

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 743**

51 Int. Cl.:

C12P 7/46 (2006.01)

C10L 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2011 PCT/CN2011/081784**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12059065**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2011 E 11837591 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018 EP 2636747**

54 Título: **Proceso para preparar biodiésel con lipasa y deshidratación en línea separada**

30 Prioridad:

04.11.2010 CN 201010536576

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

09.04.2018

73 Titular/es:

**TSINGHUA UNIVERSITY (100.0%)
Qinghuayuan Tsinghua University Haidian
District
Beijing 100084, CN**

72 Inventor/es:

**LIU, DEHUA;
DU, WEI;
ZHAO, XUEBING y
ZHU, LUOLE**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 662 743 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso para preparar biodiésel con lipasa y deshidratación en línea separada

5 Campo técnico

[0001] La presente invención pertenece al campo técnico de síntesis de biocombustible. En concreto, la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de biodiésel a partir de aceite renovable y grasa catalizada por lipasa con deshidratación en línea separada del reactor de transesterificación.

10

Antecedentes

[0002] El biodiésel, que es una perspectiva nueva en la industria del aceite y de la grasa, son sustancias de éster de ácido graso de cadena larga generadas por reacción de transesterificación de aceite biológico y materia prima de grasa. Es un recurso de energía renovable nuevo sin polución, y se designa como biodiésel. Las propiedades de combustión de este son comparables con el diésel de petróleo tradicional. Puesto que las sustancias nocivas en el escape emitidas a partir de un motor donde se combustiona el biodiésel se reduce al 50% cuando se compara con diésel de petróleo tradicional, se ha dedicado recientemente mucha atención a las investigaciones y aplicaciones de biodiésel.

15

20

[0003] Actualmente, el biodiésel se produce principalmente por procesos químicos, es decir, usando aceite animal/vegetal y grasa junto con algunos alcoholes bajos en carbono (metanol o etanol) para llevar a cabo la reacción de transesterificación bajo la catálisis de catalizadores ácidos o alcalinos, para generar éster metílico de ácido graso correspondiente o éster etílico. Existen las siguientes desventajas inevitables cuando se usan procesos químicos para preparar biodiésel: (1) los ácidos grasos libres y agua en la materia prima de aceite y grasa afectan seriamente a la progresión de la reacción; (2) la solubilidad pobre de metanol en aceite y grasa complicaría fácilmente la formación de emulsión, de manera que el procedimiento de tratamiento posterior se complicaría; y (3) la cantidad de metanol usado según los requisitos del proceso excedería inmensamente la proporción molar de la reacción, y la recuperación del metanol de exceso aumentaría el consumo de energía durante el proceso.

25

30

[0004] Un proceso que utiliza una enzima biológica para sintetizar biodiésel tiene las siguientes ventajas: condiciones de reacción moderadas, no se emite ningún contaminante, y amplia aplicabilidad a materia prima de varios aceites y grasas. Tal proceso está conforme con la tendencia a la química verde, y se le está prestando por tanto más atención. Sin embargo, en los procesos de catalización de lipasa convencionales de conversión de materia prima de aceite y grasa para la preparación de biodiésel, cuando el contenido de agua en la materia prima de grasa y aceite es mayor del 0.5% (con base en el peso del aceite), el índice de acidez del producto biodiésel después de la reacción es generalmente superior a 0.5mg de K OH por gramo de aceite. Este no cumple con los estándares del índice de acidez requerido para China y la calidad de biodiésel internacional, y por tanto se requiere a posteriori tratamiento de procesamiento que implica neutralización alcalina complicada. Tal procedimiento de tratamiento posterior que usa neutralización alcalina para reducir el índice de acidez afecta al rendimiento del producto, y ocasiona problemas de polución. Wei Du et al, Green Chemistry, 2007, pp. 173-176, and Wei Li et al, Energy & Fuels, 2008, pp. 155-158, revelan procesos catalizados de lipasa para producción de biodiésel, donde se agregan tamices moleculares a la mezcla reactiva.

