1
OO31	70	5	60	0.143
OO32	70	5	60	0.2
OO33	70	5	60	0.333
OO34	70	5	60	0.5
OO35	70	5	60	1
OO36	70	5	60	2
OO37	70	5	60	3
OO38	70	5	60	5
OO39	70	5	60	7
OO40	70	5	60	10
OO41	70	5	60	15
OO42	80	5	60	0.066
OO43	80	5	60	0.1
OO44	80	5	60	0.2
OO45	80	5	60	0.5
OO46	80	5	60	1
OO47	80	5	60	2
OO48	80	5	60	5
OO49	80	5	60	10
OO50	80	5	60	15

A partir de los resultados obtenidos en estos experimentos, se han realizado representaciones gráficas de velocidad de reacción frente a número de moles de ácido, cuando se trabaja en exceso de alcohol y de velocidad de reacción frente a número de moles de alcohol, cuando se trabaja en exceso de ácido. Dichas representaciones se agruparon en series en función de la temperatura de operación

fijada en cada experimento, quedando fijas el resto de las variables que influyen en el proceso de esterificación.

En la figura 6.6 se muestra, a modo de ejemplo, las representaciones correspondientes a una temperatura de 60°C, 5% de concentración inicial de catalizador y 60mmHg para el estudio de la concentración de ácido oleico, ya que el alcohol oleico está en exceso. Como puede observarse, la velocidad de reacción aumenta al aumentar el número de moles de ácido, como es lógico, ya que a medida que uno de los reactivos se agota se va alcanzando la conversión de equilibrio y, por tanto la velocidad de reacción tiende a cero para tiempos largos.

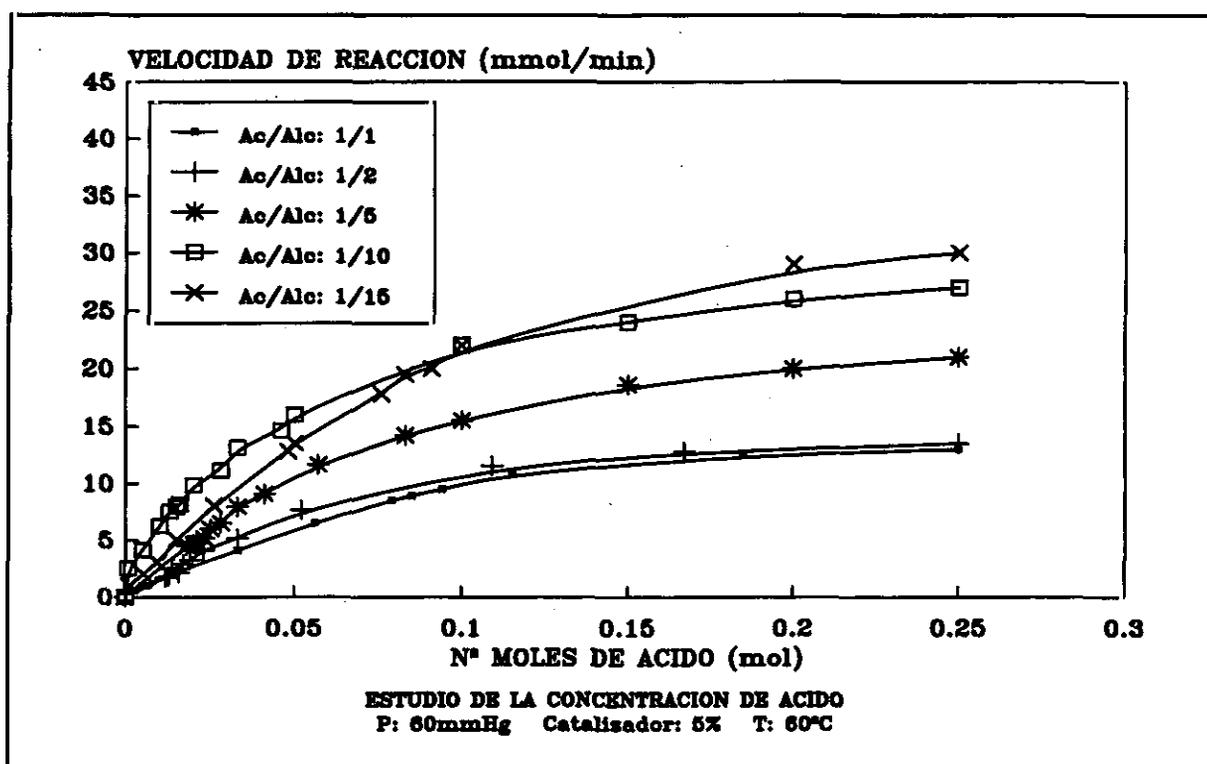


Figura 6.6. Síntesis de Oleato de Oleilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

Por otra parte, puede observarse que al aumentar el exceso de alcohol o, lo que es lo mismo, al disminuir la relación molar ácido/alcohol, la velocidad de formación de productos aumenta para

excesos moderados de alcohol. Sin embargo, cuando el exceso de alcohol es tan elevado, que la concentración de alcohol puede considerarse como infinita con respecto a la concentración de ácido oleico, la velocidad de reacción es más pequeña de lo que correspondería a un tiempo de reacción determinado. Esto, sin duda, se debe a las posibles reacciones de inhibición por parte del alcohol.

Algo parecido sucede al comparar los resultados obtenidos para el estudio de la concentración de alcohol, que se presentan en la figura 6.7 y que, en este caso, corresponden a una temperatura de 80°C, 5% de concentración inicial de catalizador y una presión de trabajo de 60mmHg.

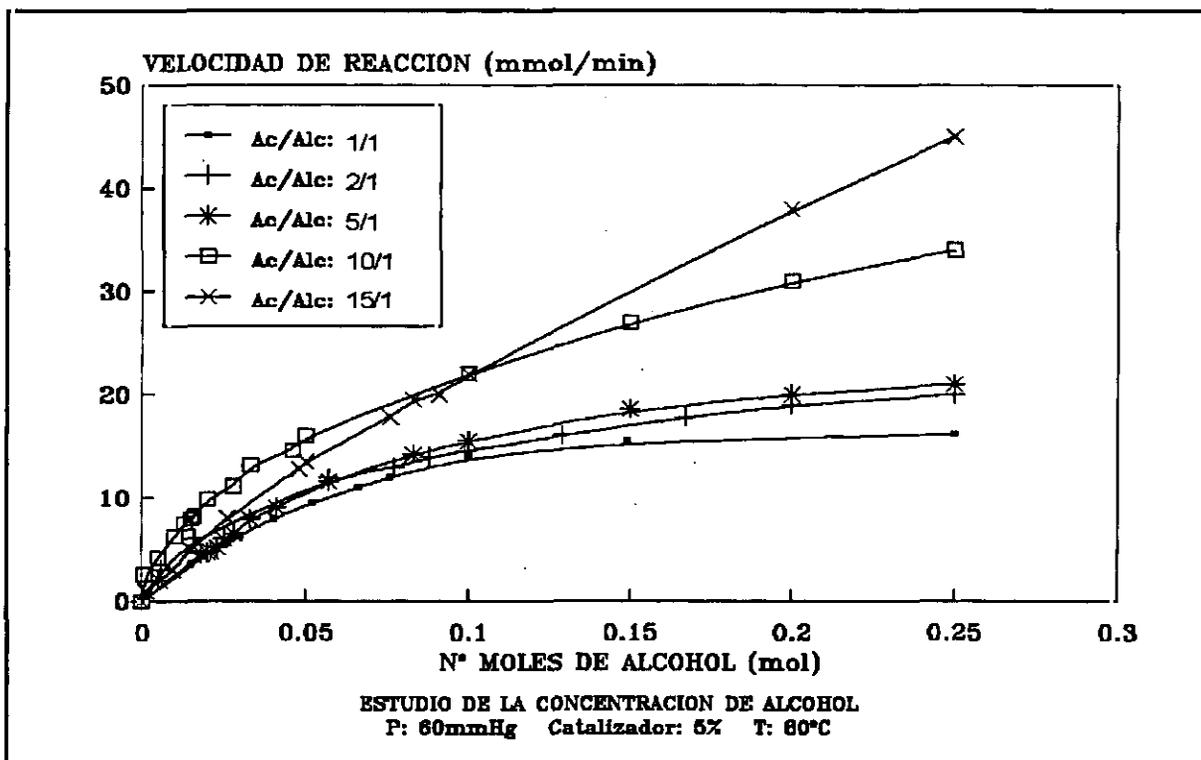


Figura 6.7. Síntesis de Oleato de Oleilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

Como puede observarse, la variación de la velocidad de desaparición de reactivos con el número de moles de alcohol se comporta de la manera prevista para una reacción de esterificación. En cambio, al aumentar la relación molar ácido/alcohol se comprueba, como en el caso anterior, que para

un exceso de ácido oleico muy pronunciado (concentración de ácido oleico infinita con respecto a la concentración de alcohol oleico), se produce una disminución prematura de la velocidad de reacción, con respecto a la tendencia clásica para los procesos de esterificación. Este fenómeno se aprecia, así mismo, aunque menos marcadamente, al comparar las curvas con una relación molar ácido/alcohol de 2 y 5, donde, para tiempos largos de reacción la velocidad de reacción cae más rápidamente cuando el exceso de ácido oleico es superior.

Este efecto se debe, sin duda, a una inhibición producida por un exceso de ácido oleico en el medio de reacción, lo que supone que habrá que tenerlo en cuenta a la hora del modelado cinético, ya que influye sobre la velocidad de desaparición de los reactivos.

6.1.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE ESTER EN EL MEDIO DE REACCION

Habida cuenta de los resultados obtenidos en el apartado anterior se procedió al estudio de la influencia ejercida por la concentración de éster, oleato de oleilo, en el medio de reacción, ya que la concentración del otro producto de reacción, agua, se anula cuando trabajamos en condiciones de presión inferiores a la atmosférica (60mmHg).

En la tabla 6.3 se hace un resumen de los experimentos realizados para conocer la influencia ejercida por la adición de éster en el medio de reacción. Este grupo de experimentos se llevó a cabo manteniendo todas las variables de operación constantes, y tomando como variable independiente el número inicial de moles de éster adicionados al comienzo de la reacción. La relación entre el número de moles de ácido y el número de moles de alcohol se mantuvo equimolecular, mientras que la concentración inicial de catalizador se fijó en el valor medio del intervalo, es decir un 5% en peso de la masa total de reacción.

Tabla 6.3. Experimentos cinéticos, con adición de éster, para la síntesis de Oleato de Oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{ES0} (Moles)
OO51	60	5	60	0.177
OO52	60	5	60	0.354
OO53	70	5	60	0.071
OO54	70	5	60	0.118
OO55	70	5	60	0.177
OO56	70	5	60	0.354
OO57	80	5	60	0.177
OO58	80	5	60	0.354

En la figura 6.8 se muestran, a modo de ejemplo, las curvas tiempo-conversión de ácido obtenidas para una temperatura de 70°C, un 5% de catalizador y una presión de 60mmHg. En todos los casos se ha mantenido la relación molar ácido/alcohol de uno.

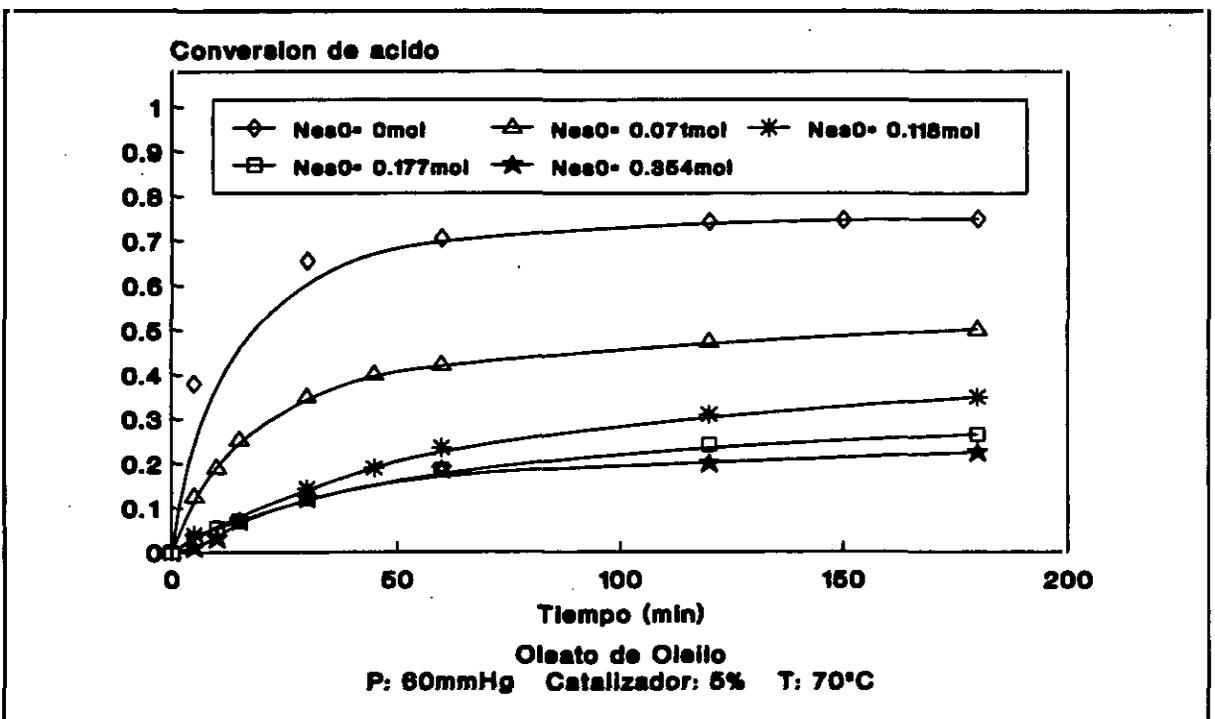


Figura 6.8. Síntesis de Oleato de Oleilo. Estudio de la concentración inicial de éster.

Como puede observarse, al aumentar la concentración inicial de oleato de oleilo adicionado inicialmente a la mezcla de reacción, la conversión de ácido obtenida a lo largo del tiempo va disminuyendo drásticamente. Este efecto es más marcado para adiciones pequeñas, advirtiéndose una menor disminución a medida que nos acercamos a la concentración de saturación de éster. Así, para una adición de 0.0708 moles de éster, lo que representa una cantidad inferior al 15% del número de moles total presentes en el medio, se produce una disminución en la conversión de casi un 33%, mientras que en las subsiguientes adiciones, la caída de la conversión se va atenuando progresivamente. Este fenómeno demuestra que tiene lugar una inhibición enzimática por parte del producto de reacción, lo que habrá que tener en cuenta a la hora del modelado cinético.

6.1.6 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE AGUA EN EL MEDIO DE REACCION

Un efecto similar pudo observarse cuando se adicionó un exceso de agua en el medio de reacción. En la tabla 6.4 se muestran los experimentos realizados para conocer la influencia del segundo producto de reacción sobre el proceso global de reacción.

Tabla 6.4. Experimentos cinéticos, con adición de agua, para la síntesis de Oleato de Oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{wo} (Moles)
OO59	60	5	710	0.177
OO60	60	5	710	0.354
OO61	70	5	710	0.177
OO62	70	5	710	0.354
OO63	80	5	710	0.177
OO64	80	5	710	0.354

En la figura 6.1 se muestran los resultados obtenidos para una temperatura de 70°C, habiendo fijado previamente la concentración de catalizador en un 5% y la presión de operación en 710mmHg

para evitar que el agua presente en el medio de reacción se elimine a medida que la reacción va teniendo lugar. Los resultados se comparan con la reacción correspondiente en la que no hay adición de agua. En todos los casos se ha mantenido la relación equimolecular de ácido y alcohol oleico.

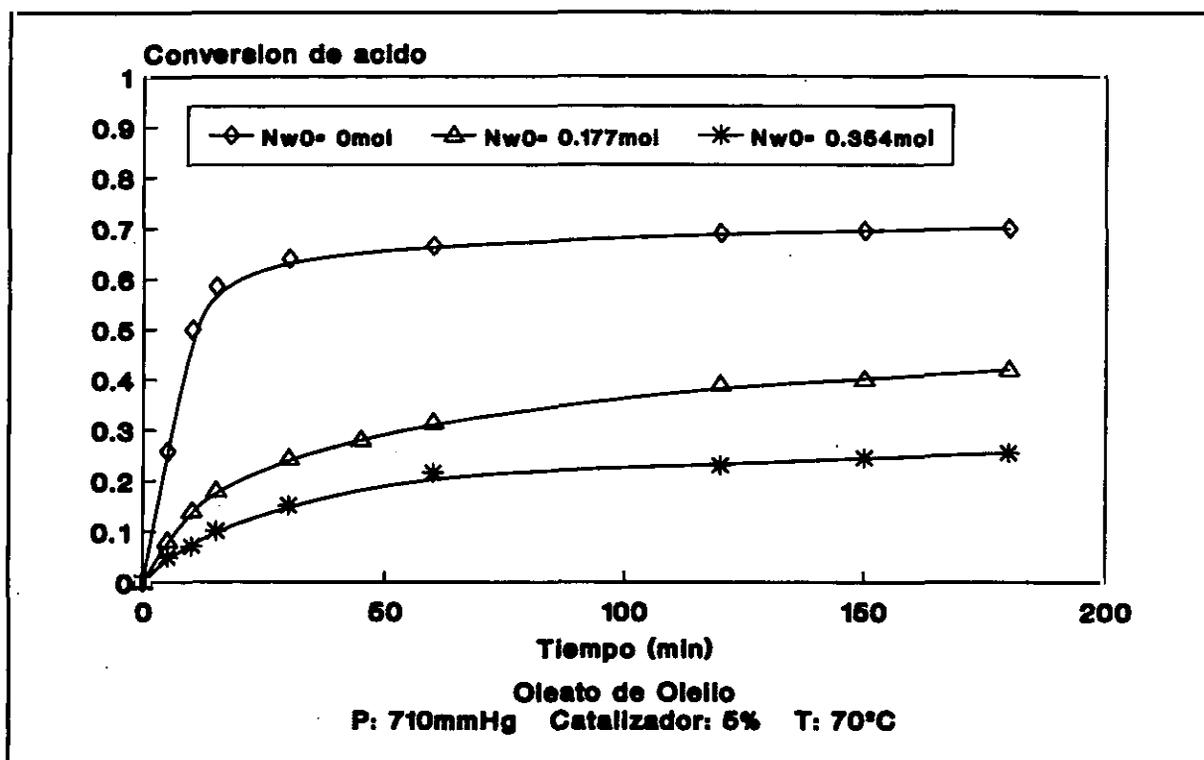


Figura 6.9. Síntesis de Oleato de Oleilo. Estudio de la concentración inicial de agua.

Como puede observarse, al igual que cuando se trabaja con un exceso de éster, en este caso también se produce una disminución drástica en la conversión de ácido oleico en oleato de oleilo, aunque menos marcada. En cualquier caso, el efecto producido, además de deberse al desplazamiento ejercido sobre el equilibrio de reacción hacia la formación de reactivos, puede deberse también a una inhibición del catalizador por la presencia de un exceso de agua. Por tanto también será necesario incluir este fenómeno dentro del estudio del modelado cinético de la reacción cuando el proceso se lleve a cabo en condiciones de presión que permitan la presencia de agua en el medio de reacción.

6.2 SINTESIS DE OLEATO DE CETILO

La planificación de experimentos para este segundo sistema se llevo a cabo de manera análoga a la del caso anterior. Por una parte se realizó un grupo de experimentos para conocer como afecta la modificación de las condiciones de operación sobre el rendimiento obtenido en el sistema. Dentro de este grupo, la primera serie de experimentos se llevó a cabo en condiciones de irreversibilidad, fijando la presión de trabajo en 60mmHg. En la segunda serie de experimentos se fijó la presión en 710mmHg, es decir, los experimentos se realizaron en condiciones de reversibilidad. Para las dos series de experimentos se fijaron la velocidad de agitación y concentración relativa de los reactivos, ácido oleico y alcohol cetílico, de forma equimolecular, siendo el catalizador empleado la forma comercial Novozym 435 constituido por la lipasa de *Candida antarctica*. En la tabla 6.5 se muestran los experimentos realizados para conocer las influencias ejercidas por la temperatura, presión y concentración de catalizador. El segundo grupo de experimentos se realizó para conocer la influencia de la concentración de las diferentes especies presentes en el medio, que se verán más adelante.

Tabla 6.5. Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables de operación sobre la reacción de síntesis de Oleato de Cetilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
OC1	70	60	3
OC2	70	60	5
OC3	70	60	7
OC4	75	60	3
OC5	75	60	5
OC6	75	60	7
OC7	80	60	3
OC8	80	60	5
OC9	80	60	7

Tabla 6.5 (Continuación). Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables sobre la reacción de síntesis de Oleato de Cetilo.

N° EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
OC10	70	710	3
OC11	70	710	5
OC12	70	710	7
OC13	75	710	3
OC14	75	710	5
OC15	75	710	7
OC16	80	710	3
OC17	80	710	5
OC18	80	710	7

6.2.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

A partir de los resultados obtenidos en los experimentos cuyas variables de operación se mantuvieron fijas, a excepción de la temperatura, que se tomó como variable independiente, se llevaron a cabo las correspondientes representaciones gráficas de tiempo frente a conversión en oleato de cetilo. En todas las representaciones realizadas se observó la misma tendencia, la conversión aumenta con la temperatura, lo que coincide con la interpretación esperada para este tipo de procesos.

En la figura 6.10 se muestra una de estas representaciones. En concreto, se trata de la serie de experimentos realizados a presión atmosférica, empleando una concentración inicial de catalizador del 5% en peso y habiendo fijado la relación molar ácido/alcohol en la unidad. A partir de los resultados obtenidos, se ha podido observar que para un tiempo de reacción de 120 min., cuando se aumenta la temperatura de 70°C a 75°C, el incremento en la conversión es de un 5.42%, mientras que al elevar

la temperatura de 75°C a 80°C el aumento de conversión es de un 7.34%. Lo que indica, como en el caso anterior, que la variación de conversión por efecto de la temperatura es siempre positiva, independientemente de la demás variables de operación.

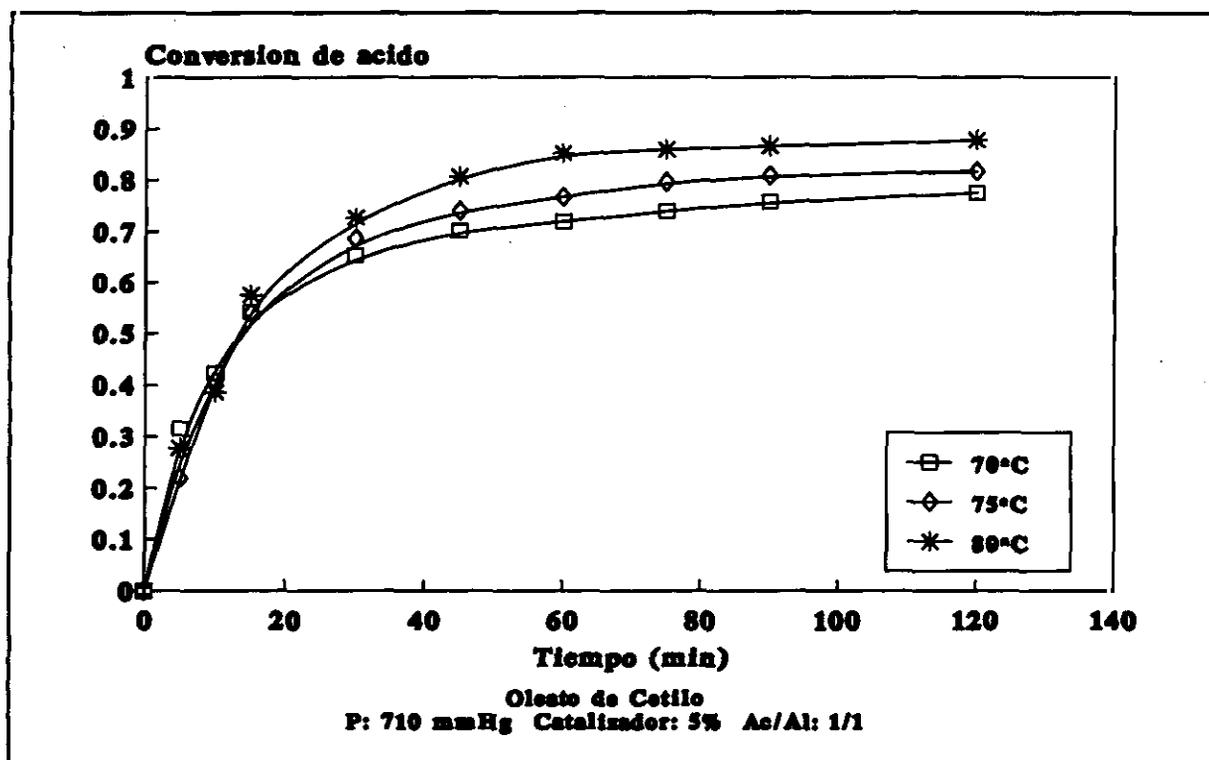


Figura 6.10. Influencia de la temperatura en la síntesis de Oleato de Cetilo.

6.2.2 INFLUENCIA DE LA PRESION

Representando las curvas tiempo-conversión de ácido fijando como variable independiente la presión, los resultados comparativos indican que un aumento de la presión de operación da lugar a una disminución de la conversión en éster, lo que demuestra que al trabajar a vacío en el intervalo de temperaturas establecido, el agua formado durante el transcurso de la reacción pasa a la fase vapor y se elimina continuamente del sistema, desplazándose así el equilibrio favoreciéndose la formación de los productos de reacción.

En la figura 6.11 se representan las curvas correspondientes a una temperatura de operación de 75°C, una concentración inicial de catalizador del 5% y una relación molar ácido/alcohol de uno. De dicha representación se desprende que un aumento de la presión desde 60 mmHg hasta 710 mmHg supone, para un tiempo de reacción de 120 min., una disminución de la conversión del 7.4%. Lo que indica que la reacción se ve favorecida a presiones inferiores a la atmosférica.

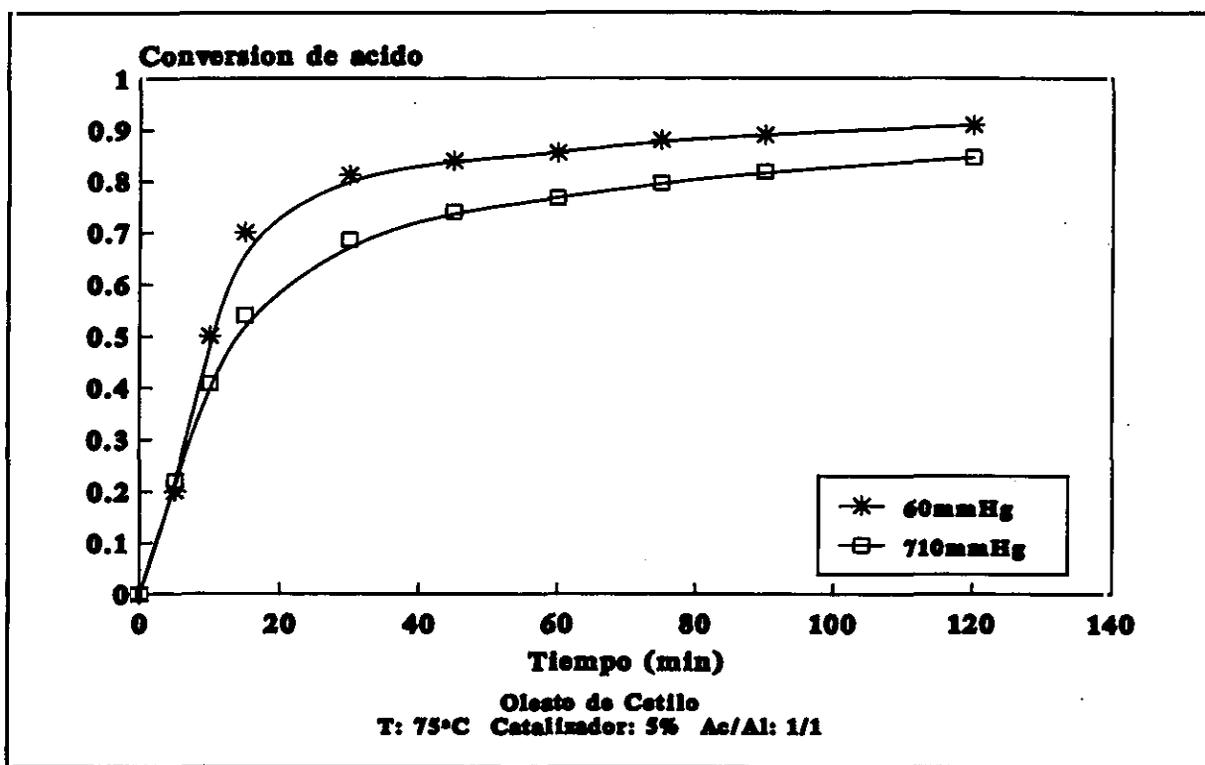


Figura 6.11. Influencia de la presión en la síntesis de Oleato de Cetilo.

6.2.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

Para estudiar la influencia de la concentración de catalizador sobre la reacción de esterificación propuesta, se emplearon los experimentos cuyas condiciones de operación coincidían, tomando como variable independiente la variable objeto de estudio en este apartado. En la figura 6.12 se muestra una de estas representaciones.

En este caso corresponde a las reacciones realizadas a presión atmosférica, con una temperatura de 70°C y una relación molar ácido/alcohol de 1; en las un aumento de la concentración inicial de catalizador del 2% dan lugar a un aumento medio de la conversión de entorno a un 7%.

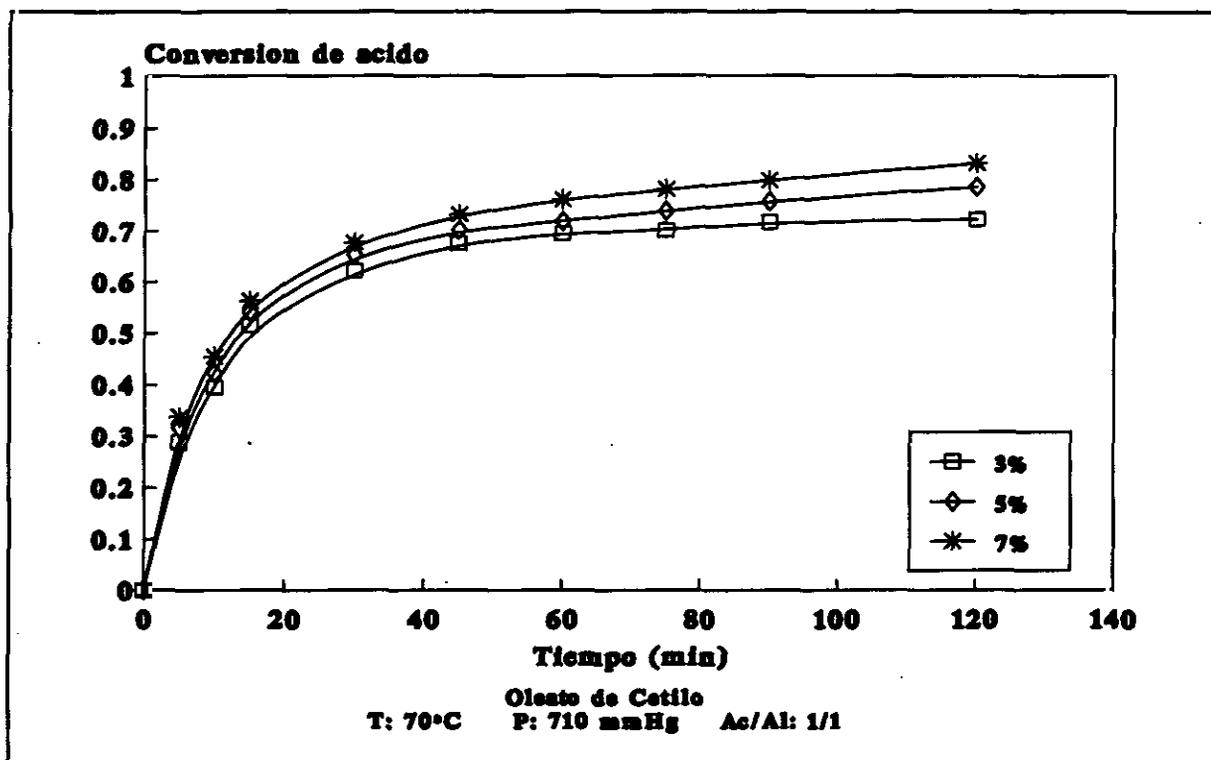


Figura 6.12. Influencia de la concentración inicial de catalizador en la síntesis de Oleato de Cetilo.

Con el fin de conocer como debía ser tomada en cuenta la concentración inicial de catalizador dentro del modelado cinético, se llevaron a cabo representaciones de la concentración de catalizador frente a la conversión de catalizador para diferentes tiempos de reacción, teniendo en cuenta los tres niveles de temperatura y los dos niveles de presión ensayados. A título ilustrativo, se muestran las figuras 6.13 y 6.14, las cuales coinciden que la variación de la conversión con la concentración inicial de catalizador son lineales para un tiempo de reacción fijado. Dicha variación mantiene una relación lineal, independientemente del valor del resto de las variables que influyen sobre el proceso de esterificación.

La figura 6.13 representa los resultados obtenidos al variar la concentración de catalizador cuando la presión de trabajo es la atmosférica, siendo la temperatura de reacción de 70°C y la relación ácido/alcohol equimolecular.

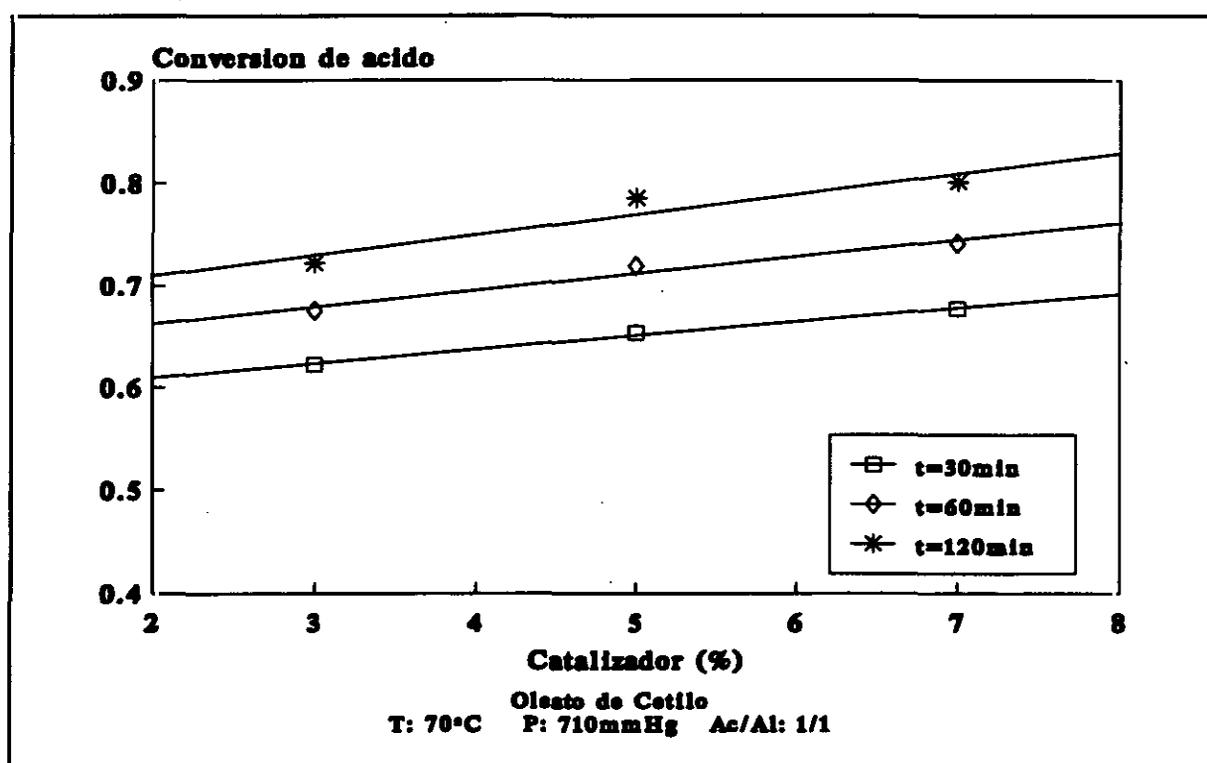


Figura 6.13. Síntesis de Oleato de Cetilo. Variación conversión-concentración-tiempo. P: 710mmHg.

Análogamente, en la figura 6.14 se muestran las representaciones obtenidas cuando la presión de trabajo es de 60mmHg, situándose el valor de la temperatura en el punto medio del intervalo fijado para la reacción de obtención de oleato de cetilo. En ambos casos puede observarse la que la dependencia de la conversión de ácido oleico es de primer orden con respecto a la concentración inicial de catalizador empleada para diferentes tiempos de reacción.

Por otra parte, aparentemente, no se aprecian efectos de saturación de la concentración de catalizador en ninguno de los casos, lo que indica que la dependencia de la velocidad de reacción con

la concentración de catalizador permanece constantemente lineal, al menos dentro de los intervalos estudiados en esta memoria.

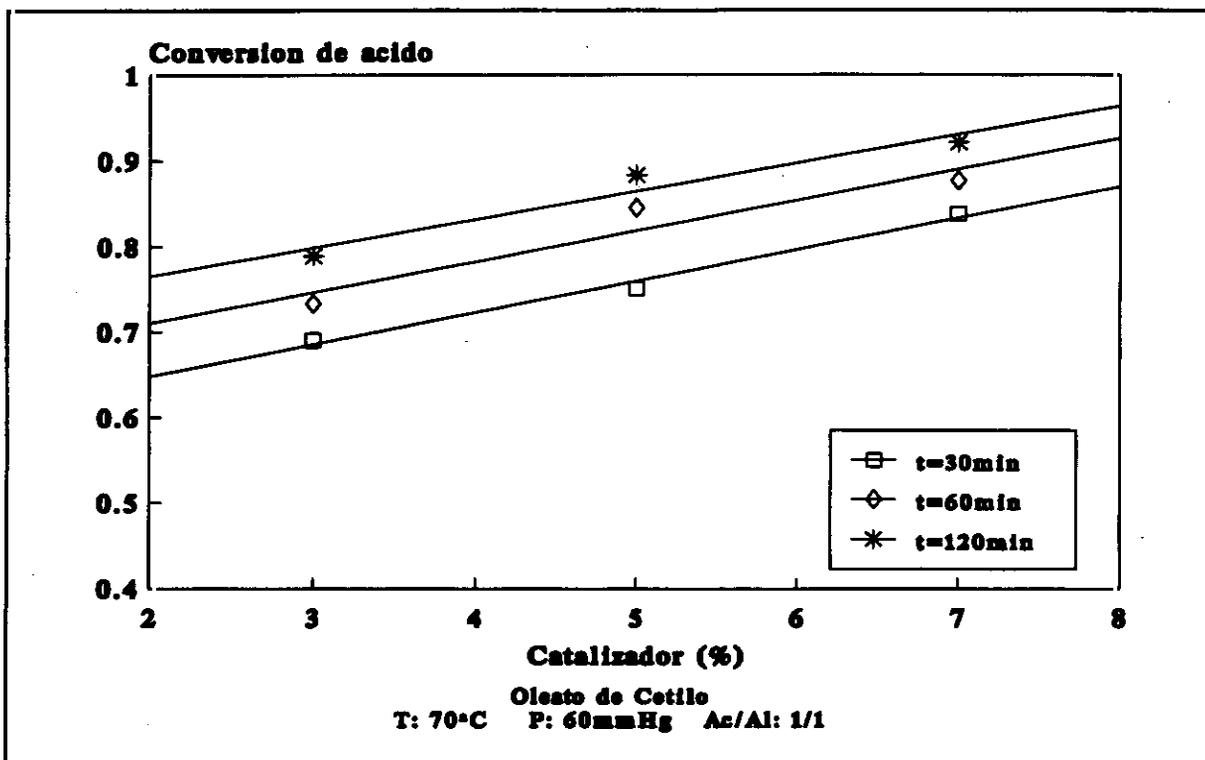


Figura 6.14. Síntesis de Oleato de Cetilo. Variación conversión-catalizador-tiempo. P: 60mmHg.

6.2.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

De cara a un posterior análisis cinético, se realizó un segundo grupo de experimentos variando la relación molar ácido/alcohol. Dicho grupo de experimentos se dividió en dos series, la primera de ellas se llevó a cabo en exceso de alcohol para estudiar la variación de la velocidad de reacción con la concentración de ácido oleico. En la segunda serie de experimentos se trabajó con exceso de ácido oleico, para estudiar la variación de la velocidad de reacción con la concentración de alcohol cetílico. En ambos casos el estudio se hizo fijando la presión de operación en 60mmHg, y la concentración de catalizador en un 5% en peso, en relación con la masa total de reacción.

En la tabla 6.6 se resumen los experimentos realizados para dicho estudio, en el que se han tenido en cuenta tres niveles de temperatura.

Tabla 6.6. Experimentos cinéticos para la síntesis de Oleato de Cetilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
OC19	70	5	60	0.1
OC20	70	5	60	0.143
OC21	70	5	60	0.2
OC22	70	5	60	5
OC23	70	5	60	7
OC24	70	5	60	10
OC25	75	5	60	0.1
OC26	75	5	60	0.143
OC27	75	5	60	0.2
OC28	75	5	60	5
OC29	75	5	60	7
OC30	75	5	60	10
OC31	80	5	60	0.1
OC32	80	5	60	0.143
OC33	80	5	60	0.2
OC34	80	5	60	5
OC35	80	5	60	7
OC36	80	5	60	10

A partir de los resultados obtenidos con estos experimentos, se compararon las diferentes curvas de velocidad de formación de éster frente a la concentración del reactivo en defecto, tomando como variable independiente la relación molar ácido oleico/alcohol cetílico. En la figura 6.15 se muestran las representaciones correspondientes a una concentración de ácido oleico en defecto. Dichas representaciones corresponden al nivel inferior tomado para el intervalo de presión estudiado, 60mmHg,

un nivel de temperatura intermedio para el intervalo fijado, 75°C, y un valor medio para el intervalo fijado en cuanto a la concentración inicial de catalizador, 5%.

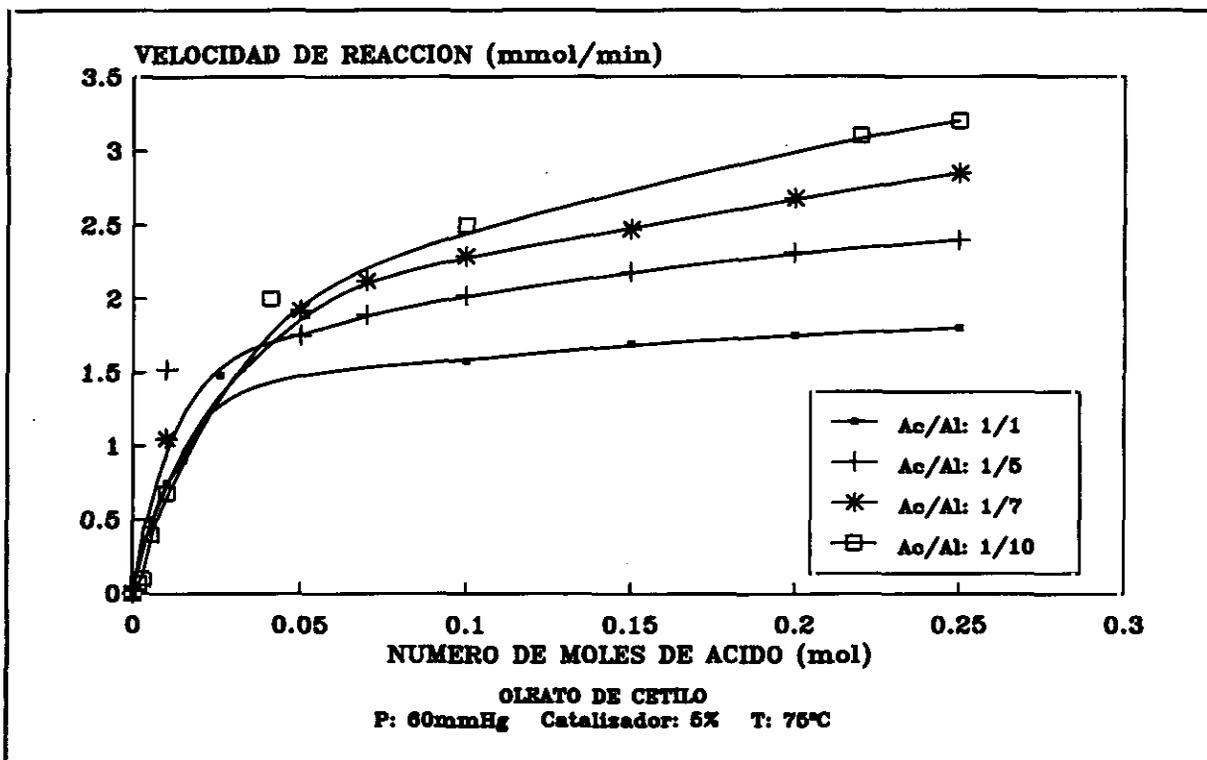


Figura 6.15. Síntesis de Oleato de Cetilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

Como se desprende de esta representación, la velocidad de obtención de oleato de cetilo aumenta cuando la concentración de ácido oleico aumenta, independientemente de cual sea la concentración de alcohol cetílico, hasta que la concentración de ácido oleico llega a un nivel de concentración correspondiente a 0.05 moles. A partir de ese número de moles, se observa que cuando la concentración de ácido continúa disminuyendo, la velocidad de reacción disminuye, dependiendo del exceso de alcohol cetílico presente en el medio de reacción.

Este hecho se debe a que, si bien en un principio el sistema responde a un comportamiento clásicamente termodinámico debido a un desplazamiento del equilibrio químico; para tiempos moderadamente largos de reacción, tienen lugar efectos de inhibición del sistema catalítico que fuerzan

al comportamiento del equilibrio a una aceleración en la disminución de la velocidad de reacción. Este comportamiento indica que habrá que tener en cuenta un factor de inhibición en la expresión de velocidad de reacción, por parte de la concentración del alcohol cetílico presente en el medio de reacción. Como puede observarse para las relaciones molares 1/7 y 1/10, en la velocidad de reacción es menor que para las relaciones molares 1/1 y 1/5 a partir de un número de moles inferior a 0.05 moles de ácido oleico.

Por otra parte, en la figura 6.16 se muestra una situación similar para la representación de las correspondientes curvas de concentración de alcohol cetílico frente a velocidad de reacción, cuando se opera en exceso de ácido oleico.

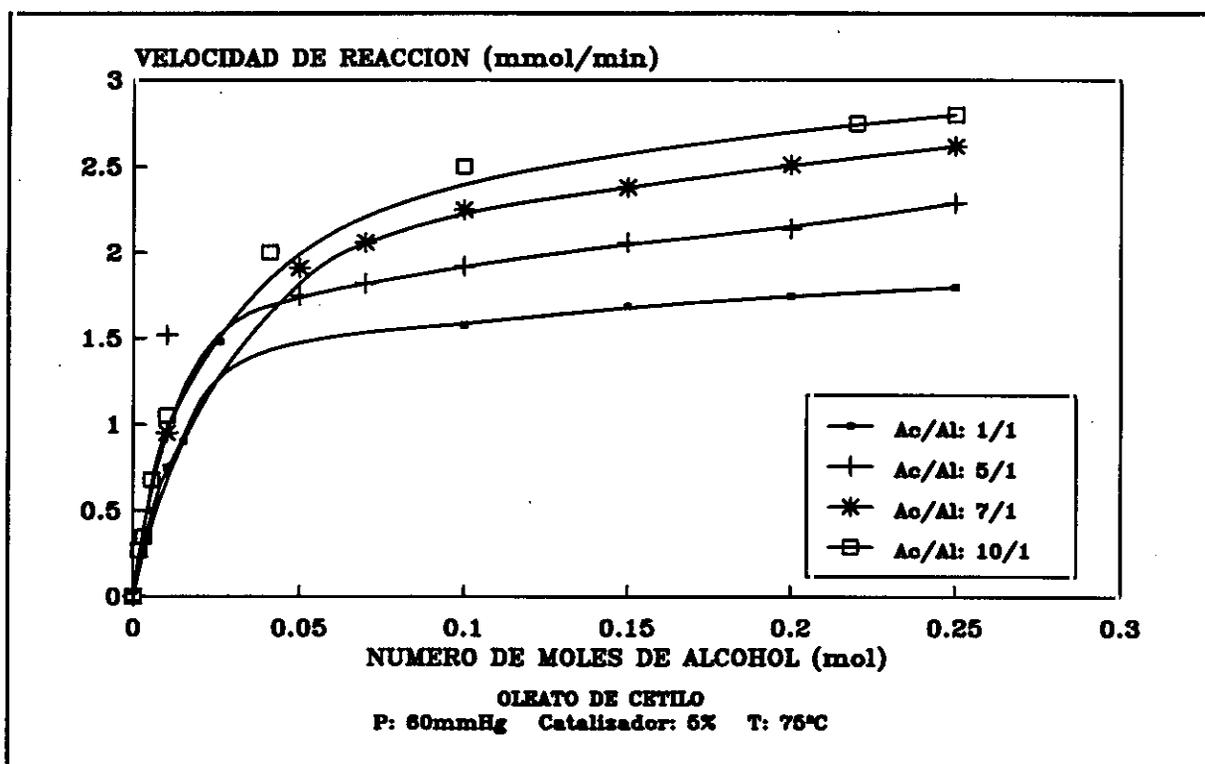


Figura 6.16. Síntesis de Oleato de Cetilo. Influencia de un exceso de la concentración de ácido oleico.

Las condiciones de operación para esta representación son las mismas que las detalladas en la figura anterior, siendo el efecto observado similar al anterior, aunque más atenuado, lo que indica que

que cuando la concentración de alcohol cetílico se encuentra en valores por debajo de 0.05 moles, la disminución de la velocidad de reacción es mayor que la que correspondería a algunas relaciones molares ácido/alcohol. Este efecto indica la existencia de una inhibición por parte de la presencia de ácido oleico.

6.2.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION

Para conocer la influencia de los productos obtenidos a medida que va teniendo lugar la reacción de esterificación, se llevaron a cabo dos series de experimento. La primera en exceso de oleato de cetilo, y la segunda en exceso de agua. En la tabla 6.7 se muestran los experimentos realizados para conocer dichas influencias.

Tabla 6.7. Experimentos cinéticos, con adición de productos, para la síntesis de Oleato de Cetilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{ESO} (Moles)	N _{W0} (Moles)
OC37	75	5	60	0.118	0
OC38	75	5	60	0.354	0
OC39	75	5	710	0	0.118
OC40	75	5	710	0	0.354

A fin de comparar el efecto producido por un exceso de la concentración de cualquiera de los dos productos de reacción presentes en el medio, se compararon dichos experimentos con los experimentos correspondientes a las mismas condiciones de operación, pero sin adición inicial alguna. En este caso, se representaron las curvas tiempo-conversión para los diferentes casos. En las figuras 6.17 y 6.18 se representan ambas series. Como puede observarse, se denotan efectos de inhibición tanto por la presencia de un exceso de oleato de cetilo como por la de un exceso de agua, ya que en los dos casos se produce una drástica caída de la conversión. Este hecho pone de manifiesto el efecto negativo de la concentración de ambas especies, en cuanto a la velocidad de reacción se refiere.

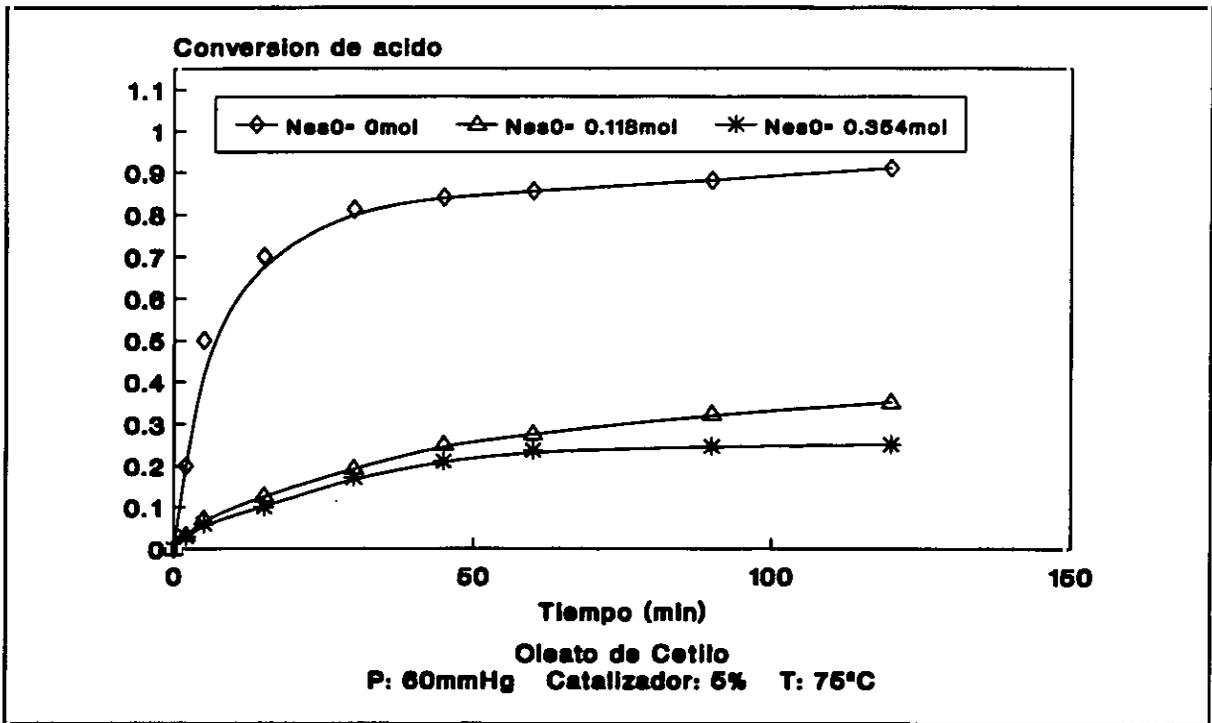


Figura 6.17. Síntesis de Oleato de Cetilo. Estudio de la concentración inicial de éster.

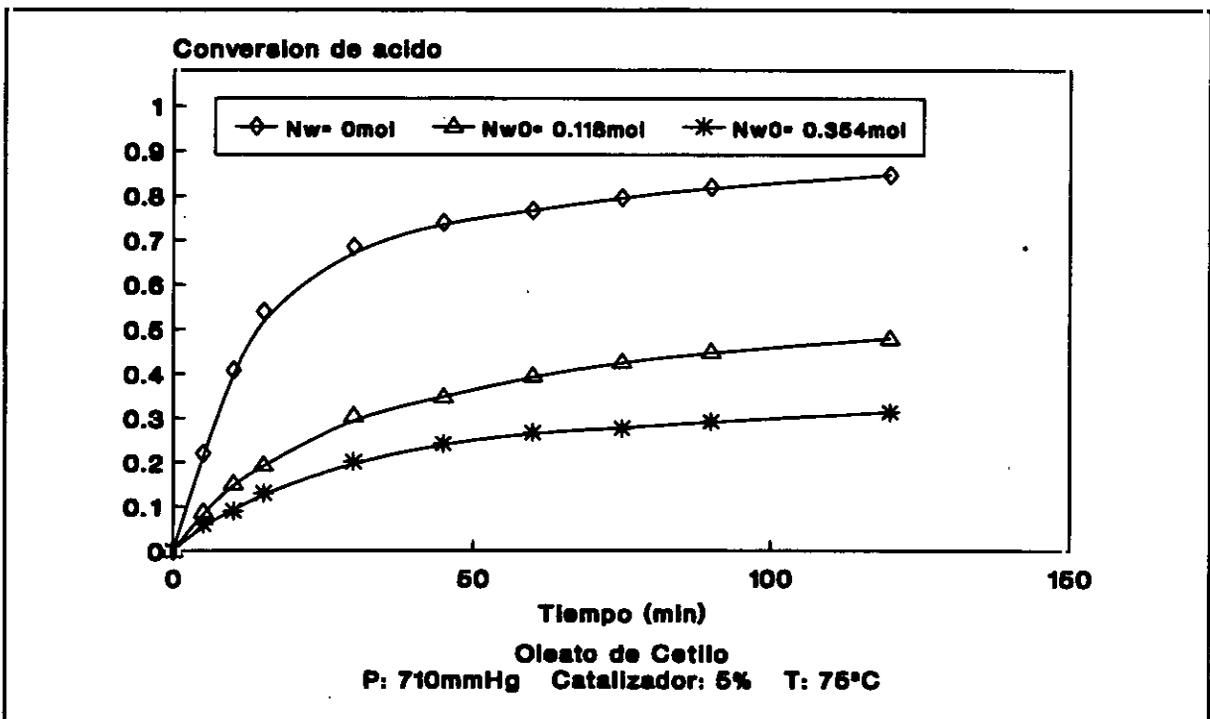


Figura 6.18. Síntesis de Oleato de Cetilo. Estudio de la concentración inicial de agua.

6.3 SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO

Para el estudio del sistema formado por ácido mirístico y alcohol mirístico, en presencia del sistema catalítico comercial Novozym 435, constituido por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada sobre un soporte macrorreticular, se llevaron a cabo dos grupos de experimentos. Al igual que en los sistemas anteriores, el primer grupo de experimentos está dividido en varias series dirigidas hacia el conocimiento de la influencia de las variables de operación, presión, temperatura y concentración de catalizador; mientras que las series realizadas en el segundo bloque de experimentos está dirigida hacia la obtención de resultados que, además de permitirnos conocer el comportamiento del sistema en función de las especies químicas presentes en el medio, permita obtener datos para el posterior modelado cinético del sistema. En la tabla 6.8 se resumen los experimentos correspondientes al primer grupo, en el que se ha fijado una relación molar ácido mirístico/alcohol mirístico 1:1, así como la velocidad de agitación para todos los experimentos pertenecientes a este grupo.

Tabla 6.8. Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables de operación sobre la reacción de síntesis de Miristato de Miristilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
MM1	60	60	5
MM2	70	60	3
MM3	70	60	5
MM4	70	60	7
MM5	80	60	5
MM6	60	710	5
MM7	70	710	3
MM8	70	710	5
MM9	70	710	7
MM10	80	710	5

6.3.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Con vistas a conocer la influencia ejercida por la temperatura sobre el proceso de esterificación, se tomaron los resultados obtenidos en las reacciones con una misma concentración de catalizador, 5% en peso, y una misma presión de operación, llevándose a cabo representaciones conversión-tiempo en miristato de miristilo, con lo que se obtuvieron dos series de experimentos válidos, para presiones de 60mmHg y 710mmHg respectivamente.

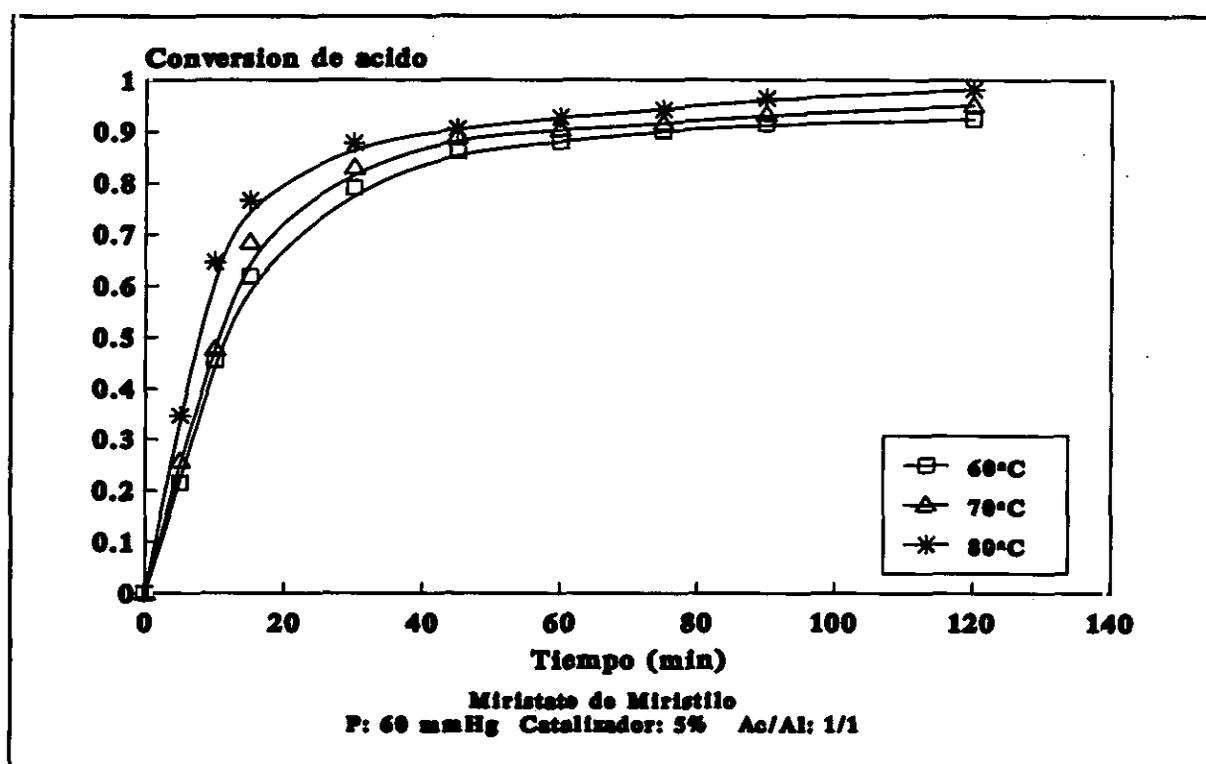


Figura 6.19. Influencia de la temperatura en la síntesis de Miristato de Miristilo.

En la figura 6.19 se representa una de estas series, la correspondiente a una presión reducida, relación molar ácido/alcohol de uno y concentración de catalizador de un 5%. En ella puede observarse que un incremento de la temperatura da lugar a un aumento de la conversión de ácido mirístico en miristato de miristilo. Así para un tiempo de reacción de dos horas, al pasar de 60°C a 70°C, la conversión aumenta entorno a un 2%, mientras que al aumentar la temperatura desde 70°C a 80°C, el

aumento de conversión se sitúa en algo más de un 3%; lo que indica en ambos casos que un aumento de la temperatura favorece la conversión.

Este hecho es, si cabe, algo más acentuado cuando se trabaja a presión atmosférica, por lo que puede afirmarse que el efecto de la temperatura de operación es el esperado para nuestros propósitos, al menos dentro del intervalo estudiado, al aumentar la temperatura se produce un aumento de la conversión.

6.3.2 INFLUENCIA DE LA PRESION

Siguiendo una metodología similar, se obtuvieron las curvas comparativas tomando la presión como variable independiente. La figura 6.20 muestra las curvas correspondientes a una temperatura de 70°C y un 5% de catalizador, aunque el efecto observado para las demás temperaturas es el mismo.

Al trabajar a presión reducida, se favorece el equilibrio de formación de miristato de miristilo, puesto que puede eliminarse el agua en continuo. Lo que indica que un aumento de la presión de operación ejerce un efecto negativo sobre el proceso de esterificación, al menos dentro del intervalo estudiado en esta memoria.

De la figura aquí presentada, se desprende que, si bien, para tiempos de reacción cortos, el valor de la presión de trabajo no ejerce variaciones apreciables en la conversión, a partir del primer cuarto de hora de reacción los resultados obtenidos son más interesantes desde el punto de vista de la producción trabajando a presión reducida, llegándose a observar a las dos horas de reacción un aumento en la conversión de ácido en éster, al disminuir la presión de trabajo hasta 60mmHg, que supera el 6% de la obtenida cuando se opera en condiciones de presión atmosférica, conservándose constantes el resto de las condiciones de operación.

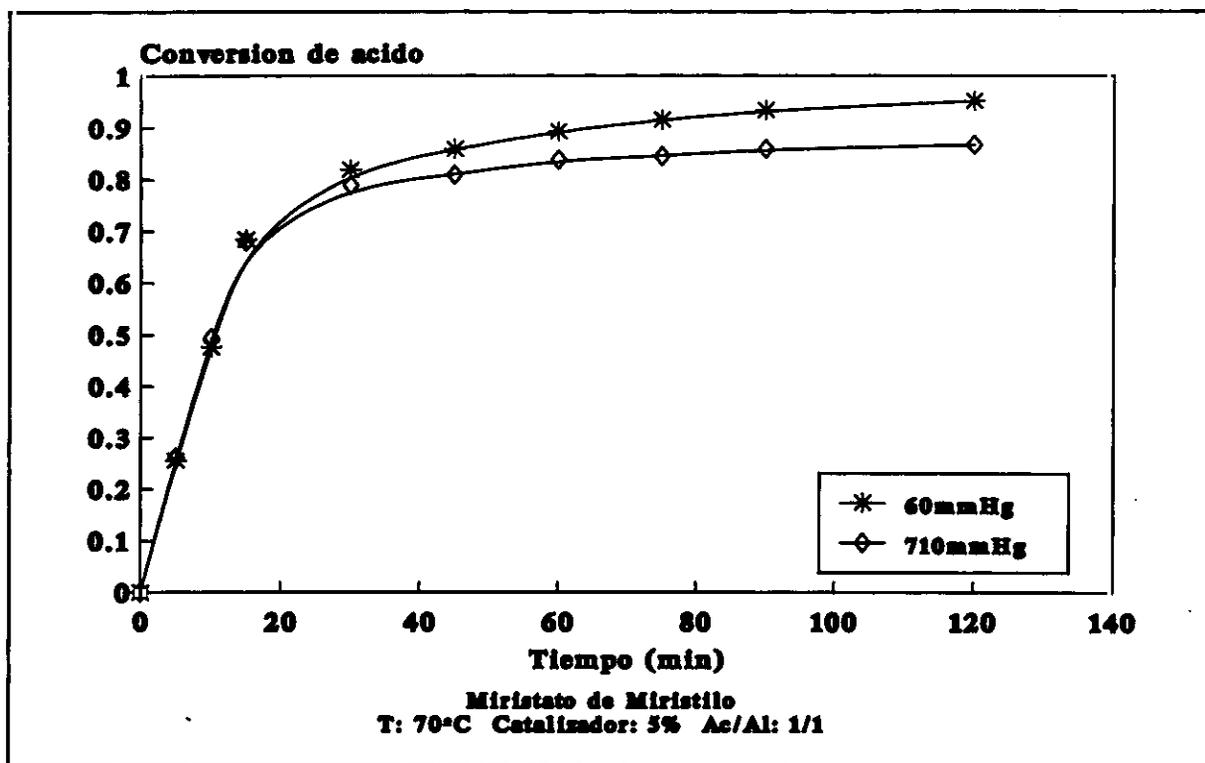


Figura 6.20. Influencia de la presión en la síntesis de Miristato de Miristilo.

6.3.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

Tomando los resultados obtenidos, tanto en condiciones de irreversibilidad como en condiciones de presión atmosférica, se procedió a representar las curvas conversión-tiempo, obteniéndose dos series de curvas para una temperatura de 70°C y un una relación equimolecular de ácido y alcohol mirístico. La figura 6.21 muestra, a título ilustrativo, las representaciones correspondientes al comportamiento del sistema en condiciones de presión reducida, 60mmHg.

A partir de los primeros 15min. de reacción comienza a observarse que la tendencia de las curvas viene dada por un efecto positivo de la concentración de catalizador. Por lo que un aumento de la concentración inicial de catalizador produce en todos los casos un aumento de la conversión en miristato de miristilo.

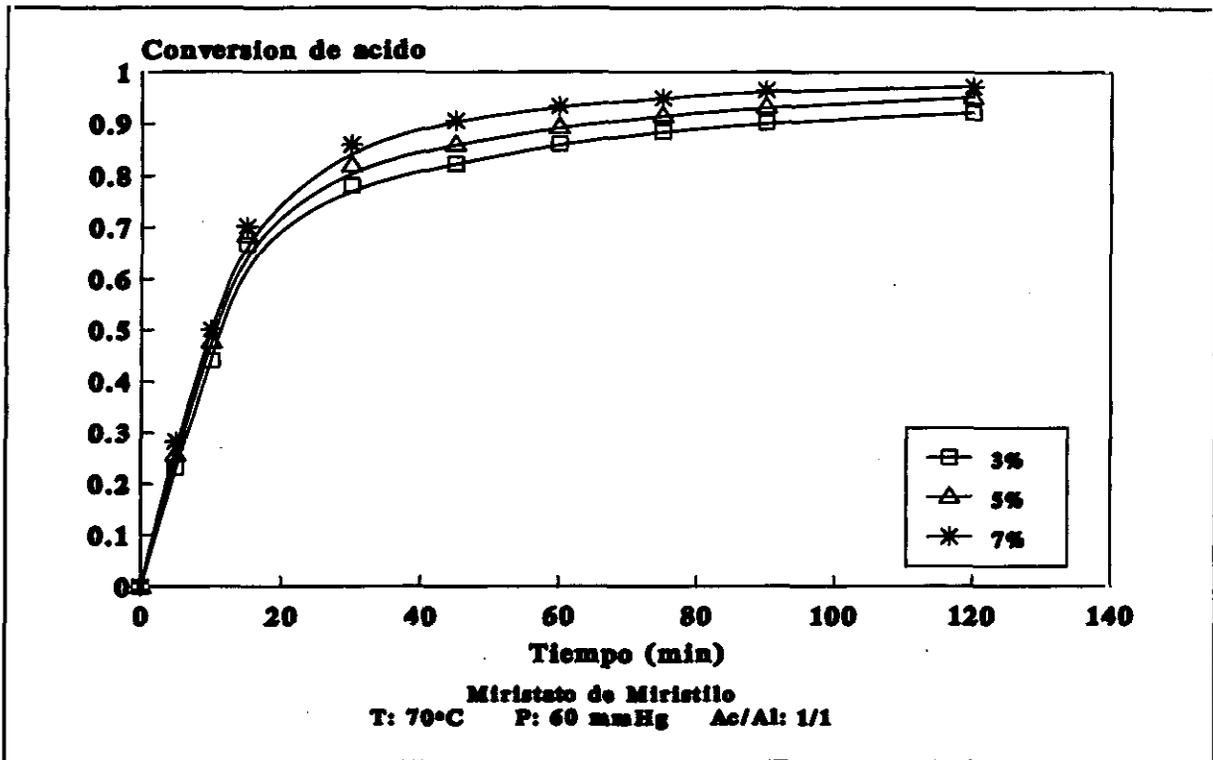


Figura 6.21. Influencia de la concentración inicial de catalizador en la síntesis de Miristato de Miristilo.

El análisis comparativo de estas curvas lleva a la consideración de que la variación de la conversión en función de la concentración de catalizador es lineal, ya que el aumento de la concentración de catalizador en un 2%, da lugar a un aumento en la conversión de casi un 4% en los dos casos.

Las figuras 6.22 y 6.23 confirman este hecho. En la primera se representan datos en condiciones de presión reducida, mientras que en la segunda, los datos corresponden a presión atmosférica. En ambos casos puede observarse que la variación de la conversión en ester con la concentración de catalizador puede considerarse de primer orden para las condiciones ensayadas.

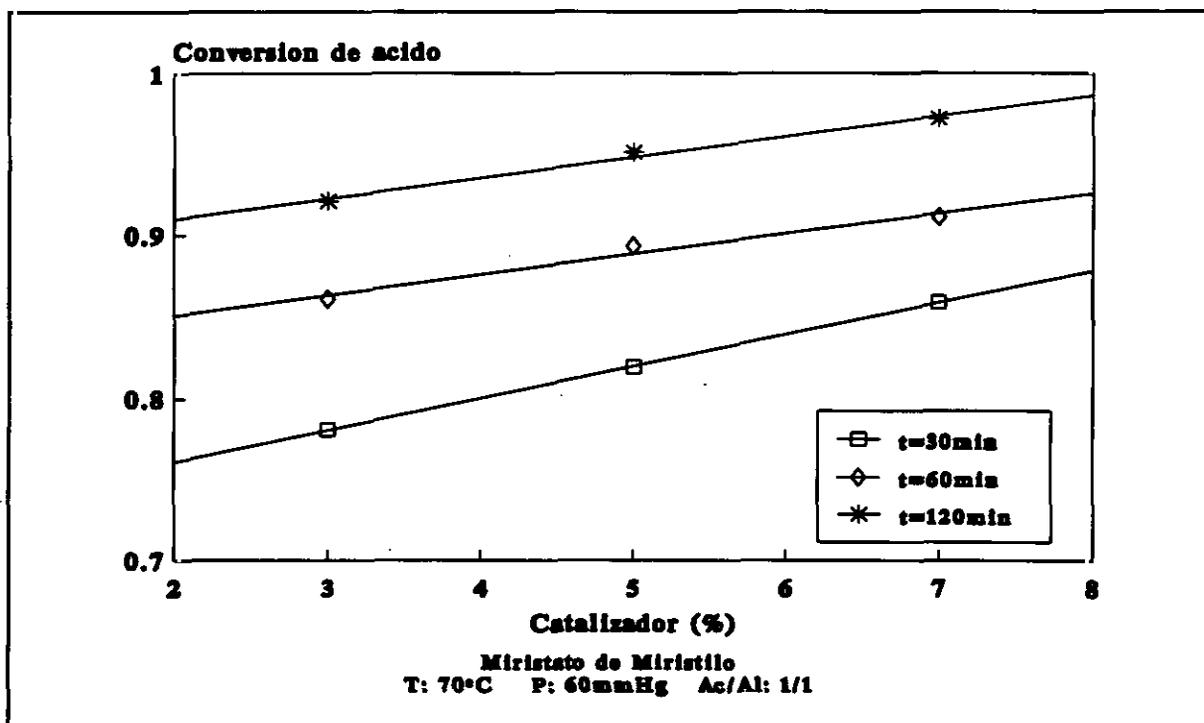


Figura 6.22. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 60mmHg.

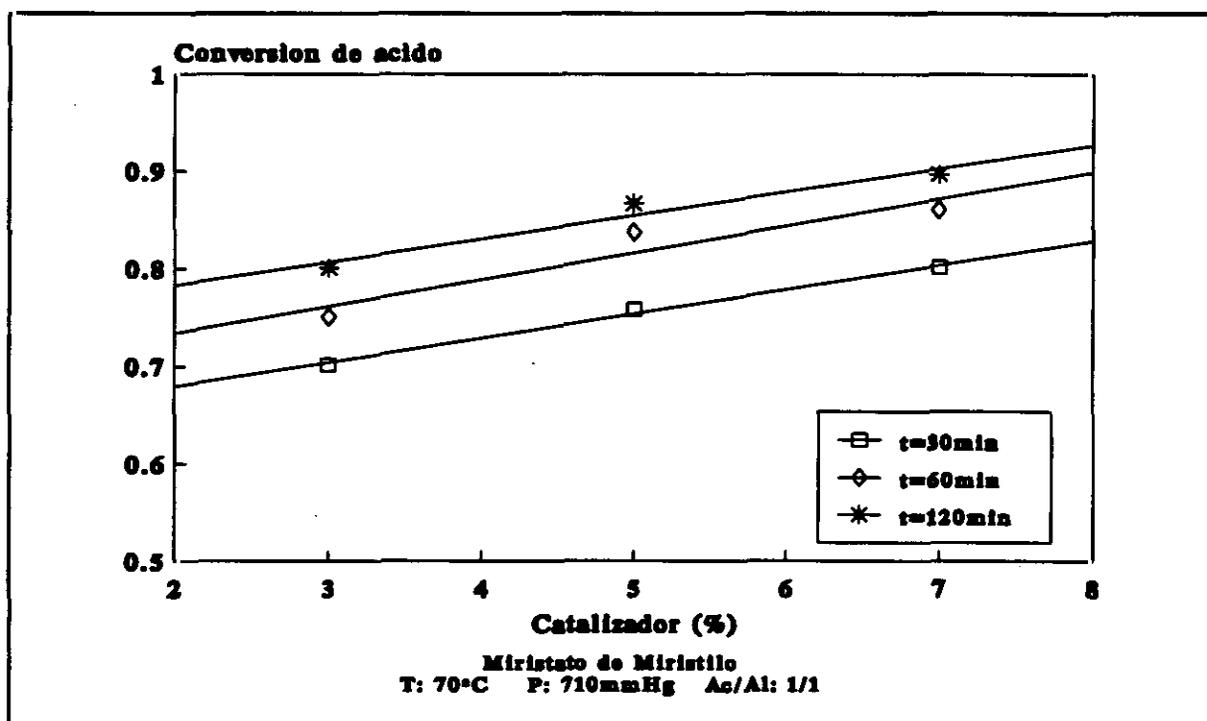


Figura 6.23. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 710mmHg

6.3.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

Siguiendo la metodología propuesta al principio de este capítulo, se realizó un segundo grupo de experimentos para conocer como se ve influenciado el sistema al variar la relación molar de los reactivos de partida, sobre el medio de reacción. A fin de aprovechar estos experimentos para un análisis desde el punto de vista cinético, se llevaron a cabo varias series de experimentos fijando sistemáticamente las condiciones de operación de los mismos. En la tabla 6.9 se muestran los experimentos pertenecientes a este grupo.

Tabla 6.9. Experimentos cinéticos para la síntesis de Miristato de Miristilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
MM11	60	5	60	0.1
MM12	60	5	60	0.143
MM13	60	5	60	0.2
MM14	60	5	60	5
MM15	60	5	60	7
MM16	60	5	60	10
MM17	70	5	60	0.1
MM18	70	5	60	0.143
MM19	70	5	60	0.2
MM20	70	5	60	5
MM21	70	5	60	7
MM22	70	5	60	10
MM23	80	5	60	0.1
MM24	80	5	60	0.143
MM25	80	5	60	0.2
MM26	80	5	60	5
MM27	80	5	60	7
MM28	80	5	60	10

Tomando como base los experimentos incluidos en el primer bloque, correspondientes a una concentración equimolecular de ácido mirístico y alcohol mirístico, a presión reducida y con un 5% de catalizador, se representaron las correspondientes curvas que relacionan la velocidad de obtención de miristato de miristilo con la concentración del reactivo en defecto, tomando como variable independiente la relación molar ácido/alcohol.

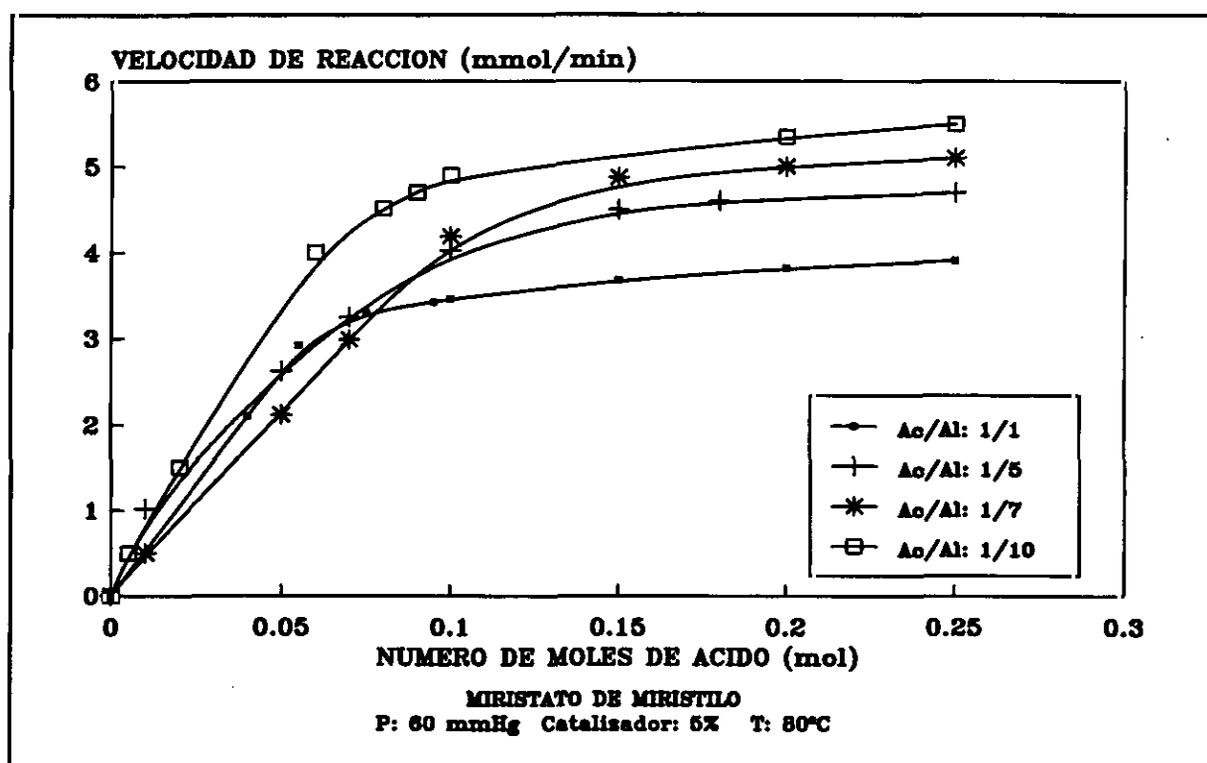


Figura 6.24. Síntesis de Miristato de Miristilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

La figura 6.24 muestra las curvas obtenidas cuando se trabaja en exceso de alcohol mirístico a una temperatura de 80°C. De ella se desprende que, si bien un aumento de la relación molar ácido/alcohol provoca un aumento de la velocidad de reacción para tiempos cortos, cuando la concentración de ácido mirístico está por debajo de la correspondiente a 0.1 moles del mismo, la velocidad de reacción comienza a caer de forma drástica, llegándose a obtener valores inferiores a los correspondientes a una relación equimolecular de reactivos. Esta aparente contradicción de las leyes

de equilibrio es debida al exceso de la concentración de alcohol que, sin duda, ejerce un efecto de inhibición catalítica frente a la reacción de formación del complejo principal, lo que habrá de tenerse en cuenta para el posterior modelado cinético de la síntesis enzimática.

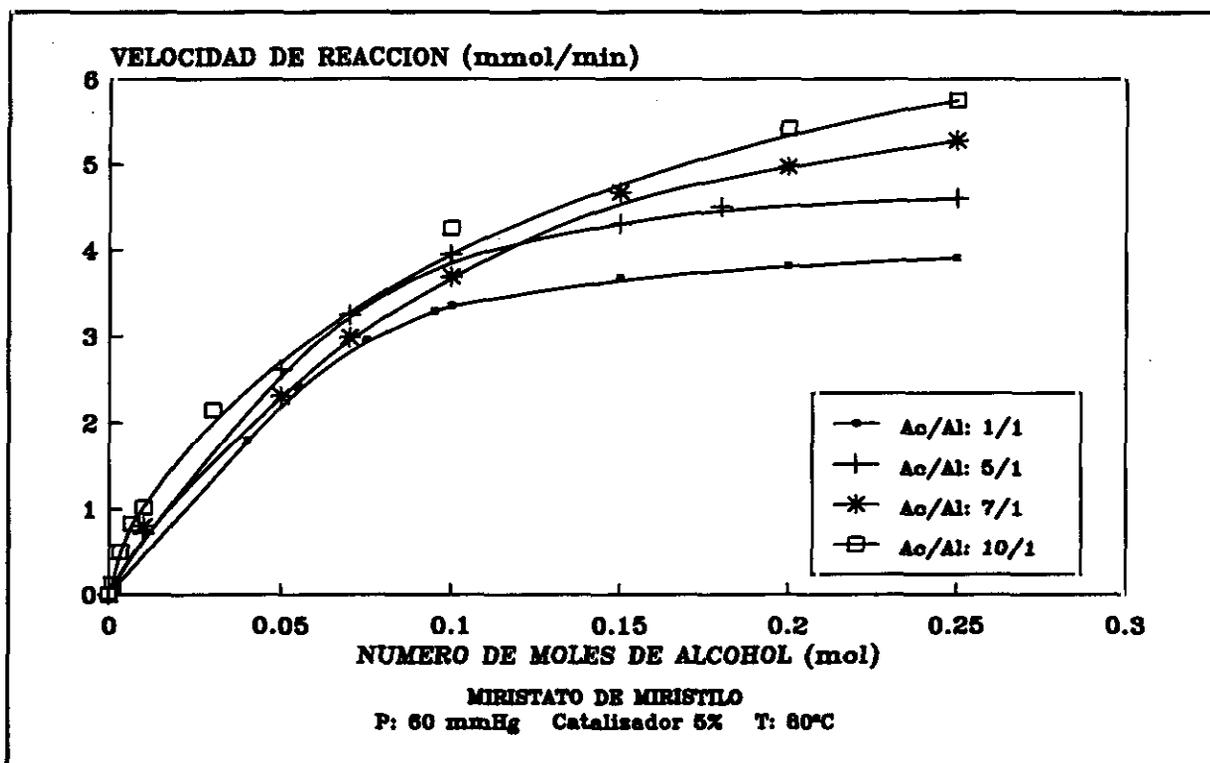


Figura 6.25. Síntesis de Miristato de Miristilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

Un efecto similar se observa en la figura 6.25, en la que se presentan los resultados correspondientes a las reacciones llevadas a cabo en exceso de ácido mirístico en las mismas condiciones de operación que en el caso anterior; siendo el efecto debido al exceso de ácido más marcado, al menos aparentemente, que el debido al exceso de alcohol.

En cualquier caso, cabe esperar una disminución, contrastada para los otros dos niveles de temperatura ensayados, para la velocidad de reacción, debida a un efecto de inhibición catalítica por parte del ácido mirístico sobre el mecanismo de la reacción enzimática.

6.3.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION

Continuando con el estudio de la influencia ejercida por las especies químicas presentes en el medio de reacción se llevó a cabo una nueva serie de experimentos cinéticos, esta vez en exceso de los productos de reacción correspondientes a dicho proceso de esterificación. Este último bloque de experimentos se indican en la tabla 6.10, donde se resumen las condiciones de operación fijadas en este estudio.

