

Obtaining biofuel by enzymatic catalysis from wastes oils from deep fat frying.

Y. Puente^a, J. Marcano^b, Y. Quevedo^b, H. Martínez^b, N. Salinas^{*,b}

^aEscuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

^bLaboratorio de Alimentos, Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela

Abstract.-

The research was to obtain biodiesel by means of the enzymatic transesterification of vegetable oils recovered from deep-fat-frying processes in sector El Palito, Puerto Cabello, using primary alcohols. The oil was characterized by the respective COVENIN Standards, according to which it was obtained physicochemical properties outside the established ranges for the human consumption, being considered acceptable for processing. It then was determined the enzymatic activity of the Lipozyme CALB L[®] commercial lipase via potentiometric method for ensuring its activity as an enzymatic catalyst. A 3x2 mixed factorial design was made, keeping constant the reaction time and temperature to 2 hours and 50°C respectively. As a result, it was obtained that the catalyst amount had a meaningful effect on the response variable (reaction yield) at a confidence level of 95 %. Infrared spectroscopy showed those functional groups characteristic of the methyl and ethyl esters. The results suggest the potential application of the enzymatic catalysis to convert wastes oils in biofuel.

Keywords: biodiesel; transesterification; lipase; methyl esters.

Obtención de biocombustible vía catálisis enzimática a partir de aceites de desecho provenientes de frituras en profundidad.

Resumen.-

La investigación consistió en la obtención de biodiésel mediante la transesterificación enzimática de aceites de origen vegetal recuperados de procesos de frituras en profundidad en el sector El Palito del Municipio Puerto Cabello, empleando alcoholes primarios. El aceite fue caracterizado mediante Normas COVENIN, según las cuales se obtuvo propiedades fisicoquímicas fuera de los rangos establecidos para el consumo humano, considerándose aceptable para su transformación. Seguidamente se determinó la actividad enzimática de la lipasa comercial Lipozyme CALB L[®] mediante el método potenciométrico, para el aseguramiento de su actividad como catalizador enzimático. Se realizó un diseño factorial mixto 3x2, manteniendo constantes el tiempo de la reacción y la temperatura a 2 horas y 50°C respectivamente. Como resultado se obtuvo que la cantidad de catalizador ejerció un efecto significativo sobre la variable de respuesta (rendimiento de la reacción) a un nivel de confianza del 95 %. La espectroscopia de infrarrojo evidenció los grupos funcionales característicos de los ésteres metílicos y etílicos. Los resultados sugieren la aplicación potencial de la catálisis enzimática para transformar aceites de desecho en biocombustible.

Palabras clave: biodiésel; transesterificación; lipasa; ésteres metílicos.

Recibido: Noviembre 2015

Aceptado: Marzo 2016

1. Introducción

La disminución de las reservas de combustibles fósiles, así como la creciente preocupación acerca del impacto ambiental, especialmente en cuanto

* Autor para correspondencia

Correo-e: salinastrejo@gmail.com (N. Salinas)

a lo relacionado con las emisiones de gases invernadero y las consideraciones relacionadas con los asuntos de salud y seguridad, han impulsado la búsqueda de nuevas fuentes de energía, así como de maneras alternativas de energizar los vehículos de motor [1]. Alrededor del 98 % de las emisiones de carbón son producto de la combustión de combustibles fósiles, por lo que los biocombustibles líquidos y gaseosos se han hecho más atractivos debido a sus beneficios medioambientales.

Actualmente se está produciendo el biodiésel a partir de diversas materias primas [2] como soya, girasol, palma y jatropha, entre otras, las cuales son también utilizadas industrialmente para la extracción y comercialización de aceites comestibles, representando un gran limitante para la producción de este combustible [3] por tal motivo, las investigaciones están siendo dirigidas hacia la búsqueda de materias primas alternativas, que produzcan un combustible eficiente, sin afectar la alimentación y que sea económicamente viable. Una alternativa la constituye los residuos de aceite de cocina usado en frituras, por cuanto ellos han demostrado ser una fuente económica para la producción de biodiésel, en virtud a su alta disponibilidad y bajo costo, además su reciclaje y reutilización como forma de energía renovable, disminuye el poder contaminante de estos residuos al ser vertidos en los fregaderos [4, 5].

El aceite vegetal de desecho generado en los establecimientos de alimentos ubicados en el sector El Palito del Municipio Puerto Cabello, son por lo general vertidos a las redes de agua municipal, directamente en tierras, alcantarillas o dispuestos en rellenos sanitarios [6]; lo que produce la degradación de la calidad del ambiente terrestre y acuático.

Este trabajo proporciona a la comunidad una alternativa de aprovechamiento de aquellos aceites vegetales no aptos para consumo humano y considerados desechos, para la generación de biocombustibles.

Con el fin de minimizar los desechos al ambiente provenientes de procesos de frituras en profundidad, se plantea una de las alternativas con mejores perspectivas en la producción de

biodiésel a partir de la transesterificación de aceites vegetales de desecho, proceso en el cual se hacen reaccionar los triacilglicéridos presentes en el aceite con un alcohol, en este caso metanol y etanol, en presencia de un catalizador enzimático de tipo comercial para producir ésteres de ácidos grasos, (denominados comúnmente biodiésel) y glicerol.

