

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE LENTEJAS DE
AGUA (*Lemna gibba*) POR TRANSESTERIFICACIÓN”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. GABI VANEZA PARY HILARI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

PUNO – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA
“OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE LENTEJAS DE AGUA (*Lemna gibba*) POR TRANSESTERIFICACIÓN”

TESIS PRESENTADA POR:
Bach. GABI VANEZA PARY HILARI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO QUÍMICO

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE

: 
Dr. WALTER ALEJANDRO ZAMALLOA CUBA

PRIMER MIEMBRO

: 
Dr. NORBERTO SIXTO MIRANDA ZEA

SEGUNDO MIEMBRO

: 
M.Sc. VÍCTOR ATILIO BARREDA DEL ARROYO

DIRECTOR / ASESOR

: 
Mg. HIGINIO ALBERTO ZUÑIGA SANCHEZ

Área : Procesos Industriales.

Tema : Obtención de biodiesel a partir de lentejas de agua (*Lemna gibba*) por transesterificación.

Línea : Tecnologías ambientales y recursos naturales.

Fecha de sustentación: 12 de diciembre 2019

AGRADECIMIENTOS

A mis queridos padres Teófilo e Irma, por la confianza en mí, por la enseñanza a enfrentar las adversidades sin perder las esperanzas ni desfallecer frente a los tropiezos que en la vida se presentan, por ser ejemplo e inspiración de superación.

Agradecer a la Universidad Nacional del Altiplano – Puno por haberme brindado la formación profesional. Con profunda gratitud a mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se esfuerzan en apoyarnos y gracias a la constante transmisión de sus conocimientos.

DEDICATORIA

A mis padres Teófilo e Irma por su aliento, paciencia, consejos, por los valores, principios, perseverancia que supieron transmitir, todo ello de manera desinteresada y lleno de amor.

A mis maestros, que fueron parte importante de mi formación profesional.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	
DEDICATORIA	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	
RESUMEN	12
ABSTRACT	13

CAPÍTULO I.**INTRODUCCIÓN**

1.1. Justificación.....	14
1.2. Objetivos.....	16

CAPITULO II.**REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1. Antecedentes.....	17
2.2. Marco Teórico	29
2.2.1. Lentejas de Agua.....	29
2.2.2. Aspectos Generales	29
2.2.3. Energías Renovables	29
2.2.4. Materia prima para producir Biodiesel	31
2.2.5. Propiedades Físico Químicas de las grasas y aceites	33
2.2.6. Métodos para la obtención de Lípidos	36
2.2.7. Hidrólisis y saponificación.....	39
2.2.8. Pre tratamiento del aceite	39
2.2.9. Métodos para la obtención de biodiesel.....	41
2.2.10. Postratamiento del biodiesel.....	43
2.2.11. Postratamiento del 1,2,3-propanotriol (glicerina).....	44
2.2.12. Marco Legal del Biodiesel.....	44
2.2.13. Marco Conceptual	47
2.3. Hipótesis.....	49
2.4. Variables	49

CAPITULO III**MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1. Área de estudio	50
3.2. Materiales.....	50
3.3. Métodos.....	51
3.3.1. Materia prima	51
3.3.2. Extracción de Lípidos	52
3.3.3. Obtención de biodiesel	54

CAPITULO IV**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. SECADO DE MUESTRA.....	57
4.2. MOLIENDA DE MUESTRA SECA.....	60
4.3. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS POR EL MÉTODO SOXHLET	61
4.4. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS CON TRICLOROMETANO: METANOL (1:2)	63
4.5. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS CON TRICLOROMETANO: METANOL (2:1)	64
4.6. OBTENCIÓN DE BIODIESEL	67
4.6.1. Obtención de Biodiesel de Lentejas de Agua (<i>Lemna gibba</i>).....	67
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
BIBLIOGRAFÍA.....	81
ANEXOS.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Triglicérido	34
Figura 2. Estructura química de un monoglicérido y un diglicérido típico.	35
Figura 3. Reacción de AGL, el resultado es un jabón.	40
Figura 4. Reacción de esterificación de los ácidos grasos.	42
Figura 5. Extracción de lípidos adaptado al método Folch.	55
Figura 6. Proceso de Obtención de Biodiesel a partir de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	56
Figura 7. Efectos estimados.....	72
Figura 8. Gráfica de los efectos principales	72
Figura 9. Superficie de respuesta estimada	75
Figura 10. Superficie de respuesta estimada.	76
Figura 11. Proceso de producción de Biodiesel crudo.	78
Figura 12. Toma de muestra de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>) de la laguna de estabilización Airisani – Moho.	92
Figura 13. Secado de las Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	92
Figura 14. Molido de la muestra seca de lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	93
Figura 15. Densidad aparente de las lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	93
Figura 16. Pesado de muestra para la obtención de Lípidos por el método Soxhlet.	94
Figura 17. Extracción de lípidos por el método Soxhlet.....	94
Figura 18. Lípidos totales de lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	95
Figura 19. Separación de lípidos polares y lípidos no polares por la adecuación al método Bligh & Dyer.....	95
Figura 20. Medición del extracto después de la incubación por 24 h de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>) en metanol: triclorometano (1:2) para añadir la solución salina.	96
Figura 21. Separación de lípidos no polares y lípidos polares gracias a la adecuación del método Folch.....	96
Figura 22. Colocación del extracto de lípidos no polares al rotavapor (BUCHI / R-3HB) para la recuperación del solvente.	97
Figura 23. Recuperación de solventes triclorometano.....	97
Figura 24. Desgomado de los lípidos no polares.	98
Figura 25. Lípidos no polares.....	98

Figura 26. Neutralización de aceite de lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	99
Figura 27. Reacción de transesterificación.	99
Figura 28. Separación del biodiesel y 1,2,3-propanotriol (glicerina).	100
Figura 29. Lavado del biodiesel crudo de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>)... ..	100
Figura 30. Lavado del biodiesel de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).....	101
Figura 31. Verificación del punto de inflamación del biodiesel de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	101
Figura 32. Biodiesel de Lentejas de agua (<i>Lemna gibba</i>).	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Porcentaje de mezcla de Biodiesel B100 con Diésel N° 2	15
Tabla 2 El contenido lipídico de las tres especies de microalgas	22
Tabla 3 Resultados de la obtención de Biodiesel	25
Tabla 4 Factores de interés del diseño y sus niveles	26
Tabla 5 Condiciones experimentales	28
Tabla 6 Componentes típicos de los aceites y las grasas	33
Tabla 7 Secado de muestra	57
Tabla 8 Molienda de muestra	60
Tabla 9 Contenido de lípidos totales	61
Tabla 10 Contenido de lípidos totales	62
Tabla 11 Contenido de lípidos totales	62
Tabla 12 Contenido de lípidos totales	62
Tabla 13 Contenido de lípidos totales	63
Tabla 14 Resultados de la extracción de lípidos	64
Tabla 15 Resultados de la extracción de lípidos	65
Tabla 16 Niveles de las variables independientes a estudiar	68
Tabla 17 Variable respuesta	69
Tabla 18 Resultados de determinación de las variables por superficie de respuesta	69
Tabla 19 Resumen del diseño de experimentos	71
Tabla 20 Efectos estimados para Biodiesel crudo (mL)	71
Tabla 21 Análisis de Varianza para Biodiesel crudo	73
Tabla 22 Coeficiente de regresión del modelo ajustado	75
Tabla 23 Variables óptimas	76
Tabla 24 Niveles de las variables independientes a estudiar	86
Tabla 25 Variable respuesta	86
Tabla 26 Diseño factorial	87
Tabla 27 Localización de puntos estrella	88

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ASTM	: American Society for Testing and Materials
ANP	: Área Natural Protegida
AGL	: Ácidos grasos libres
BHT	: Butilhidroxitolueno
B100	: Biodiésel puro
B20	: Mezcla de diésel N° 2 y Biodiesel B100 donde veinte (20) representa el porcentaje en base volumétrica de Biodiesel B100 contenido en la mezcla.
CO	: Monóxido de Carbono
CO ₂	: Dióxido de Carbono
CHCl ₃	: Triclorometano
CH ₃ OH	: Metanol
CH ₃ ONa	: Metóxido Sódico
CIMAV	: Centro de Investigación en Materiales Avanzados
DW	: Darwin Watson
EPA	: Environmental Protection Agency
EE.UU.	: Estados Unidos
EAFIT	: Escuela de Administración, Finanzas e Instituto Tecnológico.
FAME	: Fábrica de Armas y Municiones del Ejército
FINCyT	: Fondo para la Innovación, la Ciencia y la Tecnología
FSC	: Fluidos supercríticos
GLP	: Gas licuado de petróleo
GL	: Gay Lussac
H ₂ SO ₄	: Ácido sulfúrico
INDECOPI	: Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual
IMARPE	: Instituto del Mar Perú

KHz	: Kiloherz
Mpa	: Megapascal
MAE	: Error medio absoluto
MEN	: Ministerio de Energía y Minas
MINAG	: Ministerio de la Agricultura y Riego
MBPD	: Miles de barriles por día
NTC	: Norma Técnica Colombiana
NTP	: Norma Técnica Peruana
NOx	: Óxidos de nitrógeno
NaCl	: Cloruro de Sodio
NaOH	: Hidroxido de Sodio
OINERGMIN	: Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería
PM10	: Material particulado de 10 micras de diámetro
PRODUCE	: Ministerio de la Producción
SOx	: Óxidos de azufre
UNA	: Universidad Nacional del Altiplano
UNALM	: Universidad Nacional Agraria la Molina
UANCV	: Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez

RESUMEN

Las lentejas de agua (*Lemna gibba*) es considerado una fuente de contaminación, recientemente se está enfocando su cultivo para el tratamiento de aguas residuales. Por lo mismo el presente trabajo de investigación busca el aprovechamiento de las Lentejas de agua (*Lemna gibba*) de la Laguna de estabilización de Airisani – Moho, generando una nueva fuente de energía con la capacidad de preservar nuestra biosfera, la ejecución del presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería Química y el Laboratorio de Análisis de Suelos y Agua de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, la metodología para la extracción de lípidos fueron los siguientes: Método Soxhlet, el porcentaje de lípidos totales obtenidos fue de 5.86%, la extracción por la adecuación al método Bligh & Dyer con triclorometano:metanol 1/2, del cual se obtuvo un porcentaje de lípidos no polares 3.30% y por la adecuación del método Folch con triclorometano:metanol 2/1, ,obteniéndose un porcentaje de lípidos no polares de 4.70%. Para la obtención de Biodiésel por transesterificación con metanol e hidróxido de sodio fue necesario el desgomado y neutralizado del aceite, de 728 g de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) húmeda se obtuvo 1.90 mL de biodiésel crudo el rendimiento de la reacción de transesterificación fue de 95%, dichos resultados fueron optimizados utilizando el diseño experimental central compuesto: $2^3 +$ estrella obteniendo los siguientes parámetros: Temperatura 57 °C, agitación 547 rpm y tiempo 23 min, para obtener un rendimiento de 103.30 % de biodiésel crudo.

Palabras Clave: Biodiésel, Lentejas de agua, *Lemna gibba*, Transesterificación, Solventes.

ABSTRACT

Water lentil (*Lemna gibba*) is considered a source of pollution, recently its cultivation for wastewater treatment is being focused. For this reason, this research seeks to take advantage of the water lentil (*Lemna gibba*) found in the Airisani - Moho stabilization pond, thus generating a new source of energy with the ability to preserve our biosphere. This research was carried out in the Quality Control Laboratory of the Faculty of Chemical Engineering and the Laboratory of Soil and Water Analysis of the Professional School of Agronomic Engineering, the methodology for lipid extraction were as follows: Soxhlet Method, the percentage of Total lipids obtained were 5.86%, extraction by adaptation to the Bligh & Dyer method with trichloromethane: 1/2 methanol, from which a percentage of non-polar lipids 3.30% was obtained and by adaptation of the Folch method with trichloromethane: methanol 2 / 1, obtaining a percentage of non-polar lipids of 4.70%. To obtain Biodiesel by transesterification with methanol and sodium hydroxide, the degumming and neutralization of oil was necessary, of 728 g of Lentil of wet water (*Lemna gibba*) 1.90 mL of crude biodiesel was obtained, the transesterification reaction was of 95%, these results were optimized using the composite central experimental design: 2^3 + star obtaining the following parameters: Temperature 57 ° C, stirring 547 rpm and time 23 min, to obtain a yield of 103.30% of crude biodiesel.

Key Words: Biodiesel, Water Lentil, Lemna gibba, Transesterification, Solvents.

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN

Con el paso del tiempo nuestras actividades diarias, productos y servicios están dando un giro hacia la preservación de la biosfera, por lo mismo el presente trabajo de investigación gira en torno a ese enfoque puesto que el biodiésel es un biocombustible amigable al medio ambiente porque reduce las emisiones.

Emisiones de CO₂: Dada la baja demanda de energía fósil asociada al biodiésel, no es sorprendente que las emisiones de CO₂ de su ciclo de vida sean sustancialmente menores. Por unidad de trabajo desarrollado por un motor de ómnibus, el B100 reduce las emisiones netas en 78.45% comparado con el diésel de petróleo. Las emisiones del B20 son 15.66% menores que las del diésel. Por lo tanto el uso del biodiésel para desplazar al diésel en los buses urbanos es una estrategia muy efectiva para reducir emisiones de CO₂ (Ganduglia et al., 2009).

Emisiones de material particulado y CO: El ciclo de vida del B100 produce menos emisiones de material particulado y CO (reducciones de 32% y 35% respectivamente) que el equivalente al del ciclo de vida del diésel de petróleo. La mayor parte de estas reducciones ocurren debido a menores emisiones por el caño de escape de los vehículos. Las emisiones de PM10 de un ómnibus urbano que funciona con biodiésel son 63% menores que las emisiones del mismo ómnibus funcionando con diésel de petróleo. El biodiesel reduce en un 46% las emisiones de CO por el caño de escape (Ganduglia et al., 2009).

Óxidos de Nitrógeno: Las emisiones de NO_x del ciclo de vida del B100 son 13% mayores respecto de las del ciclo de vida del diésel de petróleo. Para el ciclo de vida del B20, las emisiones de NO_x son mayores en un 2,67%. Este incremento es debido a mayores emisiones por el caño de escape de los vehículos. Un ómnibus urbano que funciona con B100 tiene emisiones de NO_x que son 8,89% mayores que la de un ómnibus funcionando con diésel de petróleo (Ganduglia et al., 2009).

Por lo mismo, el 2007 en Perú se aprueba el D.S. N° 021-2007-EM donde indica el porcentaje de mezcla de Biodiesel B100 con Diésel N° 2, textualmente dice lo siguiente: El porcentaje de Biodiesel B100 en la mezcla de, Biodiesel B100/Diésel N° 2 que se comercialice en el país, será desde 2% (dos por ciento) hasta 20% (veinte por ciento). No está permitida la comercialización de mezclas en proporciones diferentes a las establecidas en la tabla siguiente:

Tabla 1

Porcentaje de mezcla de Biodiesel B100 con Diésel N° 2

% Vol. Biodiesel B100	% Vol. Diésel N° 2	Denominación
2	98	Diésel B2
5	95	Diésel B5
20	80	Diésel B20

Fuente: D.S. N° 021-2007-EM, Art. 9.

Las proyecciones de consumo de combustible según los reportes de la Gerencia de Políticas y Análisis Económico - Osinergmin ha sido también uno de nuestros impulsores para la realización del presente trabajo de investigación, en el cual indica.

En el primer semestre del 2017, la demanda nacional de los principales combustibles derivados (GLP, gasolinas, diésel y petróleos industriales) se incrementó 2% en los primeros cuatro meses del año respecto al periodo del 2016 y se ubicó en 213 MBPD (miles de barriles por día). La mayor demanda correspondió al diésel con 50%, seguido del GLP con 26% y las gasolinas con 22% (Montesinos Córdova et al., 2017).

Para el segundo semestre del 2017, la demanda nacional de los principales combustibles derivados (GLP, gasolinas, diésel y petróleos industriales) se incrementó en 4% en el año 2017 respecto al 2016 y se ubicó en 225 MBPD (miles de barriles por día). La mayor demanda correspondió al diésel con una participación del 51%, seguido del GLP con 26% y las gasolinas con 21% (Rodríguez Gonzales et al., 2018).

Las proyecciones mostradas y la visión actual sobre la preservación del medio ambiente hicieron que se busque una alternativa para la obtención de Biodiesel a partir de materia prima que no afecte grandes campos de cultivo, productos alimenticios y que sea de fácil crecimiento, es así que se optó por Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

1.2. OBJETIVOS

Objetivo General

- Obtener Biodiesel de las Lentejas de agua (*Lemna gibba*) utilizando metanol e Hidróxido de Sodio.

Objetivos Específicos

- Determinar el Índice de acidez del aceite crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).
- Determinar la extracción del Biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) de forma adecuada.
- Establecer la temperatura (T), tiempo (t) y agitación (rpm) adecuados para la obtención de Biodiesel de Lentejas de Agua (*Lemna gibba*).

CAPITULO II.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Canales Gutiérrez (2010) “*Evaluación de la biomasa y manejo de lemna gibba (lenteja de agua) en la bahía interior del lago Titicaca, Puno*” UNALM. En su trabajo de investigación evalúa la biomasa de la *Lemna gibba* de la bahía interior del Lago Titicaca – Puno, los resultados de las muestras de biomasa en (Kg/m^2) de Lentejas de agua (*Lemna gibba*), va en promedio de $7.0 \text{ Kg}/\text{m}^2$, sin embargo, existen variaciones en las distintas épocas del año registrándose de 2.8 a $15 \text{ Kg}/\text{m}^2$, estas variaciones pueden estar influenciadas por las precipitaciones pluviales y los vientos.

Tavera Aragón (2014) “*La lenteja de agua: dos caras de un mismo problema*” UANCV. Indica el contenido nutricional de las Lentejas de Agua (*Lemna gibba*) del Lago Titicaca Puno – Perú, siendo el contenido nutricional de esta planta acuática en materia seca: Humedad (9.0%), proteína cruda (32.0%-38.0%), grasa (3.9%), fibra (15.9%), ceniza (11.0%-15.0%) y extracto libre de nitrógeno (22.0%).

Vera Rodriguez (2016) “*Eficacia de la fitorremediación de las aguas residuales del dren 2210 utilizando lenteja de agua (Lemna minor)*” Universidad César Vallejo. En su trabajo de investigación describe la composición química de las Lentejas de Agua (*Lemna minor*) que es la siguiente: Proteína (31.19%), lípidos (5.58%), fibra (8.22%) y fósforo (1.44%), demuestra que la lenteja de agua o (*Lemna minor*) es una alternativa viable para el tratamiento de aguas residuales, porque es una macrofita de fácil manejo, adaptación, rápido crecimiento y bajo costo porque solo necesita de luz y aire para realizar la fotosíntesis y poder fitorremediar las aguas residuales.

Chávez (2004) “*Obtención de carbón activado por el método de activación química a partir de lentejas de agua (Lemna ssp) de la bahía interior del lago Titicaca – Puno*” UNA. En su trabajo de pregrado obtiene la materia volátil, para ello tomó 10 Kg de materia prima Lentejas de Agua (*Lemna gibba*) el secado lo realizó entre los 6 y 7 días de manera artesanal sobre un techo revolviendo día

tras día hasta encontrarla seca al tacto, la recolección final fue de 1 Kg luego se llevo al laboratorio encontrándose con humedad del 20%.

Contenido de Humedad (LG – Malecón)	23.27%
Contenido de Humedad (LG – San José)	16.51%
Contenido de Humedad (LG – Terminal Terrestre)	23.51%

La volatilización de materia prima en el malecón y terminal fue mayor debido a la eutrofización por ende mayor materia orgánica.

Salazar Pérez (2012) *“Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel”* Universidad de Piura. En su investigación evaluó los métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de Biodiesel.

Extracción con solvente Hexano:

Extracción Soxhlet; El proceso utilizado se basa en la metodología seguida en el proyecto FINCyT en la Universidad de Piura. Se trabajó con 5 g de muestra en aparato Soxhlet con balones de 500 mL. El tiempo de extracción sugerido en la bibliografía es de 4 horas, sin embargo, a fin de asegurar una extracción completa, se duplicó el tiempo de extracción en las pruebas realizadas (8 horas). Al ser este un sistema extracción en el que existe una baja probabilidad de cometer error sistemático/aleatorio, solo se realizaron pruebas por duplicado. El proceso seguido para este método fue:

- Se coloca 5 g de muestra previamente molida en un cartucho de doble papel filtro Whatman N° 42 cerrado. Se lleva el paquete al extractor Soxhlet.
- Se añaden 300 mL de hexano al balón del Soxhlet y se enciende las hornillas, se deja trabajar por 8 horas a 70 °C.
- Se retira el balón y se recupera el hexano en rotavapor a 60 °C y 40 rpm por 20 min.
- Se retira el balón y se elimina el hexano remanente en baño maría a 60°C por 30 min.