Tabla 6.10. Experimentos con adición de productos para la síntesis de Miristato de Miristilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{ES0} (Moles)	N _{wa} (Moles)
MM29	70	5	60	0.118	0
MM30	70	5	60	0.354	0
MM31	70	5	710	0	0.118
MM32	70	5	710	0	0.354

Teniendo en cuenta las reacciones realizadas en las mismas condiciones de operación pero en ausencia de productos, se representaron las correspondientes curvas conversión-tiempo de ácido, tomando como variable independiente el número de moles de la especie adicionada en cada experimento. En las figuras 6.26 y 6.27 pueden observarse las curvas de los experimentos con adición de miristato de miristilo y de agua, respectivamente; ambas realizadas a 70°C y con un 5% de catalizador, manteniendo fija y equimolecular la relación molar ácido/alcohol.

Como puede observarse, los resultados obtenidos son análogos a los de los sistemas anteriores. La caída en la conversión al aumentar la concentración del producto en cuestión indica, en ambos casos, la presencia de un efecto de inhibición catalítica por parte tanto del miristato de miristilo como del agua presentes en el medio de reacción.

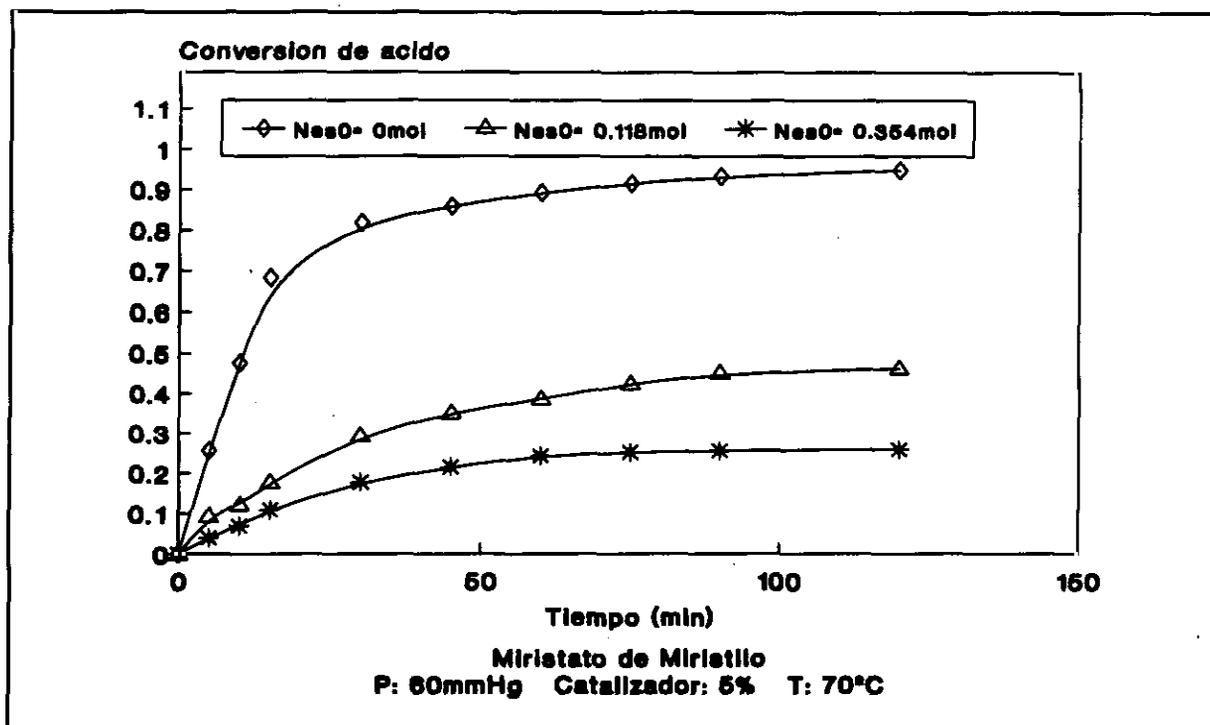


Figura 6.26. Síntesis de Miristato de Miristilo. Estudio de la concentración inicial de éster.

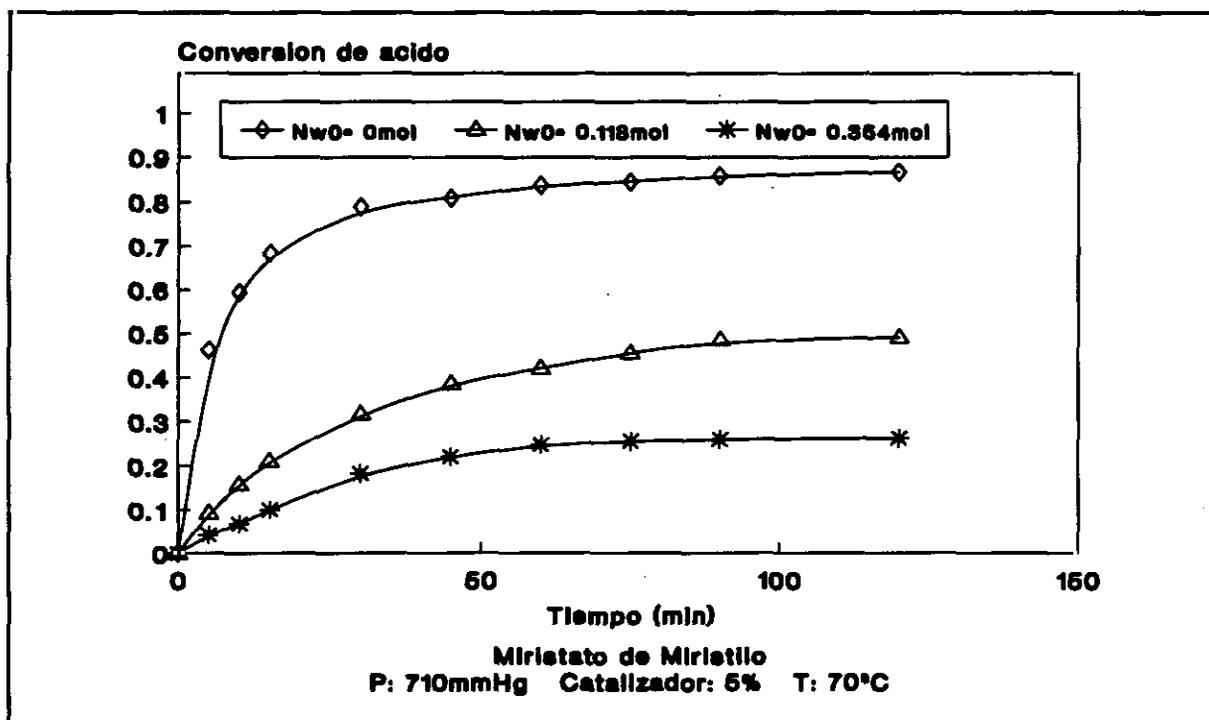


Figura 6.27. Síntesis de Miristato de Miristilo. Estudio de la concentración inicial de agua.

6.4 SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO

La experimentación realizada para el estudio de este sistema se realizó, como en los casos anteriores, considerando dos grupos de experimentos. La diferencia con respecto a los sistemas ya considerados reside en la imposibilidad de operar en condiciones de presión reducida, puesto que la naturaleza del alcohol isopropílico da lugar a que la presión de vapor de este reactivo sea inferior a la que presenta el agua formada en el medio de reacción, para cualquier temperatura de operación fijada.

Este hecho supone un impedimento para desplazar el equilibrio de reacción mediante la eliminación continua del agua producida, por lo que todos los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de presión atmosférica. Los reactivos de partida fueron ácido oleico e isopropanol, siendo el sistema catalítico empleado Novozym 435, constituido por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada.

Tabla 6.11. Experimentos para el estudio de la influencia de las variables de operación sobre la reacción de síntesis catalítica de Oleato de Isopropilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
IPO1	65	710	5
IPO2	70	710	3
IPO3	70	710	5
IPO4	70	710	7
IPO5	75	710	5

En la tabla 6.11 se muestra un primer grupo de experimentos, realizados para determinar el comportamiento del sistema frente a las variables de operación en que se lleva a cabo la reacción, que en este caso serán únicamente la temperatura y la concentración de catalizador, manteniéndose

constante y equimolecular la relación molar ácido/alcohol. El efecto producido por la variación de la concentración de las diferentes especies presentes en el medio de reacción se considerará en un segundo grupo de experimentos, llevados a cabo desde el punto de vista de la obtención de información de cara a modelar la cinética que gobierna el proceso de esterificación.

6.4.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Los experimentos empleados para conocer la influencia de la temperatura, fueron los correspondientes a una concentración inicial de catalizador del 5%. Con los datos de estos experimentos se construyeron las curvas conversión-tiempo de ácido oleico en oleato de isopropilo, manteniendo las demás variables de operación constantes. En la figura 6.28 se muestran las curvas correspondientes a las tres temperaturas ensayadas.

Como se desprende de dicha representación, la influencia debida al aumento de la temperatura, supone un incremento de la conversión en oleato de isopropilo. Para tiempos cortos de reacción, el efecto observado es similar para las tres temperaturas probadas, permaneciendo este casi inalterable hasta los veinte primeros minutos de reacción para las temperaturas media y superior. A partir de este momento, las diferencias comienzan a hacerse más notorias, llegándose a alcanzar a las dos horas de reacción un incremento en la conversión del 3.01% al pasar de 65°C a 70°C, y un aumento del 2.32% cuando se aumenta la temperatura desde 70°C a 75°C.

Estos hechos pueden explicarse teniendo en cuenta que, si bien, para tiempos cortos de reacción, la velocidad de reacción se ve poco influenciada por la temperatura durante el primer cuarto de hora de reacción, durante el cual la reacción transcurre a elevada velocidad. A partir de dicho período de tiempo, la temperatura ejerce un efecto más marcado, lo que indica que, al menos dentro del campo de experimentación definido, la temperatura no juega un papel definitivo con respecto a la

naturaleza y la concentración de las especies presentes en el medio de reacción.

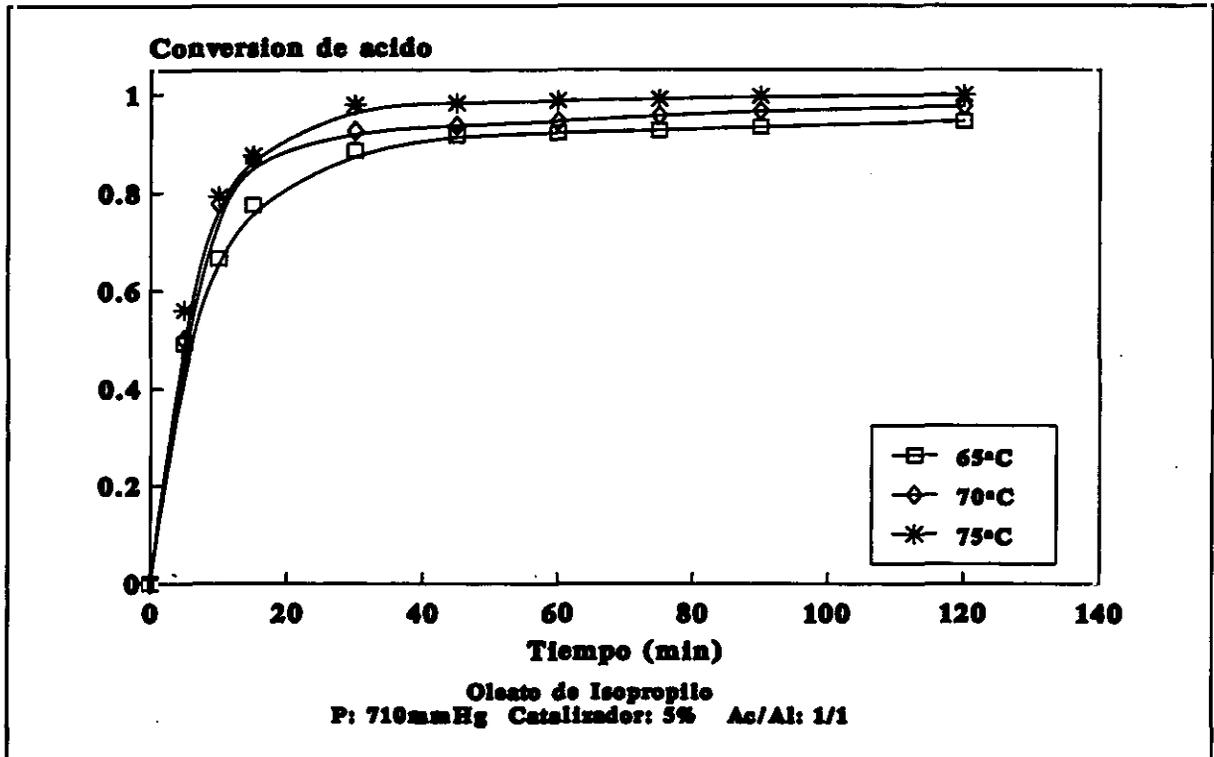


Figura 6.28. Influencia de la temperatura en la síntesis de Oleato de Isopropilo.

6.4.2 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

En cuanto a la concentración del catalizador Novozym 435 empleado para este sistema de reacción, se ensayaron los niveles de concentración de 3%, 5% y 7%, fijando las demás variables de operación en 70°C para la temperatura y relación equimolecular de reactivos, llevándose a cabo las reacciones en condiciones de presión atmosférica. A partir de los experimentos correspondientes, se representaron las curvas características de variación de la conversión de ácido oleico con el tiempo transcurrido durante la reacción, para cada uno de los tres niveles de concentración de catalizador fijados según las especificaciones de la lipasa de *Candida antarctica* comercial. La figura 6.29 muestra comparativamente el esperado aumento global de la conversión producido por un aumento de la especie

catalítica presente en el medio de reacción.

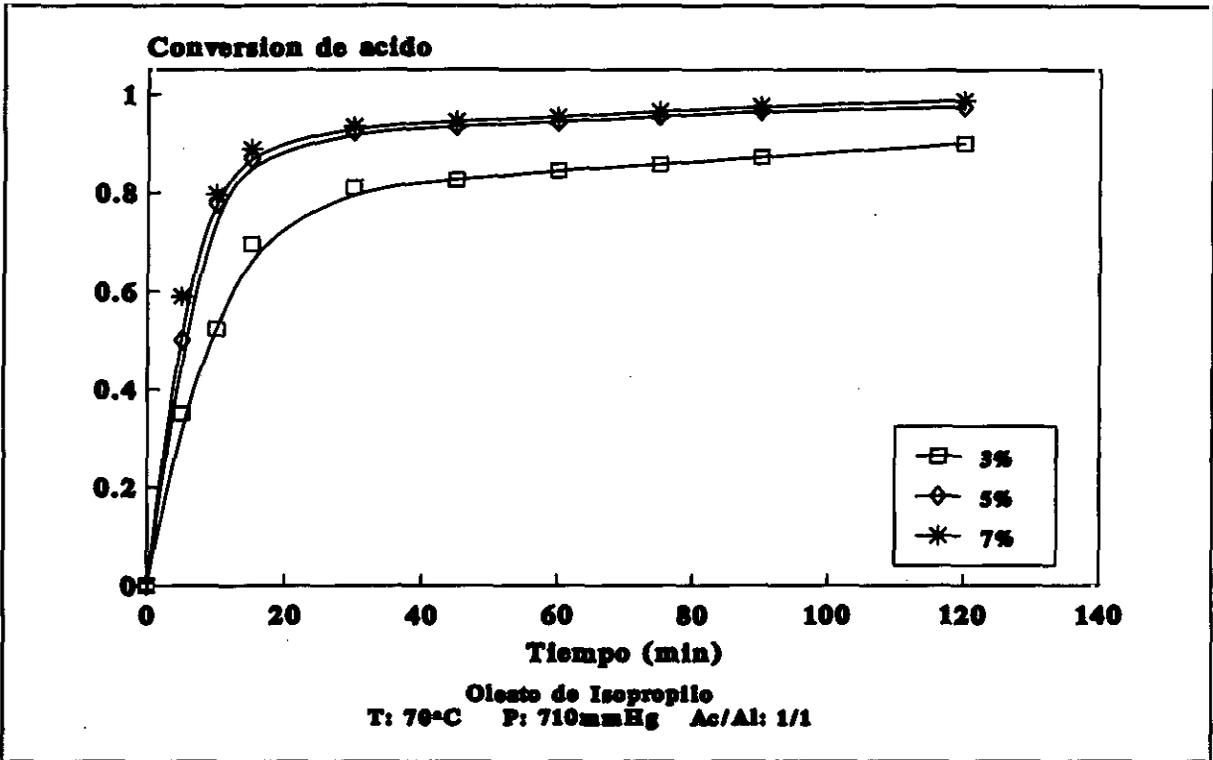


Figura 6.29. Influencia de la concentración inicial de catalizador en la síntesis de Oleato de Isopropilo.

A la vista de este gráfico, puede confirmarse la dependencia de la conversión con la concentración de catalizador, como sucede en los sistemas considerados anteriormente. Sin embargo, el aumento producido en la conversión cuando la concentración de la especie catalítica se aumenta desde el nivel medio al nivel superior de concentración esta por debajo del que, en un principio, cabría esperar. Sin duda, esto se debe a que estamos operando en unas condiciones muy próximas al valor de concentración para el cual se alcanzaría la saturación de la especie catalítica en el medio de reacción. No obstante, la variación de la conversión con la concentración de catalizador puede considerarse todavía de primer orden con respecto a la cantidad de catalizador, ya que se ha observado que la desviación puede despreciarse para los diferentes tiempos de reacción. Así, en la figura 6.30 pueden observarse las representaciones correspondientes a los tres tiempos de reacción para los que se

han tomado valores, pudiéndose considerar una trayectoria lineal, siendo las rectas que describen dicha variación casi paralelas.

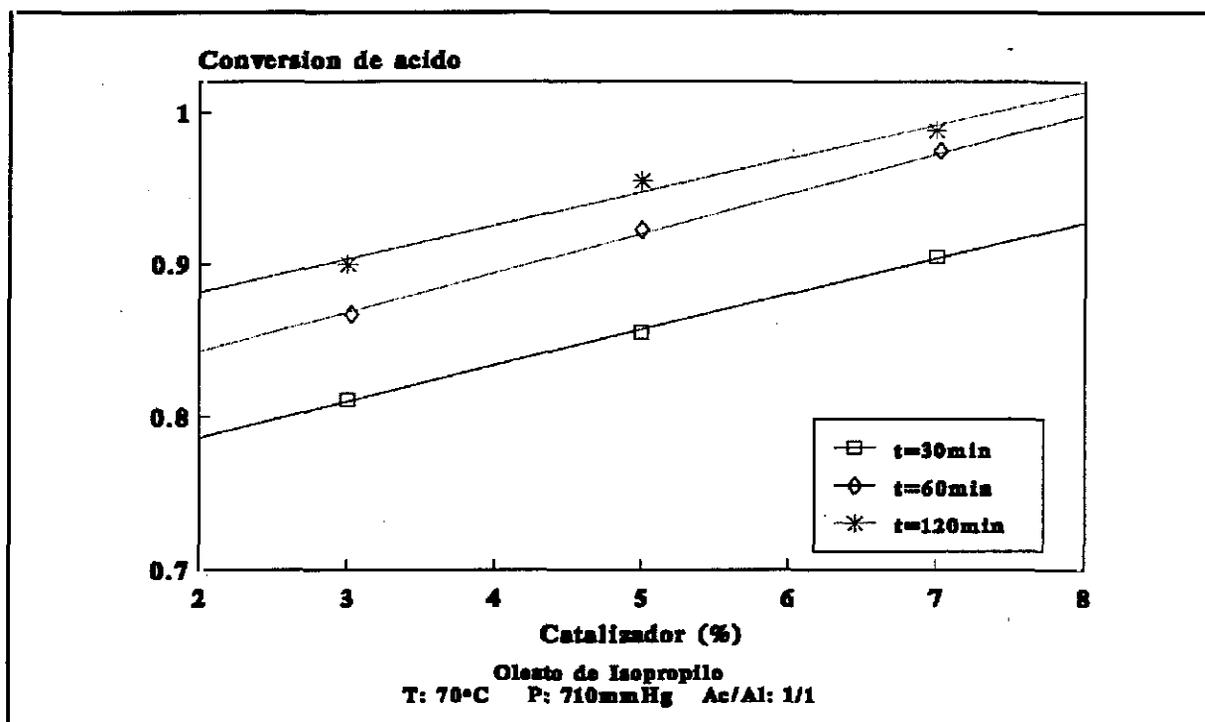


Figura 6.30. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 710mmHg

6.4.3 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

El estudio de la influencia debida a la relación molar de los reactivos de partida en la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol isopropílico se llevó a cabo a partir de un grupo de experimentos en los que se mantuvieron constantes todas las condiciones de operación, excepto la relación molar ácido/alcohol. En la tabla 6.12 se hace un resumen de los experimentos realizados desde un punto de vista cinético, con el fin de obtener información útil, junto con los correspondientes experimentos realizados con una concentración equimolecular de reactivos, para el posterior modelado cinético de la reacción de esterificación.

Tabla 6.12. Experimentos cinéticos para la síntesis de Oleato de Isopropilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
IPO6	65	5	710	0.1
IPO7	65	5	710	0.143
IPO8	65	5	710	0.2
IPO9	65	5	710	5
IPO10	65	5	710	7
IPO11	65	5	710	10
IPO12	70	5	710	0.1
IPO13	70	5	710	0.143
IPO14	70	5	710	0.2
IPO15	70	5	710	5
IPO16	70	5	710	7
IPO17	70	5	710	10
IPO18	75	5	710	0.1
IPO19	75	5	710	0.143
IPO20	75	5	710	0.2
IPO21	75	5	710	5
IPO22	75	5	710	7
IPO23	75	5	710	10

A partir de los datos obtenidos durante el transcurso de cada una de las reacciones, se representaron gráficamente los valores de velocidad de reacción frente al número de moles de reactivo, observándose para cada una de las series representadas, para las tres temperaturas, el consiguiente comportamiento, debido a la relación molar ácido/alcohol, que se tomó como variable independiente.

En la figura 6.31 se presentan las curvas correspondientes al nivel medio fijado para la temperatura de reacción, 70°C, en la que se estudia la variación del número de moles de ácido oleico, cuando la reacción se lleva a cabo en presencia de un exceso de alcohol isopropílico, siendo análogos

los resultados obtenidos para los niveles de temperatura superior e inferior, cuando las demás condiciones de operación permanecen constantes.

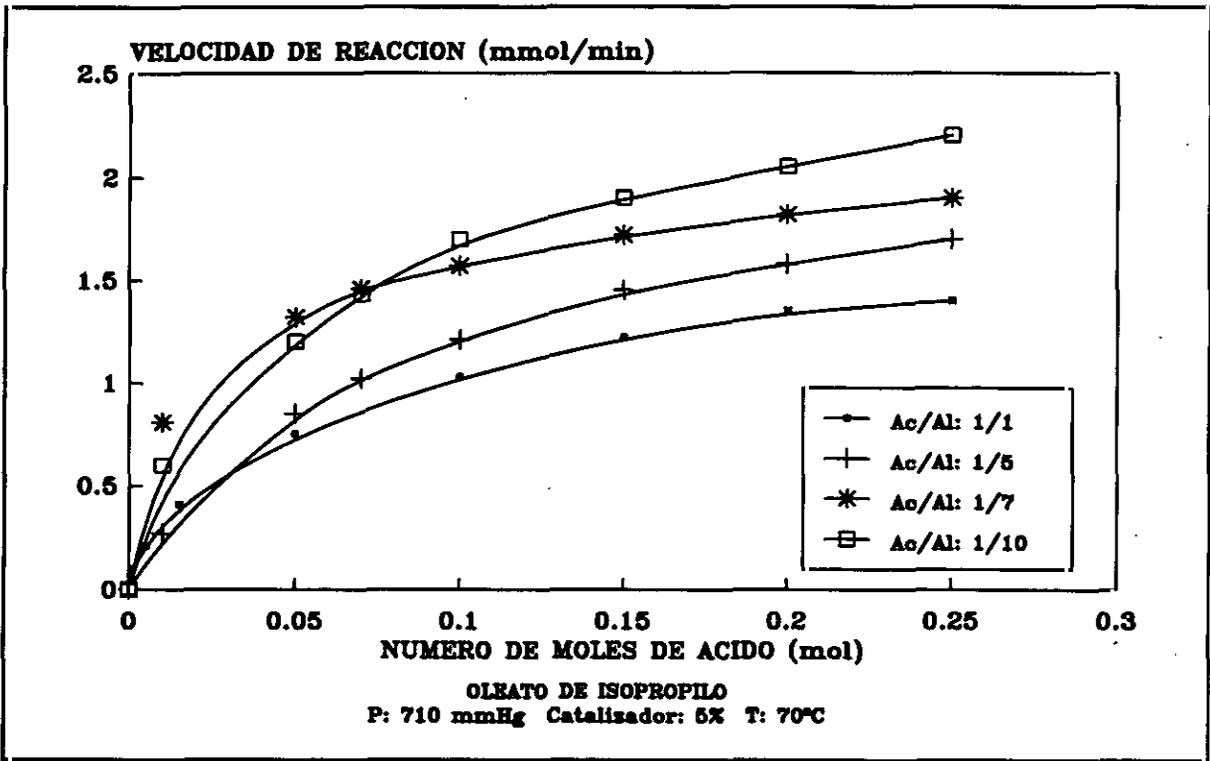


Figura 6.31. Síntesis de Oleato de Isopropilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

Al igual que en los casos anteriores, se observa un aumento de la conversión para tiempos cortos de reacción, cuando la cantidad de alcohol adicionado aumenta, debido a un claro desplazamiento del equilibrio de reacción por la presencia de un exceso de uno de los reactivos. En cambio, a medida que nos acercamos al equilibrio de reacción, se observa que la disminución de la velocidad de reacción es superior para una relación molar 1:10 que cuando la relación molar es 1:7, por debajo de una concentración de ácido oleico igual a 0.07 moles. El mismo fenómeno se observa para relaciones 1:5 y 1:1, cuando la concentración de ácido oleico corresponde a un valor inferior a los 0.35 moles. En ambos casos, este descenso inesperado se debe a una misma causa: La presencia de un exceso de isopropanol produce un efecto de inhibición de la lipasa de *Candida antarctica*, debido

a la formación de un complejo de la enzima con el alcohol, lo que se traduce en una disminución de la velocidad de reacción, que presenta valores inferiores a los que, en un principio, cabría esperar.

Un fenómeno análogo se produce al operar en exceso de alcohol oleico, donde se ha podido observar que, para las mismas condiciones de operación, cuando la concentración de isopropanol está por debajo de la correspondiente a 0.68 moles, la velocidad de reacción sufre un descenso superior al esperado; obteniéndose valores mínimos en el caso de una relación molar 10:1. En la figura 6.32 se presentan las curvas que describen el comportamiento de la velocidad de reacción. En este caso la inhibición producida sobre el sistema enzimático que cataliza el proceso, se debe a la formación de complejos indeseables con el ácido oleico. Por tanto, habrá que tener en cuenta la inclusión, dentro del modelo cinético, de términos característicos de inhibición enzimática debida a la formación de complejos con los reactivos.

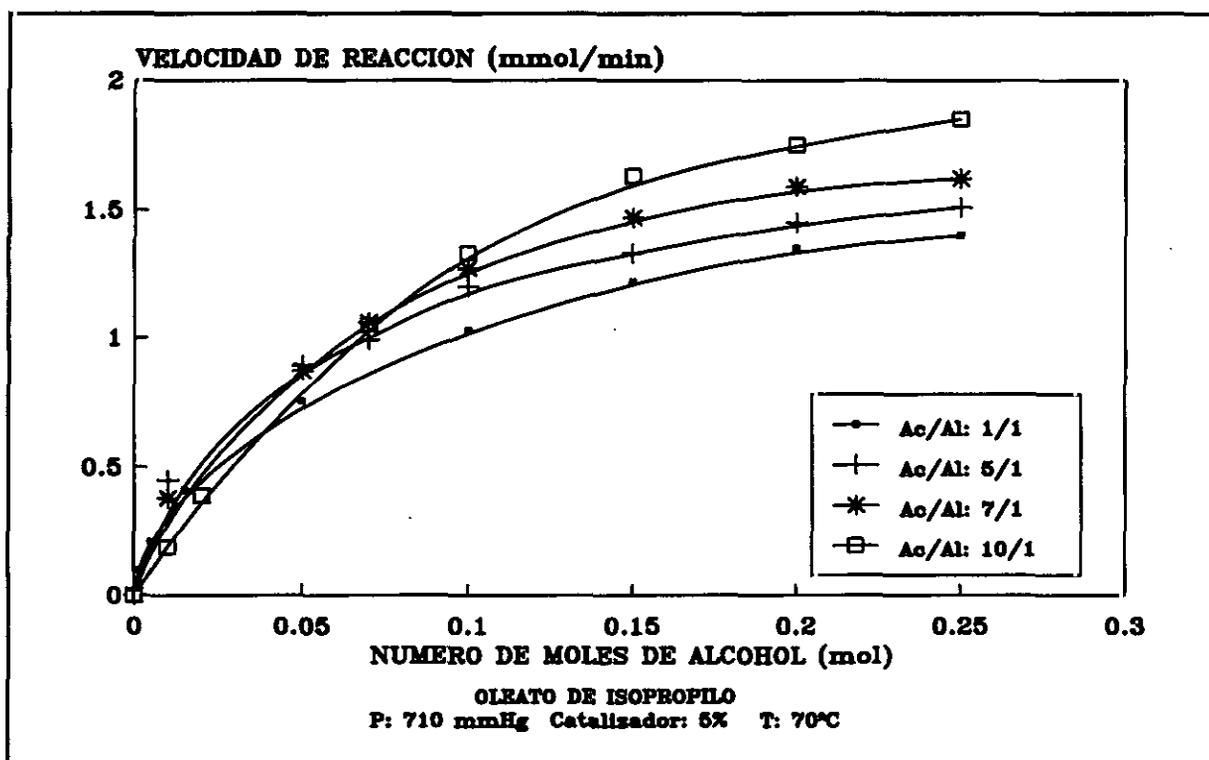


Figura 6.32. Síntesis de Oleato de Isopropilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

6.4.4 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION

La influencia de los productos formados en el transcurso de la reacción de esterificación, oleato de isopropilo y agua, se estudia llevando a cabo cuatro experimentos adicionales, cuyos resultados fueron comparados conjuntamente con los experimentos realizados sin adición de productos. En la tabla 6.13 se muestran las condiciones de operación para los correspondientes experimentos, los cuales se realizaron con una relación molar ácido/alcohol igual a la unidad.

Tabla 6.13. Experimentos con adición de productos para la síntesis de Oleato de Isopropilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{Eso} (Moles)	N _{wo} (Moles)
IPO24	70	5	710	0.118	0
IPO25	70	5	710	0.354	0
IPO26	70	5	710	0	0.118
IPO27	70	5	710	0	0.354

En las figuras 6.33 y 6.34 se presentan las curvas indicativas de la variación de la conversión de ácido oleico en oleato de isopropilo en función del tiempo, con adición inicial de oleato de isopropilo y agua, respectivamente. En ambos casos puede observarse que un aumento de la concentración de cualquiera de los productos de reacción produce una apreciable disminución de la velocidad de reacción para cualquier tiempo de reacción. Así en la primera adición de éster se produce una disminución de la conversión de más de un 40%; mientras que en la segunda adición, un aumento tres veces superior al primero, el descenso con respecto a la primera adición es inferior a un 20%.

Algo similar sucede cuando se opera en exceso de agua, la primera adición de agua supone un descenso en la conversión de ácido oleico de algo más de un 30%, incrementándose este en un 15% más cuando la concentración inicial de agua se multiplica por tres en la segunda adición.

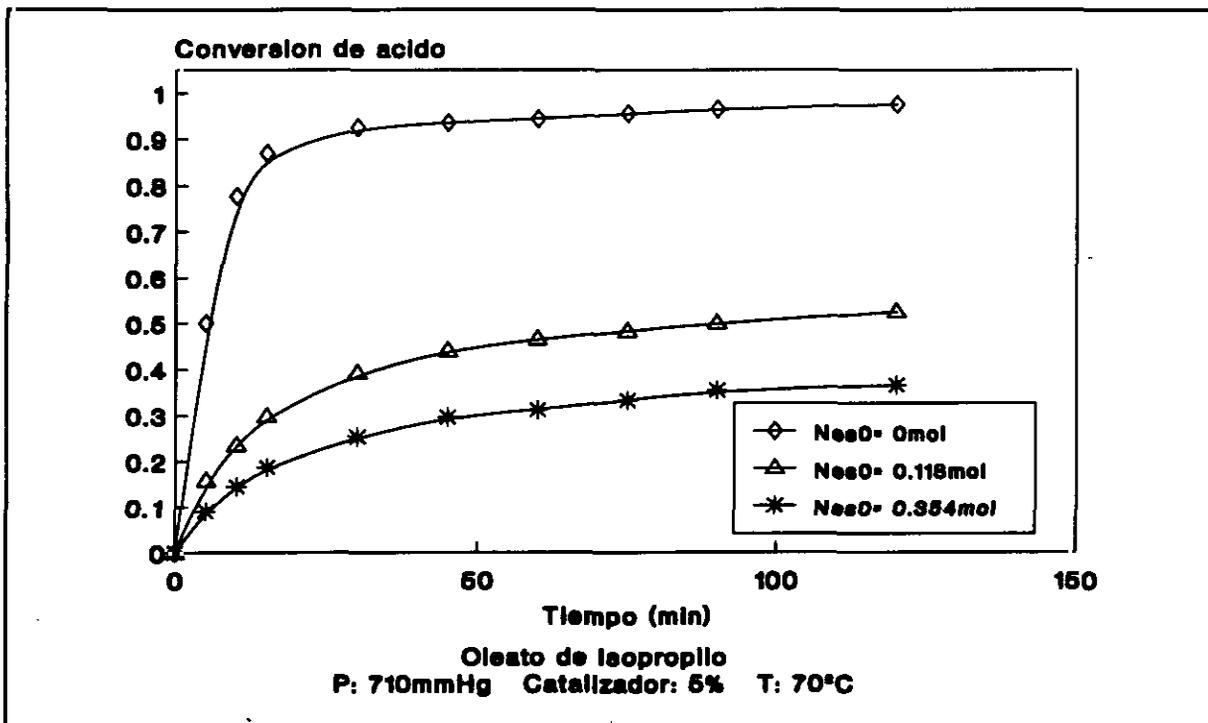


Figura 6.33. Síntesis de Oleato de Isopropilo. Estudio de la concentración inicial de éster.

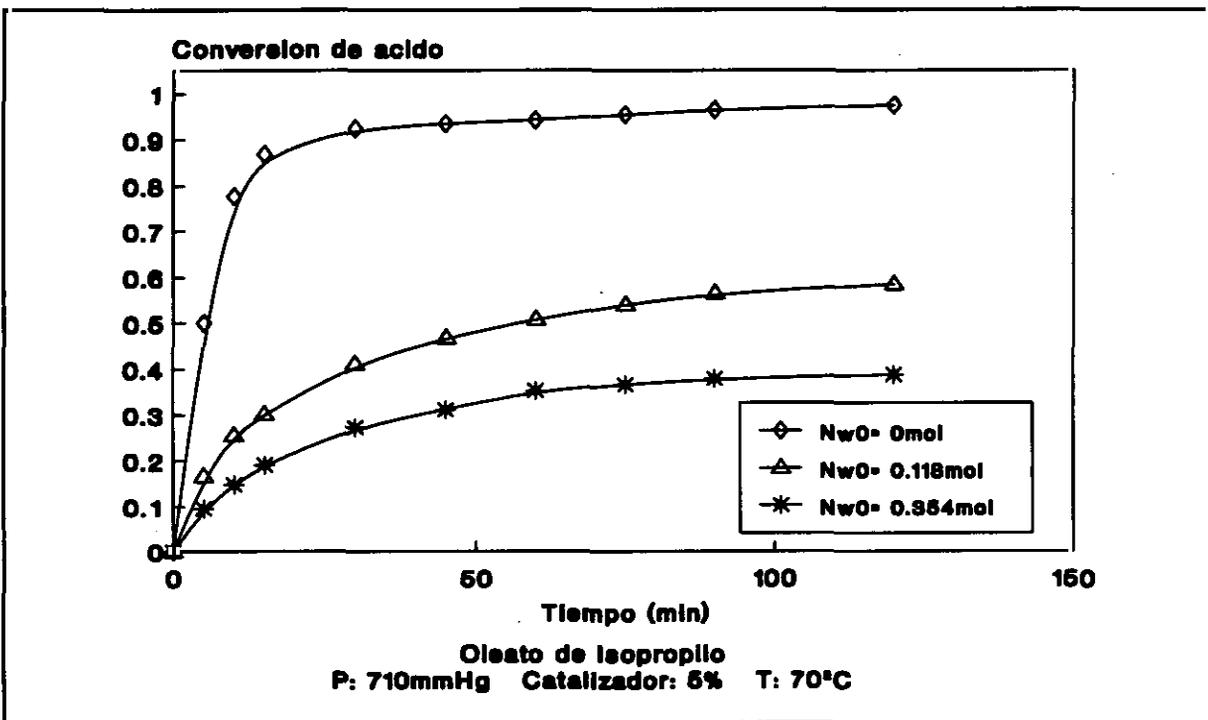


Figura 6.34. Síntesis de Oleato de Isopropilo. Estudio de la concentración inicial de agua.

6.5 SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO

Los experimentos realizados para el análisis del sistema ácido palmítico-alcohol isopropílico catalizado por la lipasa comercial Novozym 435, inmovilizada sobre una resina de intercambio iónico, se llevaron a cabo en condiciones de presión atmosférica. Al igual que para el anterior sistema, la presencia de isopropanol en el medio que, debido tanto a su presión de vapor como a su afinidad para formar azeótropos con el agua, impide la posibilidad de trabajar a presión reducida para desplazar el equilibrio de reacción mediante la eliminación en continuo del agua producida. Las condiciones de operación, por analogía con el caso anterior se fijaron de la misma manera, atendiendo al razonamiento propuesto en el capítulo tres de esta memoria. El primer grupo de experimentos se planificó de cara al estudio del comportamiento de la reacción en función de las condiciones de operación, siendo las variables estudiadas la temperatura de reacción y la concentración inicial de catalizador presente en el medio de reacción; mientras que la presión y la relación molar de reactivos se mantuvieron constantes para todos los experimentos, siendo esta última la unidad. En la tabla 6.14 se hace un resumen de los experimentos realizados para tal fin, excluyéndose los experimentos realizados en un segundo grupo, cuya importancia está más orientada hacia el estudio cinético del proceso de esterificación enzimática.

Tabla 6.14. Experimentos para el estudio de la influencia de las variables de operación sobre la reacción de síntesis catalítica de Palmitato de Isopropilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
IPP1	65	710	5
IPP2	70	710	3
IPP3	70	710	5
IPP4	70	710	7
IPP5	75	710	5

6.5.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Tomando como referencia los datos obtenidos a partir de los experimentos 1, 3 y 5, se representaron las curvas conversi3n-tiempo del palmitato de isopropilo, caracteristicas para cada una de las temperaturas de reacci3n. Los efectos observados son an3logos a los de los sistemas anteriores, especialmente al de s3ntesis de oleato de isopropilo. Si bien los niveles de conversi3n obtenidos est3n muy por debajo de los del 3cido oleico, sin duda debido a la naturaleza del 3cido palm3tico, la dependencia de la conversi3n con la temperatura es muy parecida, como puede observarse en la figura 6.35, donde se muestran las referidas curvas comparativas.

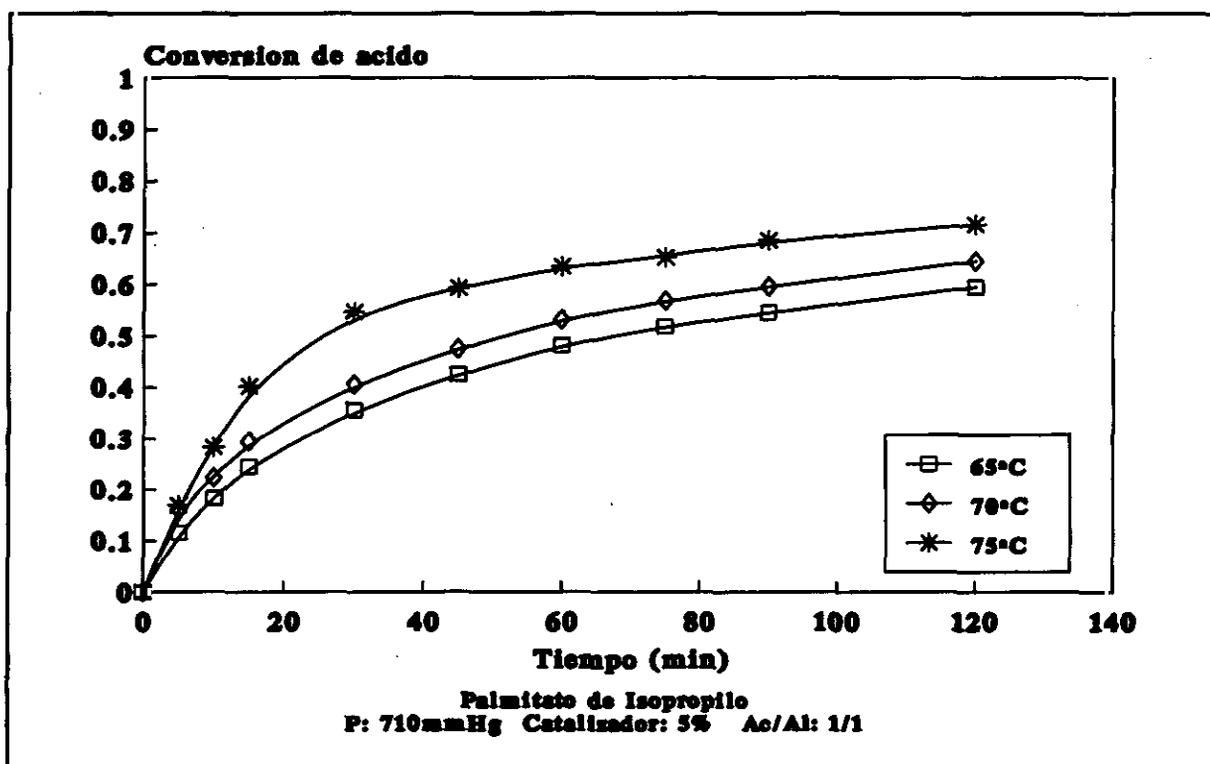


Figura 6.35. Influencia de la temperatura en la s3ntesis de Palmitato de Isopropilo.

Comparando los valores de conversi3n obtenidos para los niveles de temperatura inferior y medio, se observa que el incremento de la conversi3n en palmitato de isopropilo, correspondiente a las

dos horas de reacción, se traduce en casi un 6%, mientras que al aumentar la temperatura desde el nivel medio al nivel superior de temperatura, el aumento observado en la conversión para el mismo período de tiempo, se sitúa en torno al 11%. Por tanto, el efecto producido por la temperatura sobre el proceso de esterificación es positivo. Lo que significa que obtendremos mejores resultados, desde el punto de vista de la conversión, si operamos cercanos al nivel superior del intervalo de temperatura.

6.5.2 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

Siguiendo el mismo razonamiento, se tomaron los resultados experimentales obtenidos en los experimentos 2, 3 y 4, procediéndose a la construcción de las curvas conversión-tiempo para las tres concentraciones iniciales de la lipasa empleada. En este caso los niveles de conversión obtenidos son también inferiores a los alcanzados en el sistema ácido oleico-isopropanol; en cambio, el aumento producido entre los tres niveles de concentración de lipasa, son más uniformes. Como se desprende de la figura 6.36, la conversión en palmitato de isopropilo crece alrededor de un 10-12% al pasar de un nivel de concentración de catalizador a otro. Por tanto, la concentración inicial de catalizador ejerce una influencia positiva, en cuanto al nivel de conversión que se desea obtener.

La figura 6.37, presenta la variación de la conversión en función de la concentración de catalizador añadida al medio de reacción al comienzo de la misma. En ella sólo se consideran datos a partir de la primera media hora de reacción, a partir de la cual puede considerarse que se ha alcanzado el estado estacionario. Dichas variaciones revelan que la dependencia de la velocidad de reacción con la concentración de catalizador puede considerarse de primer orden con respecto a esta última, al menos dentro del intervalo fijado para las condiciones de operación en esta memoria, lo que resulta de ayuda para el posterior modelado cinético del sistema de reacción.

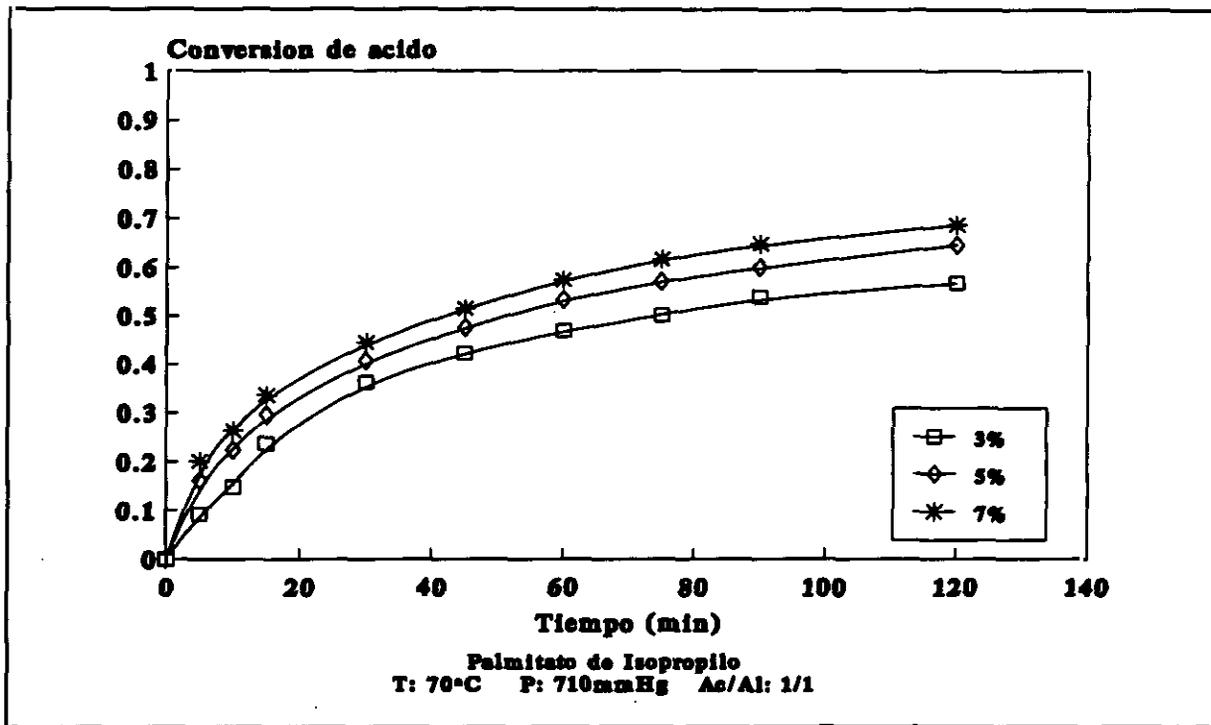


Figura 6.36. Síntesis de Palmitato de Isopropilo. Influencia de la concentración de catalizador.

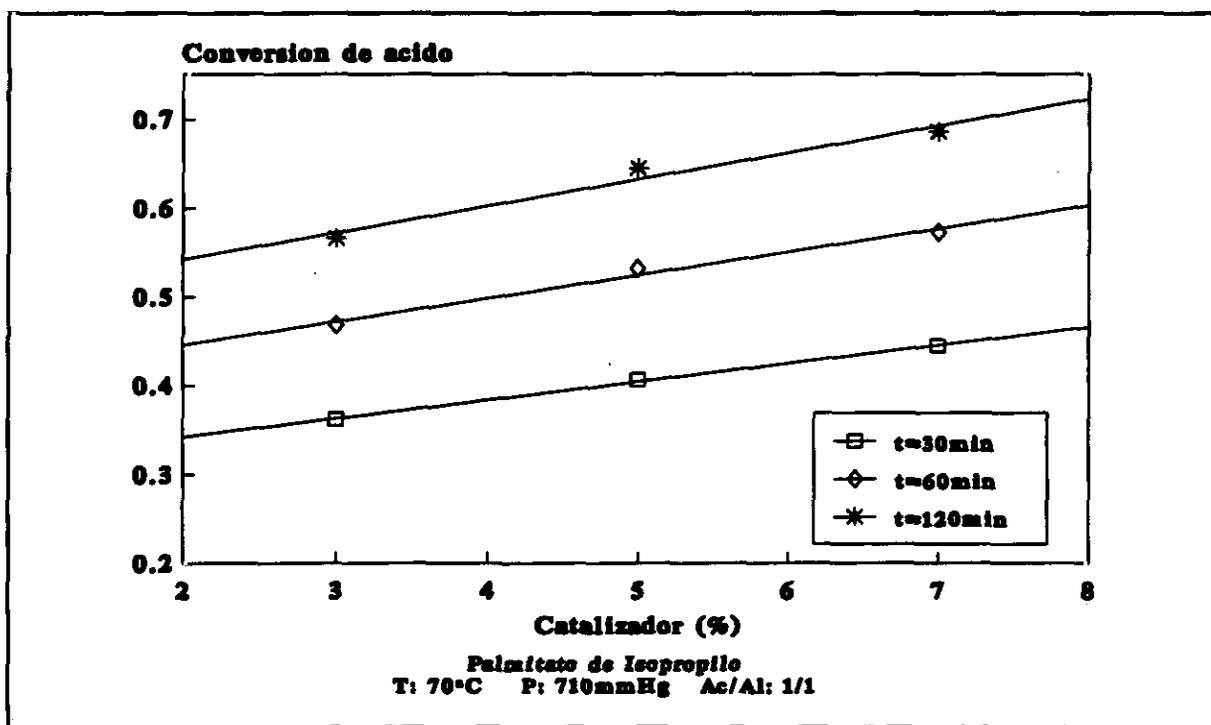


Figura 6.37. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 710mmHg

6.5.3 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

De cara a describir el comportamiento del sistema frente a la variación de la concentración de reactivos, se planificó el segundo grupo de experimentos, tomando como variable independiente la relación molar ácido palmítico/alcohol isopropílico. Para ello, se consideraron tres series de experimentos en función de cada una de las temperaturas fijadas al comienzo de este estudio, manteniéndose constantes para las tres series tanto la presión de operación, 710mmHg (atmosférica), como la concentración inicial de catalizador en el punto medio del intervalo (5%).

Tabla 6.15. Experimentos cinéticos para la síntesis de Palmitato de Isopropilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
IPP6	65	5	710	0.1
IPP7	65	5	710	0.143
IPP8	65	5	710	0.2
IPP9	65	5	710	5
IPP10	65	5	710	7
IPP11	65	5	710	10
IPP12	70	5	710	0.1
IPP13	70	5	710	0.143
IPP14	70	5	710	0.2
IPP15	70	5	710	5
IPP16	70	5	710	7
IPP17	70	5	710	10
IPP18	75	5	710	0.1
IPP19	75	5	710	0.143
IPP20	75	5	710	0.2
IPP21	75	5	710	5
IPP22	75	5	710	7
IPP23	75	5	710	10

En la tabla 6.15 se detallan las condiciones de operación fijadas al inicio de cada experimento. Dichos experimentos, junto con los correspondientes realizados con una relación equimolecular de reactivos, serán la base del estudio cinético, de cara a la obtención de algunos de los parámetros imprescindibles tanto para el modelado cinético como para el diseño del reactor.

La representación gráfica de los datos velocidad de reacción frente a concentración del reactivo en defecto nos revela la influencia ejercida por el exceso del otro reactivo. Así, se llevaron a cabo las mencionadas representaciones de velocidad de reacción frente al número de moles de ácido palmítico, variando en cada caso el número de moles de isopropanol adicionado en exceso, para conocer la influencia del mismo, mientras que las representaciones de la velocidad de reacción frente al número de moles de isopropanol en defecto, nos indica la influencia del exceso de ácido palmítico adicionado en exceso.

En la figura 6.38, se muestran las curvas correspondientes a la reacción de formación de palmitato de isopropilo, cuando se trabaja en exceso de isopropanol a 75°C. En ella puede observarse un efecto inhibitor por parte del isopropanol, dado que la conversión de ácido palmítico en palmitato de isopropilo disminuye al aumentar la concentración de isopropanol adicionado en exceso, apreciándose este efecto de forma más notoria cuando se trabaja con una relación molar ácido/alcohol 1/7.

En la figura 6.39, en la que se muestran las curvas en exceso de ácido palmítico a 75°C, la situación es similar. La velocidad de reacción aumenta con un exceso de ácido palmítico para tiempos cortos de reacción, pero cuando el número de moles de isopropanol está por debajo de los 0.04 moles, se produce una disminución drástica de la velocidad de reacción para una relación molar ácido/alcohol de 10:1, lo que se debe a un efecto inhibitor por parte del ácido palmítico.

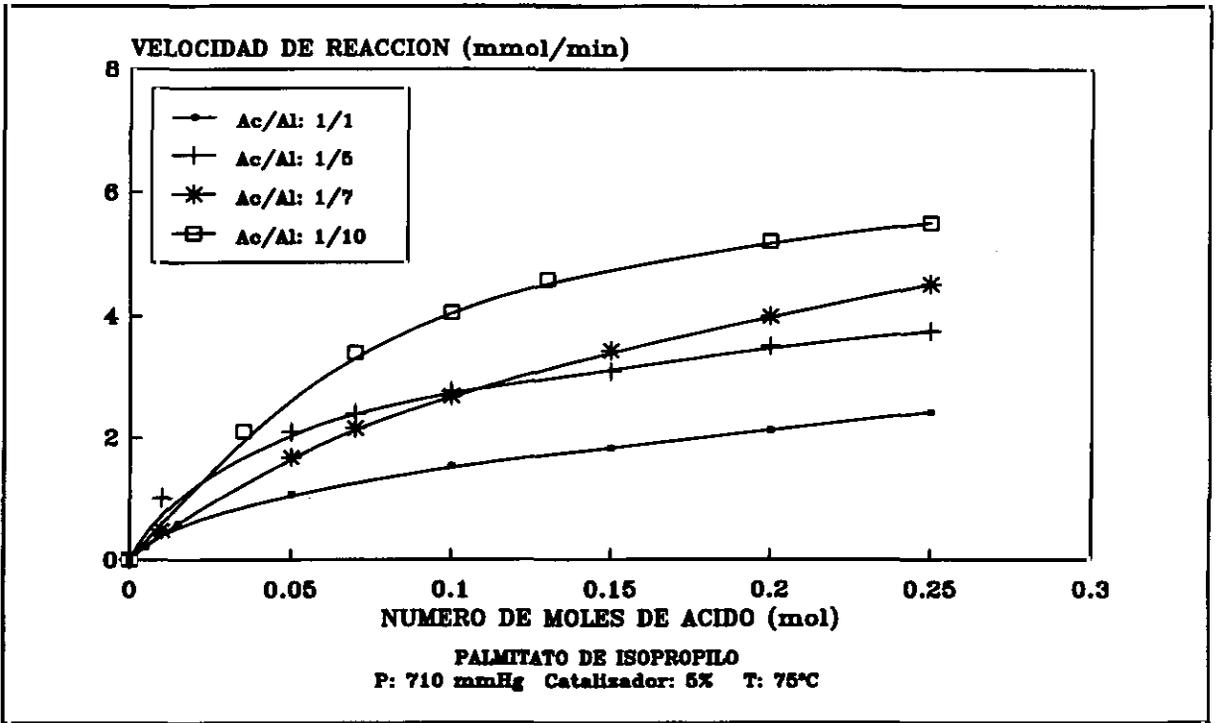


Figura 6.38. Síntesis de Palmitato de Isopropilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

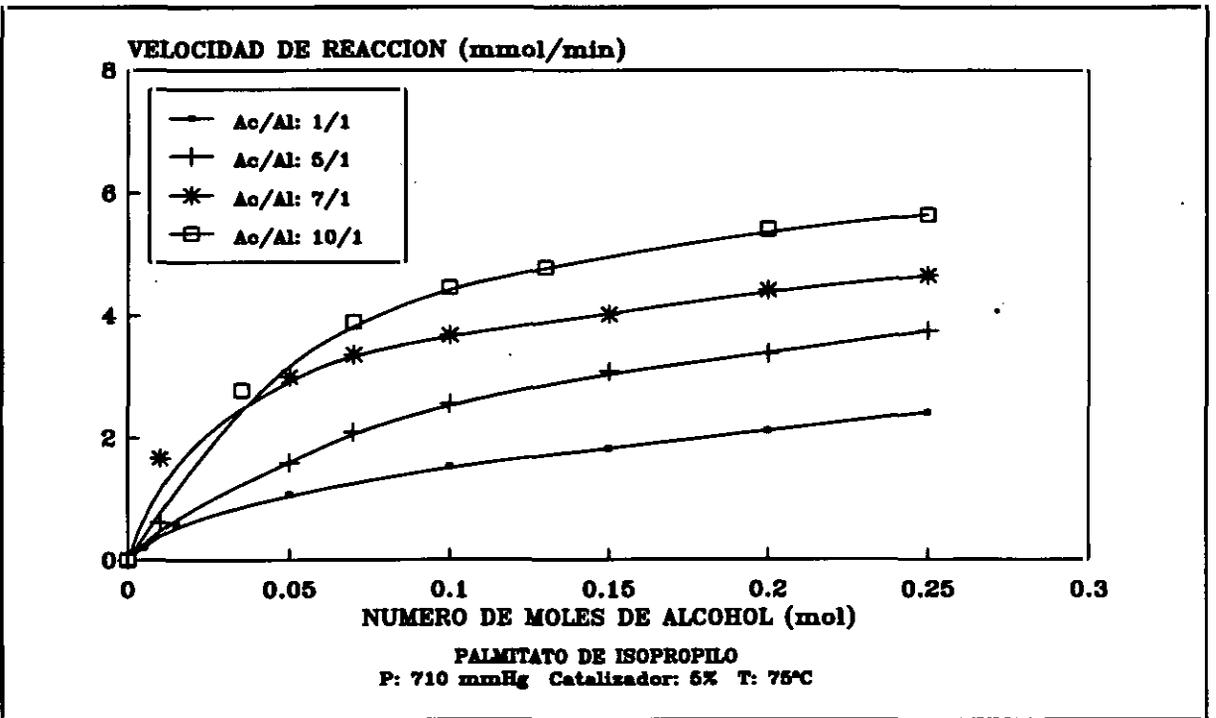


Figura 6.39. Síntesis de Palmitato de Isopropilo. Estudio de la relación molar ácido/alcohol.

6.5.4 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION

De acuerdo con la metodología empleada en este trabajo se llevaron a cabo experimentos adicionales, con el fin de confirmar el comportamiento esperado por parte del sistema frente a la adición de un exceso de palmitato de isopropilo y agua, para una relación equimolecular de ácido y alcohol. La tabla 6.16 recoge las condiciones de operación para dichos experimentos.

Tabla 6.16. Experimentos con adición de productos para la síntesis de Palmitato de Isopropilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{EsO} (Moles)	N _{wo} (Moles)
IPP24	70	5	710	0.118	0
IPP25	70	5	710	0.354	0
IPP26	70	5	710	0	0.118
IPP27	70	5	710	0	0.354

De nuevo, se representaron gráficamente los datos conversión-tiempo en palmitato de isopropilo, comparándolos con los experimentos sin adición de productos. Los resultados obtenidos inducen a pensar que la adición de cualquiera de los dos productos de reacción da lugar a un efecto negativo, en cuanto a la obtención del producto final se refiere. Así, en la figura 6.40 se muestran las curvas comparativas a 70°C y presión atmosférica, operando en condiciones de exceso de palmitato de isopropilo. En ella se observa la clara disminución de la conversión, frente a los niveles obtenidos para una adición de éster; traduciéndose esta en más de un 25% para la primera adición de éster, 0.118 moles, (23.6% en moles de la mezcla total de reacción) y en un 12% más en el caso de la segunda adición, 0.354 moles (70.8% en moles de la mezcla total de reacción). En cambio, la figura 6.41 presenta las curvas correspondientes a un exceso de agua añadido al medio de reacción; siendo el efecto observado análogo al anterior, sólo que, en este caso, la primera adición de agua produce un descenso en la conversión cercano al 20%, mientras que en la segunda adición el descenso se incrementa en un 15% más.

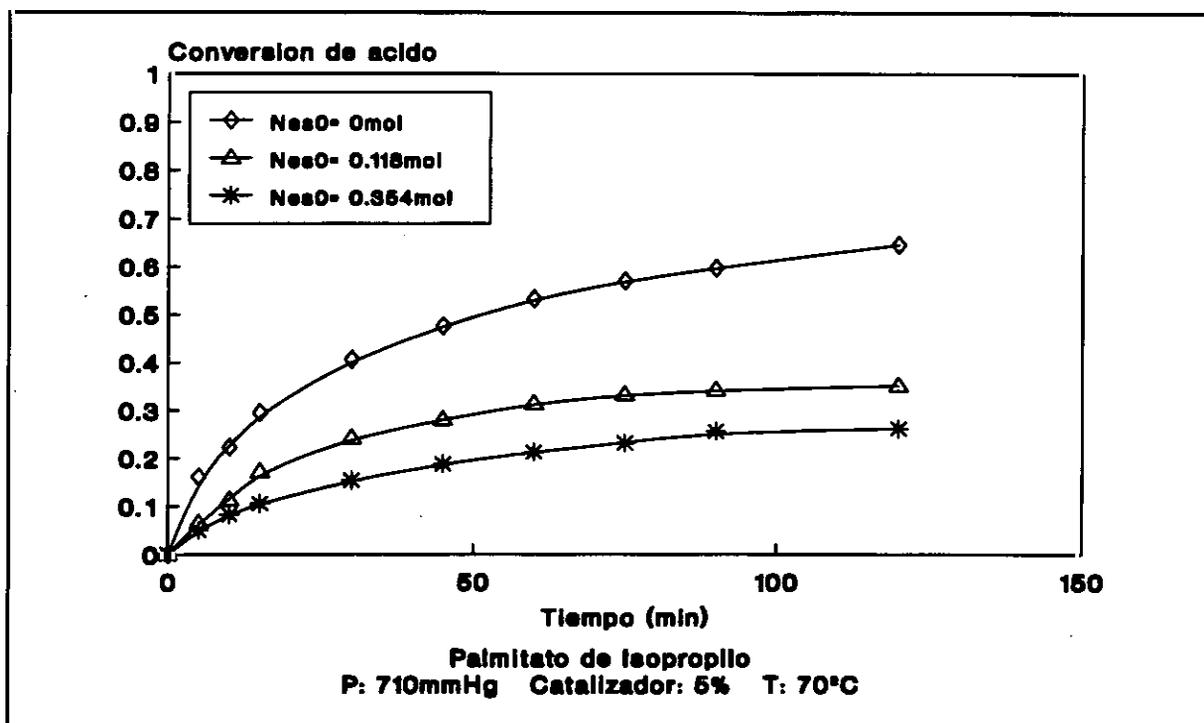


Figura 6.40. Síntesis de Palmitato de Isopropilo. Estudio de la concentración inicial de éster.

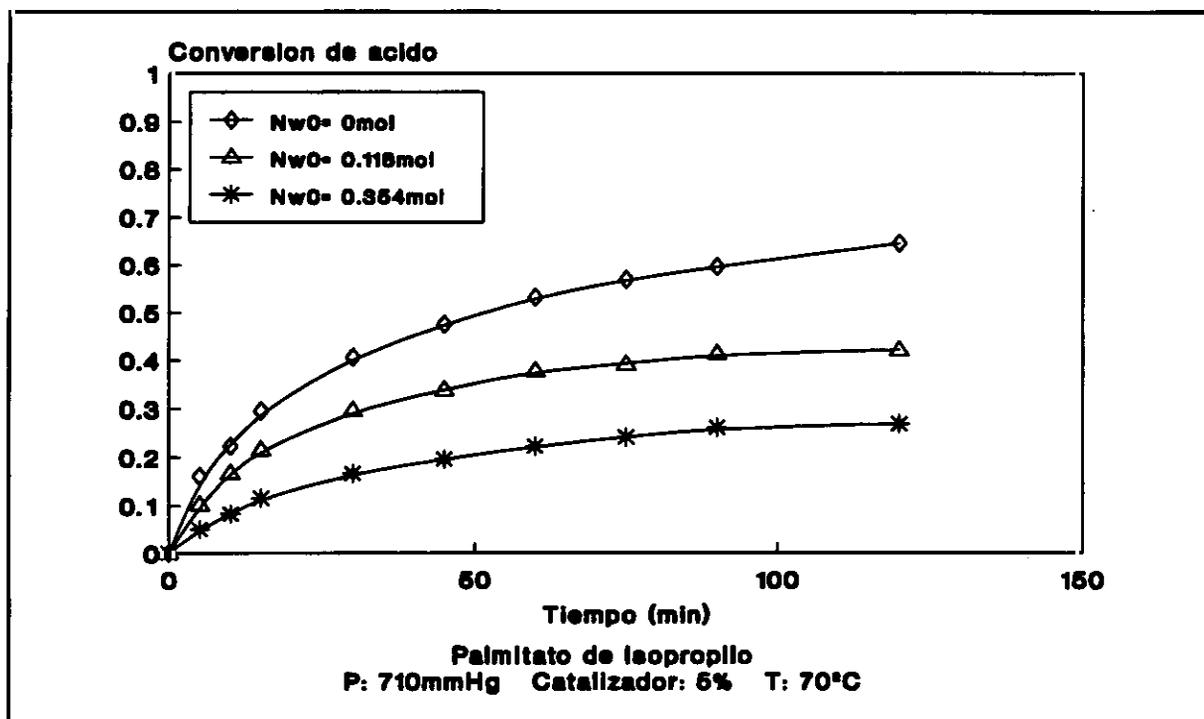


Figura 6.41. Síntesis de Palmitato de Isopropilo. Estudio de la concentración inicial de agua.

6.6 SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

El último sistema de esterificación estudiado está constituido por ácido 2-metil-butírico y alcohol oleico, en presencia del catalizador comercial Novozym 435, constituido por una lipasa de *Candida antarctica*. El planteamiento del estudio de este sistema se llevó a cabo de manera análoga al de los tres primeros sistemas estudiados, ya que se diferencia con los dos últimos en la posibilidad de trabajar en condiciones de presión reducida, lo que permite la irreversibilidad del sistema.

Atendiendo a esta posibilidad, el primer grupo de experimentos, destinado al estudio del comportamiento del sistema según las condiciones de operación, se dividió en dos subgrupos, en el primero de ellos la presión de operación se fijó en 60mmHg, mientras que en el segundo se trabajó a presión atmosférica. Para cada uno de ellos se realizaron tres series de experimentos, según la temperatura de operación, como se recoge en la tabla 6.16.

Tabla 6.16. Experimentos realizados para conocer la influencia de las variables de operación sobre la reacción de síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

Nº EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	PRESION (mmHg)	CATALIZADOR (%)
MBO1	60	60	5
MBO2	70	60	3
MBO3	70	60	5
MBO4	70	60	7
MBO5	80	60	5
MBO6	60	710	5
MBO7	70	710	3
MBO8	70	710	5
MBO9	70	710	7
MBO10	80	710	5

6.6.1 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

La representación gráfica de los datos conversión-tiempo de los diferentes experimentos, tomando como variable independiente la temperatura de reacción, permitió conocer la influencia de la misma sobre el nivel de conversión obtenido. Tanto en condiciones de reversibilidad como de irreversibilidad, los resultados obtenidos demuestran que un aumento de la temperatura da lugar a un efecto positivo, en cuanto al nivel de conversión se refiere. En la figura 6.42 se muestran, a modo de ejemplo, las curvas obtenidas para el nivel superior de presión, 710mmHg, operando en el nivel medio para la concentración inicial de catalizador, 5% en peso de la masa total de reacción.

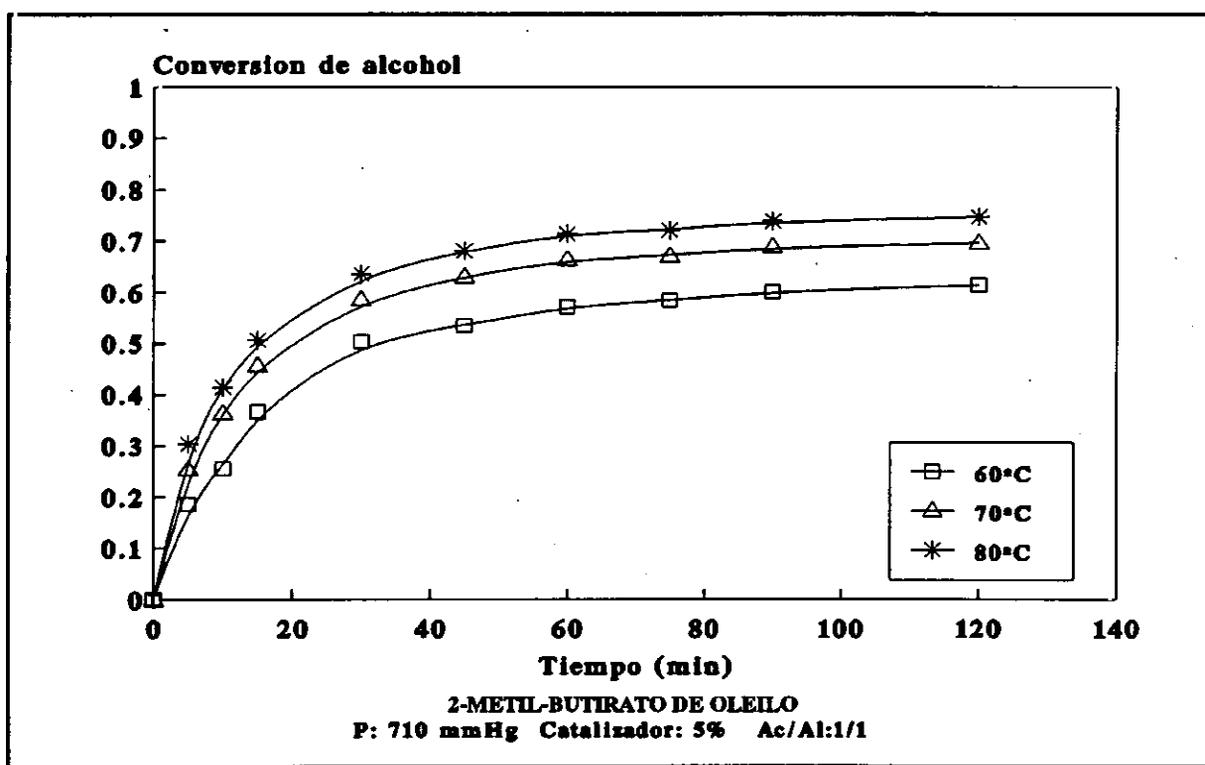


Figura 6.42. Influencia de la temperatura en la síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

Dichos resultados demuestran que la variación de la conversión con la temperatura es siempre positiva y se produce para cualquier tiempo de reacción, dentro de los límites impuestos en esta

memoria para las condiciones de operación. Como puede observarse para un tiempo de reacción correspondiente a dos horas, al pasar del nivel inferior de temperatura al nivel medio, el aumento producido en la conversión es de un 11%, mientras que cuando se pasa del nivel medio al nivel superior de temperatura, el incremento es tan solo de un 7%, lo que confirma el efecto positivo de la temperatura, favoreciéndose la conversión cuando se opera en el nivel superior del intervalo.

6.6.2 INFLUENCIA DE LA PRESION

De la misma manera, se llevó a cabo el estudio para conocer la influencia ejercida por parte de la presión de trabajo. En este caso se tomaron los experimentos realizados con una concentración inicial de catalizador de un 5% en peso, con una relación equimolecular de los reactivos de partida. Los resultados obtenidos para las tres temperaturas de operación probadas fueron similares, apreciándose un aumento de la conversión cuando la reacción se lleva a cabo en condiciones de irreversibilidad; lo que supone un efecto negativo por parte de la presión de trabajo sobre la conversión en 2-metil-butirato de oleilo.

En la figura 6.43 se muestran los resultados obtenidos operando a 70°C de temperatura. Comparando las dos curvas obtenidas se observa que, si bien para tiempos cortos de reacción no existe una diferencia apreciable desde el punto de vista de la conversión, a partir de la primera media hora de reacción el efecto negativo de la presión se hace más notable, llegando a ser un ligero aumento de la conversión a las dos horas de reacción, cuando se opera a una presión de 60mmHg, inferior a la atmosférica, lo que indica la relativa influencia de la presión de operación.

El hecho de que para tiempos cortos de reacción no se aprecie claramente el efecto de la presión, puede deberse a que hasta la media hora de reacción no se haya alcanzado el estado estacionario para la misma.

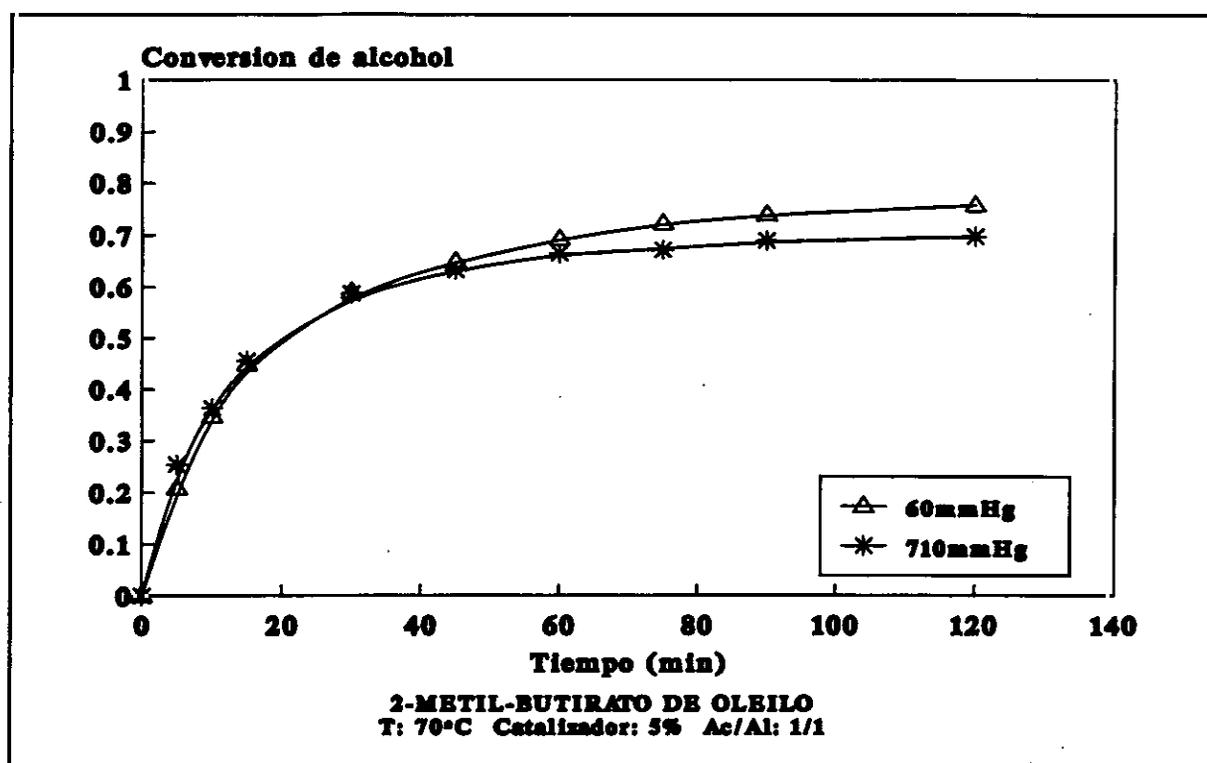


Figura 6.43. Influencia de la presión en la síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

6.6.3 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION INICIAL DE CATALIZADOR

Continuando con el estudio de las variables de operación sobre el sistema objeto de estudio, se procedió a construir las curvas tiempo-conversión, tomando como variable independiente la concentración inicial de catalizador y manteniendo constantes las demás variables de operación. En la figura 6.44 se muestran las curvas obtenidas para una temperatura de 70°C y una presión de 60mmHg, aunque para presión atmosférica se obtienen unos resultados análogos.

De dicha representación se desprende que la concentración inicial de catalizador influye positivamente sobre el proceso de esterificación, desde el punto de vista de la conversión. Así, para un tiempo de reacción de dos horas, se observa que el aumento producido en la conversión al pasar del nivel inferior al nivel intermedio para la concentración de catalizador es de un 5%, observándose

un aumento similar cuando se pasa del nivel medio al nivel superior; lo que indica que el aumento producido puede considerarse lineal dentro del intervalo fijado para la concentración de catalizador.

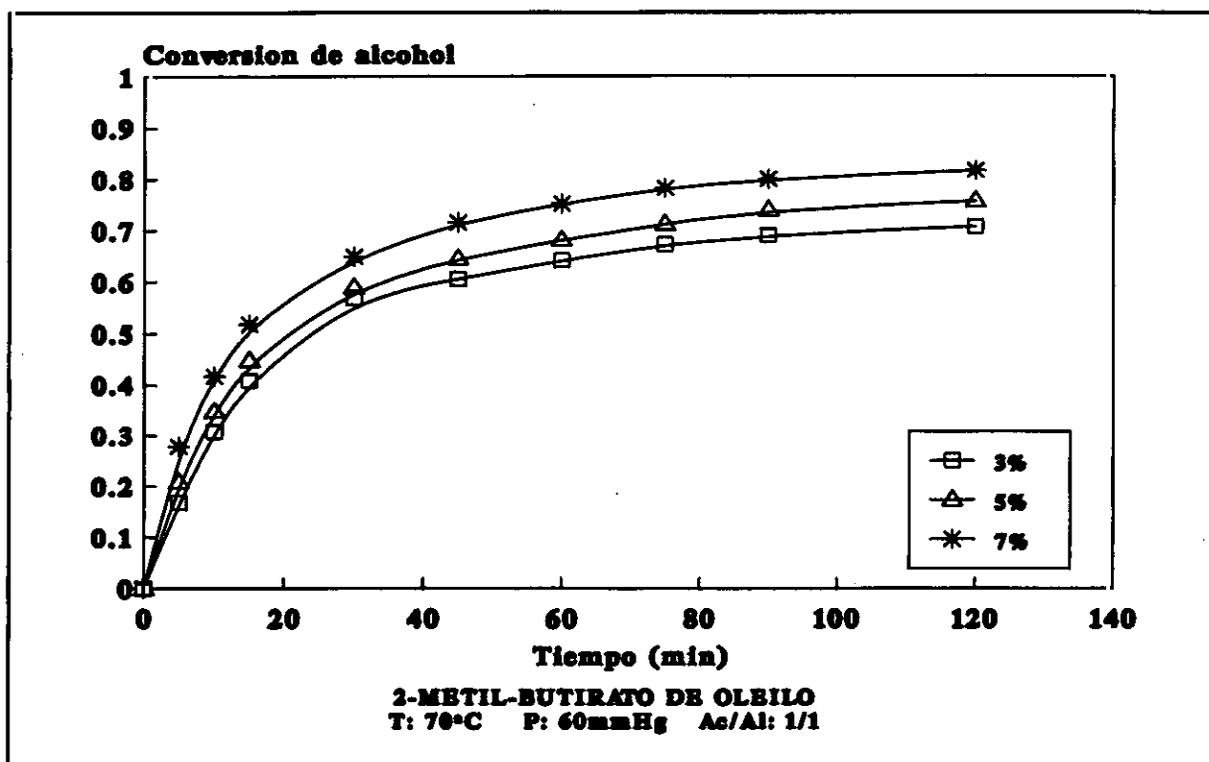


Figura 6.44. Influencia de la concentración de catalizador en la síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

Por tanto, puede suponerse que la relación existente entre la velocidad de reacción y la concentración inicial de lipasa inmovilizada es de primer orden con respecto a esta última, dentro del intervalo fijado para estas condiciones de operación. Este hecho se ve avalado por los gráficos resultantes de representar la conversión de alcohol oleico en éster frente a la concentración inicial de catalizador para diferentes tiempos de reacción. Las figuras 6.45 y 6.46 muestran las representaciones a 70°C de temperatura y en condiciones de presión reducida y presión atmosférica, respectivamente. En ambos casos se ha tomado como tiempo de reacción mínimo, el correspondiente a la primera media hora, ya que a partir de ese tiempo de reacción puede considerarse que ya se ha alcanzado el estado estacionario.

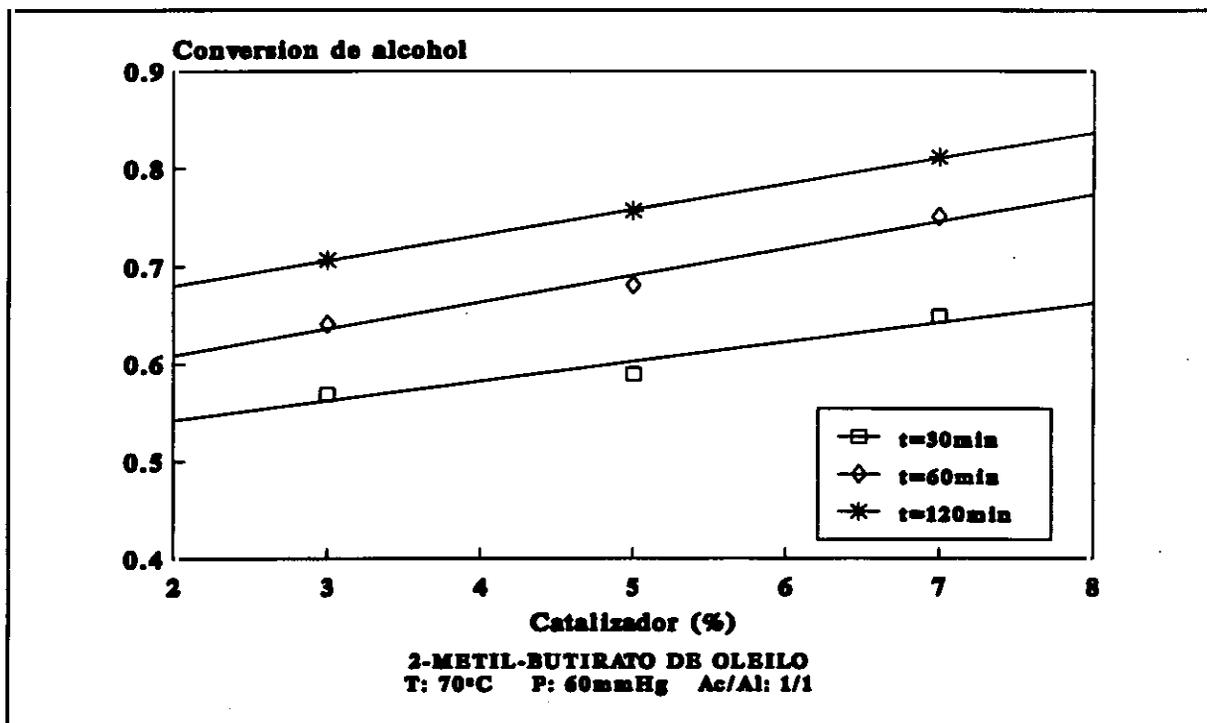


Figura 6.22. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 60mmHg.

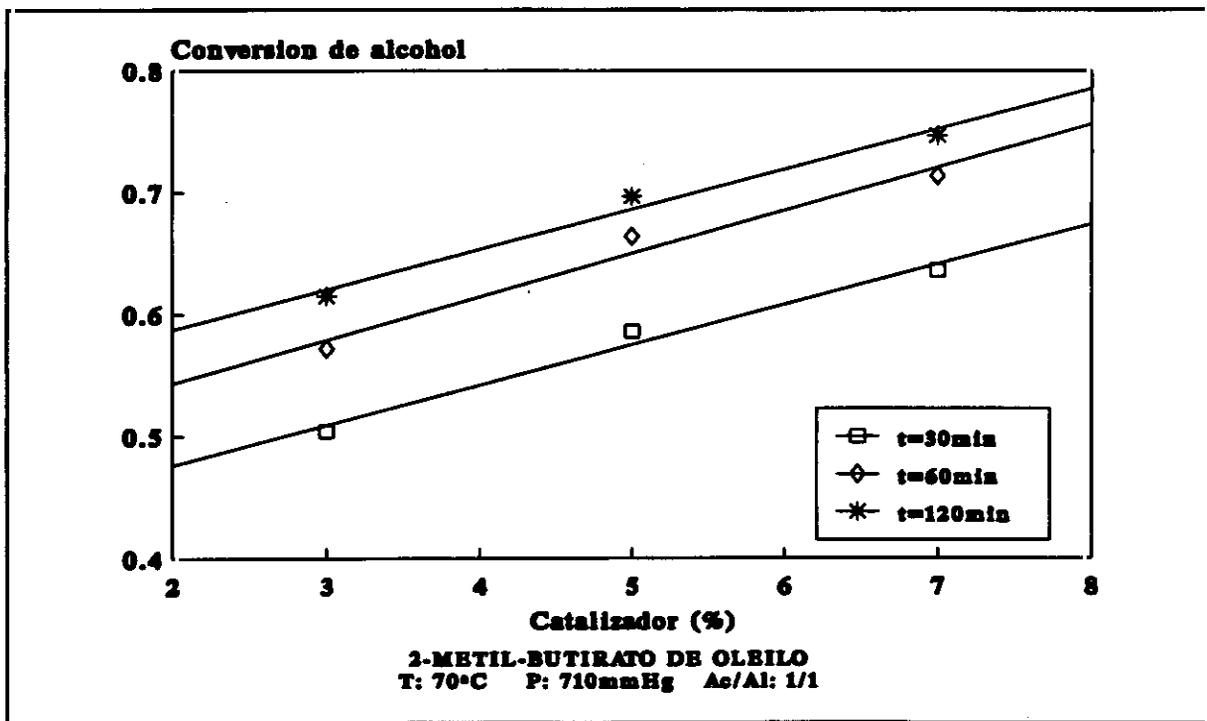


Figura 6.23. Variación de la conversión con la concentración de catalizador. P: 710mmHg

6.6.4 INFLUENCIA DE LA RELACION MOLAR ACIDO/ALCOHOL

Siguiendo la metodología descrita a lo largo de este capítulo se procedió a realizar un segundo grupo de experimentos para evaluar el comportamiento del proceso frente a la variación de la concentración de las especies químicas en el medio de reacción. En la tabla 6.17 se recogen las condiciones de operación en las que se llevaron a cabo los experimentos, que permitieron el posterior análisis cinético del sistema propuesto en este apartado.