2. Metodología

La materia prima empleada está constituida por una muestra compuesta de mezcla de aceites de desechos provenientes de los procesos de fritura en profundidad de diversos establecimientos de comida del sector El Palito del Municipio Puerto Cabello, la lipasa Lipozyme CALB L[®] suministrada por la casa comercial Novozyme[®] y los alcoholes primarios metanol, etanol.

2.1. Caracterización del aceite vegetal de desecho

En función de determinar las propiedades físico-químicas más importantes y los análisis pertinentes a éstas, como la densidad relativa, índice de refracción, índice de acidez e índice de saponificación del aceite vegetal de desecho, se emplearon las Normas COVENIN correspondientes [7, 8, 9, 10]. Así mismo se determinó perfil de ácidos grasos mediante la cromatografía de gases [11, 12, 13].

2.2. Determinación de la actividad enzimática de la lipasa comercial

La actividad enzimática se determinó mediante el método potenciométrico, donde se tituló un blanco y la mezcla de reacción con NaOH 0,02N, manteniendo *pH*7,6 con agitación constante durante 20min a 50°C [14]. Finalmente se determinó la actividad enzimática mediante el uso de la ecuación 1:

$$A.E = \frac{(V_a - V_b) N}{t} \quad (1)$$

Donde:

A.E: actividad enzimática, (*meq/min*)

V_a: volumen de NaOH consumido en la titulación, (*mL*)

V_b : volumen de NaOH consumido en la titulación del blanco, (mL)

N : normalidad de la solución de NaOH, (eq/L)

t : tiempo, (min)

2.3. Preparación de biodiésel por transesterificación enzimática

Se planteó un diseño factorial mixto 3x2 estableciéndose como factores: cantidad del catalizador (de tipo cuantitativo) y tipos de alcohol (de tipo cualitativo), manteniendo constantes la relación molar aceite:alcohol 1:1, el tiempo de la reacción de transesterificación a 2h y la temperatura de reacción a 50°C [6]. Para cumplir con dicha relación molar, se determinó el volumen de aceite a emplear con 30mL del alcohol correspondiente. En el diseño factorial se empleó tres niveles de prueba para la cantidad de catalizador, estableciendo como nivel medio 10 % [6], y dos niveles para el tipo de alcohol, siendo estos el metanol y el etanol (Tabla 1).

Tabla 1: Diseño factorial 3x2 utilizado para el análisis del proceso de producción de biodiésel vía catálisis enzimática.

Factor de estudio	Nivel establecido		
	Bajo	Medio	Alto
Cantidad de enzima (%) ^(*)	9	10	12
Tipo de alcohol	Metanol	-	Etanol

(*) En base a 30mL de alcohol.

Una vez establecidos los factores y la variable respuesta, se procedió a llevar a cabo la obtención del biodiésel vía catálisis enzimática, para lo cual se filtró el aceite de desecho y se adicionó en un balón el volumen requerido, se adicionó la enzima Lipozyme CALB L[®] y se agitó durante 5min, se adicionó 30mL del alcohol correspondiente y se procedió a realizar el montaje sobre una plancha de calentamiento (Figura 1), manteniendo la temperatura a 50°C y una agitación de 150rpm durante 2h. Transcurrido este tiempo se trasvasó el contenido a un embudo de separación, donde se dejó en reposo durante 30 min, para su posterior cuantificación y caracterización (Figura 2).



Figura 1: Montaje del proceso.



Figura 2: Separación de fases.

La fase de biodiésel obtenida se filtró empleando un papel Whatman #42, se secó con sulfato de sodio anhidrido y finalmente se filtró empleando un filtro microporoso. El rendimiento de reacción fue medido respecto a la cantidad obtenida del ácido graso predominante, el ácido linoleico (C18:2), en cada uno de los experimentos mediante el análisis cromatográfico. Posterior a la fase experimental antes descrita, se evaluaron los resultados a través de un paquete estadístico, tomando en cuenta el rendimiento de la reacción

en función de la cantidad del éster metílico o etílico presente. Este paquete estadístico comprende: Tabla Anova, Diagrama de Pareto, Gráfica de efectos principales y Gráfica de Superficie de Respuesta Estimada.

2.4. Caracterización del biodiésel obtenido por transesterificación enzimática

La caracterización del biodiésel obtenido se hizo a través de los siguientes análisis físico-químicos: la densidad a 20°C mediante el método de picnometría, la viscosidad cinemática a 40°C mediante el método de viscosidad de Ostwalds. Para la determinación de espectros por Espectroscopia de Infrarrojo se utilizó un infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), marca Perkin Elmer, modelo Precisely Spectrum 100.

2.5. Estimación de la relación beneficio costo del proceso catalítico

Los aspectos considerados para estimar tal relación del proceso catalítico fueron los siguientes:

Consulta de precios de insumos. Los precios de los insumos requeridos en el proceso de obtención de biodiésel se obtuvieron mediante consulta electrónica en Sigma-Aldrich [6].

Estimación de los costos del diseño propuesto. La estimación de costos del diseño propuesto se refiere a todos aquellos costos asociados a las actividades que implica cada proceso de obtención de biodiésel.