- Finalmente se pesan los balones para determinar el contenido de lípidos por diferencia.

Extracción triclorometano /metanol:

Método Folch et. Al 1957 original; Se decidió realizar pruebas con el método Folch debido a que, si bien Bligh & Dyer ofrece un método más simple y económico, en la investigación realizada por Iverson, Lang y Cooper (2001), se encontró que para muestras con un contenido de lípidos esperado menor que el 2% ambos métodos Folch y Bligh & Dyer obtienen rendimientos muy similares, sin embargo, para muestras con un contenido lipídico esperado mayor al 2% el método Bligh & Dyer produce resultados de contenido de lípidos significativamente menores a los de Folch, y esta diferencia en los rendimientos se incrementa conforme mayor es el contenido lipídico de la muestra. Entonces, dado que se espera un contenido de lípidos mucho mayor al 2%, es que se prefirió aplicar el método Folch, el procedimiento es el siguiente:

- En un tubo de ensayo se agrega 20 partes de solución Triclorometano: metanol (2:1) (v/v) por cada parte de muestra.
- Se agita en vortex por 10 min.
- Se filtra la mezcla en vacío con papel whatman N° 42.
- Al filtrado resultante se añade solución salina (0.58%) de Cloruro de Sodio (NaCl) de modo que la solución final triclorometano/metanol/agua contenga proporciones 8:4:3, agitar en vortex por el lapso de 1 min.
- Se centrifuga la mezcla por 10 min a 4500 rpm y con ayuda de una pipeta pasteur, se recupera la fase superior y se desecha.
- Se evapora la fase triclorometano (CHCl_3): lípidos en baño maría a 70°C bajo campana de seguridad.
- El contenido de lípidos se determina gravimétricamente.

Método Bligh & Dyer modificado por IMARPE; Aun cuando se había decidido dejar de lado este método, surgió el interés en evaluarlo debido a que el IMARPE presentó una modificación del mismo adaptada para microalgas esto como parte de la experiencia en el curso organizado por la UNALM, en cuya demostración, se observaron interesantes variaciones, como la aplicación de ultrasonido metodología estudiada por Takagi. De este modo se evaluó el método siguiendo

el procedimiento del protocolo para la determinación de lípidos proporcionado por el IMARPE en el curso, con dos únicas variaciones: no se agregó antioxidante BHT y el secado del extracto se realizó por evaporación en lugar de en atmosfera inerte con nitrógeno esto debido a que no se contaba con dichos productos; además, la metodología alterna aplicada no supone una variación significativa del procedimiento de extracción en sí, por lo que no afecta el rendimiento obtenido. El procedimiento realizado es el siguiente:

- Se pesa de 5 y 50 mg de microalgas en un tubo de ensayo de 15 mL (tubo 1). Se adiciona 3 mL de una mezcla de solventes triclorometano: metanol (1:2) sin agua.
- Se somete a ultrasonido por 3 ciclos de 15 min en un baño de agua.
- Se deja reposar los tubos por 24 h a 4°C protegidos de la luz, de esa manera se favorece la extracción completa de lípidos.
- Se somete a ultrasonido por 3 ciclos de 15 min en baño de agua.
- Se centrifuga a 4500 rpm por 20 min. Se recupera el extracto con pipeta y se pasa a un tubo de vidrio de 15 mL (tubo 2).
- La biomasa residual (tubo 1) se agrega 1.5 mL de solución $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2), se agita en vortex por espacio de un minuto y se centrifuga nuevamente a 4500 rpm por 20 min recuperando el extracto (tubo 2).
- Se agrega 2 mL de solución salina de 0.58% NaCl al (tubo 2) que contiene el extracto y se agita en Vortex (1min).
- Se centrifuga a 4500 rpm por 10 min y se elimina el 90% de la fase superior.
- Se separa la fase inferior CHCl_3 : lípido introduciendo con cuidado una pipeta pasteur se debe tratar de recuperar el 90% de esta fase.
- Se lava la fase acuosa remanente con 10 mL de CHCl_3 se mezcla en vortex y se centrifuga, nuevamente a 4500 rpm durante 10 min se recupera la fase inferior CHCl_3 : lípido y se coloca en el (tubo 3).
- Se seca la fase inferior (tubo 3) en baño maría a 70°C con campana de seguridad.
- El contenido lipídico se determina gravimétricamente.

Los resultados obtenidos por extracción con Soxhlet se tomaron como datos de control, es decir, se consideran como punto de partida para comparar el desempeño con los demás métodos. Los rendimientos obtenidos con el método Bligh & Dyer modificado por IMARPE, son cercanos a los del método Folch et al. 1957, para las tres especies de microalgas analizadas; sin embargo, tomando en cuenta los resultados del estudio realizado por Iverson, Lang y Cooper (2001), se esperaba menores contenidos de aceite, por lo que los resultados obtenidos se pueden deber a la mayor proporción de solvente utilizado por muestra en relación al método original o al método de pretratamiento aplicado. De esta forma se concluye que el rendimiento obtenido mayor al esperado está directamente relacionado a las modificaciones propuestas por el IMARPE.

Cobos Ruiz et al. (2014) "*Potencial biotecnológico para la producción sustentable de biodiesel de microalgas oleaginosas aisladas del Río Itaya, Loreto, Perú*". En su investigación realiza la extracción de Biodiesel de microalgas aisladas del río Itaya de Loreto - Perú, el procedimiento consistió: 50 mg de microalgas secas fueron transferidos y triturados a un mortero con 8 mL de triclorometano: metanol (2:1). El extracto obtenido se transfirió a microtubos de 2 mL y se les añadió 100 µl de NaCl 0.9% por cada 1 000 µl de extracto. La solución se homogenizó en vortex por 30 segundos y centrifugó a 1 3000g *5' a 4°C, la fase de triclorometano y lípidos se filtró con filtros para jeringa de 0.25 µm y se transfirió a vasos de precipitado de peso conocido para evaporar el triclorometano en un hot plate a 50°C por un tiempo de 4 horas. Luego los componentes lipídicos retenidos en el vaso fueron secados a 50°C por 4 horas y se atemperó a 25°C para determinar su peso. Por diferencia de peso del vaso de precipitado con y sin los lípidos se determinó la cantidad de lípidos totales obtenidos.

Con el procedimiento descrito en el párrafo anterior se realizó la extracción de lípidos de tres especies de microalgas *Ankistrodesmus*, *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* obteniendo los resultados mostrados en la siguiente tabla:

Tabla 2

El contenido lipídico de las tres especies de microalgas

Especie de microalga	Lípidos totales (%)
<i>Ankistrodesmus</i>	43 +/- 2
<i>Chlorella sp.</i>	22 +/- 3
<i>Scenedesmus sp.</i>	28 +/- 3

Fuente: Cobos Ruiz et al. (2014)

Ortiz Rodríguez & Márquez Linares (2014) “*Producción de Biodiesel a partir de Aceites Vegetales*” Universidad del Turabo. En su trabajo de investigación obtienen Biodiesel de aceite de oliva 100% extra virgen, aceite de girasol y aceite natural de maíz 100% puro, el procedimiento que se siguió es el siguiente: Una cantidad apropiada de catalizador (NaOH) se mezcló con 100 mL de metanol, para obtener metóxido de sodio (CH₃ONa). A continuación, se midieron 500 mL de cada aceite vegetal (girasol, oliva y maíz), los cuales se calentaron hasta alcanzar una temperatura de 70 °C. Cuando la temperatura del aceite se estabilizó a 70 °C se dejó reposar hasta que la temperatura quedó estabilizada a 40 °C. A continuación, a cada aceite previamente tratado a temperatura, se adicionó la disolución de metóxido sódico. La mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 2 horas a 40 °C, dando como resultado disoluciones homogéneas. Estas disoluciones fueron introducidas en sendos embudos de decantación, con el objeto de facilitar la separación de fases, las disoluciones se mantuvieron en estos embudos durante un mínimo de 48 horas, como resultado, se formaron dos fases diferentes que pudieron ser separadas. El biodiesel producido a partir de aceites de maíz, girasol y oliva pasó las pruebas de calidad. Las pruebas de viscosidad revelaron que a 20 °C el biodiesel de girasol muestra una viscosidad más baja. A 40 °C, el biodiesel de maíz tuvo una viscosidad baja, por lo que, previsiblemente, tanto el de girasol como el de maíz podrían ser los más apropiados para su posterior uso. El estudio de la eficiencia de las muestras de biodiesel obtenidas a partir de los tres aceites vegetales ha permitido establecer que el biodiesel más apropiado es el obtenido a partir de girasol, seguido por el maíz y por último el de oliva. El biodiesel de oliva, debido a su elevada viscosidad, podría tener efectos negativos que afecten a la eficiencia del motor.

Laura Pisarello (2010) *“Producción de biodiesel: equilibrio fisicoquímico y cinética de esterificación y transesterificación con diferentes catalizadores y alcoholes”* Universidad Nacional del Litoral. Los materiales utilizados para la obtención de biodiesel son los siguientes: Materias primas refinadas comestibles: aceites de girasol, maíz y soja, y grasas vacunas. Materias primas de baja acidez: aceites crudos de soja con distintos niveles de acidez y fosfolípidos, en estos casos, la acidez (A) expresada como g de ácido oleico /100 g, menor a 2. Materias primas ácidas: grasa vacuna (A=48,7), de pollo (A=62), de cerdo (A=9), muestras de oleínas (A=34 y A=18,8), aceite de coco (A=65), aceite usado de cocina (A=8), ácidos grasos concentrados de tall oil (subproducto de la industria celulósica) y ácidos grasos de la industria del jabón o purificación de la fase glicerina. En este trabajo de tesis se ha explicado en forma detallada el comportamiento del sistema durante la reacción de esterificación de ácidos grasos, utilizando tanto metanol como etanol. Dependiendo de la acidez inicial de la materia prima y las condiciones de reacción, puede ser necesario más de una etapa de esterificación para llegar a un valor de acidez suficientemente bajo (menor a 2) para poder proseguir con la reacción de transesterificación con catálisis básica. Por otro lado, es posible utilizar aceites crudos con acidez en el orden del 1% como materias primas para la producción de biodiesel, obteniendo un combustible que cumpla con las especificaciones.

La evaporación del metanol excedente de la reacción, sin realizar la separación de fases, concentra los jabones y otras impurezas en la fase glicerina, permitiendo purificar la fase biodiesel, y logra reducir considerablemente la concentración de metanol en la fase glicerina. Si esta evaporación se realiza a 60 °C o menos, la velocidad a la cual se revierte el equilibrio es despreciable, notándose un aumento en la composición de monoglicéridos pequeña, sin salir de especificación.

Mollenido Mamani (2017) *“Reaprovechamiento de aceites usados en pollerías para la producción de Biodiesel – Juliaca”* UNA. En su trabajo de pregrado obtiene Biodiesel de Aceites Usados de pollerías de la Ciudad de Juliaca, para ello se realizaron los siguientes cálculos. Tomando la referencia de Alison et al (2010), se inicia con la determinación del índice de acidez haciendo

tres (03) valoraciones por muestra con fenolftaleína como indicador. La cantidad de metanol 200 mL para 1000 mL de aceite y T gramos de KOH, donde T es igual a la suma de 8+X; donde X es el promedio del IA calculado, luego se determina KOH g a usar; el cual es T por aceite para producir biodiesel sobre 1000, la reacción se realiza en agitación durante 90 minutos a 50-60°C en condiciones normales, dejando decantar por un día, pasado las 24h se realiza la separación y se mide el pH del biodiesel hasta un pH neutro realizando los lavados del biodiesel necesarios, después del lavado se realizó la deshidratación del biodiesel y almacenamiento temporal para finalmente mezclar con diésel comercial y probarlo en un motor. De acuerdo a los resultados que se obtuvieron el rendimiento fue del 70 a 80% y al probarlo en un motor se comprobó la efectividad y el correcto funcionamiento del mismo.

Calle et al. (2019) "*Curso Teórico - Práctico: Producción de biodiesel a partir de aceite vegetal usado*" UNALM. El procedimiento experimental descrito en el curso para la producción de Biodiesel a partir de aceite vegetal usado, es el siguiente:

Índice de acidez:

- Pesar 5 gramos de muestras (grasa)
- Diluir con 50 mL de etanol neutralizado a 50°C
- Colocarlo en un matraz de Erlenmeyer
- Adicionar unas gotas de fenolftaleína
- Titular con solución de Hidróxido de potasio 0.1N

$$IA = \frac{V * N * 56.1}{g \text{ muestra}} \quad (1)$$

Donde:

V: Volumen de titulante gastado (mL)

N: Normalidad del KOH

Transesterificación:

- Pesar 200 mL de aceite vegetal usado
- Medir metanol 20% (v/v) con relación a la cantidad de muestra.

Calcular la cantidad de catalizador adicionando un exceso dependiente del IA.

- KOH (hidróxido de potasio):
8 g + IA * x Lt mta.
- NaOH (hidróxido de sodio):
3.5 g + IA * xLt mta.
- Mezclar el metanol y el catalizador.
- Agregar la mezcla de metóxido a la muestra
- Realizar la mezcla a T° 50 - 60°C durante 2 horas aprox. (proceso de Transesterificación)
- Esperar a decantar y separar la glicerina
- Realizar de 2 a 3 lavados con agua (20 - 30% (p/p) con respecto al rendimiento del biodiesel).
- Separar el biodiesel purificado
- Secar
- Filtrar

Se obtuvo biodiesel de tres muestras: Aceite usado de pollería, aceite usado de restaurante y aceite usado de chicharronería, los rendimientos obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 3
Resultados de la obtención de Biodiesel

Muestra	Aceite usado (mL)	Biodiesel (mL)	Rendimiento de Biodiesel (%)	Rendimiento de glicerina (%)
Aceite usado de pollería	200	177.2	88.6	20.36
Aceite usado de restaurante	200	180.0	90.0	14.23
Aceite usado de chicharronería	200	194.2	97.11	17.31

Fuente: Calle et al. (2019)

Medina Villadiego (2015) *“Esterificación y transesterificación de aceites residuales para obtener Biodiesel”* Universidad de Caldas. En su investigación fueron recolectados aceites de cuatro restaurantes de la ciudad de Cartagena, que generan en promedio entre 5 y 20 litros semanales. Previamente se evaluó

el índice de acidez y densidad relativa de acuerdo a las Normas Técnicas Colombianas (NTC), el contenido de agua y el color según las normas de la American Society for Testing and Materials (ASTM). La esterificación ácida fue realizada usando Ácido sulfúrico de calidad analítica durante 90 minutos a 60°C y la transesterificación básica se realizó con hidróxido de sodio de alta pureza. Se usó un diseño de experimentos factorial 2³, en el cual los factores de interés estudiados fueron la relación aceite-ácido (A), concentración de hidróxido de sodio (B) y relación aceite-metanol (C). Los niveles evaluados para cada factor se muestran a continuación:

Tabla 4
Factores de interés del diseño y sus niveles

FACTORES	ACEITE/H ₂ SO ₄	NaOH (g/l)	ACEITE/CH ₃ OH
Concentración mínima (-)	30:1	1.875	6:1
Concentración máxima (+)	20:1	2.075	5:1

Fuente: Medina Villadiego et al. (2015)

De los resultados obtenidos se reportó el índice de acidez de los aceites residuales de cocina entre 0.67 y 3.64, se encontró uniformidad de los resultados de las propiedades evaluadas, el índice de peróxido presenta un valor promedio de 4.325 que indica que el biodiesel obtenido permitirá una combustión más completa reduciendo las emisiones de monóxido de carbono e hidrocarburos no quemados, el color oscuro de las muestras de aceites es el resultado del desgaste al que fueron sometidos en su vida útil y la ruptura de las cadenas de ácidos grasos, por ende es bueno tener en cuenta que a esta materia prima se le debe hacer un pretratamiento muy riguroso para acondicionar los aceites, finalmente se encontró que la reacción tuvo rendimientos superiores al 90% y que la relación aceite-metanol es la variable que afecta el rendimiento, favoreciéndose para bajas concentraciones de metanol.

Torres Rivero et al. (2017) *“Efecto de la temperatura y del tiempo de reacción sobre la esterificación y la transesterificación de aceites comestibles usados”* Tecnológico Nacional de México. Se tomaron muestras de 6 tipos de aceite comestible usado del centro de acopio del ITCancún, de los cuales se

desarrollaron 16 experimentos, cada uno con sus respectivas replicas. La reacción se realizó por esterificación y transesterificación:

Esterificación: Consistió en una etapa ácida en la cual los ácidos libres son esterificados por el metanol. En la etapa ácida se calentó el aceite hasta 65°C y se agregó 40% del metanol total a utilizarse, y posteriormente se le añadió el otro 60% del metanol, la agitación se mantuvo constante para evitar geles, cinco minutos después se agregó Ácido sulfúrico (H_2SO_4) con 98% de pureza en relación de 1 mL por litro de aceite a procesar.

Transesterificación: En este proceso es la cantidad catalítica de hidróxido de sodio que favorece la reacción de transesterificación del aceite. Consistió en preparar una solución diluida de hidróxido en metanol (con una relación de metanol - aceite de 6:1). La solución se mezcló con el aceite y se elevó la temperatura a 60°C durante dos horas bajo agitación constante, se dejó decantar por 4 horas para separar el biodiesel y glicerina, luego se procedió al lavado del biodiesel.

De los resultados obtenidos, se concluye que la temperatura debe ser continua sin que haya fluctuación o variación cuando se esté llevando a cabo los procesos de la ruta química, el tiempo de reacción es de 4 a 12 horas. El manejo del catalizador debe ser en ambiente controlado y realizar los cálculos estequiométricos para cada catalizador en base a la relación molar aceite/alcohol.

Tejada Tovar et al. (2013) "*Obtención de biodiesel a partir de diferentes tipos de grasa residual de origen animal*" Universidad de Caldas. Se obtiene biodiesel de grasa de pollo, cerdo y de res: Para la grasa de pollo los reactivos utilizados fueron 30 mL de metanol, 50 mL de grasa de pollo e hidróxido de sodio 0.5 g a una agitación de 300 rpm durante hora y media; Grasa de cerdo, para la grasa de cerdo se utilizó 125 mL grasa, 1 g de hidróxido de potasio y 24 mL de metanol con agitación a 300 rpm durante hora y media; Y para la grasa de res se llevó a cabo en catálisis ácida y básica con Ácido sulfúrico (H_2SO_4) y con hidróxido de potasio (KOH) respectivamente, el resultado del biodiesel de bobino fue la solidificación del producto por lo que no se obtuvieron los resultados esperados. Además, como lo reporta Vivas (2010), el problema más

desfavorable y por el cual se restringe el uso de biodiesel bovino es la densidad ($0,8652 \text{ g/cm}^3$ a $23 \text{ }^\circ\text{C}$), ya que la norma (ASTM D4052) exige que se debe medir a 15°C , temperatura a la cual el metil éster se solidifica, en cuanto al rendimiento obtenido, la grasa de pollo fue de 70.5%, y grasa de cerdo del 90%.

Alfonso Alvarez (2013) “*Obtención de biodiesel a partir de aceites usados en casa habitación de la comunidad del Refugio*” CIMAV. Se obtiene biodiesel a partir de aceites usados en Casa Habitación de la Comunidad del Refugio, las condiciones experimentales utilizadas para realizar los ensayos fueron:

Tabla 5
Condiciones experimentales

Relación molar	Catalizador (1%)	Agitación	Tiempo de reacción	Temperatura			
6:1	NaOH	600 rpm	1h	30°C	40°C	50°C	60°C
	KOH						

Fuente: Alfonso Alvarez (2013)

Bajo estas condiciones se determinó que a medida que aumenta la temperatura el rendimiento de biodiesel es mayor y que si se trabaja con 60°C se tiene un mayor rendimiento, en cuanto al catalizador que da mejores resultados es el hidróxido de potasio, ya que la glicerina obtenida puede ser refinada de forma fácil.