Tabla 6.17. Experimentos cinéticos para la síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	R. MOLAR ACIDO/ALCOHOL
MBO11	60	5	60	0.1
MBO12	60	5	60	0.143
MBO13	60	5	60	0.2
MBO14	60	5	60	5
MBO15	60	5	60	7
MBO16	60	5	60	10
MBO17	70	5	60	0.1
MBO18	70	5	60	0.143
MBO19	70	5	60	0.2
MBO20	70	5	60	5
MBO21	70	5	60	7
MBO22	70	5	60	10
MBO23	80	5	60	0.1
MBO24	80	5	60	0.143
MBO25	80	5	60	0.2
MBO26	80	5	60	5
MBO27	80	5	60	7
MBO28	80	5	60	10

La representación de los datos concentración de reactivo en defecto frente a velocidad de reacción para cada una de las temperaturas fijadas, permitió analizar el comportamiento del sistema frente a la variación de la relación molar de reactivos. Para cada una de las series determinadas por la temperatura de reacción, se llevaron a cabo dos conjuntos de representaciones dependiendo del reactivo que se encuentre en exceso.

Como ejemplo, se muestran las representaciones correspondientes a una temperatura de 60°C , una concentración inicial de catalizador del 5% y una presión de operación de 60mmHg. La primera (figura 6.47) muestra el estudio del comportamiento de la velocidad de reacción frente al número de moles de ácido 2-metil-butanoico, cuando se opera con diferentes concentraciones de alcohol oleico en exceso. La segunda representación (figura 6.48) se realizó para conocer como afecta un exceso de la concentración de ácido 2-metil-butírico en la evolución de la velocidad de reacción en función del número de moles de alcohol oleico presentes en el medio de reacción. En ambos casos, el número total de moles presentes en la mezcla de reacción se mantuvo en 0.5 moles.

Como puede apreciarse en los dos gráficos, la evolución de la velocidad de reacción frente a la concentración del reactivo en defecto sigue un camino ascendente al aumentar la concentración del reactivo en exceso, para tiempos de reacción cortos. Sin embargo, sigue teniendo lugar el mismo fenómeno observado en los sistemas ya estudiados. Así, cuando se trabaja en exceso de alcohol se observa que para concentraciones ácido inferiores a las correspondientes a 0.08 moles, la disminución de la velocidad de reacción es mucho más rápida para una relación molar ácido/alcohol 1:7, que para una 1:10, lo que indica un efecto inhibitorio de la especie catalítica por parte del alcohol.

La misma situación se produce cuando la concentración de alcohol oleico se sitúa por debajo de 0.1 moles, al trabajar con un exceso de ácido, lo que se traduce en una inhibición de la lipasa con respecto al ácido 2-metil-butírico para tiempos largos de reacción.

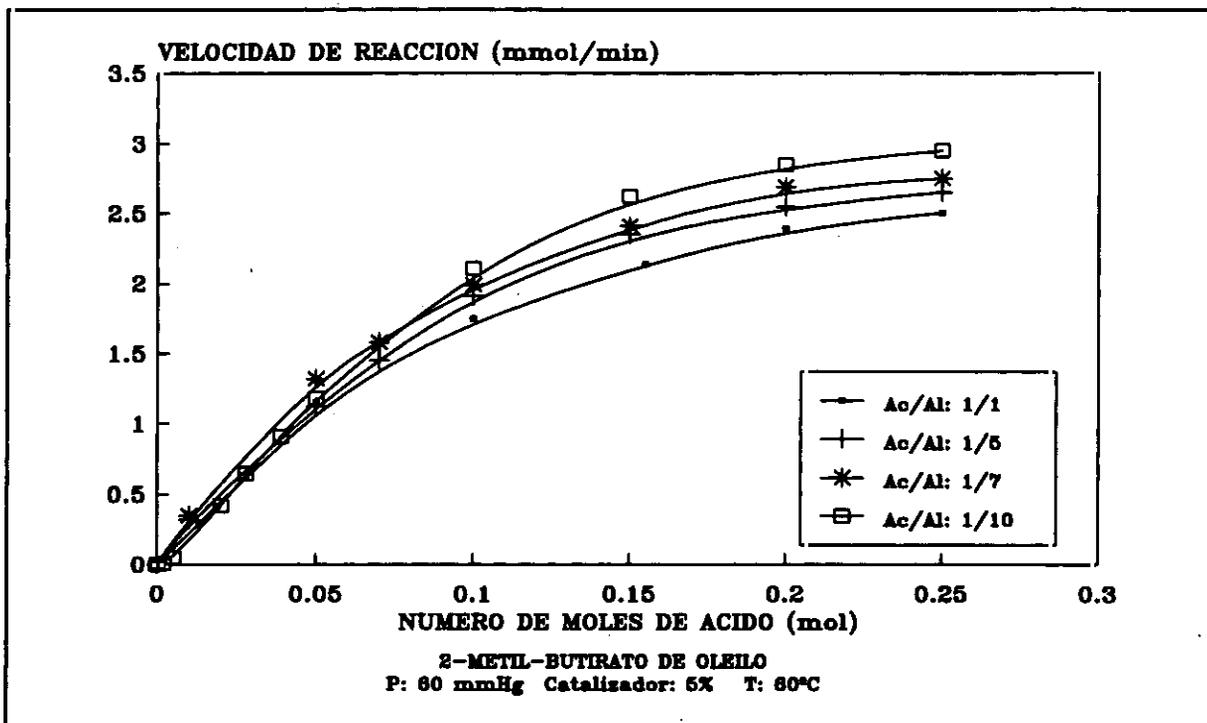


Figura 6.47. Síntesis de 2-metil-butirato de oleilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

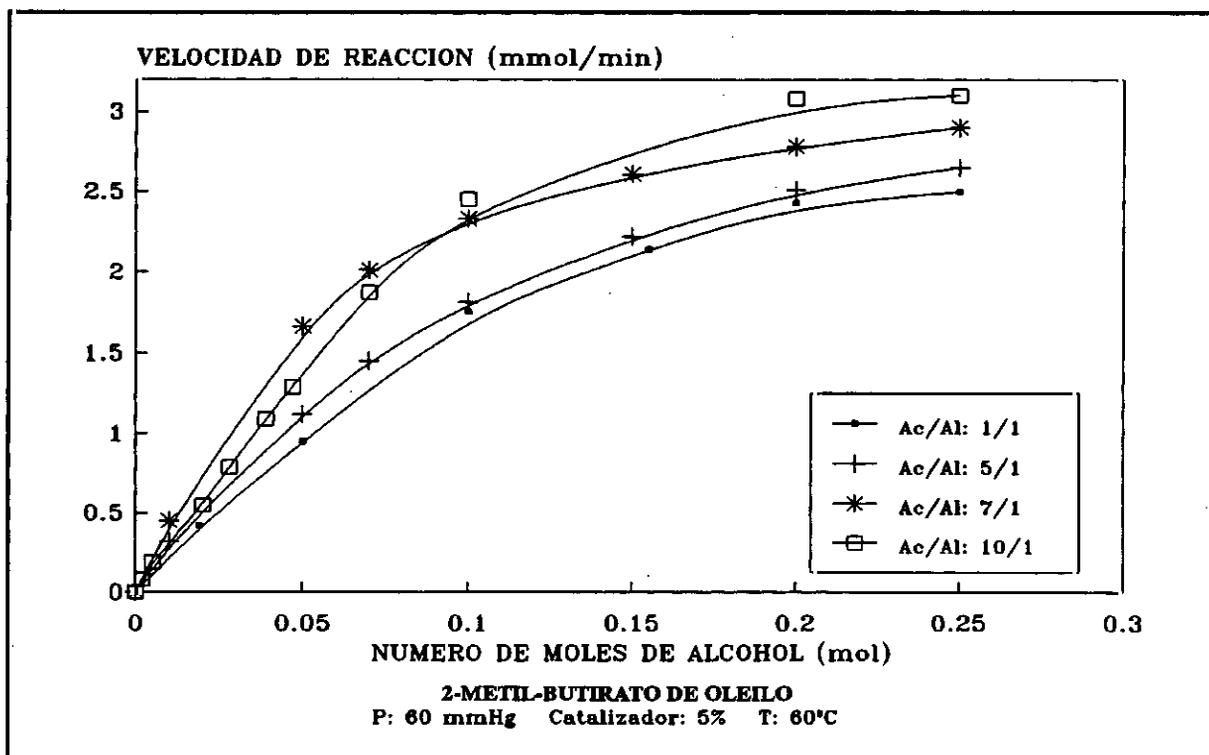


Figura 6.48. Síntesis de 2-metil-butirato de oleilo. Influencia de la relación molar ácido/alcohol.

6.6.5 ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE PRODUCTOS EN EL MEDIO DE REACCION

Para finalizar con el estudio de la influencia ejercida por las especies químicas presentes en el medio de reacción se realizaron cuatro experimentos más, esta vez en exceso de los productos de reacción correspondientes a dicho proceso de esterificación. Las condiciones de operación en las que se llevaron a cabo dichos experimentos son las que se indican en la tabla 6.18.

Tabla 6.18. Experimentos con adición de productos para la síntesis de 2-metil-butirato de oleilo.

NUMERO DE EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	CATAL. (%)	PRESION (mmHg)	N _{ES0} (Moles)	N _{W0} (Moles)
MBO29	70	5	60	0.118	0
MBO30	70	5	60	0.354	0
MBO31	70	5	710	0	0.118
MBO32	70	5	710	0	0.354

Teniendo en cuenta las reacciones realizadas en las mismas condiciones de operación pero en ausencia de adición de productos, se representaron las correspondientes curvas tiempo-conversión en 2-metil-butirato de oleilo, tomando como variable independiente el número de moles de la especie adicionada en exceso en cada experimento. En las figuras 6.49 y 6.50 pueden observarse las curvas de los experimentos con adición de éster y de agua, respectivamente; ambas realizadas a 70°C y con un 5% de catalizador, manteniendo una relación equimolecular ácido/alcohol.

Como puede observarse, los resultados obtenidos son análogos a los de los sistemas anteriores. La caída en la conversión al aumentar la concentración del producto en cuestión revela, en ambos casos, la aparición de un fenómeno de inhibición catalítica por parte tanto del 2-metil-butirato de oleilo como del agua presentes en el medio de reacción cuando estos se encuentran en exceso.

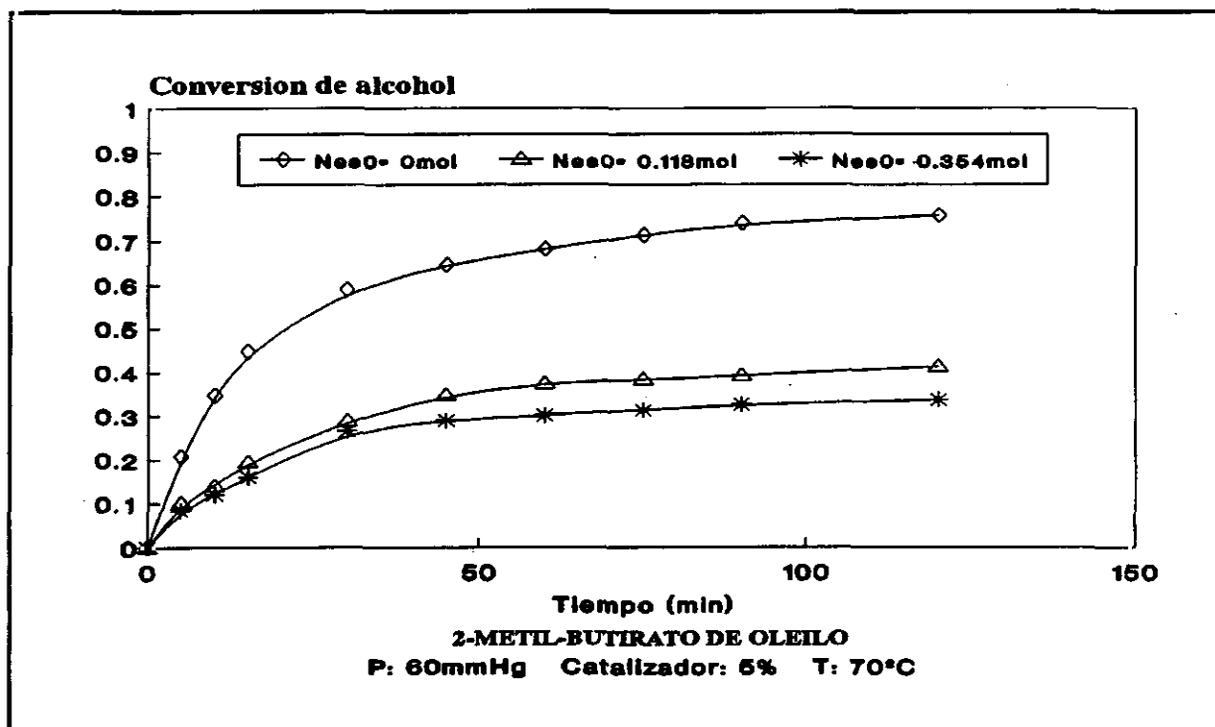


Figura 6.49. Síntesis de 2-metil-butirato de oleilo. Estudio de la concentración de éster.

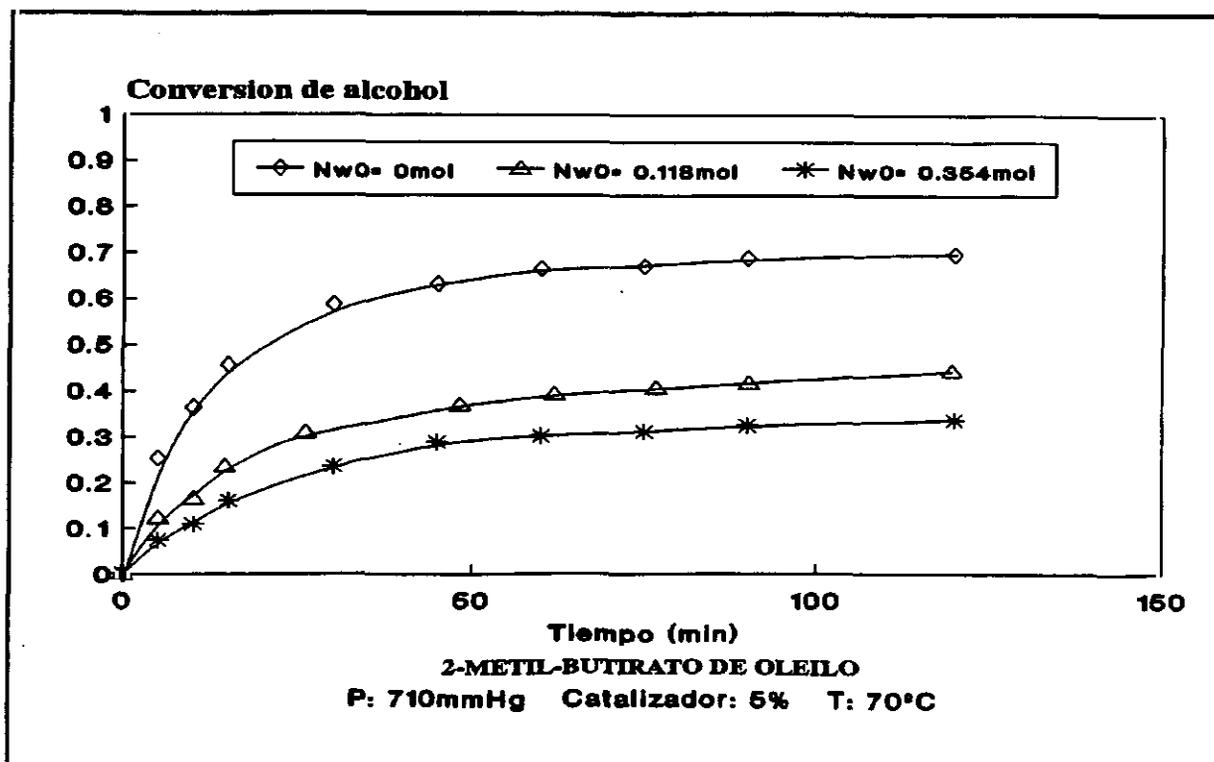


Figura 6.50. Síntesis de 2-metil-butirato de oleilo. Estudio de la concentración de agua.

7. MODELADO CINETICO

A fin de completar el estudio planteado en esta memoria se decidió llevar a cabo un análisis cinético de los ésteres objeto de estudio. Para ello se tomaron como base los conceptos descritos en el capítulo dos de este trabajo, los cuales permiten suponer mecanismos de reacción que conducen al desarrollo de modelos cinéticos que permiten describir el comportamiento del sistema en términos de evolución de la concentración de las especies presentes en el medio de reacción en función del tiempo de reacción transcurrido, lo que supone una información imprescindible para el posterior diseño del reactor químico, así como para su implantación a escala industrial.

Naturalmente, el mecanismo de reacción a plantear debe considerar la presencia de dos reactivos, ácido y alcohol grasos, y dos productos de reacción, éster y agua. Por tanto estará dentro del denominado grupo de sistemas multirreactantes y, más concretamente, el sistema responderá a un mecanismo de reacción Bi-Bi. Como se ha visto en el capítulo dos, la deducción del mecanismo de reacción puede llevarse a cabo según tres posibles consideraciones o metodologías.

La primera de ellas supone un mecanismo de reacción al azar, en cuanto a la formación de complejos enzima-sustrato y liberación de productos de reacción. Esta suposición no es válida para un

sistema de esterificación enzimático, puesto que los estudios encontrados en la bibliografía demuestran que para que la reacción tenga lugar es necesaria la formación del complejo enzima-ácido graso, ya que la actividad de las lipasas se justifica desde la formación de complejos con enlaces acil-enzima. En caso contrario, la formación del complejo enzima-alcohol es viable, pero el ácido graso sólo sería capaz de desplazar al alcohol para dar lugar a la formación del complejo enzima-ácido. Es decir, que desde el punto de vista de la reacción química, el complejo enzima-alcohol es una especie inactiva de cara a la formación de productos de esterificación, siendo viable la reacción, exclusivamente cuando el complejo enzima-sustrato está constituido por la presencia de enlaces acil-enzima, lo que en el caso de una reacción de esterificación directa sólo es posible cuando el complejo está constituido por la especie enzima-ácido graso, que es la forma activa para que se de la reacción.

Según este razonamiento, la única explicación posible para deducir el mecanismo de reacción pasa por la suposición de considerar como primer paso del mismo la formación de la especie enzimática activa, el complejo enzima-ácido. Esto es únicamente posible considerando bien un mecanismo Ping-Pong, bien un mecanismo de Reacción ordenado.

La consideración de un posible mecanismo Ping-Pong pasa por la suposición de que, si bien la primera etapa del mecanismo de reacción vendría dada por la formación del complejo enzima-ácido, la segunda etapa del mecanismo daría lugar a la transformación del complejo en su forma activa. La tercera etapa consistiría en la liberación de una molécula de agua, seguida de la cuarta etapa que estaría constituida por la adición del alcohol al complejo activo obtenido en el paso anterior. La quinta etapa consistiría en la transformación de este último complejo ternario en otro más inestable, que en la sexta etapa liberaría la molécula de éster formada, quedando la enzima en su forma libre, dispuesta para comenzar, de nuevo, el ciclo; lo que supondría una etapa de liberación de producto formado entre dos etapas de adición de reactivos, que es el típico mecanismo secuencial que caracteriza a un mecanismo del tipo Ping-Pong.

Si bien este mecanismo ha sido adoptado por algunos autores para describir este tipo de sistemas, cabe reseñar que la representación gráfica de la ecuación de velocidad linealizada debería dar lugar a la obtención de rectas paralelas cuando se trabaja en exceso de uno de los reactivos y se toma como variable independiente la concentración de este último.

Sin embargo, el efecto observado para los sistemas planteados en esta memoria, cuando se trabaja en exceso de uno de los reactivos es el siguiente: al representar la inversa de la concentración del reactivo en defecto frente a la inversa de la velocidad de reacción para diferentes concentraciones fijadas del reactivo en exceso, se obtienen rectas aparentemente paralelas, características de un mecanismo Ping-Pong. No obstante, si se prolongan estas rectas, se puede observar que todas ellas convergen hacia un mismo punto, definido por la inversa negativa de la constante de inhibición enzimática con respecto del reactivo que se encuentra en defecto en el medio de reacción. Este hecho es, precisamente, el que caracteriza a los sistemas que siguen un mecanismo de reacción Ordenado. Según esto, el mecanismo de reacción Ping-Pong queda desechado para describir el comportamiento de los sistemas aquí propuestos, siendo más adecuado considerar, en nuestro caso, un mecanismo Ordenado que involucre dos reactivos y dos productos en el desarrollo de la reacción, al menos para las lipasas empleadas como sistema catalítico en esta memoria.

Teniendo en cuenta este razonamiento, el mecanismo sencillo se correspondería con un mecanismo de reacción ordenada, descrito en el capítulo dos de esta memoria, a partir del cual pueden deducirse, mediante el método de King-Altman, las correspondientes expresiones para las diferentes especies enzimáticas involucradas en el medio de reacción (ver ecuación [2.11] del capítulo dos), y a partir de ellas obtener el modelo cinético sencillo que describe la velocidad de reacción en función de la concentración de los dos reactivos de partida y los dos productos finales (ecuación [2.12] del capítulo dos), teniendo en cuenta todas y cada una de las etapas que constituyen el sistema de esterificación enzimático.

Tomando como referencia la bibliografía encontrada, el primer reactivo involucrado en el mecanismo de reacción propuesto sería el ácido graso dando lugar a la formación del complejo activo enzima-ácido; a continuación se adicionaría el alcohol para formar el complejo ternario alcohol-enzima-ácido. La tercera etapa del mecanismo sería en la que se produce la verdadera transformación de las especies químicas, consistiendo en la transformación del complejo obtenido en la etapa anterior en el resultante éster-enzima-agua. La siguiente etapa vendría dada por una liberación del éster formado, mientras que la última consistiría en una liberación del agua.

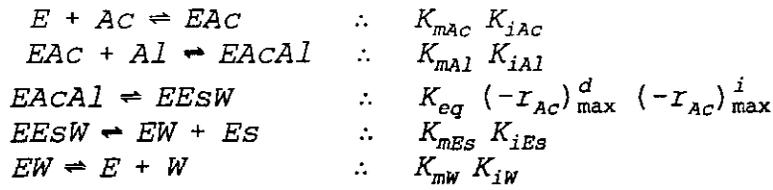
Sin embargo, a estas etapas que constituyen el mecanismo de reacción simple, habría que añadir las correspondientes etapas colaterales debidas a la formación de complejos de inhibición tanto con la especie enzimática libre como con los otros complejos involucrados en el mecanismo principal.

Las etapas de inhibición más frecuentes en este tipo de reacciones vienen dadas por la formación de complejos binarios con la enzima libre por parte tanto del alcohol como del éster presentes en el medio de reacción; así como la formación de complejos ternarios inactivos por parte del ácido graso o el éster con el complejo enzima-ácido.

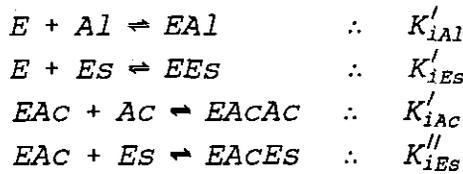
Por tanto, la inhibición va a venir dada tanto por reactivos como por productos, siendo el tipo de inhibición más frecuente la denominada inhibición competitiva. En unos casos se compite por la formación de complejo con la lipasa libre y en otros la competencia viene dada por la formación de complejos ternarios con el complejo más activo, enzima-ácido.

Teniendo esto en cuenta, el mecanismo general para este tipo de reacciones constaría de dos grupos de etapas, el primero constituido por las etapas principales de reacción y un segundo grupo de etapas de inhibición, como se muestra a continuación:

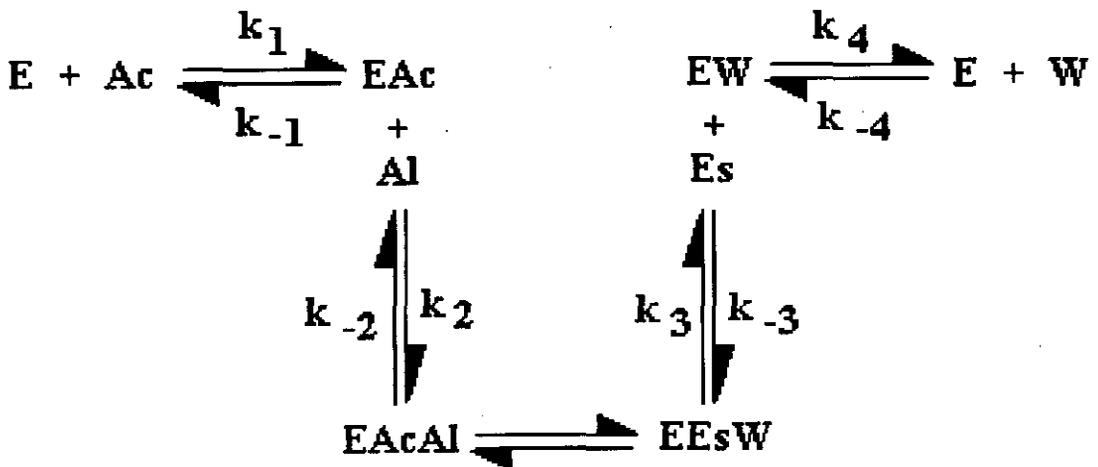
Etapas principales:



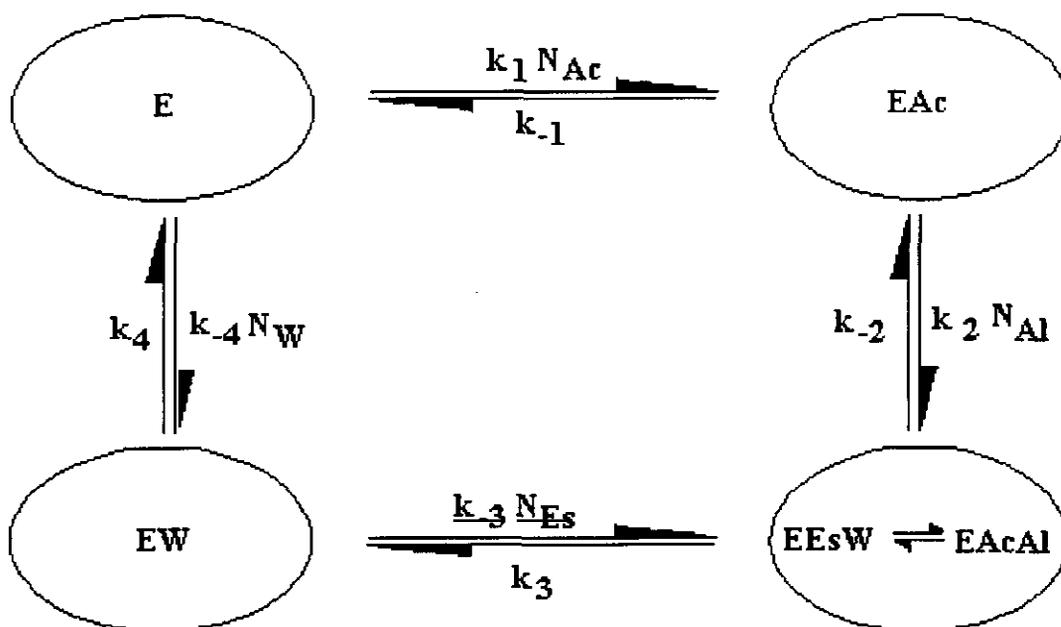
Etapas de Inhibición:



Teniendo en cuenta el mecanismo global que considera todas las etapas involucradas en el esquema de reacción, se dedujo la ecuación general completa para las reacciones de esterificación objeto de estudio. Dicha deducción se llevó a cabo partiendo de las etapas de reacción principales para, después, incluir los términos debidos a las etapas de inhibición. El esquema principal para la reacción será el siguiente:



Aplicando el método de King-Altman, la figura sencilla a la que corresponde dicho esquema de reacción será la que se muestra a continuación:



Según dicho esquema, la concentración total de enzima presente en el medio de reacción viene dada por la ecuación [7.1]:

$$E_{TOTAL} = E + EAc + EAcAl + EEsW + EW \quad [7.1]$$

Cada una de las especies enzimáticas se deducen de la figura de King-Altman, según la ecuación [7.2]:

$$\begin{aligned} \frac{E}{E_{TOTAL}} &= \frac{k_4 k_{-1} k_{-2} + k_{-2} k_{-3} N_{Es} k_{-1} + k_2 N_{Al} k_4 k_3 + k_3 k_4 k_{-1}}{E_{TOTAL}} \\ \frac{EAc}{E_{TOTAL}} &= \frac{k_4 k_1 N_{Ac} k_{-2} + k_1 N_{Ac} k_{-2} k_{-3} N_{Es} + k_{-4} N_w k_{-2} k_{-3} N_{Es} + k_3 k_4 k_1 N_{Ac}}{E_{TOTAL}} \\ \frac{EAcAl + EEsW}{E_{TOTAL}} &= \frac{k_4 k_1 N_{Ac} k_2 N_{Al} + k_1 N_{Ac} k_{-3} N_{Es} k_2 N_{Al} + k_2 N_{Al} k_{-4} N_w k_{-3} N_{Es} + k_{-1} k_{-4} N_w k_{-3} N_{Es}}{E_{TOTAL}} \\ \frac{EW}{E_{TOTAL}} &= \frac{k_{-2} k_{-1} k_{-4} N_w + k_1 N_{Ac} k_3 k_2 N_{Al} + k_2 N_{Al} k_{-4} N_w k_3 + k_{-1} k_3 k_{-4} N_w}{E_{TOTAL}} \end{aligned} \quad [7.2]$$

Según esto, la suma de todas las especies enzimáticas será:

$$\begin{aligned}
 E_{TOTAL} = & (k_4k_{-1}k_{-2}+k_3k_4k_{-1}) + (k_4k_1k_{-2}+k_3k_4k_1)N_{Ac} + (k_2k_4k_3)N_{Al} + \\
 & + (k_{-2}k_{-3}k_{-1})N_{Es} + (k_{-2}k_{-1}k_{-4}+k_{-1}k_3k_{-4})N_W + (k_4k_1k_2+k_1k_3k_4)N_{Ac}N_{Al} + \\
 & + (k_{-4}k_{-3}k_{-2}+k_{-1}k_{-4}k_{-3})N_WN_{Es} + (k_1k_{-2}k_{-3})N_{Ac}N_{Es} + (k_2k_{-4}k_3)N_{Al}N_W + \\
 & + (k_1k_{-3}k_2)N_{Ac}N_{Al}N_{Es} + (k_2k_{-4}k_{-3})N_{Al}N_{Es}N_W
 \end{aligned} \tag{7.3}$$

Por otra parte, la ecuación de velocidad de desaparición de ácido graso, vendrá dada por la ecuación [7.4]:

$$(-r_{Ac}) = k_1 \cdot E \cdot N_{Ac} - k_{-1} \cdot EAc \tag{7.4}$$

Donde:

$$\begin{aligned}
 k_1 \cdot E \cdot N_{Ac} = & k_1k_{-1}k_{-2}N_{Ac} + k_1k_{-2}k_{-3}k_{-1}N_{Es}N_{Ac} + k_1k_2k_3k_4N_{Ac}N_{Al} + k_1k_3k_4k_{-1}N_{Ac} \\
 k_{-1} \cdot EAc = & k_{-1}k_4k_1k_{-2}N_{Ac} + k_1k_{-1}k_{-2}k_{-3}N_{Ac}N_{Es} + k_{-1}k_{-2}k_{-3}k_{-4}N_{Es}N_W + k_{-1}k_1k_3k_4N_{Ac}
 \end{aligned} \tag{7.5}$$

Sustituyendo en la ecuación [7.4] y multiplicando y dividiendo dicha expresión por la concentración total de enzima:

$$(-r_{Ac}) = \frac{n_1 \cdot N_{Ac}N_{Al} - n_2 \cdot N_{Es}N_W}{E_{TOTAL}} \tag{7.6}$$

Siendo:

$$\begin{aligned}
 n_1 = & E_{TOTAL}k_1k_2k_3k_4 \\
 n_2 = & E_{TOTAL}k_{-1}k_{-2}k_{-3}k_{-4} \\
 K_{eq} = & \frac{n_1}{n_2}
 \end{aligned} \tag{7.7}$$

Multiplicando y dividiendo por n_1 , la ecuación de velocidad quedará:

$$(-r_{Ac}) = \frac{N_{Ac}N_{Al} - \frac{N_{Es}N_W}{K_{eq}}}{\frac{E_{TOTAL}}{n_1}} \quad [7.8]$$

Por otra parte, las velocidades iniciales vendrían dadas por las expresiones [7.9] para la reacción directa, con concentraciones de agua y éster igual a cero, y [7.10] para la reacción inversa, considerando la concentración de ácido y alcohol igual a cero:

$$\begin{aligned} (-r_{Ac})_{max}^d &= \frac{d(-r_{Ac})}{dN_{Ac}N_{Al}} = \frac{n_1}{k_1k_2k_4 + k_1k_2k_3} \quad \therefore \\ (-r_{Ac})_{max}^d &= \frac{E_{TOTAL}k_3k_4}{k_3 + k_4} \quad [7.9] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (-r_{Ac})_{max}^i &= \frac{d(-r_{Ac})}{dN_{Es}N_W} = \frac{n_2}{k_{-2}k_{-3}k_{-4} + k_{-1}k_{-3}k_{-4}} \quad \therefore \\ (-r_{Ac})_{max}^i &= \frac{E_{TOTAL}k_{-1}k_{-2}}{k_{-1} + k_{-2}} \quad [7.10] \end{aligned}$$

Multiplicando y dividiendo la ecuación de velocidad de reacción por el producto de la velocidad máxima directa y la velocidad máxima inversa se llega a la ecuación [7.11].

$$(-r_{Ac}) = \frac{(-r_{Ac})_{max}^d (-r_{Ac})_{max}^i (N_{Ac}N_{Al} - \frac{N_{Es}N_W}{K_{eq}})}{(-r_{Ac})_{max}^d (-r_{Ac})_{max}^i \frac{E_{TOTAL}}{n_1}} \quad [7.11]$$

Si ahora sustituimos el término correspondiente a la concentración total de enzima presente en el medio de reacción como la suma de concentraciones de todas las especies en las que está presente la enzima, bien en su forma de enzima libre, bien formando complejos binarios o ternarios con otras especies se llega a la ecuación [7.12]:

$$\begin{aligned}
 (-I_{AC}) = & \frac{(-I_{AC})^d_{\max} (-I_{AC})^i_{\max} (N_{AC} N_{Al} - \frac{N_{ES} N_W}{K_{eq}})}{(-I_{AC})^i_{\max} K_{iAC} K_{mAl} + (-I_{AC})^i_{\max} K_{mAl} N_{AC} + (-I_{AC})^i_{\max} K_{mAc} N_{Al} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mW} N_{ES}}{K_{eq}} + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mES} N_W}{K_{eq}} + \\
 & + (-I_{AC})^i_{\max} N_{AC} N_{Al} + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mW} N_{AC} N_{ES}}{K_{eq} K_{iAC}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} N_{ES} N_W}{K_{eq}} + \frac{(-I_{AC})^i_{\max} K_{mAc} N_{Al} N_W}{K_{iW}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^i_{\max} N_{AC} N_{Al} N_{ES}}{K_{iES}} + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} N_{Al} N_{ES} N_W}{K_{iAl} K_{eq}}
 \end{aligned} \tag{7.12}$$

Donde:

$$\begin{aligned}
 k_{mAc} &= \frac{k_3 k_4}{k_1 (k_3 + k_4)} \quad \therefore \quad k_{mAl} = \frac{k_4 (k_{-2} + k_3)}{k_2 (k_3 + k_4)} \\
 k_{mES} &= \frac{k_{-1} k_{-2} (k_1 k_2 k_4 + k_{-1} k_{-3} k_{-4})}{k_1 k_2 k_4 (k_{-1} + k_{-2})} \quad \therefore \quad k_{mW} = \frac{k_{-1} k_{-2}}{k_4 (k_{-1} + k_{-2})} \\
 k_{iAC} &= \frac{k_{-1}}{k_1} \quad \therefore \quad k_{iAl} = \frac{k_{-1} + k_{-2}}{k_2} \\
 k_{iES} &= \frac{k_3 + k_4}{k_{-3}} \quad \therefore \quad k_{iW} = \frac{k_4}{k_{-4}}
 \end{aligned} \tag{7.13}$$

El siguiente paso para completar la ecuación de velocidad será tener en cuenta las etapas de inhibición debidas a la formación de complejos binarios y ternarios tanto con reactivos como con productos de reacción. Dichas etapas se consideran de inhibición competitiva.

En el caso de la etapa de inhibición con respecto al alcohol, se produce la formación del complejo enzima-alcohol, por lo que la será necesario introducir en la ecuación de velocidad un nuevo

término de resistencia que se suman al denominador de la ecuación principal y que tienen en cuenta la formación de dicho complejo. Dicho término viene dado por la ecuación [7.14].

$$R_1 = (-r_{AC})^i_{\max} (K_{iAC}K_{mA1} + K_{mAC}N_{A1}) \cdot \frac{1}{K'_{iA1}} \cdot N_{A1} \quad [7.14]$$

En cuanto a la inhibición debida a la formación del complejo ternario enzima-ácido-ácido, la resistencia vendrá dada por la ecuación [7.15], término que habrá que sumar al denominador de la ecuación principal:

$$R_2 = (-r_{AC})^i_{\max} N_{AC}K_{mA1} \cdot \frac{1}{K'_{iAC}} \cdot N_{AC} \quad [7.15]$$

Cuando la inhibición se produce por formación de complejos con el éster producto de reacción, pueden formarse dos tipos de complejos. Cuando el complejo es binario, enzima-éster, el término de resistencia que hay que añadir al denominador de la ecuación de velocidad, vendrá dado por la ecuación [7.16]; mientras que si el complejo que se forma es ternario, enzima-ácido-éster, el término de resistencia vendrá dado por la ecuación [7.17].

$$R_3 = (-r_{AC})^i_{\max} (K_{iAC}K_{mA1} + K_{mAC}N_{A1}) \cdot \frac{1}{K'_{iES}} \cdot N_{ES} \quad [7.16]$$

$$R_4 = (-r_{AC})^i_{\max} K_{mA1}N_{AC} \cdot \frac{1}{K''_{iES}} \cdot N_{ES} \quad [7.17]$$

Donde las constantes de inhibición respecto de cada una de las especies involucradas en cada etapa, vendrán dadas por los términos de la ecuación [7.18].

$$\begin{aligned}
 k'_{iAl} &= \frac{k_5}{k_{-5}} & \therefore & & k'_{iAc} &= \frac{k_6}{k_{-6}} \\
 k'_{iEs} &= \frac{k_7}{k_{-7}} & \therefore & & k''_{iEs} &= \frac{k_8}{k_{-8}}
 \end{aligned}
 \tag{7.18}$$

Sustituyendo los términos en la ecuación principal y reorganizando los mismos se llega a la expresión final que viene dada por la ecuación [7.19]:

$$\begin{aligned}
 (-I_{Ac}) &= \frac{(-I_{Ac})^d (-I_{Ac})^i \max(N_{Ac} N_{Al} - \frac{N_{Es} N_W}{K_{eq}})}{(-I_{Ac})^i \max K_{iAc} K_{mAl} (1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}} + \frac{N_{Es}}{K'_{iEs}}) + (-I_{Ac})^i \max K_{mAl} N_{Ac} (1 + \frac{N_{Ac}}{K'_{iAc}} + \frac{N_{Es}}{K''_{iEs}}) +} \\
 &+ (-I_{Ac})^i \max K_{mAc} N_{Al} (1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}} + \frac{N_{Es}}{K'_{iEs}}) + \frac{(-I_{Ac})^d \max K_{mW} N_{Es}}{K_{eq}} + \\
 &+ \frac{(-I_{Ac})^d \max K_{mEs} N_W}{K_{eq}} + (-I_{Ac})^i \max N_{Ac} N_{Al} + \\
 &+ \frac{(-I_{Ac})^d \max K_{mW} N_{Ac} N_{Es}}{K_{eq} K_{iAc}} + \frac{(-I_{Ac})^d \max N_{Es} N_W}{K_{eq}} + \\
 &+ \frac{(-I_{Ac})^i \max K_{mAc} N_{Al} N_W}{K_{iW}} + \frac{(-I_{Ac})^i \max N_{Ac} N_{Al} N_{Es}}{K_{iEs}} + \\
 &+ \frac{(-I_{Ac})^d \max N_{Al} N_{Es} N_W}{K_{iAl} K_{eq}}
 \end{aligned}$$

[7.19]

7.1 MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO

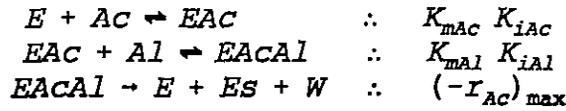
Teniendo en cuenta que la reacción de esterificación de ácido oleico con alcohol oleico puede llevarse a cabo en condiciones termodinámicas opuestas, en cuanto a la reversibilidad del sistema se refiere, dependiendo de la presión de operación fijada, se procedió al estudio cinético para ambas situaciones; ya que, si bien, el análisis completo del sistema exige un estudio en condiciones de reversibilidad, el análisis en condiciones de irreversibilidad es mucho más atractivo desde el punto de vista industrial, puesto que el nivel de conversión alcanzado permite obtener un producto final con una calidad superior.

Por otra parte, el estudio del sistema en condiciones de presión reducida simplifica bastante el modelo cinético, facilitando así la resolución del mismo y la obtención de los parámetros cinéticos, que posteriormente pueden simplificar el tratamiento matemático del modelo global en condiciones de presión atmosférica. Es por ello, que en primer lugar se estudiará el sistema en condiciones de irreversibilidad o presión reducida, para después considerar su comportamiento en condiciones de reversibilidad o presión atmosférica.

7.1.1 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD

Cuando se fuerza al sistema a trabajar en condiciones de irreversibilidad, el mecanismo de reacción se verá modificado, puesto que la concentración de agua presente en el medio valdrá cero y, por tanto, no cabe considerar condición de equilibrio alguna en cuanto a las etapas que constituyen la reacción principal se refiere. En este caso el mecanismo de reacción permanecerá inalterable, en cuanto a las etapas de inhibición competitiva debidas a la formación de complejos con respecto tanto a reactivos como a productos se refiere; viéndose modificadas las etapas de reacción de la manera que se indica a continuación:

Etapas de reacción en condiciones de irreversibilidad:



Según esto la ecuación de velocidad de reacción se verá modificada de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
 (-r_{Ac}) = & \frac{(-r_{Ac})_{\max} N_{Ac} N_{AI}}{K_{iAc} K_{mA1} \left(1 + \frac{N_{AI}}{K_{iAI}} + \frac{N_{ES}}{K'_{ES}}\right) + K_{mA1} N_{Ac} \left(1 + \frac{N_{Ac}}{K'_{iAc}} + \frac{N_{ES}}{K''_{iES}}\right) +} \\
 & + K_{mAc} N_{AI} \left(1 + \frac{N_{AI}}{K'_{iAI}} + \frac{N_{ES}}{K'_{iES}}\right) + N_{Ac} N_{AI}
 \end{aligned} \tag{7.20}$$

Cuando se trabaja con exceso de ácido o con exceso alcohol, la ecuación se reduce todavía más tomando la forma [7.21] para exceso de alcohol y la forma [7.23] para exceso de ácido.

$$(-r_{Ac}) = \frac{N_{Ac}}{K_{mAc} \left(1 + \frac{K_{iAc} K_{mA1}}{K_{mAc} N_{AI}}\right) + N_{Ac} \left(1 + \frac{K_{mA1}}{N_{AI}}\right)} \tag{7.21}$$

Cuando la concentración de alcohol en exceso tiende a infinito, la expresión se transforma en:

$$(-r_{Ac}) = \frac{N_{Ac}}{K_{mAc} + N_{Ac}} \tag{7.22}$$

Análogamente para un exceso de ácido:

$$(-r_{AI}) = \frac{N_{AI}}{K_{mA1} \left(1 + \frac{K_{iAc}}{N_{Ac}}\right) + N_{AI} \left(1 + \frac{K_{mAc}}{N_{Ac}}\right)} \tag{7.23}$$

Cuando la concentración de ácido en exceso tiende a infinito, la expresión se transforma en:

$$(-r_{A1}) = \frac{N_{A1}}{K_{mA1} + N_{A1}} \quad [7.24]$$

A partir de los resultados experimentales obtenidos cuando se opera a una presión de 60mmHg, y teniendo en cuenta la forma matemática de las ecuaciones obtenidas, se llevaron a cabo las representaciones de los datos inversa de la concentración del reactivo en defecto frente a la inversa de la velocidad de reacción, tomando como variable independiente la concentración de reactivo en exceso. Dichas representaciones se llevaron a cabo, fijando la concentración inicial de catalizador en un 5%, para las tres temperaturas de reacción que determinan nuestro intervalo de operación. Dichas representaciones están basadas en el bien conocido método de las velocidades iniciales, que permite obtener información sobre algunos de los parámetros cinéticos que posteriormente conducirán a la obtención del modelo global que explica el comportamiento cinético del sistema.

En la figura 7.1 se muestra la representación correspondiente a las reacciones llevadas a cabo con un exceso de alcohol oleico, por tanto se representa la inversa de la velocidad de formación de oleato de oleilo frente al número de moles de alcohol, para cada una de las relaciones molares fijadas, siendo la temperatura de operación de 70°C y la presión de trabajo de 60mmHg.

A partir de las pendientes de las rectas obtenidas, y de sus correspondientes ordenadas en el origen, se procedió a construir los gráficos que relacionan dichos parámetros frente a la inversa del número de moles de alcohol oleico, que como puede observarse en las figuras 7.2 y 7.3, también dan lugar a la obtención de rectas, cuyos parámetros (ordenada en el origen y pendiente) relacionan tres constantes características: velocidad máxima de reacción, constante de Michaelis Menten con respecto al ácido oleico y constante del equilibrio de inhibición del alcohol correspondiente a la segunda etapa del mecanismo de reacción.

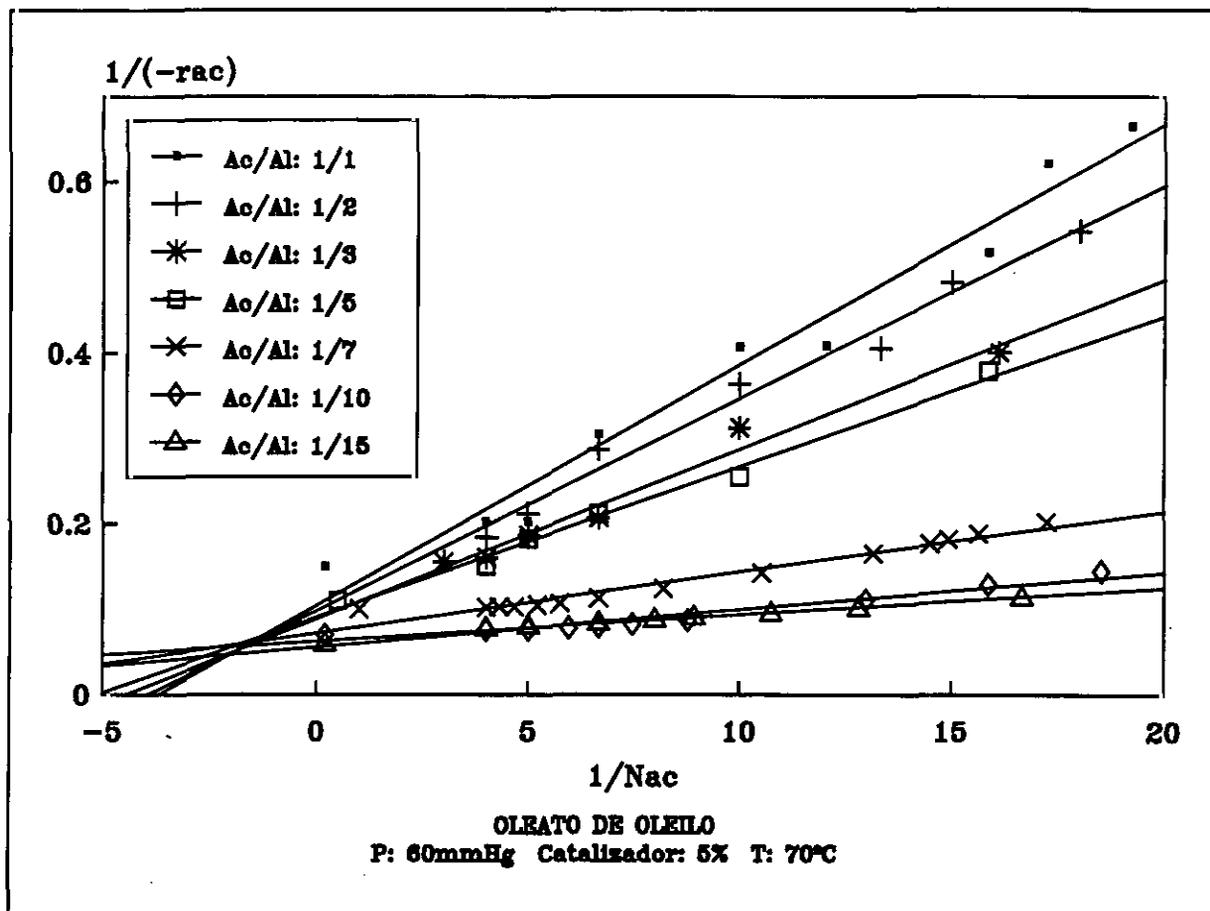


Figura 7.1. Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de alcohol oleico.

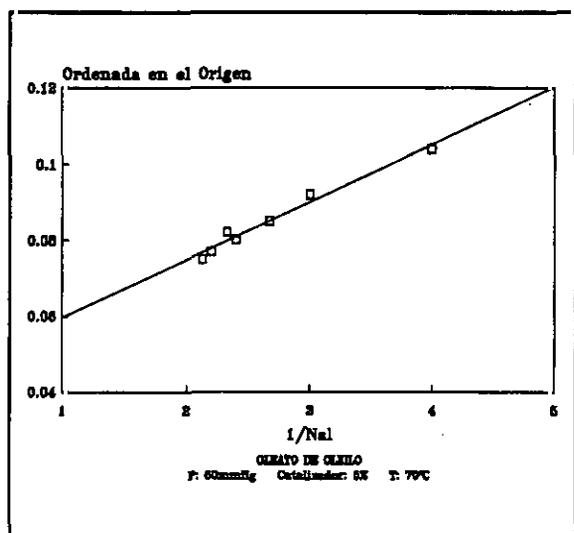


Figura 7.2. Ordenada en el origen frente a $1/N_{al}$.

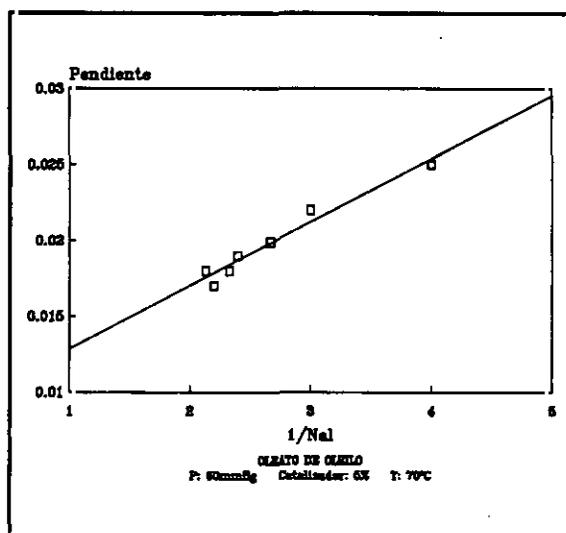


Figura 7.3. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

De manera análoga se llevaron a cabo las correspondientes representaciones, en el caso en que se opera en condiciones de trabajo tales que el exceso de reactivo viene dado por la concentración de ácido oleico. Así en la figura 7.4, pueden observarse las tendencias que resultan de representar la inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de alcohol oleico, siendo dichas tendencias convergentes hacia un mismo punto; lo que demuestra que el mecanismo de reacción elegido es el adecuado.

Tomando como nuevos datos los cortes de las rectas con el eje de ordenadas y el valor de la pendiente de cada una de las rectas obtenidas, se procedió a representar gráficamente dichos valores frente a la inversa del número de moles del reactivo en exceso, ácido oleico (figuras 7.5 y 7.6). De las ordenadas en el origen y pendientes obtenidas en estas dos nuevas rectas, se obtuvieron la relación entre algunas constantes cinéticas: velocidad máxima de reacción, constante de Michaelis Menten con respecto al alcohol oleico y constante de inhibición del ácido oleico correspondiente al primer paso del mecanismo principal de reacción.

Dichos parámetros se obtuvieron, siguiendo el mismo mecanismo de representación gráfica y cálculo, para las tres temperaturas ensayadas. En la tabla 7.1, se resumen los valores de dichos parámetros, en la que puede observarse que todos los parámetros disminuyen al aumentar la temperatura, a excepción de la velocidad máxima de reacción.

Tabla 7.1. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de oleato de oleilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mAl} (mol)	K_{IAc} (mol)	K_{IAI} (mol)
60	1.73×10^{-2}	1.65×10^{-1}	1.98×10^{-1}	5.02×10^{-3}	1.09×10^{-3}
70	2.66×10^{-2}	1.17×10^{-1}	1.31×10^{-1}	1.07×10^{-3}	9.01×10^{-4}
80	4.22×10^{-2}	1.01×10^{-1}	8.51×10^{-2}	7.01×10^{-4}	4.84×10^{-4}

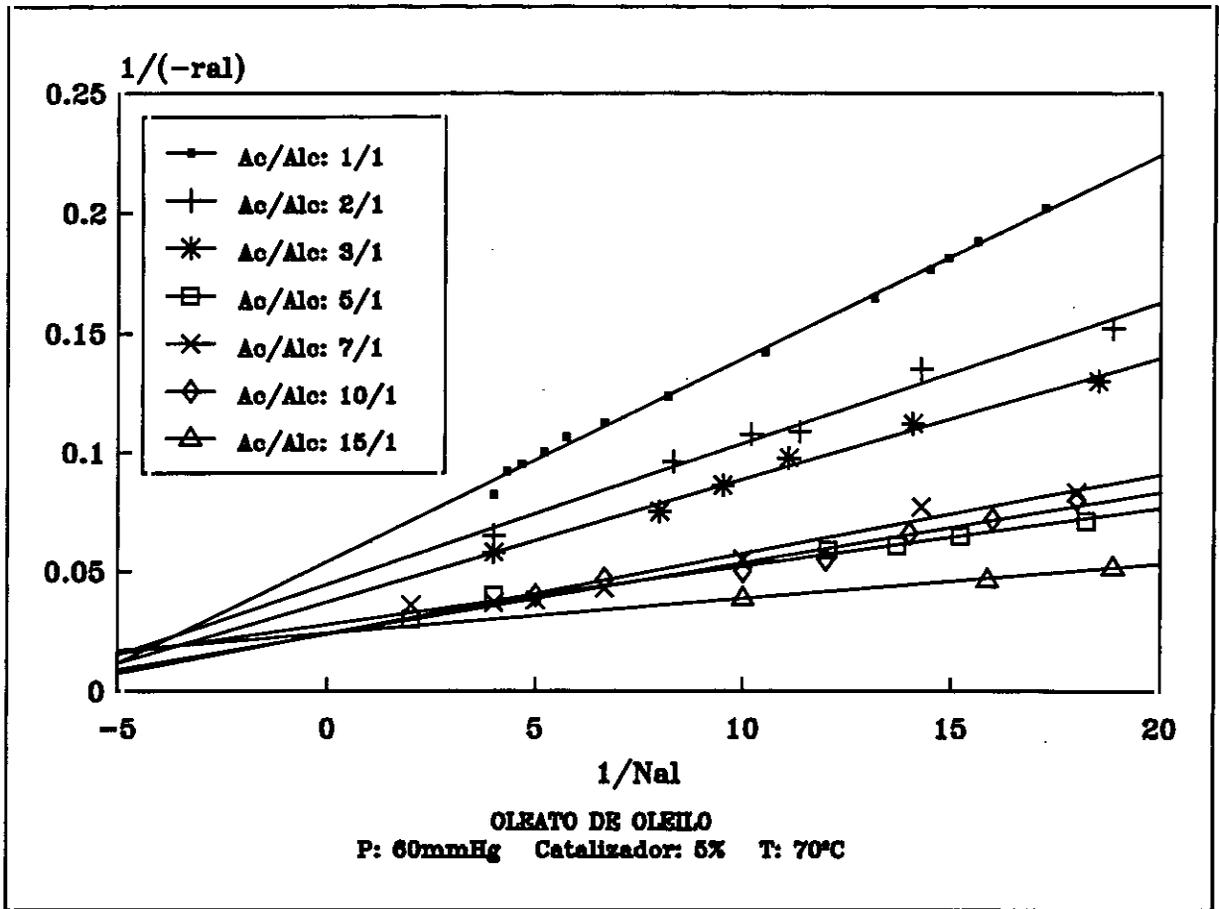


Figura 7.4. Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido oleico.

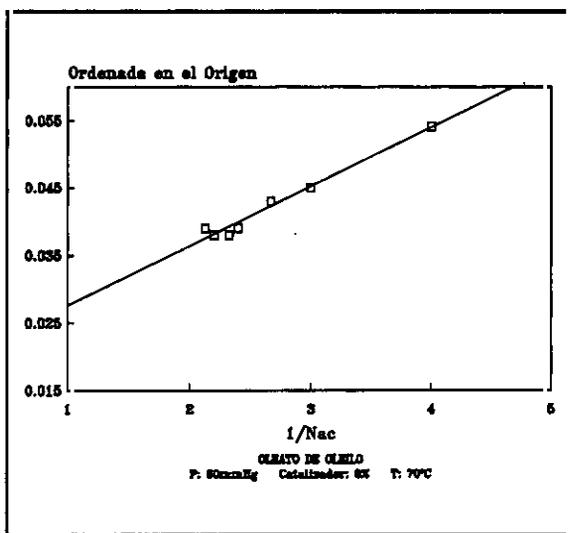


Figura 7.5. Ordenada en el origen frente a $1/N_{ac}$.

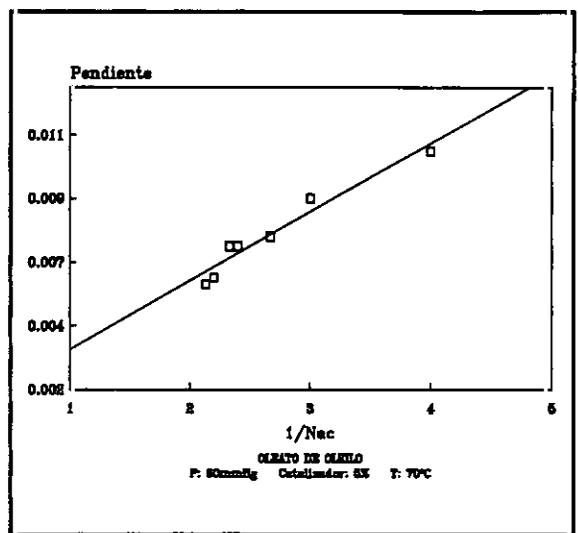


Figura 7.3. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

A fin de calcular los demás parámetros, se procedió a poner la ecuación de velocidad en función de la conversión en éster, considerando una relación molar ácido:alcohol 1:1, para, a continuación, poner la ecuación cinética en su forma integral, llegando a obtener una expresión en función del tiempo y de la conversión (ecuación [7.25]).

$$t = \alpha + \beta X_{Ac} + \gamma \ln \frac{1}{(1-X_{Ac})} + \delta \frac{1}{(1-X_{Ac})} \quad [7.25]$$

Donde:

$$\alpha = -\frac{K_{iAc}K_{mAl}}{N_{Ac0}(-I_{Ac})_{\max}} - \frac{K'_{iAc}K_{mAl}}{K'_{iEs}(-I_{Ac})_{\max}}$$

$$\beta = \frac{N_{Ac0}}{(-I_{Ac})_{\max}} + \frac{K_{mAc}N_{Ac0}}{K_{iAl}(-I_{Ac})_{\max}} - \frac{K_{mAl}N_{Ac0}}{K'_{iEs}(-I_{Ac})_{\max}}$$

$$\gamma = \frac{K_{mAc}}{(-I_{Ac})_{\max}} + \frac{K_{mAl}}{(-I_{Ac})_{\max}} + \frac{K_{mAl}N_{Ac0}}{K'_{iEs}(-I_{Ac})_{\max}} - \frac{K_{iAc}K_{mAl}}{K'_{iEs}(-I_{Ac})_{\max}} - \frac{K'_{iAc}K_{mAl}}{K'_{iAl}(-I_{Ac})_{\max}}$$

$$\delta = \frac{K'_{iAc}K_{mAl}}{N_{Ac0}(-I_{Ac})_{\max}} - \frac{K_{mAl}K_{iAc}}{K'_{iEs}(-I_{Ac})_{\max}}$$

La solución de esta ecuación se llevó a cabo comparando los datos tiempo-conversión mediante regresión lineal múltiple y regresión no lineal por el método de Marquardt. A partir de los valores de los coeficiente obtenidos, y teniendo en cuenta los valores de las constantes calculados empleando el método gráfico anteriormente expuesto, se plantearon cuatro sistemas de ecuaciones con cuatro incógnitas, y solucionándolo se obtuvieron los correspondientes valores de los parámetros cinéticos restantes para completar el modelo cinético que describe el proceso en condiciones de irreversibilidad.

En la tabla 7.2, se muestran los valores de las constantes cinéticas calculadas siguiendo este procedimiento. En ella puede comprobarse que los parámetros calculados disminuyen su valor al aumentar la temperatura de operación, lo que demuestra que para temperaturas elevadas, dentro del

intervalo propuesto, disminuye el fenómeno de la inhibición debida a las especies involucradas en el medio de reacción.

Tabla 7.2. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de oleato de oleilo.

TEMPERATURA (°C)	K'_{iEs} (mol)	K''_{iEs} (mol)	K'_{iAc} (mol)	K'_{iAl} (mol)
60	2.91×10^{-2}	7.29×10^{-4}	1.30×10^{-3}	1.01×10^{-3}
70	1.80×10^{-2}	6.01×10^{-4}	1.03×10^{-3}	8.52×10^{-4}
80	9.01×10^{-3}	4.25×10^{-4}	9.63×10^{-4}	6.05×10^{-4}

7.1.2 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD

Cuando el sistema opera en condiciones de reversibilidad, es necesario considerar el modelo cinético completo, que viene dado por la ecuación [7.19]. Considerando que la relación molar de reactivos es la unidad, se procedió a poner la velocidad de reacción en función de la conversión en oleato de oleilo, para su posterior solución. Al igual que para el modelo que representa el comportamiento del sistema en condiciones de irreversibilidad, la solución de este modelo pasa por la transformación del mismo en su forma integral; es decir, reordenando los términos de la forma integral del modelo, se obtuvo una relación del tiempo de reacción en función de la conversión. La forma de dicha expresión viene dada por la ecuación [7.26].

Dicha ecuación sólo depende de la conversión y de la constante de equilibrio, que permanece invariable con el tiempo de reacción, y sólo depende de la temperatura a la que tiene lugar el proceso de esterificación; presentando cinco coeficientes que engloban términos constantes de cada uno de los pasos del mecanismo de reacción, concentración inicial de reactivos y concentración inicial de catalizador, pudiendo englobarse dos de estos coeficientes en uno solo a efectos de cálculo, ya que los

términos que acompañan a los coeficientes ξ y ω pueden agruparse en un mismo término constante de la expresión mostrada en la ecuación [7.26], detallándose los coeficientes en la ecuación [7.27].

$$\begin{aligned}
 t = & \epsilon \text{Ln} \frac{(\sqrt{K_{eq}} - 1) (X_{Ac}(\sqrt{K_{eq}} + 1) - \sqrt{K_{eq}})}{(X_{Ac}(\sqrt{K_{eq}} - 1) - \sqrt{K_{eq}}(\sqrt{K_{eq}} + 1))} + \\
 & + \theta \text{Ln} (X_{Ac}^2 (K_{eq} - 1) - 2K_{eq}X_{Ac} + K_{eq}) + \\
 & + \omega \text{Ln} \frac{(\sqrt{K_{eq}} - 1)}{(\sqrt{K_{eq}} + 1)} + \xi \text{Ln} K_{eq} + \lambda X_{Ac}
 \end{aligned} \tag{7.26}$$

A partir de los resultados experimentales obtenidos trabajando a presión atmosférica para la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol oleico, y teniendo en cuenta los parámetros calculados cuando el proceso se lleva a cabo en condiciones de presión reducida, se procedió a solucionar el modelo propuesto. Para ello, se procedió a calcular los coeficientes del modelo mediante cálculo numérico, empleando métodos de regresión lineal múltiple y métodos de regresión no lineal, basados en el algoritmo de Marquard de algunos paquetes de software informático.

A partir de los coeficientes calculados para cada una de las temperaturas que cubren nuestro intervalo de operación se obtuvieron los parámetros cinéticos que se muestran en la tabla 7.3; y que, junto con los obtenidos en el apartado anterior (tablas 7.1 y 7.2) nos definen el modelo cinético completo para este sistema de operación, cuando opera en condiciones de reversibilidad.

Tabla 7.3. Parámetros cinéticos para la síntesis de oleato de oleilo a presión atmosférica.

TEMPERATURA (°C)	K_{eq}	K_{mEs} (mol)	K_{mW} (mol)	K_{IEs} (mol)	K_{IW} (mol)
60	26.5689	1.102×10^{-5}	1.551×10^{-3}	1.120×10^{-3}	1.10×10^{-2}
70	37.5420	9.070×10^{-6}	1.223×10^{-3}	9.201×10^{-4}	9.90×10^{-3}
80	112.0802	5.252×10^{-6}	9.170×10^{-4}	7.01×10^{-4}	8.50×10^{-3}

$$\begin{aligned}
 \epsilon &= \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^d \max K'_{IEs} K_{IW} (K_{eq} (K_{IAI} (2K_{mW} + N_{AcD}) + K_{mW} N_{AcD}) + K_{IAI} (N_{AcD} - 2K_{mW}) + K_{mW} N_{AcD})}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} + \\
 &+ \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^i \max K'_{IEs} K_{IW} (K_{mAc} (K_{IAI} + N_{AcD}) + K_{IAI} (K_{mAI} + N_{AcD}))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} - \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^i \max K_{eq} (K_{mAc} K_{IW} (K_{IAI} (K_{IEs} + 2N_{AcD}) - K'_{IEs} N_{AcD}) + K_{IAI} K_{IEs} (K_{IW} (K_{mAI} - N_{AcD}) + 2K_{mAI} N_{AcD}))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} \\
 \theta &= \frac{\sqrt{K_{eq}} 2(-r_{Ac})^d \max K'_{IEs} K_{IW} (K_{eq} (K_{IAI} (K_{mW} + N_{AcD}) + K_{mW} N_{AcD}) - K_{IAI} - K_{mW})}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)} - \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}} K_{eq} (-r_{Ac})^i \max K_{IEs} K_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} (K_{IEs} + N_{AcD}) + K_{IEs} K_{mAI} (K_{IW} + N_{AcD}))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)} - \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}} (-r_{Ac})^i \max K_{eq} K_{IAI} K_{mAc} K_{IW} ((K_{IAI} (K_{IEs} - N_{AcD}) + 2K'_{IEs} N_{AcD}) + K_{IAI} K_{IEs} (K_{mAI} N_{AcD} - (K_{IW} (K_{mAI} + 2N_{AcD}))))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)} \\
 \lambda &= \frac{(-r_{Ac})^d \max K_{IEs} K_{IW} (K'_{IAI} + K_{mW}) - K_{eq} (-r_{Ac})^i \max (K_{mAc} K_{IW} (K_{IAI} - K'_{IEs}) + K_{IEs} K_{IAI} (K_{mAI} - K_{IW}))}{(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max (K_{eq} - 1)} \quad [7.27] \\
 \xi &= \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^d \max K'_{IEs} K_{IW} (K_{eq} (K_{IAI} (2K_{mW} + N_{AcD}) + K_{mW} N_{AcD}) + K_{IAI} (N_{AcD} - 2K_{mW}) + K_{mW} N_{AcD})}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} + \\
 &+ \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^i \max K_{IEs} K_{IW} (K_{mAc} (K_{IAI} + N_{AcD}) + K_{IAI} (K_{mAI} + N_{AcD})) - K_{eq} (K_{mAc} K_{IW} (K'_{IAI} (K'_{IEs} + 2N_{AcD}) - K'_{IEs} N_{AcD}))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} - \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}}(-r_{Ac})^i \max K_{eq} K_{IAI} K'_{IEs} (K_{IW} (K_{mAI} - N_{AcD}) + 2K_{mAI} N_{AcD})}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} \\
 \zeta &= \frac{K_{eq} (-r_{Ac})^i \max K_{eq} K_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} (K'_{IEs} + N_{AcD}) + K_{IEs} K_{mAI} (K_{IW} + N_{AcD}))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} - \\
 &- \frac{K_{eq} (-r_{Ac})^i \max (K_{eq} K_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} (K_{IAI} (K_{IEs} - N_{AcD}) + 2K'_{IEs} N_{AcD})) - K_{IAI} K_{IEs} (K_{mAI} N_{AcD} - K_{IW} (K_{mAI} + 2N_{AcD})))}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2} - \\
 &- \frac{(-r_{Ac})^d \max K_{IW} K_{IEs} (K_{eq} (K'_{IAI} (K_{mW} + N_{AcD}) + K_{mW} N_{AcD}) - K_{IAI} K_{mW})}{2(-r_{Ac})^d \max K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i \max N_{AcD} (K_{eq} - 1)^2}
 \end{aligned}$$

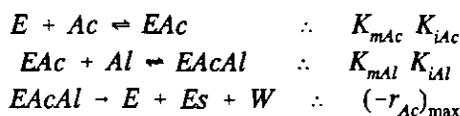
7.2 MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE CETILO

Al igual que en el caso del oleato de oleilo, en este caso también puede llevarse a cabo la reacción de esterificación tanto en condiciones de reversibilidad como en condiciones de irreversibilidad. Lógicamente, desde un punto de vista de la conversión convendría trabajar a presión reducida; sin embargo se han considerado, además, las condiciones de presión atmosférica, con el fin de obtener todos los parámetros cinéticos que conducen a la ecuación cinética completa.

Por tanto, para el estudio cinético de la reacción de esterificación de ácido oleico con alcohol cetílico, empleando como catalizador comercial, la lipasa inmovilizada de *Candida antarctica*, Novozym 435; en primer lugar se consideraron los resultados experimentales obtenidos en la experimentación correspondiente a una presión de 60 mmHg para, a continuación, completar el estudio cinético a partir de los resultados experimentales considerando las reacciones realizadas a presión atmosférica.

7.2.1 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD

A partir de los experimentos realizados a presión reducida, 60mmHg, se llevó a cabo el estudio cinético del sistema en condiciones de irreversibilidad. Al igual que en el caso anterior, el esquema básico del mecanismo de reacción vendrá dado por dos grupos de etapas. En el primer grupo se resumen los pasos correspondientes a las etapas de la reacción propiamente dicha; mientras que el segundo grupo de etapas está constituido por los posibles pasos debidos a fenómenos de inhibición competitiva, producidos por la formación de complejos de reactivos y productos con la enzima libre o con complejos intermedios de las etapas principales de reacción. Según esto, el esquema de reacción que rige el proceso de esterificación planteado en este apartado, es el que se muestra a continuación, que también coincide con el propuesto para la síntesis de oleato de oleilo.



Dichas etapas de reacción, junto con las correspondientes etapas de inhibición conducen a la obtención del modelo cinético descrito por la ecuación [7.20], cuya solución se verá a continuación.

Siguiendo la metodología descrita en el punto anterior, se procedió a la obtención de algunos de los parámetros cinéticos, empleando para ello el método de las velocidades iniciales. En primer lugar se consideraron los experimentos realizados en exceso de alcohol cetílico, por lo que la ecuación principal se reduce a la ecuación [7.21], la cual se transforma en la ecuación [7.22] cuando la concentración de alcohol cetílico tiende a infinito, desapareciendo así los términos de inhibición.

Según esto, se procedió a representar la variación de las velocidades de reacción con el número de moles de ácido oleico presentes en el medio, para las diferentes relaciones molares ácido:alcohol fijadas, que dan lugar a un exceso del alcohol cetílico. Así en la figura 7.7 se presentan, a modo de ejemplo, las representaciones para una temperatura de 75°C y una concentración inicial de catalizador del 5% en peso. Como puede observarse, se obtienen variaciones lineales, cuyas pendientes aumentan al disminuir la concentración de alcohol cetílico en exceso.

Los parámetros característicos de estas rectas, ordenadas en el origen y pendientes, se representaron posteriormente frente al número de moles de alcohol cetílico, obteniéndose dos nuevas rectas que se muestran en las figuras 7.8 y 7.9, cuyos parámetros característicos relacionan algunos de los parámetros cinéticos buscados, como son la velocidad máxima de reacción, la constante de Michaelis Menten con respecto al ácido oleico y la constante de inhibición del alcohol oleico debida al equilibrio de formación del complejo de dicho alcohol con el complejo enzima-ácido.

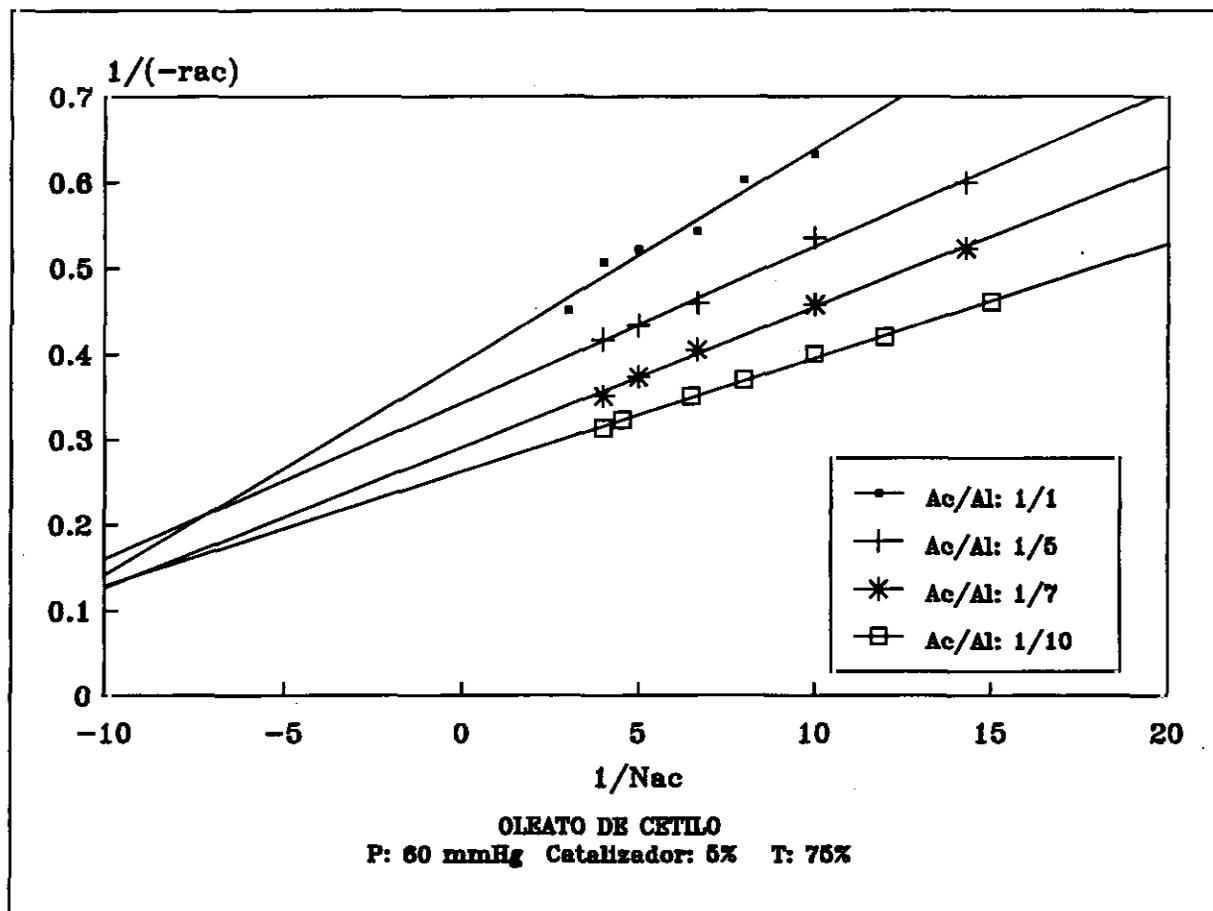


Figura 7.7. Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de alcohol cetílico.

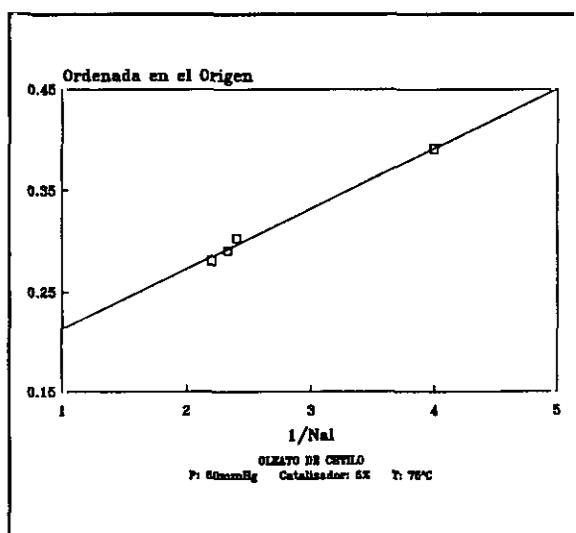


Figura 7.8. Ordenada en el origen frente a $1/N_{al}$.

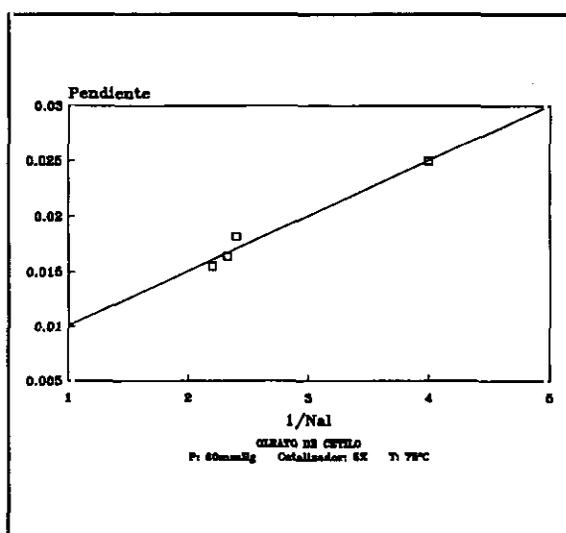


Figura 7.9. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

Continuando con la metodología propuesta, se procedió a obtener la información correspondiente a los experimentos realizados en condiciones de irreversibilidad, pero trabajando con un exceso de alcohol oleico en el medio de reacción. Así se representaron los gráficos característicos de variación de la inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de alcohol cetílico, cuando la relación molar ácido oleico/alcohol cetílico es superior a la unidad, para las tres temperaturas de reacción propuestas en esta memoria.

En este caso, las ecuaciones matemáticas que gobiernan el proceso, serán las ecuaciones [7.23] y [7.24], cuando la reacción se lleva a cabo en exceso de ácido oleico y cuando la concentración del mismo es tan elevada en el medio de reacción, que puede considerarse que esta tiende a infinito y que, por tanto, la variación de la misma es despreciable con respecto a la concentración inicial añadida al comienzo de la operación.

La figura 7.10 muestra las representaciones de los datos experimentales cuando se opera a una temperatura de 75°C y una concentración inicial de catalizador correspondiente a la definida por el punto central del intervalo. De nuevo, se aprecia una variación lineal de primer orden respecto de la función inversa del número de moles alcohol cetílico, al emplear este método gráfico de las velocidades iniciales, también conocido como método gráfico de Lineweaver-Burk.

Representando los valores del corte de la ordenada en el origen y la pendiente de cada una de las rectas obtenidas, frente a la función inversa de la concentración de ácido oleico en exceso, se obtuvieron dos nuevas rectas, cuyos parámetros nos relacionan tres parámetros cinéticos, como son la velocidad máxima de reacción, la constante de Michaelis-Menten para el alcohol cetílico y la constante de inhibición con respecto del ácido, debida esta última a la primera etapa del mecanismo que constituye la reacción principal: formación del complejo binario ácido-enzima. Dichos gráficos se corresponden con las figuras 7.11 y 7.12, respectivamente.

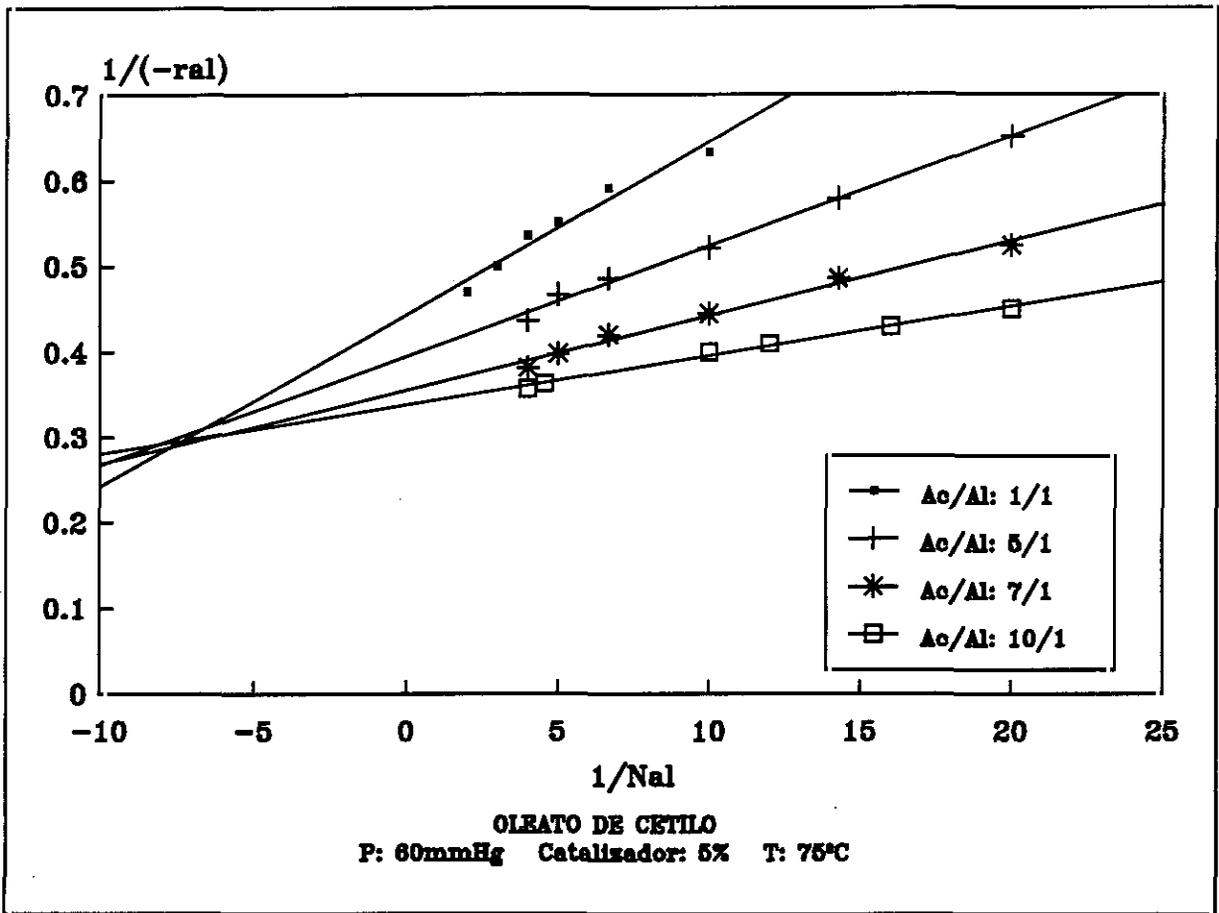


Figura 7.10. Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido oleico.

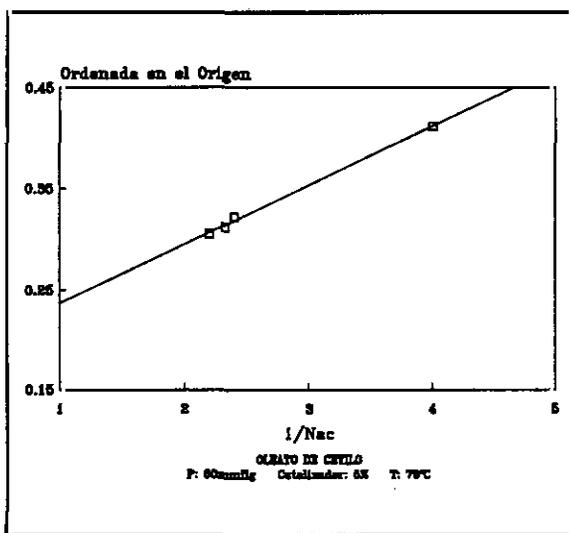


Figura 7.11. Ordenada en origen frente a $1/N_{ac}$.