Estimación de los beneficios del diseño propuesto. Como beneficios, se definen todos aquellos gastos que no son necesarios realizar con la implantación de la alternativa seleccionada. Se determinó las ventajas económicas de cada propuesta, mediante el análisis comparativo entre los costos de operación de las alternativas. Y adicionalmente, se estiman los beneficios ambientales al emplear biocombustibles.

3. Análisis y Discusión de resultados

3.1. Caracterización de la materia prima (Aceites de desechos)

En la Tabla 2 se muestra la caracterización físico-química de la materia prima, la cual resulta de gran importancia en el proceso de transesterificación para la elaboración del biodiésel.

Tabla 2: Propiedades físico-químicas de la materia prima.

Propiedades	Valor Promedio	Valor Teórico
Índice de Acidez (i.a.) $\pm 0,02 \text{mgNaOH/gmuestra}$	0,87	0,1 (1),(2),(3),(4)
Densidad ($\rho \pm 0,00004$)g/mL	0,94149	0,91700 - 0,92500 ⁽¹⁾ 0,91900 - 0,92500 ⁽²⁾ 0,91700 - 0,92500 ⁽³⁾ 0,89690 - 0,90200 ⁽⁴⁾
Índice de Refracción ($\eta \pm 0,0001$) adim	1,4737	1,4700 - 1,4750 ⁽¹⁾ 1,4720 - 1,4760 ⁽²⁾ 1,4700 - 1,4740 ⁽³⁾ 1,4508 - 1,4540 ⁽⁴⁾
Índice de Saponificación (V.S. $\pm 0,1$)mgKOH/gmuestra	201,2	188,0 - 195,0 ⁽¹⁾ 189,0 - 195,0 ⁽²⁾ 186,0 - 195,0 ⁽³⁾ 194,0 - 202,0 ⁽⁴⁾

(1): Girasol.

(2): Soya.

(3): Maíz.

(4): Oleína de Palma.

El índice de acidez obtenido, representa un alto nivel de deterioro de la matriz grasa en estudio, reflejando la presencia de ácidos grasos libres en la muestra y demostrando que el aceite ha sufrido ciertas alteraciones con los consiguientes efectos químicos, físicos y sensoriales. Las Normas COVENIN [15, 16, 17, 18] establecen las especificaciones técnicas de los aceites de girasol, soya, maíz y oleína de palma respectivamente, donde todas ellas convergen en el hecho de que el índice de acidez debe ser menor a 0,1 para un aceite comestible. Por ende, al observar que el índice de acidez obtenido es superior a lo requerido en dichas normas, queda en evidencia que la materia prima empleada es una mezcla de desecho y no puede ser utilizada para consumo humano, aunque sí para su transformación en biodiésel. Este resultado indica la tendencia del aceite a oxidarse, ya que en el proceso de autooxidación lo más susceptible a la degradación, son los ácidos grasos, por lo que al existir una

mayor cantidad de ácidos grasos libres, el proceso de rancidez oxidativa se acelera [19].

Sin embargo, cabe destacar que en el caso de la catálisis enzimática la presencia de ácidos grasos libres no afecta el rendimiento de la reacción, puesto que las enzimas son capaces de llevar a cabo la reacción de esterificación directa a partir de ácidos grasos libres. Esto resulta ventajoso frente al proceso clásico en el cual se emplean catalizadores básicos donde la presencia de ácidos libres en las grasas o aceites, así como un alto nivel de oxidación, afectan de manera significativa los rendimientos de la reacción ya que pueden causar reacciones paralelas de saponificación cuando un catalizador alcalino es utilizado en la transesterificación [20]. La presencia de humedad disminuye el rendimiento de la reacción, pues el agua reacciona con los catalizadores formando jabones [21].

Por otro lado, el valor promedio experimental de las demás propiedades superaron los valores máximos permisibles según las especificaciones técnicas de los aceites de girasol, soya, maíz y oleína de palma mencionadas anteriormente, lo cual ratifica el alto nivel de deterioro de la matriz grasa analizada [6].

En la Tabla 3 se presenta el perfil de ácidos grasos del aceite vegetal de desecho a partir del cromatograma de los ésteres metílicos. Se observa

Tabla 3: Perfil de ácidos grasos del aceite vegetal de desecho.

Ester metílico	%($\pm 0,01$)
Ácido Octanoico (C8:0)	0,25
Ácido Palmítico (C16:0)	14,52
Ácido Linoleico (C18:2)	50,07
Ácido Oleico (C18:1)	29,30
Ácido Esteárico (C18:0)	5,12
Ácido Linoléico (C18:3)	0,14
Ácido Araquídico (C20:0)	0,49
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,10

que el residuo graso empleado está compuesto en su mayoría por Ácido Palmítico (C16:0), Ácido Oleico (C18:1) y Ácido Linoleico (18:2), ácidos saturado, monoinsaturado y poliinsaturado respectivamente [22].

Dicho perfil de ácidos grasos no corresponde con algún aceite vegetal comestible en su estado de pureza, ratificando nuevamente que el aceite vegetal de desecho está compuesto por una mezcla de aceites. Más sin embargo se puede acotar que el aceite predominante es el de maíz por tener el perfil de ácidos grasos similar al de la materia prima analizada [17].