Arbeláez Marín & Rivera Quiroz (2007) “*Diseño conceptual de un proceso para la obtención de Biodiesel a partir de algunos Aceites Vegetales Colombianos*” Universidad EAFIT. Se realiza el diseño conceptual de un proceso para la obtención de Biodiesel a partir de algunos aceites vegetales. Las condiciones de operación fueron Temperatura inicial de 40°C hasta 60°C , presión 0 psig, agitación de 200 rpm y por un tiempo de 90 min. Las condiciones óptimas encontradas de las variables analizadas para el proceso de obtención de biodiesel a partir de aceite de palma crudo, empleando KOH como catalizador son: 6:1 de relación molar alcohol/aceite y 0.5% de catalizador, dando como resultado un rendimiento de 84.14%.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Lentejas de Agua

Lentejas de agua o lentícula, lemna; género de plantas acuáticas, de la familia de las payadas cuyas hojas redondeadas en forma de lentejas, flotan en la superficie del agua. La lenteja de agua ha sido usada como emoliente (Nysten et al., 1848).

Lemnáceas, esta familia la forma solo en género *Lemna L.*, *Lentejas de agua*, subdividido en los últimos tiempos, que se cría en casi todo el mundo. Cubren a veces las aguas tranquilas de una densa alfombra; nuestros padres empleaban las lentejas de agua contra la ictericia y en las inflamaciones artríticas (Philippi, 1869).

2.2.2. Aspectos Generales

El entorno mundial ha sido convulsionado por crisis financieras de alcance global, como consecuencia la demanda de materias primas y recursos energéticos crecieron sostenidamente en los últimos años, el consumo de energía va en aumento, cada vez las personas consumen más energía ya sea para la obtención de nuevos productos o el desarrollo de sus actividades (Tamayo Pacheco et al., 2015).

2.2.3. Energías Renovables

Es la energía que se obtiene de fuentes naturales ya sea por la cantidad de energía que poseen o por la capacidad de regenerarse por medios naturales.

Tipos de energía renovable:

- a. Energía solar: Se debe entender que lo que realmente se usa es la radiación como energía que llega a la superficie de la tierra proveniente del sol (Jarauta, 2014).

El sol produce constantemente energía electromagnética, esta radiación que llega del sol es la principal fuente de energía sobre la tierra ya sea directa o indirectamente excepto la energía nuclear (De Juana Sardón, 2003).

- b. Energía eólica: El viento es otra fuente de energía en el que se aprovecha la velocidad de las grandes corrientes de aire (Jarauta, 2014).

El viento tiene su origen último en el sol, ya que es originado por el calentamiento de las distintas zonas de la atmósfera, la energía proveniente del viento a sido utilizada a lo largo del tiempo logrando el impulso de los barcos hacia rutas de los grandes descubrimientos, también utilizado en molinetes de viento para moler granos, bombear agua y producir electricidad (De Juana Sardón, 2003).

- c. Energía del agua: La energía se obtiene del movimiento del agua ya sea en los descensos de los ríos o en las oscilaciones de las olas del mar (Jarauta, 2014).

El agua almacena energía según las características de su flujo y su posición dentro del campo de la gravedad, ésta energía también tiene su origen primigenio del sol pues el ciclo hidráulico está movido por la energía solar (De Juana Sardón, 2003).

- d. Energía de materia orgánica: La materia orgánica también puede ser fuente de energía renovable, como la leña, siempre y cuando se tenga un control que permita su recuperación, otra fuente puede ser los residuos orgánicos de cocina pudiendose obtener biogás, también se puede transformar ciertos cultivos como los de soya, palma, en biocombustibles (Jarauta, 2014).

Las plantas verdes mediante su función clorofórmica, utilizan energía solar y sintetizan materia orgánica a partir de CO₂ atmosférico, del agua y de minerales del suelo, parte de esta materia orgánica es susceptible a ser consumida por los animales transformando la energía química y másica del cuerpo (Fernando, 2019).

La fotosíntesis de las plantas capturan energía del sol ésta energía se acumula en maderas, cáscara de fruto, plantas y otros residuos orgánicos y que al quemarse liberará energía acumulada (De Juana Sardón, 2003).

- e. Energía de la tierra: Conocido también como energía geotérmica, se puede aprovechar directamente en zonas termales donde se encuentra agua

caliente, y en áreas donde no se encuentra agua se puede aprovechar la temperatura del terreno (Jarauta, 2014).

2.2.4. Materia prima para producir Biodiesel

Los aceites y grasas constituyen las materias primas esenciales para la producción de biodiesel.

➤ **Aceites vegetales convencionales**

Los países pioneros en la industrial del biodiesel como en Austria, Alemania, Francia, España y otro países como Unión Europea es más común la extracción de aceites vegetales de semillas oleaginosas como de colza y girasol, en cambio para Estados Unidos y Argentina es frecuente la extracción de aceite de soya y en los países de Malasia, Indonesia, Ecuador y Colombia del aceite de palma, los cuatro aceites mencionados son los más usados para la producción de biodiesel a nivel mundial (Benjumea Hernández et al., 2009).

➤ **Aceites alternativos**

En diferentes países se viene desarrollando investigaciones de laboratorio y planta piloto, con el fin de encontrar la factibilidad de la obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales no comestibles, entre tales trabajos cabe resaltar el estudio realizado por el Instituto de Investigación de la Zona Árida Central de la India, en el que se evaluó el potencial para producir biodiesel de 75 especies de plantas no comestibles caracterizadas por poseer semillas o frutos con rendimientos de aceite por encima del 30% en peso. En Perú, Ecuador y Colombia se contempló la posibilidad de producir biodiesel con aceites de especies amazónicas, como el inchi o maní de árbol y sacha inchi, la mayor dificultad que se tiene, es la poca experiencia que hay en su cultivo a escala industrial, para las semillas de piñón o tempate lomimo, su aceite no pueden usarse con fines alimenticios, por sus compuestos tóxicos entre ellos la toxalbumina, para dicho aceite se reportaron contenidos de ácidos grasos libres variando desde valores cercanos a cero hasta 14% este aceite presenta un balance intermedio entre ácidos grasos saturados e insaturados, mayor que los aceites de colza, soya, girasol y menor que el aceite de palma, de igual manera el

aceite de higuera no es comestible por la presencia de la toxalbumina no obstante el uso de su aceite ha sido utilizado como laxante, dicho aceite comercial es el único en alto contenido de ácido ricinoleico cerca al 90%, este aceite de higuera por su alto contenido en ácido ricinoleico hace que sea de importancia para la industria oleoquímica donde se obtienen adhesivos, tintas, plásticos, lubricantes, entre otros. A diferencia del piñón e higuera el aceite de sacha inchi son altamente valorados para el consumo humano por su alto contenido de ácidos grasos carboxílicos poliinsaturados, teniendo cerca al 49% de ácido linoleico, dicho compuesto escaso en la naturaleza y muy importante en la vida y salud perteneciendo a la categoría de ácidos grasos esenciales, llamado así porque el organismo no es capaz de sintetizarlos a partir de los alimentos que se ingiere (Benjumea Hernández et al., 2009).

➤ **Aceite de microalgas**

La industria del biodiesel se encuentra limitado por la disponibilidad de tierras aptas para agricultura, en ese sentido la obtención de biodiesel a partir de algas aparece como alternativa prometedora a largo plazo, las algas pueden adaptarse a cualquier lugar siempre y cuando se garantice la luz solar, el rendimiento de aceite por hectárea puede ser 200 veces mayor al obtenido con aceites convencionales como la soya y colza, gran parte de los esfuerzos investigativos están siendo focalizados a la búsqueda de tecnologías que permitan su producción a gran escala, los aceites de microalgas difieren de los aceites vegetales convencionales porque suelen ser ricos en ácidos grasos poliinsaturados con cuatro o más enlaces dobles como el eicosapentaenoico y el decosaheptanoico (Benjumea Hernández et al., 2009).

➤ **Aceites y grasas de origen animal**

En comparación con los aceites vegetales las grasas animales tienen costos más bajos, pero su disponibilidad es más limitada por tratarse de subproductos de la industria cárnica, el cebo de res y la manteca de cerdo son más ricos en ácidos grasos saturados que la grasa de pollo llegando a

tener proporciones de dichos ácidos similares o superiores a las de aceite de palma (Benjumea Hernández et al., 2009).

➤ **Aceites de fritura usados**

Una opción llamativa es la producción de biodiesel a partir de aceites de fritura usados, este esquema ha llegado a desarrollarse industrialmente en países que cuentan con legislaciones adecuadas sobre disposición final de los aceites fritos y en los que existen empresas con experiencia en la gestión de su recolección. Se debe tener en cuenta que el proceso físico-químico complejo puede afectar significativamente la composición química del aceite original como hidrólisis la formación de ácidos grasos libres, glicerol libre, mono y diglicéridos, oxidación y polimerización (Benjumea Hernández et al., 2009).

2.2.5. Propiedades Físico Químicas de las grasas y aceites

Tabla 6
Componentes típicos de los aceites y las grasas

TIPO DE COMPUESTO		NOMBRE
Mayoritarios		Triacilglicéridos (triglicéridos)
Minoritarios	Material saponificable	Diacilglicéridos
	Glicéridos neutros	Monoacilglicéridos
		Ácidos grasos libres
		Gomas
	Material insaponificable	Colesterol
	Esteroles	Fitosterol
	Terpenos y otros hidrocarburos	Polímeros del isopreno (2-metil-1, 3-butadieno)
	Vitaminas	Tocoferoles
		Tocotrienoles
	Colorantes	Carotenos
		Xantofilias
	Metales	Hierro
		Cobre

Fuente: Benjumea Hernández et al. (2009)

Los aceites vegetales están constituidos principalmente por el (95 a 99% en peso) por triglicéridos (triésteres) de tres moléculas de ácidos grasos, que

pueden ser simples o mixtos de igual o distintos grupos sustituyentes (Benjumea Hernández et al., 2009).

Lípidos:

❖ Triglicéridos:

El tipo de triglicéridos influye directamente en el polimorfismo y el patrón de cristalización, muy importante en la industria de los aceites y grasas, los triglicéridos están formados por tres ácidos grasos (Benjumea Hernández et al., 2009).

Un triglicérido está compuesto por tres ácidos grasos esterificados unidos a una molécula de glicerol (Velásquez, 2006).

Los triglicéridos sólidos a temperatura ambiente (20°C) se llaman grasas y los líquidos a temperatura ambiente aceites. Los triglicéridos se componen por dos bloques estructurales, los ácidos grasos y el glicerol, el glicerol es una molécula pequeña con tres grupos hidroxilo (-OH) por lo cual es un alcohol, un ácido graso se constituye por una cadena larga hidrocarbonada no polar y un grupo carboxilo polar (-COOH), un triglicérido contiene tres ácidos grasos y uno de glicerol (Sadava & Purves, 2009).

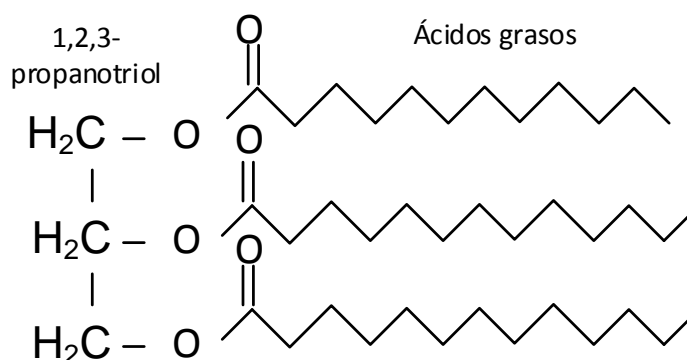


Figura 1. Triglicérido

❖ 1,2,3-propanotriol:

Glicerol nombre común del compuesto 1.2.3-propanotriol, incoloro, inodoro, de sabor dulce (Benjumea Hernández et al., 2009).

El glicerol es una molécula pequeña con tres grupos hidroxilo (-OH) por lo cual es un alcohol (Sadava & Purves, 2009).

❖ Mono y diglicéridos:

El 1,2,3-propanotriol por poseer tres grupos hidroxilo (OH) puede estar mono, di o triesterificada por los ácidos grasos, se encuentra en pequeñas cantidades en la naturaleza los mono y diacilglicéridos, como producto de la síntesis o degradación de los triacilglicéridos, generalmente se encuentra en un 0.3 y 1% en peso de los aceites vegetales (Benjumea Hernández et al., 2009).

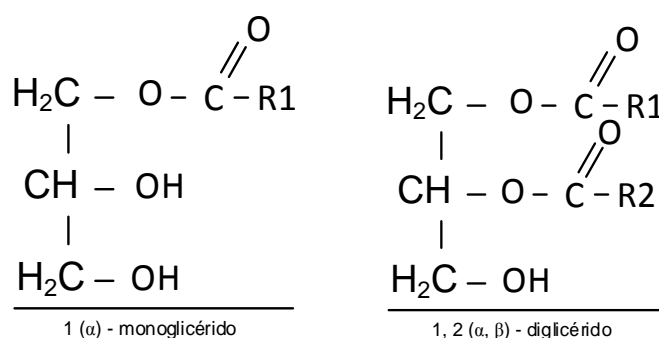


Figura 2. Estructura química de un monoglicérido y un diglicérido típico.

❖ Ácidos grasos:

Los ácidos grasos son compuestos orgánicos que poseen un grupo funcional carboxilo (-COOH) y una cadena carbonatada larga, que puede ser de 4 a 36 átomos de carbono, siendo la mayoría de cadena lineal con número par de átomos de carbono de 12 a 24, los más abundantes de 16 y 18, por cada 100 kg de aceite o grasa se puede obtener 95 kg de ácidos grasos, los ácidos grasos libres en los aceites y grasas frescos suele variar desde menos del 1% a 20 % en peso (Benjumea Hernández et al., 2009).

- **Ácidos grasos saturados:** Son cadenas lineales de átomos de carbono unidos por enlaces simples, se clasifican de acuerdo a la longitud de la cadena, corta menor a 6, media de 6 a 10 y larga de 12 a más, en general las grasas con mayor ácidos grasos permanecen sólidos a temperatura ambiente por ende más resistentes a la oxidación, al calor y a la luz (Velásquez, 2006).

Estas moléculas de ácido graso son relativamente rígidas y rectas, empaquetadas en forma estrecha (Sadava & Purves, 2009).

- **Ácidos grasos insaturados:** La cadena hidrocarbonada contiene uno o más dobles enlaces, que impide el empaquetamiento en forma apretada una junto a otra, los pliegues de las moléculas de ácidos grasos son importantes para determinar la fluidez y el punto de fusión de un lípido, en el caso de los triglicéridos de las plantas como el de maíz, tienden a tener ácidos grasos cortos o insaturados, los triglicéridos suelen ser líquidos a temperatura ambiente (Sadava & Purves, 2009).

❖ **Fosfolípidos:**

Los fosfolípidos se oxidan fácilmente, pero en algunos casos funcionan como antioxidantes naturales que protegen a los lípidos que los contienen; es decir, de acuerdo con su concentración, pueden actuar como antioxidantes o como prooxidantes (Badui Dergal, 2006).

❖ **Material insaponificable:**

Otra clasificación de los lípidos se basa en su capacidad para producir jabones: aquellos que los forman se llaman saponificables y los que no, insaponificables; la saponificación es una reacción de esterificación que se usa en los análisis de lípidos, y consiste en hacerlos reaccionar con hidróxidos de potasio o sodio para generar ésteres de los ácidos grasos (jabones). Los lípidos saponificables comprenden grasas, aceites, ceras y fosfolípidos, mientras que los insaponificables son básicamente esteroides, hidrocarburos, pigmentos y prostaglandinas (Badui Dergal, 2006).

2.2.6. Métodos para la obtención de Lípidos

En general las mezclas de lípidos se separan por diferencia en su polaridad o solubilidad en disolventes, los lípidos que contienen ácidos grasos en enlace éster o amida se pueden hidrolizar (saponificar) en cambio los lípidos no polares (triacilglicéridos, ceras, pigmento, etc) se extraen fácilmente de los tejidos con éter etílico, triclorometano, benceno (Morales, 2017).

a. Métodos para la extracción con solventes**➤ Método Soxhlet:**

Es ampliamente utilizado la extracción sólidos-líquido, donde se tiene un flujo constante de un solvente orgánico, por lo general Éter de petróleo, etoxietano (éter etílico) o Hexano - Diclorometano, este solvente es calentado hasta ebullición para luego condensarse, este método es sencillo, sin embargo, los resultados son menos eficientes comparados con otros métodos ya que determina los lípidos totales y es necesario grandes cantidades de solvente (González, Kafarov, & Guzmán Monsalve, 2009).

➤ Método Folch:

Es un método ampliamente utilizado para la extracción de lípidos polares y no polares debido a la utilización de un solvente apolar, el cual disuelve los lípidos no polares, en combinación con un solvente relativamente polar, el cual disuelve los lípidos polares presentes en la muestra sometida a extracción, estas propiedades de los solventes fueron originalmente aprovechadas para desarrollar un método basado en la mezcla metanol/triclorometano, seguido de una purificación de los extractos con una solución de KCl (González, Kafarov, & Guzmán Monsalve, 2009).

➤ Método Bligh and Dyer:

En 1959 Bligh and Dyer modificaron el método de Folch, y obtuvieron un método rápido de extracción de lípidos que es usado en la actualidad y se ha probado con éxito en la extracción de aceite de microalgas (González, Kafarov, & Guzmán Monsalve, 2009).

Es un método estándar bien establecido, determina lípidos totales, se basa en un sistema bifásico de equilibrio Líquido- Líquido. Las muestras pueden ser analizadas directamente sin necesidad de pre-secarlas, el procedimiento consiste en realizar una cuantificación gravimétrica teniendo en cuenta los siguientes pasos: 1) Metanol + triclorometano, 2) triclorometano y 3) Agua; después de la separación de fases se determina en la fase clorofórmica la

cantidad de lípidos totales por evaporación y gravimetría (Santana Brum et al., 2009).

b. Extracción por instrumentos

➤ **Extracción asistida por Microondas:**

Consiste en el calentamiento de un solvente en contacto con la muestra. El proceso implica la perturbación de los enlaces por puente de hidrógeno, como resultado de la rotación de dipolos por la radiación en las moléculas y la migración de iones; con la consiguiente penetración del solvente en la matriz, y transporte al seno del líquido de los componentes, la rapidez del calentamiento es una ventaja frente a la extracción de lípidos por solvente (Salomón et al., 2013).

➤ **Extracción mediante ultrasonido:**

La técnica de ultrasonido consiste en la exposición de las microalgas a ondas acústicas de una frecuencia determinada, la utilización de ondas acústicas para la destrucción de la pared celular de las microalgas fue estudiada entre otros por Faerman et al., quienes demostraron experimentalmente que la aplicación de ultrasonido a baja frecuencia, causa una fuerte destrucción celular, incluso mayor que cuando se aplican ondas de alta frecuencia. Cravotto et al. desarrollaron una técnica de extracción con ultrasonido y asistida por microondas simultáneamente, trabajando a frecuencias entre 19 y 300 kHz obtuvieron incrementos significativos en la cantidad de aceite de microalgas extraído en comparación con métodos más convencionales (Gonzáles, Kafarov, & Guzmán Monsalve, 2009).

➤ **Autoclavado:**

El principio de extracción mediante Autoclavado es similar a la extracción mediante agua subcrítica. La metodología de utilización de esta técnica es variable, se puede utilizar una solución salina acuosa como fluido de trabajo y se autoclavan a 300°C y 100 MPa con tiempos que oscilan entre 5 y 60 minutos, adicionalmente se purga con nitrógeno el aire residual, una ventaja de esta técnica para ser utilizada en la extracción de lípidos, es que se puede

trabajar con la biomasa húmeda (González, Kafarov, & Guzmán Monsalve, 2009).

2.2.7. Hidrólisis y saponificación

La hidrólisis en los aceites y grasas consiste en la ruptura o desdoblamiento de los triglicéridos en sus ácido graso constituyentes y glicerol en presencia de agua, otra opción para desdoblar los triglicéridos consiste en hacerlos reaccionar con una base fuerte (KOH o NaOH) concentrada en agua o etanol (hidrolisis alcalina) en este caso el aceite o grasa reacciona con la base en presencia de agua para producir una mezcla de sales alcalinas de los ácidos grasos (jabones) y glicerol (Benjumea Hernández et al., 2009).

2.2.8. Pre tratamiento del aceite

La mayor parte del biodiesel se produce a partir de aceites comestibles semirefinados con buenas características de acidez y humedad. Sin embargo, existe gran cantidad de aceites y grasas de menor calidad y menor costo que también podrían ser convertidos en biodiésel (por ejemplo, aceites vegetales crudos, grasas animales y aceites usados o residuales). El problema para procesar estas materias primas baratas es que suelen tener grandes cantidades de ácidos grasos libres, gomas, humedad y otras impurezas que afectan el proceso de transesterificación alcalina (Castro et al., 2007).