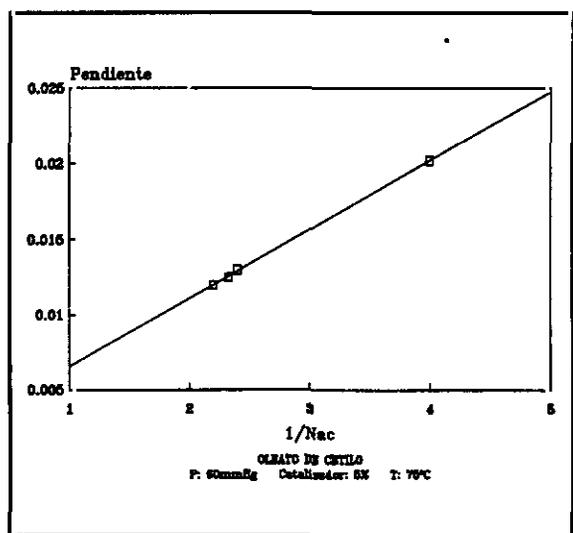


Figura 7.12. Pendiente frente a $1/N_{ac}$.

En la tabla 7.4 se recogen estos parámetros cinéticos obtenidos a partir de la representación gráfica de los datos experimentales, para las tres temperaturas de operación.

Tabla 7.4. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de oleato de cetilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mAl} (mol)	K_{iAc} (mol)	K_{iAl} (mol)
70	1.05×10^{-2}	1.75×10^{-1}	1.72×10^{-1}	4.07×10^{-3}	1.12×10^{-2}
75	1.97×10^{-2}	1.27×10^{-1}	1.29×10^{-1}	9.85×10^{-4}	7.22×10^{-3}
80	2.81×10^{-2}	9.21×10^{-2}	9.25×10^{-2}	6.93×10^{-4}	5.25×10^{-3}

Para completar el modelo propuesto para el sistema que opera en condiciones de irreversibilidad, se procedió a linealizar la ecuación [7.20], obteniéndose un modelo con cuatro coeficientes que agrupan las constantes cinéticas involucradas en el esquema de reacción planteado, que viene dado por la ecuación [7.25], y que relaciona el tiempo de reacción con la conversión en oleato de cetilo, teniendo en cuenta las etapas descritas en los pasos de inhibición.

La solución del modelo se llevó a cabo ajustando los datos tiempo-conversión obtenidos para las tres temperaturas de reacción, operando a presión reducida y con concentraciones equimolares de ácido oleico y alcohol cetílico, e introduciendo en las expresiones de los coeficientes las constantes cinéticas obtenidas al operar en exceso de reactivos. Para ello se emplearon métodos de cálculo numérico basados en los algoritmos de mínimos cuadrados y Marquardt incluidos en los paquetes de software de algunos programas de soporte informático.

La tabla 7.5 recoge los valores de las cuatro nuevas constantes calculadas, para las diferentes temperaturas que cubren nuestro intervalo de operación. En ella puede observarse, que también en este caso, los fenómenos de inhibición por parte tanto de los reactivos como del oleato de cetilo, se ven favorecidos con una disminución de la temperatura.

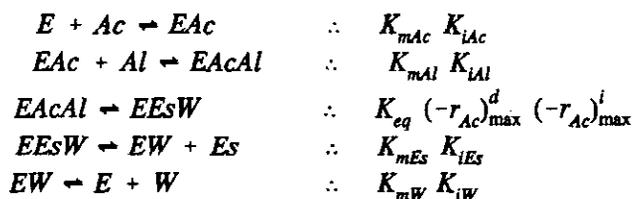
Tabla 7.5. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de oleato de cetilo.

TEMPERATURA (°C)	K'_{iEs} (mol)	K''_{iEs} (mol)	K'_{iAc} (mol)	K'_{iAl} (mol)
70	9.02×10^{-2}	1.02×10^{-2}	2.08×10^{-3}	8.26×10^{-3}
75	6.21×10^{-2}	8.12×10^{-3}	9.67×10^{-4}	4.92×10^{-3}
80	2.33×10^{-2}	6.22×10^{-3}	7.21×10^{-4}	1.23×10^{-3}

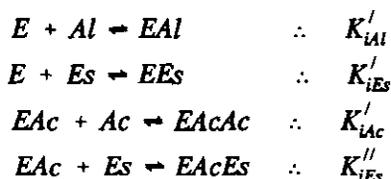
7.2.2 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD

Empleando los datos experimentales de las reacciones realizadas a presión atmosférica, y teniendo en cuenta los parámetros cinéticos calculados cuando el sistema opera en condiciones de irreversibilidad, se procedió a dar solución al modelo cinético representado por la ecuación [7.19], deducida a partir del siguiente esquema de reacción:

Etapas principales:



Etapas de Inhibición:



Sustituyendo en dicho modelo cinético, el número de moles de las diferentes especies presentes en el medio por sus correspondientes valores en función de la conversión en éster, e integrando dicha expresión con respecto de la conversión, se obtiene una ecuación que relaciona el tiempo de reacción con la conversión existente en el medio de reacción. Reorganizando los términos de dicha expresión

se obtiene un modelo, que viene representado por la ecuación [7.26], que consta de cinco términos, de los cuales, dos de ellos son constantes a lo largo del tiempo de reacción.

La solución de dicho modelo reside, lógicamente, en la obtención del valor de los coeficientes de la expresión, los cuales relacionan todas las constantes características resultantes del esquema de reacción propuesto para esta síntesis. Para ello se emplearon métodos de cálculo numérico basados en el análisis de los datos experimentales mediante regresión múltiple y regresión no lineal.

Resolviendo el sistema de ecuaciones que se plantea al igualar las expresiones que determinan los coeficientes con su valor calculado, se obtienen los valores de las constantes cinéticas que completan el estudio del esquema de reacción global, junto con las correspondientes etapas de inhibición. La tabla 7.6 recoge los valores así obtenidos.

Tabla 7.6. Parámetros cinéticos para la síntesis de oleato de cetilo a presión atmosférica.

TEMPERATURA (°C)	K_{eq}	K_{mEs} (mol)	K_{mW} (mol)	K_{IEs} (mol)	K_{IW} (mol)
70	13.3310	1.367×10^{-4}	2.212×10^{-3}	3.929×10^{-3}	2.74×10^{-2}
75	30.6467	7.679×10^{-5}	1.825×10^{-3}	3.019×10^{-3}	1.92×10^{-2}
80	50.8381	4.542×10^{-5}	1.019×10^{-3}	2.215×10^{-3}	1.67×10^{-2}

Como se desprende de dichos valores, un aumento de la temperatura de reacción da lugar a una disminución del valor de las constantes obtenidas, excepto para el caso de la constante de equilibrio. Esto supone que trabajando en el nivel superior del intervalo fijado para la temperatura de operación se consigue, por una parte un aumento de la conversión de equilibrio de ácido oleico en oleato de cetilo y, por otra una disminución de la formación de complejos resultantes de las etapas de inhibición. Lo que implica, en principio, que los mejores niveles de conversión se obtendrán para dicha temperatura, ya que la actividad enzimática se ve favorecida.

7.3 MODELADO DE LA SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO

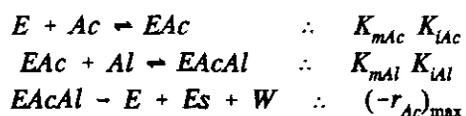
El modelado de la síntesis de miristato de miristilo, se llevó a cabo considerando los experimentos realizados con el sistema de esterificación entre ácido mirístico y alcohol mirístico catalizado por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada.

Las características de dicho sistema, así como las propiedades físicas y químicas de las especies constituyentes del mismo, permiten operar de manera que el agua presente en el medio de reacción pueda eliminarse continuamente trabajando a presión reducida, desplazando así el equilibrio químico hacia la formación de productos. Por ello, también en este caso, el estudio cinético del sistema se llevó a cabo tanto en condiciones de reversibilidad, como de irreversibilidad.

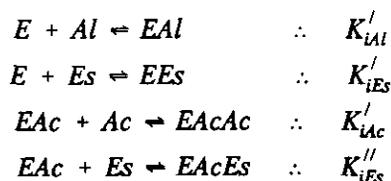
7.3.1 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD

Cuando la reacción de esterificación se lleva a cabo a presión reducida, puede considerarse que el sistema opera en condiciones de irreversibilidad, ya que la desaparición del agua del medio de reacción impide que tenga lugar la reacción inversa. Según esto, el esquema de reacción en estas condiciones estará constituido por tres etapas de reacción, siendo la etapa de formación de miristato de miristilo irreversible. Además habrá que tener en cuenta las etapas que contemplan las posibles formaciones de complejos producto de los fenómenos de inhibición por parte tanto de reactivos como de productos, por lo que el esquema de reacción será el siguiente:

Etapas de Reacción:



Etapas de Inhibición:



Por lo tanto, la expresión matemática que describe el sistema vendrá dada por la ecuación [7.20], cuya solución vendrá por el cálculo de los parámetros cinéticos característicos. Para ello, se procedió a aplicar el método de las velocidades iniciales, para lo cual fue necesario trabajar con exceso de reactivos, a fin de calcular la velocidad máxima de reacción.

En primer lugar se consideraron los experimentos realizados en exceso de alcohol mirístico, con una concentración inicial de catalizador de un 5%. En esta situación, la ecuación principal toma la forma de la ecuación [7.21], convirtiéndose en la ecuación [7.22] cuando la concentración de alcohol es tan elevada que puede considerarse constante durante el tiempo que dura la reacción.

Construyendo las representaciones de Lineweaver-Burk para las tres temperaturas que cubren el intervalo de operación de este sistema, se obtuvieron variaciones de primer orden para las relaciones existentes entre la inversa de la velocidad de reacción con la inversa del número de moles de ácido presente en el medio.

Tomando los parámetros característicos de estas rectas, se procedió a llevar a cabo sendas representaciones de los mismos frente a la inversa del número de moles iniciales de alcohol mirístico, obteniéndose así los valores de los cortes con el eje de ordenadas y pendientes, los cuales relacionan la velocidad máxima de reacción, constante de Michaelis Menten para el ácido mirístico y la constante de inhibición enzimática debida al equilibrio de formación del complejo enzima-ácido-alcohol mirístico.

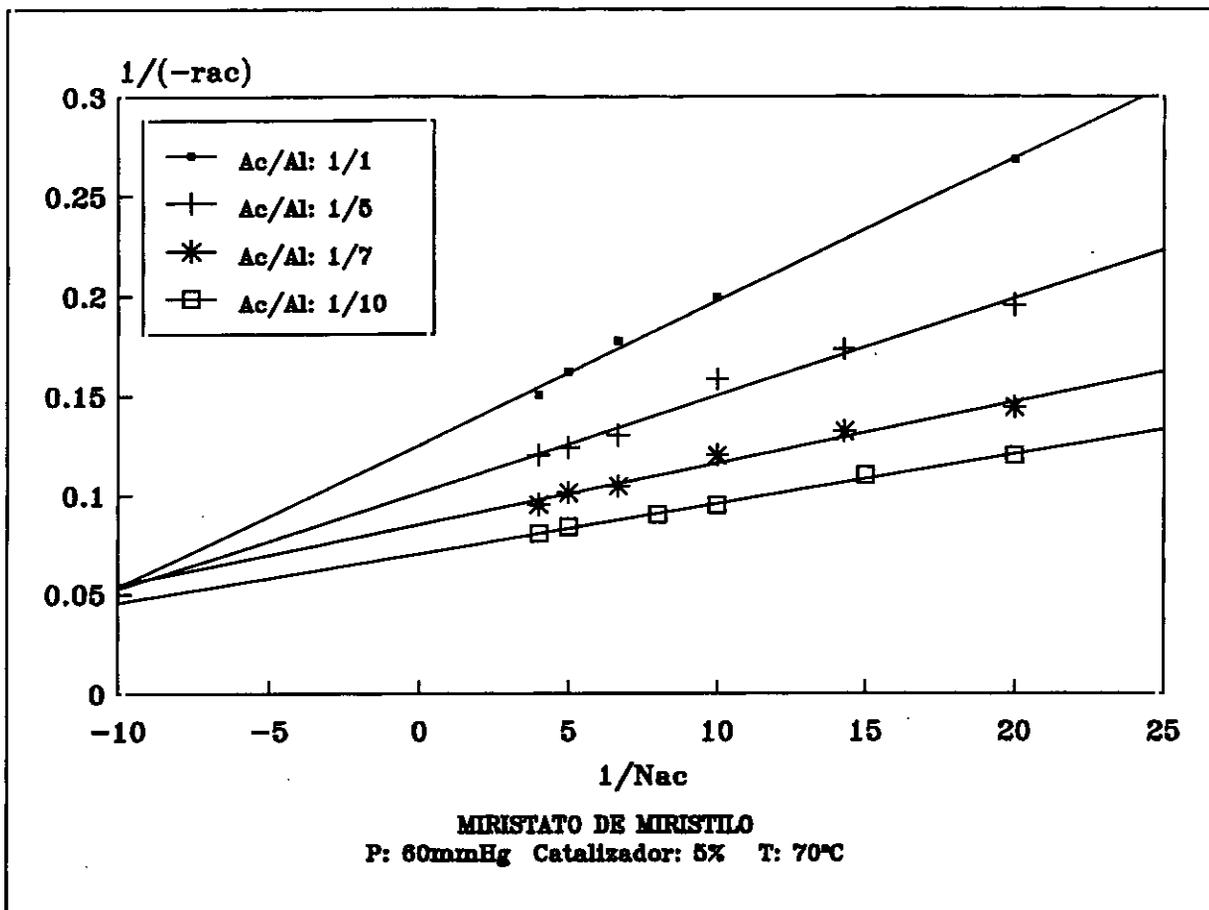


Figura 7.13 Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de alcohol mirístico.

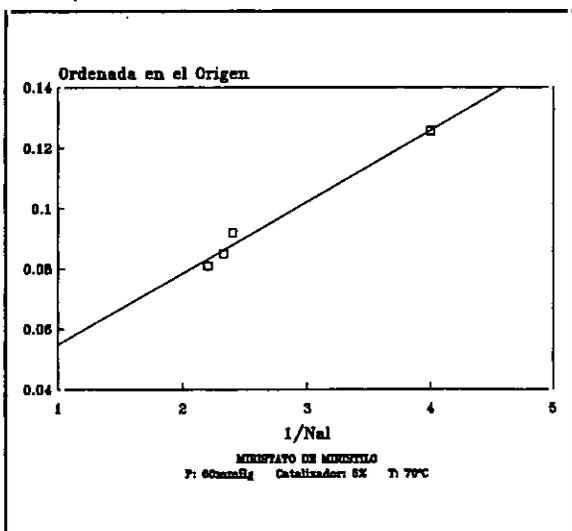


Figura 7.14. Ordenada en el origen frente $1/N_{al}$

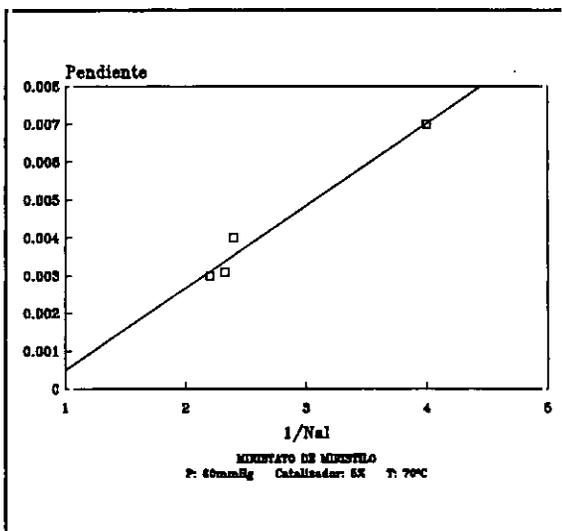


Figura 7.15. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

Las figuras 7.13, 7.14 y 7.15 muestran las representaciones obtenidas cuando se trabaja a 70°C con un exceso de alcohol mirístico, cuando la presión de trabajo es de 60mmHg y la concentración inicial de catalizador se encuentra en el punto medio del intervalo.

Operando de forma análoga cuando se trabaja en exceso de ácido mirístico, se procedió a construir los gráficos de Lineweaver-Burk característicos para las tres temperaturas de operación, así como sus correspondientes representaciones de las ordenadas en el origen y pendientes frente a la inversa del número de moles inicial de ácido.

Al trabajar con exceso de ácido en el medio de reacción, la ecuación que gobierna el proceso global en condiciones de irreversibilidad, ecuación [7.20], se reduce a la ecuación [7.23], llegándose a la ecuación [7.24] cuando la concentración de ácido mirístico tiende a infinito.

En este caso, los parámetros obtenidos fueron las constantes de inhibición con respecto al ácido mirístico y de Michaelis Menten con respecto al alcohol mirístico, así como la velocidad máxima de reacción. En la tabla 7.7 se muestran los parámetros cinéticos obtenidos hasta ahora.

Tabla 7.7. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de miristato de miristilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mAl} (mol)	K_{IAc} (mol)	K_{IAI} (mol)
60	9.01×10^{-4}	4.05×10^{-2}	5.72×10^{-2}	1.17×10^{-2}	7.02×10^{-2}
70	1.12×10^{-3}	2.56×10^{-2}	3.01×10^{-2}	8.02×10^{-3}	1.22×10^{-2}
80	1.61×10^{-3}	1.26×10^{-2}	1.57×10^{-2}	5.18×10^{-3}	9.27×10^{-3}

En la figura 7.16, 7.17 y 7.18 se presentan las representaciones de Lineweaver-Burk y de los parámetros obtenidos de dichas rectas frente a la inversa del número inicial de moles de ácido, al trabajar con un exceso de alcohol, a una temperatura de 70°C.

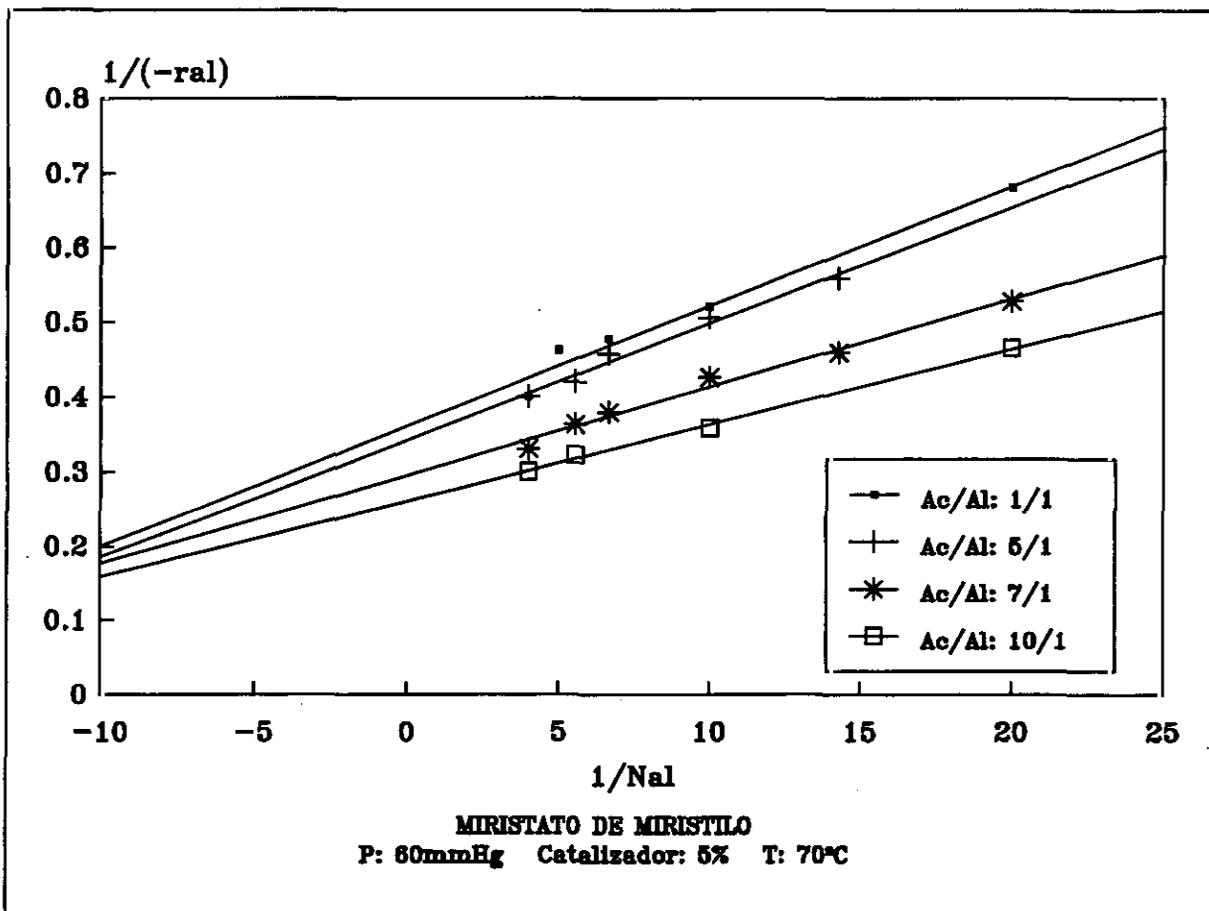


Figura 7.16. Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido mirístico.

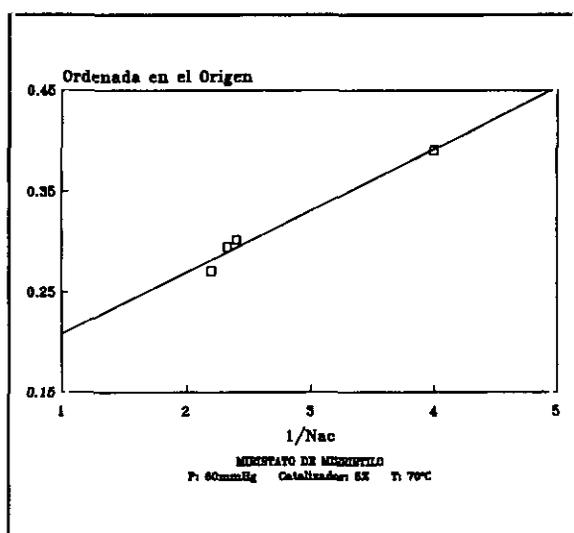


Figura 7.17. Ordenada frente a $1/N_{ac}$.

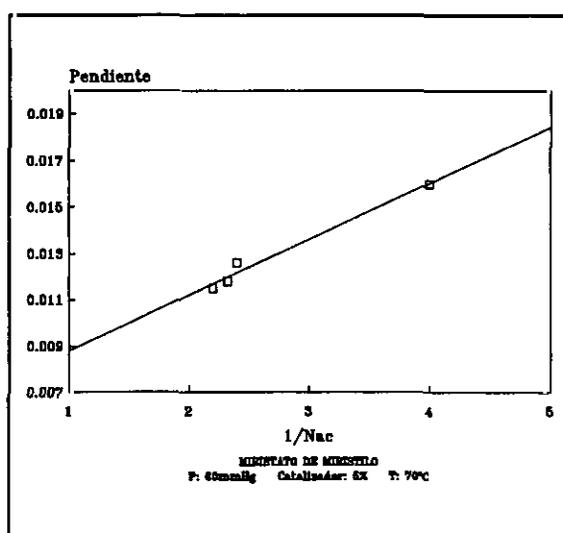


Figura 7.18. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

Para calcular los parámetros correspondientes a los pasos de inhibición incluidos dentro del esquema de reacción propuesto, se procedió a transformar la ecuación principal en una función del tiempo y la conversión en éster. Para ello, se sustituyó el número de moles de las especies en función de la conversión y, a continuación se integró la ecuación, obteniéndose la forma lineal del modelo, que viene representada por la ecuación [7.25].

Al igual que en los casos anteriores, se obtuvieron los coeficientes de dicho modelo ajustando los datos experimentales tiempo-conversión obtenidos para los experimentos realizados con relación equimolar de reactivos, empleando para ello las correspondientes regresiones múltiples y no lineales.

A partir de los valores de dichos coeficientes, se calcularon las constantes de inhibición representativas, las cuales se muestran en la tabla 7.8.

Tabla 7.8. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de miristato de miristilo.

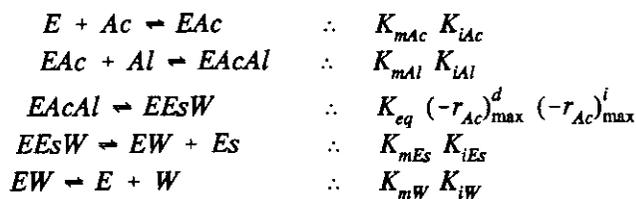
TEMPERATURA (°C)	K'_{IEs} (mol)	K''_{IEs} (mol)	K'_{IAc} (mol)	K'_{IAI} (mol)
60	6.33×10^{-2}	2.17×10^{-2}	2.17×10^{-3}	3.91×10^{-3}
70	3.19×10^{-2}	9.07×10^{-3}	3.05×10^{-3}	2.01×10^{-3}
80	1.23×10^{-2}	7.16×10^{-3}	4.18×10^{-3}	1.02×10^{-3}

7.3.2 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD

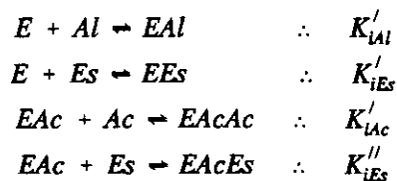
Cuando el sistema opera a presión atmosférica, se presenta un componente más en el medio de reacción y todas las etapas de reacción pasan a ser reversibles, por lo que habrá que tener en cuenta las constantes de Michaelis Menten de los dos productos de reacción y las constantes de inhibición debido a las dos nuevas etapas reversibles que aparecen en el mecanismo de reacción. Por este motivo,

el mecanismo de reacción cuando se opera en condiciones de reversibilidad vendrá dado, al igual que en los casos anteriores, por el siguiente esquema:

Etapas de Reacción:



Etapas de Inhibición:



Por tanto, el modelo cinético que gobierna el proceso de esterificación objeto de estudio en este caso, vendrá dado por la expresión [7.19], la cual, una vez integrada y linealizada, se transforma en la ecuación [7.26]. Aplicando el mismo tratamiento matemático, que en los casos anteriores, se obtuvieron los coeficientes de dicha ecuación y, a través de ellos, las constantes cinéticas que completan el modelo cinético global, junto con las calculadas cuando el proceso se comporta en condiciones de irreversibilidad. La tabla 7.9 muestra dichas constantes cinéticas, junto con las correspondientes constantes de equilibrio, para las tres temperaturas ensayadas.

Tabla 7.9. Parámetros cinéticos para la síntesis de miristato de miristilo a presión atmosférica.

TEMPERATURA (°C)	K_{eq}	K_{mEs} (mol)	K_{mW} (mol)	K_{iEs} (mol)	K_{iW} (mol)
60	24.1785	1.377×10^{-4}	2.075×10^{-2}	5.331×10^{-2}	4.11×10^{-2}
70	42.4947	9.226×10^{-5}	9.092×10^{-3}	1.117×10^{-2}	2.51×10^{-2}
80	69.6516	7.018×10^{-5}	6.166×10^{-3}	6.022×10^{-3}	1.62×10^{-2}

7.4 MODELADO DE LA SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO

La característica fundamental que presenta el sistema de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol isopropílico catalizado por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada, Novozym 435, y que lo diferencia de los sistemas estudiados hasta ahora, es que la naturaleza del isopropanol. Debido a las propiedades físicas y químicas de este alcohol, el proceso de esterificación no puede llevarse a cabo en condiciones de presión reducida, puesto que dicho alcohol forma azeótropos con el agua formada en el transcurso de reacción, impidiendo así que dicho producto de reacción pueda eliminarse del medio evitando la eliminación del alcohol.

Debido a esto, el equilibrio de reacción no puede desplazarse hacia la formación de productos trabajando en condiciones de vacío. Por este motivo, el estudio de este proceso de esterificación se llevó a cabo exclusivamente en condiciones de reversibilidad; es decir a presión atmosférica.

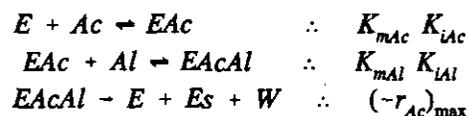
En una primera aproximación se supuso que el esquema de reacción característico del sistema vendría dado por el modelo supuesto en los casos anteriores cuando se operaba en condiciones de reversibilidad; cuya expresión matemática característica se corresponde con la ecuación [7.19]. Linealizando esta ecuación, mediante integración y sustitución del número de moles de cada especie en función de la conversión, se procedió al ajuste de los datos experimentales tiempo-conversión para las diferentes temperaturas de reacción.

Curiosamente, los parámetros estadísticos que cuantifican la bondad de los respectivos ajustes obtenidos para las diferentes series de datos comprobados, concluían en la evidencia de que el modelo supuesto no era el adecuado en ninguno de los casos.

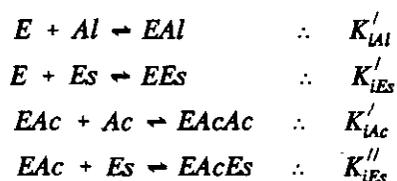
Por otra parte, los valores de las constantes de equilibrio de las reacciones, obtenidos para las tres temperaturas de reacción probadas, 65°C, 70°C y 75°C, a partir de las correspondientes conversiones de equilibrio obtenidas experimentalmente, tomaron valores de 2.8×10^2 , 1.5×10^3 y 2.5×10^5 respectivamente. Dichos valores de las constantes de equilibrio tan elevados, llevaron a pensar que la velocidad con la que se produce la reacción inversa del proceso es despreciable frente a la velocidad con que tiene lugar la reacción directa; por lo que el proceso se comporta como si de una reacción irreversible se tratase.

Dicha suposición se vio respaldada, al comprobar que los ajustes obtenidos empleando el correspondiente modelo cinético representado por la ecuación [7.26], eran lo suficientemente adecuados como para dar cuerpo a esta hipótesis. Por lo tanto, el modelo cinético supuesto en este caso fue el correspondiente a la ecuación [7.20], deducida del esquema de reacción supuesto para estas condiciones:

Etapas de Reacción:



Etapas de Inhibición:



Modelo que presenta cuatro etapas de inhibición por formación de complejos enzimáticos con el ácido oleico, alcohol isopropílico y oleato de isopropilo, y tres etapas de reacción, siendo la etapa de liberación de los productos finales de reacción, una etapa irreversible; por lo que desaparecen las constantes de Michaelis Menten e inhibición en el equilibrio de los productos de reacción.

Para calcular los parámetros cinéticos, se procedió a aplicar el método de las velocidades iniciales trabajando primero con adición de alcohol isopropílico, y después con exceso de ácido oleico. Al igual que en los casos anteriores, cuando se opera con un exceso de isopropanol, la ecuación cinética que describe el proceso viene dada por la expresión [7.21], la cual se transforma en la ecuación [7.22], cuando el exceso de isopropanol es tal que la concentración del mismo puede considerarse invariable con respecto a la concentración de ácido oleico.

En estas condiciones, se llevaron a cabo las representaciones de Lineweaver-Burk de inversa de velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de ácido, para las tres temperaturas ensayadas, obteniéndose variaciones de primer orden con respecto a la inversa del número de moles de ácido oleico, tal y como se desprende de la figura 7.19, correspondiente a las representaciones de los datos obtenidos en las reacciones realizadas a 70°C de temperatura y con un 5% de concentración inicial de catalizador.

Tomando los valores de ordenadas en el origen y pendientes obtenidos de la representación de Lineweaver-Burk, se procedió a la representación de las mismas frente al inverso del número de moles iniciales de alcohol isopropílico, obteniéndose las correspondientes rectas (figuras 7.20 y 7.21), de cuyos parámetros se obtuvieron los valores de velocidad máxima de reacción, constante de Michaelis-Menten con respecto al ácido oleico y constante de inhibición con respecto al isopropanol.

De manera análoga se analizaron los datos obtenidos, cuando el sistema operaba con un exceso de ácido oleico; llevándose a cabo las representaciones de Lineweaver-Burk para las tres temperaturas de reacción, con la inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de isopropanol, cuando la relación molar ácido/alcohol es superior a la unidad. Obteniéndose, en este caso figuras análogas a las representadas por las figuras 7.22, 7.23 y 7.24, las cuales se construyeron teniendo en cuenta los datos de las reacciones realizadas a 70°C.

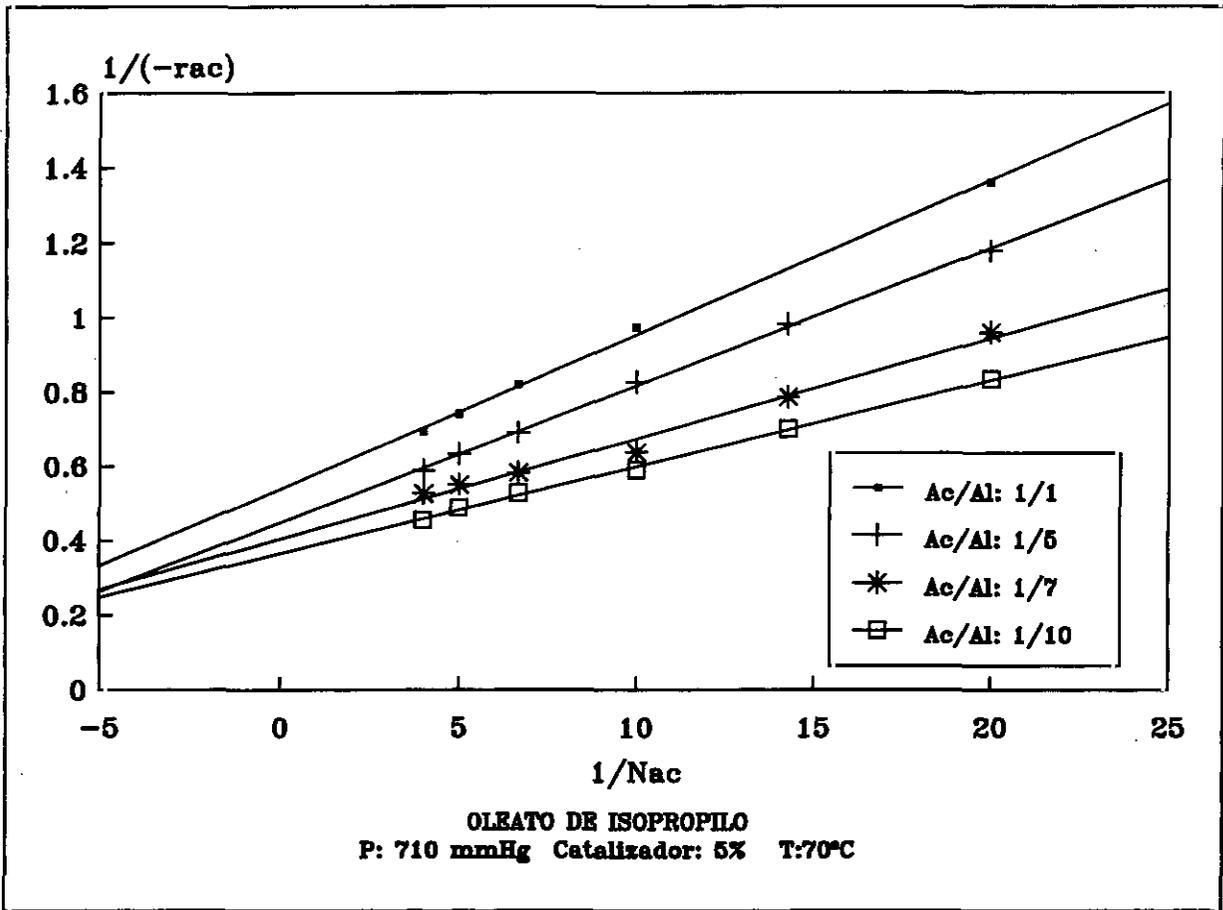


Figura 7.19 Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de isopropanol.

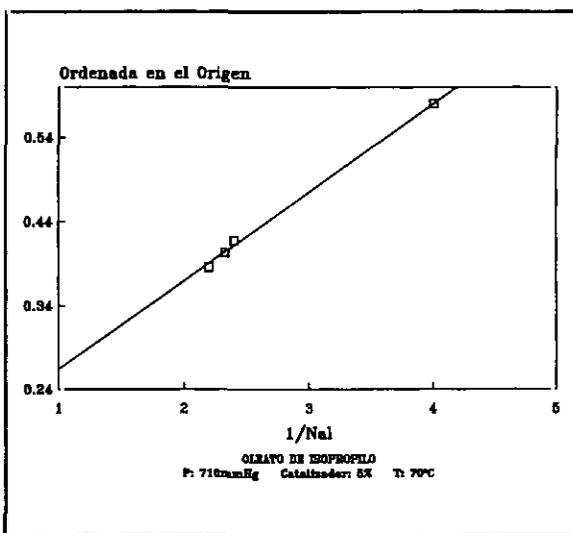


Figura 7.20. Ordenada en el origen frente $1/N_{al}$

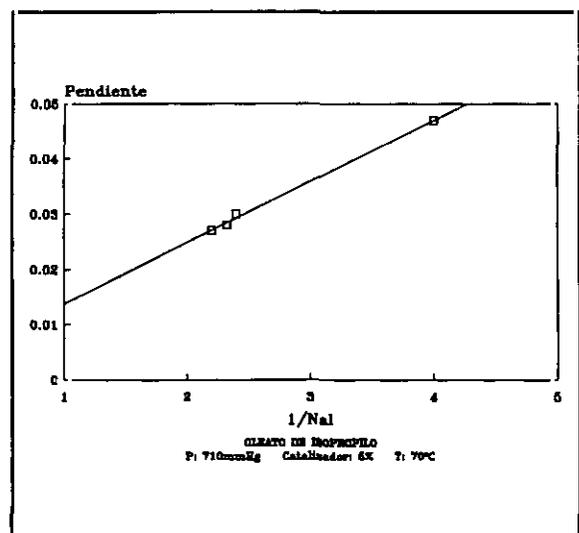


Figura 7.21. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

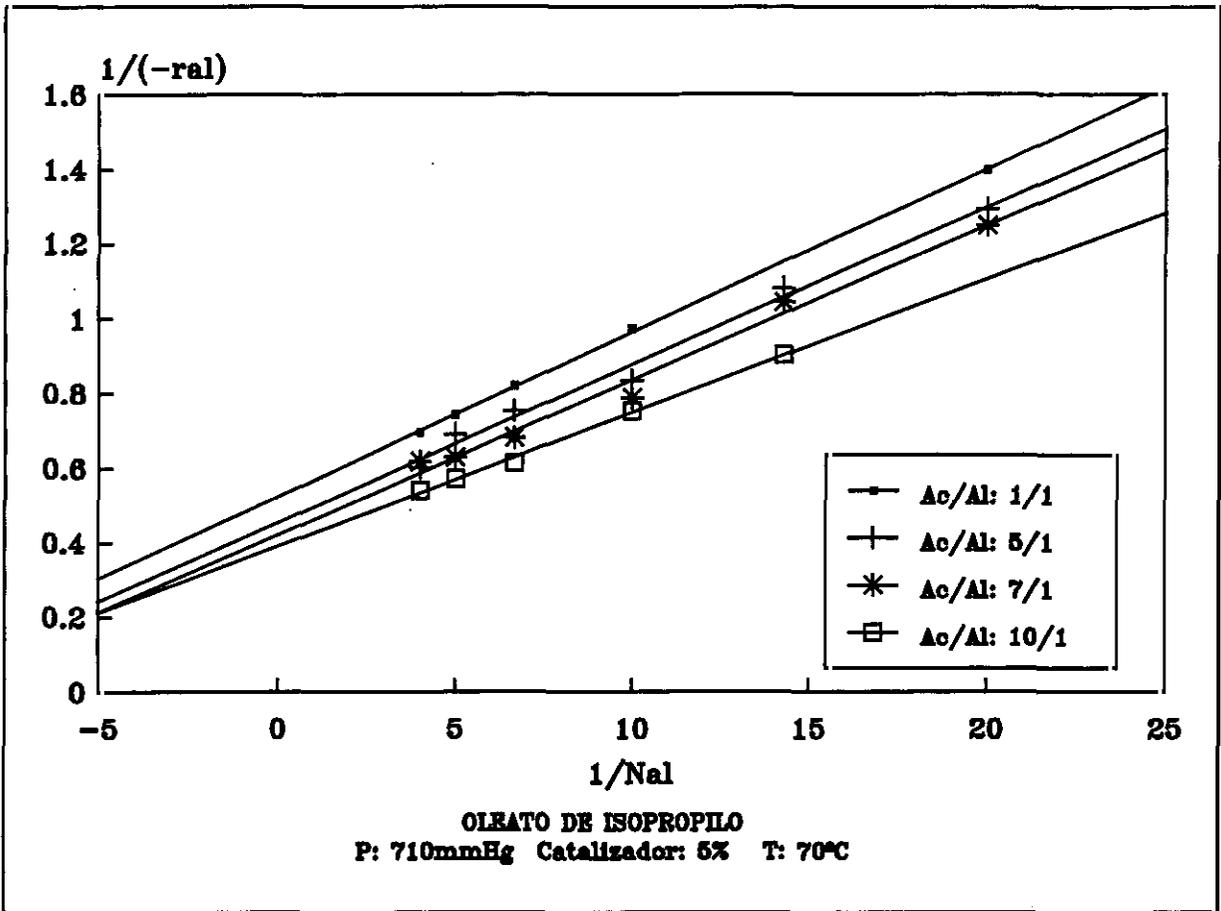


Figura 7.22. Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido oleico.

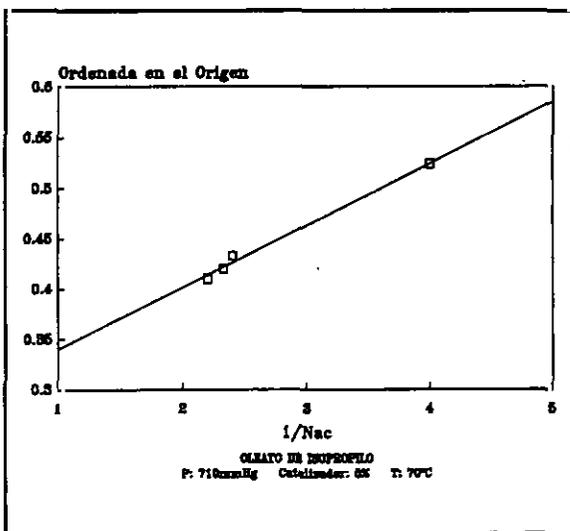


Figura 7.23. Ordenada frente a $1/N_{ac}$.

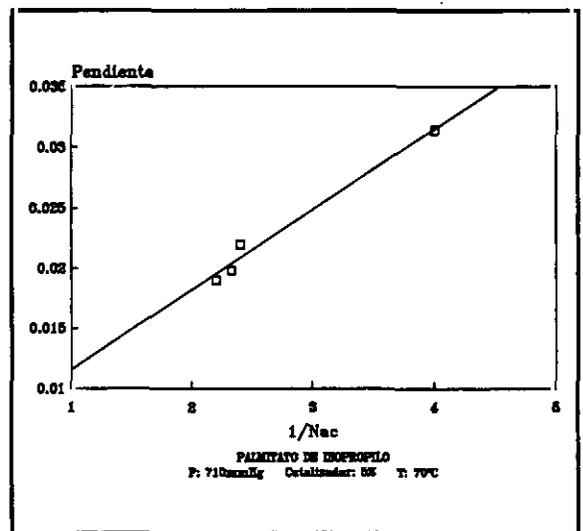


Figura 7.24. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

Teniendo en cuenta las representaciones obtenidas cuando se trabaja en exceso de ácido oleico, se obtuvieron los correspondientes parámetros cinéticos. La tabla 7.10 muestra los parámetros calculados hasta el momento, empleando el método de las velocidades iniciales. En ella puede observarse que todas las constantes disminuyen al aumentar la temperatura, excepto en el caso de la velocidad máxima de reacción, lo que indica que un aumento de la temperatura favorece la conversión de ácido en éster y dificulta la formación de complejos resultantes de las etapas de inhibición.

Tabla 7.10. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de oleato de isopropilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mAI} (mol)	K_{iAc} (mol)	K_{iAI} (mol)
65	1.57×10^{-2}	2.26×10^{-1}	1.91×10^{-1}	1.21×10^{-4}	7.18×10^{-4}
70	1.96×10^{-2}	1.62×10^{-1}	1.52×10^{-1}	7.31×10^{-5}	1.06×10^{-4}
75	2.65×10^{-2}	1.16×10^{-1}	1.27×10^{-1}	1.12×10^{-5}	6.27×10^{-5}

Las demás constantes se calcularon a partir de los parámetros obtenidos al ajustar los datos de las reacciones realizadas con una relación molar ácido oleico:isopropanol igual a la unidad, al modelo propuesto inicialmente, ecuación [7.20]. En la tabla 7.11 se recogen dichas constantes, que corresponden a las etapas de inhibición debidas a la formación de complejos enzimáticos entre la enzima libre o el complejo principal enzima-ácido oleico con los reactivos o con el producto principal de reacción.

Tabla 7.11. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de oleato de isopropilo.

TEMPERATURA (°C)	K'_{iEs} (mol)	K''_{iEs} (mol)	K'_{iAc} (mol)	K'_{iAI} (mol)
65	1.02×10^{-2}	9.12×10^{-3}	9.09×10^{-4}	1.20×10^{-1}
70	6.19×10^{-3}	5.22×10^{-3}	7.15×10^{-4}	8.12×10^{-2}
75	1.13×10^{-3}	2.18×10^{-3}	5.22×10^{-4}	6.03×10^{-2}

7.5 MODELADO DE LA SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO

La síntesis de palmitato de isopropilo vía esterificación catalítica entre el ácido palmítico e isopropanol, utilizando como catalizador comercial la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada (Novozym 435), se llevó a cabo únicamente a presión atmosférica; ya que la naturaleza del isopropanol impide operar en condiciones de vacío que permitirían la eliminación de agua en continuo y el consiguiente desplazamiento del equilibrio químico hacia la formación de productos.

Al igual que en el caso del oleato de isopropilo, en un principio se intentaron ajustar los datos de las reacciones realizadas con una relación equimolar de reactivos, empleando para ello el modelo correspondiente a una cinética reversible que considera los posibles pasos de inhibición, en su forma polinómica, descrito por la ecuación [7.26].

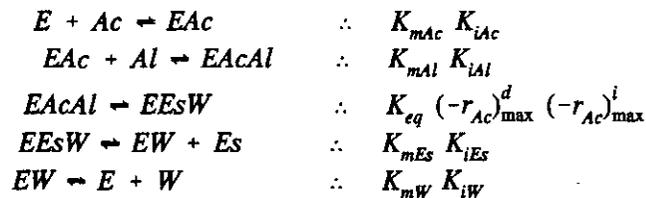
No obstante, los resultados obtenidos en este ajuste no fueron lo suficientemente satisfactorios, ya que los parámetros estadísticos resultantes de dicho ajuste indicaban una desviación importante entre los modelos obtenidos y los valores experimentales. Por este motivo, se modificó la ecuación de partida, mediante la eliminación de algunos de sus términos, haciendo los coeficientes que los acompañaban igual a cero.

Tras sucesivas comprobaciones, se llegó a la conclusión de que uno de los términos del modelo debía ser despreciable frente a los demás para que los datos experimentales verificasen la ecuación. El término despreciable en este caso fue el que acompaña al coeficiente ϵ , lo que indica que el modelo cinético planteado no es válido para este sistema de esterificación, debiendo ser modificado el esquema de reacción planteado en un principio. Según este planteamiento, habría que comprobar las etapas supuestas, para conocer a que parámetros es debido el término despreciable en el modelo cinético general.

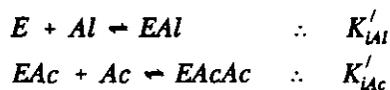
Dicho término de integración, es debido a las etapas de inhibición que tienen en cuenta la formación de los complejos enzima-éster y ácido-enzima-éster. Por lo tanto habrá que considerar que esas etapas no se verifican en el seno de la reacción o que, al menos, son despreciables frente a las otras etapas consideradas en el esquema de reacción.

Teniendo esto en cuenta, el esquema de reacción se vería modificado con respecto al esquema general supuesto al principio de este capítulo, quedando de la siguiente manera:

Etapas de reacción:



Etapas de Inhibición:



La desaparición de dichas etapas de inhibición es debida a la fuerte afinidad de los reactivos tanto por la enzima libre y como por el complejo enzima-ácido, lo que demuestra una vez más que el tipo de inhibición que tiene lugar en el proceso corresponde a un fenómeno de inhibición competitiva.

Según esto, en la competición por la formación de complejos con la enzima libre, debido a la naturaleza de las especies presentes en el medio, se ve favorecida la formación de complejos con los reactivos, por lo que el modelo cinético que corresponde a este esquema de reacción vendrá dado por la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned}
 (-r_{Ac}) = & \frac{(-r_{Ac})^d (-r_{Ac})^i (N_{Ac} N_{Al} - \frac{N_{Es} N_W}{K_{eq}})}{(-r_{Ac})^i K_{iAc} K_{mAl} (1 + \frac{N_{Al}}{K_{iAl}}) + (-r_{Ac})^i K_{mAl} N_{Ac} (1 + \frac{N_{Ac}}{K'_{iAc}}) +} \\
 & + (-r_{Ac})^i K_{mAc} N_{Al} (1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}}) + \frac{(-r_{Ac})^d K_{mW} N_{Es}}{K_{eq}} + \\
 & + \frac{(-r_{Ac})^d K_{mEs} N_W}{K_{eq}} + (-r_{Ac})^i N_{Ac} N_{Al} + \\
 & + \frac{(-r_{Ac})^d K_{mW} N_{Ac} N_{Es}}{K_{eq} K_{iAc}} + \frac{(-r_{Ac})^d N_{Es} N_W}{K_{eq}} + \\
 & + \frac{(-r_{Ac})^i K_{mAc} N_{Al} N_W}{K_{iW}} + \frac{(-r_{Ac})^i N_{Ac} N_{Al} N_{Es}}{K_{iEs}} + \\
 & + \frac{(-r_{Ac})^d N_{Al} N_{Es} N_W}{K_{iAl} K_{eq}}
 \end{aligned} \tag{7.28}$$

Una vez determinado el modelo cinético, se procedió al cálculo de los diferentes parámetros que integran el mismo. Para ello se aplicó, como en casos anteriores, el método de las velocidades iniciales, haciendo que el sistema se aproxime a un comportamiento de primer orden en ausencia de productos.

Para ello, en primer lugar se tuvieron en cuenta las reacciones realizadas con exceso de isopropanol, llevándose a cabo las correspondientes representaciones de Lineweaver-Burk de la inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de ácido palmítico. La ecuación [7.21], será la expresión que describe el sistema en estas condiciones, transformándose en la ecuación lineal [7.29] para dichas representaciones, donde el número de moles de isopropanol se considera constante en estas condiciones de operación.

$$\frac{1}{(-r_{Ac})} = \frac{K_{mAc}}{(-r_{Ac})_{max}} (1 + \frac{K_{iAc} K_{mAl}}{K_{mAc} N_{Al}}) \frac{1}{N_{Ac}} + \frac{1}{(-r_{Ac})_{max}} (1 + \frac{K_{mAl}}{N_{Al}}) \tag{7.29}$$

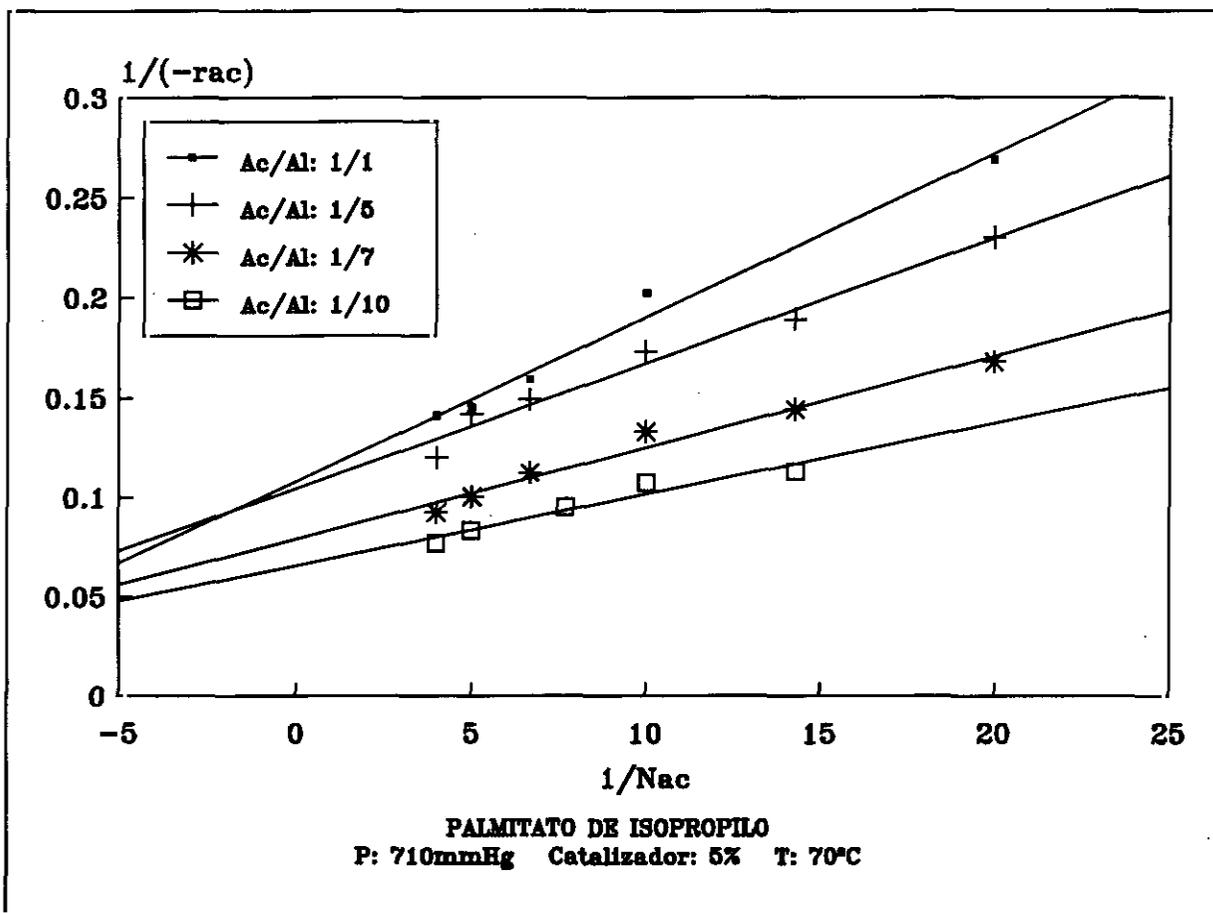


Figura 7.25 Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de isopropanol.

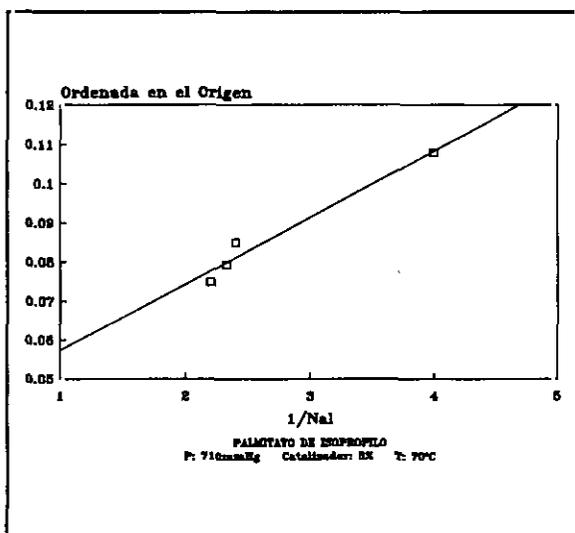


Figura 7.26. Ordenada en el origen frente $1/N_{al}$

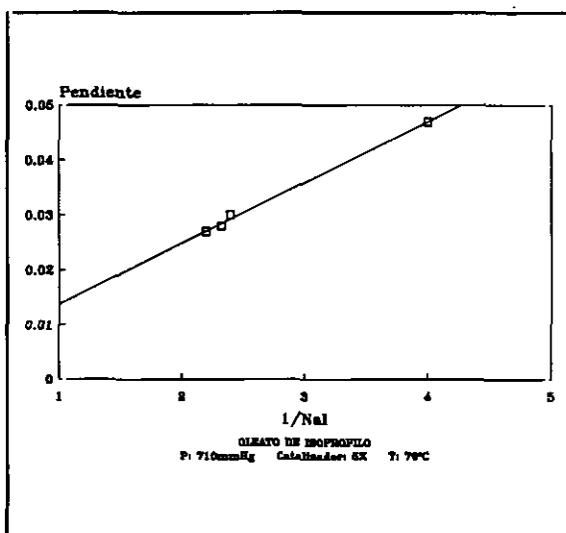


Figura 7.27. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

En la figura 7.25 se muestran las representaciones correspondientes a un exceso de isopropanol, cuando la temperatura de operación es de 70°C. Representando, por una parte, las diferentes ordenadas en el origen frente a la inversa del número de moles iniciales de isopropanol y, por otra, las diferentes pendientes frente a la misma variable, se obtuvieron los gráficos que se muestran en las figuras 7.26 y 7.27. De la ordenada en el origen y la pendiente de esas dos representaciones se obtuvieron las correspondientes constantes cinéticas: velocidad máxima de reacción, constante de Michaelis-Menten con respecto al ácido palmítico y constante de inhibición con respecto al isopropanol.

Operando de forma análoga con los datos obtenidos cuando la reacción se lleva a cabo en exceso de ácido palmítico, se llevaron a cabo las representaciones de Lineweaver-Burk de inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa del número de moles de isopropanol presentes en el medio de reacción (figura 7.28). En este caso la ecuación que define el sistema será la [7.23], la cual transformada en su forma lineal se convierte en la ecuación [7.31].

$$\frac{1}{(-r_{Al})} = \frac{K_{mAl}}{(-r_{Al})_{\max}} \left(1 + \frac{K_{iAl}K_{mAc}}{K_{mAl}N_{Ac}}\right) \frac{1}{N_{Al}} + \frac{1}{(-r_{Al})_{\max}} \left(1 + \frac{K_{mAc}}{N_{Ac}}\right) \quad [7.30]$$

Tomando las ordenadas y pendientes de estas rectas se llevaron a cabo las correspondientes representaciones frente a la inversa de la concentración inicial de ácido palmítico, obteniéndose los gráficos que se muestran en las figuras 7.29 y 7.30; las cuales responden a las ecuaciones [7.31] y [7.32].

$$ORDENADA = \frac{1}{(-r_{Al})_{\max}} + \frac{K_{mAc}-1}{(-r_{al})_{\max} N_{Ac}} \quad [7.31]$$

$$PENDIENTE = \frac{K_{mAl}}{(-r_{Al})_{\max}} + \frac{K_{iAl}K_{mAc}}{(-r_{al})_{\max} N_{Ac}} \frac{1}{N_{Ac}} \quad [7.32]$$

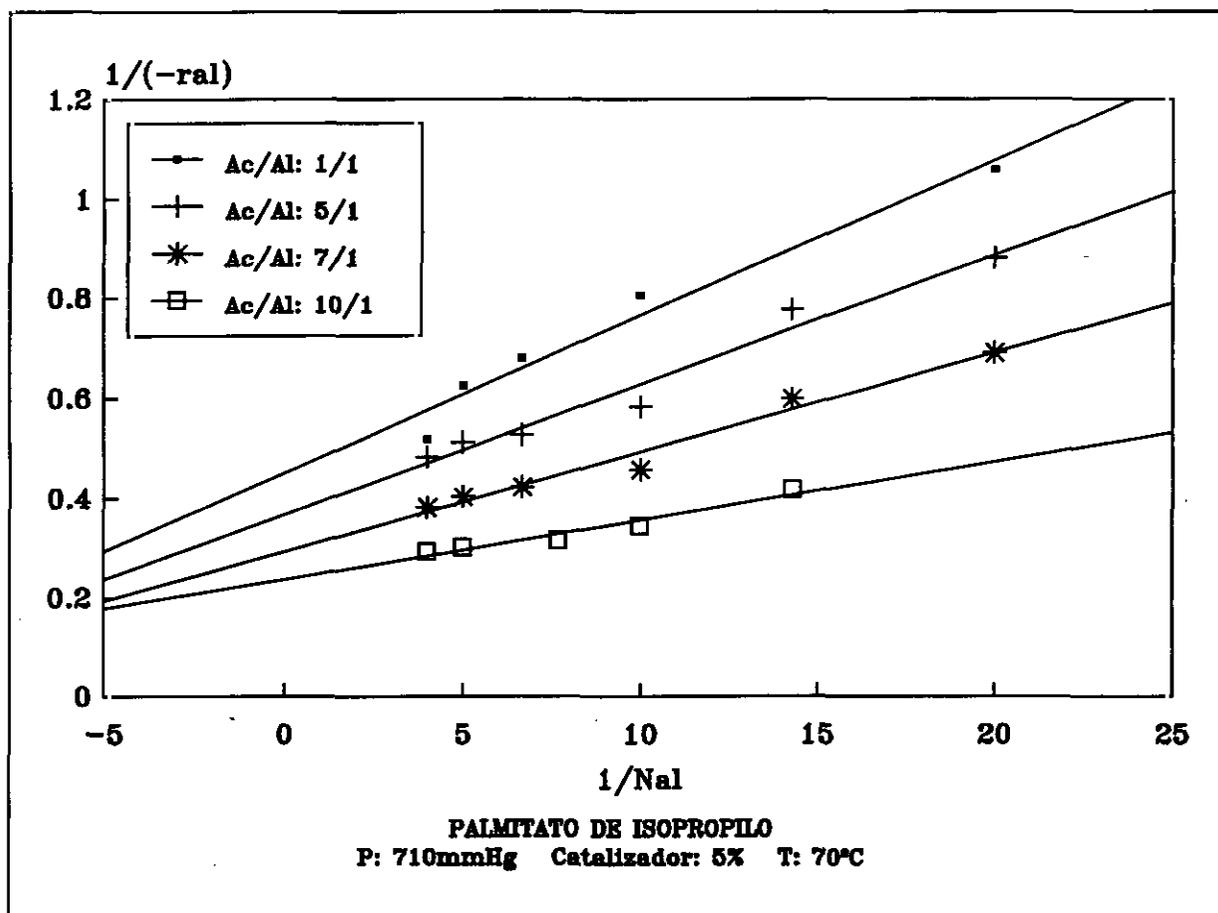


Figura 7.28 Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido palmítico.

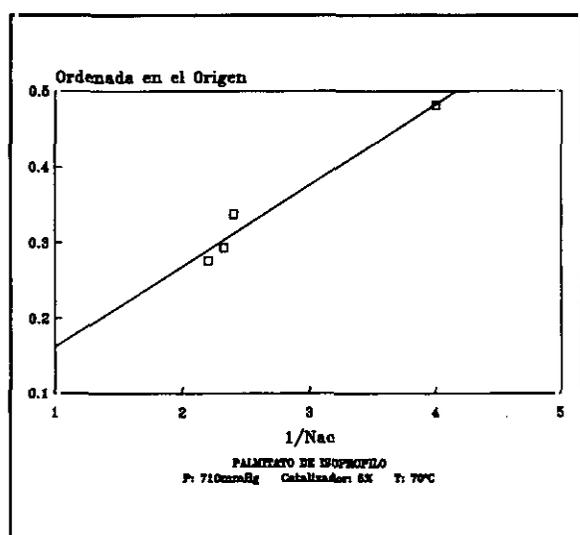


Figura 7.29. Ordenada en el origen frente $1/N_{ac}$

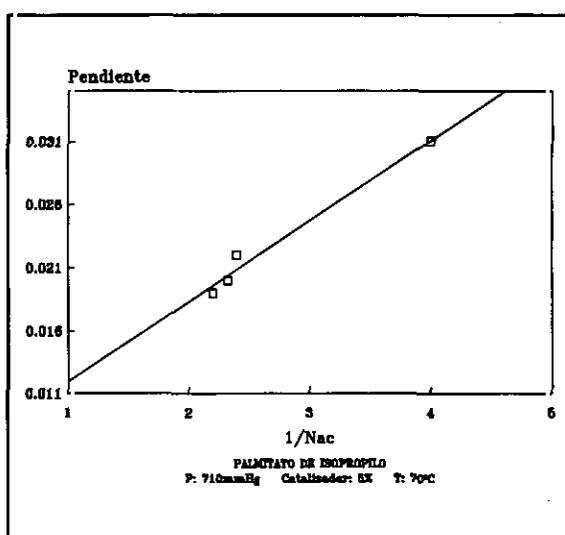


Figura 7.30. Pendiente frente a $1/N_{ac}$.

En la tabla 7.12 se muestran los parámetros cinéticos calculados hasta ahora, empleando para ello el método de las velocidades iniciales cuando se trabaja bien en exceso de ácido palmítico, bien en exceso de isopropanol.

Tabla 7.12. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de palmitato de isopropilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mA1} (mol)	K_{IAc} (mol)	K_{IA1} (mol)
65	6.21×10^{-3}	8.51×10^{-2}	2.07×10^{-1}	1.62×10^{-2}	4.16×10^{-4}
70	8.75×10^{-3}	5.12×10^{-2}	1.62×10^{-1}	1.30×10^{-2}	9.92×10^{-5}
75	1.02×10^{-2}	8.51×10^{-2}	1.31×10^{-1}	1.08×10^{-2}	6.62×10^{-5}

Las demás constantes se calcularon linealizando la ecuación [7.28], para lo cual se sustituyeron las variables de número de moles en función de la conversión de ácido palmítico en palmitato de isopropilo y se procedió a la integración de dicha ecuación de velocidad, llegándose a una ecuación en función del tiempo y de la conversión [7.33], cuyos coeficientes se muestran en la ecuación [7.34].

$$\begin{aligned}
 t = & \theta \ln(X_{Ac}^2(K_{eq} - 1) - 2K_{eq}X_{Ac} + K_{eq}) + \\
 & + \omega \ln \frac{(\sqrt{K_{eq}} - 1)}{(\sqrt{K_{eq}} + 1)} + \xi \ln K_{eq} + \lambda X_{Ac}
 \end{aligned}
 \tag{7.33}$$

Sustituyendo los datos experimentales tiempo-conversión en dicho modelo, y aplicando un método numérico de regresión múltiple en primer lugar y regresión no lineal después se llegó a obtener los coeficientes de dicho modelo para las diferentes temperaturas de reacción, y empleando diferentes concentraciones iniciales de catalizador. A partir de dichos coeficientes y teniendo en cuenta los

calculados anteriormente, se obtuvieron los valores de las constantes cinéticas. En la tabla 7.13 se muestran dichos valores para las diferentes temperaturas de reacción.

Tabla 7.13. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de palmitato de isopropilo.

T (°C)	K _{eq}	K' _{IAc} (mol)	K' _{IAI} (mol)	K _{mEs} (mol)	K _{mW} (mol)	K _{IEs} (mol)	K _{IW} (mol)
65	2.1584	1.30x10 ⁻³	1.62x10 ⁻¹	9.36x10 ⁻⁵	7.19x10 ⁻³	6.31x10 ⁻⁵	3.17x10 ⁻²
70	3.3011	9.59x10 ⁻⁴	1.31x10 ⁻¹	6.09x10 ⁻⁵	4.21x10 ⁻³	3.47x10 ⁻⁵	1.92x10 ⁻²
75	6.3561	7.02x10 ⁻⁴	9.27x10 ⁻²	9.10x10 ⁻⁶	1.17x10 ⁻³	1.92x10 ⁻⁵	1.01x10 ⁻²

$$\begin{aligned}
 \theta &= - \frac{\sqrt{K_{eq}} K_{eq} (-r_{Ac})^i K_{IEs} K_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} (K_{IEs} + N_{AcO}) + K_{IEs} K_{mAI} (K_{IW} + N_{AcO}))}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)} - \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}} (-r_{Ac})^i_{max} K_{eq} K_{IAI} K_{mAc} K_{IW} (K_{IAI} (K_{IEs} - N_{AcO}) + K_{IAI} K_{IEs} (K_{mAI} N_{AcO} - (K_{IW} (K_{mAI} + 2N_{AcO}))))}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)} \\
 \lambda &= \frac{(-r_{Ac})^d_{max} K_{IEs} K_{IW} (K'_{IAI} + K_{mW}) - K_{eq} (-r_{Ac})^i_{max} (K_{mAc} K_{IW} K_{IAI} + K_{IEs} K_{IAI} (K_{mAI} - K_{IW}))}{(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} (K_{eq} - 1)} \\
 \xi &= \frac{\sqrt{K_{eq}} (-r_{Ac})^i_{max} K_{IEs} K_{IW} (K_{mAc} (K_{IAI} + N_{AcO}) + K_{IAI} (K_{mAI} + N_{AcO})) - K_{eq} (K_{mAc} K_{IW} K'_{IAI} - K_{IEs} N_{AcO})}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)^2} \quad [7.34] \\
 &- \frac{\sqrt{K_{eq}} (-r_{Ac})^i_{max} K_{eq} K_{IAI} K_{IEs} (K_{IW} (K_{mAI} - N_{AcO}) + 2K_{mAI} N_{AcO})}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)^2} \\
 \omega &= \frac{K_{eq} (-r_{Ac})^i_{max} K_{eq} K'_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} + K_{IEs} K_{mAI} (K_{IW} + N_{AcO}))}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)^2} - \\
 &- \frac{K_{eq} (-r_{Ac})^i_{max} (K_{eq} K_{IAI} (K_{mAc} K_{IW} K_{IAI} (K_{IEs} - N_{AcO})) - K_{IAI} K_{IEs} (K_{mAI} N_{AcO} - K_{IW} (K_{mAI} + 2N_{AcO})))}{2(-r_{Ac})^d_{max} K_{IAI} K_{IEs} K_{IW} (-r_{Ac})^i_{max} N_{AcO} (K_{eq} - 1)^2}
 \end{aligned}$$

7.6 MODELADO DE LA SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

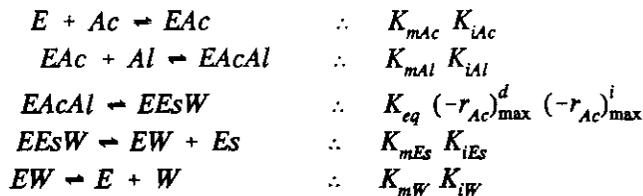
En el caso de la reacción de esterificación entre el ácido 2-metil-butírico y el alcohol oleico, empleando el catalizador comercial Novozym 435, constituido por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada, el hecho de que las propiedades de las especies presentes en el medio de reacción permitan trabajar en condiciones de vacío, desplazando así el equilibrio hacia la formación de productos por eliminación de agua en continuo, hacen posible el estudio cinético del sistema tanto en condiciones de reversibilidad como de irreversibilidad.

El estudio cinético de este sistema se llevó a cabo de forma análoga al anterior. Así, en un principio se tomaron los datos correspondientes a las reacciones de esterificación con relación equimolar de reactivos, realizadas a presión atmosférica y en los tres niveles del intervalo de temperaturas, y se procedió a operar con ellos para ver si verificaban el modelo global representado por la ecuación [7.19]. Los parámetros estadísticos, así como los índices de correlación de los ajustes realizados, denotaban que el modelo propuesto no era adecuado para correlacionar los datos experimentales; produciéndose una situación similar a la obtenida en el caso del tratamiento matemático de los resultados experimentales obtenidos en la síntesis de palmitato de isopropilo.

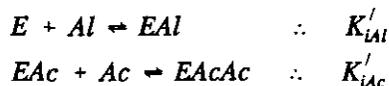
Por esta razón, el esquema de reacción se modificó de forma análoga, suponiendo que las dos etapas de inhibición que tienen en cuenta la formación de complejos enzimáticos secundarios con el éster formado en el transcurso de la reacción, eran etapas despreciables; considerándose que la inhibición competitiva esta favorecida respecto de la formación de complejos en la que intervienen las especies reactivas de partida, ácido 2-metil-butírico y alcohol oleico.

Por tanto, el mecanismo de reacción se verá modificado como se muestra a continuación, respondiendo al modelo definido por la ecuación [7.33]

Etapas de reacción:



Etapas de Inhibición:



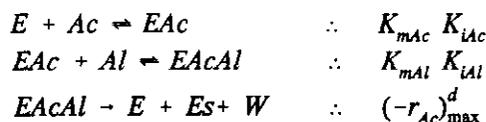
Aprovechando la posibilidad de poder operar en condiciones de irreversibilidad, se procedió a valorar cinéticamente el sistema en estas condiciones, por cuanto que la obtención de parámetros cinéticos se simplifica bastante en comparación con el análisis de las reacciones realizadas a presión atmosférica.

7.6.1 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE IRREVERSIBILIDAD

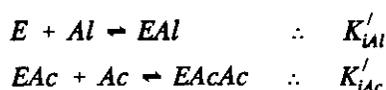
Cuando se fuerza al sistema a trabajar en condiciones de presión reducida, el mecanismo de reacción se verá modificado, en el sentido de que la concentración de agua presente en el medio será nula y, por tanto, los términos debidos a las posibles etapas que constituyen la reacción de hidrólisis desaparecen del mecanismo.

Por otra parte, ya se ha comentado anteriormente que el mecanismo de reacción, en cuanto a las etapas de inhibición competitiva debidas a la formación de complejos, se verá modificado, ya que dos de estas etapas, bien no son representativas dentro del sistema, bien no tienen lugar debido a que tanto las especies constituidas por la enzima libre, como las correspondientes al complejo enzima-ácido, presentan una mayor reactividad hacia la formación de nuevos complejos con los reactivos presentes en el medio de reacción; siendo el esquema de reacción el que se muestra a continuación.

Etapas de reacción:



Etapas de Inhibición:



Teniendo en cuenta, el nuevo esquema de reacción propuesto, la ecuación de velocidad de reacción, característica del sistema en condiciones de irreversibilidad, adquirirá la forma siguiente:

$$\begin{aligned}
 (-r_{Ac}) = \frac{(-r_{Ac})_{\max}^d N_{Ac} N_{Al}}{K_{iAc} K_{mAl} \left(1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}}\right) + K_{mAl} N_{Ac} \left(1 + \frac{N_{Ac}}{K'_{iAc}}\right) + K_{mAc} N_{Al} \left(1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}}\right) + N_{Ac} N_{Al}}
 \end{aligned} \tag{7.35}$$

Cuando se trabaja con un exceso de ácido o con un exceso alcohol, tales que la concentración de uno de los dos sea tan elevada que pueda considerarse infinita con respecto a la del reactivo en defecto, la ecuación se simplifica, transformándose en la [7.36] para un exceso de alcohol y en la ecuación [7.38] para un exceso de ácido.

$$(-r_{Ac}) = \frac{N_{Ac}}{K_{mAc} \left(1 + \frac{K_{iAc} K_{mAl}}{K_{mAc} N_{Al}}\right) + N_{Ac} \left(1 + \frac{K_{mAl}}{N_{Al}}\right)} \tag{7.36}$$

Cuando la concentración de alcohol en exceso tiende a infinito, la expresión se transforma en:

$$(-r_{Ac}) = \frac{N_{Ac}}{K_{mAc} + N_{Ac}} \tag{7.37}$$

Análogamente para un exceso de ácido:

$$(-r_{Al}) = \frac{N_{Al}}{K_{mAl} \left(1 + \frac{K_{iAc}}{N_{Ac}}\right) + N_{Al} \left(1 + \frac{K_{mAc}}{N_{Ac}}\right)} \tag{7.38}$$

Cuando la concentración de ácido en exceso tiende a infinito, la expresión se transforma en:

$$(-r_{Al}) = \frac{N_{Al}}{K_{mAl} + N_{Al}} \quad [7.39]$$

A partir de los resultados experimentales obtenidos cuando se opera a una presión de 60mmHg, y teniendo en cuenta la forma matemática de las ecuaciones obtenidas, empleando el método de las velocidades iniciales, se llevaron a cabo las representaciones de Lineweaver-Burk de los datos inversa de la concentración del reactivo en defecto frente a la inversa de la velocidad de reacción, tomando como variable independiente la concentración de reactivo en exceso. Dichas representaciones se llevaron a cabo, fijando la concentración inicial de catalizador en un 5%, para las tres temperaturas de reacción que determinan nuestro intervalo de operación.

Así en la figura 7.31 pueden observarse las representaciones de Lineweaver-Burk a 70°C de temperatura, variando el número de moles en exceso de alcohol oleico. Como en los casos anteriores, se obtienen variaciones lineales de la inversa de la velocidad de reacción con respecto a la inversa del número de moles de ácido 2-metil-butírico.

A partir de los parámetros obtenidos de las referidas rectas, se realizaron las representaciones de ordenada en el origen y pendiente frente a la inversa del número de moles iniciales de alcohol oleico, obteniéndose dos rectas, de cuyos parámetros se obtuvieron algunas de las constantes cinéticas, como son la velocidad máxima de reacción, la constante de Michaelis-Menten con respecto al ácido 2-metil-butírico y la constante de inhibición respecto del alcohol oleico.

Dichas representaciones gráficas son similares para las tres temperaturas de reacción ensayadas. A modo de ejemplo, en las figuras 7.32 y 7.33 se muestran las correspondientes a 70°C, en las que puede observarse la tendencia lineal de los datos.

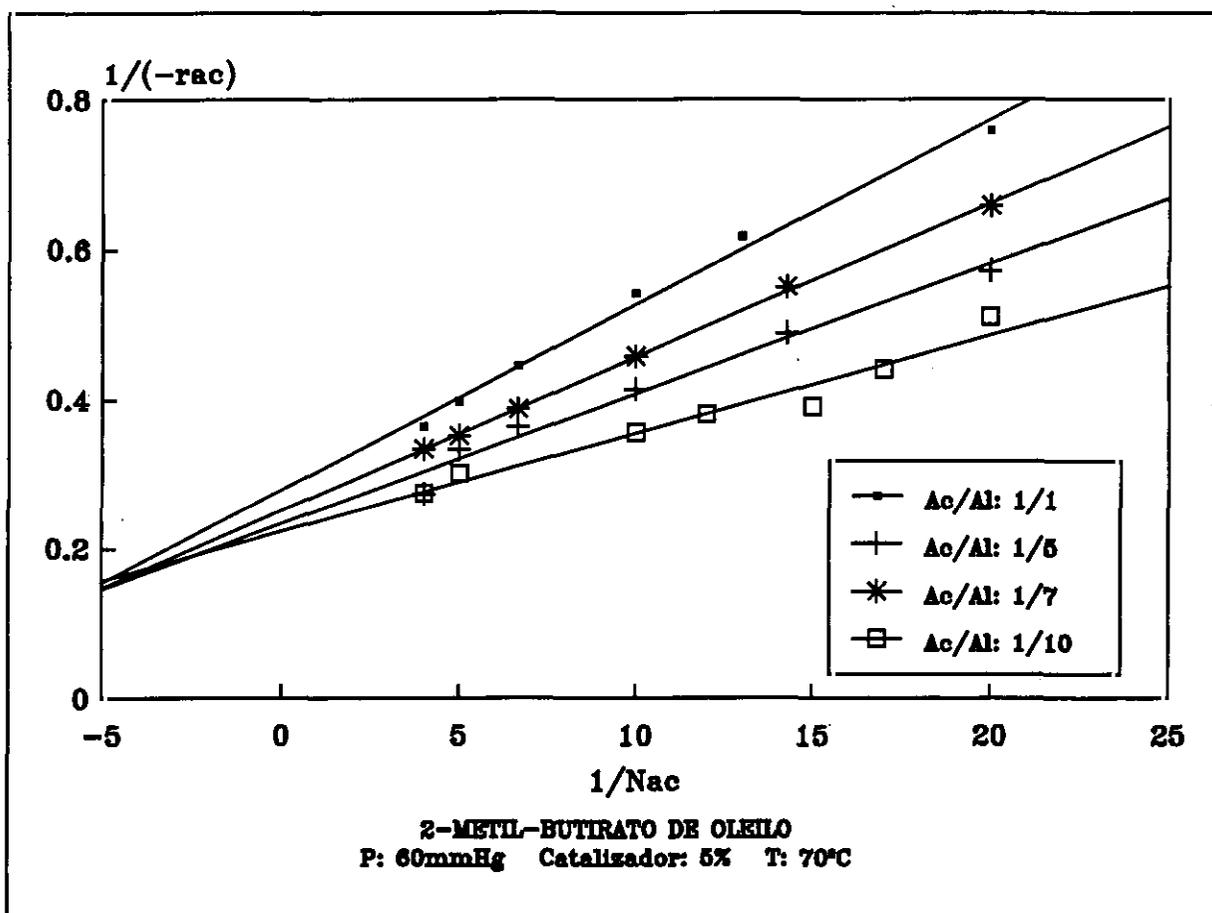


Figura 7.31. Representación $1/(-r_{ac})$ frente a $1/N_{ac}$. Exceso de alcohol oleico.

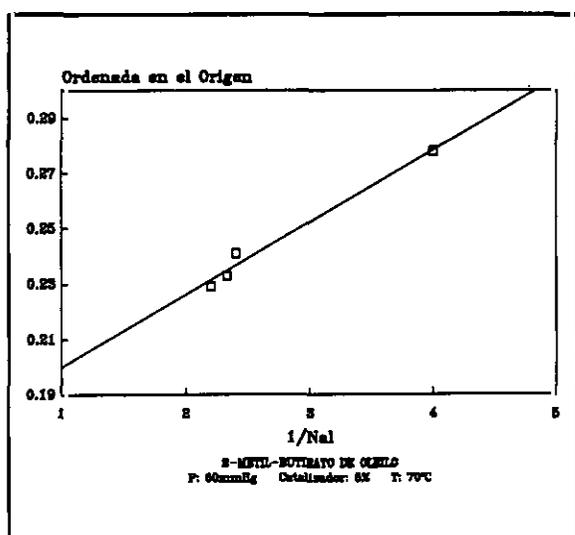


Figura 7.32. Ordenada en el origen frente $1/N_{al}$

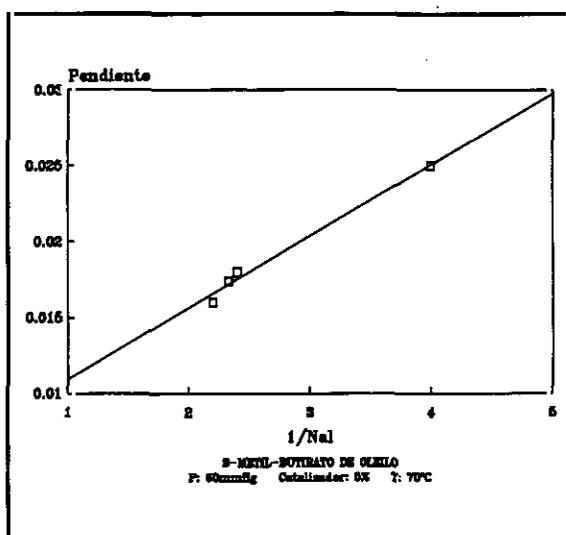


Figura 7.33. Pendiente frente a $1/N_{al}$.

El mismo tratamiento se siguió para los datos procedentes de las reacciones realizadas con adición de ácido 2-metil-butírico, solo que en este caso las representaciones de Lineweaver-Burk se construyeron teniendo en cuenta la inversa del número de moles de alcohol oleico, mientras que las representaciones de ordenadas en el origen y pendientes se hicieron frente a la inversa del número de moles de ácido 2-metil-butírico (ver figuras 7.34, 7.35 y 7.36).

Los valores de las constantes obtenidas empleando el método de las velocidades iniciales, cuando el sistema opera en condiciones de irreversibilidad, se muestran en la tabla 7.14 para los tres niveles que definen el intervalo de temperaturas fijado en este estudio.

Tabla 7.14. Parámetros cinéticos experimentales para la síntesis de 2-metil-butirato de oleilo.

TEMPERATURA (°C)	$(-r_{Ac})_{max}/W$ (mol/min.g)	K_{mAc} (mol)	K_{mAl} (mol)	K_{iAc} (mol)	K_{iAl} (mol)
60	2.07×10^{-2}	2.52×10^{-1}	1.53×10^{-1}	5.16×10^{-4}	1.19×10^{-3}
70	2.28×10^{-2}	1.97×10^{-1}	1.13×10^{-1}	1.75×10^{-4}	7.26×10^{-4}
80	2.59×10^{-2}	1.43×10^{-1}	9.70×10^{-2}	5.25×10^{-5}	3.97×10^{-4}

El modelo cinético propuesto para el sistema que opera en condiciones de irreversibilidad, se completó mediante el cálculo de las demás constantes cinéticas, para lo cual se procedió a linealizar la ecuación [7.35], obteniéndose un modelo con cuatro coeficientes que agrupan las constantes cinéticas involucradas en el esquema de reacción planteado, que viene dado por la ecuación [7.40], y que relaciona el tiempo de reacción con la conversión en 2-metil-butirato de oleilo, teniendo en cuenta las etapas descritas en los pasos de inhibición.

$$t = \alpha + \beta X_{Ac} + \gamma L n \frac{1}{(1-X_{Ac})} + \delta \frac{1}{(1-X_{Ac})} \quad [7.40]$$

Donde los coeficientes que acompañan a cada uno de los términos de dicho modelo, se detallan en la ecuación [7.41].