3.2. Actividad enzimática del catalizador

El valor obtenido de la actividad enzimática promedio ($0,007 \pm 0,002$) *meq/min*, resultó superior al reportado en otras investigaciones [14], con $0,0024$ *meq/min* para las lipasas presentes en el grano de maíz trabajando al mismo pH (7,6) pero a una temperatura inferior 36°C . Por su parte la casa Novozym[®] reporta la influencia de la temperatura, donde aumentos de la misma entre $(40-60)^\circ\text{C}$ producen los mayores valores de actividad. Otras investigaciones convergen en que el rango de temperatura más utilizado en la catálisis enzimática oscila entre $(35-50)^\circ\text{C}$ [23, 24], a fin de obtener mejores rendimientos, razón por la cual se adoptó la temperatura de 50°C , pues las moléculas proteicas sólo retienen su actividad biológica dentro de un intervalo muy limitado de temperatura y de pH; la exposición de proteínas solubles o globulares a pH extremos o a temperaturas elevadas, les hace experimentar un cambio conocido como desnaturalización, el efecto más visible consiste en un descenso de su solubilidad [25].

Resultados similares se obtuvieron al evaluar la actividad lipídica de la cepa de *Aspergillus niger* a una temperatura de 37°C y *pH* entre 6 y 7 en aceite de oliva, obteniéndose un valor de $0,26$ *LU/mL* [26], valor muy cercano al obtenido en la mezcla de aceites vegetales de desecho, al presentar una actividad enzimática promedio de $(0,23 \pm 0,07)$ *LU/mL*.

3.3. Obtención de biodiésel mediante la transesterificación enzimática

Una vez llevada a cabo la reacción, se observó la formación de dos fases como resultado de las diferencias de densidades existentes entre los productos de la misma (ésteres metílicos o etílicos

y glicerol). La influencia de cada factor sobre el rendimiento de la reacción se reflejó al medir la cantidad de ésteres metílicos y etílicos de ácidos grasos presentes en el biodiesel obtenido. En la Tabla 4 se muestra el porcentaje de rendimiento de la reacción de transesterificación expresado como ácido linoleico (C18:2), por ser éste el ácido graso predominante en la matriz grasa.

Tabla 4: Rendimiento de la reacción de transesterificación vía catálisis enzimática.

Exp.	Cantidad de enzima (%)	Tipo de Alcohol	Ácido Linoleico (C _{18:2} ± 0,01) %	Rendimiento de la reacción (Rend±0,01) %
1	9	Metanol	30,59	61,07
1''	9	Metanol	34,23	68,36
2	9	Etanol	38,14	76,17
2''	9	Etanol	35,25	70,40
3	10	Metanol	45,91	91,69
3''	10	Metanol	43,94	87,76
4	10	Etanol	44,61	89,10
4''	10	Etanol	43,26	86,40
5	12	Metanol	38,56	77,01
5''	12	Metanol	34,75	69,40
6	12	Etanol	38,84	77,57
6''	12	Etanol	37,09	74,08

Exp.: experimento.

'' : corresponde al duplicado del experimento.

Entre los resultados obtenidos de los p-valor, se obtuvo que el efecto cuadrático de la cantidad de enzima posee un valor *P* menor a 0,05, indicando su efecto significativo a un nivel de confianza del 95 %. Del mismo modo se obtuvo el valor *F*₀ por encima del *F*₀ teórico de la distribución de Fisher, el cual es de 12,25.

El diagrama de Pareto (Figura 3) ratifica lo antes expuesto, ya que se observa que la cantidad de enzima superó la barrera de la línea vertical y por consiguiente ejerce una influencia significativa sobre la variable respuesta.

En la Figura 4 se observa el comportamiento parabólico de la enzima, donde el punto máximo corresponde al valor idóneo para obtener mayor conversión.

Del mismo modo, la gráfica de la superficie de respuesta de la Figura 5, muestra que el uso de 10 % de enzima generó mayor rendimiento de la reacción.

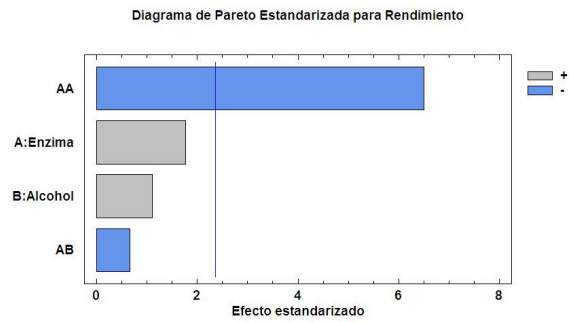


Figura 3: Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de la reacción.

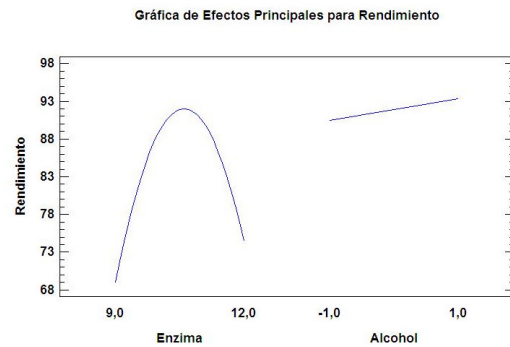


Figura 4: Principales efectos de las variables sobre el rendimiento de la reacción.