35

40

45

Contenido de la invención

[0005] El fin de la invención es proporcionar un proceso para preparación de biodiésel a partir de grasa y aceite renovable y catalizados por lipasa con deshidratación en línea separada del reactor de transesterificación. Durante los procesos en que se utiliza lipasa para catalizar materia prima de grasa y aceite renovable para preparar biodiésel, se usa deshidratación en línea de modo que el contenido de ácido graso en el producto de biodiésel final es superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite. Dicha reacción de lipasa se puede realizar en un solo paso, y también se puede realizar en varios pasos. En el proceso de reacción de varios pasos o de un solo paso de catálisis de lipasa, el índice de acidez del producto de biodiésel final puede ser menos de 0.5mg de KOH por gramo de aceite introduciendo deshidratación en línea durante el proceso entero o parte del proceso. Tal proceso de deshidratación en línea simplifica enormemente el procedimiento operativo, y proporciona buenos beneficios económicos y medioambientales. El diagrama esquemático para realizar deshidratación en línea en el proceso de catálisis de lipasa de un solo paso se muestra en la figura 1, y el diagrama esquemático para realizar deshidratación en línea en el proceso de catálisis de varios pasos se muestra en la figura 2.

50

55

60

[0006] En la presente invención un alcohol de cadena corta, que es metanol, etanol, propanol o butanol, se usa como un aceptor de acilo, y se utiliza una lipasa como el catalizador para catalizar reacción de transesterificación de materia prima de aceite y grasa con dicho alcohol de cadena corta, para sintetizar biodiésel. La reacción de lipasa se puede realizar en un paso único, y se puede realizar también en varios pasos. En el proceso de reacción de catálisis de lipasa de un solo paso o de varios pasos, el índice de acidez del producto de biodiesel

65

final puede ser menos de 0.5mg de KOH por gramo de aceite introduciendo deshidratación en línea separada del reactor de transesterificación durante el proceso entero o parte del proceso.

5 [0007] La presente invención se caracteriza en que 4-8 moles de cadena corta, es decir metanol, etanol, propanol o butanol, basado en la masa de aceite y grasa y 20-2000 unidades de lipasa con base en la masa de aceite y grasa se agregan a un reactor monofásico o multifásico, y la deshidratación en línea se realiza con una membrana o un filtro molecular de forma separada del reactor de transesterificación durante el proceso entero o parte del proceso de reacción; la temperatura se mantiene a 20-50°C; después de 3-10 horas, el rendimiento para convertir materia prima de grasa y aceite en biodiésel es mayor de 98%, y el índice de acidez del producto de biodiésel final es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

10 [0008] La deshidratación en línea con una membrana o un filtro molecular realizada durante el proceso entero se refiere a que una deshidratación en línea con una membrana o un filtro molecular se realiza durante el proceso entero o parte del proceso de reacción de catálisis de enzima.

15 [0009] La membrana es una membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana de cerámica.

[0010] El filtro molecular es un filtro molecular de 3 Å o 4 Å.

20 [0011] La lipasa es una lipasa inmovilizada o lipasa líquida derivada de *Candida antarctica*, *Thermomyces lanuginosus*, *Aspergillus niger*, *Rhizomucor miehei*, o *Rhizopus oryzae*.

[0012] El alcohol de cadena corta es metanol, etanol, propanol, o butanol.

25 [0013] El aceite y grasa es aceite y grasa biológica, incluyendo aceite vegetal, grasa animal, aceite de cocción de residuos, residuos de refinación de grasa y aceite, o aceite microbiano.

30 [0014] El aceite vegetal es aceite de ricino, aceite de palma, aceite de colza, aceite de soja, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de salvado de arroz, aceite de *Jatropha*, aceite de *Xanthoceras Sorbifolium*, o aceite de *Jatropha curcas* L.

[0015] El aceite de cocción de residuos se refiere aceite residual o aceite de drenaje.

35 [0016] El residuo de refinación de grasa y aceite es aceite acidificado.

[0017] La grasa animal es aceite de pescado, aceite de sebo, aceite de manteca de cerdo, o aceite de carne ovina.

40 [0018] El aceite microbiano es aceite de levadura o aceite de microalgas.

[0019] Los efectos beneficiosos de la invención están en que en el proceso de un solo paso o de varios pasos de catálisis enzimática, el índice de acidez del producto de biodiésel final puede ser de menos de 0.5mg de KOH por gramo de aceite introduciendo deshidratación en línea durante el proceso entero o parte del proceso. Tal proceso de deshidratación en línea simplifica inmensamente el procedimiento operativo, y proporciona buenos beneficios económicos y medioambientales.

Descripción de los dibujos

50 [0020] La Figura 1 es el diagrama esquemático para biodiésel por conversión enzimática de un solo paso de aceite y grasa renovable con deshidratación en línea.

La Figura 2 es el diagrama esquemático para preparar biodiésel por conversión enzimática de varios pasos de aceite renovable y grasa con deshidratación en línea.