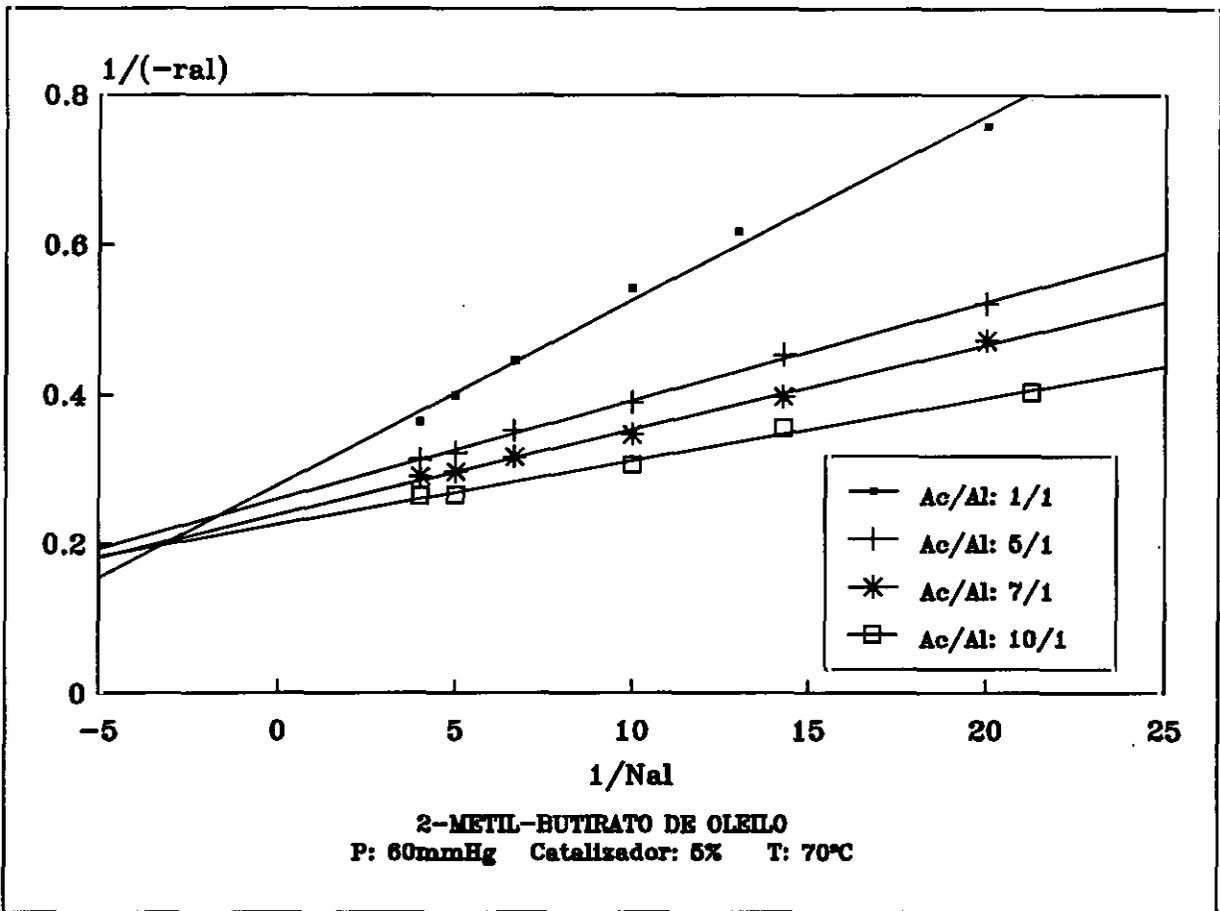


Figura 7.34 Representación $1/(-r_{al})$ frente a $1/N_{al}$. Exceso de ácido 2-metil-butírico.

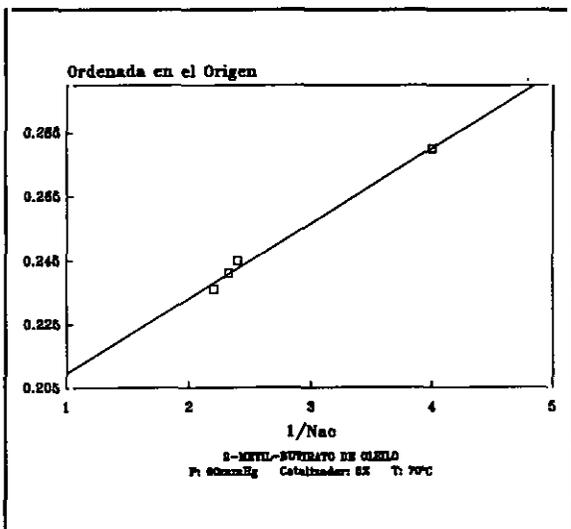


Figura 7.35. Ordenada en el origen frente $1/N_{ac}$

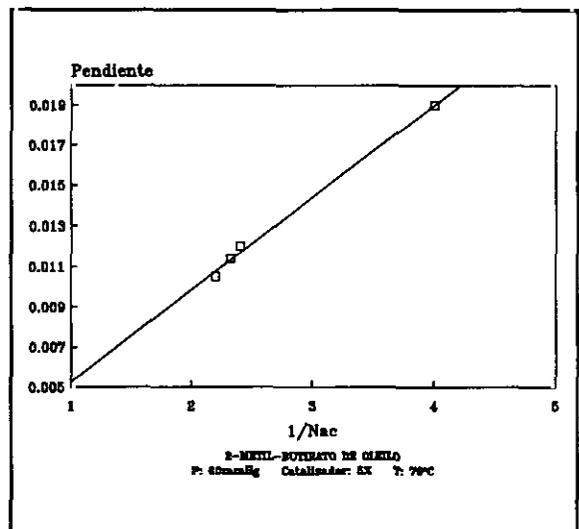


Figura 7.36. Pendiente frente a $1/N_{ac}$.

$$\begin{aligned}
 \alpha &= -\frac{K_{iAc}K_{mAl}}{N_{Ac0}(-r_{Ac})_{\max}} \\
 \beta &= \frac{N_{Ac0}}{(-r_{Ac})_{\max}} + \frac{K_{mAc}N_{Ac0}}{K_{iAl}(-r_{Ac})_{\max}} \\
 \gamma &= \frac{K_{mAc}}{(-r_{Ac})_{\max}} + \frac{K_{mAl}}{(-r_{Ac})_{\max}} - \frac{K'_{iAc}K_{mAl}}{K'_{iAl}(-r_{Ac})_{\max}} \\
 \delta &= \frac{K'_{iAc}K_{mAl}}{N_{Ac0}(-r_{Ac})_{\max}}
 \end{aligned}
 \tag{7.41}$$

La solución del modelo se llevó a cabo ajustando los datos tiempo-conversión obtenidos para las tres temperaturas de reacción, operando a presión reducida y con una relación equimolar de reactivos, e introduciendo en las expresiones de los coeficientes las constantes cinéticas obtenidas al operar en exceso de reactivos. Para ello se emplearon métodos de cálculo numérico basados en los algoritmos de mínimos cuadrados y Marquardt informatizados.

La tabla 7.15 recoge los valores de las constantes cinéticas calculadas, para las diferentes temperaturas que cubren nuestro intervalo de operación. En ella puede observarse, que los fenómenos de inhibición se ven favorecidos con una disminución de la temperatura.

Tabla 7.15. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de 2-metil-butirato de oleilo.

TEMPERATURA (°C)	K'_{iAc} (mol)	K'_{iAl} (mol)
60	2.08×10^{-3}	8.26×10^{-3}
70	9.67×10^{-4}	4.92×10^{-3}
80	7.21×10^{-4}	1.23×10^{-3}

7.6.2 ESTUDIO DEL SISTEMA EN CONDICIONES DE REVERSIBILIDAD

Empleando los datos experimentales de las reacciones realizadas a presión atmosférica, y teniendo en cuenta los parámetros cinéticos calculados cuando el sistema opera en condiciones de irreversibilidad, se procedió a dar solución al modelo cinético completo representado por la ecuación [7.33], deducida a partir del esquema de reacción supuesto al principio del punto 7.6.

Sustituyendo en dicho modelo cinético, el número de moles de las diferentes especies presentes en el medio por sus correspondientes valores en función de la conversión en éster, e integrando dicha expresión con respecto de la conversión, se obtiene una ecuación que relaciona el tiempo de reacción con la conversión existente en el medio de reacción. Reorganizando los términos de dicha expresión se obtiene un modelo, que viene representado por la ecuación [7.33], que consta de cuatro términos, de los cuales, dos de ellos son constantes a lo largo del tiempo de reacción.

Resolviendo el sistema de ecuaciones que se plantea al igualar las expresiones que determinan los coeficientes con su valor calculado, se obtienen los valores de las constantes cinéticas que completan el estudio del esquema de reacción global, junto con las correspondientes etapas de inhibición. La tabla 7.16 recoge los valores así obtenidos.

Tabla 7.16. Parámetros para la síntesis de 2-metil-butirato de oleilo a presión atmosférica.

TEMPERATURA (°C)	K_{eq}	K_{mEs} (mol)	K_{mw} (mol)	K_{iEs} (mol)	K_{iw} (mol)
70	3.4795	1.709×10^{-4}	1.502×10^{-2}	9.589×10^{-3}	4.72×10^{-2}
75	5.2915	1.425×10^{-4}	1.182×10^{-2}	6.317×10^{-3}	2.46×10^{-2}
80	12.7179	1.079×10^{-4}	8.093×10^{-3}	1.196×10^{-3}	1.75×10^{-2}

7.7 EFECTO DE LA TEMPERATURA

El estudio termodinámico de los diferentes sistemas de esterificación plateados, un conocimiento de los cambios energéticos que tienen lugar en la reacción, así como de las condiciones en las que se alcanza el equilibrio; siendo la temperatura, desde este punto de vista, el parámetro que juega uno de los papeles fundamentales, si no el más importante.

Será, pues, de gran interés conocer algunos de los parámetros termodinámicos involucrados en el cambio energético del sistema, como son la *Energía Libre de Gibbs*, la *Entalpía de reacción*, la *Entropía* y la *Energía de activación*.

El cambio de energía libre standard de reacción, vendrá dado por la expresión [7.42], en relación a la constante de equilibrio, mientras que su relación con el cambio de entalpía standard y con la variación de entropía standard, vendrá dada por la ecuación [7.43].

$$\Delta G^0 = -2.3RT \log K_{eq} \quad [7.42]$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad [7.43]$$

Combinando ambas ecuaciones se obtiene la ecuación [7.44], a partir de la cual se pueden obtener los parámetros característicos, empleando datos experimentales, de temperatura y constante de equilibrio.

$$-\log K_{eq} = \frac{\Delta H^0}{2.3R} \frac{1}{T} - \frac{\Delta S^0}{2.3R} \quad [7.44]$$

Por otra parte, el efecto producido por la variación de temperatura sobre la constante de equilibrio, va a venir dado por la ecuación de Van't Hoff:

$$\frac{d \ln K_{eq}}{dT} = \frac{\Delta H^0}{RT^2} \quad [7.45]$$

Dicha ecuación integrada entre los límites de K_{eq1} y K_{eq2} , y T_1 y T_2 se transforma en una expresión, a partir de la cual puede obtenerse también el cambio entálpico:

$$\ln \frac{K_{eq2}}{K_{eq1}} = \frac{\Delta H^0}{R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \right) \quad [7.46]$$

En cuanto a la obtención de la *Energía de Activación* para cada una de las reacciones, la ecuación más usualmente empleada es la formulada empíricamente por Arrhenius, que indica que la constante cinética de una reacción química varía exponencialmente con la inversa de la temperatura. Dicha ecuación puesta en forma lineal es la que se expresa a continuación

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad [7.47]$$

Teniendo en cuenta tales expresiones, se calcularon los diferentes parámetros termodinámicos para los diferentes sistemas de esterificación considerados en esta memoria.

Tabla 7.17. Parámetros termodinámicos, Factores preexponenciales y Energías de activación.

SISTEMA	ΔH^0 (Kcal/mol)	ΔS^0 (cal/mol.K)	k_0 (mol/min.g)	E_a (Kcal/mol)
Oleato de Oleilo	16.73	56.49	2.002×10^4	10.43
Oleato de Cetilo	32.24	99.23	2.849×10^{12}	23.84
Miristato de Miristilo	12.36	43.47	23.880	6.76
Oleato de Isopropilo	158.02	477.59	2.171×10^5	12.25
Palmitato de Isopropilo	25.22	76.06	3.673×10^4	11.66
2-Metil-Butirato de Oleilo	15.08	47.62	1.162	2.67

De manera análoga, se llevó a cabo un estudio de la variación de las demás constantes de equilibrio, características de cada una de las etapas involucradas en el mecanismo de reacción correspondiente, dependiendo del valor de la temperatura. Para ello, se empleó la ecuación de Van't Hoff, ajustándose a ella los valores de las constantes obtenidas para cada temperatura.

7.7.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE K_m

En la tabla 7.18 se muestran los valores de entalpía standard y entropía standard calculados para cada una de las constantes de Michaelis-Menten obtenidas anteriormente, tanto para reactivos como para productos, en los diferentes sistemas de esterificación enzimática planteados en esta memoria.

Tabla 7.18. Parámetros termodinámicos correspondientes a las constantes de Michaelis-Menten.

SISTEMA	K_{mAc}		K_{mAl}		K_{mEs}		K_{mW}	
	ΔH° (Kcal/mol)	ΔS° (cal/mol.K)						
OO	9.89	24.80	5.76	12.67	8.63	1.88	6.14	4.57
OC	15.57	40.61	15.04	39.11	26.69	57.92	18.78	41.19
MM	13.68	32.47	15.11	37.10	7.86	4.54	14.12	32.15
IPO	15.56	41.77	9.55	24.14	-	-	-	-
IPP	21.66	57.30	9.89	25.21	54.62	138.97	42.28	111.92
MBO	6.64	16.08	5.24	11.04	5.39	1.95	7.24	12.22

En las figuras 7.37, 7.38, 7.39 y 7.40 se muestran las representaciones correspondientes a las constantes de Michaelis-Menten para cada uno de los reactivos y productos frente a la inversa de la temperatura.

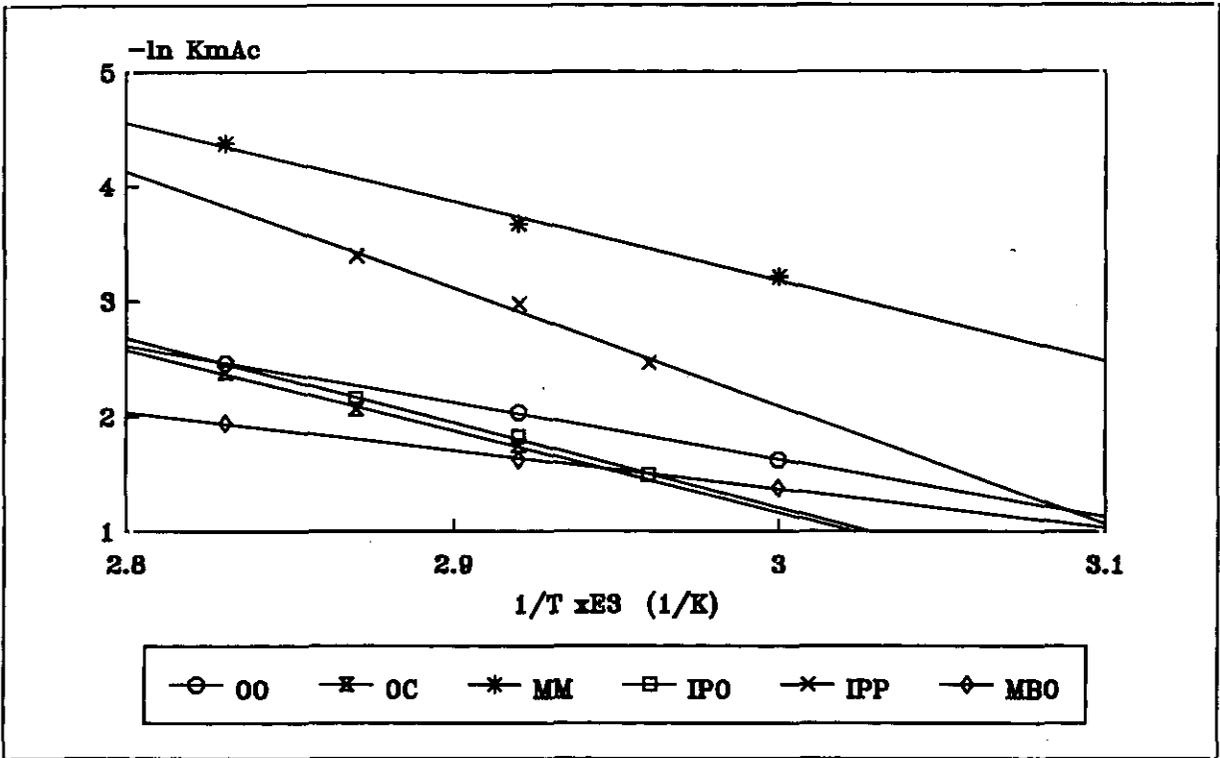


Figura 7.37. Influencia de la temperatura sobre K_{mAc} .

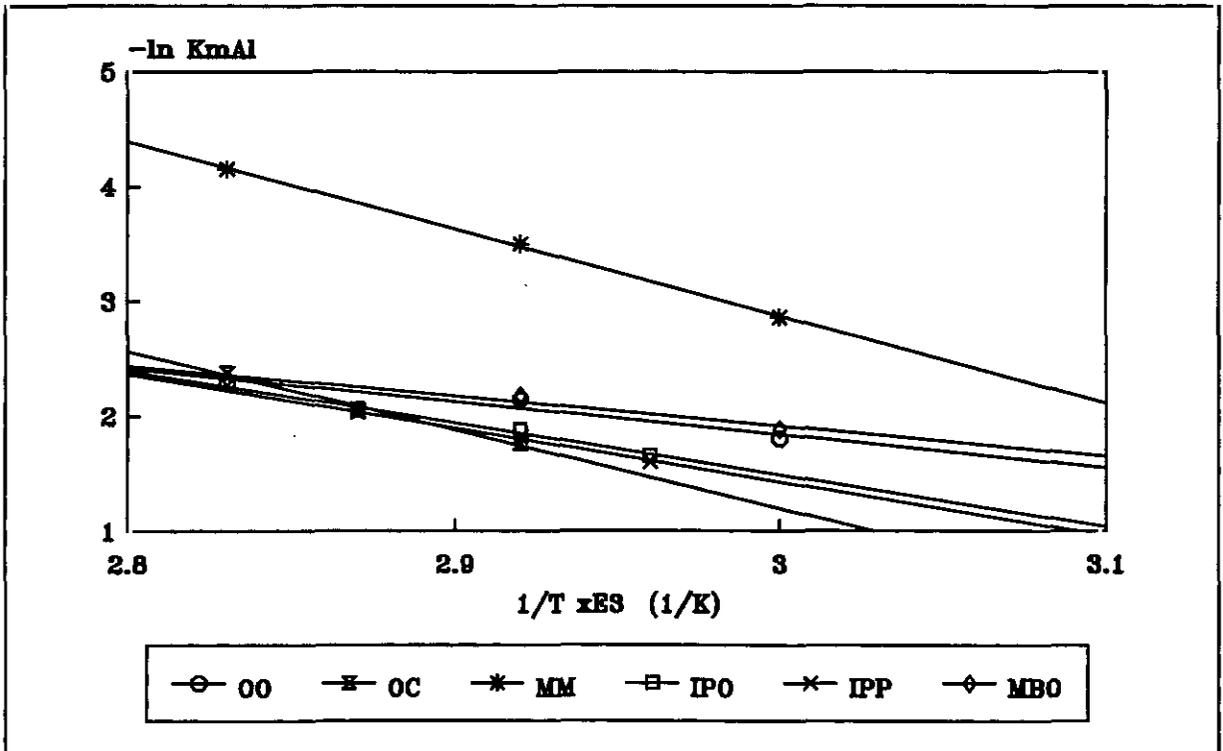


Figura 7.38. Influencia de la temperatura sobre K_{mAl} .

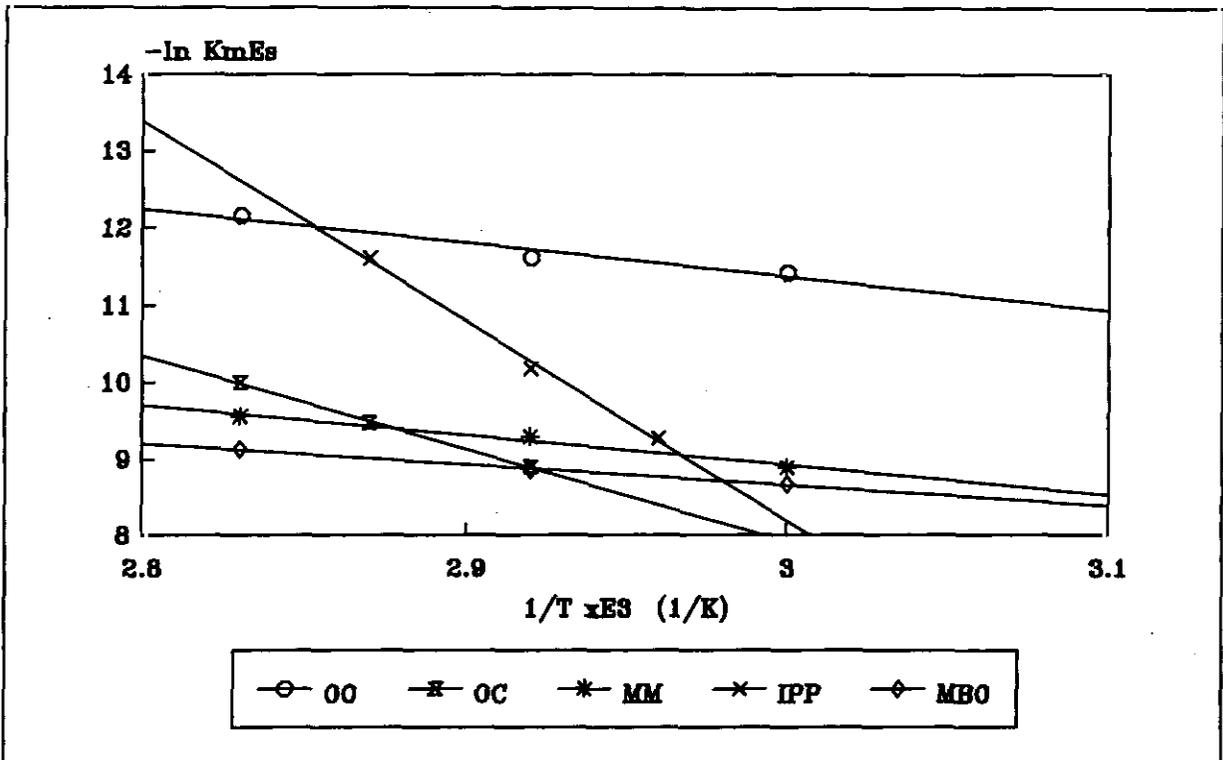


Figura 7.39. Influencia de la temperatura sobre K_{mEs} .

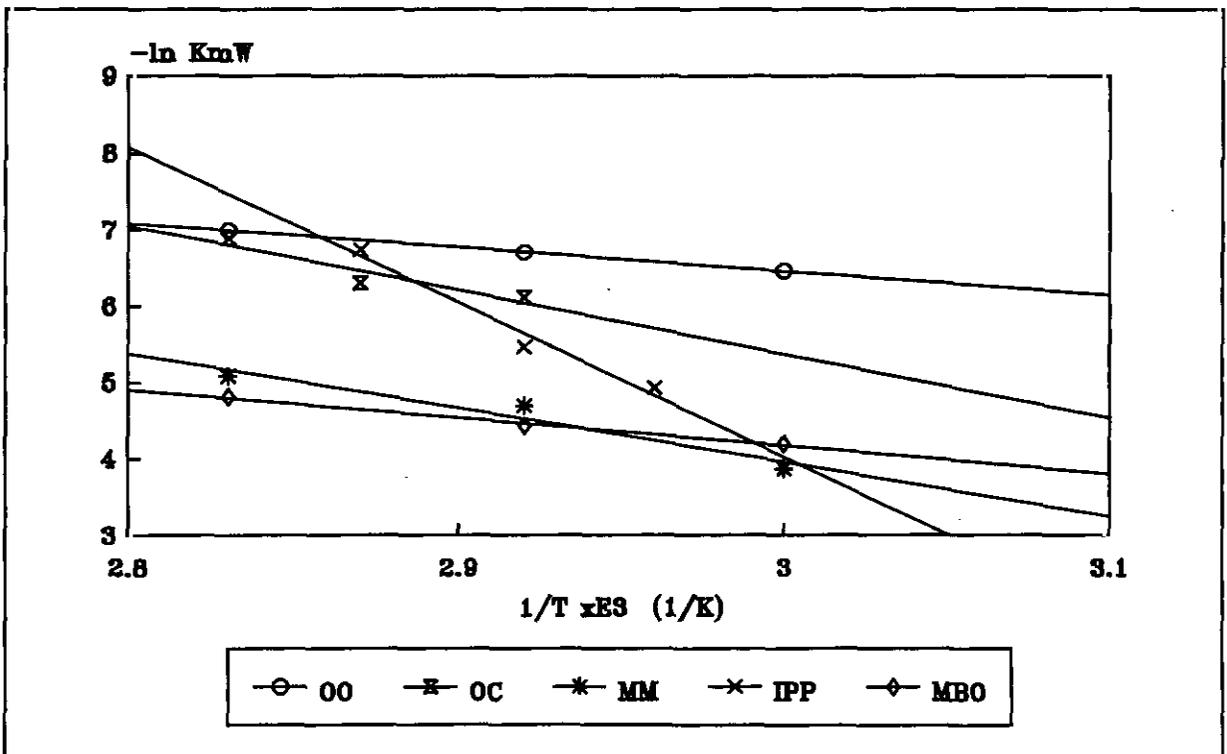


Figura 7.40. Influencia de la temperatura sobre K_{mW} .

7.7.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE K_i

El efecto de la temperatura sobre las constantes de inhibición es similar al observado en el caso anterior. Así una disminución de la temperatura de reacción produce un aumento de las constantes de inhibición, lo que supone un desplazamiento de dicho equilibrio hacia la formación de complejos estables, en detrimento de la formación de complejos intermedios, que posteriormente dan lugar a la formación de los productos deseados.

En las tablas 7.19 y 7.20, se muestran los parámetros termodinámicos correspondientes a las constantes de inhibición respecto de los reactivos, ácido y alcohol, y respecto de los productos de reacción, éster y agua. Dichos parámetros corresponden a la entalpía standard y entropía standard de cada uno de los equilibrios de formación de los complejos correspondientes.

Tabla 7.19. Parámetros termodinámicos correspondientes a las constantes de Inhibición con respecto a los reactivos.

SISTEMA	K_{IAc}		K_{IAI}		K'_{IAc}		K'_{IAI}	
	ΔH° (Kcal/mol)	ΔS° (cal/mol.K)						
OO	23.11	54.60	9.45	13.36	5.98	3.30	3.50	3.35
OC	42.91	110.28	18.37	43.08	25.64	60.21	46.23	121.74
MM	9.53	18.16	23.44	60.60	7.69	10.91	12.83	28.51
IPO	54.63	139.57	57.75	151.23	12.90	23.19	16.15	42.18
IPP	10.80	22.83	42.89	107.42	14.35	28.04	13.03	35.23
MBO	26.49	60.01	12.79	22.86	7.87	8.62	4.58	1.63

En las figuras 7.41, 7.42, 7.43 y 7.44, está representada la variación de las constantes de inhibición de los reactivos frente a la inversa de la temperatura, para los diferentes sistemas de esterificación considerados.

Tabla 7.20. Parámetros termodinámicos correspondientes a las constantes de Inhibición con respecto a los productos de reacción.

SISTEMA	K_{iEs}		K_{iW}		K'_{iEs}		K''_{iEs}	
	ΔH° (Kcal/mol)	ΔS° (cal/mol.K)						
OO	5.49	2.07	3.01	0.42	13.65	31.73	6.285	3.50
OC	13.90	28.38	12.00	26.78	32.86	88.50	11.96	24.78
MM	22.34	56.69	10.87	24.42	19.22	49.04	12.83	28.51
IPO	-	-	-	-	50.43	136.23	32.89	85.30
IPP	24.69	82.88	26.75	28.04	-	-	-	-
MBO	26.26	96.97	11.55	26.55	-	-	-	-

Las figuras 7.45, 7.46, 7.47 y 7.48 muestran la variación de las constantes de inhibición con respecto a los productos de reacción frente a la inversa de la temperatura de operación, para cada uno de los sistemas de esterificación estudiados.

Desde el punto de vista cinético, el sistema más favorecido es el correspondiente a la síntesis de 2-metil-butirato de oleilo, ya que el salto energético necesario para vencer su energía de activación es el más bajo de los seis sistemas estudiados. Sin embargo, es la síntesis de oleato de cetilo la menos favorecida desde el punto de vista cinético, por cuanto que la energía de activación necesaria para que la reacción comience es la más elevada.

Por otra parte, teniendo en cuenta que la constante de Michaelis-Menten da una idea de la concentración necesaria en el medio de reacción de la especie a la que está referida, para que la velocidad de reacción sea la mitad de la velocidad máxima; puede decirse que los sistemas más favorecidos, desde el punto de vista del salto energético necesario, son los de obtención de oleato de oleilo y síntesis de 2-metil-butirato de oleilo, si tenemos en cuenta tanto los reactivos como los productos de reacción.

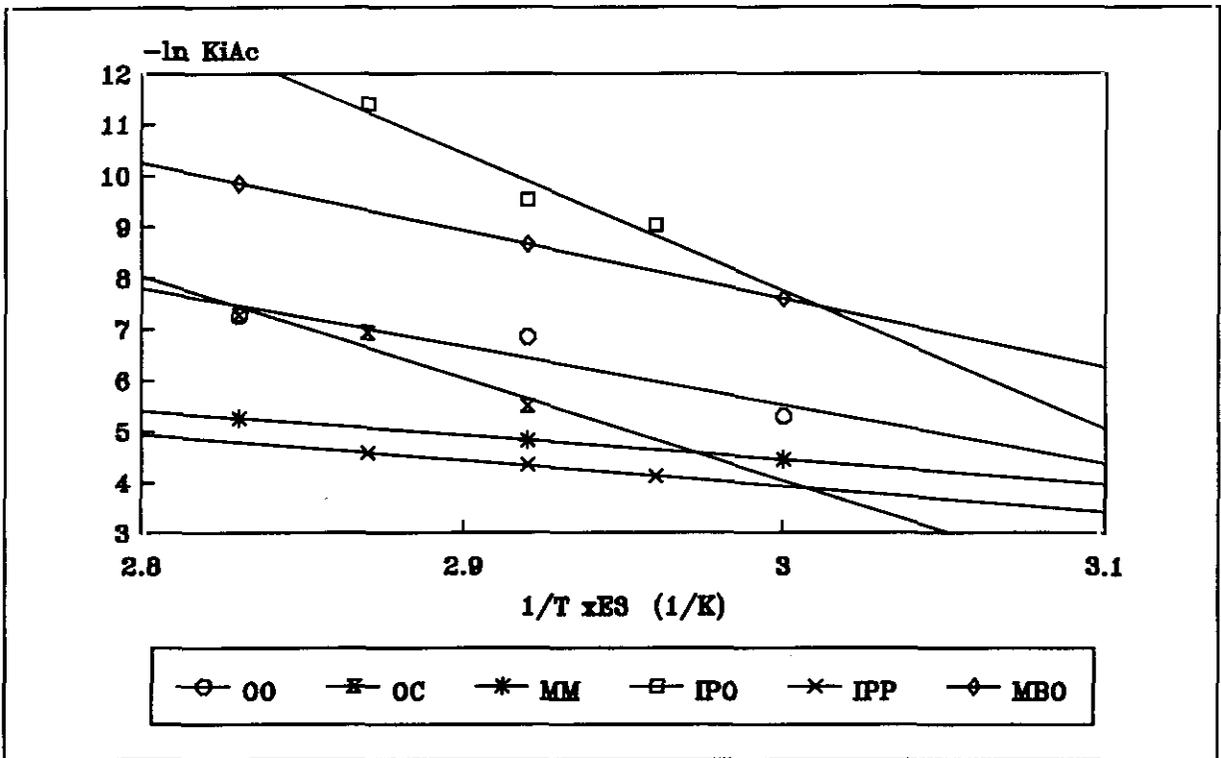


Figura 7.41. Influencia de la temperatura sobre K_{iAc} .

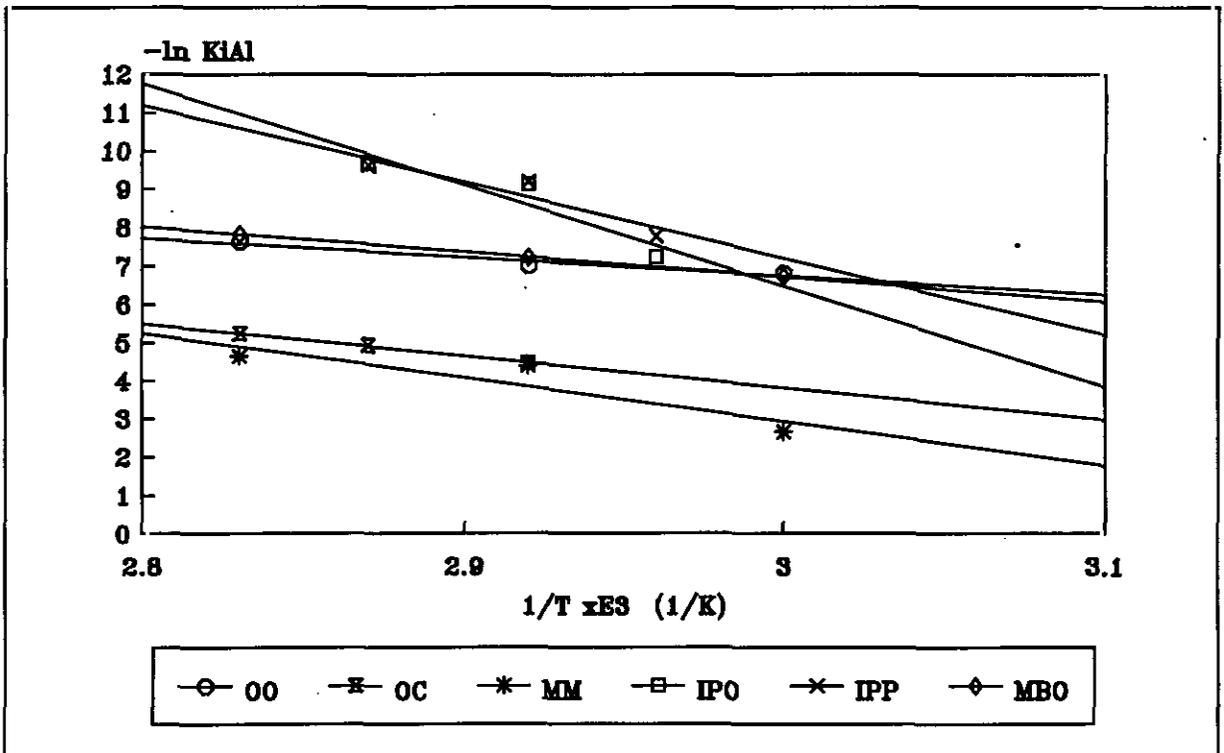


Figura 7.42. Influencia de la temperatura sobre K_{iAI} .

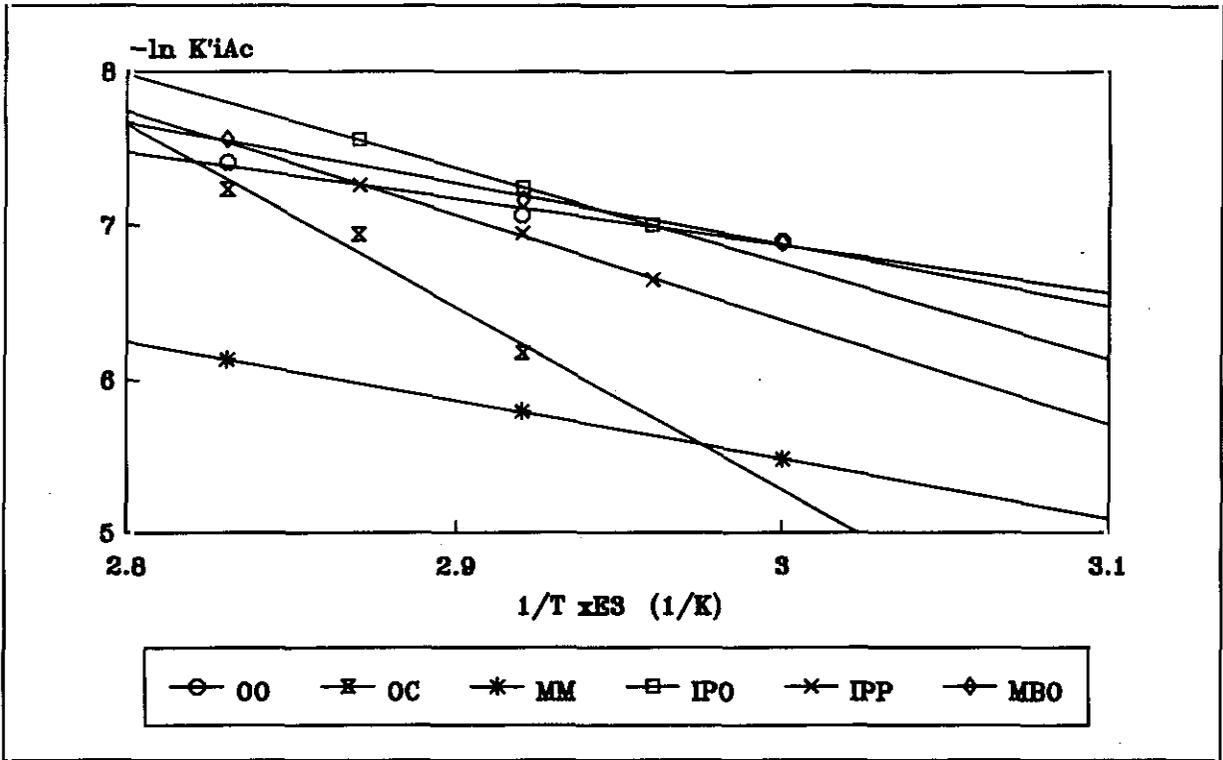


Figura 7.43. Influencia de la temperatura sobre K'_{iAc} .

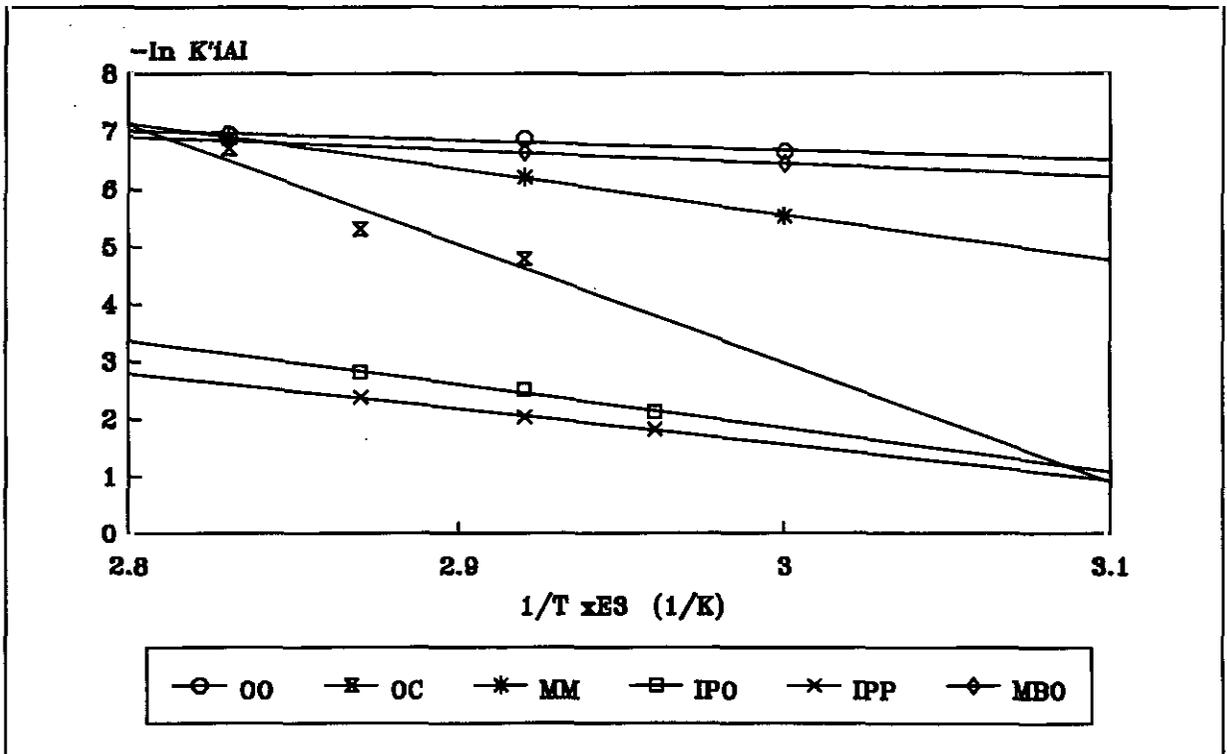


Figura 7.44. Influencia de la temperatura sobre K'_{iAl} .

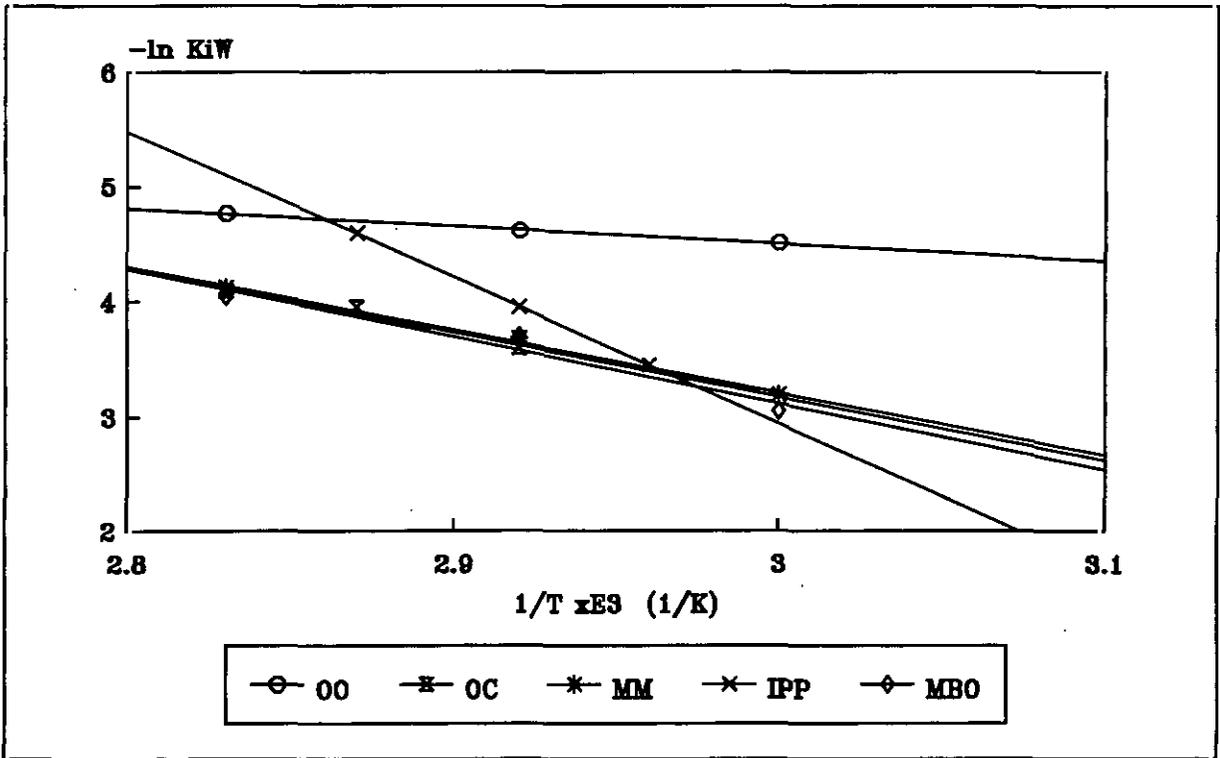


Figura 7.45. Influencia de la temperatura sobre K_{iw} .

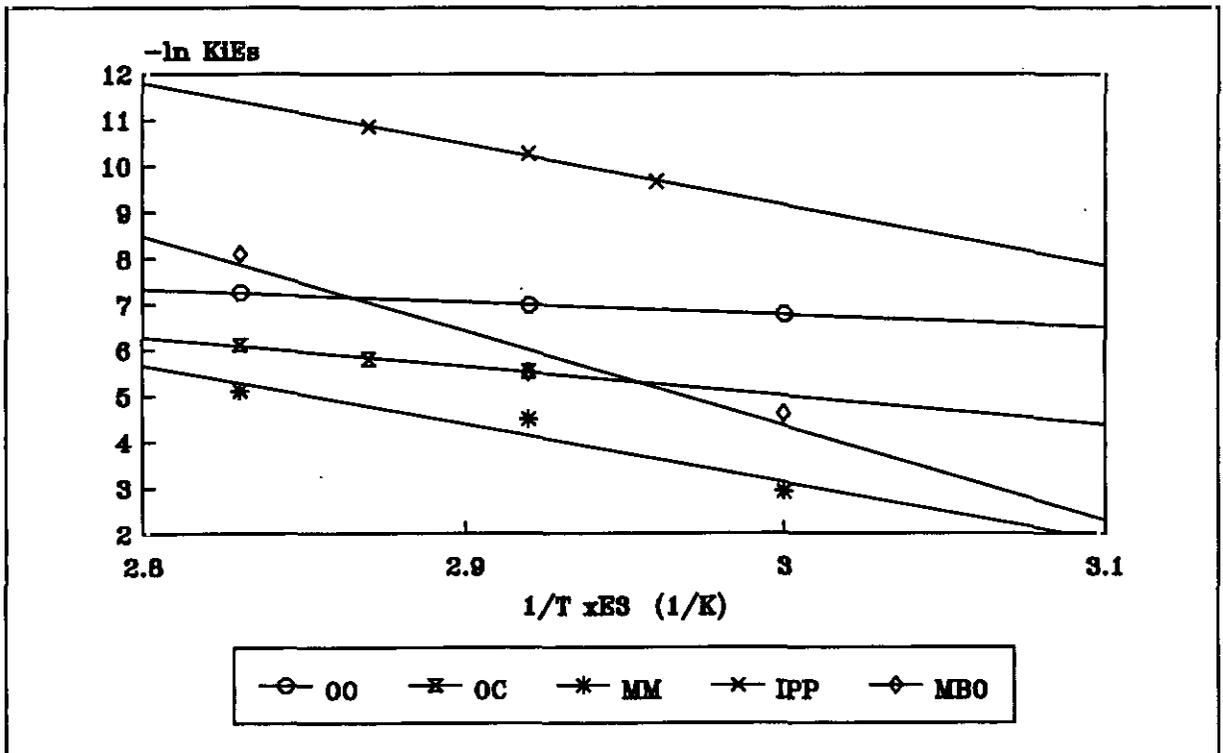


Figura 7.46. Influencia de la temperatura sobre K_{ies} .

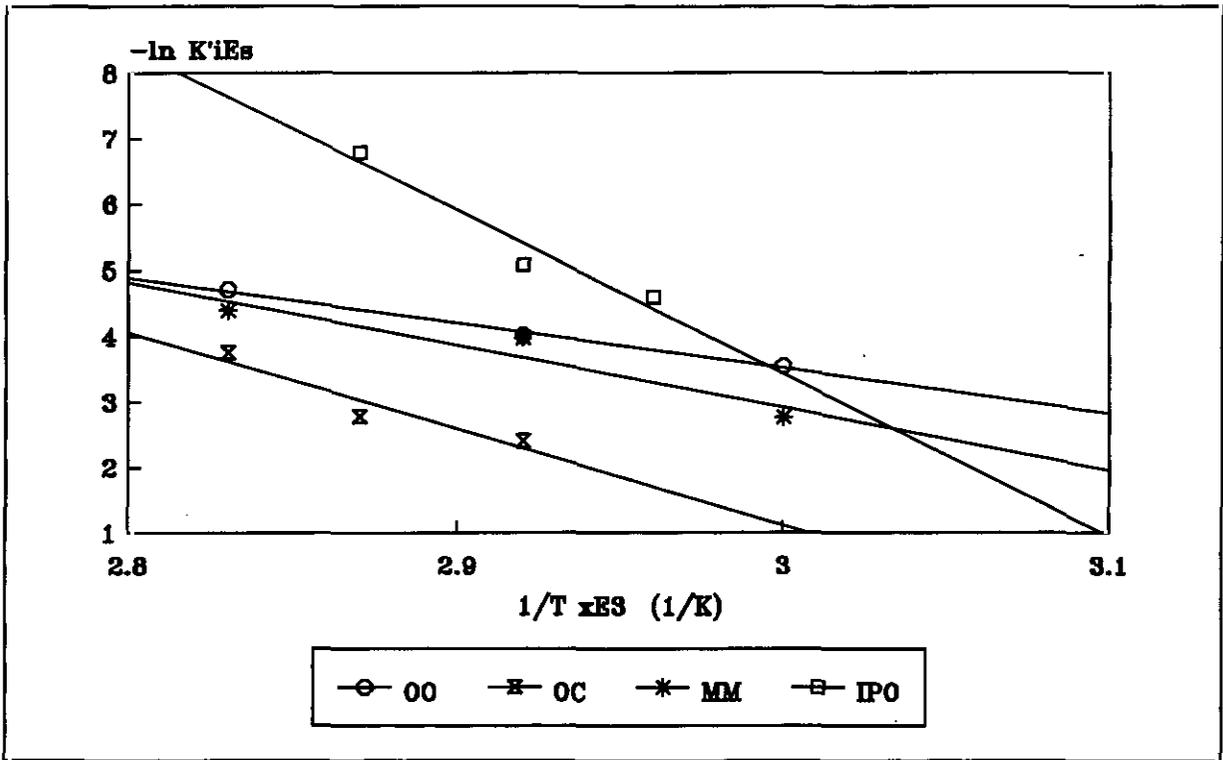


Figura 7.47. Influencia de la temperatura sobre K'_{iEs} .

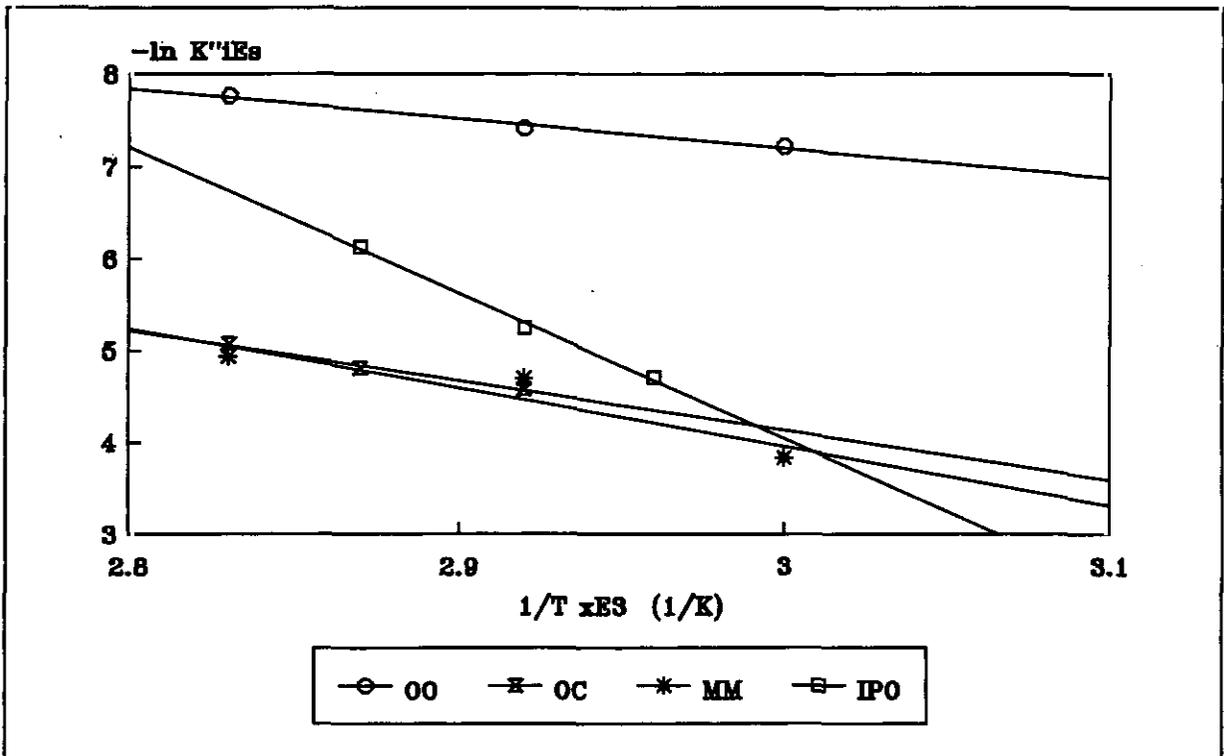


Figura 7.48. Influencia de la temperatura sobre K''_{iEs} .

Sin embargo, el sistemas más desfavorecido, en cuanto al salto energético necesario para la constante de Michaelis-Menten, es la síntesis de palmitato de isopropilo para los productos de reacción y para el ácido palmítico. No obstante, las síntesis de oleato de cetilo y miristato de miristilo, son las más desfavorables, si se tiene en cuenta el salto energético necesario para alcanzar la concentración de alcohol cetílico o alcohol mirístico necesarias para que la velocidad de reacción sea la mitad de la velocidad de reacción máxima correspondiente.

En cuanto a los fenómenos de inhibición se refiere, pueden considerarse dos grupos de equilibrios: equilibrios de inhibición debido a la formación de complejos con reactivos y complejos de inhibición en los que intervienen los productos de reacción. Dentro de los reactivos, si se considera el ácido graso de partida, la tendencia a formar complejos indeseables es mayor para la síntesis de miristato de miristilo y palmitato de isopropilo para el complejo binario principal, siendo en este caso los de menor inhibición los sistemas de obtención de oleato de isopropilo y oleato de cetilo.

En cambio, cuando el complejo de inhibición obtenido es ternario para el ácido de partida, los sistemas con mayor tendencia a la formación de dicho complejo son los de síntesis de oleato de oleilo y 2-metil-butirato de oleilo, estando menos favorecida esta inhibición para el sistema de obtención de oleato de cetilo.

Cuando la inhibición está referida al alcohol, la formación de complejos indeseables está favorecida para los sistemas ácido oleico/alcohol oleico y ácido 2-metil-butírico/alcohol oleico; mientras que los sistemas menos inhibidos son los de síntesis de oleato de isopropilo, palmitato de isopropilo y oleato de cetilo.

Por otra parte, la inhibición debida al agua presente en el medio de reacción está energéticamente favorecida para la síntesis de oleato de oleilo, siendo más desfavorable para la síntesis

de palmitato de isopropilo. En cambio, aunque la inhibición debida al éster formado es más favorable para el sistema ácido oleico-alcohol oleico, los sistemas que presentan un mayor impedimento hacia la formación de complejos de inhibición con el éster son los de síntesis de palmitato de isopropilo, 2-metil-butirato de oleilo y oleato de isopropilo.

Estos resultados confirman que los fenómenos de inhibición se ven favorecidos cuanto mayor es la longitud de la cadena de los reactivos de partida, viéndose disminuida la inhibición a medida que los reactivos son de menor peso molecular. Sin embargo, esto no significa que los rendimientos alcanzados en éster sean mejores cuando los reactivos de partida son de menor peso molecular, sino que, el nivel de conversión obtenido va a depender de la naturaleza y la reactividad de las especies de partida, además del factor térmico.

**8. SIMULACION TEORICA COMO BASE PARA LA
OPTIMACION Y CAMBIO DE ESCALA DEL
PROCESO DE ESTERIFICACION**

A fin de conocer hasta que punto los resultados obtenidos en el modelado cinético representan adecuadamente los datos obtenidos experimentalmente, se decidió llevar a cabo la simulación matemática de las reacciones de esterificación estudiadas con diferentes condiciones de operación, para después compararlos entre sí y dar una idea de la bondad de los modelos desarrollados. La importancia de dicha simulación reside en la posible predicción de la evolución de la conversión de reactivos en productos a lo largo del tiempo de reacción.

Los experimentos comprobados en esta simulación fueron los realizados para los seis sistemas de esterificación enzimática, con una relación molar ácido/alcohol de 1/1. Para cada sistema de reacción se valoraron los datos experimentales obtenidos a las tres temperaturas de operación que cubren el intervalo fijado para dicha variable.

También se tuvo en cuenta la variación de la concentración inicial de catalizador y, por último, la simulación se llevó a cabo tanto en condiciones de irreversibilidad (presión reducida) en los casos en los que fue posible la experimentación en estas condiciones, como en condiciones de reversibilidad (presión atmosférica), en todos los casos.

8.1 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE OLEILO

A partir de los resultados obtenidos para la síntesis de oleato de oleilo en el capítulo anterior, se procedió a comprobar los modelos cinéticos. Así en las figuras 8.1 a 8.10 se muestran los resultados de la simulación del sistema en condiciones de presión reducida.

Como puede observarse, los resultados obtenidos empleando el modelo cinético calculado se ajustan razonablemente a los resultados experimentales. Prueba de ello es que en la mayoría de los casos, el error no sobrepasa el 15%. Dicho error se ha calculado mediante un análisis de residuos, en el que se representa la diferencia entre la conversión obtenida experimentalmente y la conversión calculada, referida a la primera, frente a la propia conversión experimental.

Así, en la figura 8.11, se presenta el análisis de residuos para los resultados obtenidos en las reacciones realizadas en régimen irreversible, es decir a presión reducida. Dicha figura demuestra que el error cometido al aplicar el modelo matemático obtenido no sobrepasa el 20% en la mayoría de los casos; siendo el error medio obtenido de un 12.37%, y la distribución de los valores de los errores obtenidos no presenta tendencias significativas.

Dichos resultados demuestran que la aplicación del modelo desarrollado, para la reacción de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol oleico catalizada por la lipasa comercial de *Mucor miehei*, Lipozyme IM-20, cuando se opera en condiciones de vacío, permite una reproducción adecuada de los datos experimentales.

Esto indica que el modelo desarrollado puede aceptarse como modelo cinético del sistema propuesto, al menos dentro de las condiciones de operación fijadas, siempre y cuando se elimine en continuo el agua formada en el medio de reacción.

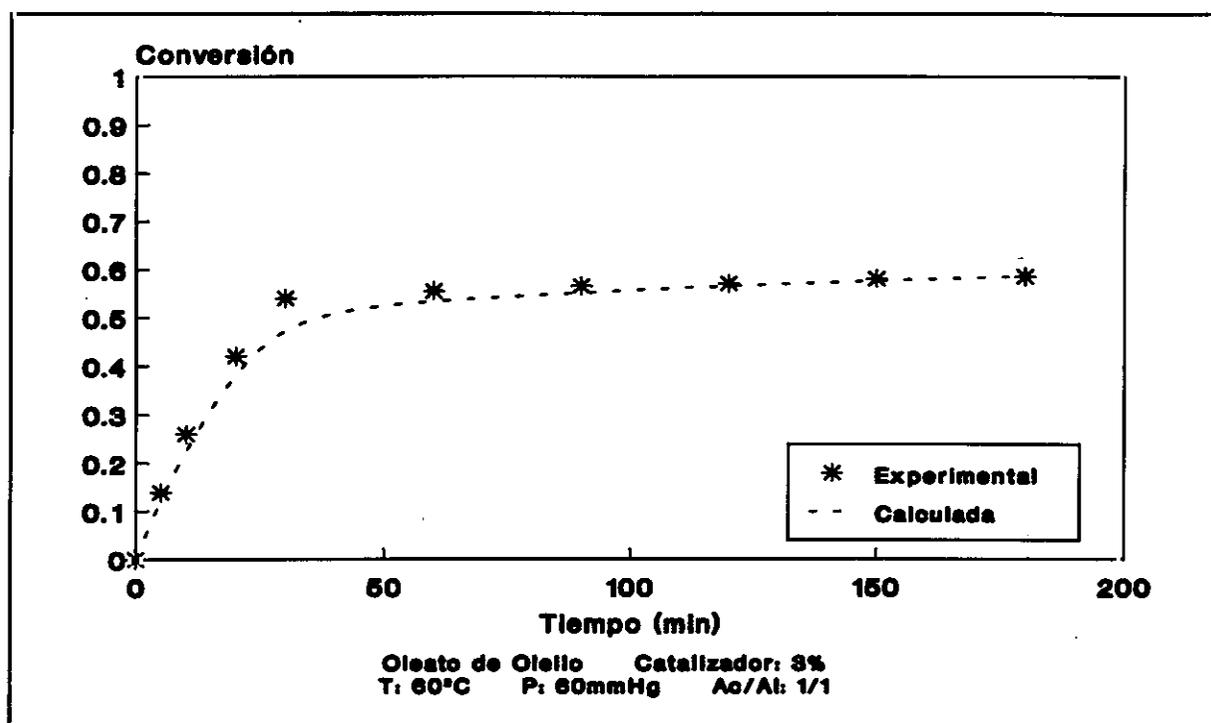


Figura 8.1. Simulación O1: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 60°C, 3% catalizador.

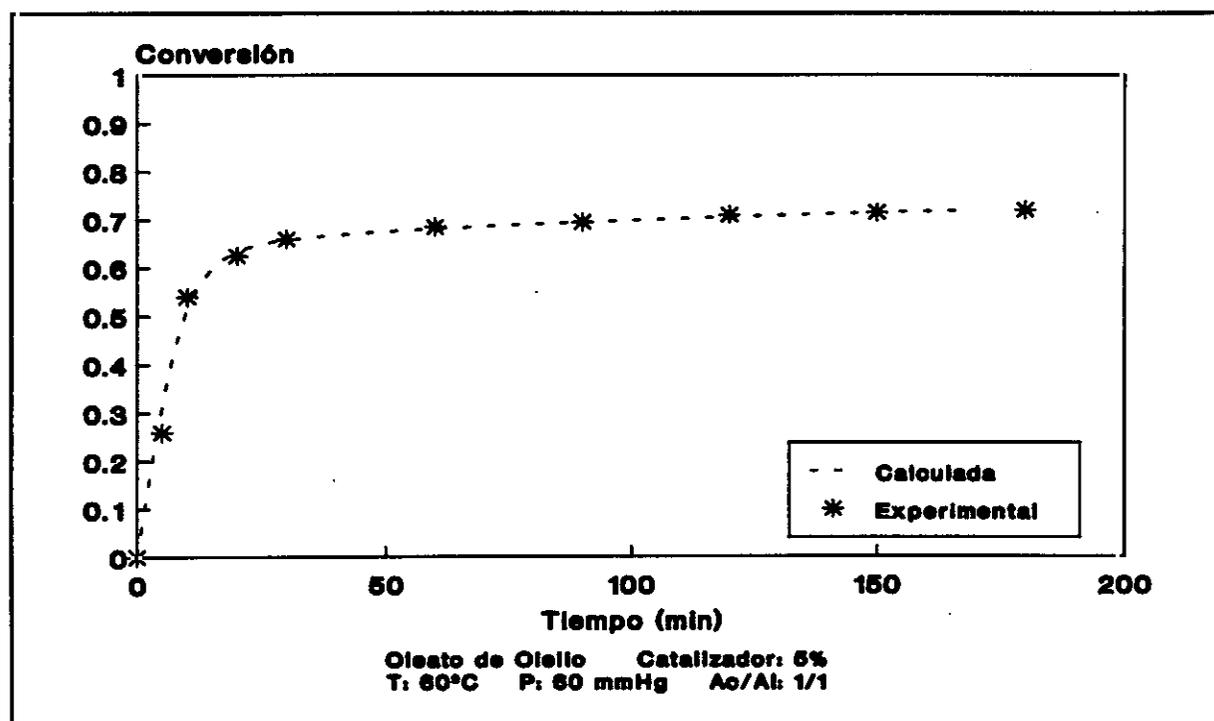


Figura 8.2. Simulación O2: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 60°C, 5% Catalizador.

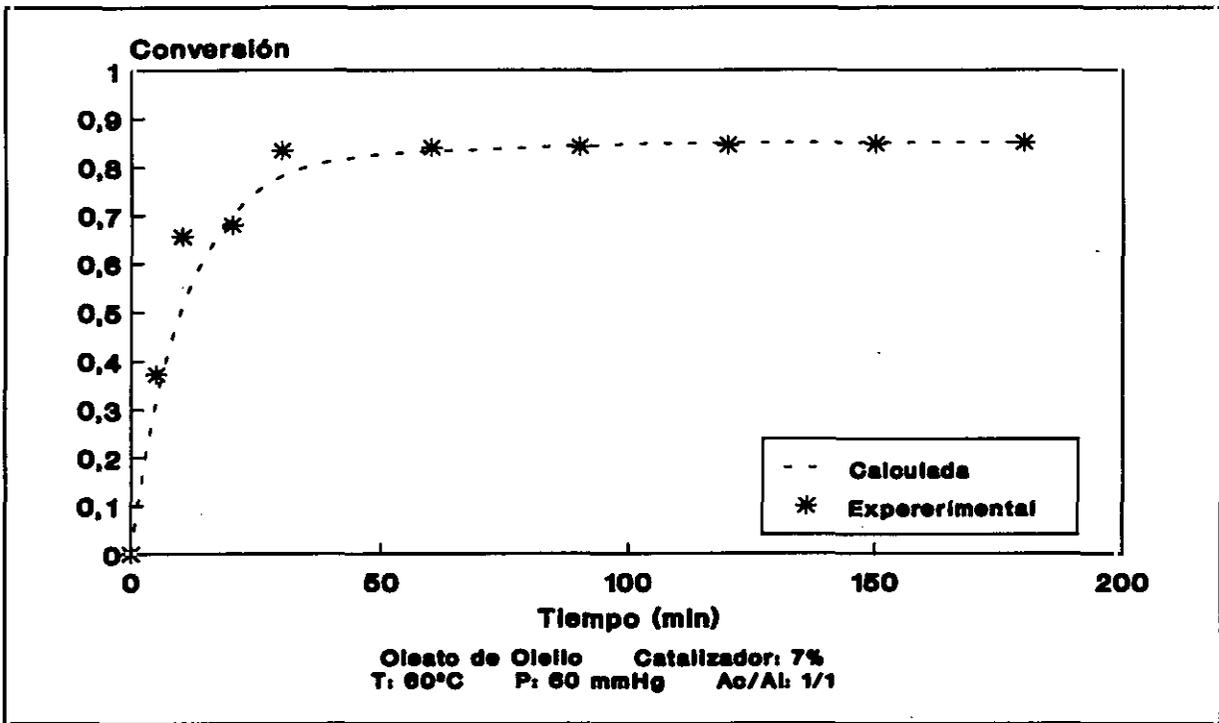


Figura 8.3. Simulación O3: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 60°C, 7% catalizador.

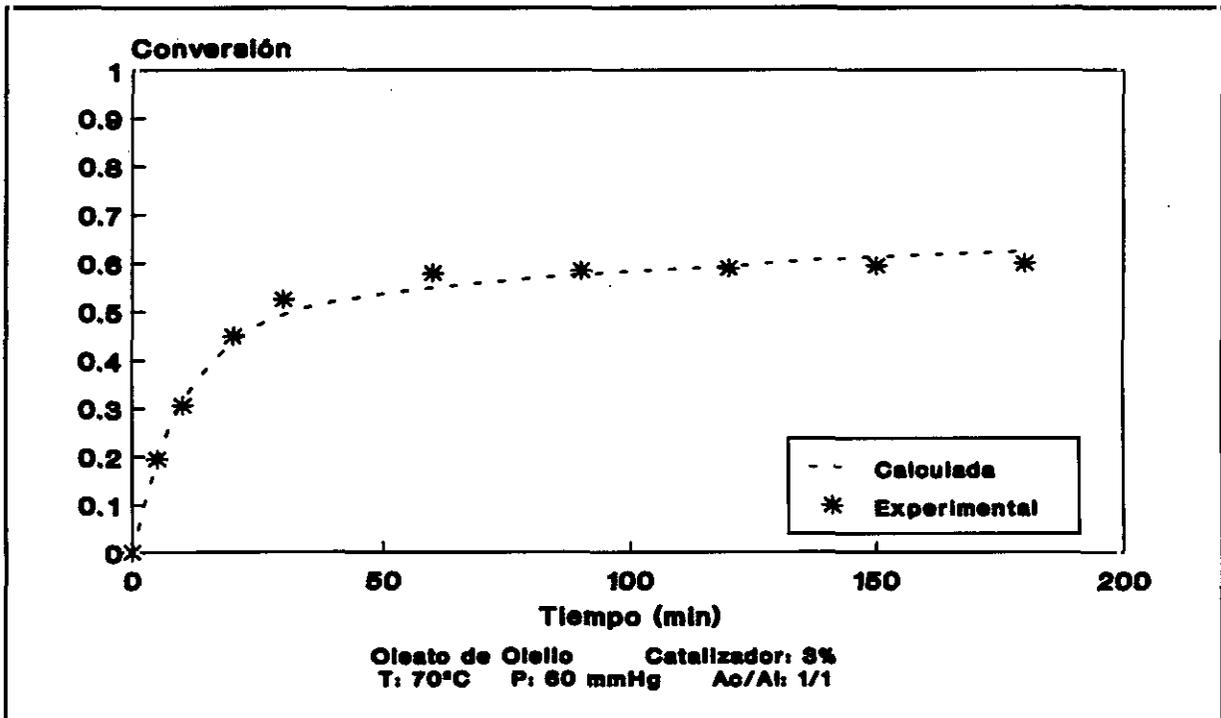


Figura 8.4. Simulación O4: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

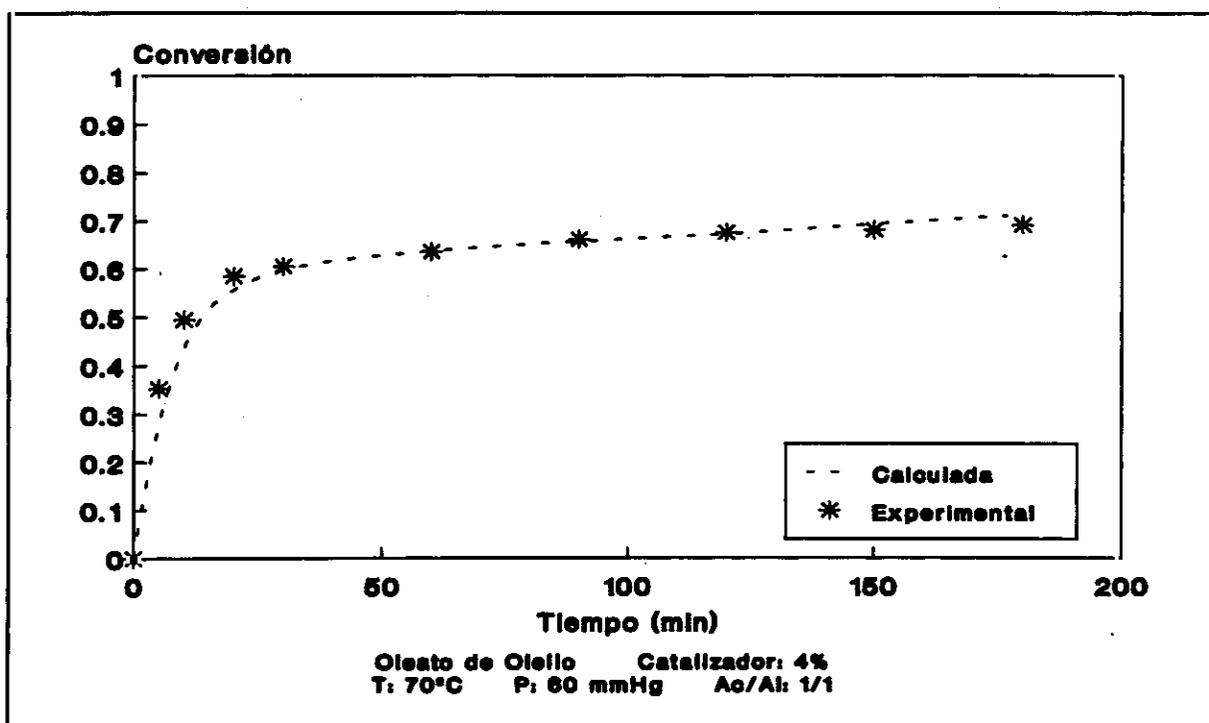


Figura 8.5. Simulación O5: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 4% catalizador.

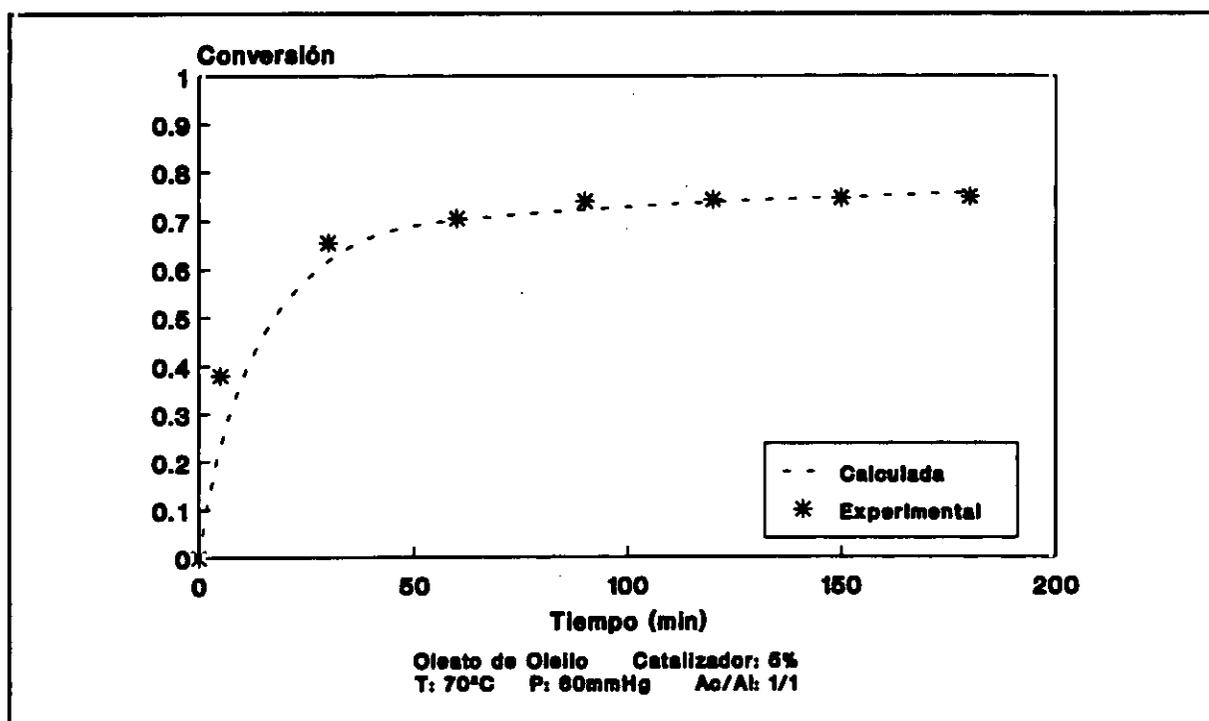


Figura 8.6. Simulación O6: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 5% Catalizador.

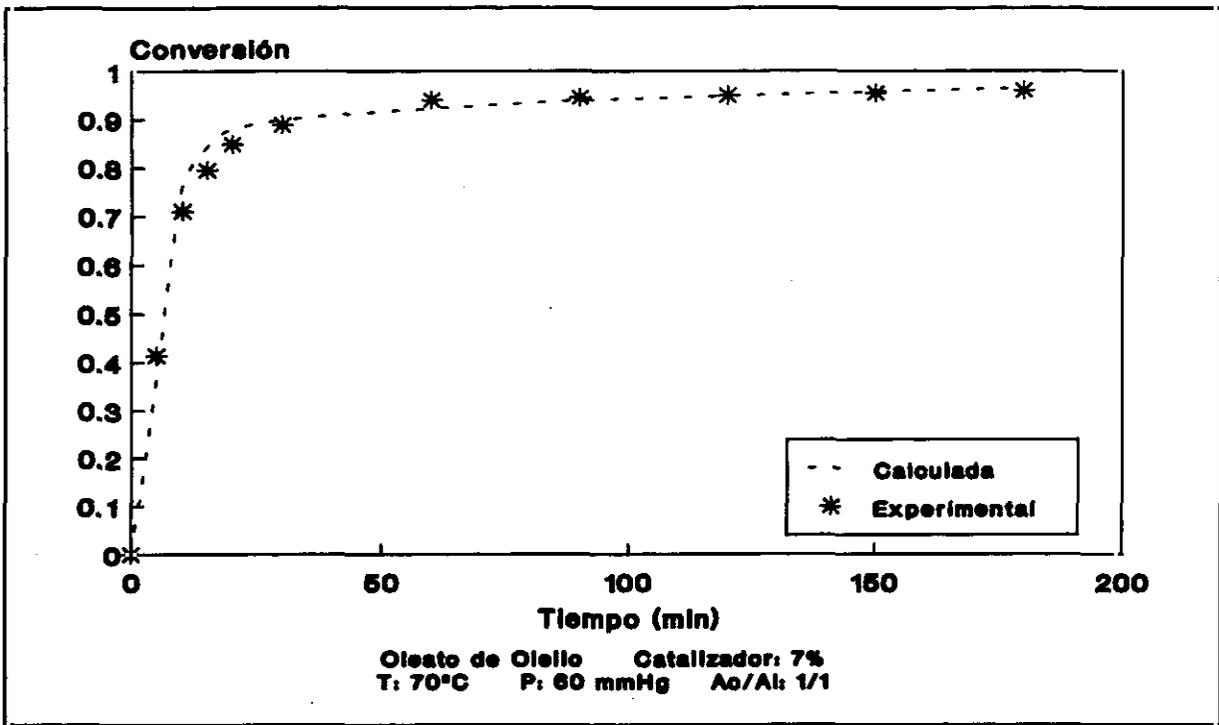


Figura 8.7. Simulación O7: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 7% catalizador.

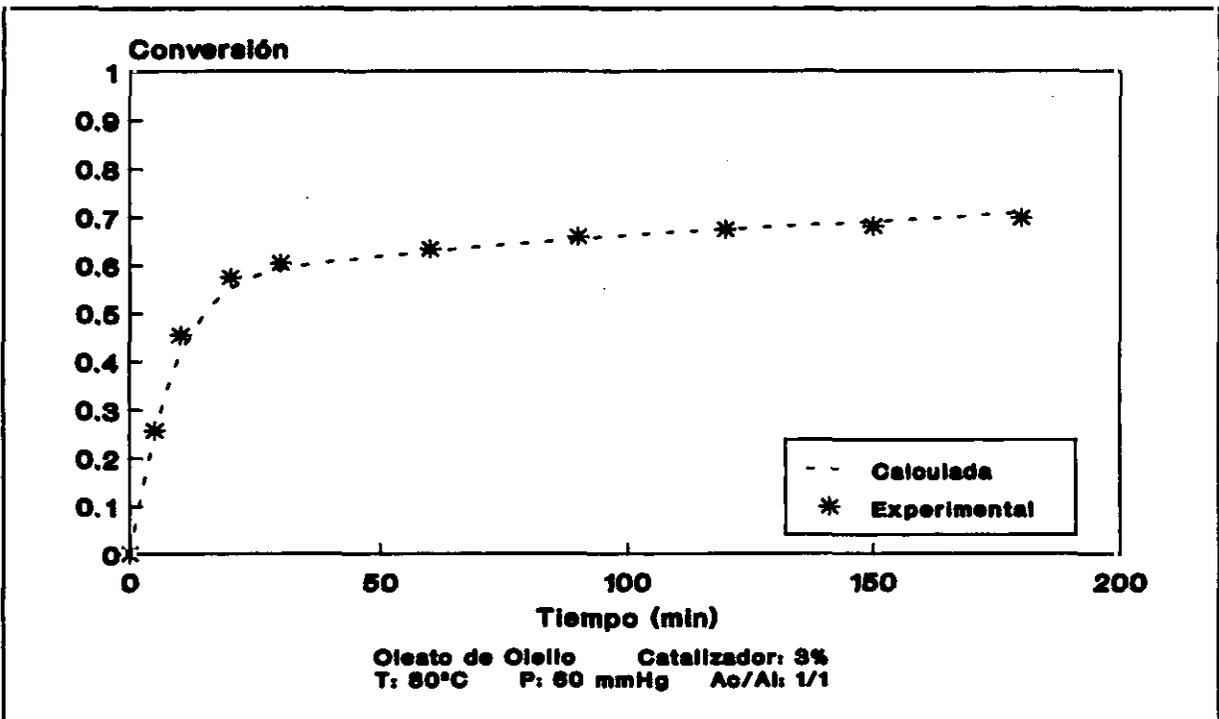


Figura 8.8. Simulación O8: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 80°C, 3% Catalizador.

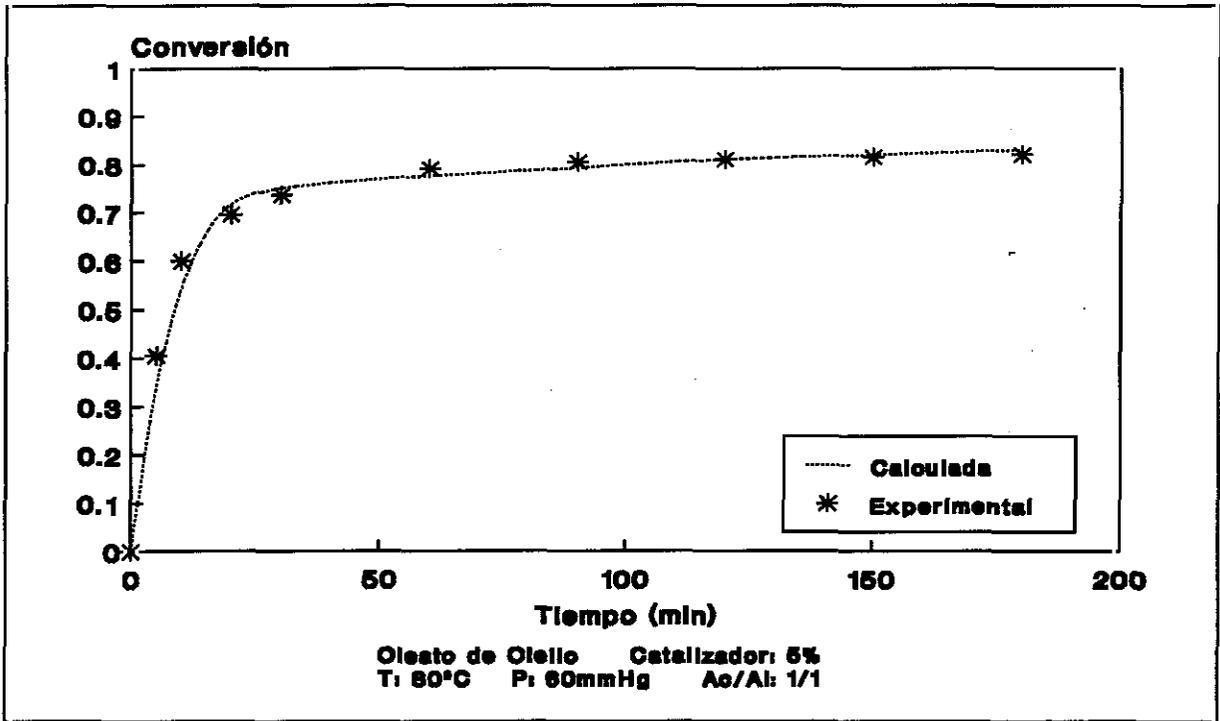


Figura 8.9. Simulación O9: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 80°C, 5% catalizador.

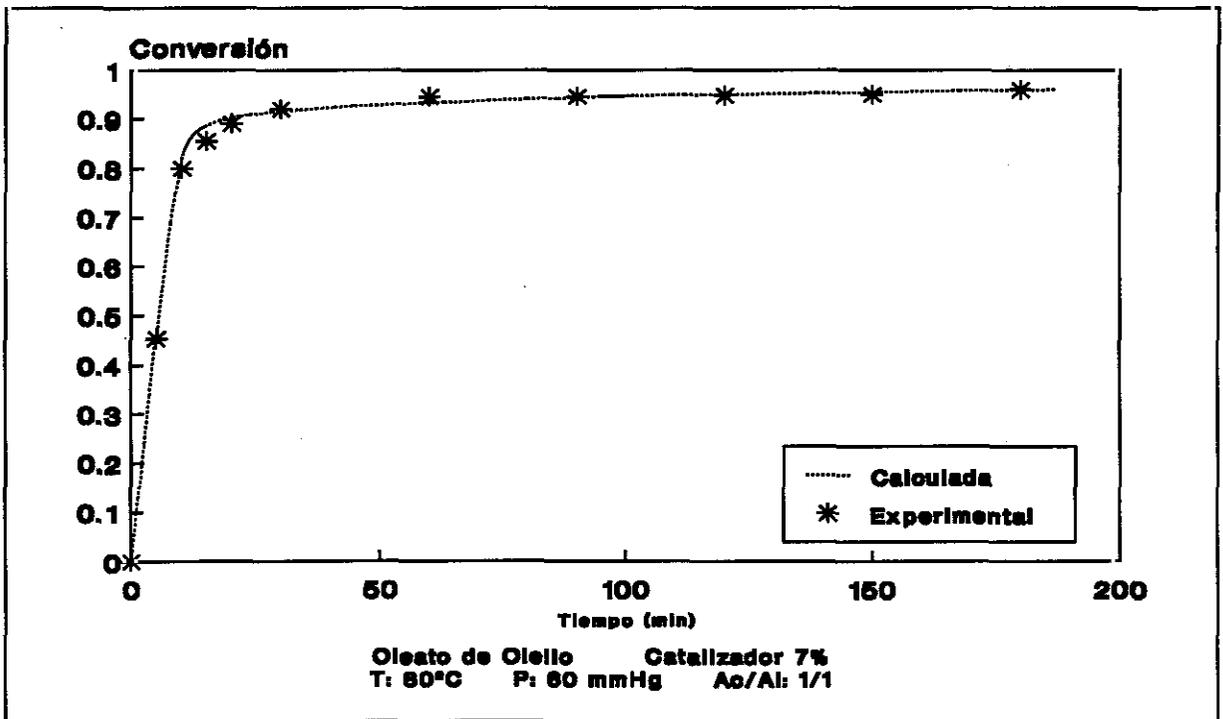


Figura 8.10. Simulación O10: Síntesis de Oleato de Oleilo, 60mmHg, 80°C, 7% Catalizador.