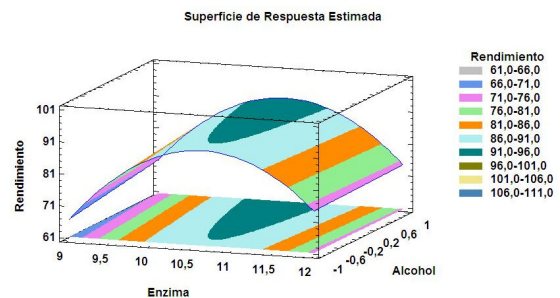


Figura 5: Superficie de respuesta estimada.

Se ha demostrado que existe una concentración de catalizador, por encima de la cual la conversión disminuye debido a problemas de gelificación del biodiésel y aumento en la formación de jabones [27]. Este efecto ha sido observado en estudios anteriores donde el uso de mayor cantidad de enzima limita el rendimiento de la reacción, pues se debe tomar en cuenta que cuando se usan enzimas existe un rango de concentración en el cual se deben agregar, y depende de la lipasa y las condiciones del proceso [24], al agregar 300, 550

y 3000mg de lipasa inmovilizada de *P. Cepacia* en la metanólisis de aceite de soya en 1h, obtuvieron rendimientos de 61, 65 y 47 %, respectivamente. Para el mismo aceite, agregando 10, 50, 75 y 100mg de lipasa libre de *C. Viscosum* se obtuvo rendimientos de 50, 61, 69 y 48 %, en 8h [28], por lo que un exceso de enzima no promueve necesariamente un aumento en la conversión de aceite en biodiésel [29].

3.4. Evaluación de las propiedades y características del biodiésel obtenido

La evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los resultados obtenidos, permiten afirmar si el biodiésel elaborado cumple con los estándares de calidad establecidos por la Unión Europea bajo las normas EN [30], o por los Estados Unidos según sus normas ASTM [31]. La densidad de cada una de las reacciones se encontraban entre un rango comprendido entre (860-900) kg/m^3 , cumpliendo en su mayoría con la norma EN [30], excepto por aquella en la cual se empleó 12 % de enzima, hecho que puede ser atribuido a impurezas que permanecieron en el aceite usado y que no pudieron ser extraídas apropiadamente; esas impurezas arrastran humedad y con ello interferencias en la reacción de transesterificación, quedando grasas sin reaccionar, trazas de etanol y restos de glicerina existentes en la muestra afectando finalmente la densidad [32].

Por otro lado, al analizar la viscosidad cinemática se obtuvo valores que fueron aumentando a medida que aumentaba la cantidad de enzima añadida en cada uno de los experimentos. La viscosidad de las muestras de biodiésel obtenidas con etanol, alcanzaron a cumplir con la norma ASTM [31], la cual establece un rango viscosidad cinemática comprendida entre (1,9 – 6,0) mm^2/s . Caso contrario ocurrió en aquellas reacciones en las cuales se empleó metanol, las cuales no alcanzaron los rangos establecidos por ambas normas. Esto pudo deberse a un exceso de metanol, causando finalmente la dilución de la muestra [6].

Los análisis de espectrometría infrarroja comprueban la existencia de ésteres metílicos (Figura 6) y ésteres etílicos (Figura 7). A partir de los

1400 se define la región de la huella dactilar [33], donde ambos espectros se distinguen.

Las vibraciones de alargamiento C–O, cuyo rango abarca (1200 – 1000) cm^{-1} ; también se observa una banda en (1349,82±0,01) cm^{-1} correspondiente al CH₂ en el éster metílico y dos bandas en (1347,07±0,01) cm^{-1} y (1374,51±0,01) cm^{-1} correspondientes a las vibraciones del grupo CH₂ para el éster etílico debido a la flexión simétrica en el plano denominado tijereteo [34]. Por otro lado, las bandas intensas a (2906,59±0,01) cm^{-1} y (2961,53±0,01) cm^{-1} , corresponden al estiramiento C–H de carbonos saturados sp^3 , presentes en la cadena carbonada del éster metílico y etílico respectivamente [32].

Ambos espectros presentan una banda de muy poca intensidad en (3439,56±0,01) cm^{-1} y (3434,06±0,01) cm^{-1} la cual fue generada por la flexión O–H, la presencia de bandas entre 3200 cm^{-1} y 3600 cm^{-1} son indicativos de la presencia de agua en el biodiésel [35]. Estos resultados obtenidos fueron similares a los encontrados por otros investigadores [36], quienes obtuvieron biodiésel a partir de aceites vegetales usados empleando catálisis homogénea y heterogénea para ésteres metílicos. Así mismo, se observa la similitud con el espectro de ésteres etílicos del aceite de palma con tensiones C–O entre 1000 y 1200 cm^{-1} y tensión C=O cercano a 1735 cm^{-1} [37].

3.5. Estimación de la relación beneficio costo a efectos de determinar la viabilidad del proceso catalítico

Esta estimación es un factor crucial a analizar en cualquier proyecto, puesto que incide directamente sobre la viabilidad de la producción y uso de biodiésel como combustible ecológicamente aceptable, técnicamente eficaz y económicamente competitivo, es decir, basado en la relación costo beneficio de cada tecnología.

Desde el punto de vista económico, es necesario evaluar el costo de la tecnología empleada, para lo cual, se tomaron en cuenta los gastos asociados al proceso de transesterificación del aceite a escala de laboratorio, donde se obtuvieron mayores rendimientos.