➤ **Desgomado;**

Es la extracción acuosa de compuestos hidrosolubles, como proteínas, hidratos de carbono, agua y fosfátidos, que se separan al establecer una fase inmisible con el aceite. Los fosfátidos en bajas concentraciones, provocan problemas en la refinación, además de que son muy sensibles a la oxidación y producen espuma en el producto terminado. No todos los aceites se someten al desgomado. Al aceite crudo se le añade un 2-3% de agua, se calienta a 50-60°C y la fracción acuosa se separa por centrifugación; los fosfátidos se hidratan, esponjan y precipitan, sobre todo si se incrementa la temperatura, se recuperan y se deshidratan. Al producto resultante se le llama "lecitina", aunque en realidad contiene una baja proporción de ésta, su valor depende del fósforo, elemento que en promedio equivale a casi 4% de un fosfolípido puro (Badui Dergal, 2006).

➤ **Neutralización, lavado y secado;**

Este tratamiento elimina ácidos grasos libres y monoacilglicéridos y los fosfolípidos residuales del desgomado. Entre mayor sea la cantidad de ácidos grasos libres, menor será el rendimiento de la refinación. La neutralización es una saponificación con NaOH al 10-15%, en la cantidad precisa para que sólo reaccione con ácidos libres, cuya concentración se determina previamente; un exceso de sosa saponificaría los triacilglicéridos, con lo que se perdería aceite. La neutralización se efectúa en forma continua o en sistemas discontinuos; la mezcla aceite/sosa se calienta a 60-70°C para acelerar la reacción y se produce una pasta jabonosa (soap stock) que se separa por una primera centrifugación y que se emplea en la fabricación de jabones (Badui Dergal, 2006).

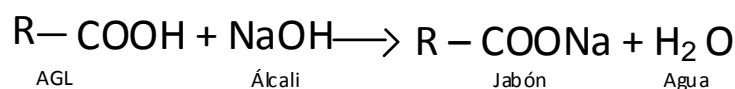


Figura 3. Reacción de AGL, el resultado es un jabón.

Después, el aceite o grasa se lava con agua una o dos veces para eliminar las últimas trazas de jabón y se centrifuga nuevamente. Finalmente, el material refinado se seca en un secador de vacío para eliminar el agua residual (Castro et al., 2007).

➤ **Filtrado y secado;**

Si la materia prima es algún aceite crudo, o aceite usado previamente en frituras, es posible que contenga humedad e impurezas sólidas. Para el caso de la humedad, es necesario secar el aceite mediante evaporación al vacío o mediante el uso de sales absorbentes. Para separar las impurezas sólidas, basta un proceso de filtrado en caliente antes de la transesterificación (Castro et al., 2007).

➤ **Winterización;**

Es opcional y sólo se usa en algunos aceites; es una forma de cristalización fraccionada, o fraccionamiento en seco, para eliminar triacilglicéridos

saturados de alto punto de fusión, como los del algodón y de la soya, y para evitar que el aceite se enturbie al enfriarse. Las fracciones con ácidos grasos saturados y algunas otras que llegan a cristalizar en la refrigeración, como las ceras de los aceites de maíz y de girasol, causan una apariencia indeseable en alimentos almacenados a baja temperatura. Debido a que la porción separada contiene una gran cantidad de ácido esteárico, se le conoce como estearina. (Badui Dergal, 2006).

2.2.9. Métodos para la obtención de biodiésel

El biodiésel es un biocombustible líquido que se obtiene a partir de aceites vegetales o grasas animales, no obstante, los aceites vegetales poseen características entre las que destaca su alta viscosidad, se calcula que es 10 veces o más a la del diésel convencional y su baja volatilidad, las cuales pueden afectar la calidad del biodiésel (Lombana Coy J. et al., 2015).

a) Transesterificación

Reacción química de la transesterificación, hemos visto que químicamente ésta equivale a:



Sin embargo, en la práctica se necesita más de 3 alcoholes por cada triglicérido para que la reacción ocurra completamente. Si no se usa este exceso de alcohol, el producto obtenido no será biodiésel puro: consistirá en una mezcla de biodiésel, triglicéridos sin reaccionar, y productos intermedios como los monoglicéridos y diglicéridos. Estas impurezas pueden afectar las características del combustible, de manera que no cumpla con las normas técnicas de calidad, además de tener efectos indeseados como producir depósitos carbonosos en el motor, taponeo de los filtros, combustión incompleta, etc. Igualmente, para que la reacción se lleve a cabo, también hemos visto que se necesita la presencia de un catalizador y de ciertas condiciones de reacción (tiempo, temperatura y agitación). Asimismo, hemos visto que la calidad del aceite es uno de los condicionantes más importantes para que la transesterificación se lleve a cabo adecuadamente y que debe asegurarse con un análisis químico previo y, si es necesario, con un pretratamiento adecuado (Castro et al., 2007).

- Transesterificación por catálisis alcalina:** Se caracteriza por ser la tecnología más usada a nivel comercial debido a que permite reducir los costos de producción, en gran parte por presentar tiempos de reacción rápidos, altos rendimientos de conversión y bajos niveles de complejidad durante el proceso. Es decir, este método requiere condiciones moderadas de presión y temperatura que a su vez permiten emplear herramientas y reactores convencionales. Los catalizadores básicos o alcalinos más usados son el Hidróxido de Sodio o Hidróxido de Potasio. No obstante, las principales desventajas de esta tecnología es que solo permite usar alcoholes y aceites anhidros y que los AGL deben ser sometidos a un proceso previo de esterificación para evitar la formación de jabones (Lombana Coy et al., 2015).
- Transesterificación por catálisis ácida:** Este tipo de tecnología presenta una ventaja considerable asociada al procesamiento de materias primas con altos niveles de AGL (grasas animales y aceites de cocina usado), razón por la cual es usado como un proceso de pre-esterificación antes de iniciar la catálisis alcalina. No obstante, los tiempos de reacción son prolongados si se compara con la catálisis alcalina y se requieren condiciones severas de presión y temperatura durante el proceso de transesterificación. Los catalizadores ácidos pueden ser ácido minerales (Lombana Coy et al., 2015).

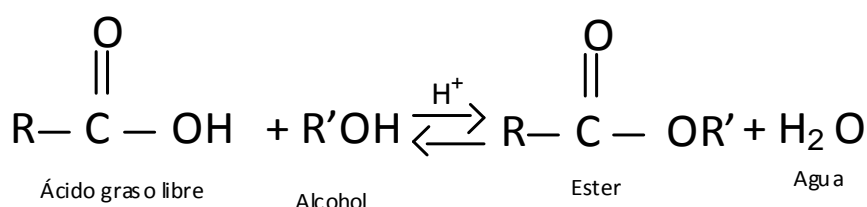


Figura 4. Reacción de esterificación de los ácidos grasos.

b) Pirólisis

El craqueamiento térmico o pirólisis es la conversión de una sustancia en otra por medio de su calentamiento a altas temperaturas (superiores a 450°C) en ausencia de oxígeno. En algunas situaciones se utilizan, además, catalizadores que ayudan a romper los enlaces químicos de las moléculas, de manera que se forman moléculas de menor tamaño. La pirólisis de las

grasas, con ayuda de óxido de silicio o de aluminio como catalizador, es una manera de obtener combustibles químicamente similares al diésel de petróleo. Sin embargo, es un proceso caro. Además, al remover el oxígeno del proceso se pierden los beneficios ambientales de ser un combustible oxigenado (como la mejor combustión y menores emisiones contaminantes). Este combustible obtenido del craqueamiento térmico de las grasas no es biodiésel (no está compuesto por ésteres de ácidos grasos), pero es también un combustible renovable semejante al diésel de petróleo. Ribeiro, (2004) citado por (Castro et al., 2007).

c) Fluidos supercríticos

La transesterificación de triglicéridos (moléculas no polares) con un alcohol (molécula polar) es una reacción heterogénea de dos fases líquidas a temperaturas convencionales debido a la miscibilidad incompleta de los componentes polares y no polares. Pero en condiciones supercríticas la mezcla se convierte en una fase homogénea, como resultado de los bajos valores de las constantes dieléctricas del alcohol, lo cual acelera la reacción debido a la inexistencia de la interfase de transferencia de masa limitante de la velocidad de reacción. La presión y la temperatura son parámetros importantes para las reacciones supercríticas debido a que permiten ajustar las propiedades de la mezcla o del solvente. Cuando además de condiciones supercríticas se elimina el uso del catalizador, se presentan ventajas ambientales debido a la omisión de costos y tiempo consumido en generación del tratamiento y separación del catalizador del biodiesel y el subproducto glicerina (no miscibles a temperatura ambiente), así como consideraciones especiales de equipo para el manejo de catalizadores fuertes. Adicionalmente no hay saponificación, la cual puede ocurrir en el proceso con catalizadores alcalinos como resultado de la reacción de los ácidos grasos libres con las bases (Cardona Alzate & Orrego Alzate, 2009).

2.2.10. Postratamiento del biodiesel

Luego de la transesterificación y la separación de las dos fases biodiesel y glicerol se requiere de un postratamiento para asegurar que el biodiesel cumpla con los estándares de calidad exigidos, pues éste aún contiene impurezas derivadas del proceso: parte del metanol en exceso, posiblemente jabones y

trazas de catalizador. Los metil-ésteres se someten a temperatura y vacío para evaporar el metanol y recuperarlo, y luego son llevados a un proceso de lavado para separar todas las impurezas, el lavado se realiza con agua acidulada (con Ácido sulfúrico o Ácido 2-Hidroxipropano-1,2,3-tricarboxílico) que se mezcla con el biodiésel, el ácido neutraliza el catalizador residual presente y separa los jabones que se puedan haber formado en la reacción. Así, los restos de catalizador, jabón, sales, glicerina y metanol se quedan en el agua de lavado, este lavado se realiza al menos dos veces con agua nueva cada vez, hasta que se haya eliminado todo el residual de catalizador alcalino y el efluente tenga un color claro, finalmente los metilésteres lavados se secan (con calor y vacío) para separar toda el agua restante y se filtran, el producto de este proceso es el biodiésel terminado (Castro et al., 2007).

2.2.11. Postratamiento del 1,2,3-propanotriol (glicerina)

El glicerol crudo, que en realidad contiene solamente un 50% de glicerol, es un subproducto de poco valor en esta forma (ya que contiene gran cantidad de jabones, catalizador alcalino y metanol), y además peligroso debido al metanol. Para poder aprovecharlo, primero debe ser purificado por acidulación luego mediante (evaporación – temperatura y vacío – condensación) del metanol llegar a una pureza de aproximadamente 85% y finalmente pasar por destilación para separarlo del agua (Castro et. al, 2007).

2.2.12. Marco Legal del Biodiésel

Marco Legal en Perú:

Ley N° 28054 (2003)

Ley de Promoción del Mercado de Biocombustibles:

- Marco general para promover el desarrollo del mercado de los biocombustibles.

Objetivos:

- Diversificar el mercado de combustibles.
- Fomentar el desarrollo agropecuario.
- Generar empleo.
- Disminuir contaminación ambiental.

- Ofrecer mercado alternativo para la lucha antidrogas.

D.S. 013-2005-EM (2005)

Reglamento de la Ley de Promoción del Mercado de Biocombustibles

- Compradores autorizados y lugares de mezcla
 - Distribuidores mayoristas de combustibles líquidos.
 - Plantas de abastecimiento.
- Porcentaje de mezcla (B5)
 - ¿Mínimo o máximo?
 - ¿Voluntario u obligatorio?
- Cronograma de aplicación y uso:
 - 2008 en la selva.
 - 2010 en todo el país.
- Normas técnicas de calidad.
- Programa de Promoción del Uso de los Biocombustibles.

D.S. 021-2007-EM (2007)

Reglamento para la Comercialización de Biocombustibles:

- Compradores autorizados y lugares de mezcla.
 - Distribuidores mayoristas de combustibles líquidos.
 - Productores: sin obligación de volumen mínimo de ventas, ni existencia media mensual mínima, (figura de consumidores directos).
 - Plantas de abastecimiento con inscripción vigente.
 - Porcentaje de mezcla:
 - Diesel B2, Diesel B5, Diesel B20 y Biodiesel B100.
 - Cronograma de aplicación y uso de biodiésel:
 - 2007: Diesel B20 y Biodiesel B100 a consumidores directos. Diesel B2 en todo el país (voluntario).
 - 2009: Diesel B2 obligatorio en todo el país.
 - 2011: Diesel B5 obligatorio en todo el país.

D.S. 021-2007-EM (2007)

Reglamento para la Comercialización de Biocombustibles:

- Autoridades competentes:
 - MEM: Registros y autorizaciones para comercialización de biocombustibles y mezclas.
 - OSINERGMIN: Fiscalización de comercialización, transporte y calidad de biocombustibles y mezclas.
 - PRODUCE: Autorizaciones para instalación y funcionamiento de plantas de biocombustibles.
 - MINAG: Identificación y promoción de áreas disponibles con aptitud agrícola para biocombustibles

Subcomité de Normalización de Biocombustible:

- Creado en enero del 2007
- Liderado por INDECOPI; coordinado por PROINVERSIÓN; secretaria técnica del MEM.
- Participación de entidades del estado, empresas privadas, universidades, sociedad civil.
- Norma Técnica Peruana de Biodiesel (NTP 321.125) (aprobado en julio 2008).
- Norma Técnica Peruana de Etanol.

Marco Legal Internacional:

Las especificaciones para el biodiésel fueron implementadas alrededor del mundo, en EE.UU. se adoptó la norma ASTM D 6751, en Europa la EN 14214 y en Brasil la ANP N° 7/08, estos estándares surgieron del consenso de grupos relevantes que participaron en su elaboración como los fabricantes de vehículos, motores y equipos de inyección, refinadoras, productores de combustibles, representantes de gobiernos y usuarios de biocombustibles. La norma ASTM define al biodiésel como combustible compuesto de ésteres mono-alquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de aceites o grasas animales, esta norma es para el biodiésel que será utilizado para mezcla con diésel fósil en proporción de 20% o menos. En EE.UU. cualquier combustible utilizado para

mezcla deberá cumplir con la ASTM D 6751 previo a la mezcla. La norma europea EN 14214, establece especificaciones metílicos de ácidos grasos (FAME) para motores diesel. En contraste con la ASTM D 6751, el B100 que cumple con este estándar podría ser utilizado directamente en motor diesel (si el motor ha sido adaptado para operar con B100) o mezclado con diesel, para que cumpla con la norma EN 590, que es la especificación europea para diesel (Ganduglia et al., 2009).

2.2.13. Marco Conceptual

Lentejas de agua; Lentejas de agua o lentícula, lemna; género de plantas acuáticas, de la familia de las payadas cuyas hojas redondeadas en forma de lentejas, flotan en la superficie del agua. La lenteja de agua ha sido usada como emoliente (Nysten et al., 1848).

Lemna Gibba; O lenteja de agua es una planta acuática pequeña, de la familia de las aráceas (Lemna Gibba, 2019).

Taxonomía:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Alismatales
Familia	: Lemnáceas
Subfamilia	: Lemnoideae
Tribu	: Lemneae
Género	: Lemna
Especie	: Lemna gibba

Lípidos; No existe ninguna definición exacta del término lípido, en su sentido más amplio, “lípido” define sustancias como los aceites, las grasas y las ceras que se pueden caracterizar por una serie de propiedades (Teji3n Rivera et al., 1992).

Los lípidos suelen ser moléculas de elevado peso molecular, con un número relativamente alto de átomos de carbono, hidrógeno, bajo número de átomos de oxígeno y algunos de ellos contienen átomos de nitrógeno, fósforo o azufre (Nóva Vázquez, 2008).

Biodiésel; Es una mezcla relativamente simple de monoalquilésteres de ácidos grasos saturados e insaturados, con cantidades normalmente bajas de otros compuestos considerados como impurezas (Benjumea Hernández et al., 2009).

Hidróxido de Sodio; También conocido como sosa cáustica es un sólido blanco cristalino sin olor que absorbe humedad del aire (hidroscópico), es muy corrosivo considerado como base fuerte de uso común (Hidróxido de Sodio, 2019).

Metanol; Es el único alcohol que tiene tres hidrógenos en la base de su hidroxilo. Es un líquido incoloro, semejante en su olor y otras propiedades al alcohol etílico. Es tóxico (Metanol, 2019)

Metóxido; Son sales orgánicas, alcóxidos simples, también conocido como metilato de sodio, es peligroso porque involucra H_2 y grandes cantidades de calor (Metóxido, 2019)

Índice de acidez; Se expresa como el número de miligramos de hidróxido de sodio requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en 1g de grasa (Palomino Martínez, 2013).

Transesterificación; Los ésteres reaccionan con alcoholes con catálisis ácida o básica obteniéndose un nuevo éster sin necesidad de pasar por el ácido carboxílico libre. Esta reacción se denomina transesterificación (Ésteres, 2019).

Glicerol; También conocido como 1,2,3-propanotriol, al líquido incoloro y espeso que forma la base de la composición de los lípidos. Es un compuesto

alcohólico con tres grupos $-OH$ (hidróxilos). Compuesto Alcohólico, que forma parte de los Lípidos (Glicerol, 2019).

2.3. HIPÓTESIS

Hipótesis general

- Obtención de Biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) utilizando metanol e Hidróxido de Sodio.

Hipótesis específica

- Determinación del Índice de acidez del aceite crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).
- Determinación del proceso para la extracción de Biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).
- Parámetros adecuados de temperatura (T), tiempo (t) y agitación (rpm) para el proceso de extracción del Biodiesel de las Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

2.4. VARIABLES

Independiente: Lentejas de agua (*Lemna gibba*)

Dependiente: Biodiesel

Interviniente: Temperatura (T), tiempo (t) y agitación (rpm).

CAPITULO III.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio consistió inicialmente en el distrito de Moho, provincia de Moho y departamento de Puno ubicado entre la ribera del Lago Titicaca y frontera con Bolivia específicamente en la laguna de estabilización del sector Airisani, del cual se pudo recolectar muestra significativa de lentejas de agua (*Lemna gibba*) para realizar las pruebas correspondientes del presente trabajo de investigación.

La segunda etapa del desarrollo del presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Análisis de suelos y agua de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, ahí se hizo el secado y obtención de lípidos de las lentejas de agua (*Lemna gibba*).

La tercera etapa se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería Química que consistió en la obtención de biodiesel por transesterificación.

3.2. MATERIALES

a) Materiales de laboratorio

- Recipiente de plástico (bandeja)
- Mortero de porcelana
- Embudo de decantación de 500 mL
- Embudo de vidrio
- Papel filtro Whatman N° 42
- Bagueta o varillas de agitación
- Vasos precipitados 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Probetas 10, 50 y 100 mL
- Pipetas
- Tubo de ensayo
- Espátula

- Tamis para suelo N° 20

b) Equipos

- Horno de deshidratación
- Balanza analítica (METTLER TOLEDO)
- Soxhlet
- Rotavapor (BUCHI / R-3HB)
- Agitador magnético (HEIDOLPH)
- Centrífuga de Laboratorio

c) Reactivos e insumos

- Éter de petróleo
- Triclorometano (CHCl_3)
- Metanol (CH_3OH)
- Solución Cloruro de Sodio (NaCl)
- Agua destilada
- Solución Hidróxido de Sodio 0.1 N
- Etanol 98° GL
- Hidróxido de Sodio (NaOH)

3.3. MÉTODOS**3.3.1. Materia prima**

Las lentejas de agua (*Lemna gibba*) se recolectó de la laguna de estabilización de Airisani ubicado en el distrito, provincia de Moho y departamento de Puno.

- Selección y limpieza;** Se lavó las lentejas de agua (*Lemna gibba*) con bastante agua separando sólidos como pequeñas ramas, tapas de plástico y metálicos, pequeños residuos de plástico, entre otros.
- Secado;** Se secó la muestra en horno de deshidratación con recipientes de plástico (bandejas) y papel bond a 65°C por 24 horas, previamente pesados.
- Molienda;** Para aumentar la superficie de contacto con el solvente se molió la muestra seca en mortero de porcelana y se volvió a pesar.

3.3.2. Extracción de Lípidos

a) Método Soxhlet;

Se trabajó con muestras de aproximadamente 2g por cartucho, se introdujeron 3 cartuchos al sifón, a 40°C esto por la temperatura de ebullición del solvente siendo éter de petróleo el solvente utilizado, se esperó a las 8 sifonadas el tiempo aproximado fue de 3h, del cual se obtuvo lípidos totales.

$$G(\%) = \frac{m_1 - m_2}{M} * 100 \quad (2)$$

Donde:

m₁: masa en g del matraz de fondo redondo vacío

m₂: masa en g del matraz de fondo redondo con grasa tras el secado.