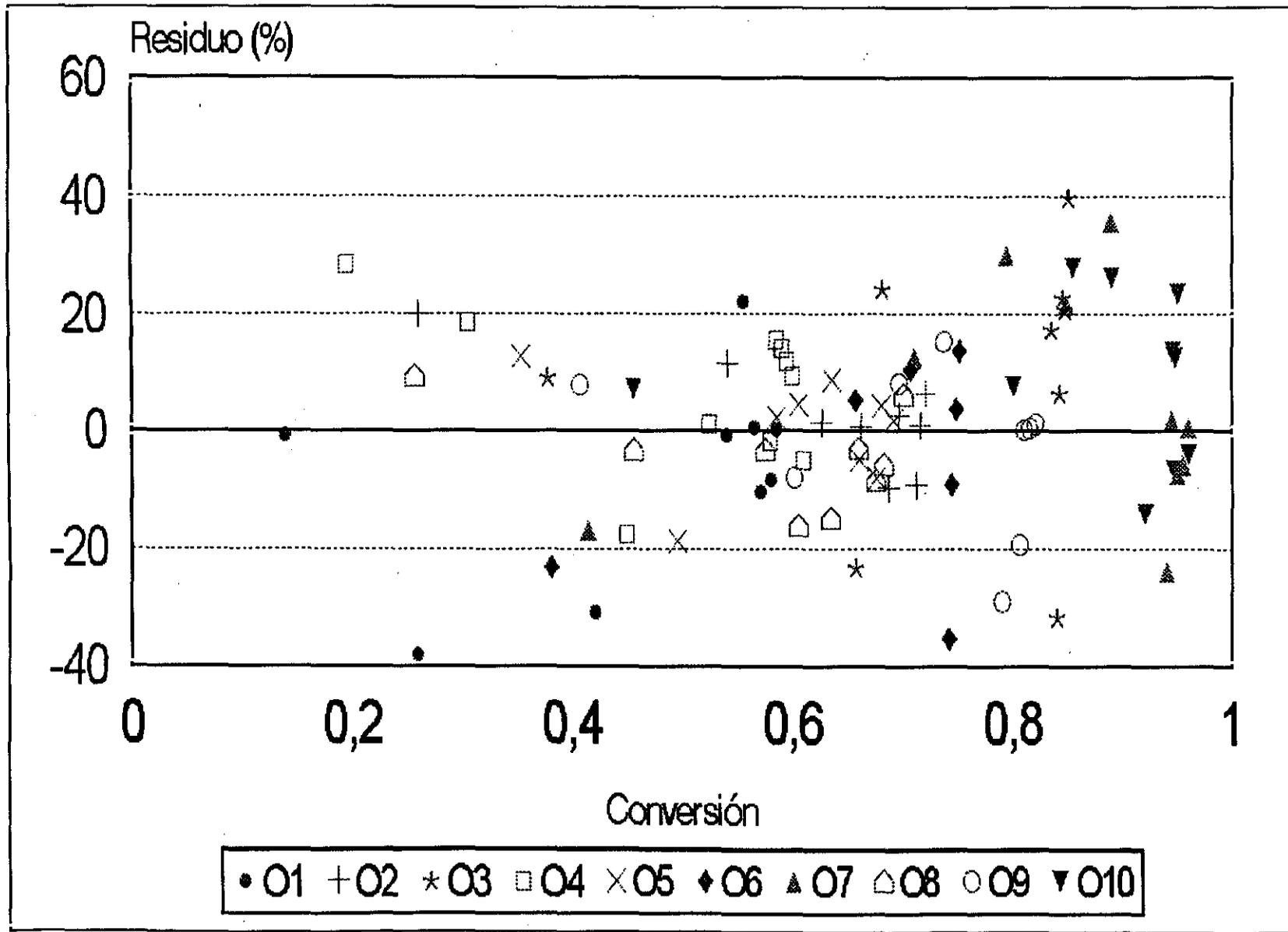


Figura 8.11. Análisis de residuos para la síntesis de Oleato de Oleilo en condiciones de irreversibilidad.

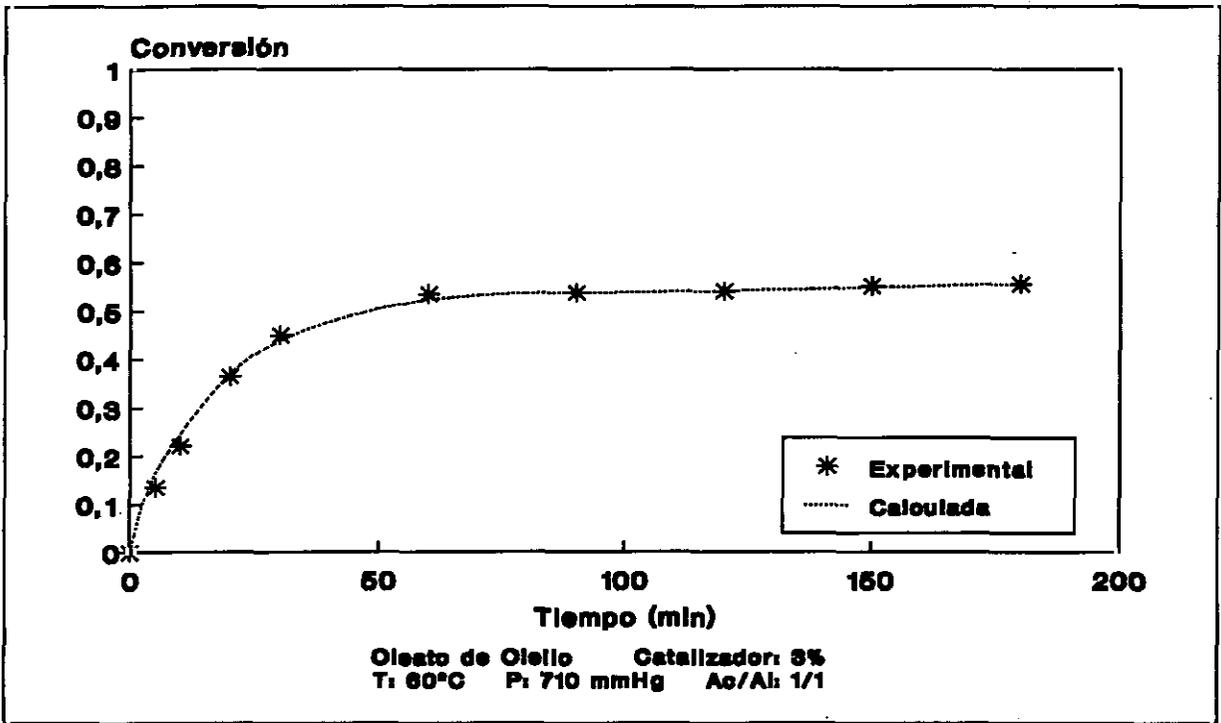


Figura 8.12. Simulación O11: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 60°C, 3% catalizador.

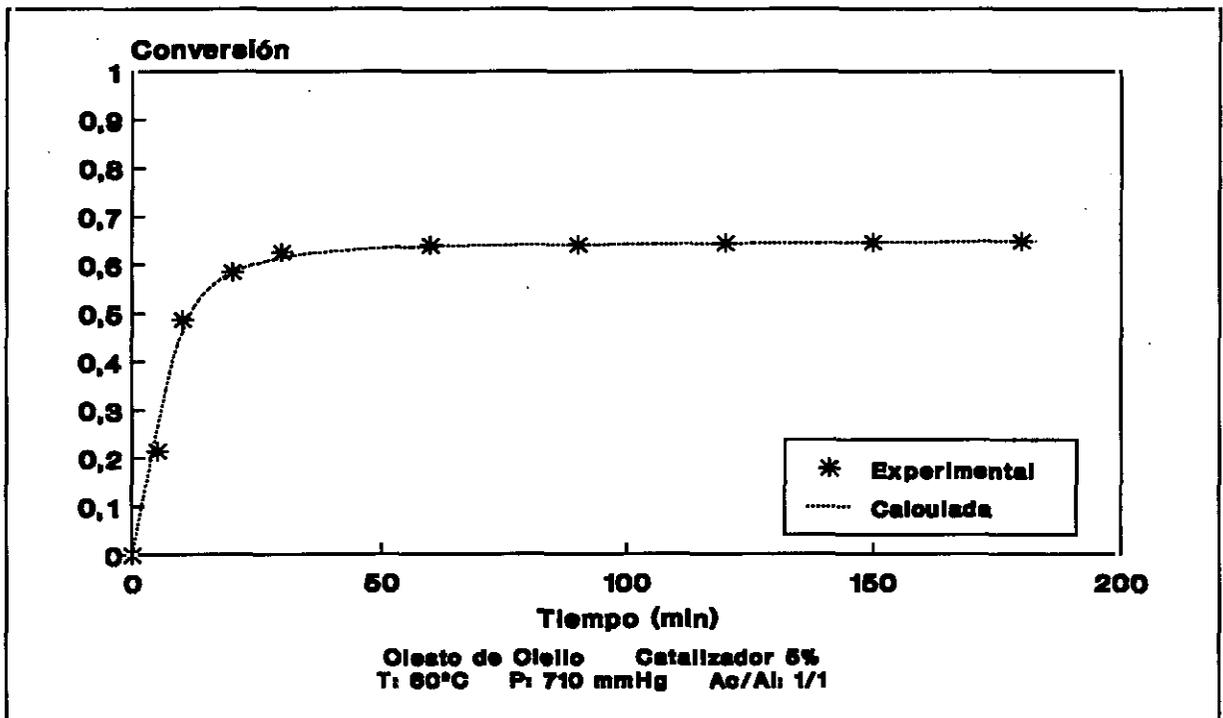


Figura 8.13. Simulación O12: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 60°C, 5% Catalizador.

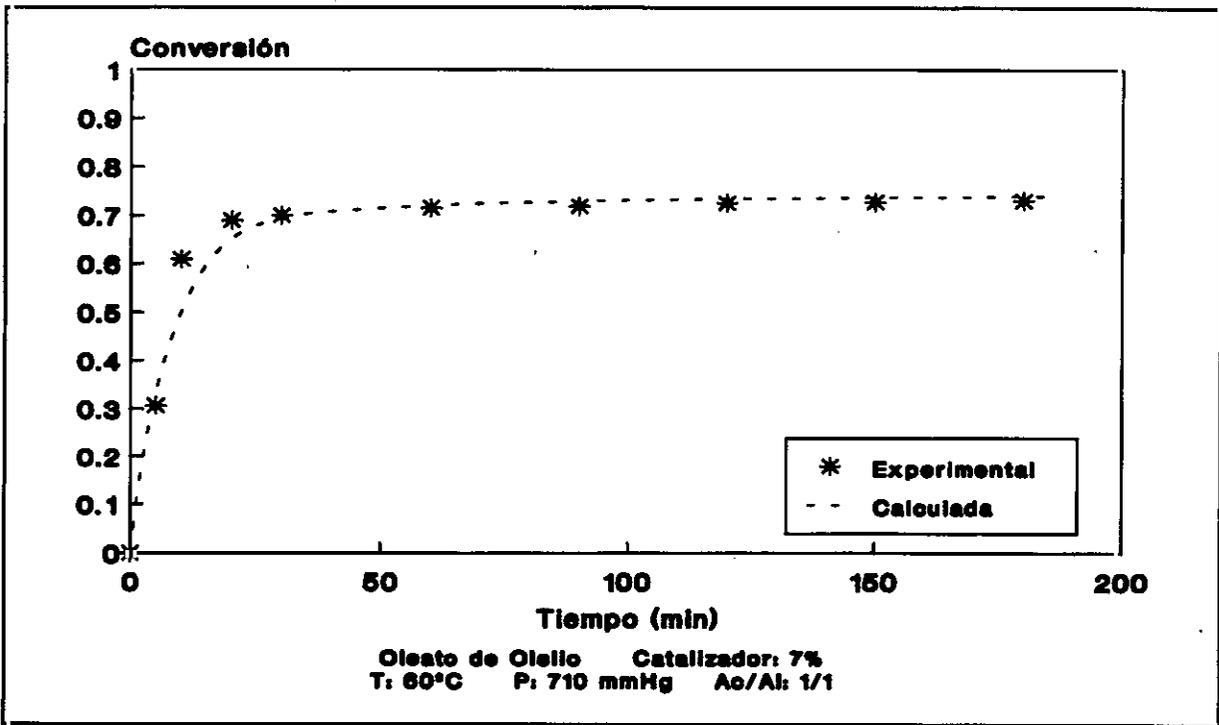


Figura 8.14. Simulación O13: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 60°C, 7% catalizador.

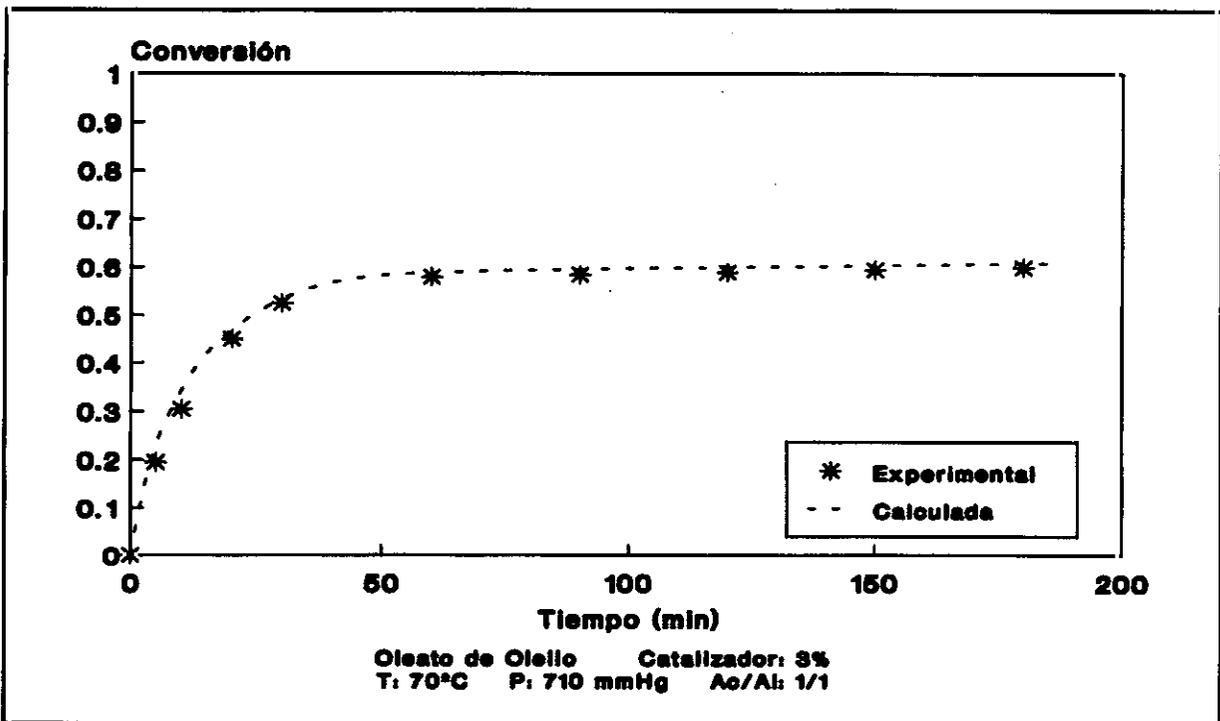


Figura 8.15. Simulación O14: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

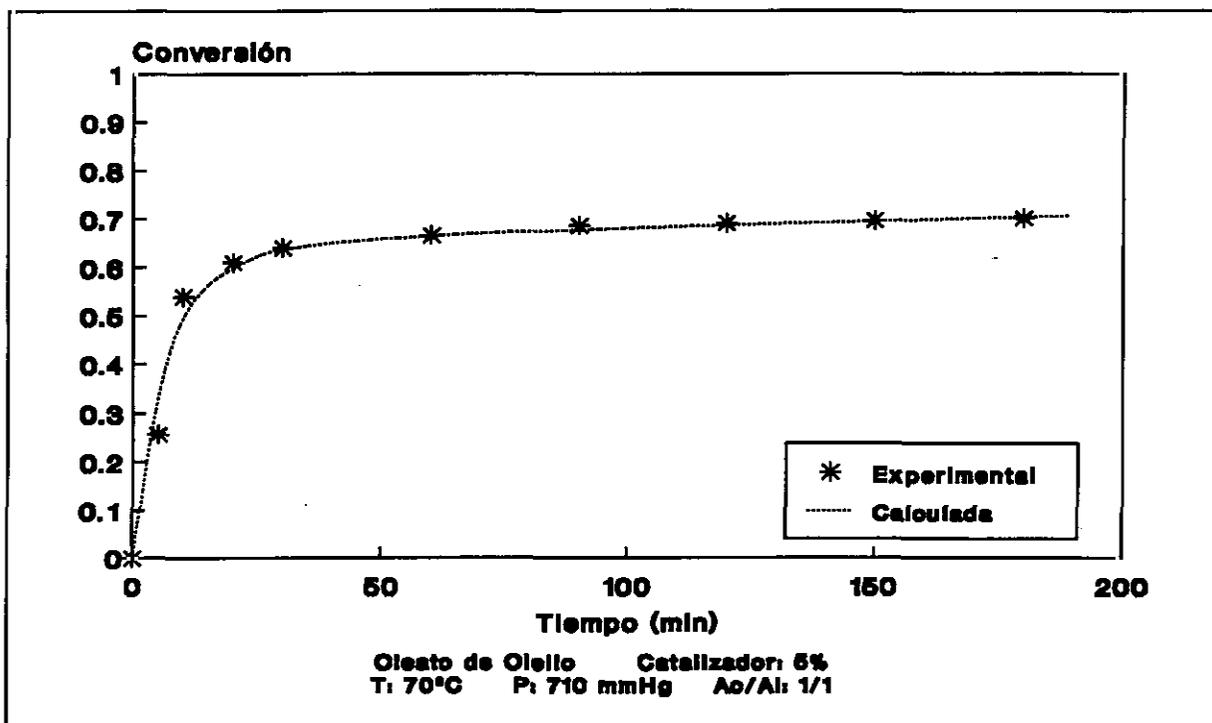


Figura 8.16. Simulación O15: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 5% catalizador.

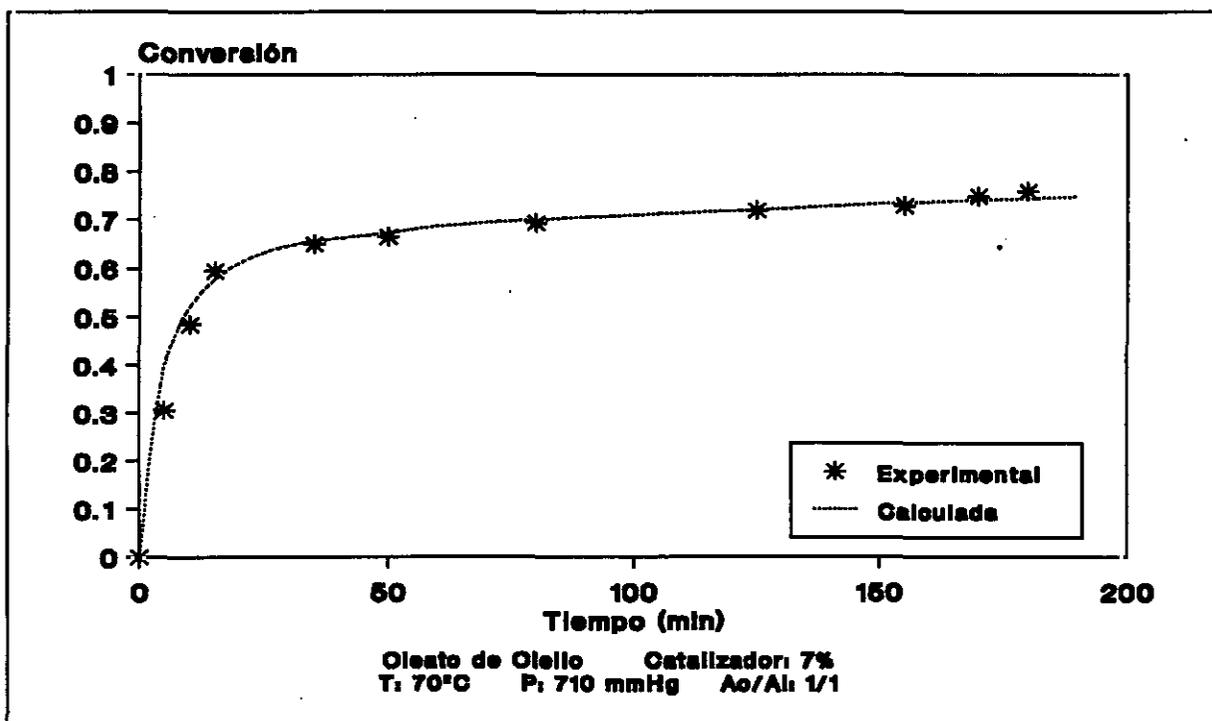


Figura 8.17. Simulación O16: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

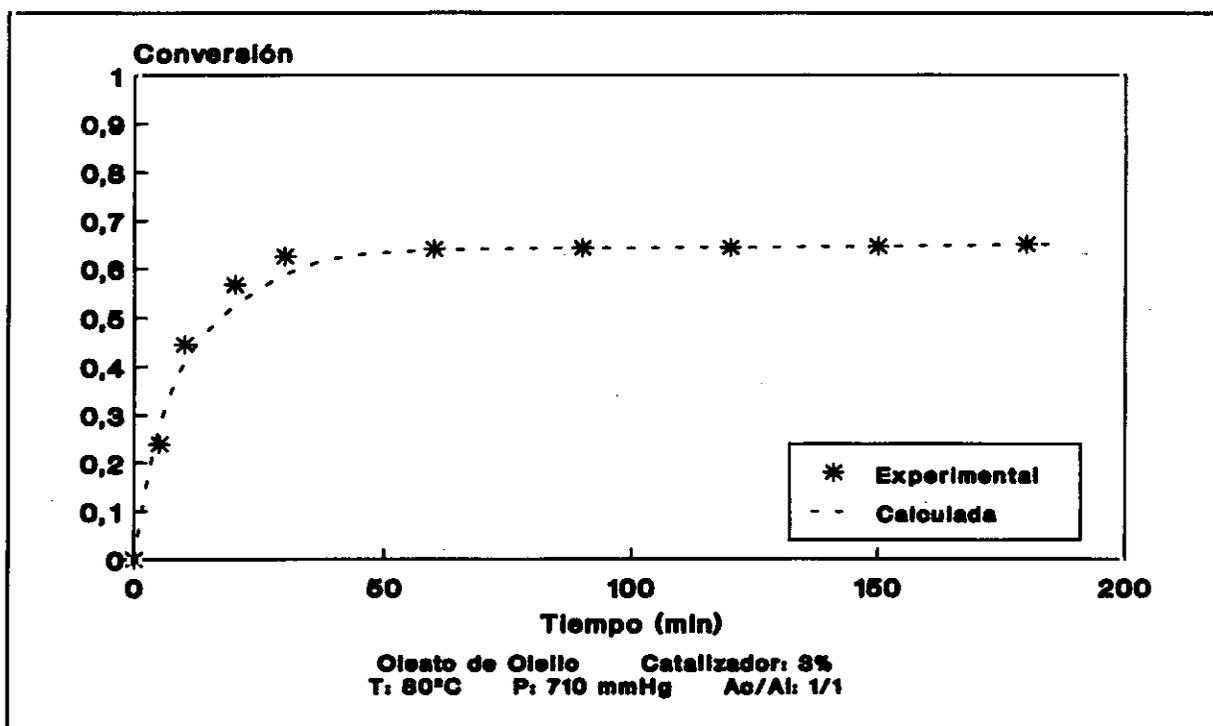


Figura 8.18. Simulación O17: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 80°C, 3% catalizador.

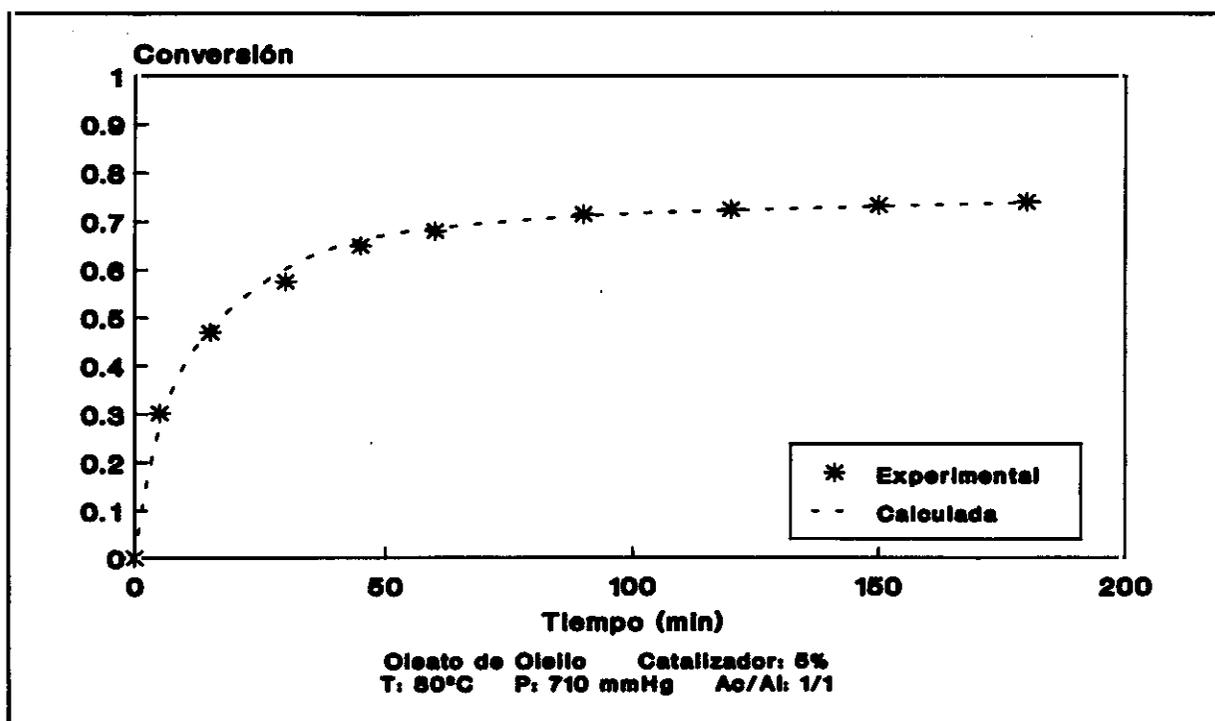


Figura 8.19. Simulación O18: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 80°C, 5% Catalizador.

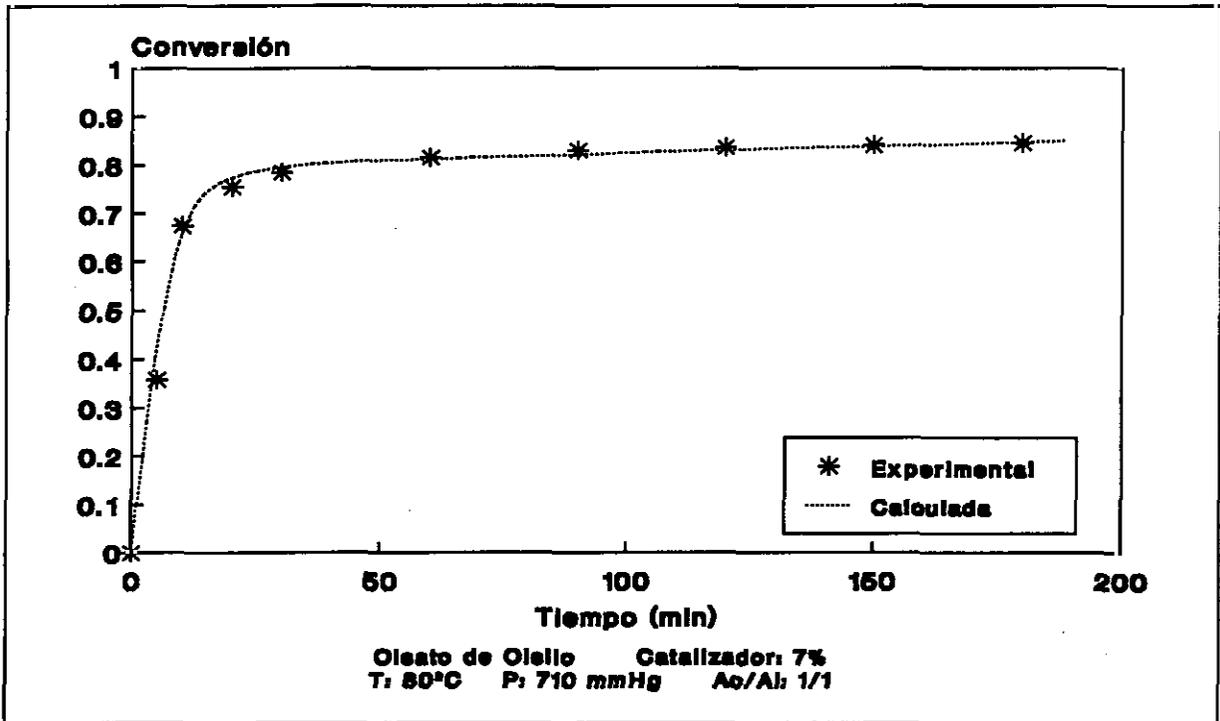


Figura 8.20. Simulación O19: Síntesis de Oleato de Oleilo, 710mmHg, 80°C, 7% Catalizador.

En las figuras de la 8.12 a la 8.20, se representan las curvas de simulación obtenidas mediante la aplicación del segundo modelo propuesto. Dichas curvas indican un bondad del modelo aceptable, comparadas con los resultados obtenidos experimentalmente.

Al igual que en el caso anterior, se llevó a cabo un análisis de residuos, referido a la conversión experimental. La figura 8.21 muestra dicho análisis. En ella puede observarse que en la mayoría de los casos el error cometido no sobrepasa el 20%, siendo el error medio del 10.41%, lo que da una idea de la exactitud del modelo a la hora de reproducir los resultados experimentales.

Por tanto puede suponerse que el modelo matemático obtenido se ajusta razonablemente a la ecuación cinética de la síntesis de oleato de oleilo catalizada por la lipasa comercial Lipozyme IM-20, cuando el sistema opera a presión atmosférica.

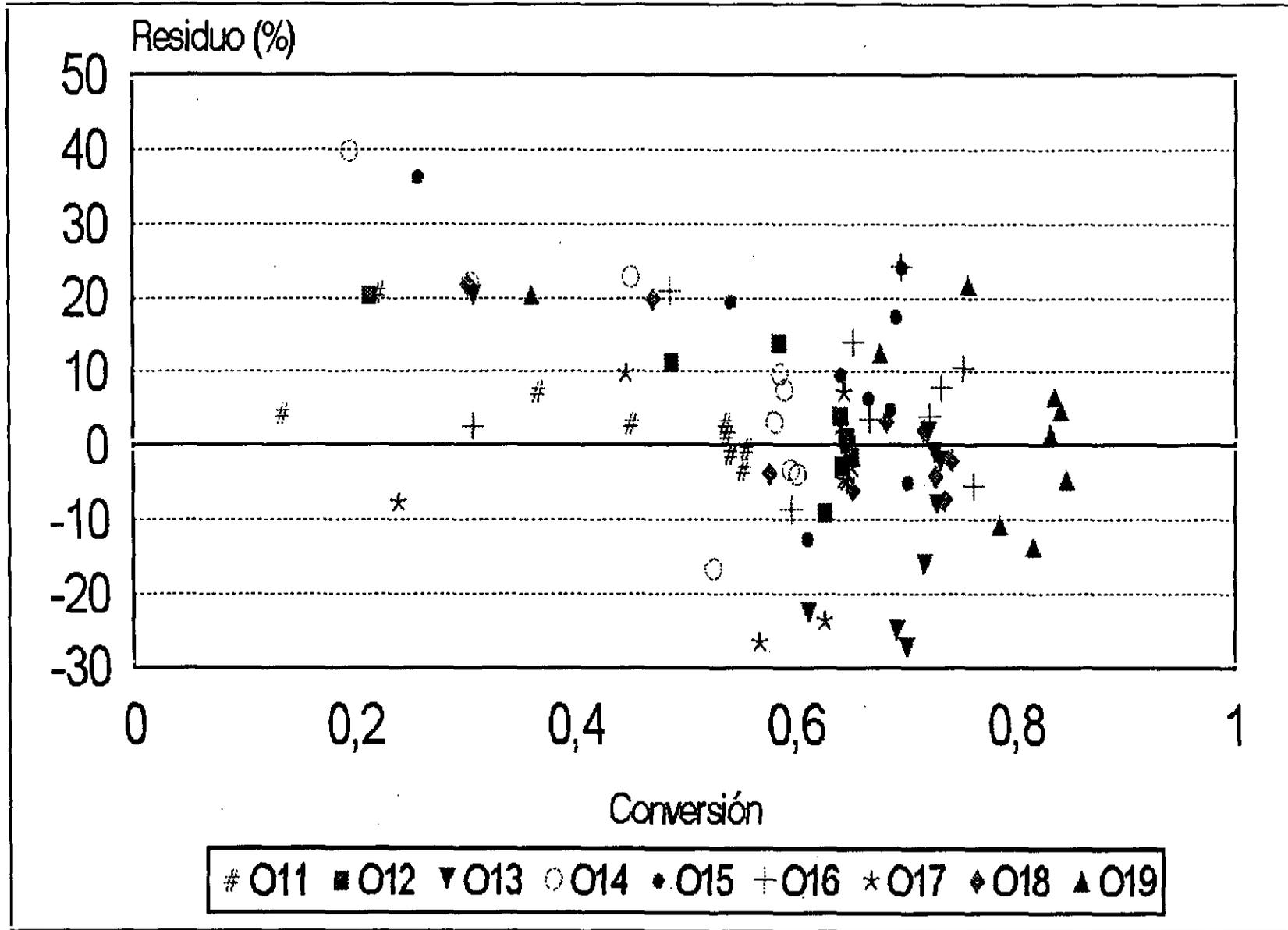


Figura 8.21. Análisis de residuos para la síntesis de Oleato de Oleilo en condiciones de reversibilidad.

8.2 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE CETILO

Al igual que para el sistema anterior, para la síntesis de oleato de cetilo se procedió a realizar la simulación de experimentos a partir de los modelos matemáticos desarrollados. Así en las figuras de la 8.22 a la 8.26, se presenta la simulación de los experimentos correspondientes al sistema operando en condiciones de irreversibilidad, mientras que en las figuras de la 8.27 a la 8.31 se muestran los experimentos realizados en condiciones de presión atmosférica.

A fin de cuantificar la bondad del modelo, se llevó a cabo el análisis de residuos correspondiente a cada uno de los datos experimentales medidos en las diferentes reacciones. Para ello se llevó a cabo la diferencia relativa existente entre el valor de conversión experimental y el valor de conversión calculado, referida a la conversión experimental, frente a los valores de la misma.

Los resultados de dicho análisis se muestran en la figura 8.32, revelándose en la mayoría de los casos un error no superior al 20% y una distribución de dichos residuos sin tendencias aparentes, lo que supone un ajuste razonable de los modelos propuestos. Concretamente, el error medio obtenido para todos los experimentos es del 12%, siendo para los experimentos realizados cuando el sistema opera en condiciones de irreversibilidad del 11%, mientras que cuando se trabaja en condiciones de presión atmosférica, el error medio alcanza el 12%.

Estos resultados indican que los modelos obtenidos pueden considerarse como ecuaciones cinéticas para el sistema de esterificación entre el ácido oleico y el alcohol cetílico catalizado por la lipasa inmovilizada de *Candida antarctica*, Novozym 435, por cuanto que los errores cometidos a la hora de predecir la conversión en función del tiempo de reacción no son representativos desde el punto de vista tanto del comportamiento del sistema de reacción como del cálculo de parámetros de diseño del reactor.

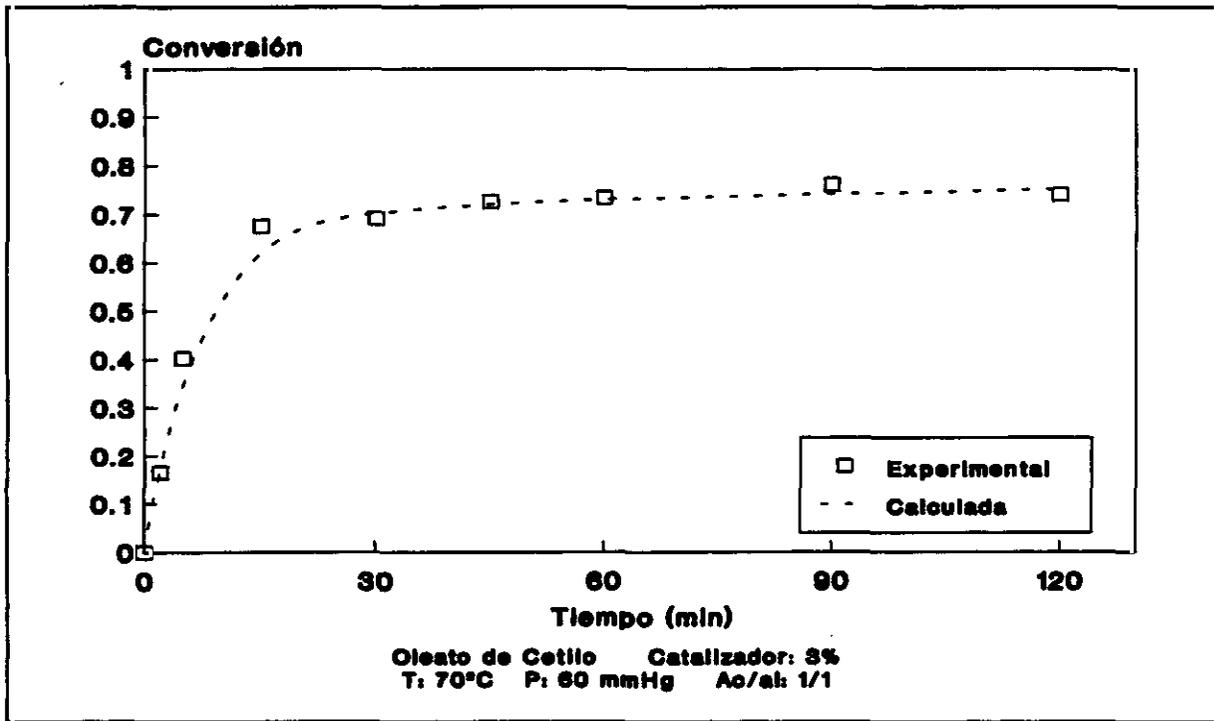


Figura 8.22. Simulación C1: Síntesis de Oleato de Cetilo, 60mmHg, 70°C, 3% catalizador.

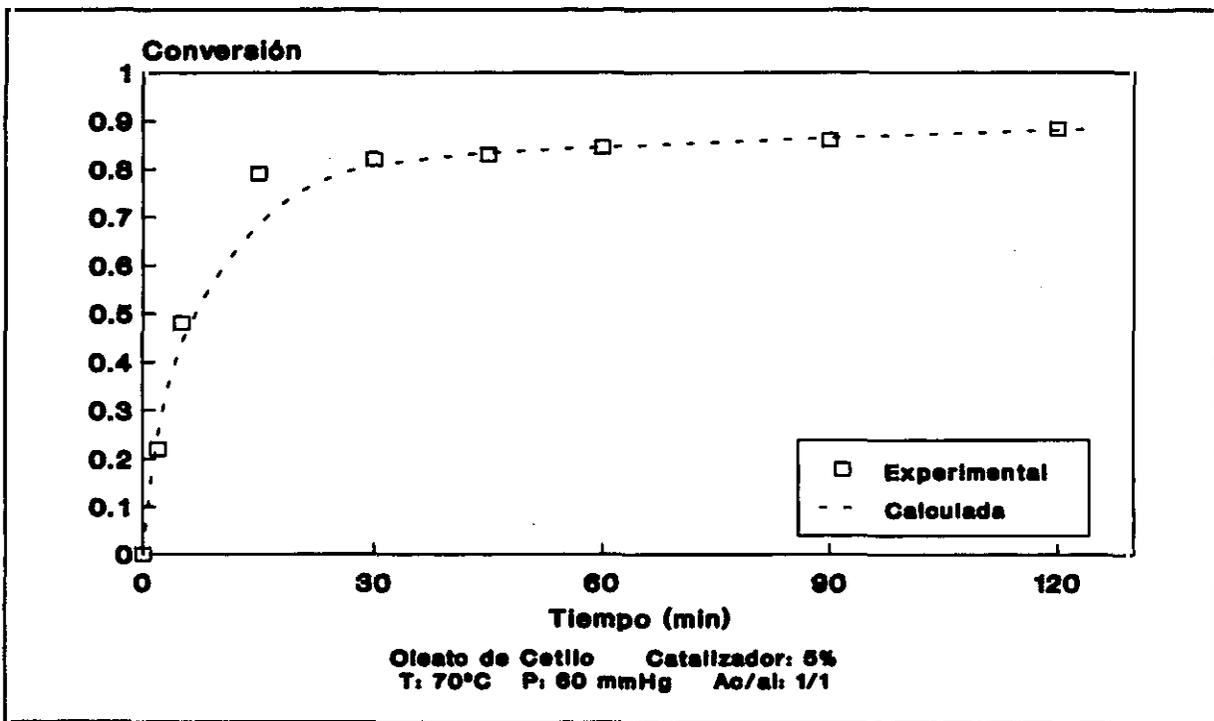


Figura 8.23. Simulación C2: Síntesis de Oleato de Cetilo, 60mmHg, 70°C, 5% Catalizador.

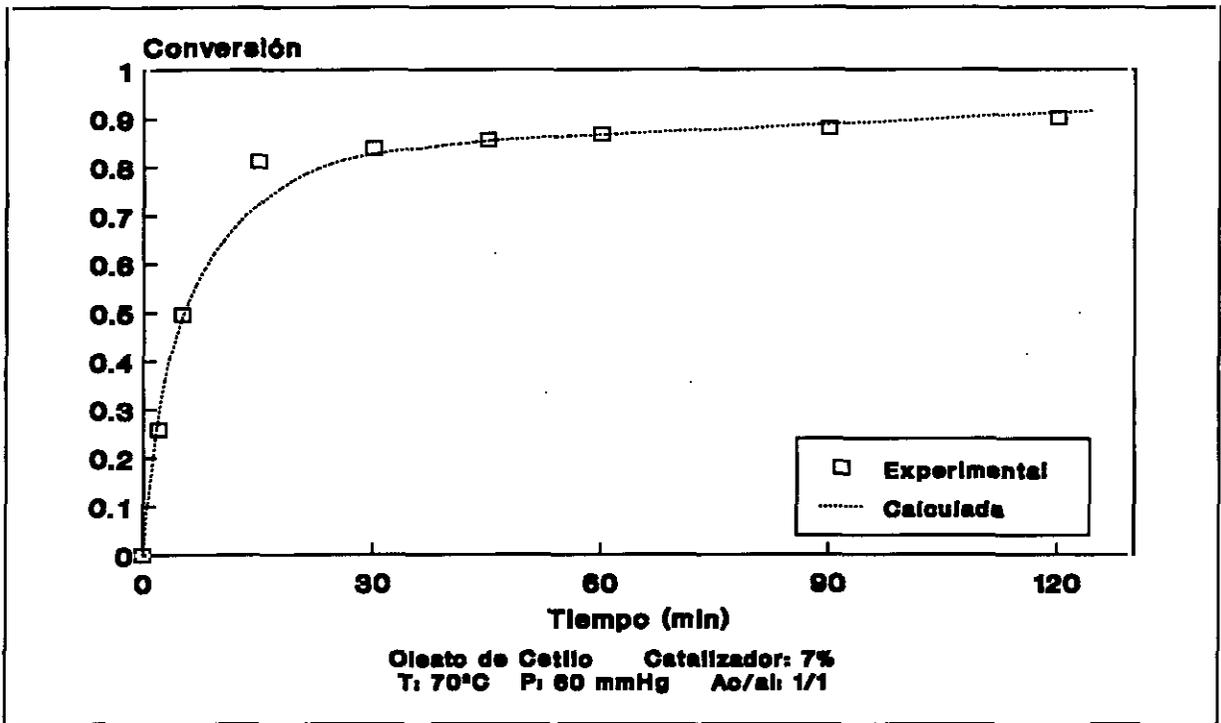


Figura 8.24. Simulación C3: Síntesis de Oleato de Cetilo, 60mmHg, 70°C, 7% catalizador.

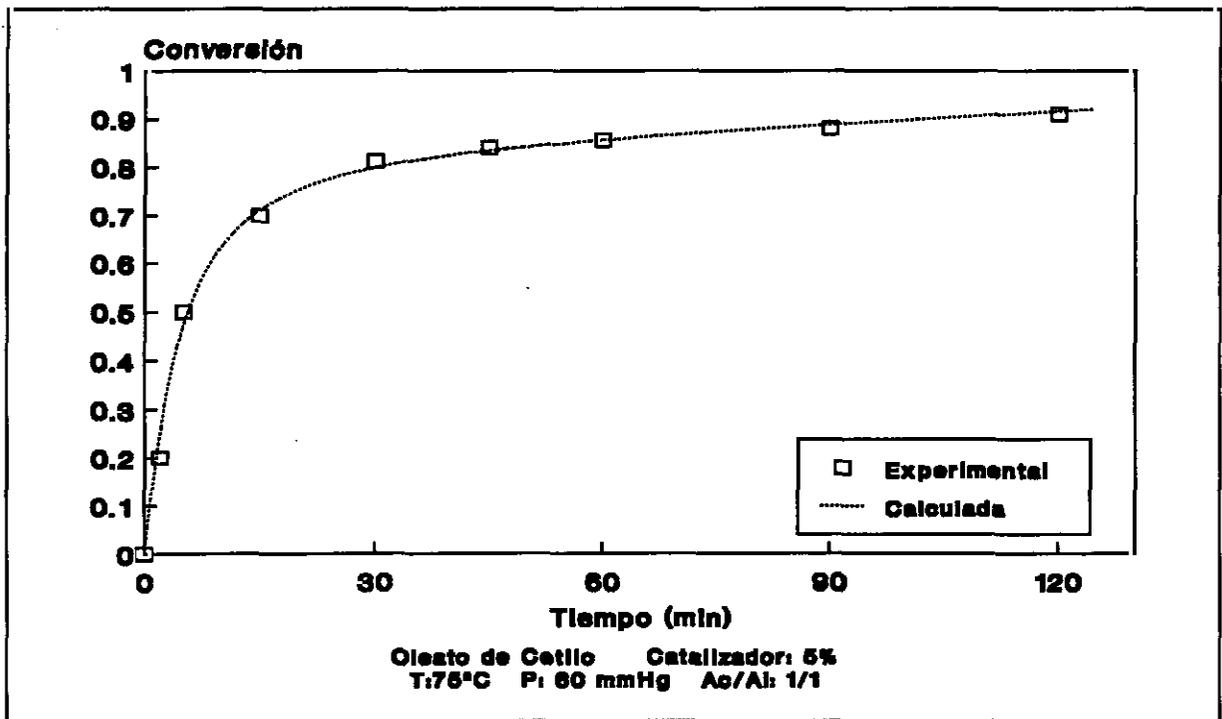


Figura 8.25. Simulación C4: Síntesis de Oleato de Cetilo, 60mmHg, 75°C, 5% Catalizador.

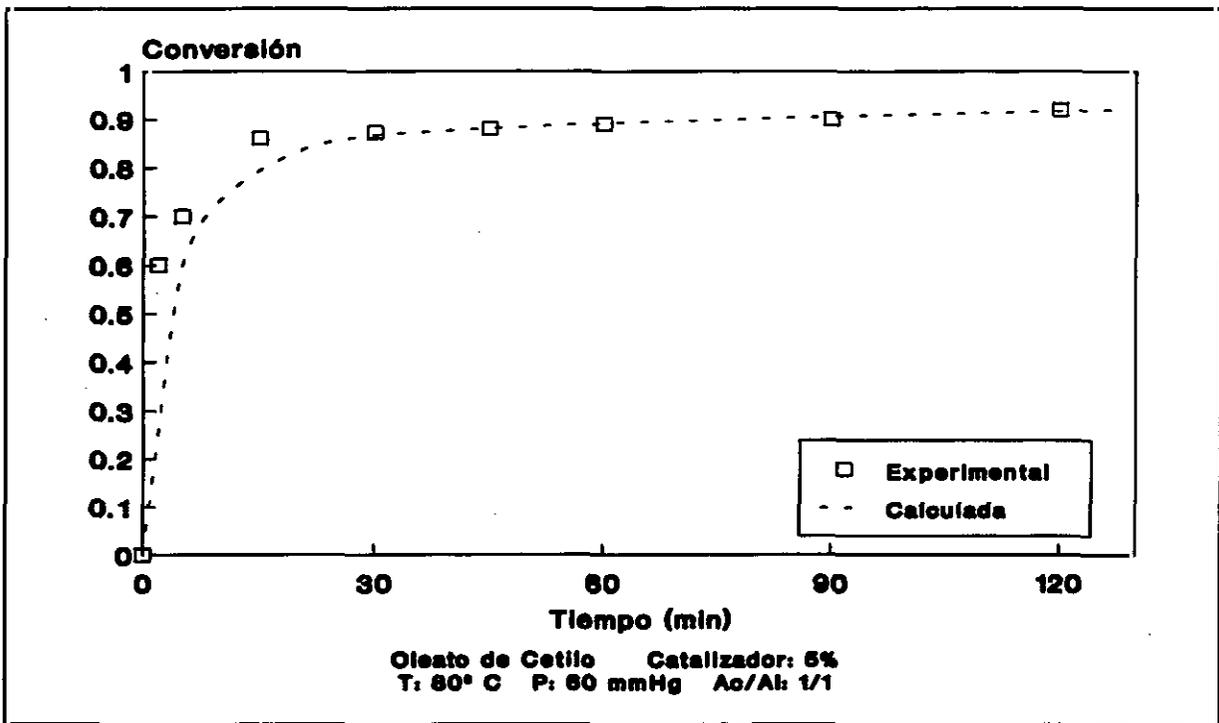


Figura 8.26. Simulación C5: Síntesis de Oleato de Cetilo, 60mmHg, 80°C, 5% catalizador.

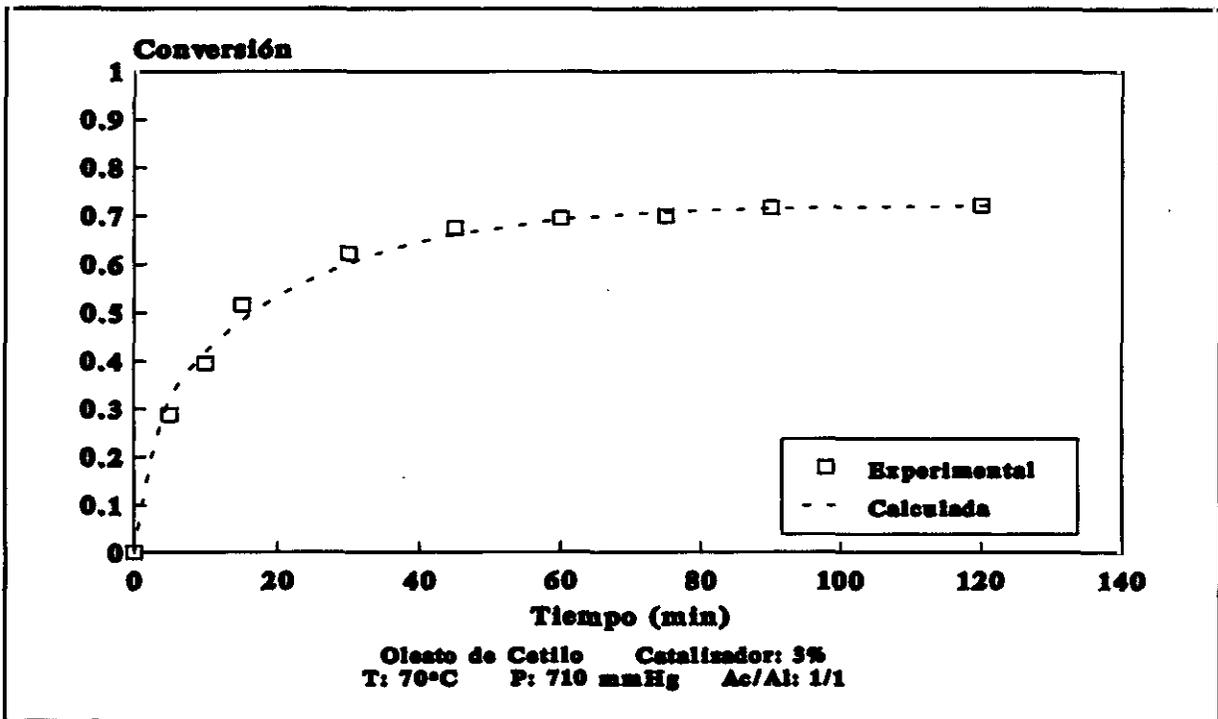


Figura 8.27. Simulación C6: Síntesis de Oleato de Cetilo, 710mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

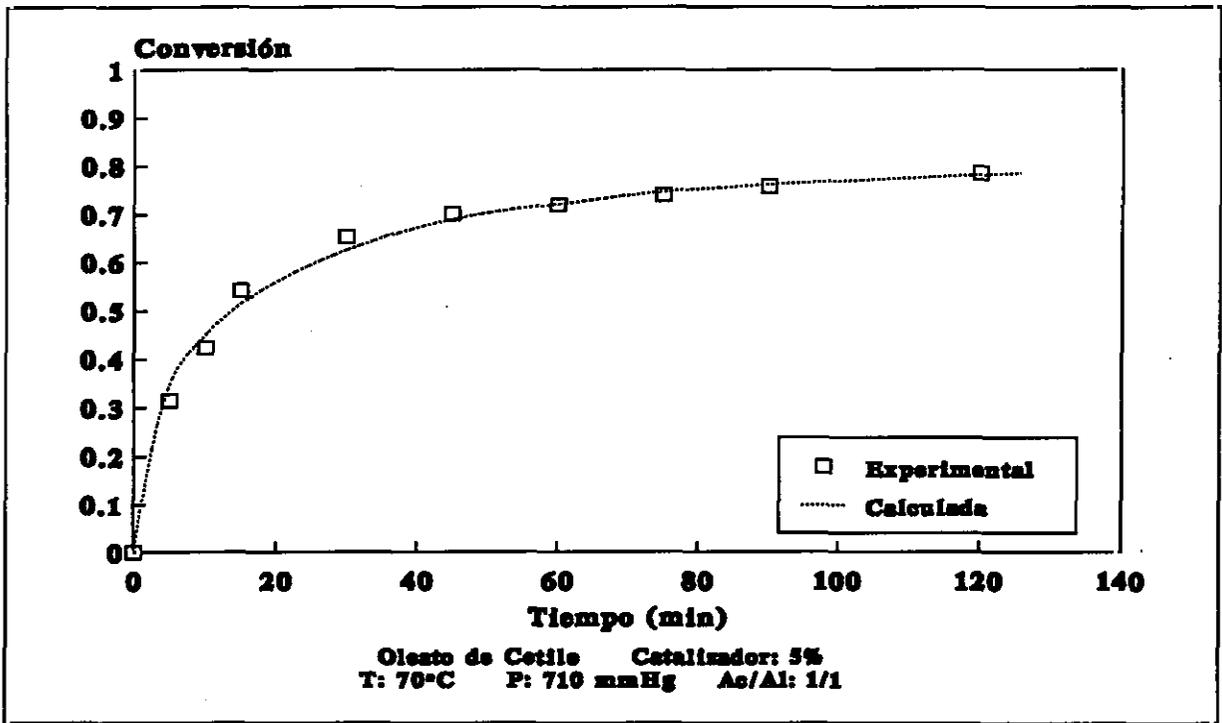


Figura 8.28. Simulación C7: Síntesis de Oleato de Cetilo, 710mmHg, 70°C, 5% catalizador.

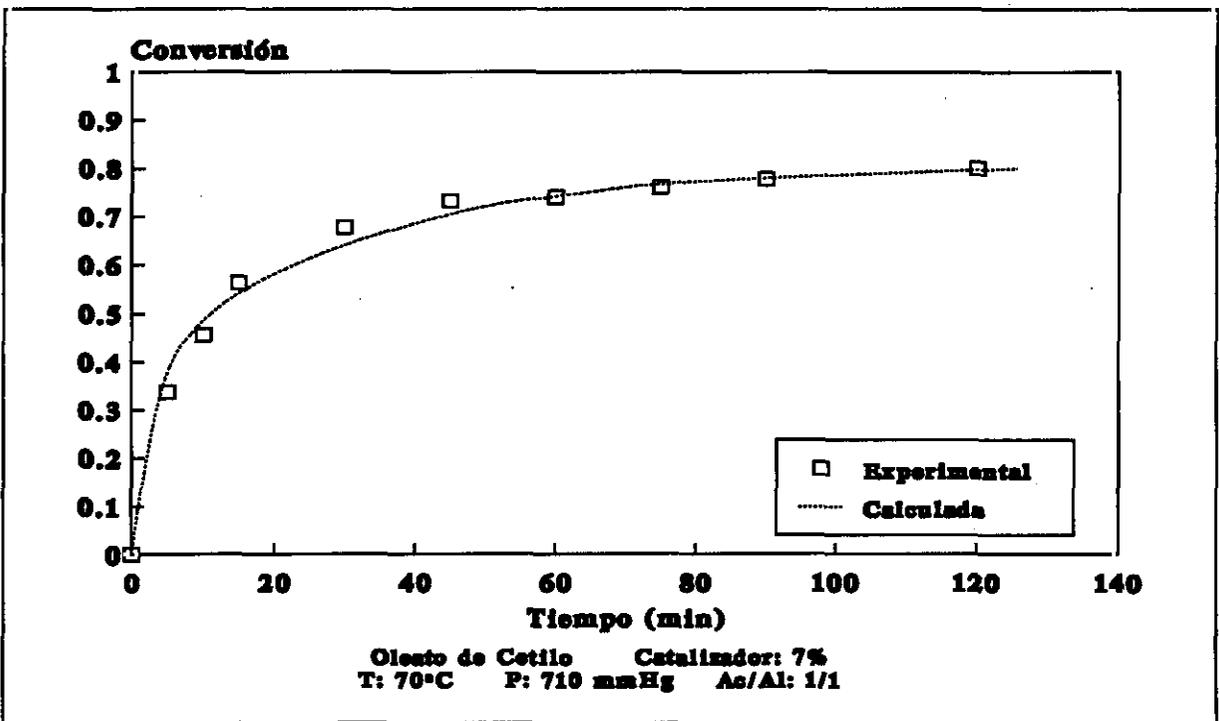


Figura 8.29. Simulación C8: Síntesis de Oleato de Cetilo, 710mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

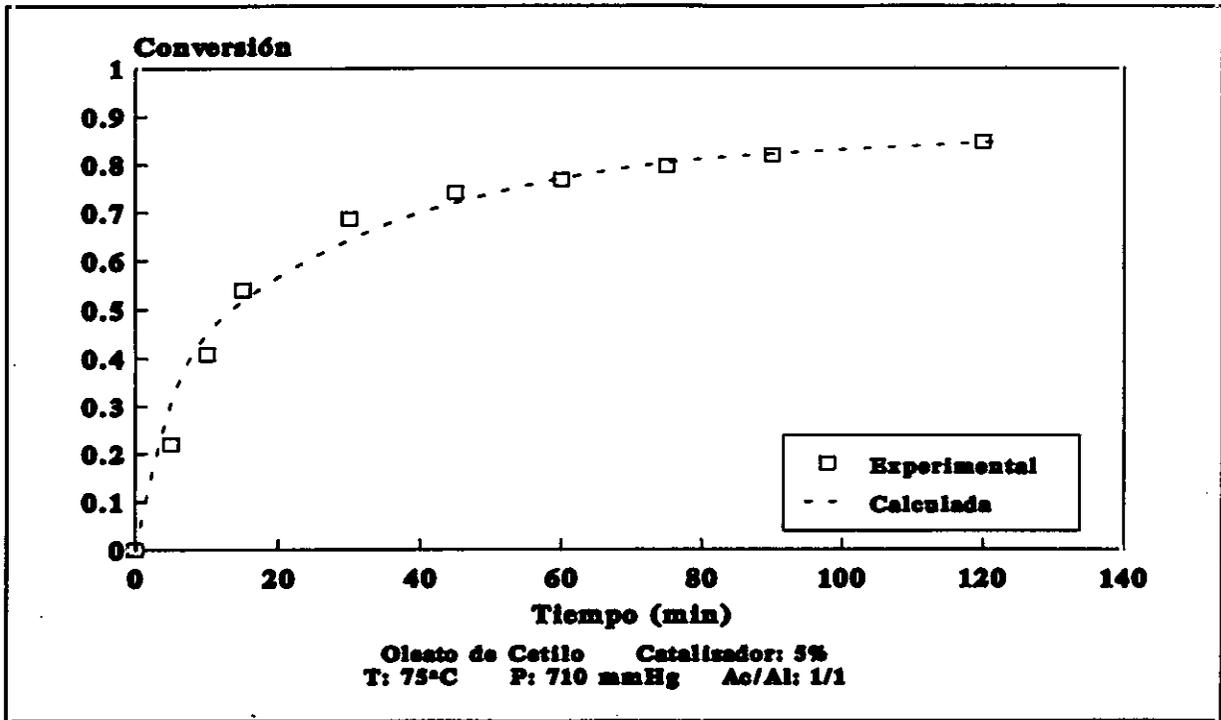


Figura 8.30. Simulación C9: Síntesis de Oleato de Cetilo, 710mmHg, 75°C, 5% catalizador.

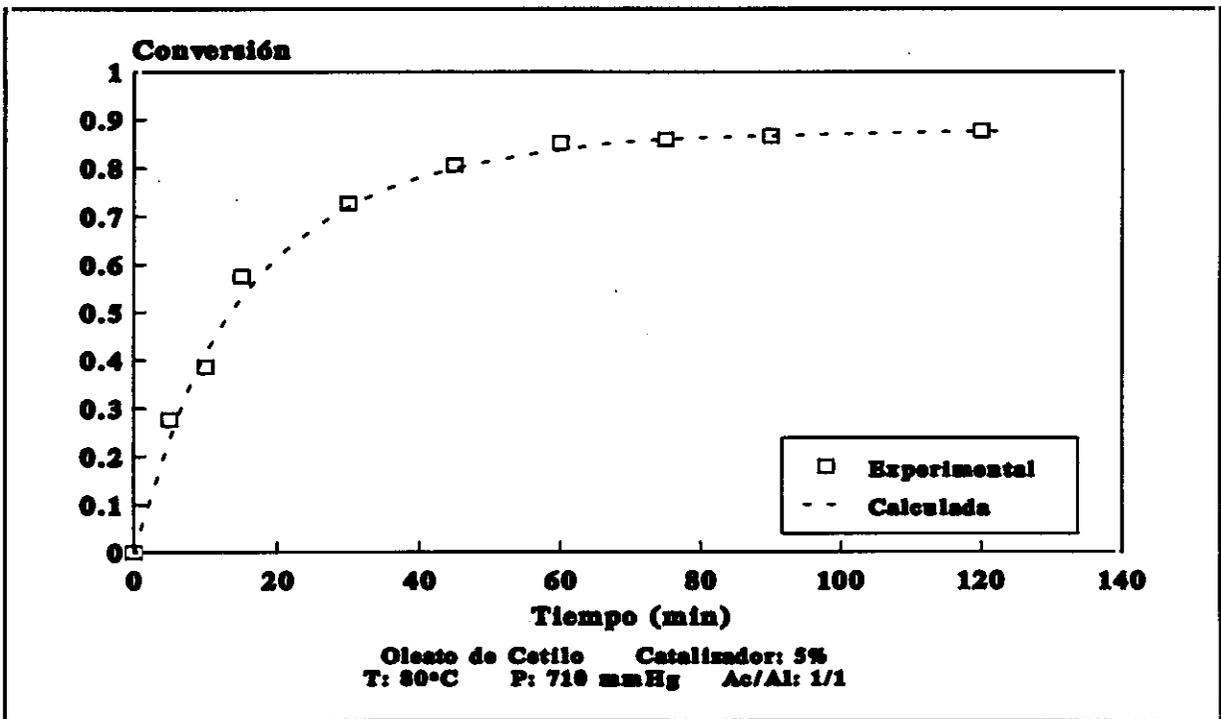


Figura 8.31. Simulación C10: Síntesis de Oleato de Cetilo, 710mmHg, 80°C, 5% Catalizador.

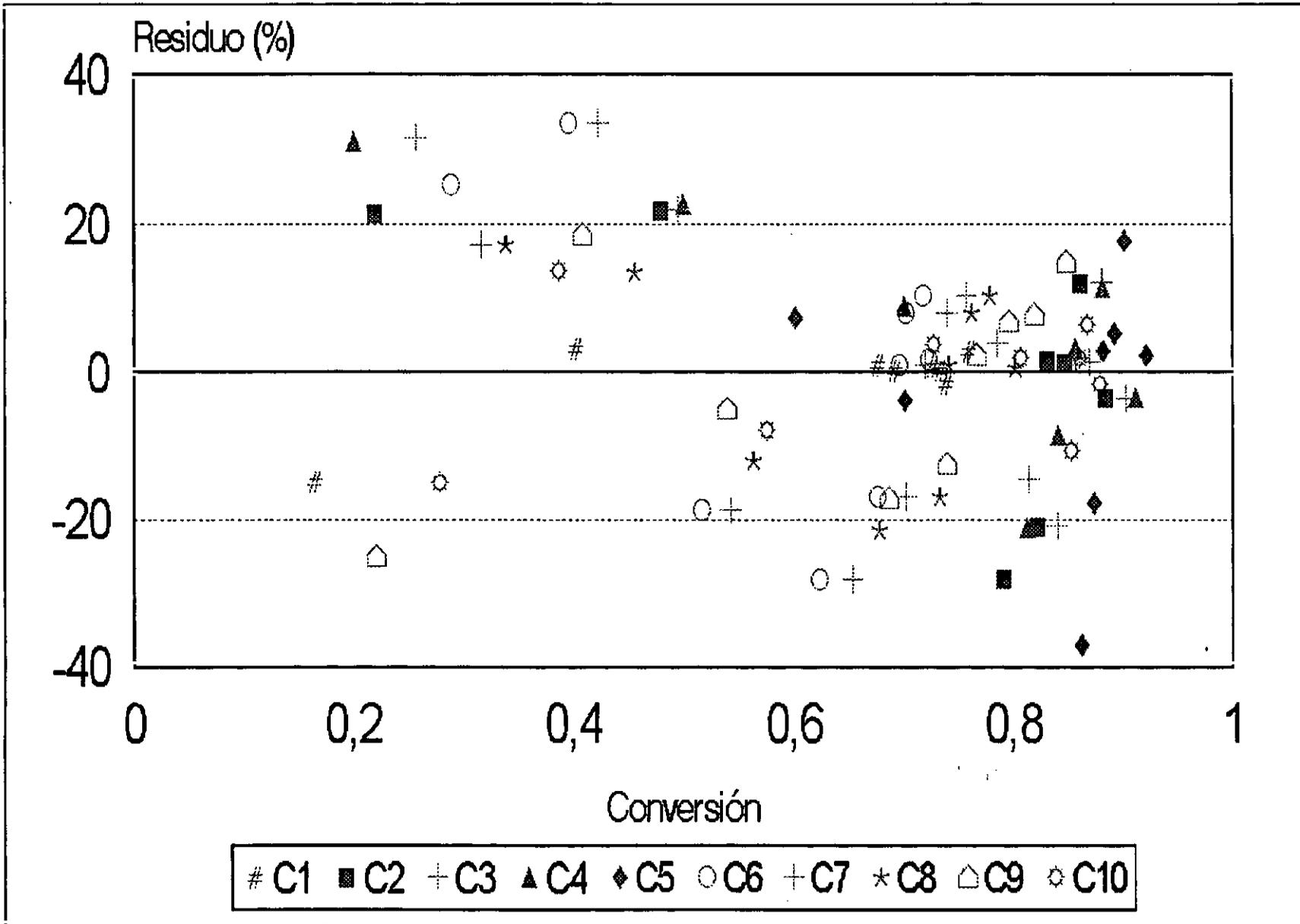


Figura 8.32. Análisis de Residuos para la Síntesis de Oleato de Cetilo.

8.3 SIMULACION DE LA SINTESIS DE MIRISTATO DE MIRISTILO

Análogamente a los casos anteriores, se llevó a cabo la simulación de experimentos para el sistema de esterificación entre el ácido mirístico y alcohol mirístico, empleando como catalizador enzimático inmovilizado, la lipasa de *Candida antarctica*, conocida comercialmente con el nombre de Novozym 435. Las figuras de la 8.33 a la 8.37 muestran las curvas de simulación empleando el modelo obtenido cuando las condiciones de operación permiten trabajar de forma irreversible, mientras que las figuras de la 8.38 a la 8.42 muestran las curvas correspondientes a los experimentos realizados a presión atmosférica. A simple vista puede suponerse que ambos modelos predicen razonablemente los resultados experimentalmente obtenidos.

Dicha suposición se ve avalada por los resultados obtenidos al realizar el correspondiente análisis de residuos (ver figura 8.43), mediante el cual se han calculado los errores relativos para cada una de las conversiones obtenidas aplicando los modelos matemáticos propuestos, y comparándolas con las medidas experimentales a lo largo del tiempo del tiempo.

Como puede observarse en dicho análisis, la mayoría de los residuos no alcanzan el 20%, siendo el valor medio de los mismos de un 9%. Si se consideran por separado los residuos calculados para cada modelo propuesto, se observa un ligero aumento del error para el modelo que considera la reacción en condiciones de reversibilidad. Así el error medio obtenido para el modelo que considera presión reducida, es tan sólo del 8%, mientras que cuando se opera a presión atmosférica, el modelo proporciona un error medio que alcanza el 9%.

Sin embargo, en ambos casos puede considerarse que los errores cometidos no representan grandes diferencias con los resultados experimentales. Por tanto los dos modelos pueden considerarse como suficientemente válidos para una predicción adecuada del campo experimental ensayado.

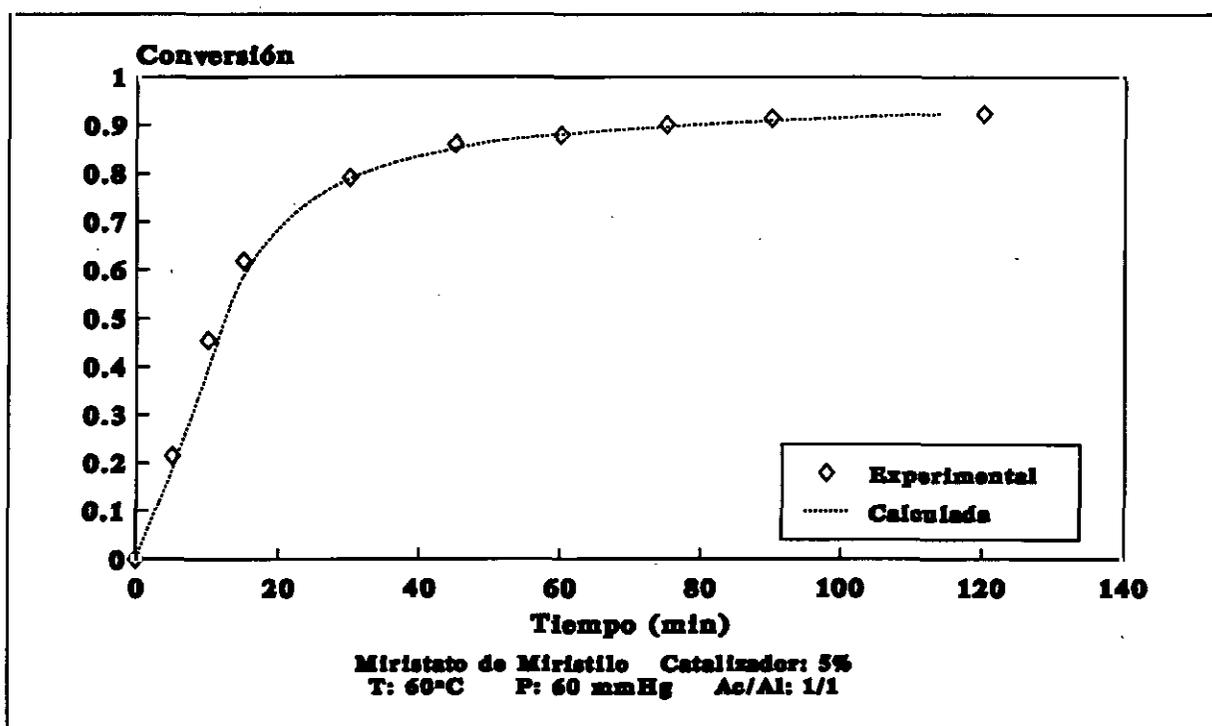


Figura 8.33. Simulación M1: Síntesis de Miristato de Miristilo, 60mmHg, 60°C, 5% catalizador.

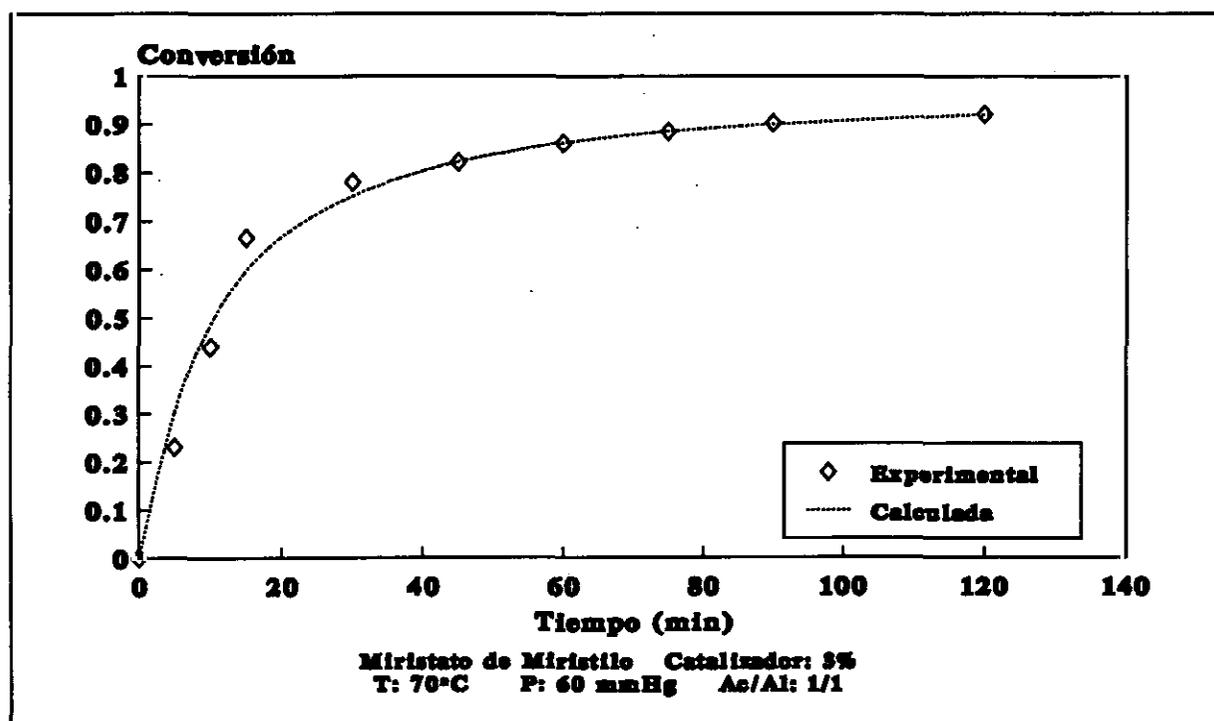


Figura 8.34. Simulación M2: Síntesis de Miristato de Miristilo, 60mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

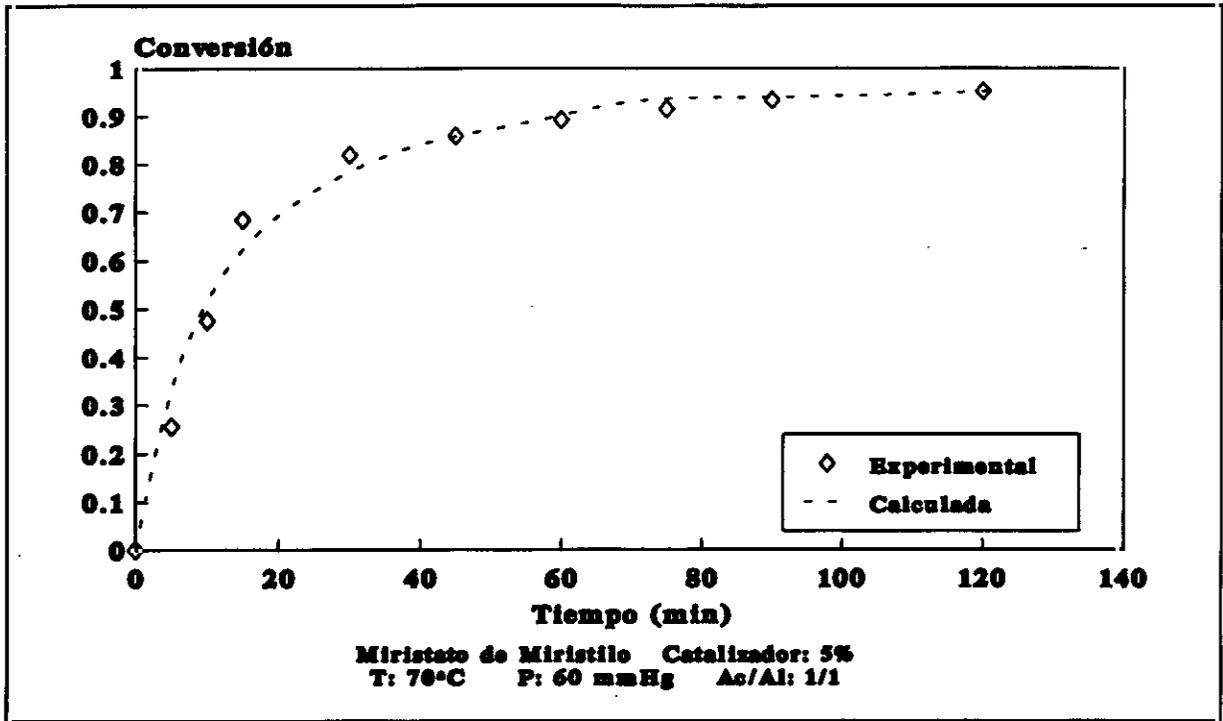


Figura 8.35. Simulación M3: Síntesis de Miristato de Miristilo, 60mmHg, 70°C, 5% catalizador.

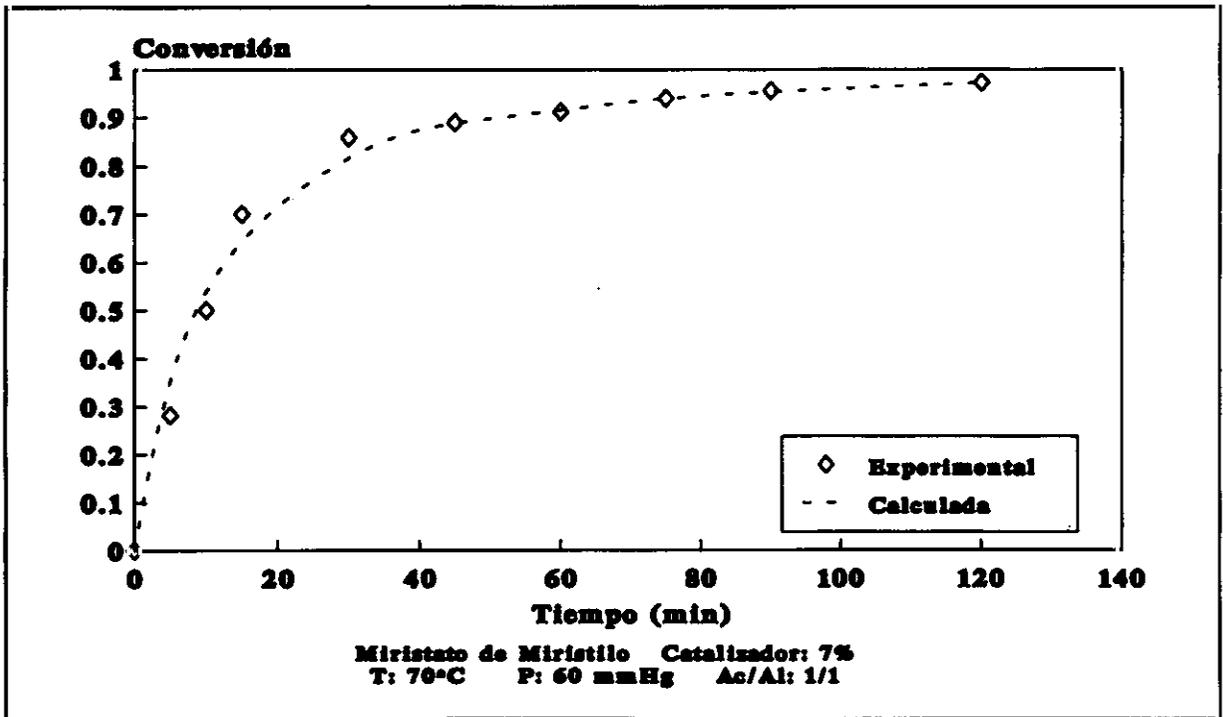


Figura 8.36. Simulación M4: Síntesis de Miristato de Miristilo, 60mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

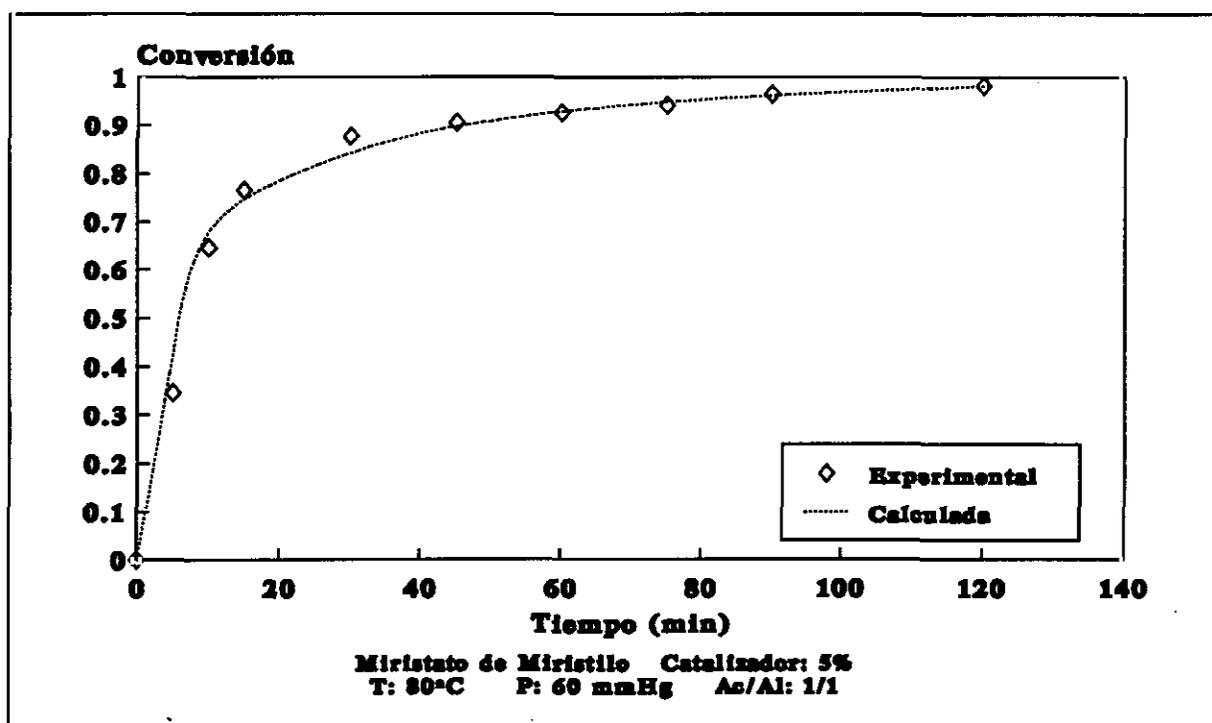


Figura 8.37. Simulación M5: Síntesis de Miristato de Miristilo, 60mmHg, 80°C, 5% catalizador.