55 Formas de realización específicas

[0021] Ejemplo 1: se colocaron metanol y aceite de colza con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 0.5% de agua, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 40°C, y el metanol se añadió de forma homogénea durante las primeras 3 horas. Durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana incluyendo membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua incluyendo un tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 6 horas de reacción el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0022] Ejemplo 2: se colocaron etanol y aceite de ricino con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 2% de agua, se añadieron 300 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 50°C, y el etanol se añadió de forma uniforme durante las primeras 3 horas. Durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que incluye tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 6 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0023] Ejemplo 3: se colocaron etanol y aceite de soja con una proporción molar de 4.5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 10% agua, 200 unidades activas estándar de lipasa líquida derivadas de *Candida antarctica* con base en la masa de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 35°C, y el etanol fue añadido de forma homogénea dentro de 5 horas. Después de que terminó la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 1.5:1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 20°C, y el metanol se añadió en 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que comprende criba molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0024] Ejemplo 4: se colocaron metanol y aceite de manteca de cerdo con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 5% agua, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 35°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 5 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para seguir la reacción, se añadió metanol en una proporción molar de 2: 1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 20°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 2 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea, como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que comprende criba molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0025] Ejemplo 5: se colocaron etanol y aceite de carne ovina con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 2% de agua, se añadieron 300 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 40°C, y el metanol fue añadido de forma homogénea en 5 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol en una proporción molar de 1.5:1 con base en biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 20°C, y el metanol se añadió en 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con criba molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0026] Ejemplo 6: se añadieron metanol y aceite residual con una proporción molar de 4.5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 15% de agua, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 35°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 5 horas. Después de que la reacción terminó, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió luego a un reactor enzimático para otra reacción, se colocaron en el reactor 50 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, se añadió metanol de 2:1 basado en el biodiésel crudo, y se añadió metanol en 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0027] Ejemplo 7: se añadieron a un reactor enzimático metanol y aceite de semilla de algodón con una proporción molar de 5:1, el sistema contenía 0.5% de agua, se añadieron 1000 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Rhizomucor miehei* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 40°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en las primeras 3 horas. Durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamices moleculares de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0028] Ejemplo 8: se añadieron etanol y aceite de jatrofa con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, donde el sistema contenía 2% de agua, 2000 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Rhizopus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 30°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 2 horas. Durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 4 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0029] Ejemplo 9: se añadieron etanol y aceite de palma con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 3% de agua, 800 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Thermomyces lanuginosus* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 45°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de que terminó la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 1:1 basado en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 20°C, y el propanol se añadió en de 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que comprende membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0030] Ejemplo 10: Se añadieron metanol y aceite de levadura con una proporción molar de 4:1 en un reactor enzimático, donde el sistema contenía 3% de agua, 400 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 50°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 4 horas. Después de finalizar la reacción, se realizó reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol en una proporción molar de 2:1 con base en el biodiésel, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 20°C, y el metanol fue añadido en 2 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que incluye tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0031] Ejemplo 11: Se añadieron etanol y aceite de jatrofa curcas L. con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 8% de agua, 800 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 40°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de finalizar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol en una proporción molar de 1:1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Thermomyces lanuginosus* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 20°C, y el metanol se añadió en 2 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0032] Ejemplo 12: se añadieron metanol y aceite de microalgas con una proporción molar de 4.5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 2% de agua, se añadieron 2000 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 35°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 2 horas. Después de finalizar la reacción, se realizó reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel

crudo se añadió después al reactor enzimático para otra reacción, se añadieron 20 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa en el reactor, se añadió metanol de 2:1 basado en el biodiésel crudo, y el metanol se añadió en 5 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica, o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que incluye tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 10 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0033] Ejemplo 13: se añadieron etanol y aceite de pescado con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 10% de agua, se añadieron 500 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Rhizomucor miehei* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 30°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 5 horas. Después de que terminó la reacción, se realizó reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después en el reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol en una proporción molar de 1.5:1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 400 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* basada en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura fue mantenida a 20°C, y el metanol fue añadido dentro de 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 5 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0034] Ejemplo 14: se añadieron metanol y aceite de maíz con una proporción molar de 4:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 1% agua, 600 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 50°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de que terminó la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 2:1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Rhizomucor miehei* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 20°C, y se añadió metanol en 4 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de 6 horas de reacción el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema era superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0035] Ejemplo 15: se añadieron etanol y aceite residual con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 6% de agua, se añadieron 500 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Rhizomucor miehei* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 35°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 4 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después al reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 1:1 con base en el biodiésel crudo, se añadieron 100 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 25°C, y el metanol se añadió en de 5 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de 7 horas de reacción, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema era superior al 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0036] Ejemplo 16: se añadieron propanol y aceite acidificado con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, donde el sistema contenía 3% de agua, se añadieron 500 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 40°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 5 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 2:1 basado en biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivadas de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 20°C, y se añadió el metanol en 2 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo de absorción de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.