M : peso de la muestra en g.

b) Extracción metanol: triclorometano (2:1);

Se adecuó al método Bligh & Dyer para la extracción de lípidos, se optó por el presente método por la selección de ácidos grasos libres y triglicéridos óptimos para la producción de biodiesel. Para la cantidad de muestra y solvente a utilizar se tomó como referencia el trabajo de investigación de Salazar Pérez (2012) realizándose lo siguiente:

- Se pesó 50 g de muestra seca y molida de lentejas de agua (*Lemna gibba*).
- Se incubó por 24 h en metanol: triclorometano con proporciones de (2:1) es decir se utilizó 1L de triclorometano y 2L de metanol.
- Posterior a ello se filtró con papel filtro Whatman N° 42 obteniendo el extracto y la biomasa residual.
- A la biomasa residual se le agregó 500 mL de solución CHCl₃:CH₃OH (1:2), se agitó en vortex por espacio de un minuto y se centrifugó nuevamente recuperando el extracto.
- Al extracto se le añadió 500 mL de solución salina (NaCl) al 0.58%.
- Se agitó la muestra y se llevó a un embudo de decantación por 24h.

- Pasado las 24 horas hubo separación de fases, la fase superior acuosa que contiene lípidos polares, mezcla de agua, disolvente orgánico polar, proteínas, carbohidratos y sales, y la fase inferior que contiene solvente no polar y lípidos no polares.
- Luego se pasó a la recuperación de solventes con el rotavapor (BUCHI / R-3HB) pudiéndose recuperar triclorometano y metanol.
- Los lípidos no polares fueron centrifugados para una mejor separación de ceras, grasas y aceites.

c) Extracción metanol: triclorometano (1:2);

Se trabajó tomando los principios de Folch, se extrajo por el presente método por la selección de ácidos grasos libres y triglicérido óptimos para la producción de biodiesel, realizándose lo siguiente:

- Se pesó en fracciones de 130 g de muestra seca y molida de lentejas de agua (*Lemna gibba*).
- Se incubó por 24 h en metanol: triclorometano en proporciones (1:2) es decir se utilizó 0.5 L de metanol y 1 L de triclorometano.
- Posterior a ello se filtró con papel filtro Whatman N° 42 obteniendo el extracto y la biomasa residual.
- A la biomasa residual se agregó 500 mL de solución $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2), se agitó en vortex por espacio de un minuto y se centrifugó nuevamente recuperando el extracto.
- Al extracto se le añadió 100 ul de solución salina (NaCl) al 0.9 % por cada 1000 ul de extracto, esto de acuerdo al trabajo de investigación de Cobos Ruiz et. al, (2014).
- Se agitó la muestra y se llevó a un embudo de decantación por 24 h.
- Pasado las 24 horas hubo separación de fases, la fase superior acuosa que contiene lípidos polares, mezcla de agua, disolvente orgánico polar, proteínas, carbohidratos y sales, en cuanto la parte inferior, que contiene solvente no polar y lípidos no polares.
- Luego se pasó a la recuperación de solventes con el rotavapor (BUCHI / R-3HB) pudiéndose recuperar triclorometano y metanol.

- Los lípidos no polares fueron centrifugados para una mejor separación de ceras, grasas y aceites.
- Posterior a ello el aceite se neutralizó con hidróxido de sodio (NaOH).

3.3.3. Obtención de biodiesel

- Se realizó la valoración del aceite para hallar el índice de acidez, el análisis se hizo con etanol 98°GL, Hidróxido de Sodio 0.1 N y fenolftaleína como indicador.
- Seguidamente se preparó metóxido sódico (CH_3ONa), para ello se midió metanol (CH_3OH) 20% (v/v) con relación a la cantidad de muestra y se calculó la cantidad de hidróxido de sodio (NaOH) tomando como referencia el curso teórico – práctico de Calle et al., (2019), así se tiene la siguiente ecuación:

$$3.5 \text{ g} + IA * L \text{ Mta} \quad (3)$$

Donde:

IA : Índice de acidez

L Mta : Litros de muestra

- Se calentó previamente el aceite con agitación.
- Se mezcló el aceite y el metóxido sódico (CH_3ONa).
- Luego de ello se colocó en un embudo de decantación para la separación de la fase, la fase superior de biodiesel y la fase inferior de 1,2,3-propanotriol (glicerina).
- Finalmente se hizo un lavado con agua para eliminar posibles jabones y otras impurezas presentes en la reacción.

Diagramas de flujo

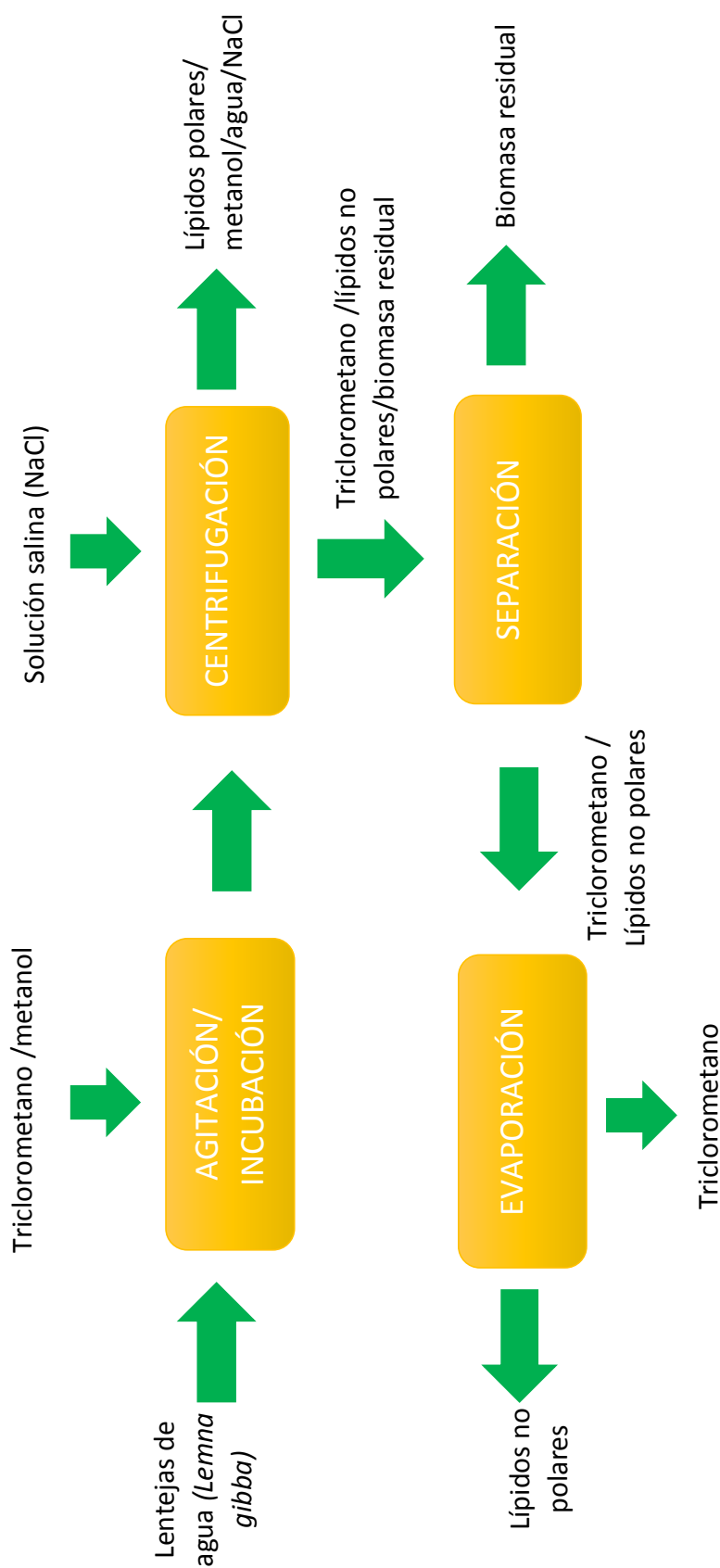


Figura 5. Extracción de lípidos adaptado al método Folch.

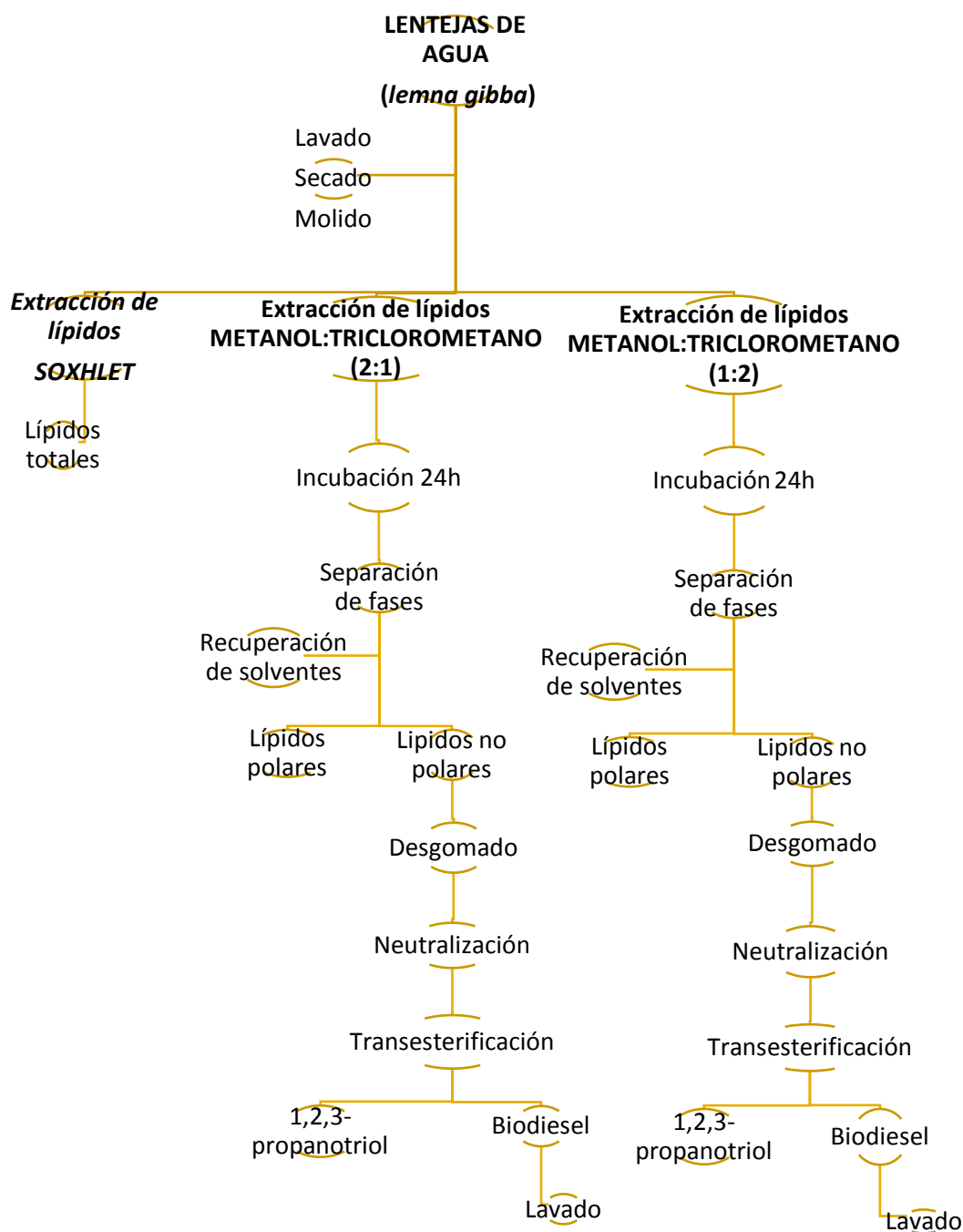


Figura 6. Proceso de Obtención de Biodiesel a partir de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

CAPITULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SECADO DE MUESTRA

El secado de la muestra se hizo en recipientes de plástico (bandejas) y papel bond en grupos de cuatro.

Tara bandeja = 0.165 kg

Tara papel bond = 0.005 kg

Tabla 7

Secado de muestra

Número de muestra	Peso de muestra húmeda + Tara (kg)	Peso de muestra seca + Tara (kg)	Tara	Peso de muestra seca (Kg)
E1	0.180	0.020	0.005	0.015
E2	0.450	0.185	0.165	0.020
E3	0.455	0.185	0.165	0.020
E4	0.140	0.015	0.005	0.010
E5	0.180	0.020	0.005	0.015
E6	0.450	0.185	0.165	0.020
E7	0.450	0.185	0.165	0.020
E8	0.180	0.020	0.005	0.015
E9	0.175	0.020	0.005	0.015
E10	0.455	0.185	0.165	0.020
E11	0.165	0.015	0.005	0.010
E12	0.160	0.015	0.005	0.010
E13	0.180	0.020	0.005	0.015
E14	0.455	0.185	0.165	0.020
E15	0.500	0.185	0.165	0.020
E16	0.155	0.015	0.005	0.010
E17	0.450	0.185	0.165	0.020
E18	0.450	0.185	0.165	0.020
E19	0.455	0.185	0.165	0.020
E20	0.165	0.015	0.005	0.010
E21	0.455	0.185	0.165	0.020
E22	0.450	0.185	0.165	0.020
E23	0.175	0.020	0.005	0.015
E24	0.170	0.015	0.005	0.010
E25	0.455	0.185	0.165	0.020
E26	0.450	0.185	0.165	0.020
E27	0.450	0.185	0.165	0.020
E28	0.180	0.020	0.005	0.015
E29	0.180	0.020	0.005	0.015
E30	0.450	0.185	0.165	0.020
E31	0.165	0.015	0.005	0.010
E32	0.175	0.020	0.005	0.015
E33	0.455	0.180	0.165	0.015

Número de muestra	Peso de muestra húmeda + Tara (kg)	Peso de muestra seca + Tara (kg)	Tara	Peso de muestra seca (Kg)
E34	0.180	0.020	0.005	0.015
E35	0.455	0.185	0.165	0.020
E36	0.165	0.015	0.005	0.010
E37	0.180	0.020	0.005	0.015
E38	0.450	0.185	0.165	0.020
E39	0.175	0.020	0.005	0.015
E40	0.180	0.020	0.005	0.015
E41	0.450	0.185	0.165	0.020
E42	0.175	0.020	0.005	0.015
E43	0.455	0.185	0.165	0.020
E44	0.455	0.185	0.165	0.020
E45	0.180	0.020	0.005	0.015
E46	0.455	0.185	0.165	0.020
E47	0.450	0.185	0.165	0.020
E48	0.455	0.185	0.165	0.020
E49	0.455	0.185	0.165	0.020
E50	0.450	0.185	0.165	0.020
E51	0.160	0.015	0.005	0.010
E52	0.450	0.185	0.165	0.020
E53	0.180	0.020	0.005	0.015
E54	0.165	0.015	0.005	0.010
E55	0.450	0.185	0.165	0.020
E56	0.165	0.015	0.005	0.010
E57	0.180	0.020	0.005	0.015
E58	0.180	0.020	0.005	0.015
E59	0.160	0.015	0.005	0.010
E60	0.455	0.185	0.165	0.020
E61	0.455	0.185	0.165	0.020
E62	0.175	0.020	0.005	0.015
E63	0.450	0.185	0.165	0.020
E64	0.180	0.020	0.005	0.015
E65	0.180	0.020	0.005	0.015
E66	0.165	0.015	0.005	0.010
E67	0.455	0.185	0.165	0.020
E68	0.175	0.020	0.005	0.015
E69	0.455	0.185	0.165	0.020
E70	0.455	0.185	0.165	0.020
E71	0.165	0.015	0.005	0.010
E72	0.455	0.185	0.165	0.020
E73	0.180	0.020	0.005	0.015
E74	0.455	0.185	0.165	0.020
E75	0.450	0.185	0.165	0.020
E76	0.160	0.015	0.005	0.010
E77	0.455	0.185	0.165	0.020
E78	0.180	0.020	0.005	0.015

Número de muestra	Peso de muestra húmeda + Tara (kg)	Peso de muestra seca + Tara (kg)	Tara	Peso de muestra seca (Kg)
E79	0.175	0.020	0.005	0.015
E80	0.165	0.015	0.005	0.010
E81	0.455	0.185	0.165	0.020
E82	0.450	0.185	0.165	0.020
E83	0.450	0.185	0.165	0.020
E84	0.180	0.020	0.005	0.015
E85	0.175	0.020	0.005	0.015
E86	0.170	0.015	0.005	0.010
E87	0.165	0.015	0.005	0.010
E88	0.455	0.185	0.165	0.020
E89	0.455	0.185	0.165	0.020
E90	0.180	0.020	0.005	0.015
E91	0.455	0.185	0.165	0.020
E92	0.450	0.185	0.165	0.020
E93	0.450	0.185	0.165	0.020
E94	0.450	0.185	0.165	0.020
E95	0.160	0.015	0.005	0.010
E96	0.170	0.015	0.005	0.010
E97	0.165	0.015	0.005	0.010
E98	0.455	0.185	0.165	0.020
E99	0.165	0.015	0.005	0.010
E100	0.450	0.185	0.165	0.020
E101	0.175	0.020	0.005	0.015
E102	0.160	0.015	0.005	0.010
E103	0.165	0.015	0.005	0.010
E104	0.160	0.015	0.005	0.010
E105	0.170	0.015	0.005	0.010
E106	0.165	0.015	0.005	0.010
TOTAL				1.700

Fuente: Elaboración propia.

En total se hizo secar 23.725 kg de lentejas de agua (*Lemna gibba*) resultando aproximadamente 1.700 kg de muestra seca de lentejas de agua (*Lemna gibba*).

Porcentaje de Humedad:

$$\%H = \frac{Wh - Ws}{Wh} * 100 \tag{4}$$

Donde:

Wh: Peso de muestra húmeda

Ws: Peso de muestra seca

$$\%H = \frac{23.725 \text{ kg} - 1.700 \text{ Kg}}{23.725 \text{ kg}} * 100$$

$$\%H = 92.83$$

El contenido de humedad de las Lentejas de agua (*Lemna gibba*) es del 92.83%.

Chávez (2004) en su trabajo de pregrado, de tres muestras de Lentejas de Agua tomadas en (San José, terminal terrestre y malecón) del Lago Titicaca obtiene la materia volátil después de secarlo de forma artesanal durante una semana, de 10Kg de Lentejas de agua húmeda obtiene aproximadamente 1Kg de Lentejas de agua seca, de los resultados indica que la volatilización de materia prima en el malecón y terminal fue mayor debido a la eutrofización por ende mayor materia orgánica, esto explica el porcentaje de humedad obtenido en el presente trabajo de investigación puesto que la muestra proviene de la Laguna de estabilización de Airisani – Moho, además, el secado se realizó en estufa a 65°C por 24h.

4.2. MOLIENDA DE MUESTRA SECA

Se molió la muestra seca de lentejas de agua (*Lemna gibba*) en mortero de porcelana, se trabajó con tamis serie Tyler malla N° 100 resultando lo siguiente:

Tabla 8

Molienda de muestra

Muestra sin moler	Muestra molida	Pérdidas
1.700 Kg	1.652 Kg	0.048 Kg

Fuente: Elaboración propia

Al momento de la molienda hubo pérdidas en peso por pequeños restos de residuos como ramas, plásticos y arena no detectados al momento del lavado y pérdidas propias de la molienda.

Densidad aparente:

- Peso probeta = 151.178 g
- Peso probeta + muestra = 172.400 g
- Volumen = 100 mL

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (5)$$

Donde:

ρ : Densidad

m : Masa

V : Volumen

$$\rho = \frac{21.222 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{0.021222 \text{ kg}}{0.0001 \text{ m}^3}$$

$$\rho = 212 \text{ kg/m}^3$$

La densidad aparente nos ayudó a tener en cuenta el volumen de materia prima con el que se trabajaría.

4.3. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS POR EL MÉTODO SOXHLET

En total se prepararon 54 cartuchos con muestras de 2 g aproximadamente cada uno.