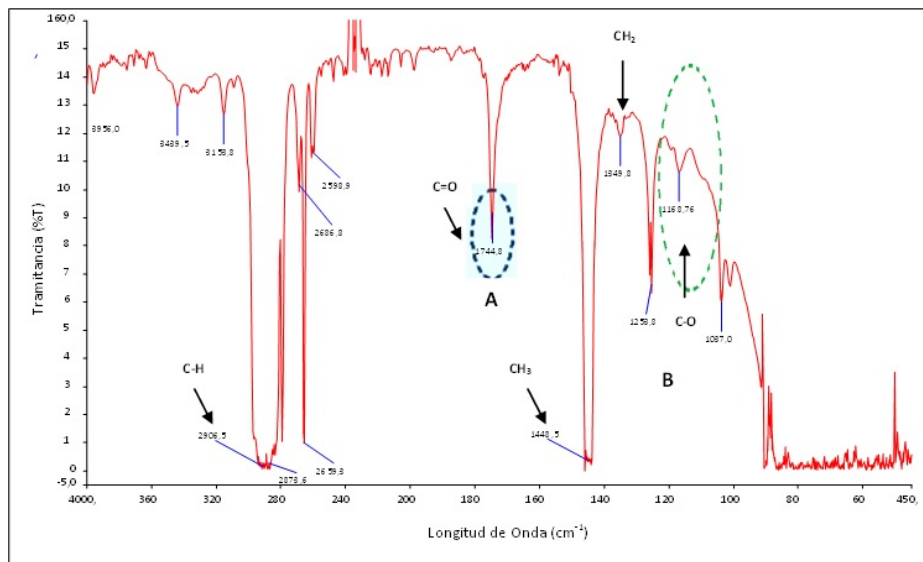


Figura 6: Espectrograma infrarrojo con transformada de Fourier de los ésteres metílicos.

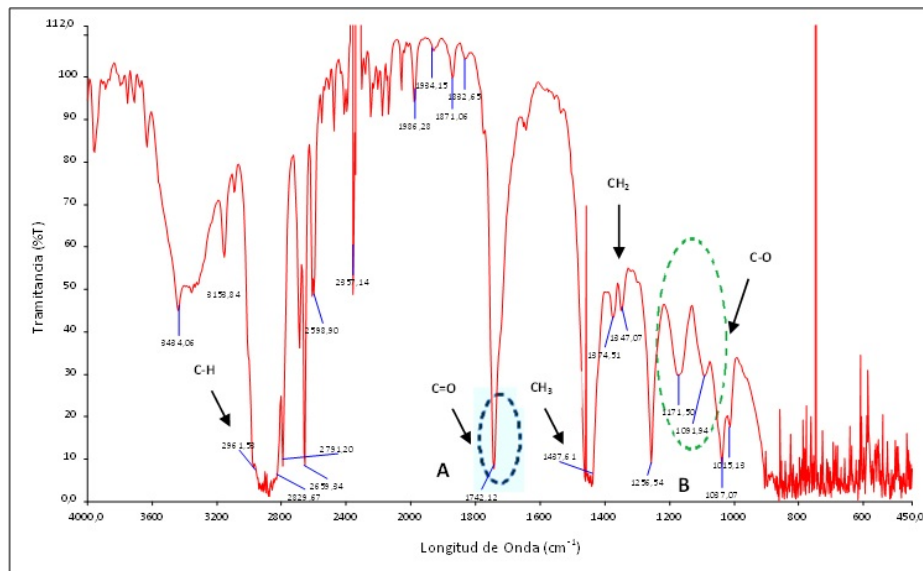


Figura 7: Espectrograma infrarrojo con transformada de Fourier de los ésteres etílicos.

En cuanto a la tecnología de catálisis enzimática empleando metanol, la Tabla 5, presenta la recopilación de los costos asociados a los insumos requeridos para producir un litro de biodiésel.

Los costos fueron calculados considerando el precio de 6,3Bs por dólar, obteniéndose un costo de producción de 100,26Bs (15,91\$) para la elaboración de 1L de biodiésel empleando metanol, mientras que al emplear etanol se obtuvo costo de producción de 161,67Bs (25,66\$) tal como se puede apreciar en la Tabla 6. Para ambos casos no se consideró los costos vinculados al

aceite vegetal por ser materia prima de desecho.

A efectos de comparación, no se conoce una referencia adecuada del costo de producción de biodiésel en Venezuela, puesto que en el país no se comercializa este producto. Principalmente debido a que la producción de biodiésel se encuentra en etapa de investigación y no hay una cultura de aprovechamiento de aceites residuales. Sin embargo, al comparar con un país vecino como Colombia, donde el precio de venta es de 10.244,51 COP (4,35\$) [38], se observa que

Tabla 5: Costos asociados a la producción de un litro de biodiésel empleando metanol (cálculos según sección 2.5).

Insumo	Cantidad de reactivo empleado por 1L de biodiésel obtenido	Costo asociado a la producción de 1L de biodiésel ($C_{prod} \pm 0,01$)Bs
Metanol ($V \pm 0,1$)mL	111,3	10,62
Lipozyme CALB L® ($V \pm 0,1$)mL	11,1	89,05
Electricidad (kWh)	10	0,59
Total	-	100,26

Tabla 6: Costos asociados a la producción de un litro de biodiésel empleando metanol (cálculos según sección 2.5).