[0037] Ejemplo 17: se añadieron etanol y aceite de ricino con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 8% de agua, se añadieron 800 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 45°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 1:1 con base en biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 20°C, y el metanol se añadió en 2 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema era superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0038] Ejemplo 18: se añadieron metanol y aceite de drenaje con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, donde el sistema contenía 12% de agua, se añadieron 2000 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Aspergillus oryzae* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 35°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 2 horas. Después de finalizar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadieron 20 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa en el reactor, se añadió etanol de 2:1 basado en biodiésel crudo, y el etanol se añadió en 5 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 10 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema era superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0039] Ejemplo 19: se añadieron etanol y aceite de soja con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, donde el sistema contenía 2% de agua, se añadieron 400 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus niger* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 30°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en las primeras 3 horas. Durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 6 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0040] Ejemplo 20: se añadieron etanol y aceite de carne ovina con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 6% de agua, se añadieron 1000 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Aspergillus niger* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 40°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadieron 100 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* con base en la masa unitaria de aceite y grasa en el reactor, se añadió metanol de 2:1 con base en biodiésel crudo, y el metanol se añadió en 5 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 8 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

[0041] Ejemplo 21: se añadieron metanol y aceite de residuos con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 12% de agua, se añadieron 600 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Aspergillus niger* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 35°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 3 horas. Después de terminar la reacción, se realizó reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 2:1 basado en el biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Rhizomucor miehei* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 20°C, y el metanol se añadió en 4 horas; durante el proceso de reacción se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua que incluye tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 6 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg KOH por gramo de aceite.

- 5 [0042] Ejemplo 22: se añadieron etanol y aceite de *Jatropha curcas* L. con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 8% de agua, se añadieron 500 unidades activas estándar de lipasa líquida derivada de *Thermomyces lanuginosus* basada en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 45°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en 4 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadió metanol de una proporción molar de 1:1 basado en biodiésel crudo, se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* basada en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo a 25°C, y el metanol se añadió en 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea tal como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.
- 10
- 15 [0043] Ejemplo 23: se añadieron metanol y aceite de microalgas con una proporción molar de 5:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 1% de agua, se añadieron 1500 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Thermomyces lanuginosus* basada en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 50°C, y el metanol se añadió de forma homogénea en 2 horas. Después de terminar la reacción, se realizó el reposo o centrifugación para separar la fase de glicerol y la fase de biodiésel crudo. La fase de biodiésel crudo se añadió después a un reactor enzimático para otra reacción, se añadieron 100 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Candida antarctica* basada en la masa unitaria de aceite y grasa en el reactor, se añadió metanol de 1:1 basado en biodiésel crudo, y se añadió el metanol de forma homogénea en 2 horas; durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 2 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular de 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 8 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.
- 20
- 25
- 30 [0044] Ejemplo 24: se añadieron etanol y aceite de ricino con una proporción molar de 6:1 en un reactor enzimático, el sistema contenía 0.8% de agua, se añadieron 100 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Aspergillus niger* y se añadieron 200 unidades activas estándar de lipasa inmovilizada derivada de *Thermomyces lanuginosus* con base en la masa unitaria de aceite y grasa, la temperatura se mantuvo en 45°C, y el etanol se añadió de forma homogénea en las primeras 2 horas. Durante el proceso de reacción, se realizó la deshidratación en línea como se muestra en la figura 1 (dispositivo de deshidratación de membrana que incluye membrana orgánica, membrana inorgánica o membrana cerámica, y dispositivo absorbente de agua con tamiz molecular 3 Å o 4 Å). Después de una reacción de 5 horas, el rendimiento de monoéster de ácido graso en el sistema fue superior a 98%, y el índice de acidez es inferior a 0.5mg de KOH por gramo de aceite.
- 35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso para preparación de biodiésel a partir de aceite y grasa renovable catalizada por lipasa con deshidratación en línea, donde un alcohol de cadena corta seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol y butanol se usa como un aceptor de acilo, y una lipasa se utiliza como catalizador para catalizar la reacción de transesterificación de materia prima de aceite y grasa con dicho alcohol de cadena corta, para sintetizar de esta forma biodiésel; **caracterizado por el hecho de que** el proceso comprende las fases de:
- 10 a. Añadir aceite y grasa a un reactor monofásico o multifásico;
 b. Añadir 4-8 moles de alcohol de cadena corta por mol del aceite y grasa y 20-2000 unidades activas de lipasa por gramo de aceite y grasa;
 c. Realizar deshidratación en línea con una membrana o un tamiz molecular separado del reactor del paso a. durante el proceso entero o parte del proceso de reacción; y
- 15 c. mantener la temperatura a 20-50°C;
- Después de una reacción de 3-10 horas, el rendimiento para la conversión de materia prima de aceite y grasa en biodiésel es superior al 98%, y el índice de acidez del producto de biodiésel final es inferior a 0.5mg de hidróxido de potasio por KOH.
- 20 2. Proceso según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** la membrana es una membrana orgánica, una membrana inorgánica, o una membrana cerámica.
- 25 3. Proceso según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** el filtro molecular es un tamiz molecular 3 Å o 4 Å.
- 30 4. Proceso según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** la lipasa es lipasa inmovilizada o lipasa líquida derivada de *Candida antarctica*, *Thermomyces lanuginosus*, *Aspergillus niger*, *Rhizomucor miehei* o *Rhizopus oryzae*.
- 35 5. Proceso según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** el aceite y grasa son grasa y aceite biológicos.
6. Proceso según la reivindicación 5, **caracterizado por el hecho de que** la grasa y aceite biológicos se seleccionan del grupo consistente en aceite vegetal, grasa animal, aceite de cocción residual, y residuos de refinación de grasa y aceite, y aceite microbiano.
- 40 7. Proceso según la reivindicación 6, **caracterizado por el hecho de que** el aceite vegetal es aceite de ricino, aceite de palma, aceite de colza, aceite de soja, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de salvado de arroz, aceite de *Jatropha*, o aceite de *Jatropha curcas* L.
8. Proceso según la reivindicación 6, **caracterizado por el hecho de que** el aceite de cocción residual incluye aceite de residuos o aceite de drenaje o el residuo de refinación de aceite y grasa es aceite acidificado.
- 45 9. Proceso según la reivindicación 6, **caracterizado por el hecho de que** la grasa animal incluye aceite de pescado, sebo, manteca de cerdo, o aceite de carne ovina o el aceite microbiano incluye aceite de levadura o aceite de microalgas.