Tabla 9

Contenido de lípidos totales

Número de muestra	Peso de muestra (g)	Peso matraz lípidos (g)	Peso matraz vacío (g)	Lípidos totales (%)
M1	2.007			
M2	2.002			
M3	2.013			
M4	2.022			
M5	2.051	107.712	106.245	6.07
M6	2.002			
M7	2.015			
M8	2.041			
M9	2.003			
M10	2.005			
M11	2.002			
M12	2.007			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10
Contenido de lípidos totales

Número de muestra	Peso de muestra (g)	Peso matraz lípidos (g)	Peso matraz vacío (g)	Lípidos totales (%)
M13	2.071			
M14	2.037			
M15	2.028			
M16	2.009	106.950	106.245	5.80
M17	2.002			
M18	2.008			

Fuente: Elaboración propia

Tabla 11
Contenido de lípidos totales

Número de muestra	Peso de muestra (g)	Peso matraz lípidos (g)	Peso matraz vacío (g)	Lípidos totales (%)
M19	2.015			
M20	2.064			
M21	2.058			
M22	2.003			
M23	2.005			
M24	2.005	107.632	106.245	5.69
M25	2.048			
M26	2.026			
M27	2.022			
M28	2.061			
M29	2.052			
M30	2.001			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 12
Contenido de lípidos totales

Número de muestra	Peso de muestra (g)	Peso matraz lípidos (g)	Peso matraz vacío (g)	Lípidos totales (%)
M31	2.003			
M32	2.006			
M33	2.004			
M34	2.006			
M35	2.051			
M36	2.066	107.655	106.245	5.80
M37	2.001			
M38	2.004			
M39	2.065			
M40	2.015			
M41	2.033			
M42	2.045			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 13
Contenido de lípidos totales

Número de muestra	Peso de muestra (g)	Peso matraz lípidos (g)	Peso matraz vacío (g)	Lípidos totales (%)
M43	2.041			
M44	2.022			
M45	2.065			
M46	2.041			
M47	2.033			
M48	2.022	107.700	106.245	5.94
M49	2.001			
M50	2.054			
M51	2.062			
M52	2.015			
M53	2.052			
M54	2.077			

Fuente: Elaboración propia.

El promedio del porcentaje de lípidos totales es de 5.86 %. La materia prima seca de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) que se requirió fue de 109.469 g obteniendo aproximadamente 6 mL de lípidos totales, sin embargo, no fueron aptos para la obtención de biodiesel por la presencia de ceras y clorofila.

Por otro lado Tavera Aragón (2014) indica que las Lentejas de Agua (*Lemna gibba*) del Lago Titicaca Puno – Perú, contiene 3.9% de grasas. En cambio Vera Rodriguez (2016) en su trabajo de investigación describe la composición química de las Lentejas de Agua (*Lemna minor*) con un contenido de lípidos de 5.58 % destinado al tratamiento de aguas residuales, este último resultado se acomoda más al nuestro, esto puede deberse a que tienen en común el medio de crecimiento.

4.4. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS CON TRICLOROMETANO: METANOL (1:2)

La extracción de lípidos se realizó mediante la adaptación al método Bligh & Dyer.

Tabla 14
Resultados de la extracción de lípidos

Cantidad de muestra seca (g)	Lípidos polares (g)	Ceras (g)	Lípidos (g)
50	-----	0.650	1

Fuente: Elaboración propia.

De 50 g de muestra seca de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) se obtuvo aproximadamente 1.8 mL (3.30 %) de lípidos no polares.

Posterior a ello se recuperó los solventes triclorometano 800 mL y metanol 1000 mL en Rotavapor (BUCHI / R-3HB).

Cabe mencionar que al momento de la recuperación de los solventes en el Rotavapor (BUCHI / R-3HB) se obtuvo jabón por la presencia de los lípidos polares, alcohol y sales.

Los resultados obtenidos no fueron los esperados como el trabajo de investigación de Salazar Pérez (2012) del que se tomó como referencia el procedimiento.

4.5. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS CON TRICLOROMETANO: METANOL (2:1)

La extracción de lípidos se realizó tomando los principios de Folch.

Tabla 15
Resultados de la extracción de lípidos

N° de muestra	Cantidad de Muestra seca (g)	Lípidos polares (g)	Ceras (g)	Lípidos (g)
1	130	--	1.652	4.60
2	135	--	1.656	4.63
3	135	--	1.656	4.63
4	130	--	1.652	4.60
5	130	--	1.652	4.60
6	135	--	1.656	4.63
7	130	--	1.652	4.60
8	130	--	1.652	4.60
9	135	--	1.656	4.63
10	130	--	1.652	4.60
TOTAL	1 320	--	16.536	46.12

Fuente: Elaboración propia.

De 1.320 kg de muestra seca de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) se obtuvo aproximadamente 65 mL (4.70 %) de lípidos no polares. Se obtuvo lípidos polares, sin embargo, no se pudo cuantificar, porque al extraer el solvente y agua quedaron sales cristalizados mezclados con los lípidos polares.

Los resultados fueron mejores en comparación al método anterior (adaptación al método Bligh & Dyer), la cantidad de lípidos no polares obtenidos fue mayor, la diferencia entre ambos métodos consistió en la cantidad de triclorometano y además se trabajó con distintas bibliografías para el cálculo de la solución salina (NaCl), las concentraciones y la cantidad utilizadas fueron: Para el primer método se trabajó una concentración de 0.58% de NaCl y el segundo método con 0.9% de NaCl, para el primer método la cantidad de solución salina se calculó en relación a la cantidad de solvente utilizado mientras que para el segundo método la cantidad de solución salina se calculó con relación al extracto obtenido.

Separación de ceras:

Gracias a la adecuación del método Folch con la adición de solución salina (NaCl) se pudo separar las ceras de los lípidos no polares en el rotavapor a 65° C y 400 rpm.

Finalmente se recuperó el solvente triclorometano con ayuda del Rotavapor (BUCHI / R-3HB).

Neutralización del aceite:

La neutralización se realizó con NaOH.

1. Se halló la acidez del aceite expresado en gramos de ácido oleico/100 g de muestra.

$$\%Acidez (Ac. oleico) = \frac{V(ml) * N(NaOH)meq/ml * 0.282mg/meq - g}{Peso muestra (g)} * 100 \quad (6)$$

Donde:

V : Volumen

N (NaOH): Normalidad del Hidróxido de Sodio

$$\%Acidez (Ac. oleico) = \frac{2 * 0.1 * 0.282}{0.8016} * 100$$

$$\%Acidez (Ac. oleico) = 7.036$$

2. De acuerdo a Barreto F. (2012) el porcentaje de NaOH necesario será:

$$\%NaOH = \%FFA * 0.142 \quad (7)$$

Donde:

%NaOH : Porcentaje de Hidróxido de Sodio

FFA : Son ácidos grasos libres expresado en términos de ácido oleico.

$$\%NaOH = 7.036 * 0.142$$

$$\%NaOH = 0.999$$

3. La neutralización se efectuó a 60°C y con agitación constante de 150 rpm por un tiempo de 30 min aproximadamente.
4. Al aceite neutralizado se mezcló 10% (v/v) de agua blanda a una temperatura de 85°C para evitar emulsiones.
5. La separación del agua y aceite se efectuó por centrifugación.

4.6. OBTENCIÓN DE BIODIESEL

4.6.1. Obtención de Biodiesel de Lentejas de Agua (*Lemna gibba*)

Para la obtención de biodiesel se calculó el índice de acidez del aceite neutralizado, para ello se utilizó 2.0410 g de aceite, se mezcló con etanol 98° GL neutralizado, finalmente se tituló con NaOH de 0.1N.

Índice de acidez:

Vol. de gasto : 0.37

N : 0.1

Peso de muestra : 2.0410 g

$$IA = \frac{V * N * 56.1}{g \text{ de muestra}} \quad (8)$$

Donde:

IA: Índice de acidez

V: Volumen de titulante gastado (mL)

N: Normalidad NaOH

$$IA = \frac{0.37 * 0.1 * 56.1}{2.0410}$$

$$IA = 1.0170$$

Transestrificación:

- Se trabajó con 2 mL de aceite, en peso 1.8562 g
- Metanol 20% (v/v) con relación a la cantidad de muestra.

$$2 \text{ mL} \text{ ----- } 100\%$$

$$X \text{ ----- } 20\%$$

$$X = 0.4 \text{ mL de metanol}$$

- Para la cantidad del catalizador se trabajó con un exceso de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$NaOH = 3.5g + IA * L Mta. \quad (9)$$

Donde:

NaOH : Hidróxido de sodio
IA : Índice de acidez
L Mta. : Litros de muestra

$$NaOH = 3.5g + 1.0170 * 0.002L$$

$$NaOH = 0.009034g$$

4.6.2. Determinación de los parámetros de temperatura (T), tiempo (t) y agitación (rpm) adecuados para la obtención de Biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

Para la determinación de los parámetros óptimos de la obtención de Biodiesel crudo se trabajó con el diseño experimental central compuesto: $2^3 +$ estrella, considerando variables independientes: Temperatura (X_1), agitación (X_2) y tiempo (X_3) y como variable de respuesta biodiesel crudo (Y). Este es un diseño factorial con puntos centrales, ampliado con un grupo de puntos axiales (también denominados puntos de estrella), total de ejecuciones 16.

A partir de la evaluación de las variables influyentes se tomaron las siguientes consideraciones: Temperatura 50-60 (°C), agitación 500-600 (rpm) y tiempo 15-25 (min).

Determinación de los parámetros y rangos:

Tabla 16

Niveles de las variables independientes a estudiar

Símbolo	Variables independientes	Niveles		
		-1	0	+1
X_1	Temperatura (T)	46.59	55	63.41
X_2	Agitación (rpm)	465.91	550	634.09
X_3	Tiempo (t)	11.59	20	28.41

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

La variable de respuesta o de salida es la que depende de las variables independientes, detallada a continuación.

Tabla 17

Variable respuesta

Símbolo	Variable dependiente	Unidad
Y	Biodiesel crudo	mL

Fuente: Elaboración propia.

El biodiesel crudo obtenido es en la mayoría de los casos proporcional al aceite, es decir, por cada 1 mL de aceite se obtiene 1 mL de biodiesel crudo.

Los resultados de las 16 ejecuciones se detallan a continuación:

Tabla 18

Resultados de determinación de las variables por superficie de respuesta

N° de pruebas	X₁ Temperatura (°C)	X₂ Agitación (rpm)	X₃ Tiempo (min)	Punto de Inflamación (°C)	Y Biodiesel crudo (mL)	Rendimiento de Biodiesel obtenido (%)
1	55.000	634.09	20.0	120	1.85	92.5
2	60.000	600.0	15.0	115	1.65	82.5
3	55.000	550.0	28.4	125	1.90	95.0
4	55.000	550.0	20.0	125	1.90	95.0
5	46.591	550.0	20.0	95	0.85	42.5
6	50.000	600.0	15.0	105	1.30	65.0
7	60.000	500.0	25.0	120	1.85	92.5
8	55.000	465.91	20.0	120	1.85	92.5
9	60.000	500.0	15.0	117	1.65	82.5
10	63.409	550.0	20.0	120	1.85	92.5
11	50.000	500.0	15.0	105	1.35	67.5
12	50.000	600.0	25.0	110	1.50	75.0
13	50.000	500.0	25.0	115	1.60	80.0
14	55.000	550.0	20.0	125	1.90	95.0
15	60.000	600.0	25.0	120	1.85	92.5
16	55.000	550.0	11.6	102	1.20	60.0

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 18. Se puede observar la interacción de las variables independientes obteniendo mejores resultados con Temperatura 55°C, agitación

550 rpm y tiempo mayor a 20 min en función a la cantidad de biodiesel crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

De acuerdo a nuestros antecedentes el rendimiento de biodiesel obtenido por Mollenido Mamani (2017) en su trabajo de investigación de pregrado, fue del 70 a 80%, en cambio Calle et al. (2019) el rendimiento del biodiesel en el Curso Teórico - Práctico seguido en la Universidad Nacional Agraria la Molina fue de 88.6%, 90% y 97.11%, para Medina Villadiego et al. (2015) el rendimiento que obtuvo fue superior al 90% y finalmente Arbeláez Marín & Rivera Quiroz (2007) el rendimiento de biodiesel que obtiene es de 84.14%, en el presente trabajo de investigación nuestros resultados tienen más relación con los obtenidos en el curso teórico – práctico de la UNALM puesto que se siguió el mismo procedimiento.

En cuanto a Torres Rivero et al., (2017) indica que para la obtención de biodiesel un parámetro importante es que la temperatura sea continua sin fluctuaciones o variaciones y para Alfonso Alvarez (2013) de la misma manera indica que a medida que aumenta la temperatura el rendimiento de biodiesel es mayor y que con estas condiciones a 60°C se tiene un mayor rendimiento, se concuerda con ambos puesto que a menor temperatura hay menor reacción, además, la coloración del biodiesel es más oscura por ende mayor tiempo de decantación y mayor cantidad de agua para el lavado.

Tejada Tovar et al. (2013) reporta resultados para biodiesel de grasa de pollo de 70.5% y grasa de cerdo del 90%, para el biodiesel de grasa de res el resultado fue la solidificación del producto siendo desfavorable según reporta Vivas (2010), ya que la norma (ASTM D4052) exige que se debe medir a 15°C, temperatura a la cual el metil éster se solidifica, en cuanto al resultado obtenido en el presente trabajo de investigación el aceite y por ende el biodiesel no se solidificó, considerando las condiciones climáticas del departamento de Puno.

Análisis del diseño experimental de obtención de Biodiesel crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*)

El análisis del diseño experimental se realizó empleando el paquete estadístico Software STATIGRAPHICS CENTURION XVII.II

Tabla 19
Resumen del diseño de experimentos

Clase del diseño	Superficie de respuesta
La clase del diseño	Diseño central compuesto: 2 ³ +estrella
Nombre del archivo	Biodiesel crudo

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

Tabla 20
Efectos estimados para Biodiesel crudo (mL)

Efecto	Estimado	Error Estd.*	V.I.F.
Promedio	1.97789	0.104197	
A:Temperatura	0.387747	0.0799829	1.0
B:Agitación	-0.0219669	0.0799829	1.0
C:Tiempo	0.316588	0.0799829	1.0
AA	-0.452972	0.0971111	1.33237
AB	0.0375	0.104503	1.0
AC	-0.0125	0.104503	1.0
BB	-0.117099	0.0971111	1.33237
BC	-0.0125	0.104503	1.0
CC	-0.26559	0.0971111	1.33237

Errores estándar basados en el error total con 6 g.l.

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

En la tabla 20. Se observa los efectos estimados de las variables en forma individual y las interacciones entre ellas, las variables que tienen el signo positivo son las que tienen mayor efecto en este caso es la temperatura seguido del tiempo, la variable de menor efecto es la agitación que tiene el signo negativo. Para mejor entendimiento se tiene el siguiente gráfico.

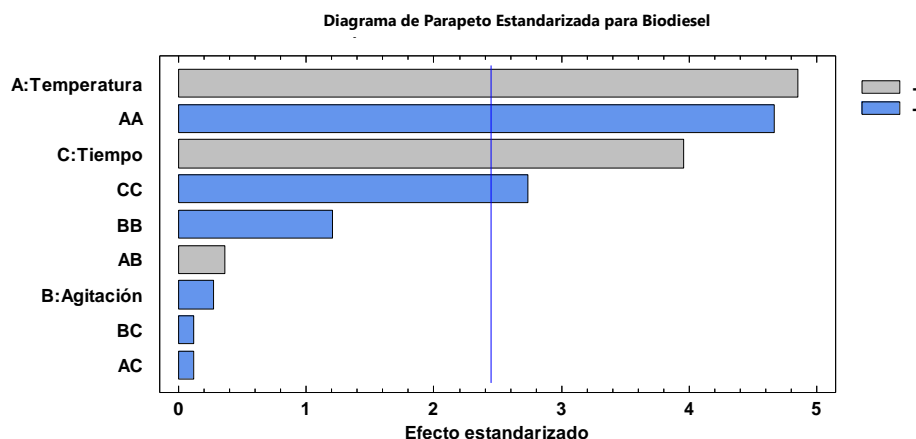


Figura 7. Efectos estimados

También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1.33237. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores serían igual a 1.

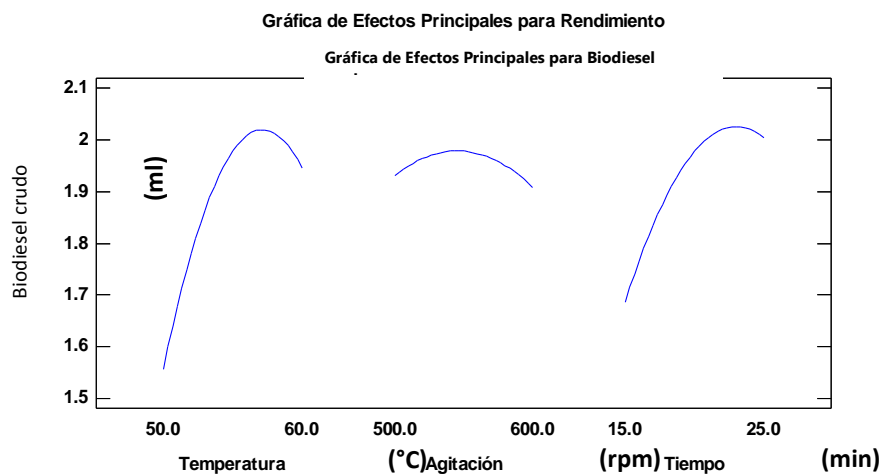


Figura 8. Gráfica de los efectos principales

En la figura 8. Se presenta la obtención de biodiesel crudo frente a los efectos principales de las variables independientes, en él se observa que la variable más significativa es la temperatura seguido del tiempo y agitación, las cuales se describen a continuación de forma individual.

La agitación tiene un comportamiento cuadrático sobre la obtención de biodiesel crudo con pendiente negativa eso quiere decir que al disminuir la agitación de 635 – 550 rpm aumenta en mayor proporción la obtención de

biodiesel crudo hasta un 2.06518 mL, sin embargo, al aumentar la agitación 550-635 rpm el biodiesel crudo disminuye puesto que hace que el metanol se evapore.

El tiempo tiene comportamiento cuadrático sobre la obtención de biodiesel crudo, con pendiente positiva eso indica que al aumentar el tiempo de 12-23 min, la cantidad de biodiesel incrementa hasta un 2.06518 mL. Conforme se emplea más tiempo 23-28 min, la obtención de biodiesel crudo se mantiene constante y tiende a bajar ligeramente.

La temperatura tiene comportamiento cuadrático sobre la obtención de Biodiesel crudo, con pendiente positiva eso indica que al aumentar la temperatura de 47 – 57 °C la obtención de biodiesel crudo incrementa de 0.82 mL hasta 2.06518 mL. A valores superiores de temperatura 57-63 °C la cantidad de biodiesel crudo tiende a ser contante y bajar ligeramente a 1.85 mL por la evaporación de metanol.

Tabla 21
Análisis de Varianza para Biodiesel crudo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	0.513321	1	0.513321	23.50	0.0029
B:Agitación	0.00164752	1	0.00164752	0.08	0.7928
C:Tiempo	0.3422	1	0.3422	15.67	0.0075
AA	0.475217	1	0.475217	21.76	0.0035
AB	0.0028125	1	0.0028125	0.13	0.7320
AC	0.0003125	1	0.0003125	0.01	0.9087
BB	0.0317583	1	0.0317583	1.45	0.2733
BC	0.0003125	1	0.0003125	0.01	0.9087
CC	0.163371	1	0.163371	7.48	0.0340
Error total	0.13105	6	0.0218417		
Total (corr.)	1.51098	15			

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

R-cuadrada = 91.3268 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 78.3169 porciento

Error estándar del est. = 0.147789

Error absoluto medio = 0.0694905

Estadístico Durbin-Watson = 1.82006 (P=0.2592)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0.0191839

El StatAdvisor

La tabla 21. ANOVA particiona la variabilidad de Biodiesel crudo en piezas separadas para cada uno de los efectos. entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 91.3268% de la variabilidad en Biodiesel crudo. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 78.3169%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.147789. El error medio absoluto (MAE) de 0.0694905 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 22
Coeficiente de regresión del modelo ajustado

Coeficiente	Estimado
Constante	-35.5624
A:Temperatura	0.999063
B:Agitación	0.0219171
C:Tiempo	0.271631
AA	-0.00905944
AB	0.000075
AC	-0.00025
BB	-0.0000234198
BC	-0.000025
CC	-0.00531181

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

A continuación, se muestra la ecuación del modelo ajustado que presenta a la variable respuesta con los coeficientes de regresión de la Tabla 22.

$$\begin{aligned} \text{Biodiesel crudo (mL)} = & - 35.5624 + 0.999063 * \text{Temperatura} + 0.0219171 * \\ & \text{Agitación} + 0.271631 * \text{Tiempo} - 0.00905944 * \text{Temperatura}^2 + 0.000075 * \\ & \text{Temperatura} * \text{Agitación} - 0.00025 * \text{Temperatura} * \text{Tiempo} - 0.0000234198 * \\ & \text{Agitación}^2 - 0.000025 * \text{Agitación} * \text{Tiempo} - 0.00531181 * \text{Tiempo}^2 \end{aligned}$$

Se observa que la ecuación está representada en sus variables naturales.