Insumo	Cantidad de reactivo empleado por 1L de biodiésel obtenido	Costo asociado a la producción de 1L de biodiésel ($C_{prod} \pm 0,01$)Bs
Etanol ($V \pm 0,1$)mL	156,7	35,69
Lipozyme CALB L® ($V \pm 0,1$)mL	15,7	125,39
Electricidad (kWh)	10	0,59
Total	-	161,67

los resultados obtenidos superaron notablemente estas cifras, lo cual es lógico de ver, puesto que éste es un trabajo de investigación y no está a escala industrial. Además, la elaboración de biodiésel empleando catalizadores enzimáticos es un proceso realmente costoso [6].

No obstante, los biocombustibles traen beneficios implícitos por ser fácilmente biodegradables [39], mostró que el biodiésel derivado del aceite de colza y de soya poseen una biodegradabilidad del 88,49 % en 28 días, mientras que la del petrodiesel después de 28 días es del orden del 26 %. Los biocombustibles están libres de sulfuros, por lo que su uso, ya sea sustituyendo totalmente al combustible fósil o en mezcla, reduce las emisiones de SO₂ por litro consumido [40].

Los países con mayores beneficios potenciales de introducir biodiésel son Uruguay, Venezuela y los países centroamericanos, especialmente en los próximos años en que entran en vigor normativas

que introducen reducciones adicionales del contenido de azufre del combustible diésel [41].

Desde el punto de vista ambiental, el biodiésel elaborado a partir de aceites usado de cocina muestra muy buenos resultados de reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero [40], lo cual constituye un impacto positivo para el entorno, al aprovechar los aceites de desecho provenientes del sector El Palito del Municipio Puerto Cabello.

4. Conclusiones

La lipasa Lipozyme CALB L[®] mostró ser una enzima activa, pues la actividad enzimática demostró su aplicabilidad como catalizador para la transesterificación del aceite vegetal de desecho, además resultó ser el factor que ejerció mayor efector significativo sobre la variable respuesta al emplear 10 % de enzima, obteniendo altos rendimientos de la reacción, 91,69 % al emplear metanol y 89,10 % al emplear etanol; éste último presentando además propiedades físicas como densidad y viscosidad según los estándares internacionales.

La elaboración de biodiésel vía catálisis enzimática mediante el uso de aceite vegetal de desecho representa un impacto positivo para el ambiente y el emplear etanol constituye la tecnología más amigable y bondadosa para el entorno.

Referencias

- [1] Martha Cecilia Franco González. Simulación del proceso de producción de biodiesel a partir de aceites vegetales en condiciones súper-críticas. Master thesis, Departament d'Enginyeria Química, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, Barcelona, España, 2013.
- [2] Alfredo A. Marticorena, Beatriz A. Mandagarán y Enrique A. Campanella. Análisis del impacto ambiental de la recuperación de metanol en la producción de biodiesel usando el algoritmo de reducción de desechos WAR. *Información Tecnológica*, 21(1):23–30, 2010.
- [3] Mangesh G. Kulkarni and Ajay K. Dalai. Waste cooking oil-an economical source for biodiesel: a review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45(9):2901–2913, 2006.
- [4] Yong Wang, Shiyi Ou, Pengzhan Liu, and Zhisen Zhang. Preparation of biodiesel from waste cooking