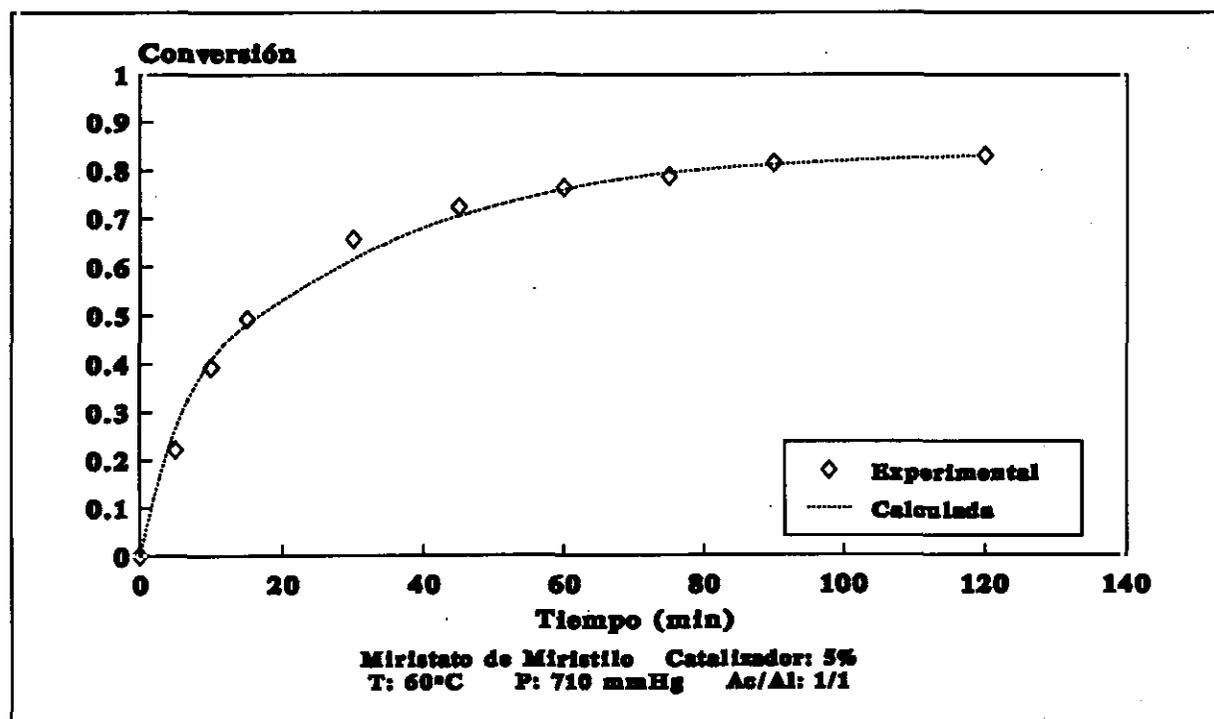


Figura 8.38. Simulación M6: Síntesis de Miristato de Miristilo, 710mmHg, 60°C, 5% Catalizador.

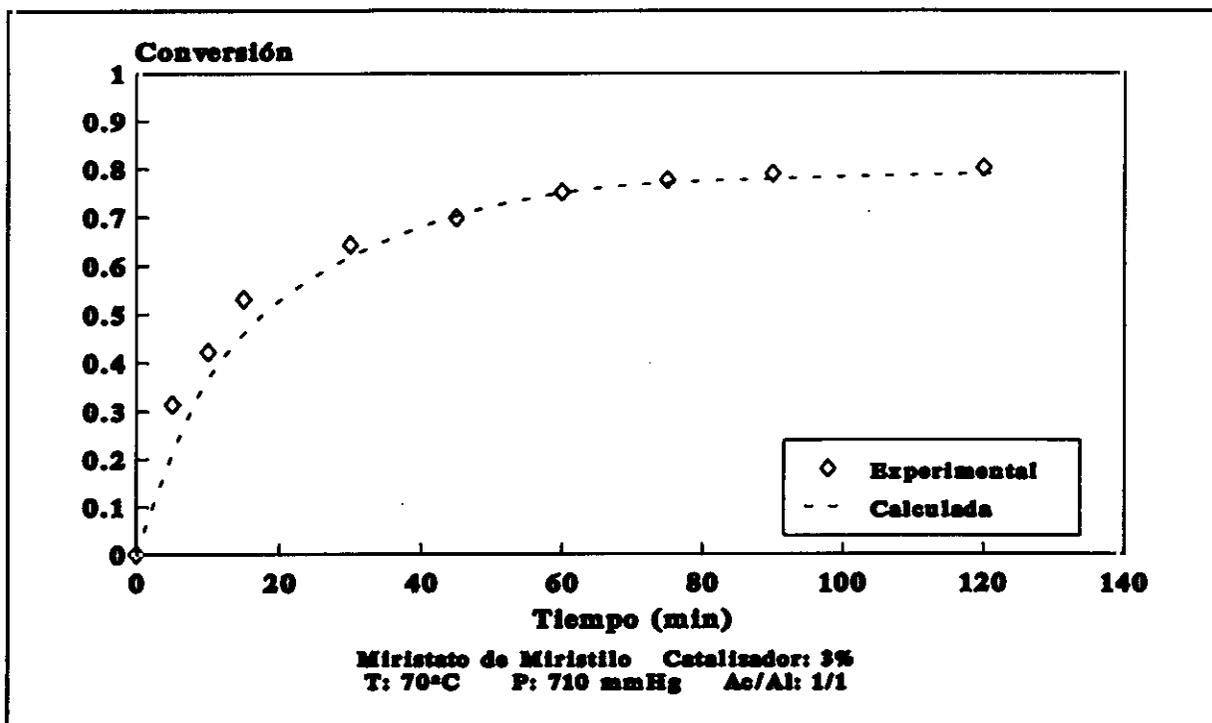


Figura 8.39. Simulación M7: Síntesis de Miristato de Miristilo, 710mmHg, 70°C, 3% catalizador.

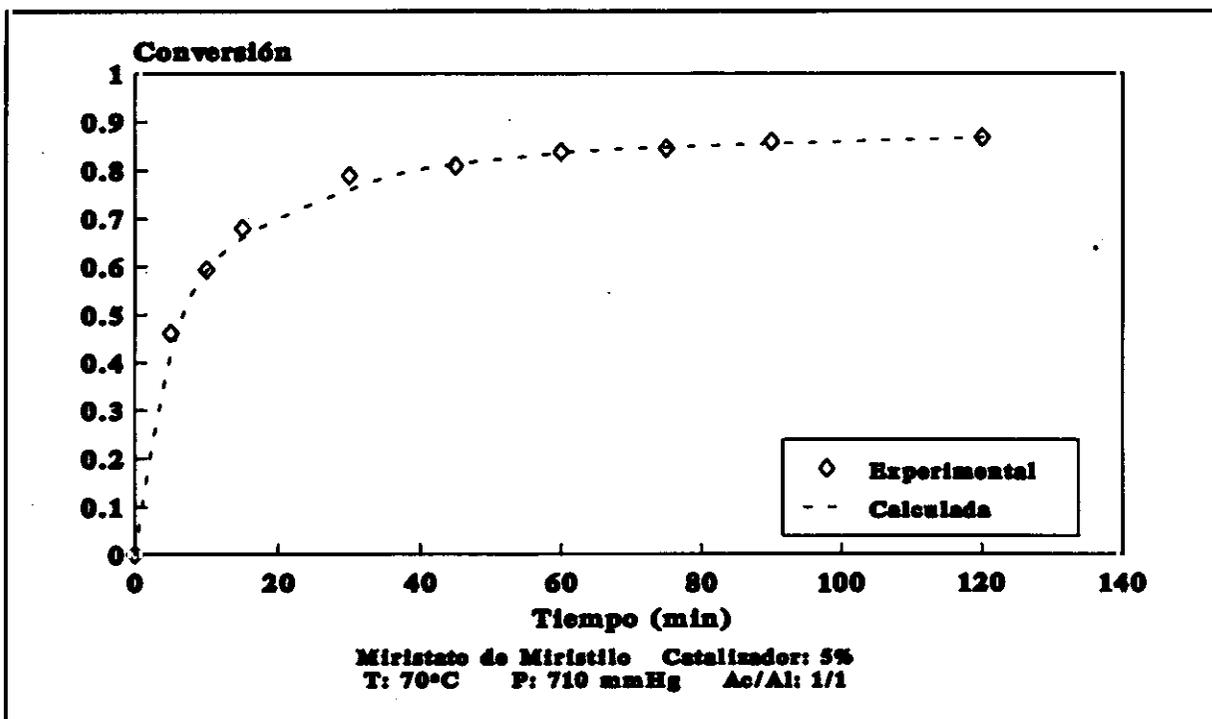


Figura 8.40. Simulación M8: Síntesis de Miristato de Miristilo, 710mmHg, 70°C, 5% Catalizador.

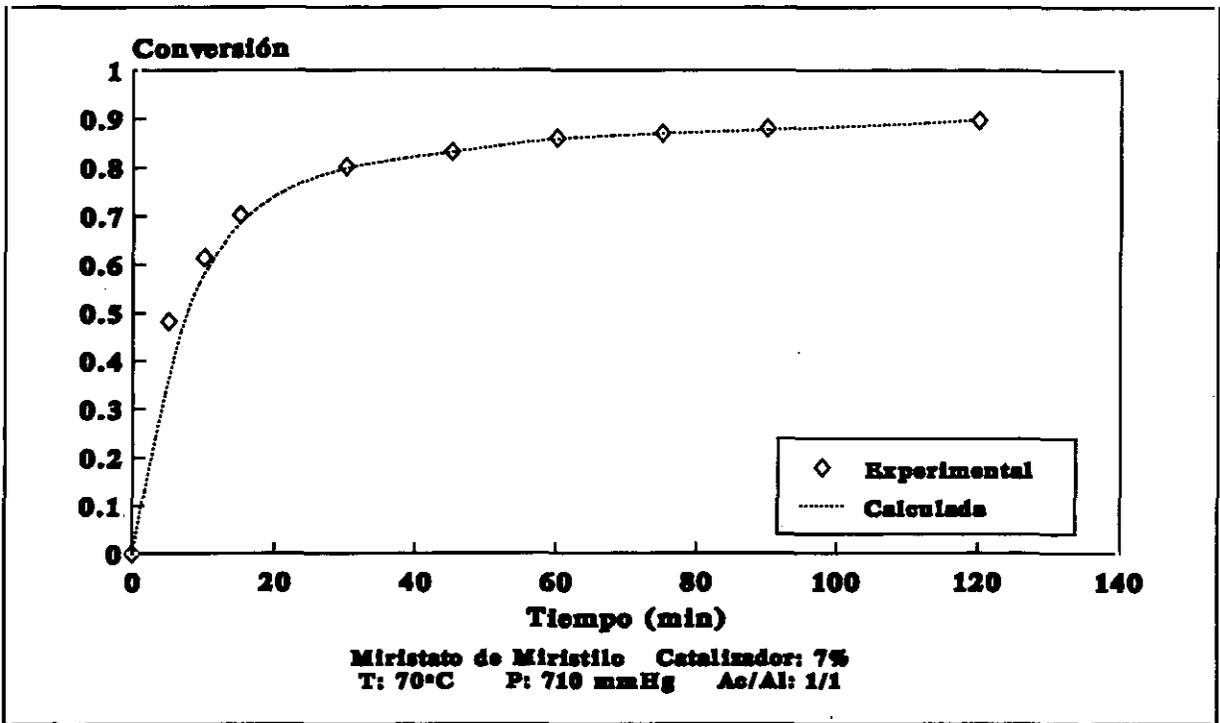


Figura 8.41. Simulación M9: Síntesis de Miristato de Miristilo, 710mmHg, 70°C, 7% catalizador.

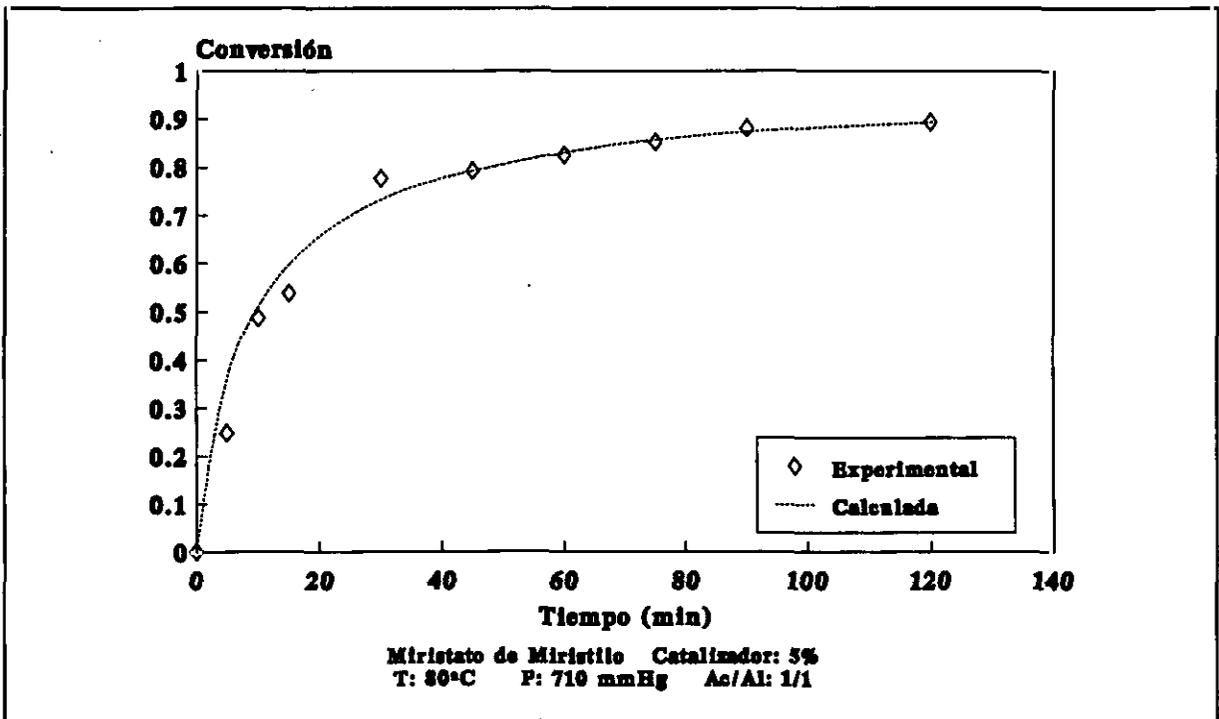


Figura 8.42. Simulación M10: Síntesis de Miristato de Miristilo, 710mmHg, 80°C, 5% Catalizador.

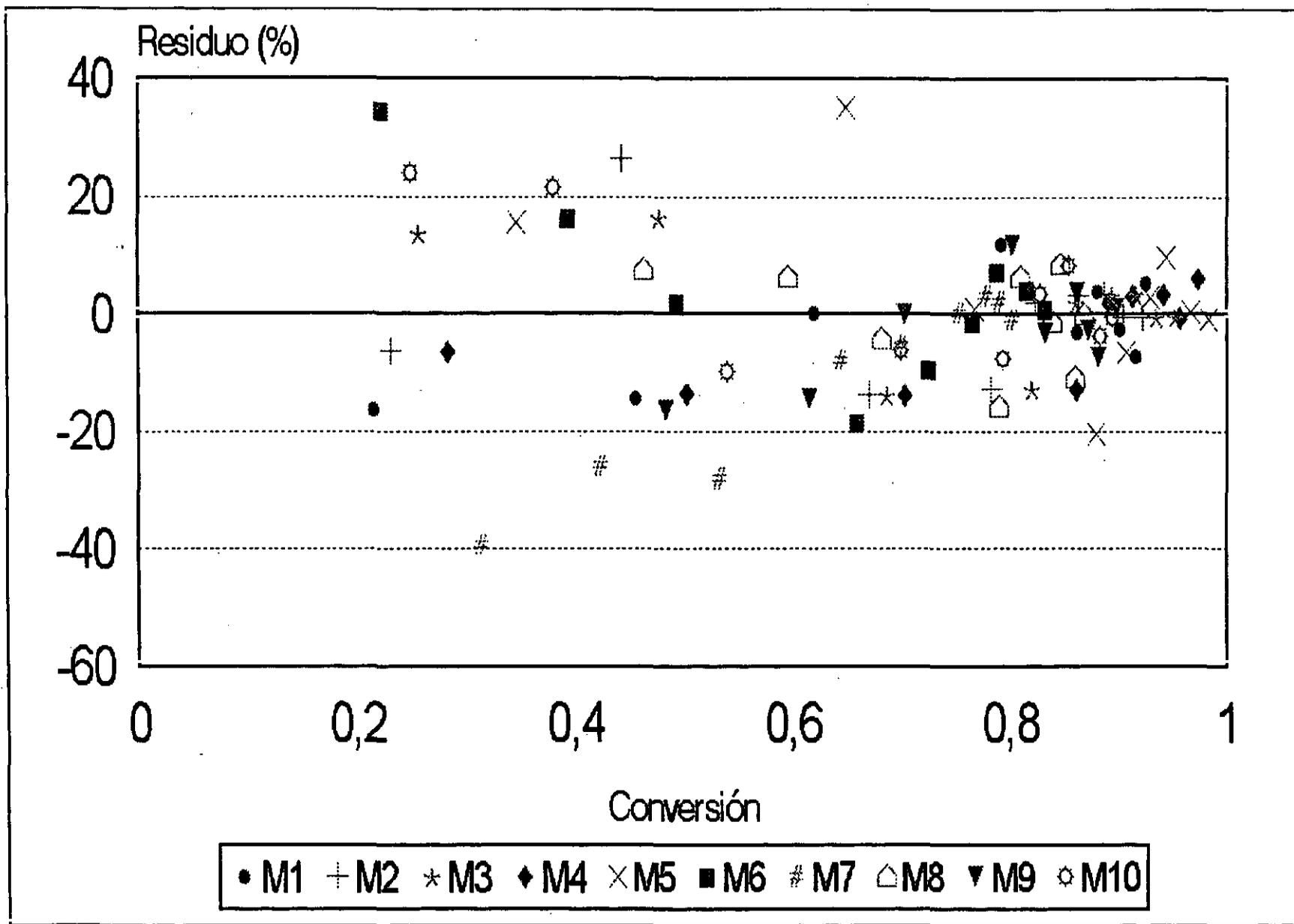


Figura 8.43. Análisis de Residuos para la Síntesis de Ministato de Ministilo.

8.4 SIMULACION DE LA SINTESIS DE OLEATO DE ISOPROPILO

La simulación de los experimentos realizados para la esterificación del ácido oleico con alcohol isopropílico, empleando como catalizador la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada, se muestra en las figuras 8.44 a 8.48, en las que se puede apreciar una predicción adecuada de los resultados experimentales.

En este caso, sólo se ha obtenido un modelo matemático que contempla el sistema de reacción en condiciones de equilibrio reversible, puesto que la naturaleza de los reactivos impide la posibilidad de operar a presión reducida para desplazar el equilibrio mediante la eliminación de agua en continuo. Sin embargo, el modelo se ha obtenido considerando que el sistema se comporta como si la reacción fuese irreversible, lo que significa que la reacción inversa o de hidrólisis es despreciable frente a la reacción de esterificación. Según esto, las conversiones obtenidas concuerdan con los resultados experimentales, dando lugar a un desplazamiento casi total del equilibrio de reacción hacia la formación de los productos deseados.

La cuantificación del error cometido al aplicar el modelo matemático propuesto, se llevó a cabo mediante el análisis de residuos que se presenta en la figura 8.49. En dicha figura se representa el residuo como el valor porcentual calculado como la diferencia entre el valor de la conversión experimental y el valor de la conversión obtenida al aplicar el modelo propuesto para el mismo tiempo de reacción, referida al valor de la conversión experimental.

En dicho análisis puede observarse que la mayoría de los residuos están por debajo del 15%, obteniéndose un error medio para todos los valores calculados de un 9.95%, lo que indica que la predicción de la conversión en función del tiempo mediante el modelo propuesto, tiene una validez razonablemente buena para los objetivos perseguidos.

Por otra parte, los resultados corroboran la posibilidad de considerar el sistema como irreversible, al menos dentro de los intervalos fijados para las condiciones de operación que gobiernan el proceso.

Según esto, el modelo matemático propuesto describe adecuadamente los datos experimentales, por lo que puede ser considerado como válido como modelo cinético para la reacción de esterificación entre ácido oleico e isopropanol catalizada por el sistema comercial Novozym 435.

Por lo tanto, el modelo podrá aplicarse desde el punto de vista cinético, como base para el diseño del reactor donde se vaya a llevar a cabo la reacción, así como una fuente fiable de datos a la hora de diseñar y predecir su comportamiento, desde el punto de vista de la instrumentación y el control del sistema.

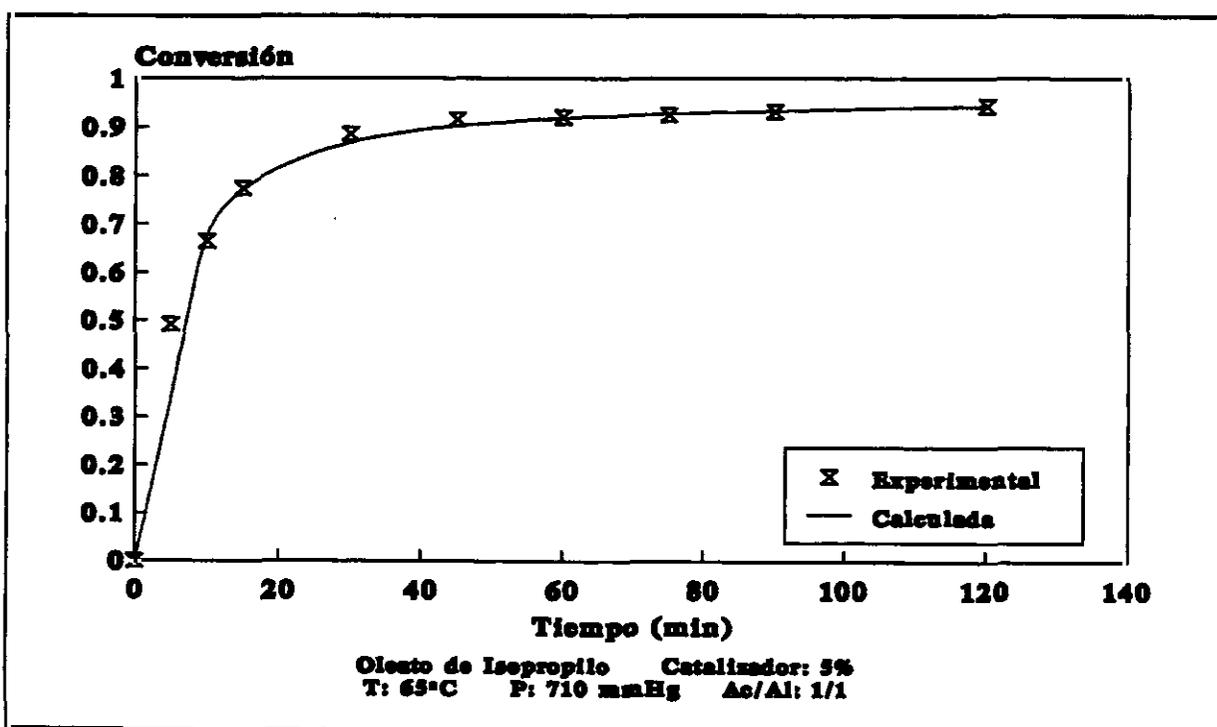


Figura 8.44. Simulación I1: Síntesis de Oleato de Isopropilo, 710mmHg, 65°C, 5% catalizador.

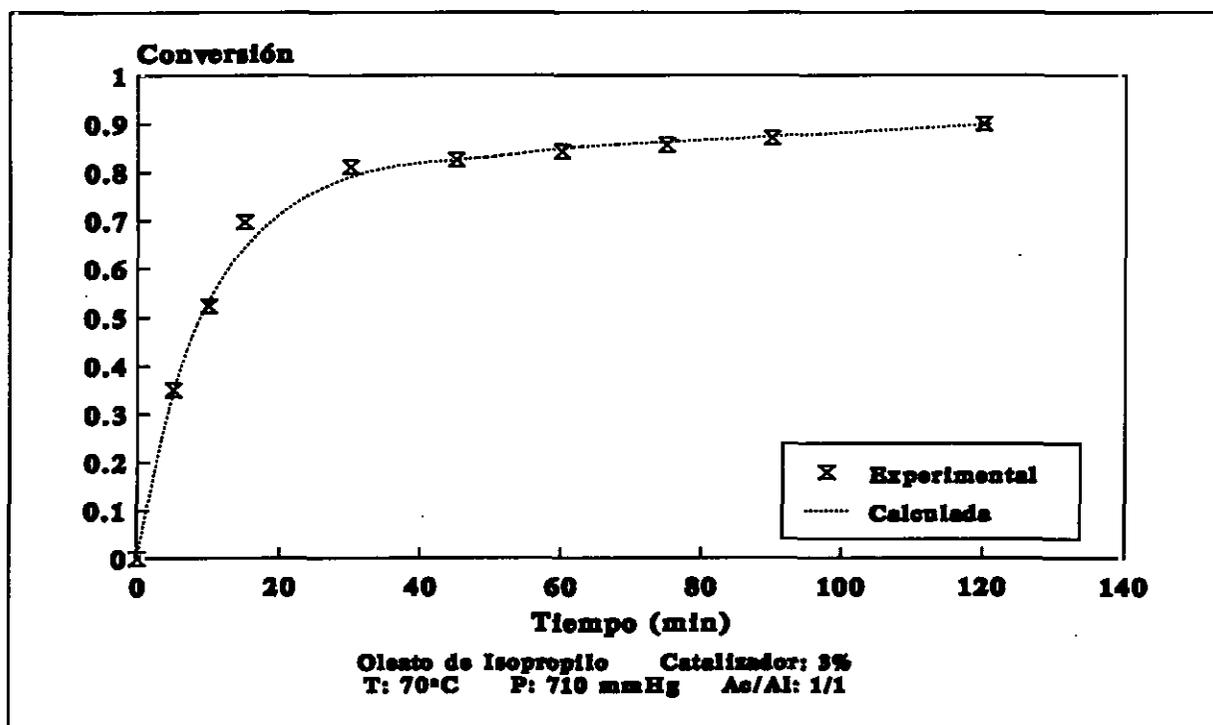


Figura 8.45. Simulación I2: Síntesis de Oleato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

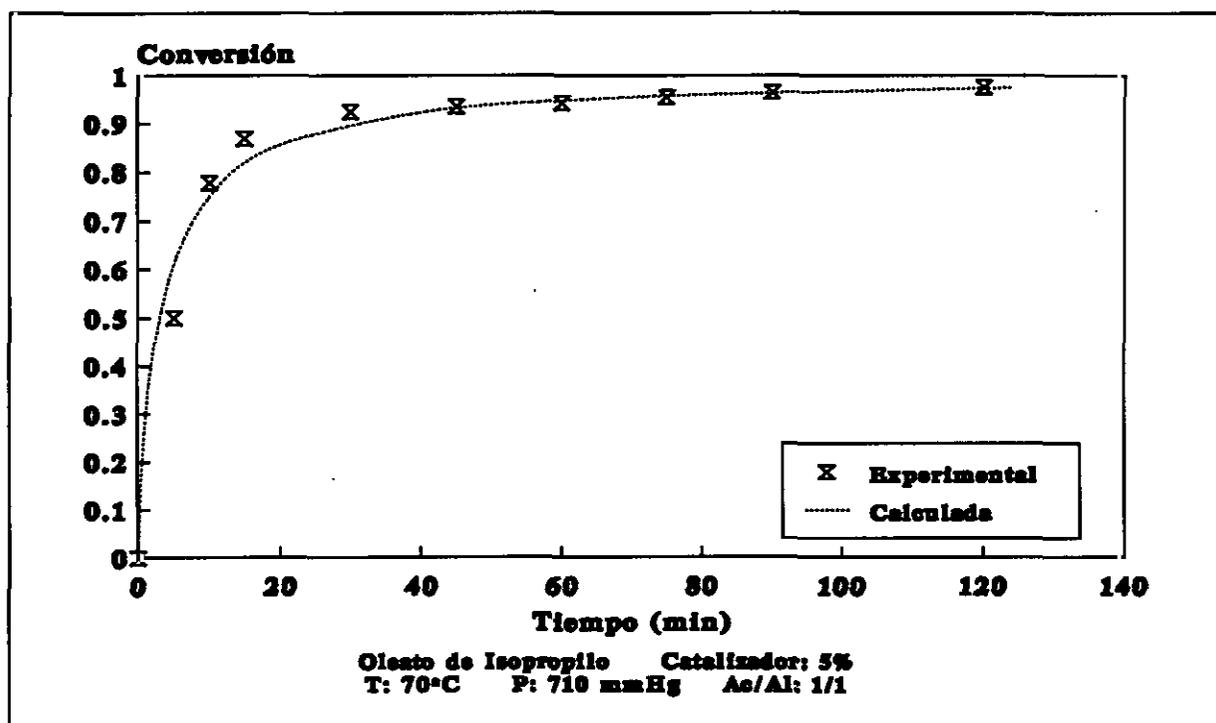


Figura 8.46. Simulación I3: Síntesis de Oleato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 5% catalizador.

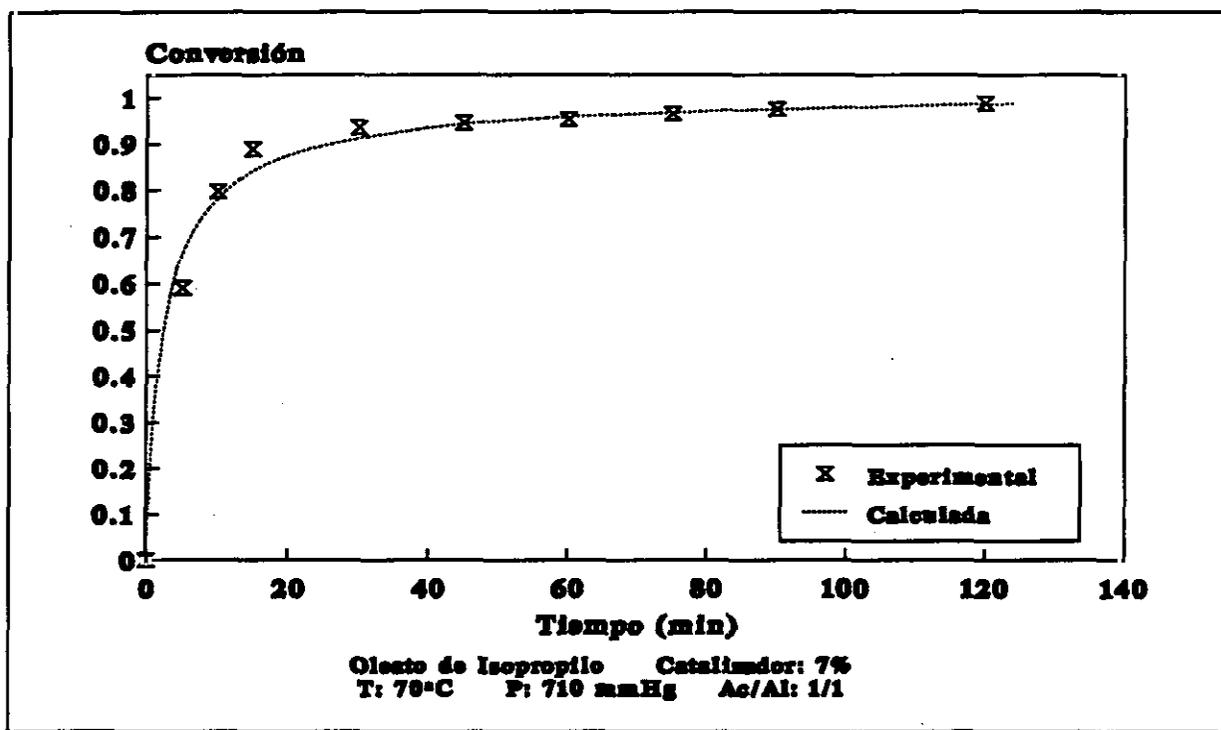


Figura 8.47. Simulación I4: Síntesis de Oleato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

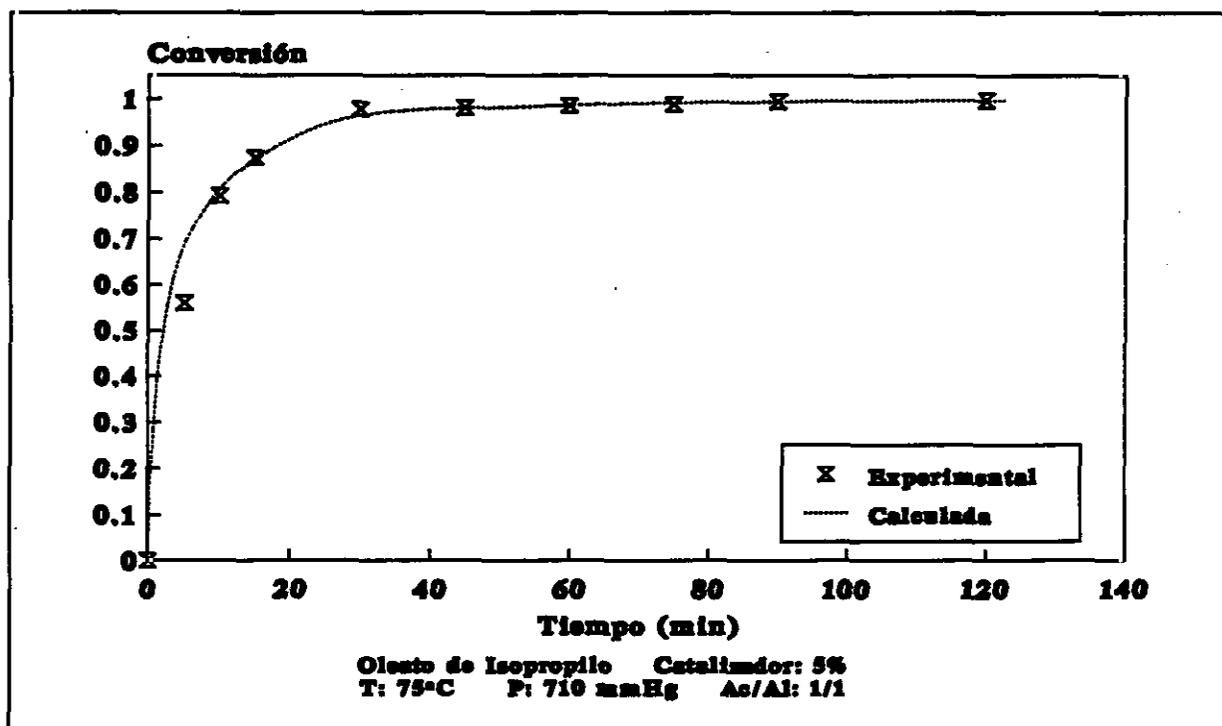


Figura 8.48. Simulación I5: Síntesis de Oleato de Isopropilo, 710mmHg, 75°C, 5% Catalizador.

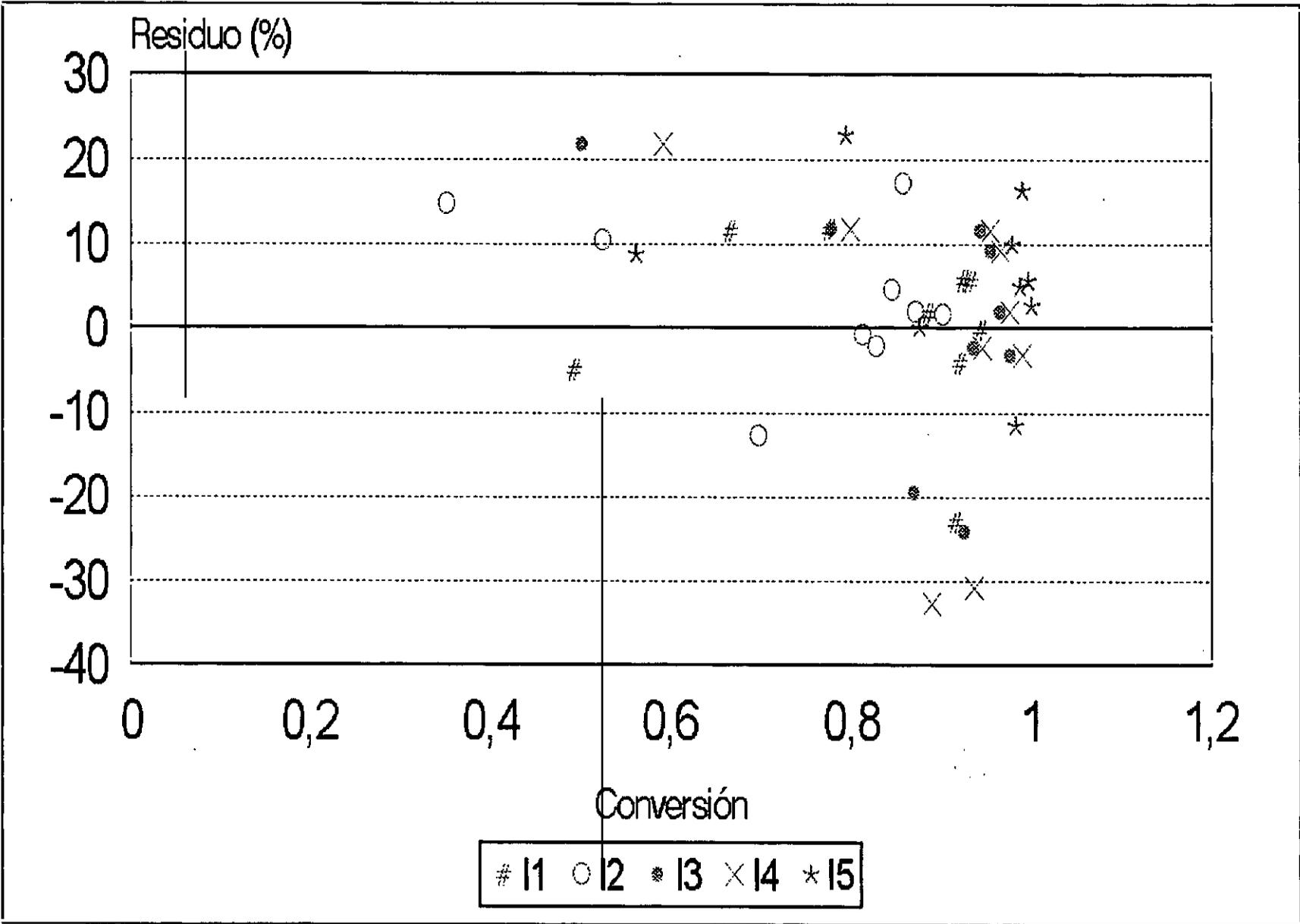


Figura 8.49. Análisis de Residuos para la Síntesis de Oleato de Isopropilo.

8.5 SIMULACION DE LA SINTESIS DE PALMITATO DE ISOPROPILO

La simulación de los experimentos realizados para la síntesis de palmitato de isopropilo, empleando como catalizador la lipasa de *Candida antarctica* se recoge en las figuras de la 8.50 a la 8.54. En ellas puede observarse que las curvas dadas por la aplicación del modelo matemático desarrollado se ajustan convenientemente a los puntos experimentales representados, lo que indica que el modelo puede emplearse como ecuación cinética del sistema, al igual que en los casos anteriores.

Por otra parte, el análisis de residuos presentado en la figura 8.55, confirma las hipótesis supuestas, por cuanto que los valores de los residuos calculados se distribuyen al azar sin presentar una tendencia definida, y sin alcanzar el 15% en la mayoría de los casos, siendo el error medio obtenido de tan sólo un 9%

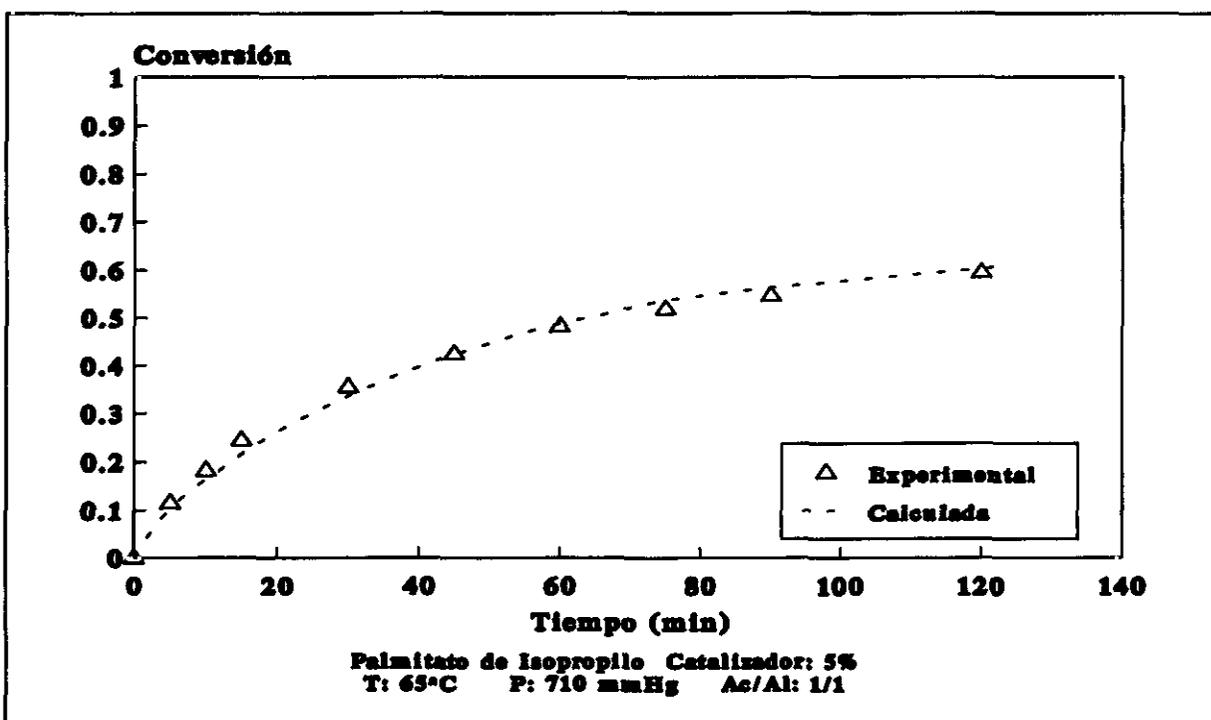


Figura 8.50. Simulación P1: Síntesis de Palmitato de Isopropilo, 710mmHg, 65°C, 5% catalizador.

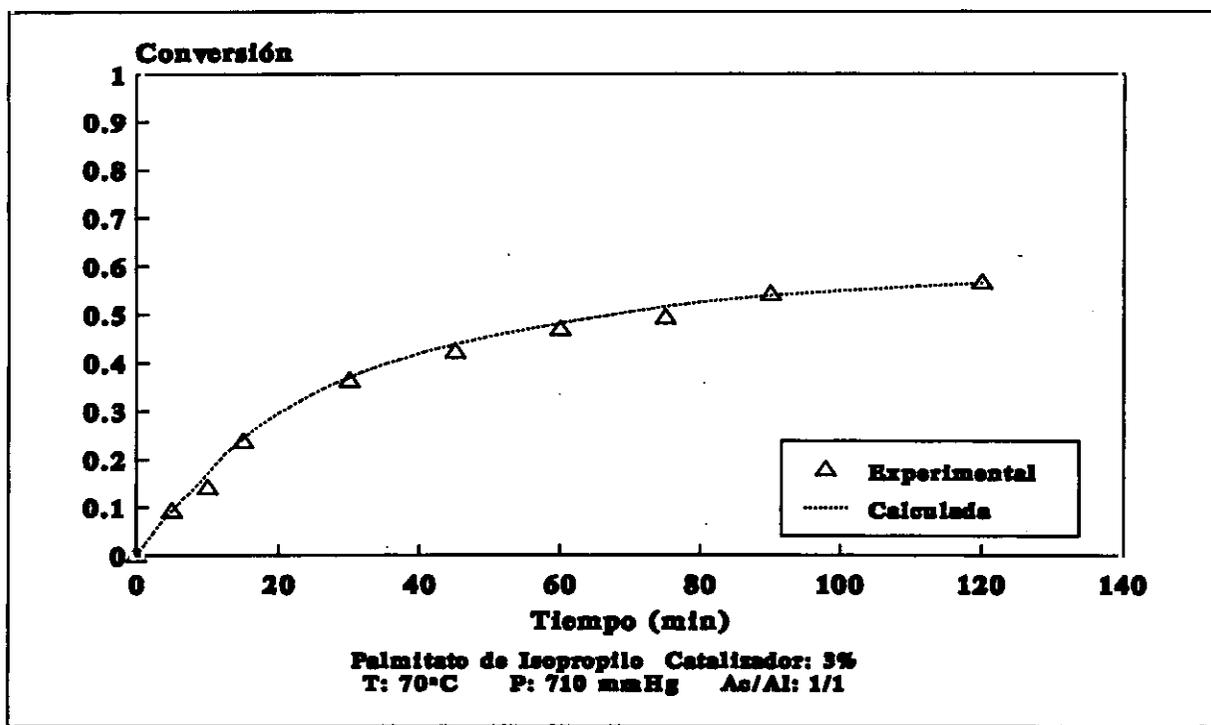


Figura 8.51. Simulación P2: Síntesis de Palmitato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

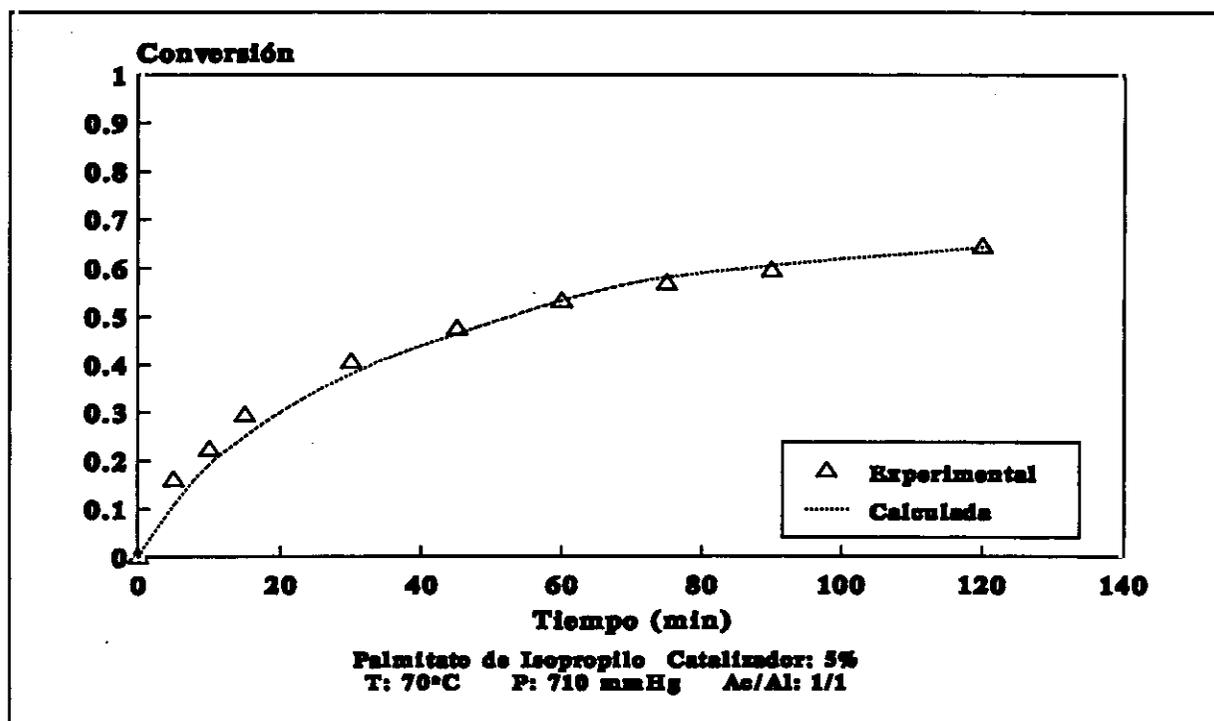


Figura 8.52. Simulación P3: Síntesis de Palmitato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 5% catalizador.

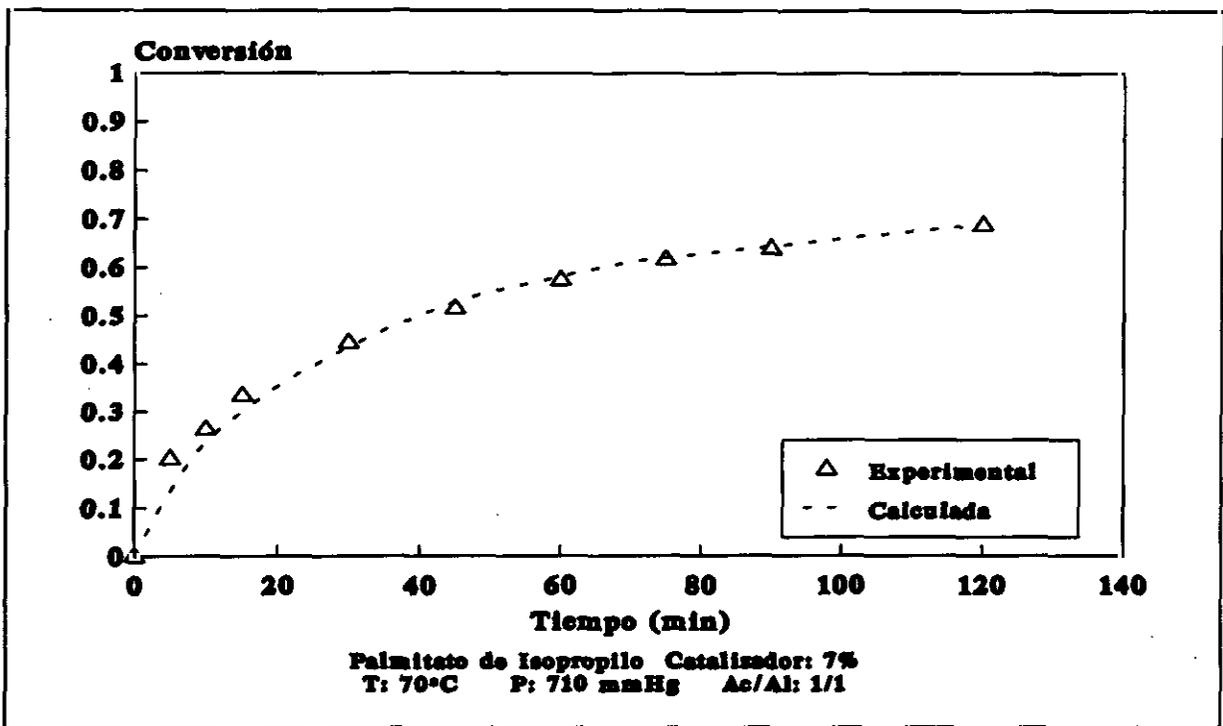


Figura 8.53. Simulación P4: Síntesis de Palmitato de Isopropilo, 710mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

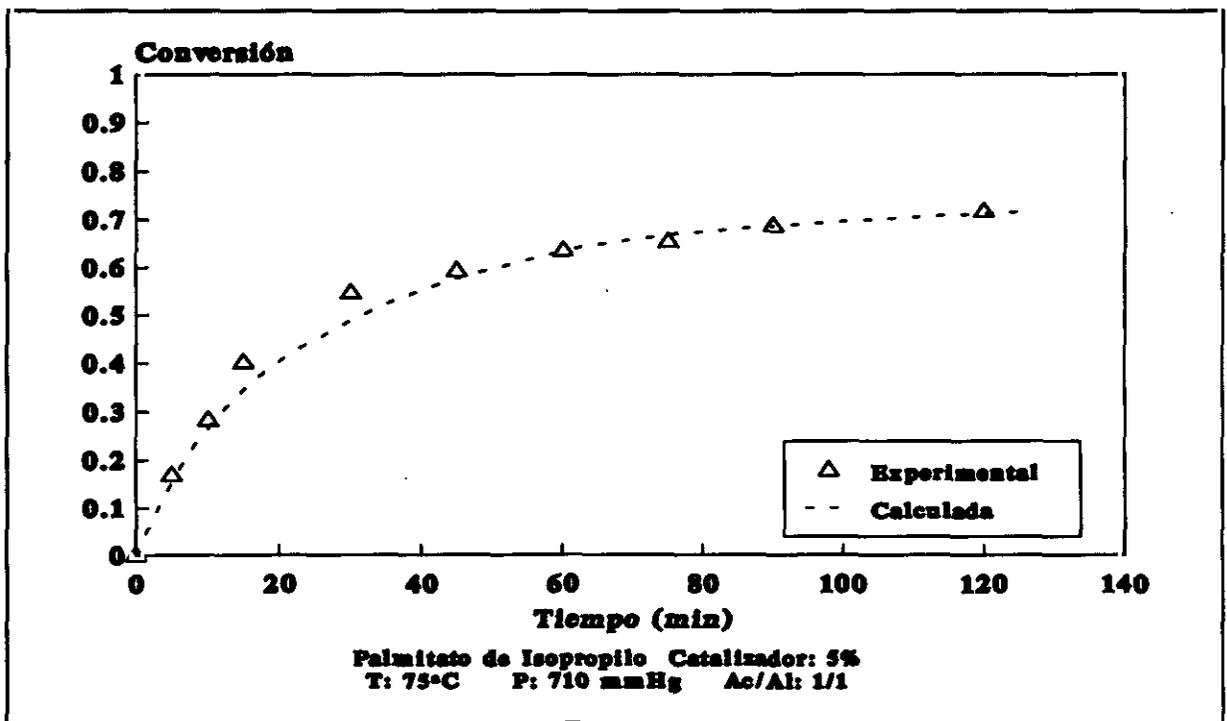


Figura 8.54. Simulación P5: Síntesis de Palmitato de Isopropilo, 710mmHg, 75°C, 5% Catalizador.

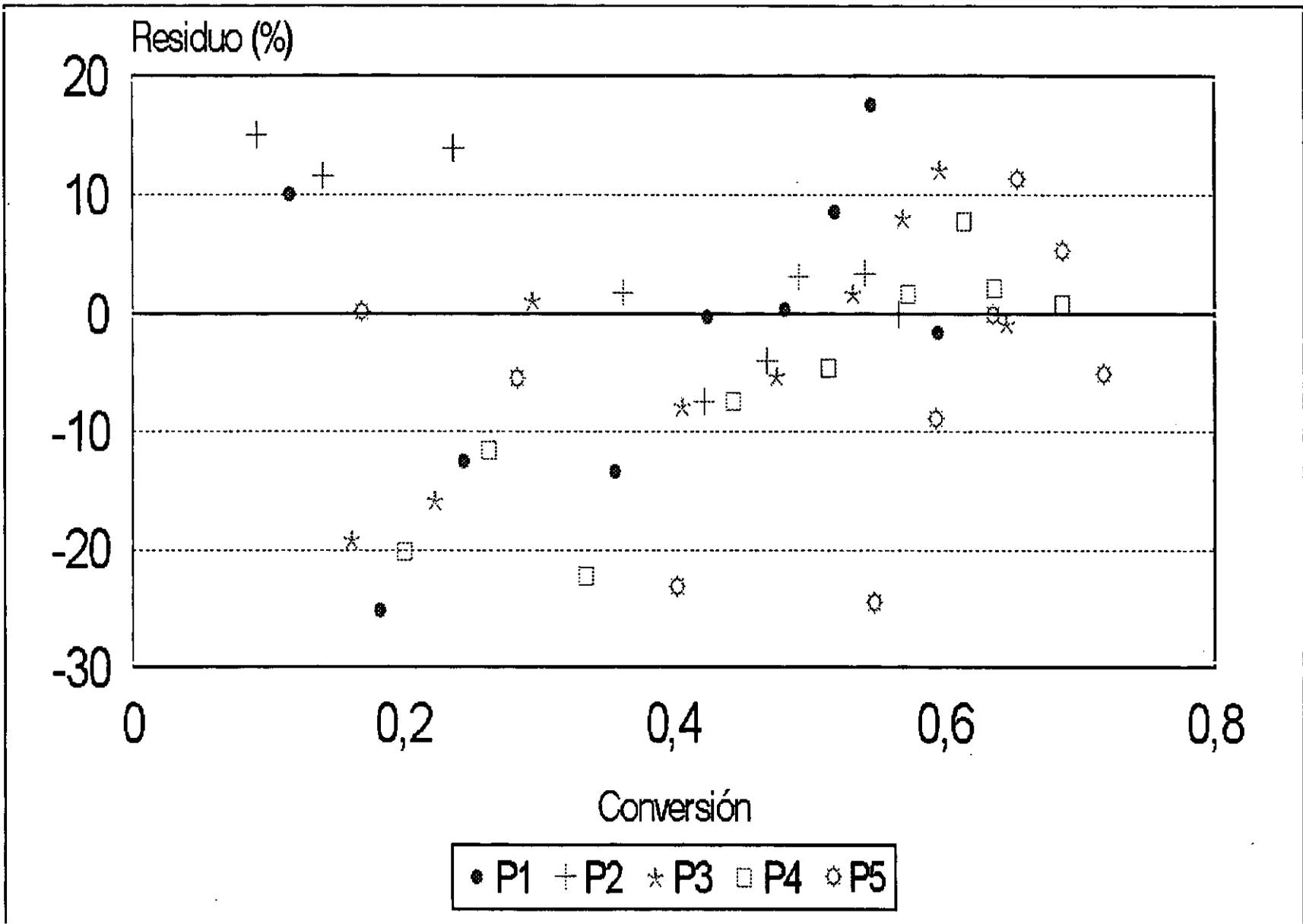


Figura 8.55. Análisis de Residuos para la Síntesis de Palmítico de Isopropilo.

8.6 SIMULACION DE LA SINTESIS DE 2-METIL-BUTIRATO DE OLEILO

La simulación de experimentos para la reacción de esterificación entre el ácido 2-Metil-Butírico y alcohol oleico catalizada por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada, Novozym 435, se llevo a cabo de acuerdo con los modelos matemáticos obtenidos, los cuales dependen de la presión a la que tiene lugar la reacción.

En las figuras 8.56 a 8.60 se muestran las curvas de simulación junto con los datos experimentales, para las reacciones realizadas a presión reducida (comportamiento irreversible), mientras que en las figuras 8.61 a 8.65 se representan las curvas de simulación del segundo modelo propuesto, que considera que el comportamiento reversible del sistemas.

En ambos casos, la simulación de los resultados experimentales puede considerarse como satisfactoria, puesto que la desviación de los mismos es relativamente pequeña. Así el análisis de residuos, obtenido mediante la representación del error relativo de la conversión calculada frente a la conversión experimental, muestra una desviación inferior al 15% en la mayoría de los casos.

El error medio obtenido considerando todos los experimentos realizados es de un 7%, siendo únicamente del 6.35% al aplicar el modelo propuesto para el sistema en condiciones de irreversibilidad, mientras que cuando el sistema opera a presión atmosférica, el error medio alcanza un valor del 8%.

En ambos casos dicho error puede considerarse razonable, si se tiene en cuenta que puede caer dentro del propio error experimental, lo que implica que los modelos pueden aceptarse como ecuación cinética y, por tanto, aplicándolos según la presión de trabajo, serán capaces de predecir la conversión alcanzada en función del tiempo de reacción, de la temperatura de operación y de la concentración de catalizador.

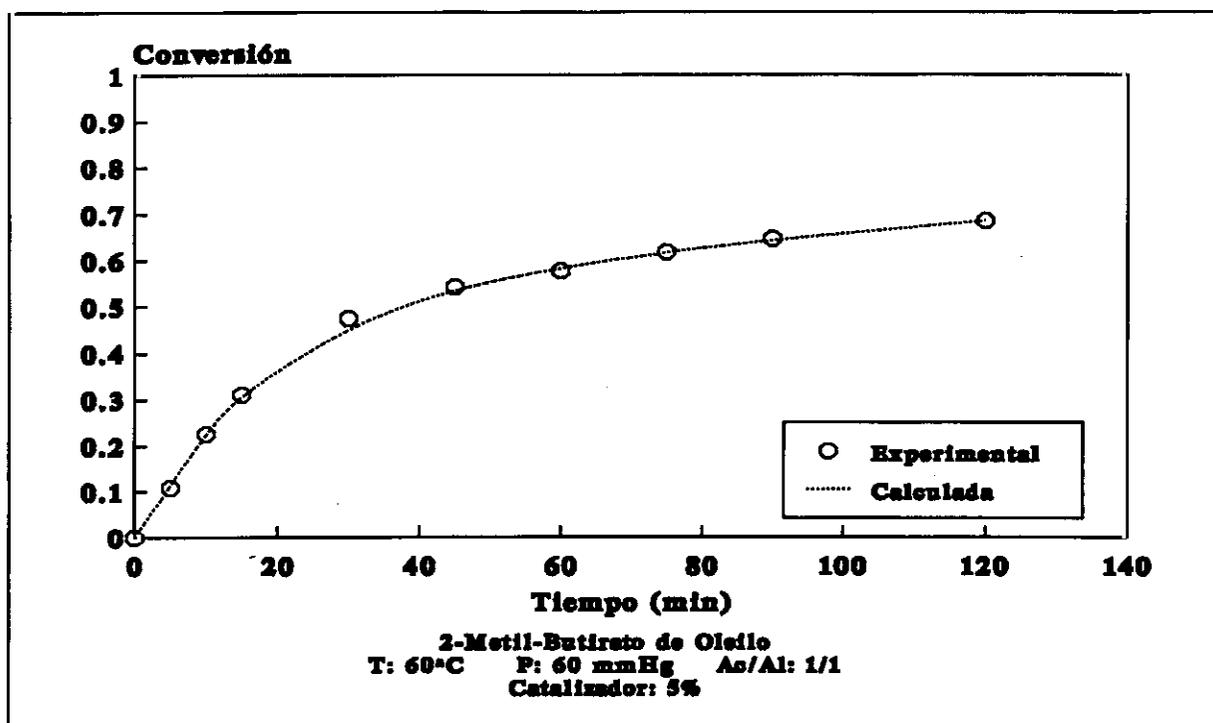


Figura 8.56. Simulación B1: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 60mmHg, 60°C, 5% catalizador.

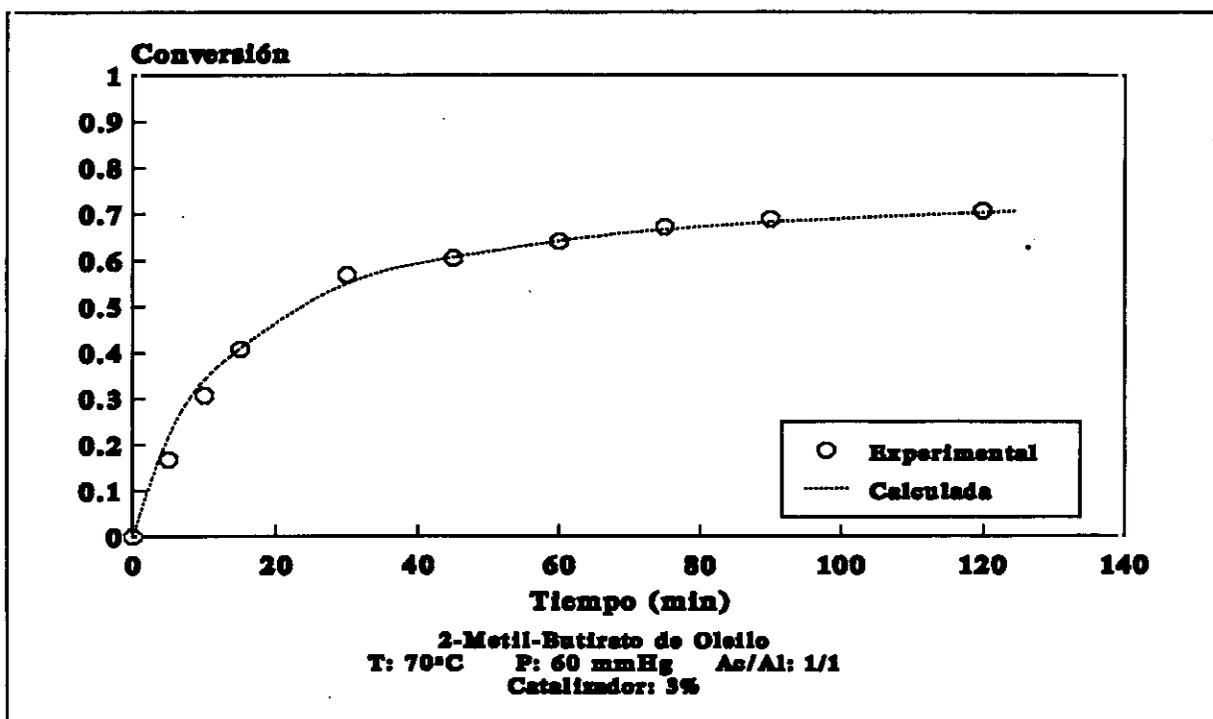


Figura 8.57. Simulación B2: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 3% Catalizador.

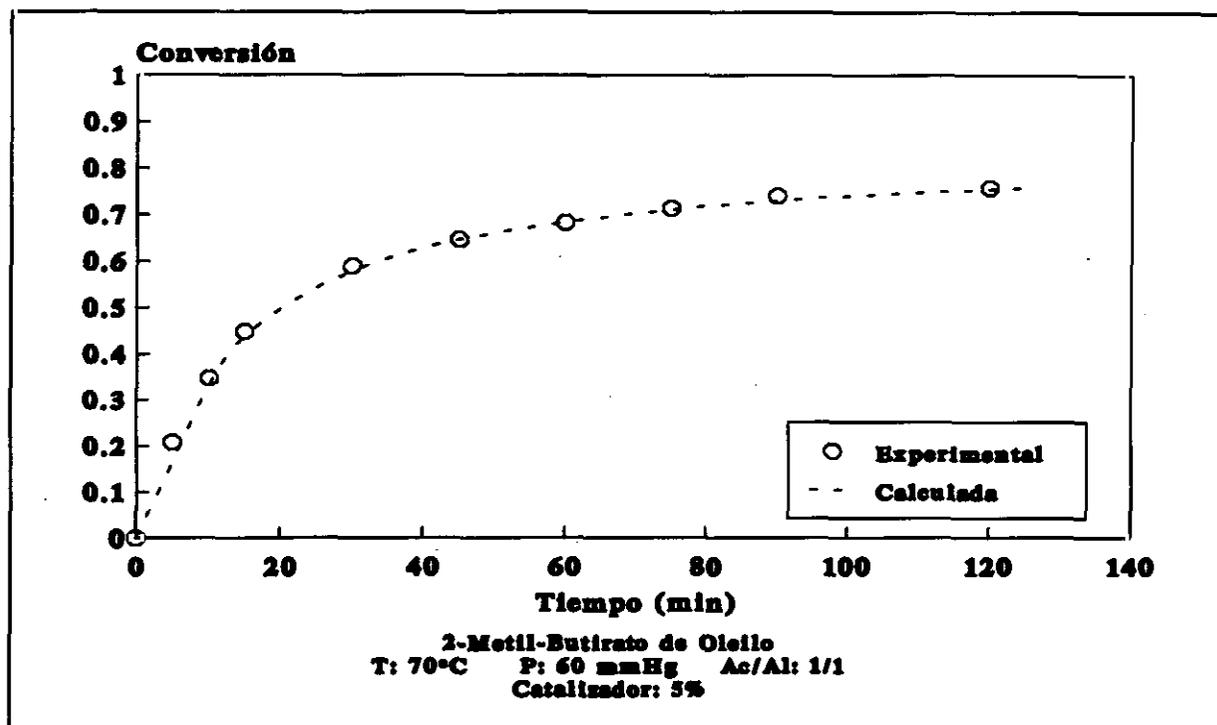


Figura 8.58. Simulación B3: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 5% catalizador.

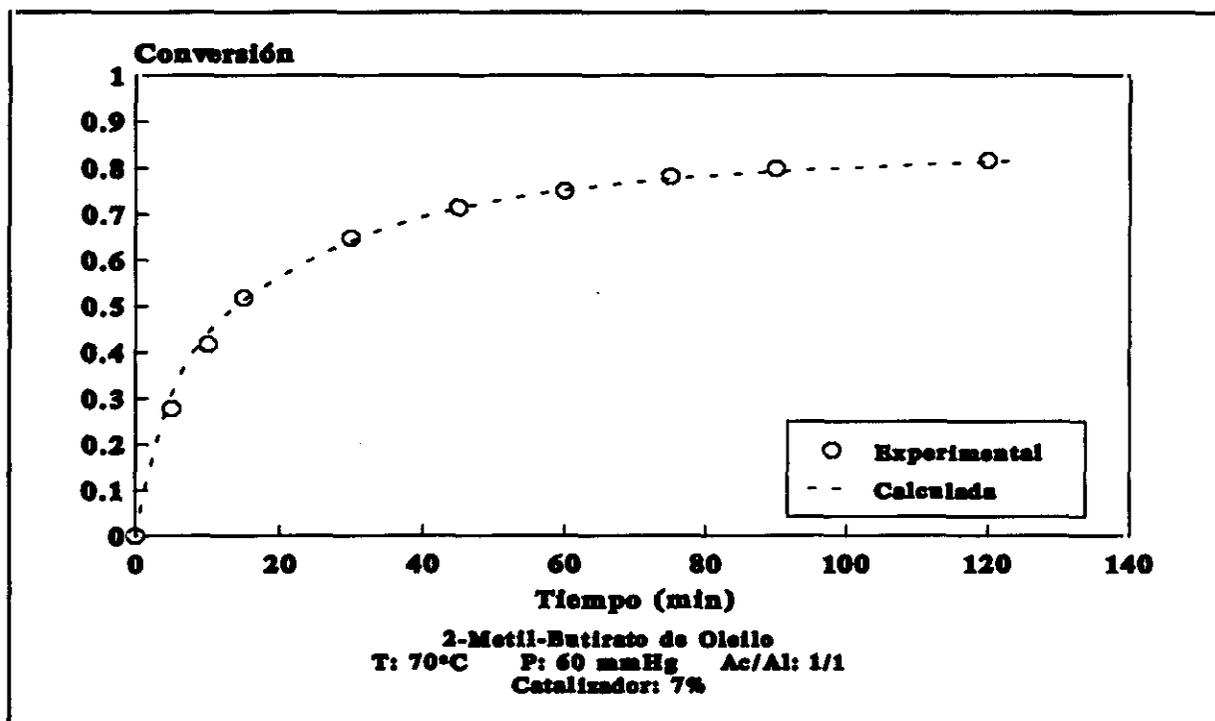


Figura 8.59. Simulación B4: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 60mmHg, 70°C, 7% Catalizador.

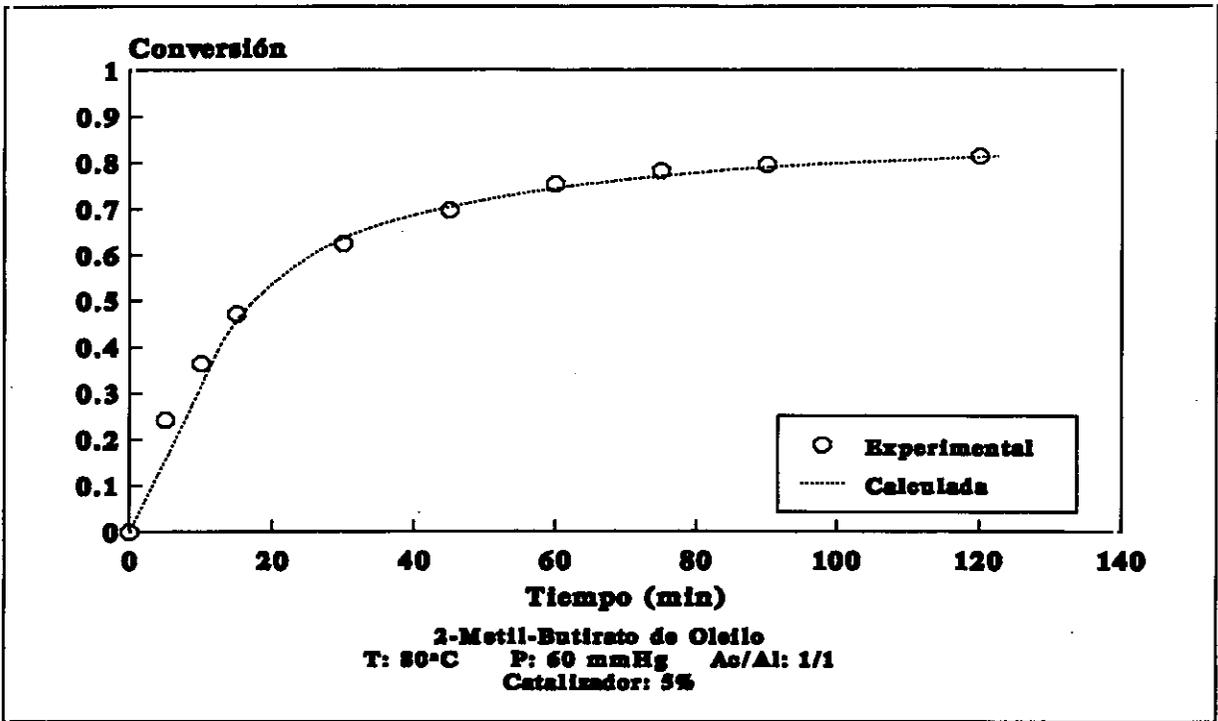


Figura 8.60. Simulación B5: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 60mmHg, 80°C, 5% catalizador.

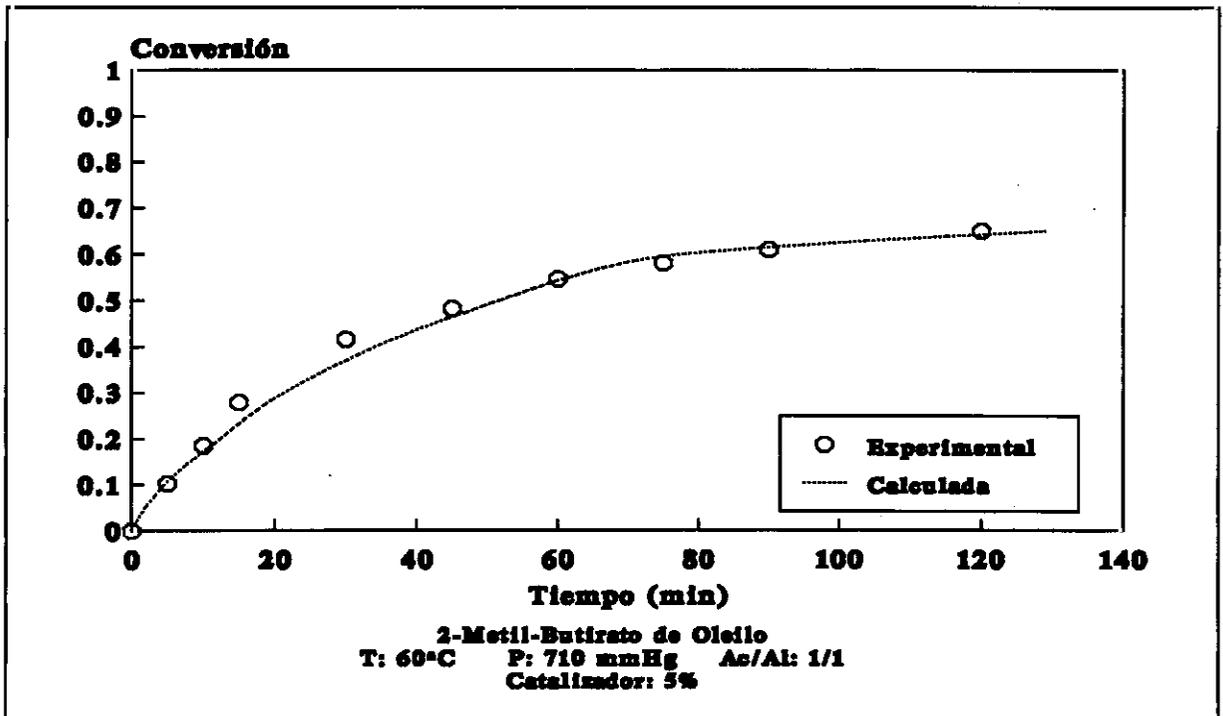


Figura 8.61. Simulación B6: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 710mmHg, 60°C, 5% Catalizador.

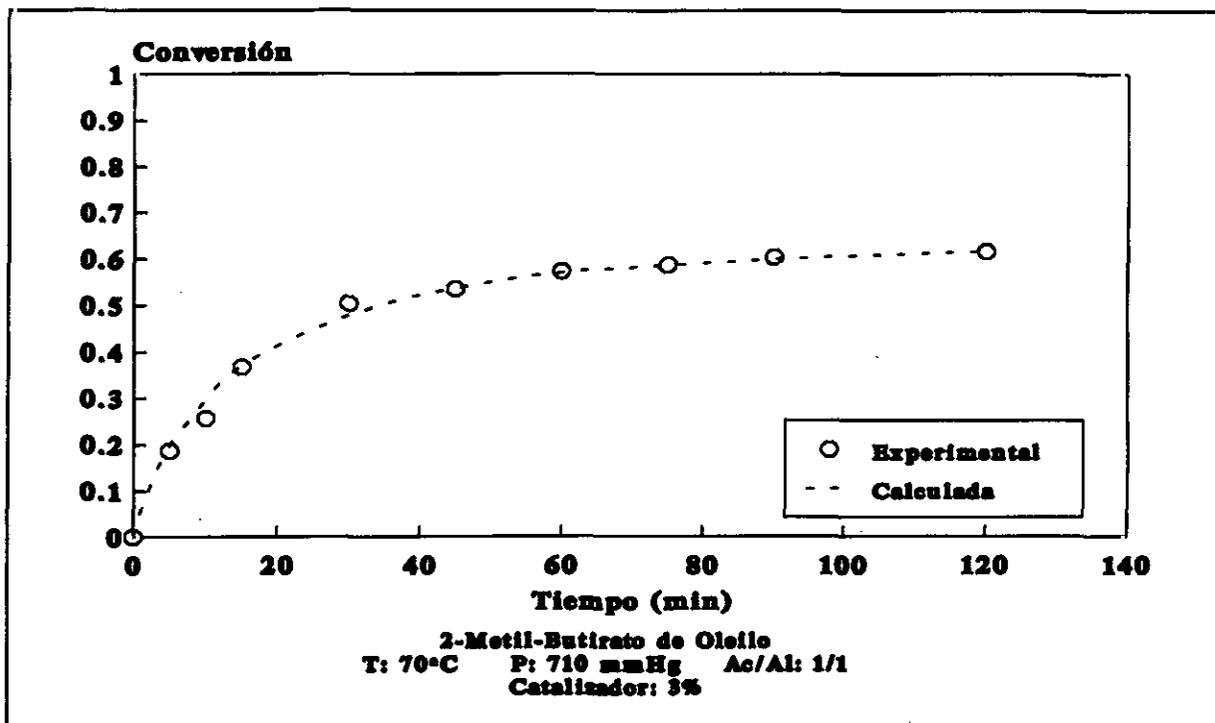


Figura 8.62. Simulación B7: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 3% catalizador.

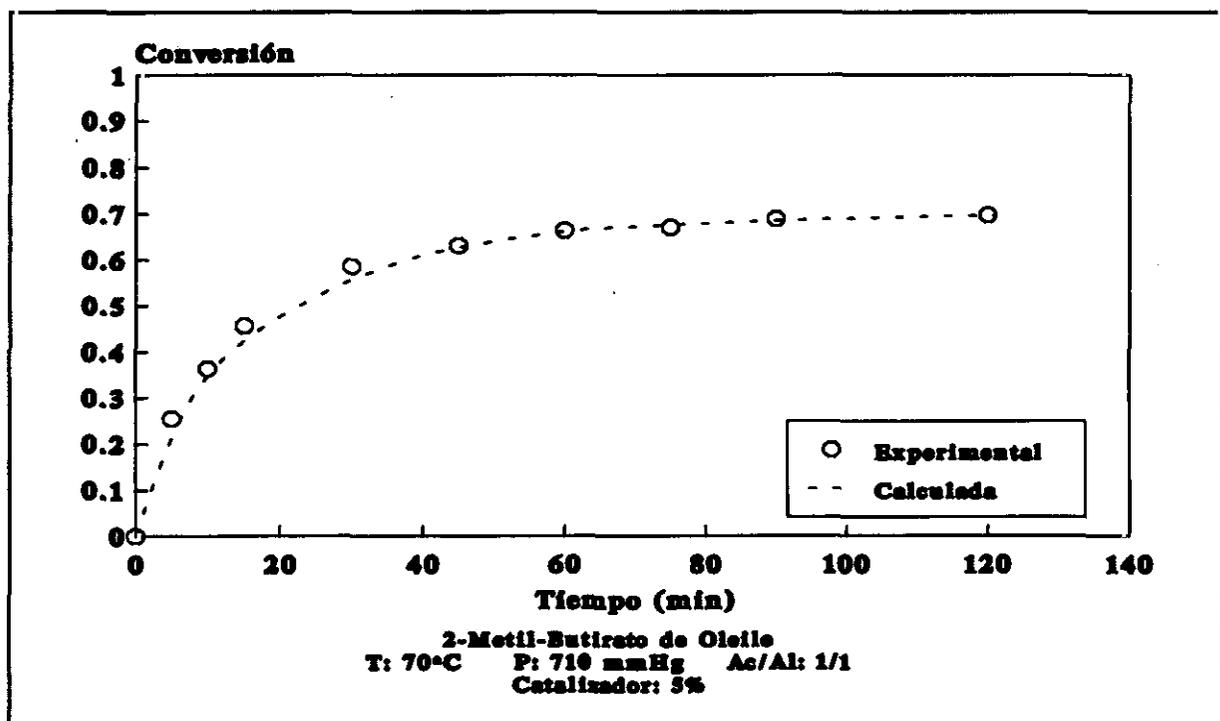


Figura 8.63. Simulación B8: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 5% Catalizador.

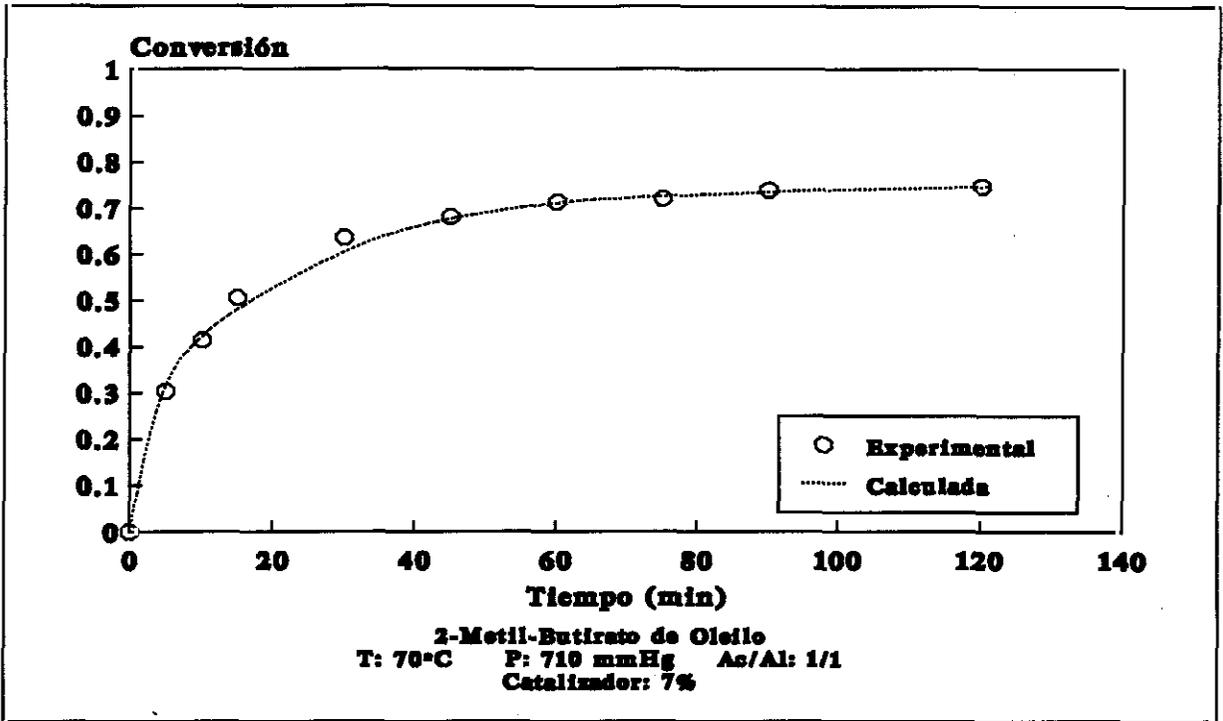


Figura 8.64. Simulación B9: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 710mmHg, 70°C, 7% catalizador.

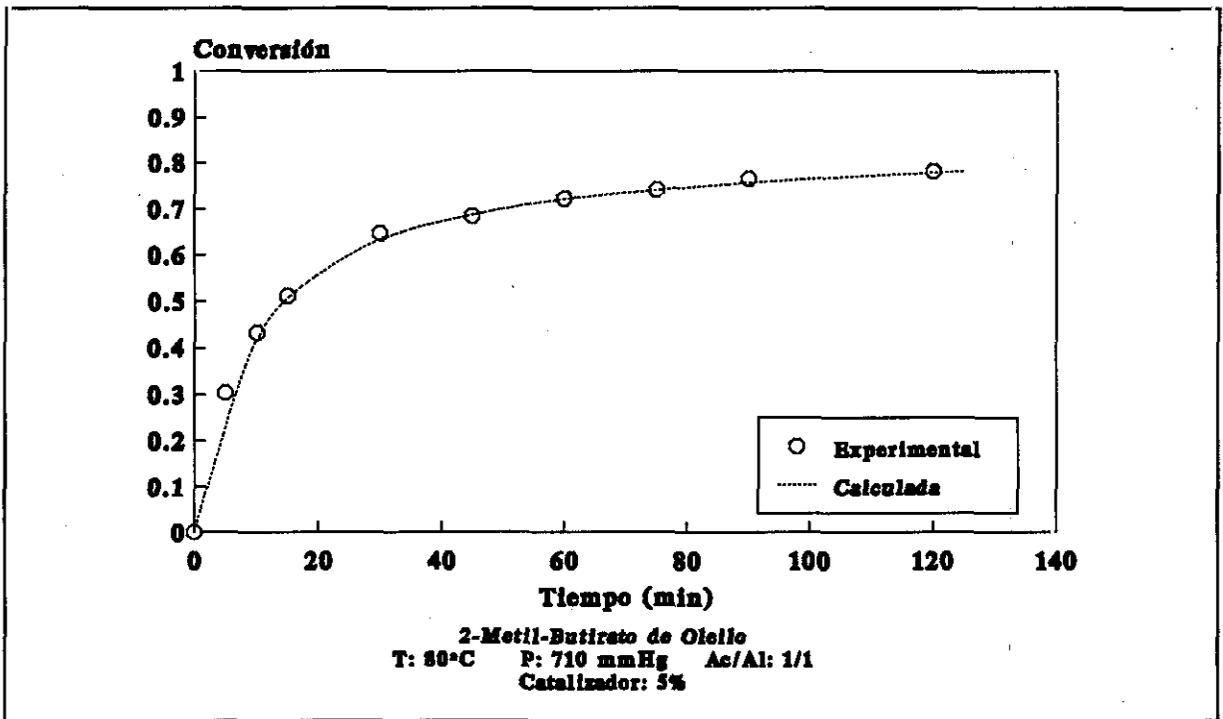


Figura 8.65. Simulación B10: Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo, 710mmHg, 80°C, 5% Catalizador.