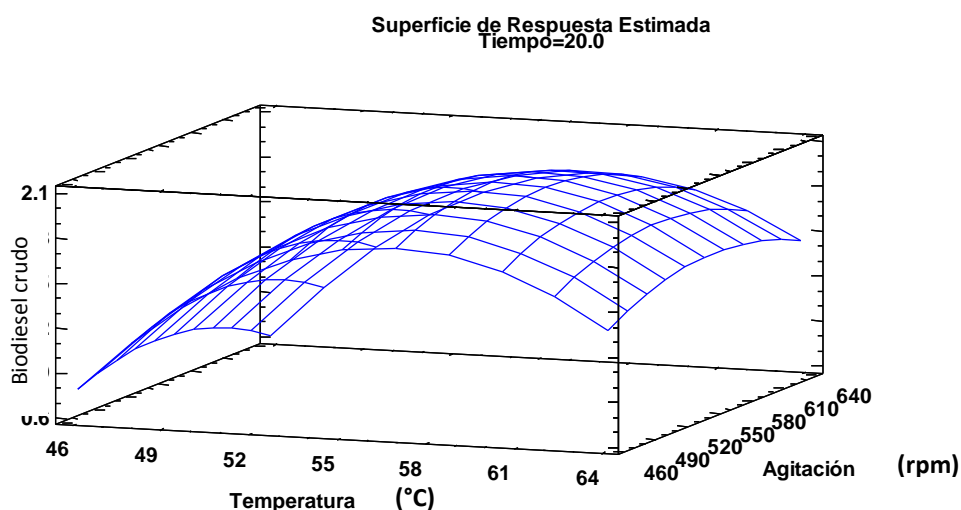


Figura 9. Superficie de respuesta estimada

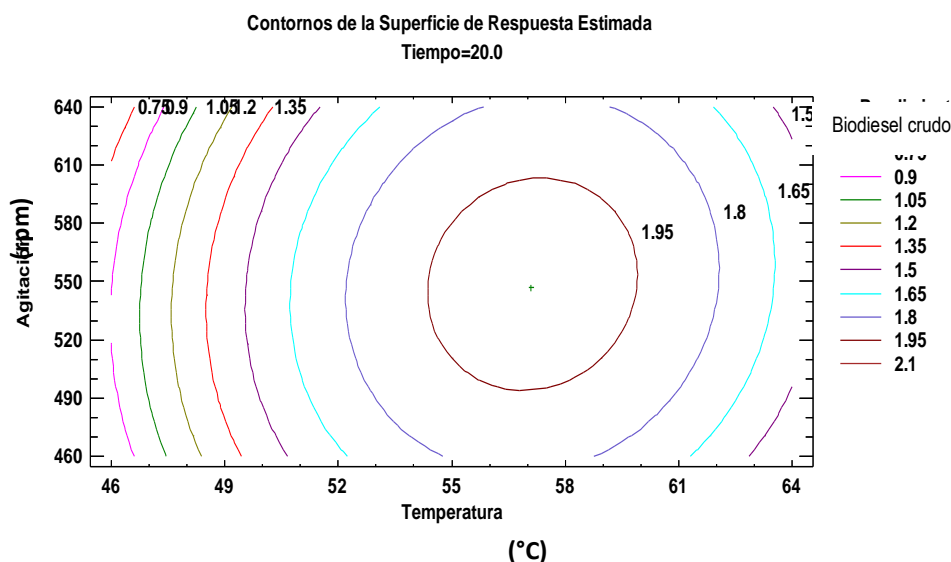


Figura 10. Superficie de respuesta estimada.

En la Figura N° 10 y 11. Se presentan la gráfica de superficie de respuesta estimada en forma tridimensional, la cual indica que se alcanza la mayor obtención de biodiesel crudo cuando se disminuye la agitación hasta 550 rpm a una temperatura de 57 °C hasta un tiempo definido de 23 min.

Respuesta optimizada:

Meta: Maximizar la obtención de Biodiesel crudo.

Valor óptimo = 2.06518 MI

Tabla 23

Variables óptimas

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura (T)	46.591	63.409	57
Agitación (rpm)	465.910	634.090	547
Tiempo (t)	11.591	28.409	23

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

En la tabla 23. Muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza la obtención de biodiesel crudo. Los parámetros óptimos del proceso de obtención son: Temperatura 57 °C, Agitación 547 rpm y tiempo de 23 min, para obtener 2.06518 mL de biodiesel crudo.

Al realizar la optimización de nuestros parámetros nos dan la obtención de 2.06518 mL de biodiesel crudo siendo mayor a la cantidad de materia prima

ingresada, este resultado se debe a que el biodiesel después de la reacción de transesterificación contiene jabón, 1,2,3-propanotriol (glicerina), trazas de Hidróxido de Sodio y metanol.

Rendimiento de 1,2,3-propanotriol (glicerina):

Rendimiento de 1,2,3-propanotriol (glicerina) respecto al aceite.

$$W_{1,2,3\text{-propanotriol}} = 0.3240 \text{ g}$$

$$W_{\text{aceite}} = 1.8562 \text{ g}$$

$$\%R = \frac{W_{1,2,3\text{-propanotriol}}}{W_{\text{aceite}}} * 100 \quad (10)$$

Donde:

W 1,2,3-propanotriol : Peso de 1,2,3-propanotriol

W aceite : Peso del aceite

$$\%R = \frac{0.3240}{1.5262} * 100$$

$$R = 17.45 \%$$

Lavado del Biodiesel crudo:

Se lavó con agua blanda al 20% (v/v) respecto al biodiesel crudo, en total se realizaron tres (03) lavados.

Balance de materia:

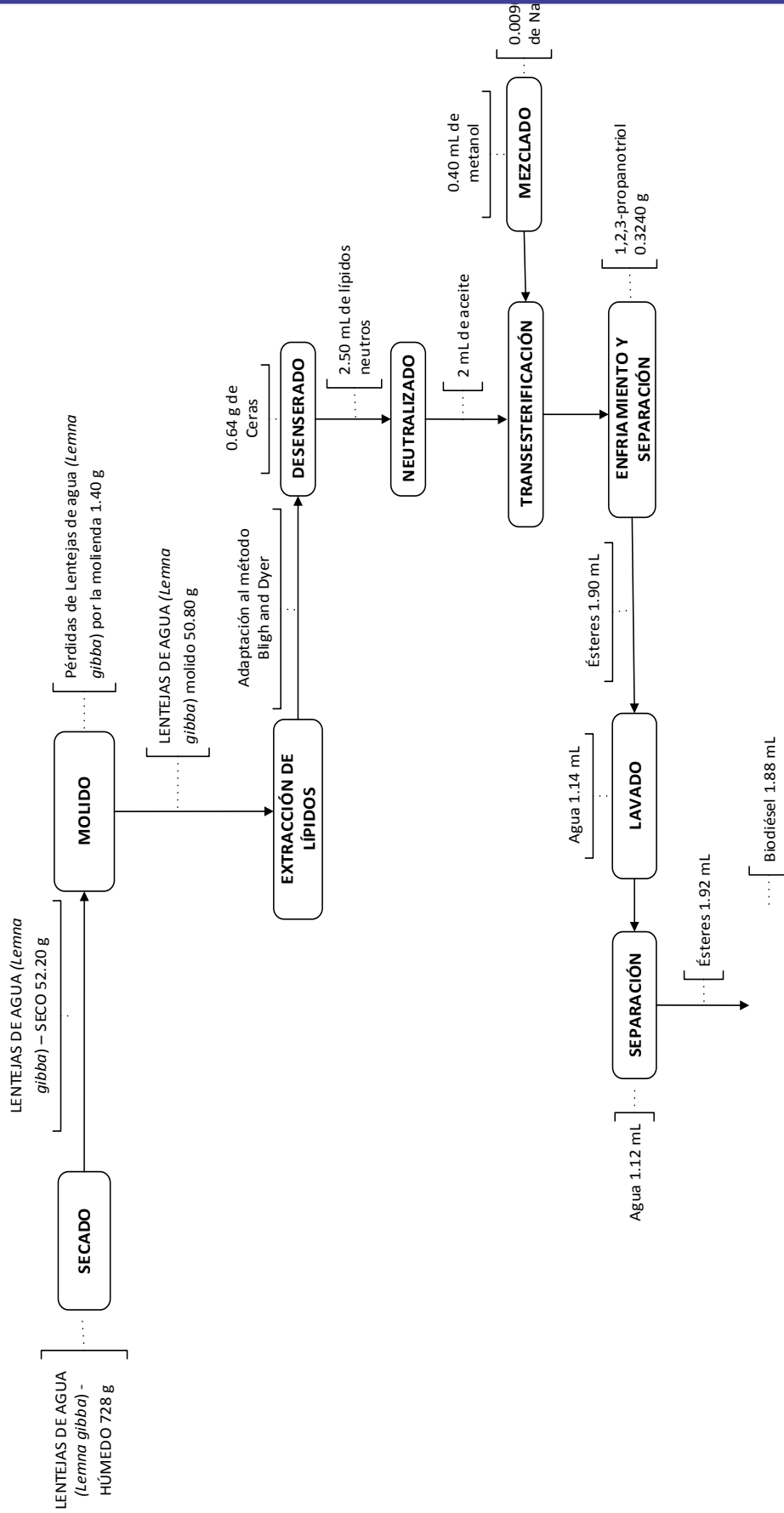


Figura 11. Proceso de producción de Biodiesel crudo.

CONCLUSIONES

De 728 g de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) húmeda se obtuvo 1.88 mL de biodiesel con un punto de inflamación de 125°C. El biodiesel no se solidificó a temperatura ambiente.

El mejor método para la obtención de lípidos fue por la adecuación al método Folch con triclorometano:metanol en proporciones (1:2). Del aceite crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) se determinó el índice de acidez que representa los ácidos grasos libres presentes en el aceite, el resultado se expresó en porcentaje de ácido oleico resultando 7%.

El rendimiento de la obtención de Biodiesel crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) fue del 95%.

Para la reacción de transesterificación se evaluó las variables más influyentes como temperatura, tiempo y agitación. Para 2 mL de aceite de lentejas de agua (*Lemna gibba*) con la ayuda del diseño experimental central compuesto: $2^3 +$ estrella se pudo determinar los parámetros óptimos los cuales son: Temperatura 57 °C, agitación 547 rpm y tiempo 23 min para obtener 2.06518 mL de biodiesel crudo.

RECOMENDACIONES

Optimizar el proceso de obtención de aceite de lentejas de agua (*Lemna gibba*), siendo el solvente con más pérdidas el metanol.

Optimizar el proceso de lavado del biodiesel crudo, puesto que el residuo es agua con impurezas como 1,2,3-propanotriol (glicerina), jabones, entre otros lo que hace un difícil manejo para su disposición final.

Analizar los sub productos obtenidos en las pruebas como el jabón y ceras, esto con el fin de reaprovechar los residuos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso Alvarez, J. (Junio de 2013). Obtención de biodiesel a partir de aceites usados en casa habitación de la comunidad del Refugio. Tesis Posgrado, Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S. C. 78. Chihuahua, México.
- Arbeláez Marín, Á., & Rivera Quiroz, M. (2007). Diseño conceptual de un proceso para la obtención de Biodiesel a partir de algunos Aceites Vegetales Colombianos. Tesis Grado, Universidad EAFIT, Ingeniería Química. Medellín, Colombia.
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos. Cuarta edición*. México: Pearson Educación.
- Barreto F., G. (Marzo de 2012). Determinación del método óptimo para la medicina del contenido del aceite de girasol blanqueado y desencerado. Universidad de Carabobo. Venezuela.
- Benjumea Hernández, N., Agudelo Santamaría, J., & Rios, L. (2009). *Biodiésel: Producción, calidad y caracterización*. Antioquía: Editorial Universidad de Antioquía.
- Calle, J., Césare, M., Toledo Santander, F., Acosta, F., & Navarro, R. (24, 25 de Agosto de 2019). Curso Teórico - Práctico: "Producción de biodiesel a partir de aceite vegetal usado". Curso Teórico - Práctico, Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Canales Gutierrez, Á. (2010). "Evaluación de la biomasa y manejo de *lemna gibba* (lenteja de agua) en la bahía interior del lago Titicaca, Puno. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima Perú. *Ecología Aplicada Vol. 9 Nro. 2*.
- Cardona Alzate, C., & Orrego Alzate, C. (Junio de 2009). Avances Investigativos en la producción de Biocombustibles. Primera Edición. Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Caldas, Colombia: Gráficas Tizan.
- Castro, P., Coello, J., & Castillo, L. (2007). *Opciones para la producción y uso del biodiésel en el Perú. Primera Edición*. Lima: Soluciones Prácticas-ITDG.
- Chávez, P. (2004). Obtención de carbón activado por el método de activación química a partir de lentejas de agua (*lemna ssp*) de la bahía interior del

- lago Titicaca – Puno. Tesis Grado, Universidad Nacional del Altiplano, Ingeniería Química. Puno, Perú.
- Cobos Ruiz, M., Castro Gómez, J., & Cerdeira Gutierrez, L. (2014). Potencial biotecnológico para la producción sustentable de biodiesel de microalgas oleaginosas aisladas del Río Itaya, Loreto, Perú. *Ecología Aplicada*, Vol.13, Nro. 2.
- De Juana Sardón, J. (2003). *Energías Renovables para el Desarrollo*. Madrid: Editorial Paraninfo.
- Decreto Supremo N° 021-2007-EM. (20 de Abril de 2007). Diario Oficial el Peruano. Lima, Perú.
- Decreto Supremo N° 013-2005-EM. (31 de Marzo de 2005). Diario Oficial el Peruano. Lima, Perú.
- Decreto Supremo N° 021-2007-EM. Art. 9. (20 de Abril de 2007). Diario Oficial el Peruano. Lima, Lima.
- Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta . (14 de Setiembre de 2006). *Statgraphics*.
- Ésteres. (13 de Agosto de 2019). Obtenido de EcuRed. Consultado 15:50, Noviembre 12, 2019: <https://www.ecured.cu/%C3%89steres>
- Fernando. (06 de junio de 2019). *Energías renovables: qué son, tipos, ventajas y desventajas*. Obtenido de Erenovable.com: <https://erenovable.com/energias-renovables/>
- Ganduglia, F., León, J., Gasparini, R., Rodríguez, M., Huarte, G., Estrada, J., & Filgueiras, E. (Octubre de 2009). *Manual de biocombustibles*. Arpel.
- Glicerol. (13 de Agosto de 2019). Obtenido de EcuRed. Consultado 16:00, Noviembre 12, 2019: <https://www.ecured.cu/Glicerol>
- González, A., Kafarov, V., & Guzmán Monsalve, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *Prospectiva*, Vol. 7, Nro. 2.
- Hidróxido de Sodio. (14 de Agosto de 2019). Obtenido de EcuRed. Consultado el 15:21, noviembre 12, 2019. : https://www.ecured.cu/index.php?title=Especial:Citar&page=Hidr%C3%B3xido_de_Sodio&id=3503937
- Jarauta, L. (2014). *Las Energías Renovables*. Barcelona: Editorial UOC.

- Laura Pisarello, M. (2010). Producción de biodiesel: equilibrio fisicoquímico y cinética de esterificación y transesterificación con diferentes catalizadores y alcoholes. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Litoral, Ingeniería Química.
- Lemna Gibba*. (6 de Setiembre de 2019). Obtenido de Wikipedia. Consultado 14:20, noviembre 12, 2019: https://es.wikipedia.org/wiki/Lemna_gibba
- LEY N° 28054. (8 de Agosto de 2003). Diario Oficial el Peruano. Lima, Perú.
- Lombana Coy, J., Vega Jurado, J., Herrera Velásquez, S., & Britton Acevedo, E. (2015). *Análisis del sector biodiésel en Colombia y su cadena de suministro*. Colombia: Universidad del Norte.
- Medina Villadiego, M., Ospiro Roa, Y., & Tejada Benítez, L. (Junio de 2015). Esterificación y Transesterificación de aceites residuales para obtener Biodiesel. Universidad de Caldas, Colombia. *Luna Azul*.
- Metanol*. (13 de Agosto de 2019). Obtenido de EcuRed. Consultado 15:30, Noviembre 12, 2019: <https://www.ecured.cu/index.php?title=Metanol&action=info>
- Metóxido*. (2 de Julio de 2019). Obtenido de Wikipedia. Consultado el 15:40, Noviembre 12, 2019: <https://es.wikipedia.org/wiki/Met%C3%B3xido>
- Mollenido Mamani, P. (2017). Reaprovechamiento de aceites usados en pollerías para la producción de Biodiesel – Juliaca. Tesis Grado, Universidad Nacional de Altiplano, Ingeniería Química. Puno, Perú.
- Montesinos Córdova, J., De la Cruz Sandoval, R., Llerena Pratólongo, M., & Bancayan Navarro, C. (Julio de 2017). Reporte Semestral de Monitoreo del Mercado de Hidrocarburos. Primer Semestre del 2017 Año 6 – N° 10 – Julio de 2017. *Gerencia de Políticas y Análisis Económico, Osinergmin - Perú*. Perú. Obtenido de Organismo Supervisor de la Inversión en Energía y Minería – Osinergmin:
- Morales, J. (9 de Abril de 2017). *Extracción y separación de lípidos terpenicos carotenos*. Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/luis92702689/lipidos-extraccion>
- Nóva Vázquez, S. (2008). *Metabolismo lipídico, ácidos grasos en el cultivo larvario de almeja babosa, Venerupis pullastra (Montagu, 1803). "Calidad ovocitaria, larvaria y nutricional con una aproximación al uso de la microencapsulación lipídica"*. Universidad Santiago de Compostela

- Nysten, P., Bricheteau, O. Henry, J. Briand, & L. Jourdan . (1848). *Diccionario de Medicina, Cirujía, Farmacia, Medicina Legal, Física, Química, Botánica, Minerología, Zoología y Veterinaria*. Barcelona, España: Imprenta de J. Roger.
- Ortiz Rodríguez, D., & Márquez Linares, F. (Octubre de 2014). Producción de Biodiesel a partir de Aceites Vegetales. Universidad del Turabo. Grupo de Investigación de Nanomateriales, Escuela de Ciencia y Tecnología. Gurabo, República Dominicana. *ResearchGater*.
- Palomino Martínez , A. (2013). Extracción de aceite de microalgas. Título Postgrado, Universidad del Valle, Ingeniería Química. Santiago de Cali, Colombia.
- Philippi, R. (1869). *Elementos de Botánica*. Chile: Imprenta Nacional.
- Rodríguez Gonzales, A., De la Cruz Sandoval, R., & Coello Jaramillo, F. J. (Marzo de 2018). Reporte Semestral de Monitoreo del Mercado de Hidrocarburos. Segundo Semestre del 2017. Año 7 – N° 11 – Marzo de 2018. *Gerencia de Políticas y Análisis Económico, Osinergmin - Perú*. Perú.
- Sadava, D., & Purves, W. (2009). *Vida: La ciencia de la biología. 8tava Edición*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Salazar Pérez, L. (29 de Marzo de 2012). Evaluación de Métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de Biodiesel. Tesis Grado, Universidad de Piura, Ingeniería Industrial y de Sistemas. Piura, Perú.
- Salomon Izquierdo, S., Bermello Crespo, A., Márquez Conde, T., López Hernández, O., González Sanabia, M., & Llópiz Yurell, J. (2013). Extracción asistida por microondas de lípidos de las semillas de Cucurbita pepo L. (calabaza). *Revistas de Plantas Medicinales. Vol.18, Nro.1*.
- Santana Brum, A., Ferraz de Arruda, L., & Bismara Regitano-d´Arce, M. (2009). Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. *Química Nova*.
- Tamayo Pacheco, J., Jácome, J., Vásquez Cordano, A., & De la Cruz Sandoval, R. (2015). La industria de los hidrocarburos líquidos en el Perú: 20 años de aporte al desarrollo del país. Osinergmin. Lima, Perú.
- Tavera Aragón, M. (Junio de 2014). *La lenteja de agua: dos caras de un mismo problema*. Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez. Obtenido de

monografias.com: <https://www.monografias.com/trabajos101/lenteja-agua-dos-caras-mismo-problema/lenteja-agua-dos-caras-mismo-problema.shtml>

- Tejada Tovar, C., Tejada Benítez, L., Villabona Ortiz, Á., & Monroy Rodríguez, L. (2013). Obtención de biodiesel a partir de diferentes tipos de grasa residual de origen animal. Universidad de Caldas, Colombia. *Luna Azul*.
- Tejión Rivera, J., Blanco Gaitán, M., Agrasal Aragón, C., Olmo López, R., Tejión López, C., & Castel Segui, B. (1992). *Bioquímica Estructural Conceptos y Tests*. Editorial Tébar.
- Torres Rivero, L., Ben Youseff, C., Alcocer T., B., & De la Rosa G., D. (2017). Efecto de la temperatura y del tiempo de reacción sobre la esterificación y la transesterificación de aceites comestibles usados. Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Cancún. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*.
- Velásquez, G. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable*. Antioquia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Vera Rodriguez, E. (2016). Eficacia de la fitorremediación de las aguas residuales del dren 2210 utilizando lenteja de agua (*Lemna minor*). Tesis Grado, Universidad César Vallejo, Ingeniería Ambiental. Chiclayo, Perú.