- oil via two-step catalyzed process. *Energy Conversion and Management*, 48(1):184–188, 2007.
- [5] Ayhan Demirbas. Relationships derived from physical properties of vegetable oil and biodiesel fuels. *Fuel*, 87(8-9):1743–1748, 2008.
 - [6] Julymar Marcano. Evaluación del comportamiento de una enzima lipaza en la obtención de biocombustible a partir de aceites vegetales usados, empleando como reactivo alcohol metílico. Tesis de Maestría, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela, 2013.
 - [7] Asograsa y Fondonorma. COVENIN703:2001. Aceites y grasas vegetales. Determinación de la densidad relativa a $t^{\circ}C$. Fondonorma, 2001.
 - [8] Asograsa y Fondonorma. COVENIN702:2001. Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de refracción. Fondonorma, 2001.
 - [9] Asograsa y Fondonorma. COVENIN325:2001. Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de refracción. Fondonorma, 2001.
 - [10] Asograsa y Fondonorma. COVENIN323:1998. Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de saponificación. Fondonorma, 2001.
 - [11] Nancy Salinas y Wilmer Bolívar. Ácidos grasos en chocolates venezolanos y sus análogos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(1):34–41, 2012.
 - [12] Technical committees. Animal and vegetable fats and oils – preparation of methyl esters of fatty acids. ISO Standards catalogue, 1997.
 - [13] Technical committees. Animal and vegetable fats and oils – determination of the composition of fatty acids in the 2-position of the triglyceride molecules. ISO Standards catalogue, 1997.
 - [14] Danabely Romero, Francisco Bolívar y Nancy Salinas. Estudio de los posibles eventos químicos y bioquímicos que inciden en el incremento de la acidez en el proceso de extracción de aceite de maíz. *Grasas y Aceites*, 59(3):282–287, 2008.
 - [15] Asograsa y Fondonorma. COVENIN1272:1999. aceite comestible de girasol. Fondonorma, 1999.
 - [16] Asograsa y Fondonorma. COVENIN744:1999. Aceite comestible de soya. Fondonorma, 1999.
 - [17] Asograsa y Fondonorma. COVENIN743:2002. Aceite comestible de maíz. Fondonorma, 2002.
 - [18] Asograsa y Fondonorma. COVENIN2953:2000. oleína comestible de palma. Fondonorma, 2000.
 - [19] J. Marcano, Y. La Rosa y N. Salinas. Influencia del proceso de fritura en profundidad sobre el perfil lipídico de la grasa contenida en patatas tipo french, empleando oleína de palma. *Grasas y Aceites*, 61(1):24–29, 2010.
 - [20] Ivanna Rivera, Gerardo Villanueva y Georgina Sandoval. Producción de biodiesel a partir de residuos grasos animales por vía enzimática. *Grasas y Aceites*, 60(5):468–474, 2009.
 - [21] Juan Manuel García Camús y José Ángel García La-borda. Informe de vigilancia tecnológica. biocarburantes líquidos: biodiésel y bioetanol. Informe técnico, CITME, España, 2006.
 - [22] Christopher K. Mathews, Kensal Edward Van Holde y Kevin G. Ahern. *Bioquímica*. Pearson Education, S. A., Madrid, 3^{ra} edición, 2002.
 - [23] Mohamed M. Soumanou and Uwe T. Bornscheuer. Improvement in lipase-catalyzed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(1):97–103, 2003.
 - [24] Hossein Nouredini, X. Gao, and R. S. Philkana. Immobilized pseudomonas cepacia lipase for biodiesel fuel production from soybean oil. *Bioresource Technology*, 96(7):769–777, 2005.
 - [25] A. K. Singh and M. Mukhopadhyay. Olive oil glycerolysis with an immobilized lipase *Candida antarctica* in a solvent free system. *Grasas y Aceites*, 63(2):202–208, 2012.
 - [26] J. Coca, O. Hernández, R. Berrio y S. Martínez. Producción y caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. *Bioteología Aplicada*, 18(4):216–220, 2001.
 - [27] Jorge Iván Montoya Arbeláez. Modelamiento y simulación de la cinética de transesterificación del aceite de ricino con alcohol etílico, catalizada con naoh. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia, Febrero 2009.
 - [28] Shah Shweta, Sharma Shweta, and M. N. Gupta. Biodiesel preparation by lipase-catalyzed transesterification of jatropha oil. *Energy & Fuels*, 18(1):154–159, 2004.
 - [29] Teresa M. Mata, I. Sousa, and N. Caetano. Transgenic corn oil for biodiesel production via enzymatic catalysis with ethanol. *Chemical Engineering Transactions*, 27:19–24, 2012.
 - [30] Comité técnico AEN/CTN 51. UNE-EN 14214:2003/AC:2007; combustibles de automoción : ésteres de metilo de ácidos grasos (FAME) para motores diesel : requisitos y métodos de ensayo, Diciembre 2007.
 - [31] ASTM D6751(2008), standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels, 2008.
 - [32] Mayela Guerra. Obtención de biodiesel a partir de oleína de palma utilizada en frituras de alimentos. Trabajo Especial de Grado, Facultad de Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela, 2005.
 - [33] L. G. Wade. *Química orgánica*. Pearson Educación, S. A., Madrid, España, 5^{ta} edición, 2004.
 - [34] John R. Dyer. *Aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos*. Prentice/Hall International, Madrid, España, 1973.
 - [35] Elena Alonso Castro. Biodiésel de ésteres etílicos de ácidos grasos: correlación composición-propiedades. Trabajo Especial de Grado, Escuela Técnica Superior

de Ingenieros de Minas y Energía, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, 2014.

- [36] Mary Guerrero y Nelsy Seijas. Evaluación del proceso de obtención de biodiesel vía catálisis homogénea y heterogénea a partir de un aceite de desecho como alternativa tecnológica para la protección ambiental. Trabajo Especial de Grado, Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela, 2008.
- [37] Óscar M. Martínez A., Francisco J. Sánchez C. y Oscar Y. Suárez P. Producción de ésteres etílicos a partir de aceite de palma RBD. *Revista Ingeniería e Investigación*, 27(2):34–43, 2007.
- [38] Ministerio de Minas y Energía de Colombia. Resolución 40743 de 2015. *Diario Oficial*, N°49.559:1, Junio 2015.
- [39] X. Zhang, C. Peterson, D. Reece, R. Haws, and G Möller. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. *Transactions of the ASAE*, 41(5):1423–1430, 1998.
- [40] José Javier Gómez García, Joseluis Samaniego y Mariana Antonissen. Consideraciones ambientales en torno a los biocombustibles líquidos. Reporte técnico Serie 137 medio ambiente, CEPAL, GTZ y BMZ, Chile, 2008.
- [41] Manlio Coviello, José Javier Gómez García, Carlos Razo y Adrián G. Rodríguez. Biocombustibles líquidos para transporte en américa latina y el caribe. Reporte técnico, CEPAL, GTZ y BMZ, Chile, 2008.