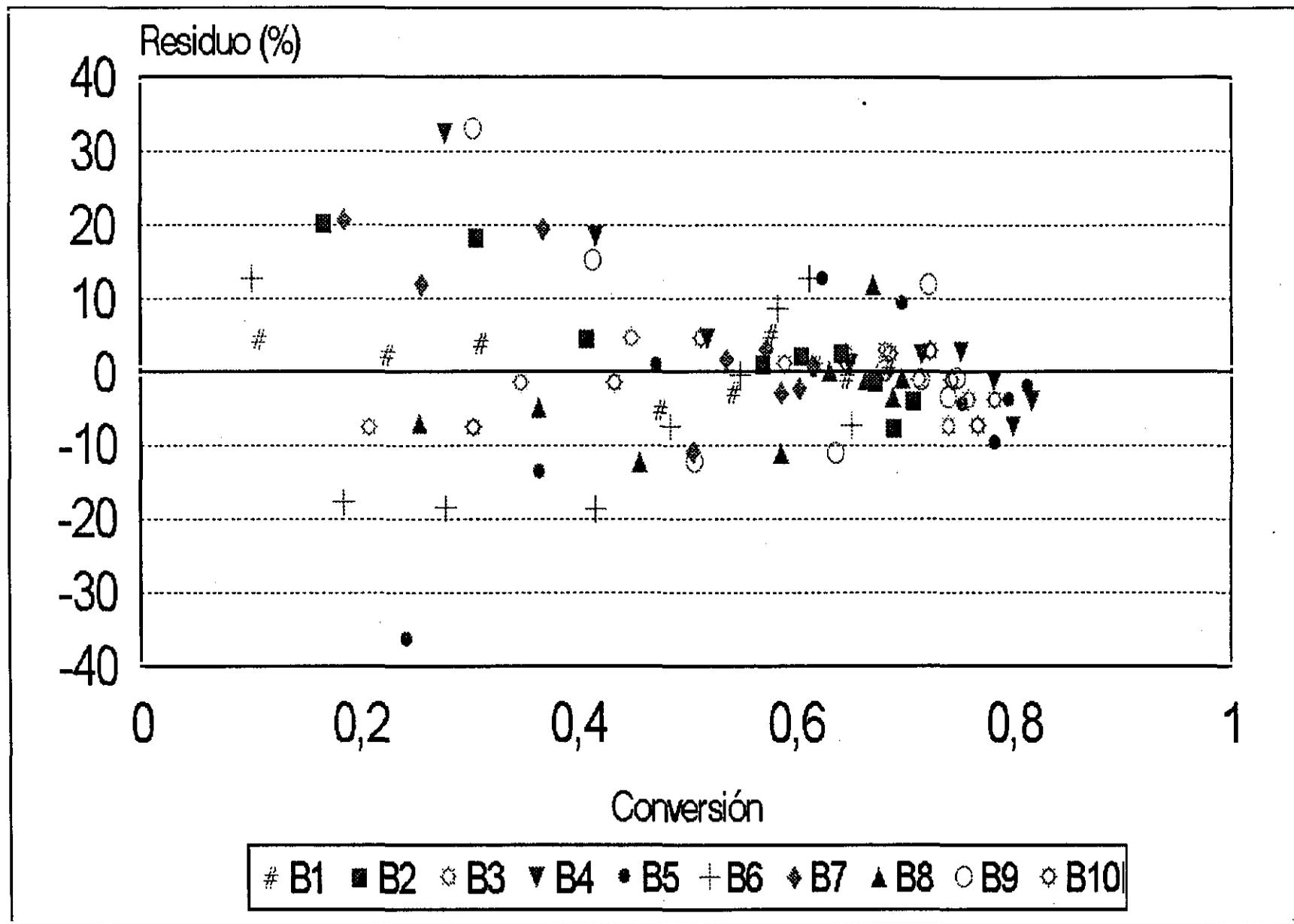


Figura 8.66. Análisis de Residuos para la Síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo.

9. RESUMEN Y CONCLUSIONES

9.1 RESUMEN

En la presente memoria de investigación se exponen los resultados obtenidos a partir del estudio de procesos de esterificación catalítica entre ácidos y alcoholes grasos de bajo, medio y alto peso molecular, a fin de obtener compuestos de química fina, de aplicación industrial directa e inmediata.

Dichos compuestos son, en algunos casos, sustitutos de ceras naturales y, en otros, ceras sintéticas de interés industrial, considerados como fundamentales en la formulación de productos cuyo campo de aplicación se desarrolla principalmente en el ámbito de la industria cosmética, aunque también se aprovechan para la producción de compuestos de aplicación farmacológica, alimentaria y en la industria de lubricantes.

La instalación experimental empleada está constituida por un reactor tipo tanque agitado discontinuo que permite operar controlando la presión del sistema, la temperatura de operación y la velocidad de agitación. Dicha instalación se ve modificada en función de la presión de operación, así

cuando el sistema opera a presión reducida, es necesario acoplar al reactor una bomba de vacío con el correspondiente sistema de control de presión, mientras que cuando la reacción se desea realizar en condiciones de presión atmosférica, el sistema de control de presión se sustituye por un refrigerante de reflujo que impide que las sustancias más volátiles escapen al exterior al pasar al estado de vapor por acción de la temperatura.

La solución del análisis químico de las especies presentes en el medio de reacción de cada uno de los sistemas estudiados en esta memoria, se llevó a cabo empleando la técnica de cromatografía líquido-gas; para la cual, se desarrollaron los métodos de análisis correspondientes en función de cada una de los diferentes medios de reacción empleados. La cuantificación de dichas especies se realizó mediante el análisis de los resultados obtenidos referidos a un patrón interno, también fijado en función del tipo de muestra. Basándonos en el método de análisis desarrollado, la identificación de las especies químicas se realizó empleando para ello diferentes sustancias patrón y la técnica de espectrometría de masas.

Mediante el estudio del comportamiento de los diferentes sistemas de reacción frente al tipo de catalizador se ha elegido, en cada caso, el sistema catalítico más adecuado, el cual resultó ser en todos los casos un catalizador de tipo enzimático. Así mismo, se ha podido comprobar la conveniencia del empleo de lipasas inmovilizadas para acelerar la conversión de reactivos en productos, sin riesgos de favorecer una pérdida de selectividad.

Una vez conocidos tanto el método de análisis como el sistema catalítico más adecuado para cada sistema de reacción, se llevó a cabo un estudio de la influencia de cada una de las variables de operación sobre los procesos de esterificación objeto de estudio en este trabajo, en base a una planificación de experimentos en la que se fijaron los límites superior e inferior de los valores de cada una de las variables, atendiendo a los datos encontrados en bibliografía, a la experiencia del grupo

investigador, a la naturaleza y propiedades de reactivos y productos, y a las especificaciones comerciales de los mismos.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el estudio de la influencia de las variables representativas sobre cada sistema de reacción, se ha propuesto una metodología de planificación e interpretación de experimentos que concluye en concretar el análisis cinético de las reacciones de esterificación, dependiendo de la modificación de las diferentes condiciones de temperatura, presión, concentración de catalizador y relación molar ácido:alcohol.

Dicho estudio se ha realizado considerando dos posibilidades, en los sistemas en que ha sido posible, proponiéndose dos modelos cinéticos para un mismo sistema dependiendo de las condiciones de operación, lo que permite analizar el sistema tanto en condiciones de reversibilidad como en condiciones de irreversibilidad.

El desarrollo de los modelos se llevó a cabo en base a la proposición de posibles mecanismos de reacción que responden a un mecanismo de reacción ordenado para dos reactantes y dos productos, en los que se incluyen tanto etapas de reacción como etapas de inhibición debidas a la formación de complejos de carácter enzimático por competición entre las especies presentes en el medio de reacción.

La discriminación de los modelos cinéticos propuestos, así como la estimación de los parámetros se ha realizado empleando diferentes paquetes de software diseñados para sistemas IBM, que contemplan métodos numéricos basados en los algoritmos matemáticos de Newton, Runge-Kutta, mínimos cuadrados y Marquard, aplicados a regresiones sencillas, múltiples y no lineales a partir de los resultados experimentales.

El estudio de la variación de temperatura en cada uno de los sistemas permitió conocer la

influencia de dicha variable sobre cada uno de los parámetros característicos de los mismos. Así se obtuvieron las energías de activación en función de la temperatura y los términos de entalpía y entropía para cada una de las constantes de equilibrio de las diferentes etapas que presentes en el medio de reacción.

La comparación de los modelos cinéticos se llevó a cabo mediante la simulación de las curvas de reacción empleando el modelo matemático calculado y comparándolo con los resultados reales obtenidos del análisis de la reacción para diferentes tiempos transcurridos.

La validez y fiabilidad de los modelos cinéticos propuestos se ha estimado empleando la técnica del análisis de residuos, en la cual se representan la diferencia entre el valor experimental y el valor calculado referida al valor experimental, frente al propio valor experimental, obteniéndose así el error cometido a lo largo del tiempo en el que transcurren las reacciones correspondientes.

9.2 CONCLUSIONES

Como resultado del presente trabajo de investigación y, teniendo en cuenta tanto las exigencias de mercado, así como la normativa vigente para productos de química fina, especialmente para los de uso cosmético y farmacéutico, se han podido deducir las siguientes conclusiones:

- 1.- El empleo de enzimas inmovilizadas como sistemas catalíticos en los procesos de obtención de ésteres de bajo, medio y alto peso molecular, presenta una serie de ventajas frente a otros sistemas catalíticos que, generalmente, son de carácter ácido. Dichas ventajas están constituidas básicamente por una serie de mejoras tanto en la selectividad como en el rendimiento, si bien cabe destacar un importante ahorro económico desde el punto de vista energético, de las etapas de purificación y de los sistemas de preservación del medio ambiente.

2.- Los productos obtenidos poseen propiedades físicas y químicas adecuadas para su aplicación industrial directa, por cuanto que cumplen las especificaciones de calidad exigidas por los mercados demandantes, así como un elevado nivel de inocuidad imprescindible según las imposiciones de la normativa vigente para productos de aplicación y consumo humano. Por tanto, los productos obtenidos pueden emplearse para tales aplicaciones y, en los casos que proceda, pueden sustituir a sus homólogos naturales.

3.- A partir de las propiedades de reactivos y productos, así como de las especificaciones de las especies catalíticas comerciales, los intervalos de trabajo recomendados para las variables de operación, cuando se trabaja en un reactor discontinuo tipo tanque agitado con control de presión, temperatura y velocidad de agitación, son los siguientes:

3.1.- Para la síntesis de Oleato de Oleilo, 2-Metil-Butirato de Oleilo y Miristato de Miristilo, el intervalo de temperatura puede fijarse entre 60°C y 80°C, el intervalo de presión entre 60mmHg y 710mmHg, y la concentración de catalizador entre el 3% y el 7%, siendo recomendable trabajar con una relación molar de reactivos fijada en la unidad, velocidad de agitación superior a 400rpm y presión reducida.

3.2.- En el caso de la síntesis de Oleato de Cetilo, es recomendable fijar el intervalo de temperatura de operación entre 70°C y 80°C, el intervalo de presión entre 60mmHg y la presión atmosférica, y la concentración de catalizador entre 3% y 7%, siendo especialmente eficaz operar a temperaturas superiores a 75°C, concentraciones de catalizador no inferiores al 5% y presión reducida, manteniendo la relación equimolecular de reactivos y la velocidad de agitación por encima de las 400rpm.

- 3.3.- Los límites de operación para la síntesis de Oleato de Isopropilo y Palmitato de Isopropilo pueden fijarse entre 65°C y 75°C para la temperatura, y 3% y 7% para la concentración inicial de catalizador, siendo preferible operar a presión atmosférica, con una relación equimolar de reactivos y velocidad de agitación superior a 400rpm.
- 4.- Según los resultados obtenidos en los experimentos realizados para la selección del catalizador se ha observado que, entre los sistemas estudiados, el compuesto Lipozyme IM-20, constituido por la lipasa de *Mucor miehei* inmovilizada sobre resinas de intercambio aniónico, es el más adecuado para llevar a cabo la síntesis de Oleato de Oleilo. Sin embargo, cuando se pretende obtener Oleato de Cetilo, Miristato de Miristilo, Oleato de Isopropilo, Palmitato de Isopropilo o 2-Metil-Butirato de Oleilo, el sistema más adecuado será el catalizador Novozym 435, constituido por la lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada sobre resinas de intercambio aniónico.
- 5.- Así mismo, se ha podido comprobar que la actividad catalítica de las lipasas empleadas, se ve favorecida por una disminución de la cadena de átomos de carbono y por la presencia de dobles enlaces en dicha cadena. Sin embargo, la presencia de cadenas ramificadas resulta contraproducente desde el punto de vista de la selectividad y la reactividad enzimática.
- 6.- El mecanismo general correspondiente a los sistemas de esterificación considerados en esta memoria se corresponde con un mecanismo enzimático ordenado con dos reactivos y dos productos de reacción, y está basado en la formación de un complejo binario lipasa-ácido graso, químicamente activo, a partir del cual se desarrollan las siguientes etapas de reacción. Dicho mecanismo puede considerarse globalmente dividido en dos grupos de etapas. El primer grupo corresponde a las denominadas etapas de reacción, que contemplan la formación de complejos binarios y ternarios en el sentido de la obtención de los productos deseados, y las

correspondientes etapas inversas, consideradas como de inhibición competitiva. El segundo grupo de etapas son las denominadas de inhibición competitiva, propiamente dichas, que corresponde a la formación de complejos enzimáticos con reactivos y productos, tanto binarios como ternarios, siendo dichos complejos químicamente inactivos, al menos desde el punto de vista de la reacción química.

- 7.- Cuando es viable operar en condiciones de presión reducida y el equilibrio químico se desplaza hacia la formación de productos mediante la eliminación del agua formada en continuo, el mecanismo de reacción general se ve modificado en el sentido de que la reacción puede considerarse como irreversible, mientras que cuando la reacción se lleva a cabo a presión atmosférica.

- 8.- En el caso de que el sistema de reacción venga dado por la síntesis de Oleato de Isopropilo, aunque la presión de operación impuesta sea la atmosférica, el comportamiento de dicho sistema puede considerarse como irreversible, debido a que los valores obtenidos para las constantes de equilibrio a diferentes temperaturas son tan elevados que la reacción de hidrólisis no es representativa frente a la reacción de esterificación. Por tanto, en este caso no pueden considerarse las constantes propias de las etapas en las que el equilibrio está desplazado hacia la formación del complejo o el producto en cuestión; es decir desaparecen las constantes de Michaelis Menten y las de inhibición debidas al equilibrio, con respecto a los productos de reacción, éster y agua. Por tanto, la reacción de esterificación entre el ácido Oleico y el alcohol Isopropílico puede considerarse como un sistema irreversible desde el punto de vista cinético, al menos cuando se trabaja con el sistema catalítico elegido y según las condiciones de operación fijadas en esta memoria.

9.- En cuanto a las etapas de inhibición se refiere, pueden considerarse cuatro equilibrios de inhibición competitiva de forma general:

- a) Formación del complejo binario lipasa-alcohol, a partir de ambos.
- b) Formación del complejo binario lipasa-éster, a partir de ambos.
- c) Formación del complejo ternario ácido-lipasa-ácido, a partir del ácido graso y del complejo lipasa-ácido.
- d) Formación del complejo ternario ácido-lipasa-éster, a partir del éster formado y del complejo lipasa-ácido.

A partir de estas etapas generales de inhibición competitiva, el mecanismo se verá modificado, en función del tipo de sistema considerado:

9.1.- Cuando se consideran los sistemas de esterificación de Oleato de Oleilo, Miristato de Miristilo, Oleato de Isopropilo y Oleato de Cetilo, tienen lugar las cuatro etapas de inhibición anteriormente definidas, independientemente de que el sistema se lleve a cabo a presión atmosférica o a presión reducida.

9.2.- Cuando se consideran los sistemas de síntesis de 2-Metil-Butirato de Oleilo y Palmitato de Isopropilo, el número de etapas de inhibición se ve reducido a la mitad, teniendo lugar únicamente las correspondientes a la formación del complejo binario entre el alcohol con la enzima libre, y a la formación del complejo ternario constituido por el ácido graso y el complejo binario principal ácido graso-enzima. Este hecho se debe,

probablemente, a la presencia de ramificaciones en la cadena larga del éster, que actuaría como posibles competidores por el complejo binario principal y por la enzima libre, frente al alcohol y al ácido graso, respectivamente.

- 10.- Cuando se trabaja en exceso de uno de los reactivos, la velocidad de reacción responde a un modelo de tipo Michaelis Menten de primer orden con respecto al reactivo en defecto, incluyéndose una serie de términos en el denominador que constituyen las etapas de resistencia a la reacción química. Lo mismo sucede cuando se considera la reacción inversa, la variación de los velocidad de reacción en función de la concentración de éster y de agua, también será de primer orden con respecto a cada uno de ellos, por lo que en el modelo cinético global, se puede considerar que la variación de la velocidad de reacción en función de la concentración de cada una de las especies presentes en el medio, también es de primer orden con respecto de cada una de ellas.
- 11.- El empleo de los modelos cinéticos propuestos permite simular adecuadamente los experimentos correspondientes a los seis sistemas de esterificación planteados con un error máximo relativo del 20%, y un error medio de entorno a un 10% global, siempre y cuando se mantengan las condiciones de operación dentro de los límites establecidos en esta memoria. Por tanto, este estudio puede tomarse como base cinética para el diseño del reactor, así como para una posterior puesta en planta de procesos de esterificación de ésteres de alto, medio y bajo peso molecular, catalizados por enzimas inmovilizadas.
- 12.- Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, el mecanismo anteriormente expuesto concluye en un modelo matemático general, que puede particularizarse, dependiendo de que el sistema se comporte como reversible o como irreversible y estos, a su vez, se particularizan para cada sistema de reacción estudiado. Por tanto, el modelo matemático

general que gobierna los procesos de esterificación entre los ácidos alcoholes grasos mediante catálisis enzimática con las mencionadas lipasas, responden a ecuaciones cinéticas de tipo Michaelis Menten, deducidas a partir de un mecanismo de reacción ordenado, particularizado para cada caso, que permiten predecir la conversión, en los ésteres correspondientes, en función de las condiciones de operación, presión, temperatura, concentración inicial de catalizador, relación molar ácido/alcohol y del tiempo de reacción. Dicho modelo es el que se muestra a continuación:

$$\begin{aligned}
 (-I_{AC}) = & \frac{(-I_{AC})^d \max (-I_{AC})^i \max (N_{AC} N_{AI} - \frac{N_{ES} N_W}{K_{OQ}})}{(-I_{AC})^i \max K_{i_{AC}} K_{m_{AI}} (1 + \frac{N_{AI}}{K'_{IAI}} + \frac{N_{ES}}{K'_{ES}}) + (-I_{AC})^i \max K_{m_{AI}} N_{AC} (1 + \frac{N_{AC}}{K'_{IAC}} + \frac{N_{ES}}{K'_{IES}}) +} \\
 & + (-I_{AC})^i \max K_{m_{AC}} N_{AI} (1 + \frac{N_{AI}}{K'_{IAI}} + \frac{N_{ES}}{K'_{IES}}) + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{m_W} N_{ES}}{K_{OQ}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{m_{ES}} N_W}{K_{OQ}} + \frac{(-I_{AC})^i \max N_{AC} N_{AI}}{K_{OQ}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{m_W} N_{AC} N_{ES}}{K_{OQ} K_{i_{AC}}} + \frac{(-I_{AC})^d \max N_{ES} N_W}{K_{OQ}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^i \max K_{m_{AC}} N_{AI} N_W}{K_{i_W}} + \frac{(-I_{AC})^i \max N_{AC} N_{AI} N_{ES}}{K_{i_{ES}}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max N_{AI} N_{ES} N_W}{K'_{IAI} K_{OQ}}
 \end{aligned}$$

10. NOMENCLATURA

ABREVIATURAS, ACRONIMOS Y SIMBOLOS

Ac: Acido graso.

Al: Alcohol graso.

BIU: Batch Interesterification Unit. Se define como el número de μ moles de ácido palmítico convertidos con trioleina por minuto, según los test específicos del catalizador.

[A]: Concentración del compuesto A (mol/l).

d_a : Diámetro del agitador (m).

d_r : Diámetro del reactor (m).

E: Enzima libre.

E-A: Complejo binario enzima-sustrato A.

E-A-B: Complejo ternario sustrato A-Enzima-sustrato B.

E_a : Energía de activación (cal/mol) (Kcal/Kmol) (Kcal/mol).

Es: Ester.

G: Energía libre de Gibbs (cal/mol).

H: Entalpía (cal/mol).

h: Altura de líquido en el interior del reactor (m).

IPO: Oleato de isopropilo.

IPP: Palmitato de isopropilo.

k: Constante cinética de velocidad de reacción ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{cat}}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

K_0 : Factor preexponencial de la ecuación de Arrhenius ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{cat}}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

K_{eq} : Constante de equilibrio de reacción.

K_{iA} : Constante de inhibición referida al componente A (mol).

K_{mA} : Constante de Michaelis Menten referida al componente A (mol).

LU: Lipase Unit. Cantidad de lipasa necesaria para liberar un μ mol por minuto de ácido butírico a partir de una emulsión de glicerol-tributirato en agua, operando en condiciones standard.

MBO: 2-metil-butirato de oleilo.

MM: Miristato de miristilo.

n: Orden cinético de reacción.

N_A: Número de moles del componente A (moles).

N_{A0}: Número de moles iniciales del componente A (moles).

OC: Oleato de cetilo.

OO: Oleato de oleilo.

P: Presión (mm Hg).

PLU: Propyl Laurate Units. Cantidad de lipasa necesaria para esterificar un mmol por minuto de laurato de n-propilo, partiendo de ácido láurico y 1-propanol, en condiciones de presión y temperatura standard.

R: Constante de los gases perfectos (cal.mol⁻¹.K⁻¹).

(-r_A): Velocidad de desaparición del componente A (mol.min⁻¹).

(-r_A)_{max}: Velocidad de desaparición máxima del componente A (mol.min⁻¹).

S: Entropía (cal.mol⁻¹.K⁻¹).

t: Tiempo (min).

T: Temperatura (°C) (K).

W: Agua.

w: Cantidad de catalizador (g).

X_A: Conversión del componente A.

X_{Aeq}: Conversión de equilibrio del componente A.

**ANEXO I: ESTUDIO PARA LA PUESTA EN PLANTA
DE UN PROCESO DE ESTERIFICACION**

A título ilustrativo, se ha incluido este anexo en la presente memoria con el fin de mostrar, si cabe, un carácter más práctico del trabajo de investigación considerado hasta ahora. En las próximas páginas se tratará de corroborar la validez de los resultados experimentales, así como la de los tratamientos matemáticos y los mecanismos de reacción propuestos para abordar el estudio cinético de los sistemas de esterificación directa catalizados por enzimas inmovilizadas, desde el punto de vista de su futura puesta en planta.

Para ello, se ha considerado el sistema constituido por el ácido mirístico y el alcohol isopropílico catalizado por la lipasa comercial Novzym 435 que, como se ha descrito anteriormente, es una triacilglicerol hidrolasa procedente del cultivo de la especie fúngica de *Candida antarctica*, convenientemente modificada e inmovilizada sobre una resina macroporosa en los laboratorios de la empresa Novo Nordisk Bioindustries.

El estudio realizado para la referida síntesis de miristato de isopropilo, se ha llevado a cabo teniendo en cuenta las necesidades y limitaciones de la propia planta industrial y con la finalidad de optimar tanto las variables de operación como el tiempo de reacción necesario para alcanzar la

conversión en éster requerida. Por otra parte, dicha investigación exigía un coste mínimo tanto de las materias primas necesarias, como de los servicios generales, mano de obra y tiempo de duración puestos en juego. Por lo tanto, dicha investigación persigue conseguir un máximo de información requerida, con un mínimo número de experimentos que minimice el coste de la misma.

Atendiendo a dichos requerimientos, la experimentación se llevó a cabo persiguiendo dos objetivos fundamentales. En primer lugar se trataba de optimizar el proceso de esterificación que se iba a llevar a cabo en un reactor discontinuo de capacidad fija, encontrado los valores más adecuados de las variables de operación para maximizar la producción. Y en segundo lugar, aunque no menos importante, se trataba de discernir sobre el modelo cinético que describía adecuadamente la reacción de esterificación, de modo que pudiese llevarse a cabo una simulación fiable de la variación de la concentración de las especies presentes en el reactor con el tiempo de reacción transcurrido durante el período total necesario para obtener el producto de calidad deseada.

Dicha información es de vital importancia tanto para la obtención de los niveles de calidad exigidos por el mercado, como para la instrumentación y el control del proceso de esterificación que está directamente relacionado con el buen funcionamiento de la instalación. A continuación se describe parte de la investigación realizada en la puesta en planta de la síntesis enzimática de miristato de isopropilo.

I.1 ESTUDIO PARA LA OPTIMACION DEL PROCESO

En este apartado se ha pretendido realizar el planteamiento y desarrollo de los experimentos que conducen a la optimación del proceso catalítico que nos ocupa. Para ello, se han empleado las técnicas del diseño factorial de experimentos. Según estas técnicas, los pasos a seguir son los siguientes:

- (a) Elección de las respuestas a medir.
- (b) Elección de las variables objeto de estudio.
- (c) Elección del intervalo de valores para dichas variables.
- (d) Realización de experimentos y recogida de datos.
- (e) Realización de un ajuste a un modelo de primer orden.
- (f) Estudio de la máxima pendiente (en el caso de que tenga lugar el ajuste al modelo de primer orden).
- (g) Ajuste a modelos de orden superior a uno (cuando el ajuste a un modelo de primer orden no describa el proceso adecuadamente).
- (h) Análisis de los resultados obtenidos y construcción de las superficies de respuesta (si procede).

I.1.1 ELECCION DE LA RESPUESTA A MEDIR

Debido a que el proceso objeto de estudio es una esterificación catalítica, la respuesta elegida para medir es el porcentaje de ácido convertido en éster a las dos horas de reacción, ya que para dicho tiempo de reacción se considera que se ha alcanzado el estado estacionario del proceso, o lo que es lo mismo, se han alcanzado las condiciones de equilibrio cuando el proceso es un sistema reversible.

I.1.2 ELECCION DE LAS VARIABLES DE OPERACION

El estudio bibliográfico realizado indica que las variables que más influyen sobre la conversión resultante en el proceso son las siguientes:

- Presión.
- Relación molar ácido/alcohol.
- Temperatura.
- Velocidad de agitación.
- Cantidad de catalizador.

La velocidad de agitación se ha mantenido constante en todos y cada uno de los experimentos realizados, de forma que esta fuese lo suficientemente elevada como para que no tengan lugar las posibles limitaciones de transferencia de materia en el medio de reacción, con lo que eliminamos los efectos de difusión (tanto interna como externa), y la única etapa controlante es la reacción química.

Así mismo, se ha mantenido constante durante la experimentación la razón molar ácido/alcohol (1/1). Esto se ha hecho con el fin de mantener la relación estequiométrica y evitar el desplazamiento del equilibrio hacia la formación de especies prioritarias, con la consiguiente problemática que presenta la purificación de la masa de reacción.

I.1.3 ELECCION DE LOS INTERVALOS DE OPERACION PARA CADA UNA DE LAS VARIABLES DE OPERACION

Según las variables que influyen en el proceso (presión, temperatura y cantidad de catalizador), se han elegido los intervalos de operación más convenientes, en función de la permisibilidad del equipo y los reactivos empleados. Los intervalos de operación propuestos son los que se muestran a continuación:

- Presión.

Como se ha mencionado en la presente memoria, la presión de operación está sujeta a las propiedades físicas y químicas de los reactivos y productos que se ponen en juego en el proceso de esterificación. Si bien, la formación de éster está favorecida a presiones reducidas que faciliten la eliminación continua del agua formada durante el proceso de esterificación, en este caso la presencia de isopropanol como reactivo impide trabajar a presión reducida, ya que debido al valor de su presión de vapor forma azeótropo con el agua. Por este motivo, toda la experimentación se llevó a cabo a presión atmosférica.

- Temperatura.

Tanto los datos bibliográficos encontrados como las especificaciones de los reactivos y catalizador empleados, imponen las condiciones límite de operación para la temperatura de operación. El límite inferior para la temperatura viene impuesto por la drástica disminución de la actividad catalítica de la enzima, que tiene lugar cuando la temperatura es inferior a los 60°C. Sin embargo, debemos considerar que uno de los reactivos empleados es sólido a temperatura ambiente (ácido mirístico). Por lo que teniendo en cuenta el punto de fusión del mismo, se decidió fijar el límite inferior de temperatura en 65°C.

El límite superior de temperatura también vendría impuesto por la pérdida de actividad de la enzima catalítica, que a temperaturas superiores a los 80°C comienza a desactivarse por acción del fenómeno de desnaturalización térmica. No obstante, la presencia del otro reactivo (isopropanol), que presenta un punto de ebullición cercano a este límite, dio lugar a que el límite superior de temperatura se fijase en 75°C.

- Concentración de catalizador.

Según la información bibliográfica recogida y las especificaciones comerciales del catalizador que se emplea, para alcanzar la máxima conversión en éster, en las condiciones correspondientes al estado estacionario, la cantidad de catalizador es de 1g por cada 0.025 moles de ácido mirístico y por cada 0.025 moles de alcohol isopropílico. De manera que cuando la razón molar ácido/alcohol deseada es 1/1, si empleamos 0.25 moles de ácido y 0.25 moles de alcohol, el límite superior para la cantidad de catalizador es del 7% en peso de la masa de reacción. Teniendo en cuenta el mismo razonamiento, el límite inferior se ha fijado en un 3% en peso, para la relación molar 1/1 mencionada anteriormente.

Por lo tanto las variable que se van a tratar de optimar en este apartado van a ser la temperatura de reacción y la concentración de catalizador presente en el medio de reacción, permaneciendo fijas en todo momento la presión de operación, la velocidad de agitación del sistema y la relación molar ácido mirístico/ alcohol isopropílico.

I.1.4 PLANIFICACION DE EXPERIMENTOS

La experimentación correspondiente a esta parte del trabajo, se ha planificado de acuerdo con las características de un diseño factorial de experimentos. Según esto, los experimentos se pueden agrupar en las dos etapas correspondientes al diseño:

- (a) Diseño factorial: 2^k experimentos.
- (b) Repetición de experimentos en los puntos centrales: cuatro experimentos.

La primera etapa (diseño factorial), se desarrolla considerando las variables indicadas anteriormente: temperatura y concentración de catalizador ($k = 2$). Por tanto, la realización del diseño factorial implica la necesidad de hacer cuatro experimentos. En la tabla I.1 se muestran los valores de los niveles de cada uno de los factores planificados para el presente estudio; mientras que en la tabla I.2 se muestra la matriz representativa del diseño factorial realizado, en la que los signos positivos representan el límite superior para cada variable y los signos negativos el límite inferior de las variables.

Tabla I.1. Niveles para las variables objeto de estudio.

VARIABLE	NIVEL +1	NIVEL 0	NIVEL -1
T (°C)	75	70	65
C (%)	7	5	3

Tabla I.2. Experimentos correspondientes al diseño factorial.

N° EXPERIMENTO	ORDEN	TEMPERATURA	CATALIZADOR
1	4	-	-
2	2	-	+
3	3	+	-
4	1	+	+

El modelo matemático para los dos factores (T y C), al que se desean ajustar los resultados experimentales, viene dado por la siguiente expresión:

$$Y = a_0 + a_1 \cdot X_T + a_2 \cdot X_C + a_{12} \cdot X_T \cdot X_C$$

Siendo Y el rendimiento en miristato de isopropilo, X_T la influencia de la temperatura y X_C la influencia debida a la concentración inicial de catalizador.

I.1.5 RESULTADOS DE LA OPTIMACION DEL PROCESO

La respuesta a medir elegida, ha sido la conversión de ácido en éster a las dos horas de reacción, obteniéndose unos valores determinados para los experimentos correspondientes al diseño factorial de experimentos. El número de experimentos necesarios, según el diseño factorial es de cuatro experimentos, mientras que para el estudio de los puntos centrales necesitamos cuatro experimentos adicionales.

Teniendo en cuenta este razonamiento, la matriz experimental para la optimación del proceso de esterificación entre el ácido mirístico y el isopropanol deberá incrementarse. En la tabla I.3 se resumen los experimentos que se han tenido en cuenta, la respuesta medida a las dos horas y la influencia de cada uno de los factores (temperatura y concentración inicial de catalizador).

Tabla I.3. Experimentos empleados para la optimación del proceso.

N° EXPERIMENTO	ORDEN	X_T	X_C	Y_0 (%)
1	4	-	-	60.96
2	2	-	+	68.42
3	3	+	-	75.53
4	1	+	+	77.55
5	5	0	0	71.01
6	6	0	0	72.15
7	7	0	0	68.01
8	8	0	0	71.07

Los signos positivos indican el límite superior para cada uno de los factores que se han tenido en cuenta, es decir, 75°C para la temperatura y 7% para la concentración inicial de catalizador. Los signos negativos indican el límite inferior para dichos factores, es decir, 65°C para la temperatura y 3% para la concentración de catalizador; mientras que los valores nulos indican el valor medio de cada intervalo (70°C y 5% de catalizador).

Operando con los datos descritos en la tabla I.3, llegamos a los resultados correspondientes al análisis del primer diseño factorial de experimentos (2^k), y que se muestran en la tabla siguiente.

Tabla I.4. Resultados del diseño factorial de experimentos.

RESPUESTA: Conversión en éster a las tres horas.		
NUMERO DE EXPERIMENTOS: 4		
GRADOS DE LIBERTAD: 3		
RESULTADOS		
$Y = 70.615$		
INTERACCIONES		
$X_T = 11.85$	$X_C = 4.74$	$X_{TC} = -2.726$

Como puede observarse, la variable que mayor influencia ejerce sobre la respuesta obtenida es la temperatura de operación, puesto que al aumentar dicha variable en 10°C, la conversión aumenta su porcentaje en un 13%.

La siguiente variable, en orden de influenciabilidad sobre la respuesta, es la concentración inicial de catalizador; puesto que cuando aumenta en un 4%, da lugar a un aumento de la conversión en éster entorno al 9%.

La influencia debida a la variación conjunta de las dos variables a la vez es menos significativa que la debida a la variación de cada efecto por separado, sólo cabe destacar la disminución producida en la conversión debida al aumento conjunto de la temperatura y la cantidad de catalizador empleada.

1.1.6 ESTIMACION DEL ERROR COMETIDO

Con los resultados obtenidos se han realizado unas pruebas de significación con el fin de conocer el nivel de confianza de la experimentación, así como la influencia de las variables sobre el proceso estudiado.

Para la estimación del error se han empleado dos métodos diferentes, el método Daniels y el método de la replicación en los puntos medios.

Los resultados obtenidos, además de proporcionarnos una estimación cuantitativa del error cometido cuando se emplea el diseño factorial de experimentos para optimar el proceso, permiten realizar una comparación entre los dos algoritmos empleados. Dichos resultados se detallan a continuación.

I.1.6.1 Estimación del error por el metodo Daniels

En la figura I.1 se representa la probabilidad estadística de la influencia que ejerce sobre el proceso de esterificación cada uno de los efectos estudiados. Según dicha representación, los puntos que no se ajustan a la recta de probabilidad estadística son los que tienen influencia en el proceso de esterificación. En este caso puede considerarse que los tres efectos representados caen fuera de la línea de no influencia. Dichos efectos se corresponden con los dos factores principales, temperatura y concentración inicial de catalizador y con la interacción doble constituida por el factor cruzado de los dos efectos principales.

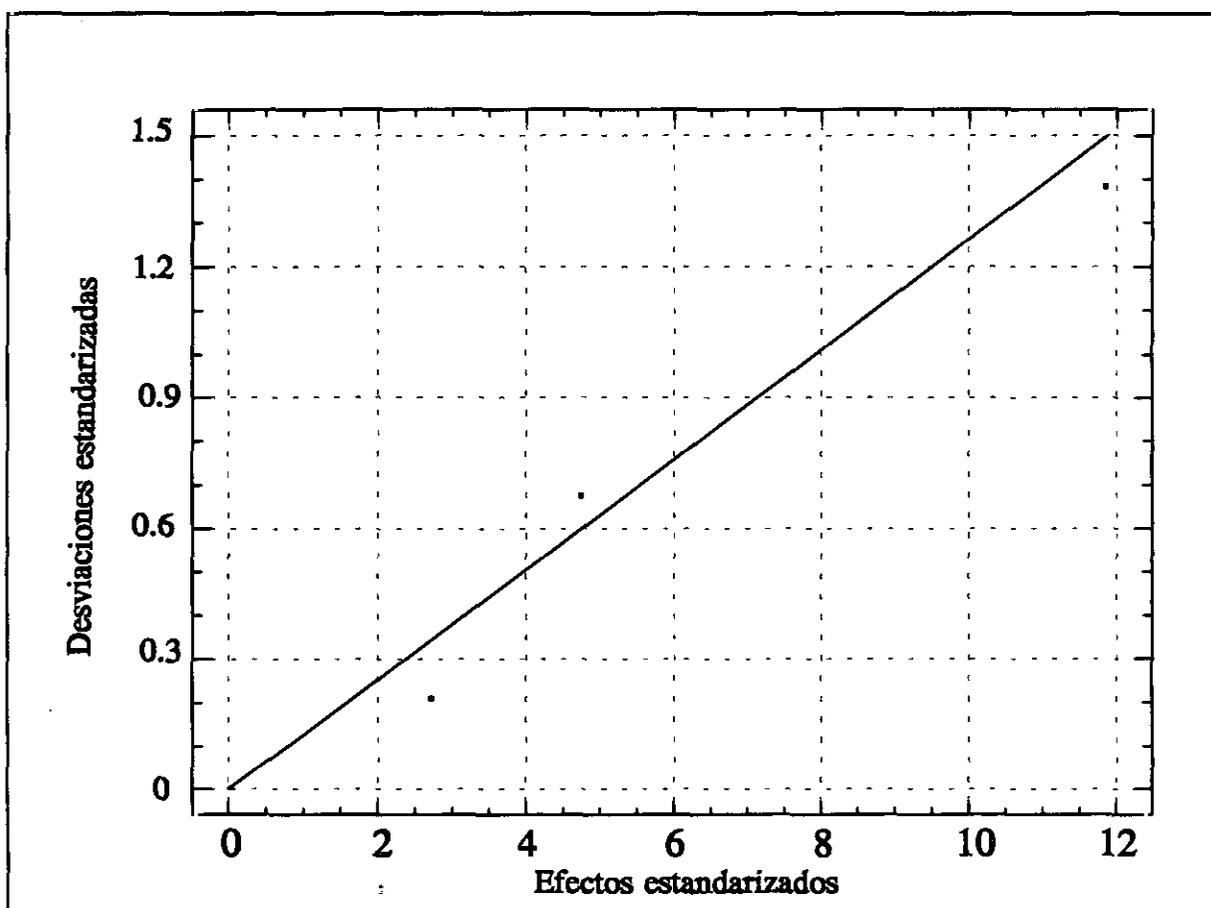


Figura I.1. Estimación del error por el método de Daniels.

I.1.6.2 Estimacion del error por el metodo de la replicacion de los puntos centrales

Utilizando el método de la replicación en los puntos medios, lo que se pretende es obtener las pruebas de significación que nos indiquen las variables que influyen sobre el proceso de esterificación.

En la tabla I.5 se muestran las pruebas de significación realizadas, indicando el nivel de confianza establecido para dichas pruebas. Además del nivel de confianza, se han calculado parámetros indicativos del ajuste tales como el valor medio de la variable dependiente, la desviación estándar y el número de Student; así mismo, se indican los parámetros que presentan una influencia significativa sobre el proceso de esterificación.

Tabla I.5. Resultados del error, empleando el método de la replicación en los puntos centrales.

PRUEBAS DE SIGNIFICACION
NIVEL DE CONFIANZA: 95 % $Y_m = 70.56$ $S = 1.48$ $t = 3.182$
INTERVALO DE CONFIANZA: ± 2.39
VARIABLES SIGNIFICATIVAS: X_T X_C X_{TC}
CURVATURA: $C = Y_m - Y = 70.62 - 70.56 = 0.06$
EFFECTO DE CURVATURA: ± 2.83

Teniendo en cuenta la replicación en los puntos centrales y los valores obtenidos tanto para los efectos principales como para la interacción correspondiente, se obtienen resultados análogos cuando se representan los valores estadísticos para dichas influencias en porcentajes acumulados. En la figura I.2 se representa el valor promedio estadístico, pudiéndose observarse que las tres influencias obtenidas están por encima del valor relativo, por debajo del cual, la influencias serían despreciables.

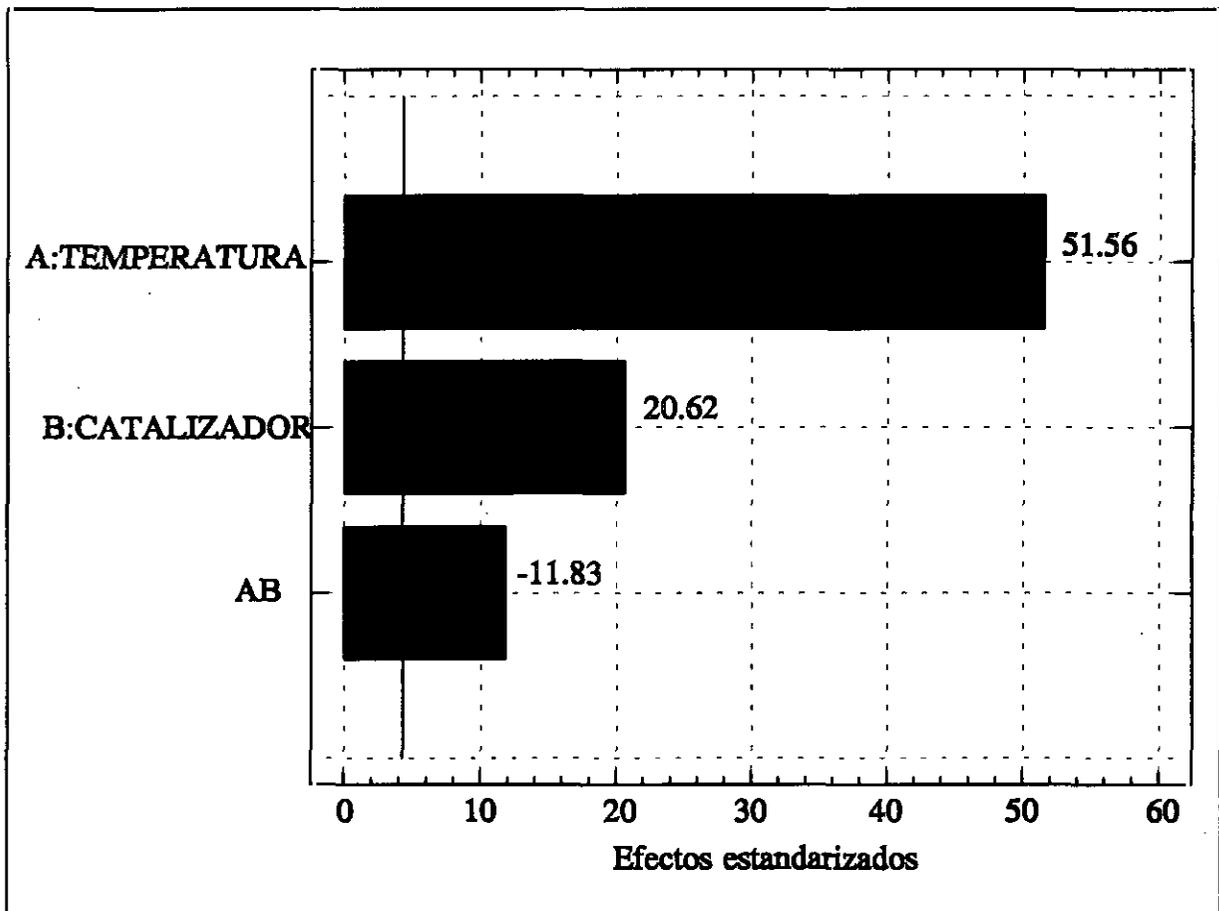


Figura I.2. Representación del valor promedio estadístico para los efectos, a las dos horas de reacción.

I.1.7 DETERMINACION DE LOS MODELOS ESTADISTICO E INDUSTRIAL

Con los resultados obtenidos a partir de los experimentos correspondientes al diseño factorial (2^k), se han realizado dos ajustes por regresión múltiple empleando el método de los mínimos cuadrados. El primero de los ajustes emplea los valores de las respuestas obtenidas y el valor factorial de las variables en los niveles +1 y -1, a partir de este ajuste se obtiene el modelo estadístico lineal. El segundo ajuste emplea los valores reales de las variables, con sus unidades, y las respuestas obtenidas experimentalmente. Mediante este ajuste se obtiene el modelo industrial. Una vez realizados dichos ajustes, los modelos obtenidos para el proceso de esterificación catalítica son los que se muestran a continuación:

MODELO ESTADISTICO:

$$Y = 70.62 + 5.93X_T + 2.37X_C - 1.36X_{TC}$$

Coeficiente correlación: 0.991

MODELO INDUSTRIAL:

$$Y = -65.88 + 1.87T + 10.71C - 0.14T.C$$

Aunque, matemáticamente, los modelos obtenidos se ajustan adecuadamente a los resultados experimentalmente observados, para conocer la desviación que existe entre los resultados experimentales y los resultados obtenidos a partir de los modelos matemáticos propuestos, en la tabla I.6 se muestran los resultados obtenidos experimentalmente y empleando los modelos matemáticos, así como el error cometido al emplear los modelos propuestos.

Tabla I.6. Comparación de los resultados obtenidos.

T (°C)	C (%)	X _T	X _C	Y _{EXP.}	Y _{CALC.}	ERROR
65	3	-	-	60.96	61.09	0.13
65	7	-	+	68.42	68.08	-0.34
75	3	+	-	75.53	75.41	-0.12
75	7	+	+	77.55	77.88	0.33
70	5	0	0	70.56	70.84	0.28

Representando gráficamente los puntos experimentales y el modelo teórico propuesto, se puede observar el error cometido al emplear dicho modelo. En la figura I.3 puede observarse que los puntos experimentales se ajustan al modelo teórico propuesto.

Para cuantificar la validez del modelo se ha realizado un análisis de residuos con el valor de las respuestas medidas experimentalmente y con los valores calculados a partir del modelo matemático. Como puede observarse en la figura I.4, en todos los casos, el error cometido es inferior al 0.5 %, lo cual da una idea de la fiabilidad del modelo propuesto para estimar la influencia de las variables.

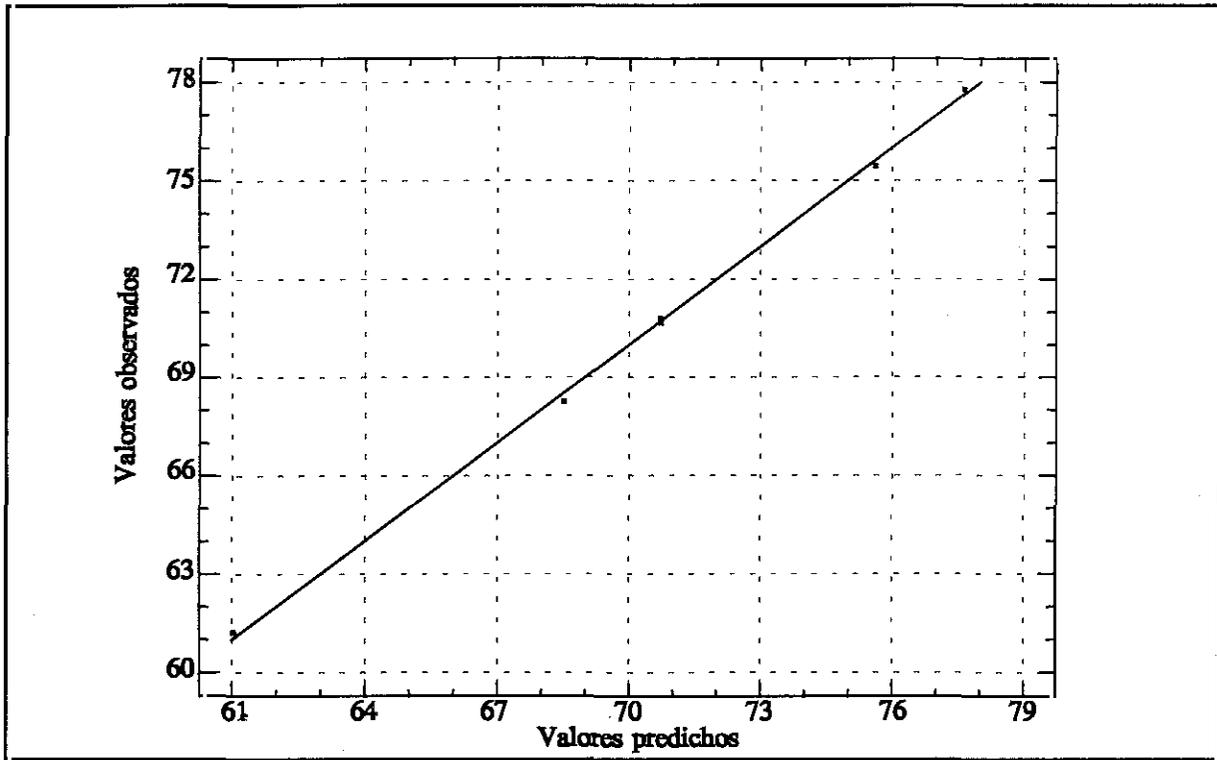


Figura I.3. Representación de los valores observados frente a los valores predichos por el modelo.

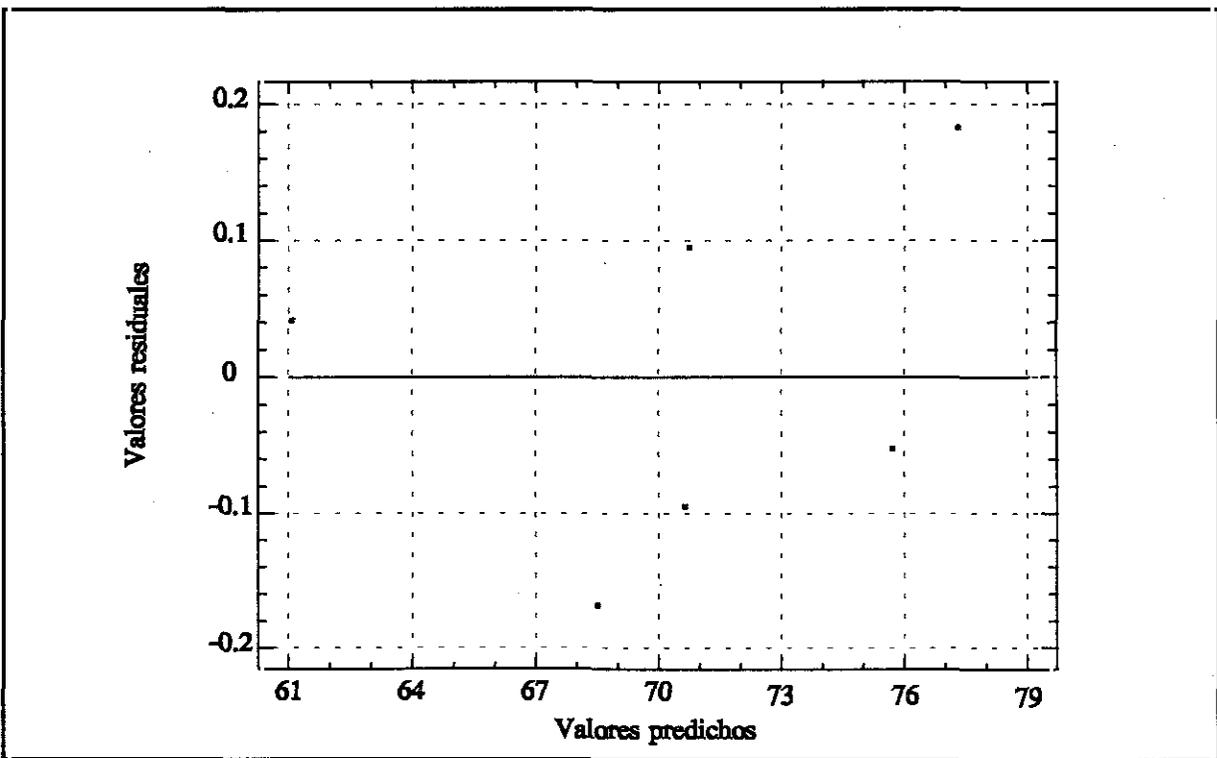


Figura I.4. Representación del análisis de residuos para el modelo propuesto.

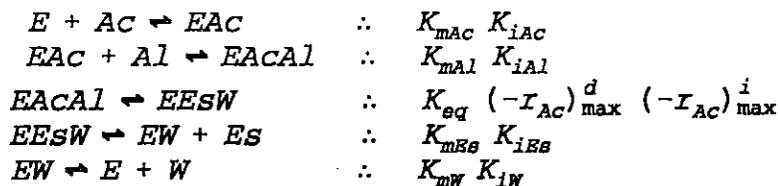
I.2 ESTUDIO CINÉTICO DE LA SÍNTESIS DE MIRISTATO DE ISOPROPILO

El estudio cinético del sistema de reacción constituido por ácido mirístico y alcohol isopropílico, catalizado por la lipasa inmovilizada Novozym 435, se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta en el capítulo siete de esta memoria. Dada la analogía con los sistemas ya estudiados, el mecanismo de reacción más adecuado para este sistema pasa por la suposición de considerar como primer paso del mismo la formación de la especie enzimática activa, el complejo enzima-ácido. Esto es únicamente posible considerando un mecanismo de reacción ordenado, ya que la suposición de otros posibles mecanismos ha quedado descartada para este tipo de sistemas.

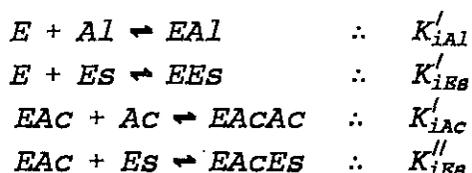
Por tanto, el primer reactivo involucrado en el mecanismo de reacción propuesto sería el ácido graso dando lugar a la formación del complejo activo enzima-ácido; a continuación se adicionaría el alcohol para formar el complejo ternario alcohol-enzima-ácido. La tercera etapa del mecanismo sería en la que se produce la verdadera transformación de las especies químicas, consistiendo en la transformación del complejo obtenido en la etapa anterior en el resultante éster-enzima-agua. La siguiente etapa vendría dada por una liberación del éster formado, mientras que la última consistiría en una liberación del agua.

Es decir, el mecanismo general para este tipo de reacciones se corresponde con el planteamiento expuesto en el capítulo siete, por lo que constaría de dos grupos de etapas, el primero constituido por las etapas principales de reacción y un segundo grupo de etapas de inhibición, como se muestra a continuación:

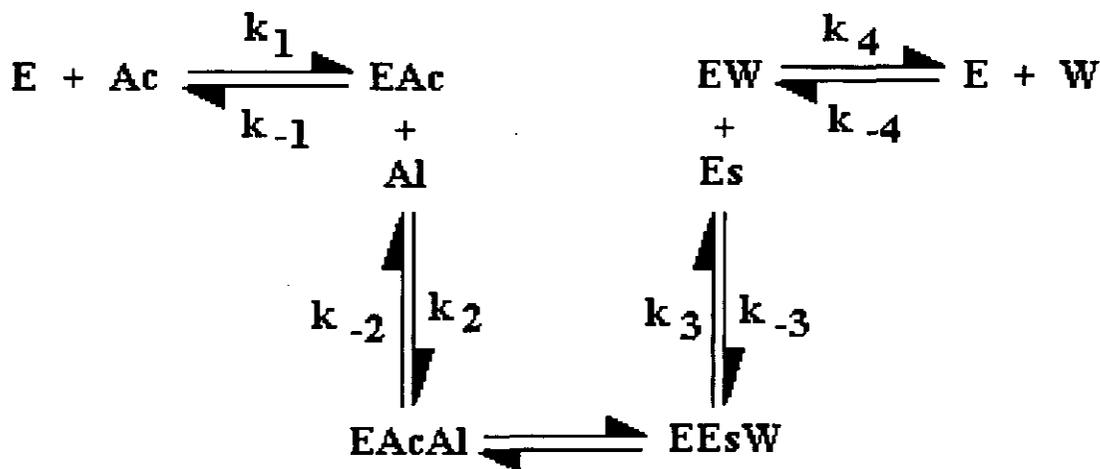
Etapas principales:



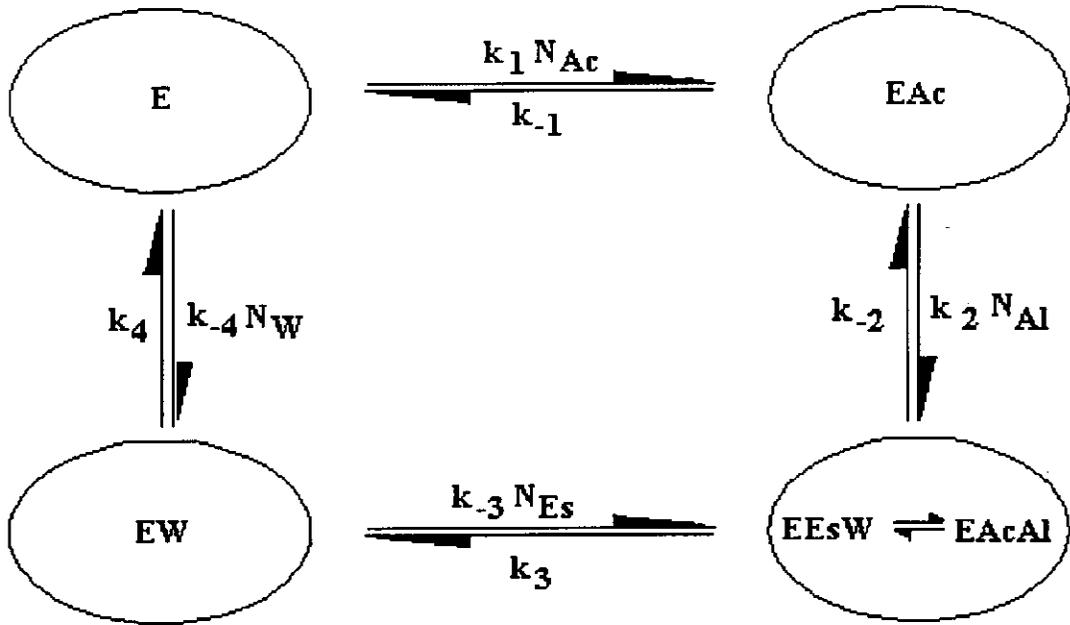
Etapas de Inhibición:



Teniendo en cuenta el mecanismo global que considera todas las etapas involucradas en el esquema de reacción, se dedujo la ecuación general completa para las reacciones de esterificación objeto de estudio. Dicha deducción se llevó a cabo partiendo de las etapas de reacción principales para, después, incluir los términos debidos a las etapas de inhibición. El esquema principal para la reacción será el siguiente:



Aplicando el método de King-Altman, la figura sencilla a la que corresponde dicho esquema de reacción será la que se muestra a continuación:



Desarrollando el esquema propuesto y siguiendo los pasos propuestos en el mencionado capítulo se llega a la expresión general ya descrita:

$$\begin{aligned}
 (-I_{AC}) = & \frac{(-I_{AC})^d_{\max} (-I_{AC})^i_{\max} (N_{AC} N_{Al} - \frac{N_{ES} N_W}{K_{eq}})}{(-I_{AC})^i_{\max} K_{iAc} K_{mAl} (1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}} + \frac{N_{ES}}{K'_{ES}}) + (-I_{AC})^i_{\max} K_{mAl} N_{AC} (1 + \frac{N_{AC}}{K'_{iAC}} + \frac{N_{ES}}{K'_{iES}}) +} \\
 & + (-I_{AC})^i_{\max} K_{mAc} N_{Al} (1 + \frac{N_{Al}}{K'_{iAl}} + \frac{N_{ES}}{K'_{iES}}) + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mW} N_{ES}}{K_{eq}} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mES} N_W}{K_{eq}} + (-I_{AC})^i_{\max} N_{AC} N_{Al} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} K_{mW} N_{AC} N_{ES}}{K_{eq} K_{iAc}} + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} N_{ES} N_W}{K_{eq}} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^i_{\max} K_{mAl} N_{Al} N_W}{K_{iW}} + \frac{(-I_{AC})^i_{\max} N_{AC} N_{Al} N_{ES}}{K_{iES}} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d_{\max} N_{Al} N_{ES} N_W}{K_{iAl} K_{eq}}
 \end{aligned}$$

Por analogía con el proceso de síntesis para la obtención de palmitato de isopropilo se procedió a estudiar la síntesis de miristato de isopropilo de manera similar. En un principio se intentaron ajustar los datos de las reacciones realizadas con una relación equimolar de reactivos, empleando para ello el modelo correspondiente a una cinética reversible que considera los posibles pasos de inhibición, en su forma polinómica, descrito por la ecuación [7.26].

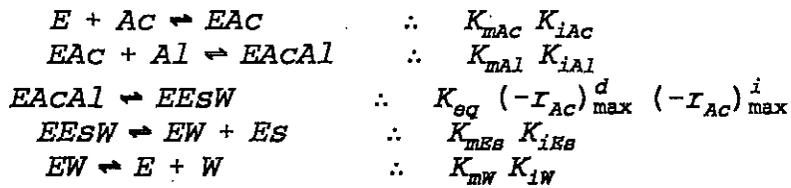
No obstante, los resultados obtenidos en este ajuste no fueron lo suficientemente satisfactorios, ya que los parámetros estadísticos resultantes de dicho ajuste indicaban una desviación importante entre los modelos obtenidos y los valores experimentales. Por este motivo, se modificó la ecuación de partida, mediante la eliminación de algunos de sus términos, haciendo los coeficientes que los acompañaban igual a cero.

Tras sucesivas comprobaciones, se llegó a la conclusión de que uno de los términos del modelo debía ser despreciable frente a los demás para que los datos experimentales verificasen la ecuación. El término despreciable en este caso fue el que acompaña al coeficiente ϵ , lo que indica que el modelo cinético planteado no es válido para este sistema de esterificación, debiendo ser modificado el esquema de reacción planteado en un principio. Según este planteamiento, habría que comprobar las etapas supuestas, para conocer a que parámetros es debido el término despreciable en el modelo cinético general.

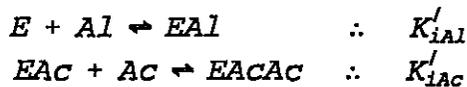
Dicho término de integración, es debido a las etapas de inhibición que tienen en cuenta la formación de los complejos enzima-éster y ácido-enzima-éster. Por lo tanto habrá que considerar que esas etapas no se verifican en el seno de la reacción o que, al menos, son despreciables frente a las otras etapas consideradas en el esquema de reacción.

Teniendo esto en cuenta, el esquema de reacción se vería modificado con respecto al esquema general supuesto al principio de este capítulo, quedando de la siguiente manera:

Etapas de reacción:



Etapas de Inhibición:



La desaparición de dichas etapas de inhibición es debida a la fuerte afinidad de los reactivos tanto por la enzima libre y como por el complejo enzima-ácido, lo que demuestra una vez más que el tipo de inhibición que tiene lugar en el proceso corresponde a un fenómeno de inhibición competitiva.

Según esto, en la competición por la formación de complejos con la enzima libre, debido a la naturaleza de las especies presentes en el medio, se ve favorecida la formación de complejos con los reactivos, por lo que el modelo cinético que corresponde a este esquema de reacción vendrá dado por la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned}
 (-I_{AC}) = & \frac{(-I_{AC})^d \max(-I_{AC})^i (N_{AC} N_{AI} - \frac{N_{ES} N_W}{K_{eq}})}{(-I_{AC})^i \max K_{iAC} K_{mAI} (1 + \frac{N_{AI}}{K'_{iAI}}) + (-I_{AC})^i \max K_{mAI} N_{AC} (1 + \frac{N_{AC}}{K'_{iAC}}) +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^i \max K_{mAC} N_{AI} (1 + \frac{N_{AI}}{K'_{iAI}}) + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{mW} N_{ES}}{K_{eq}} +} \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{mES} N_W}{K_{eq}} + (-I_{AC})^i \max N_{AC} N_{AI} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max K_{mW} N_{AC} N_{ES}}{K_{eq} K_{iAC}} + \frac{(-I_{AC})^d \max N_{ES} N_W}{K_{eq}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^i \max K_{mAC} N_{AI} N_W}{K_{iW}} + \frac{(-I_{AC})^i \max N_{AC} N_{AI} N_{ES}}{K_{iES}} + \\
 & + \frac{(-I_{AC})^d \max N_{AI} N_{ES} N_W}{K'_{iAI} K_{eq}}
 \end{aligned}$$

Linealizando dicha ecuación, para lo cual se sustituyeron las variables de número de moles en función de la conversión de ácido mirístico en miristato de isopropilo y se procedió a la integración de dicho modelo, llegándose a una ecuación en función del tiempo y de la conversión, cuya forma es la que se muestra a continuación.

$$\begin{aligned}
 t = & \theta \text{Ln}(X_{AC}^2 (K_{eq} - 1) - 2K_{eq} X_{AC} + K_{eq}) + \\
 & + \omega \text{Ln} \frac{(\sqrt{K_{eq}} - 1)}{(\sqrt{K_{eq}} + 1)} + \xi \text{Ln} K_{eq} + \lambda X_{AC}
 \end{aligned}$$

Los coeficientes que acompañan a cada uno de los términos de dicho modelo están constituidos por relación entre las diferentes constantes cinéticas involucradas en los pasos de reacción que integran el esquema de reacción propuesto. La forma de dichos coeficientes es la siguiente:

$$\theta = - \frac{\sqrt{K_{eq}} K_{eq} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IES} K_{IAL} (K_{MAC} K_{IW} (K_{IES} + N_{ACO}) + K_{IES} K_{MAL} (K_{IW} + N_{ACO}))}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)}$$

$$- \frac{\sqrt{K_{eq}} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{eq} K_{IAL} K_{MAC} K_{IW} (K_{IAL} (K_{IES} - N_{ACO}) + K_{IAL} K_{IES} (K_{MAL} N_{ACO} - (K_{IW} (K_{MAL} + 2N_{ACO}))))}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)}$$

$$\lambda = \frac{(-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IES} K_{IW} (K_{IAL} + K_{MW}) - K_{eq} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max (K_{MAC} K_{IW} K_{IAL} + K_{IES} K_{IAL} (K_{MAL} - K_{IW}))}{(-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max (K_{eq} - 1)}$$

$$\xi = \frac{\sqrt{K_{eq}} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IES} K_{IW} (K_{IAL} + N_{ACO}) + K_{IAL} (K_{MAL} + N_{ACO}) - K_{eq} (K_{MAC} K_{IW} K_{IAL} - K_{IES} N_{ACO})}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)^2}$$

$$- \frac{\sqrt{K_{eq}} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{eq} K_{IAL} K_{IES} (K_{IW} (K_{MAL} - N_{ACO}) + 2K_{MAL} N_{ACO})}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)^2}$$

$$\omega = \frac{K_{eq} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{eq} K_{IAL} (K_{MAC} K_{IW} + K_{IES} K_{MAL} (K_{IW} + N_{ACO}))}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)^2}$$

$$- \frac{K_{eq} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max (K_{eq} K_{IAL} (K_{MAC} K_{IW} K_{IAL} (K_{IES} - N_{ACO})) - K_{IAL} K_{IES} (K_{MAL} N_{ACO} - K_{IW} (K_{MAL} + 2N_{ACO})))}{2 (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max K_{IAL} K_{IES} K_{IW} (-I_{AC})^{\frac{1}{2}} \max N_{ACO} (K_{eq} - 1)^2}$$

Sustituyendo los datos experimentales tiempo-conversión en dicho modelo, y aplicando un método numérico de regresión múltiple en primer lugar y regresión no lineal después se llegó a obtener los coeficientes de dicho modelo para el experimento realizado a una temperatura de 70°C y con una concentración inicial de catalizador del 5%. Los valores obtenidos para los parámetros cinéticos calculados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla I.6. Parámetros cinéticos calculados para la síntesis de miristato de isopropilo.

Temperatura: 70° C	Concentración de Catalizador: 5%	Presión: 710 mmHg
K _{eq} : 4.9542		
ξ= -41.876	ω= 12.813	θ=-32.98 λ=2.162

A partir de dichos coeficientes, pueden obtenerse los valores de las constantes cinéticas, empleando para ello experimentos adicionales y siguiendo la metodología aplicada en los casos anteriormente estudiados.

A fin de comprobar la validez tanto del modelo propuesto como de los parámetros calculados, se procedió a realizar la simulación gráfica de los mismos. En la figura I.7 se representa la curva obtenida aplicando dicho modelo, así como, los valores obtenidos experimentalmente para la reacción de esterificación del ácido mirístico con alcohol isopropílico para una temperatura de operación de 70°C, concentración inicial de lipasa inmovilizada correspondiente al 5% en peso de la masa total de reacción y presión atmosférica.

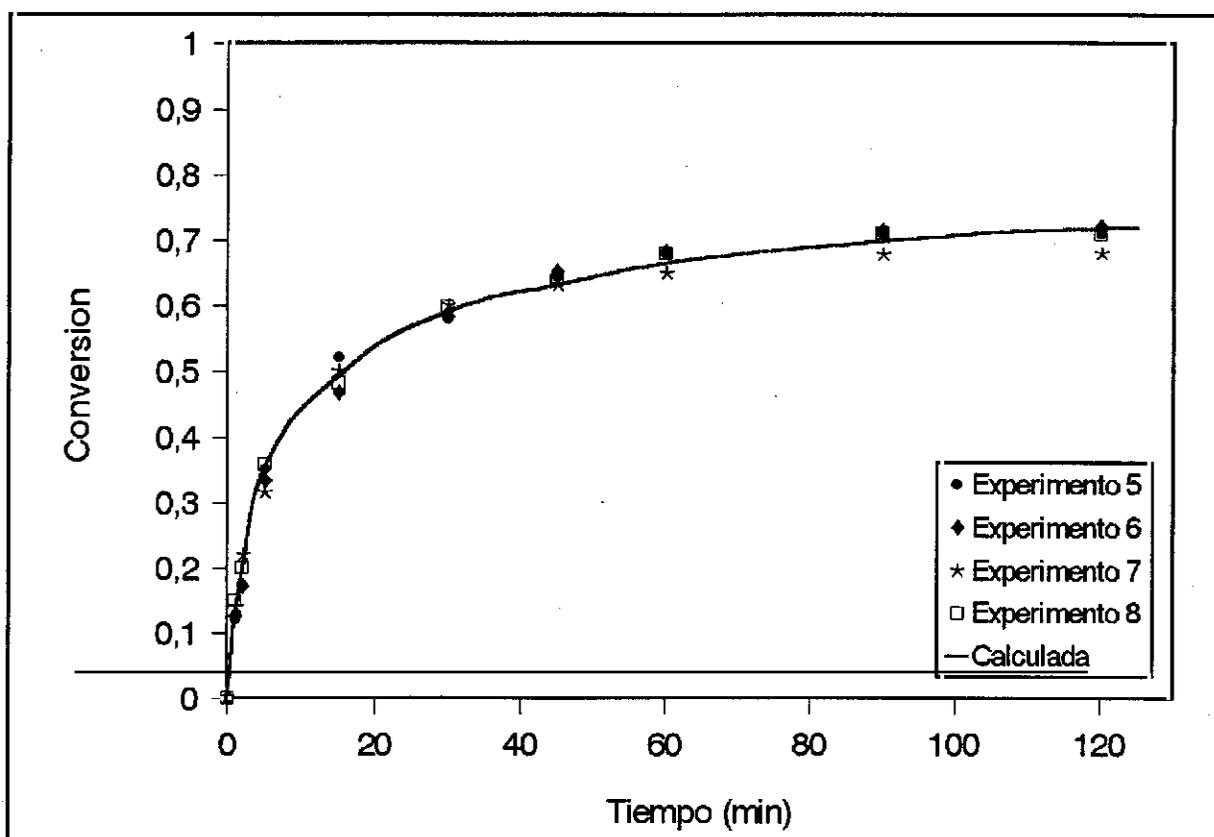


Figura I.7. Simulación de la síntesis de miristato de isopropilo. Experimentos en los cuatro puntos centrales. Temperatura: 70°C, Catalizador: 5% en peso, Presión: 710 mmHg.

A fin de cuantificar el error cometido en la predicción de la conversión empleando el modelo cinético calculado, se ha llevado a cabo el análisis de residuos reflejado en la figura I.8. donde se han tenido en cuenta los cuatro experimentos realizados en idénticas condiciones.

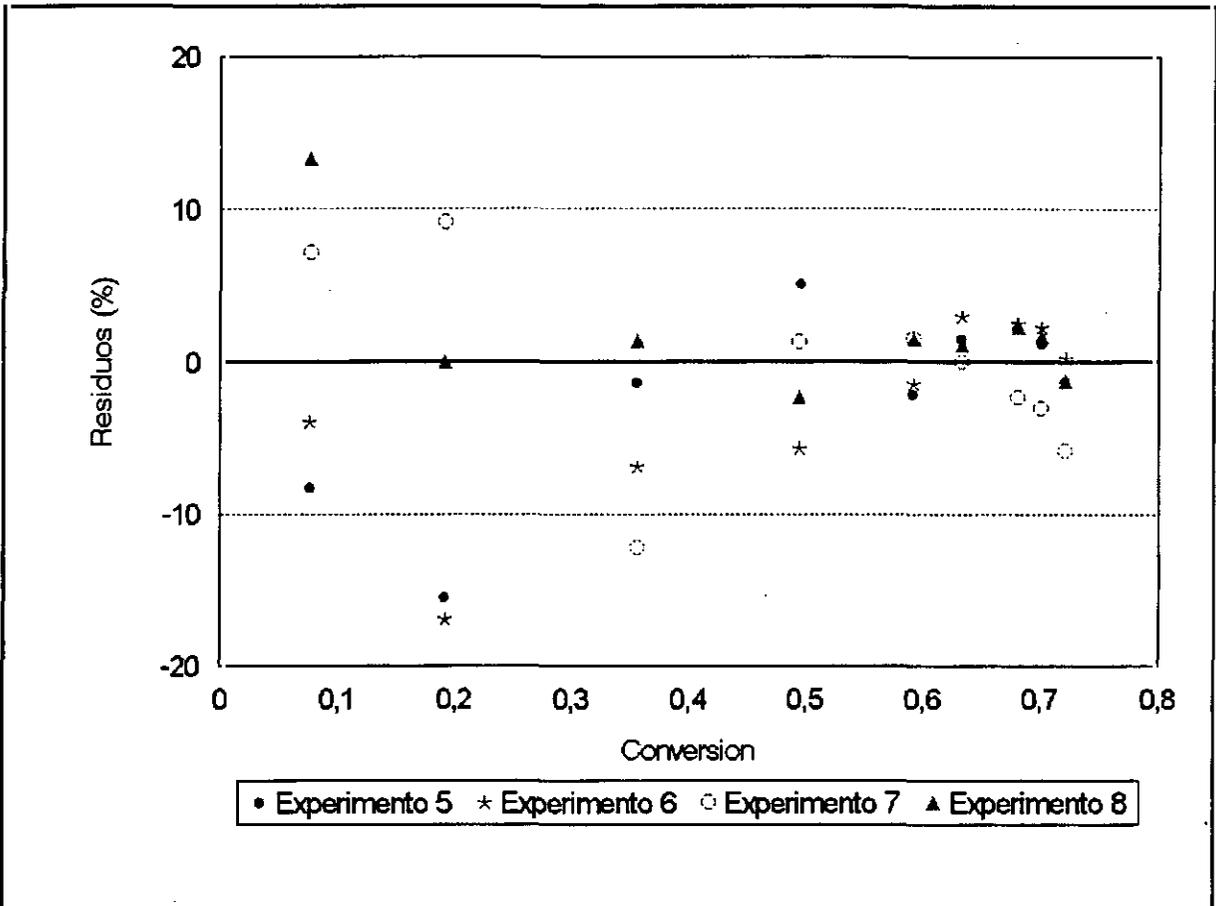


Figura I.8. Análisis de residuos para la síntesis de miristato de isopropilo.

Como puede observarse en el análisis de residuos, el error cometido al aplicar el modelo cinético propuesto, no sobrepasa en ningún caso el 20%. Los máximos errores se obtienen para los experimentos 5 y 6, siendo estos del 15.5% y 16.7% respectivamente; mientras que los experimentos 7 y 8 presentan un error máximo del 12.3% y 13.3% respectivamente. En todos los casos, los máximos errores se obtienen para tiempos cortos de reacción, lo cual es lógico puesto que el sistema se comporta de manera más inestable en la puesta en marcha. Sin embargo, si se tienen en cuenta los errores medios para los cuatro experimentos, se observan valores del 4.30%, 4.79%, 4.75% y 2.82% de error para los

cuatro experimentos estudiados, lo que confirma que el modelo propuesto puede considerarse razonablemente adecuado para predecir la conversión en función del tiempo de reacción con un error medio global inferior al 5% en todos los casos.

**ANEXO II: DISEÑO FACTORIAL
DE EXPERIMENTOS**

El diseño factorial de experimentos supone una planificación de estos anterior a la propia experimentación. Para ello, es necesario realizar un estudio de las variables que influyen en el proceso, del intervalo permitido para cada una de las mismas y de la respuesta o respuestas que se deben medir para referir el estudio a esta últimas.

Consiste en una técnica estadística que permite minimizar el número de experimentos necesario para conocer y cuantificar la influencia que ejercen las variables sobre el proceso objeto de estudio.

Cada una de las variables independientes que influyen sobre el proceso se denominan **factores**. Y cada uno de los distintos factores puede poseer varios valores en cada experimento, a dichos valores se les denomina **niveles** de un factor.

Dependiendo del número de niveles, obtendremos diferentes modelos matemáticos. Así, para obtener un modelo lineal (de primer orden), necesitamos conocer dos niveles, +1 y -1, que son el nivel superior y el nivel inferior respectivamente; mientras que para obtener un modelo de segundo orden,

necesitamos añadir un nivel más (nivel 0), dicho nivel viene determinado por el valor medio entre los niveles superior e inferior.

El número de experimentos necesario, viene determinado por el número de niveles ensayados, elevado al número de factores que influyen en el proceso. A partir del número de experimentos, podemos obtener el número de grados de libertad del diseño factorial, restando la unidad al número de experimentos obtenido.

II.1 MODELOS MATEMATICOS

Los modelos matemáticos que se obtienen a partir del diseño factorial de experimentos, sirven para expresar, de forma numérica, la relación entre los factores que influyen en un proceso determinado y la respuesta obtenida a partir de dicho proceso.

La forma del modelo matemático obtenido, depende del número de factores que tengan una influencia significativa sobre la respuesta, así como del número de niveles ensayado para cada uno de los factores.

Los modelos matemáticos empleados normalmente, son polinomios ortogonales. Teniendo en cuenta n factores y m niveles, la forma general de dichos modelos es la siguiente:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i \cdot X_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_{ij} X_i \cdot X_j + \dots + \sum_{i=1}^{j=1} \dots + \sum_{m=1}^n a_{ij\dots m} \cdot X_i \cdot X_j \cdot \dots \cdot X_m$$

Siendo:

Y: Respuesta medida.

a_0 : Término residual.

a_i : Efecto del factor i.

a_{ij} : Efecto de las interacciones de orden dos.

$a_{j...m}$: Efecto de las interacciones de orden m.

El modelo matemático obtenido, sólo es válido entre los valores límites elegidos para los factores, y una vez obtenido se deriva para maximizar o minimizar la respuesta, según convenga en cada caso.

IL2 ESTIMACION DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES

El **parámetro de influencia (I)**, viene definido por la variación media obtenida en la respuesta al variar el factor correspondiente entre los niveles superior e inferior de experimentación. Para un factor determinado, la influencia ejercida por él mismo viene determinada por la siguiente expresión:

$$I_X = \frac{\sum Y_{X^{(+)}} - \sum Y_{X^{(-)}}}{\frac{N}{2}}$$

Donde los términos del numerador denotan la suma de las respuestas obtenidas cuando el factor X está en los niveles superior e inferior respectivamente, y siendo N el número de experimentos correspondientes al diseño factorial.

De la misma manera pueden calcularse las influencias correspondientes a las interacciones de orden n.

II.3 ERROR EN LA RESPUESTA

Los errores en las respuestas obtenidas, siguen una distribución *Gaussiana*, pero para realizar el estudio estadístico, se dispone de un número reducido de experimentos y por lo tanto se recurre a la distribución de *Student*.

Para determinar cuales de las influencias son significativas, se recurre al cálculo del **intervalo de confianza**. El intervalo de confianza viene definido por la siguiente expresión:

$$\text{INTERVALO-CONFIANZA: } \pm \frac{t \cdot S}{n^{1/2}}$$

Donde *t* es el número estadístico de *Student*, correspondiente al nivel de confianza elegido y a los *n-1* grados de libertad, *S* es el error estimado en la respuesta con *n-1* grados de libertad (**desviación estándar**), y *n* es el número de experimentos realizados para calcular el error en la respuesta.

El cálculo de la desviación estándar puede realizarse empleando la expresión que se muestra a continuación:

$$S = \left[\frac{\sum_{i=1}^r (Y_i - Y_m)^2}{(r-1)} \right]^{1/2}$$

Siendo:

$$Y_m = \sum_{i=1}^r \frac{Y_i}{r}$$

II.4 SISTEMAS NO LINEALES

Cuando la respuesta de un sistema no es lineal, necesitamos introducir un tercer nivel. Esto sucede cuando tiene lugar el efecto de *curvatura*.

El efecto de curvatura total se define como la diferencia entre el promedio de la respuesta de los experimentos realizados en los puntos centrales y valor promedio de las respuestas de los de los experimentos factoriales:

$$C = Y_m - Y$$

$$Y_m = \sum_{i=1}^k \frac{Y_{mi}}{k}$$

$$Y = \sum_{i=1}^n \frac{Y_i}{n}$$

Donde:

k: Número de experimentos en los puntos centrales.

n: Número total de experimentos factoriales.

El intervalo de confianza viene determinado por la siguiente expresión:

$$\pm t. s. \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{k} \right)^{1/2}$$

Siendo t el número estadístico de Student y s el error estimado en la respuesta.

Una vez estimada la curvatura, puede procederse a ejecutar el diseño compuesto de experimentos.

II.4.1 DISEÑOS COMPUESTOS: PLANIFICACION

Los efectos cuadráticos se obtienen mediante la planificación de un diseño compuesto central de experimentos.

II.4.1.1 Diseños compuestos centrales

Para realizar este tipo de planificación, se procede sumando a la matriz del diseño factorial (2^k), $2k+1$ combinaciones más.

Para determinar los **puntos estrella** puede elegirse un valor de α , tal que los coeficientes de regresión sean ortogonales entre sí, con el fin de minimizar el error y conseguir un diseño rotacional.

Si hacemos r repeticiones de los experimentos correspondientes a las condiciones de trabajo en los puntos centrales, el número central de experimentos para un diseño compuesto central a dos niveles, sería:

$$N=2^k+2 \cdot k+r$$

Con esto, se evita el tener que añadir nuevos niveles, lo cual, daría lugar a una mayor complicación en los cálculos matemáticos del diseño.

II.4.1.2 Superficies de respuesta

Empleando este tipo de diseños, podemos ajustar los resultados obtenidos a una superficie de respuesta de segundo orden, en la que las variables independientes son los factores y la variable dependiente es la medida. El modelo al que se llega es el siguiente:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i \cdot X_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_{ij} X_i \cdot X_j + \dots + \sum_{i=1}^{j=1} \dots \sum_{m=1}^n a_{ij\dots m} \cdot X_i \cdot X_j \cdot \dots \cdot X_m$$

Donde se cumple que:

$$X_1^2 + X_2^2 + \dots + X_m^2 = \alpha^2 = CTE.$$

y además:

$$\alpha = 2^{(k/4)}$$

Los resultados experimentales deben ajustarse a una superficie cuadrática que puede obtenerse mediante la utilización de análisis por regresión múltiple.

Para aplicar el método de las superficies de respuesta, debe procederse de la manera siguiente:

- (1) Se varía cuidadosamente el valor de los factores que influyen sobre el proceso que se pretende estudiar.
- (2) Se realizan las medidas de las respuestas entre los valores límites de operación que se fijaron en un principio.

- (3) Los resultados obtenidos se analizan para determinar la forma de ajustar las variables con el fin de mejorar la respuesta medida.

La metodología de trabajo a emplear, se divide en dos grandes etapas:

- (a) **Etapas de primer orden:** Se parte de un modelo matemático de primer orden, se realiza un diseño factorial adecuado, se ajustan los datos y se representan las superficies de respuesta, *determinando la dirección de la máxima pendiente.*
- (b) **Etapas de segundo orden:** Se parte de un modelo matemático de segundo orden, se realiza un diseño compuesto central, se ajustan los datos obtenidos y se representan gráficamente las superficies de respuesta. Analizando los resultados obtenidos, se llega a la respuesta óptima.