Fig. 1

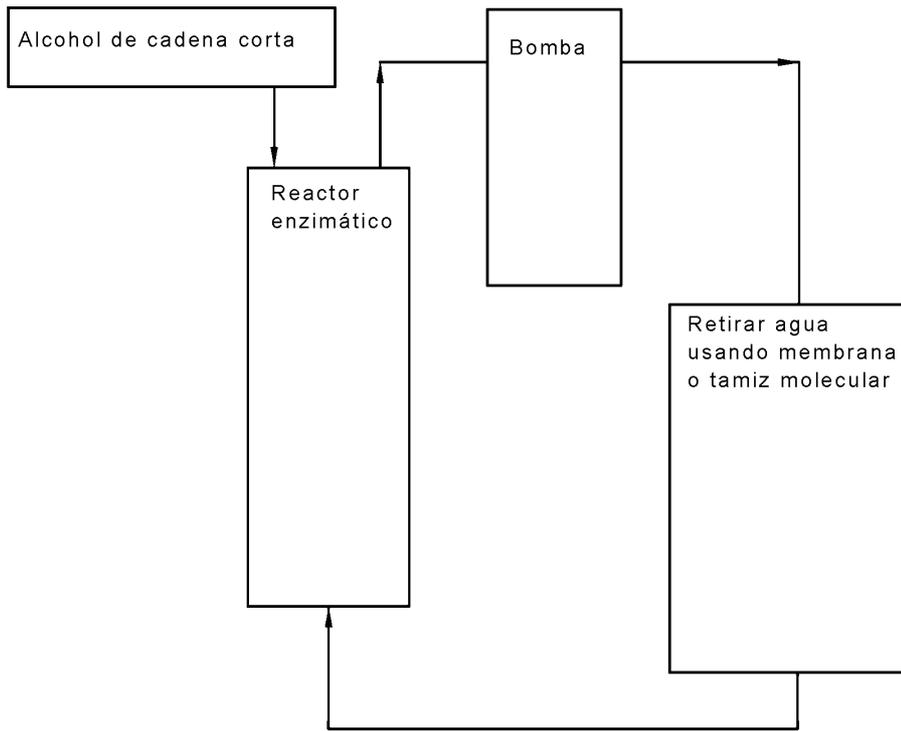


Fig. 2