ANEXOS

ANEXO A

Diseño experimental de superficie de respuesta. Diseño de central compuesto: 2^3 + estrella

Se trabajó con el diseño experimental de superficie de respuesta. Diseño central compuesto: 2^3 + estrella, como variables independientes: Temperatura (X_1), agitación (X_2) y tiempo (X_3) y variable de respuesta, biodiesel crudo (Y). Este es un diseño factorial con puntos centrales, ampliado con un grupo de puntos axiales (también denominados puntos de estrella), usados para modelar la curvatura con respecto a cada factor, total de ejecuciones dieciséis (16).

Determinación de los parámetros y rangos:

Las variables independientes establecidas para el presente trabajo de investigación fueron:

Tabla 24

Niveles de las variables independientes a estudiar

Símbolo	Variables independientes	Niveles		
		-1	0	+1
X1	Temperatura (T)	46.591	55	63.409
X2	Agitación (rpm)	465.910	550	634.090
X3	Tiempo (t)	11.591	20	28.409

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

La variable respuesta o de salida dependiente de las variables independientes es el siguiente:

Tabla 25

Variable respuesta

Símbolo	Variable dependiente	Unidad
Y	Biodiesel crudo	mL

Fuente: Statgraphics Centurion XVII.II

Diseño Central Compuesto:

Un tipo popular de experimento para optimización, empieza con un diseño factorial estándar a dos niveles y agrega dos corridas adicionales para cada factor. Las corridas adicionales, llamadas puntos estrella, son localizadas en distancias pequeñas abajo del nivel bajo de un factor y a la misma distancia arriba del nivel alto, esto permite la estimación de la curvatura con respecto a ese factor. Mientras cada factor se empieza variándose, los otros factores son fijados en sus valores centrales (Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta , 2006).

Para el presente trabajo de investigación se consideró el diseño factorial 2^3 mostrado abajo:

Tabla 26
Diseño factorial

Corrida	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Fuente: Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta (2006)

El diseño es expresado en unidades estándar donde -1 representa el nivel bajo del factor y +1 representa el nivel alto. Los puntos estrella adicionales son localizados en:

Tabla 27

Localización de puntos estrella

Corrida	X1	X2	X3
9	$-\alpha$	0	0
10	α	0	0
11	0	$-\alpha$	0
12	0	α	0
13	0	0	$-\alpha$
14	0	0	A
8	1	1	1

Fuente: Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta , (2006)

Donde α , la distancia axial, es ≥ 1 . Determinando α igual a valores específicos, las propiedades deseables pueden alcanzarse. Por lo menos un punto al centro también se debe agregar al diseño.

- Características del Diseño: Especifica las propiedades del diseño, en el presente trabajo de investigación se realizó con lo siguiente:

Rotable: Que coloca los puntos estrella en una distancia haciendo que la varianza de la respuesta predicha sea la misma para todos los puntos lo cual es la misma distancia del centro del diseño (en unidades estándar). Esto es intuitivamente razonable, puesto que el experimentador típicamente no conoce cuál es la dirección probable de la localización del punto óptimo (Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta , 2006).

La Rotabilidad es alcanzada fijando la distancia axial en:

$$\alpha = \sqrt[4]{F} \quad (11)$$

Donde:

α : Distancia axial

F: Número de corridas en la porción de factorial del diseño (no contando los puntos al centro). Para una factorial 2^3 , los puntos estrellas son colocados en $\alpha = 1.68179$.

- Puntos al Centro (Número): El número de puntos al centro que serán adicionados en el diseño base, los cuales son corridas experimentales adicionales localizadas en un punto medio entre el nivel bajo y alto de todos los factores. Cada punto central adicional agrega un grado de libertad para estimar el error experimental. El número de puntos centrales en el presente trabajo de investigación fueron 6.
- Réplica del Diseño: Si otro número distinto de 0 es ingresado, el diseño entero deberá repetirse el número de veces indicado. En el presente trabajo de investigación no se realizó con réplica.
- Aleatorización: Activar esta caja para aleatorizar el orden de las corridas en el experimento. Aleatorizar generalmente es una buena idea, puesto que reduce el efecto de variables ocultas como tendencias sobre el tiempo. Sin embargo, cuando replicamos los ejemplos en esta documentación, no se aleatorizan las corridas en el diseño. El presente experimento fue de forma aleatoria.

Para nuestro trabajo de investigación se realizó un diseño central rotatable con 2 puntos al centro. Este rindió un total de 16 corridas. El diseño consistió:

- Corridas 1-8: Una factorial 2^3
- Corridas 9-14: Los puntos estrella.
- Corridas 15-16: Los puntos al centro replicados.

Cuando STATGRAPHICS determina el diseño, los niveles de los puntos estrella son colocados en la distancia exacta para alcanzar la Rotabilidad.

Estos niveles pueden redondearse a mano para tener valores más razonables cambiándolo directamente en la base de datos (Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta , 2006).

Modelo Estadístico:

El modelo estadístico en el que se basa el análisis del diseño de superficie de respuesta expresa la variable respuesta Y como una función lineal de los factores experimentales, interacciones entre los factores, términos cuadráticos y término del error. Existen dos tipos de modelos que generalmente se estiman, pero el modelo utilizado en el presente trabajo de investigación fue:

Modelo de Segundo Orden: Contiene términos que representan efectos principales, interacciones de segundo orden, y efectos cuadráticos.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \varepsilon \quad (12)$$

El error experimental ε se asume que fue aleatorio y que proviene de una distribución normal con media 0 y desviación estándar igual a σ (Diseño de Experimentos – Diseño de Superficie de Respuesta , 2006).

ANEXO B

**CERTIFICADO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LENTEJAS DE
AGUA (*Lemna gibba*) DE LA LAGUNA DE ESTABILIZACIÓN
AIRISANI – MOHO**


Universidad Nacional del Altiplano - Puno
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
FACULTAD ACREDITADA
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD



Nº 001060

LQ - 2019

Certificado de Análisis

ASUNTO : Análisis Físico Químico de: LENTEJA DE AGUA
PROCEDENCIA : LENTEJA DE AGUA (LEMMA GIBBA) DE LA LAGUNA DE ESTABILIZACIÓN DE AIRISANI- MOHO - PUNO
INTERESADO : GABI VANEZA PARY HILARI
MOTIVO : CONTROL DE CALIDAD
MUESTREO : 18/10/2019, por el interesado
ANÁLISIS : 18/10/2019
COD. MUESTRA : B009-000176

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:

ASPECTO : Solido
COLOR : Verde
OLOR : Característico
CONSISTENCIA : Blanda

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

pH : 6.50
Nitrógeno : 0.038 %
Proteína : 0.242 %
Grasa : 6.094 %
Ceniza : 10.195 %

Puno, C.U. 27 de noviembre del 2019.

VºBº



Edith Tello Paima
DECANA
FACULTAD ING. QUÍMICA
UNA - PUNO

ING. LUZ MARINA TEVES PONCE
ANALISTA DE LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD
FIG - UNA - CIP - 182953

Ciudad Universitaria Av. Floral s/n Facultad de Ing. Química - Telefax: (051) 366190

ANEXO C

PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 12. Toma de muestra de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) de la laguna de estabilización Airisani – Moho.



Figura 13. Secado de las Lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 14. Molido de la muestra seca de lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 15. Densidad aparente de las lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 16. Pesado de muestra para la obtención de Lípidos por el método Soxhlet.



Figura 17. Extracción de lípidos por el método Soxhlet.

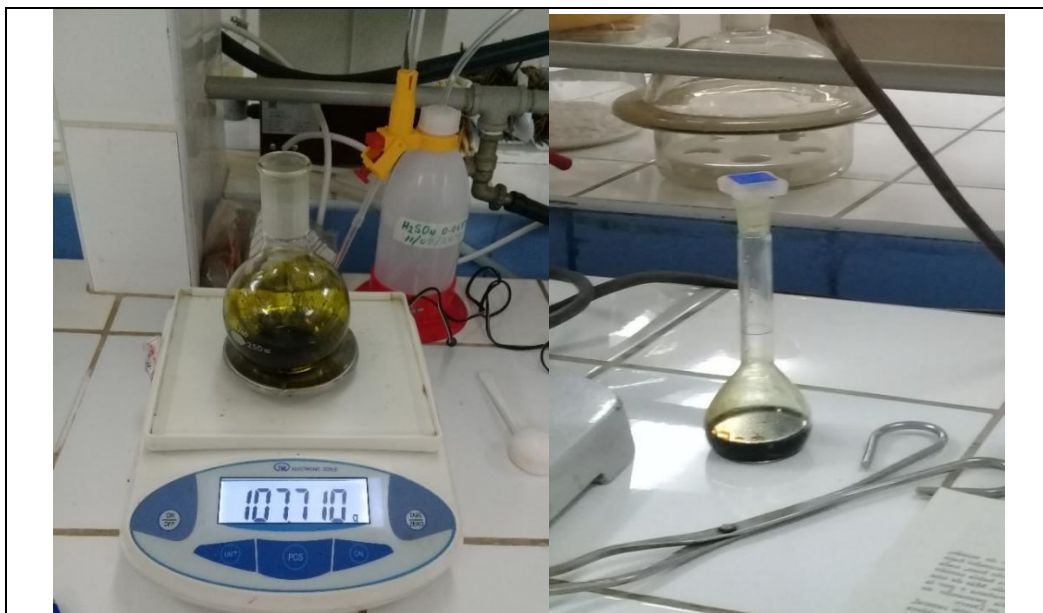


Figura 18. Lípidos totales de lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 19. Separación de lípidos polares y lípidos no polares por la adecuación al método Bligh & Dyer.



Figura 20. Medición del extracto después de la incubación por 24 h de Lentejas de agua (*Lemna gibba*) en metanol: triclorometano (1:2) para añadir la solución salina.



Figura 21. Separación de lípidos no polares y lípidos polares gracias a la adecuación del método Folch.



Figura 22. Colocación del extracto de lípidos no polares al rotavapor (BUCHI / R-3HB) para la recuperación del solvente.

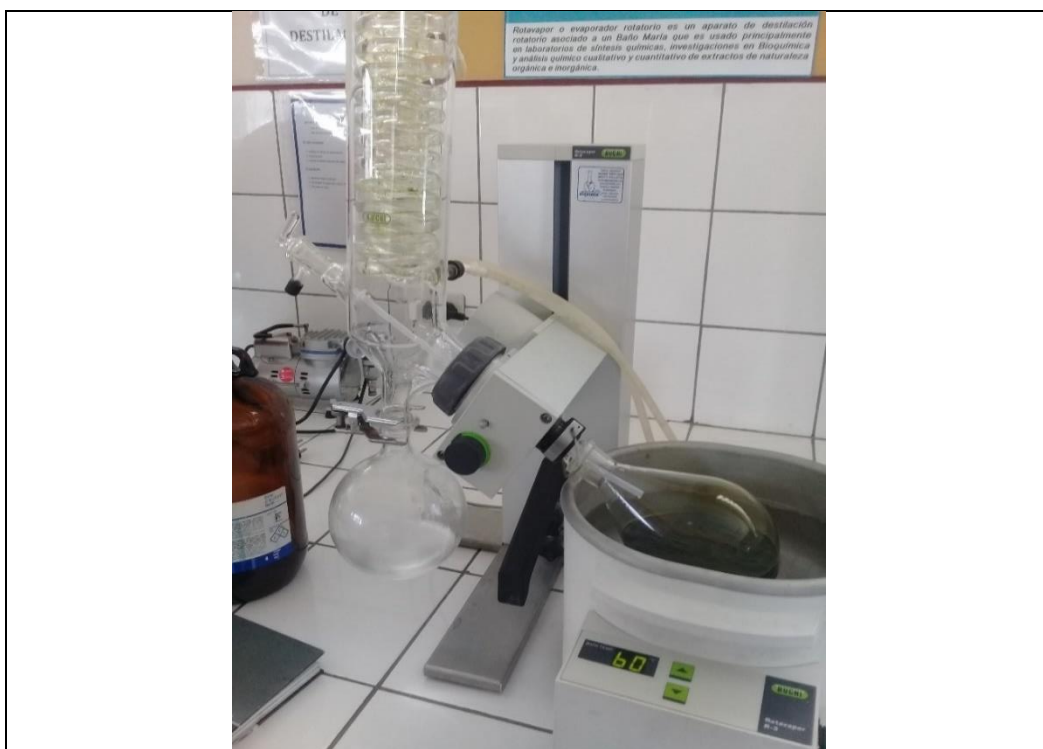


Figura 23. Recuperación de solventes triclorometano.

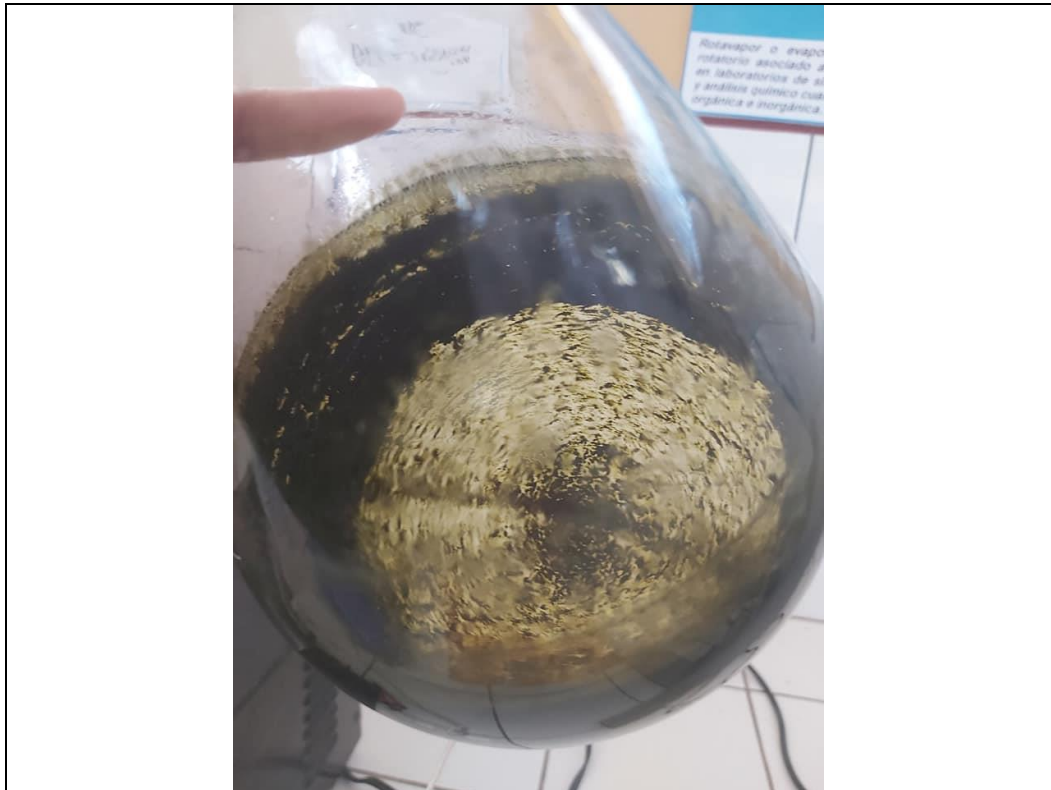


Figura 24. Desgomado de los lípidos no polares.

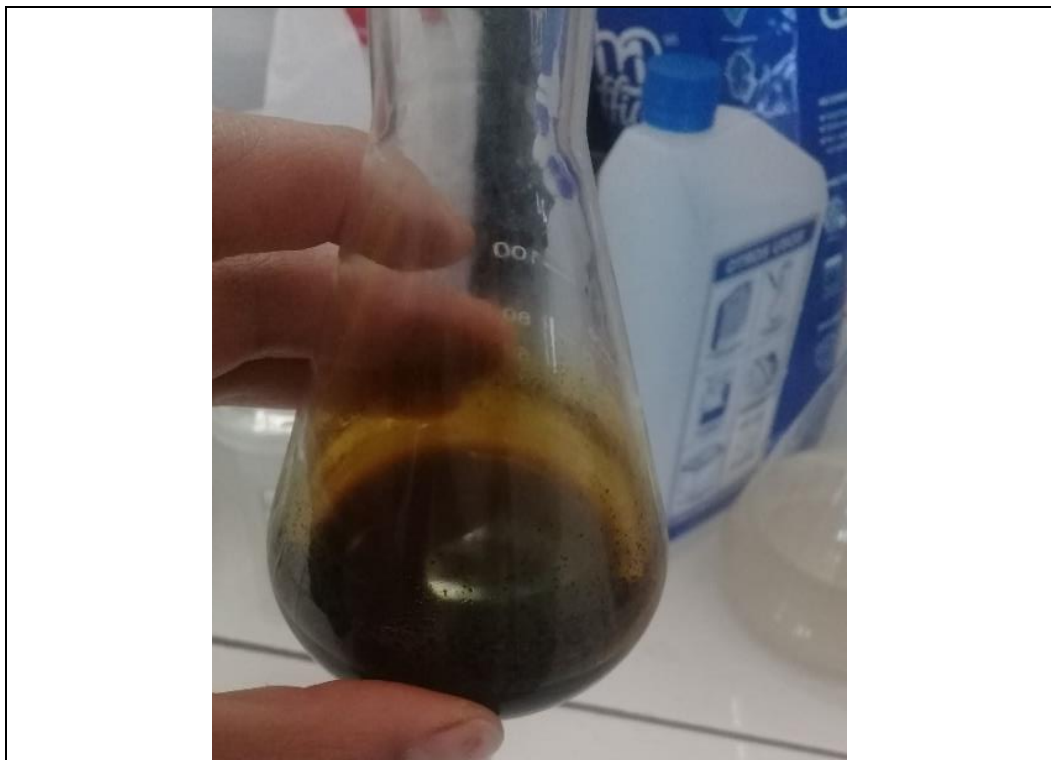


Figura 25. Lípidos no polares.

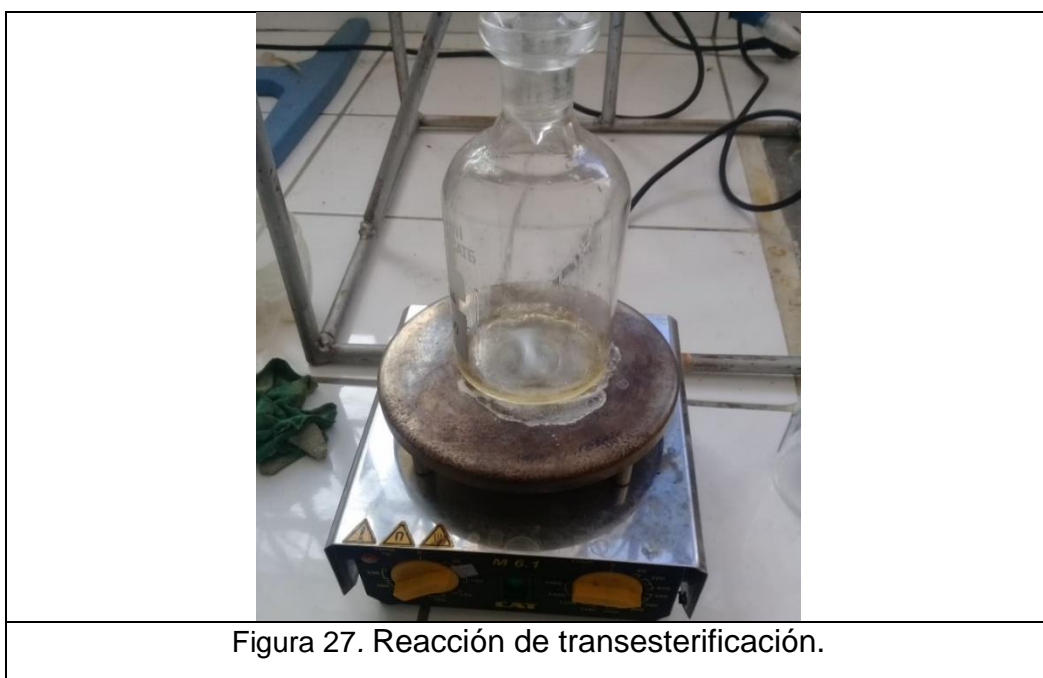
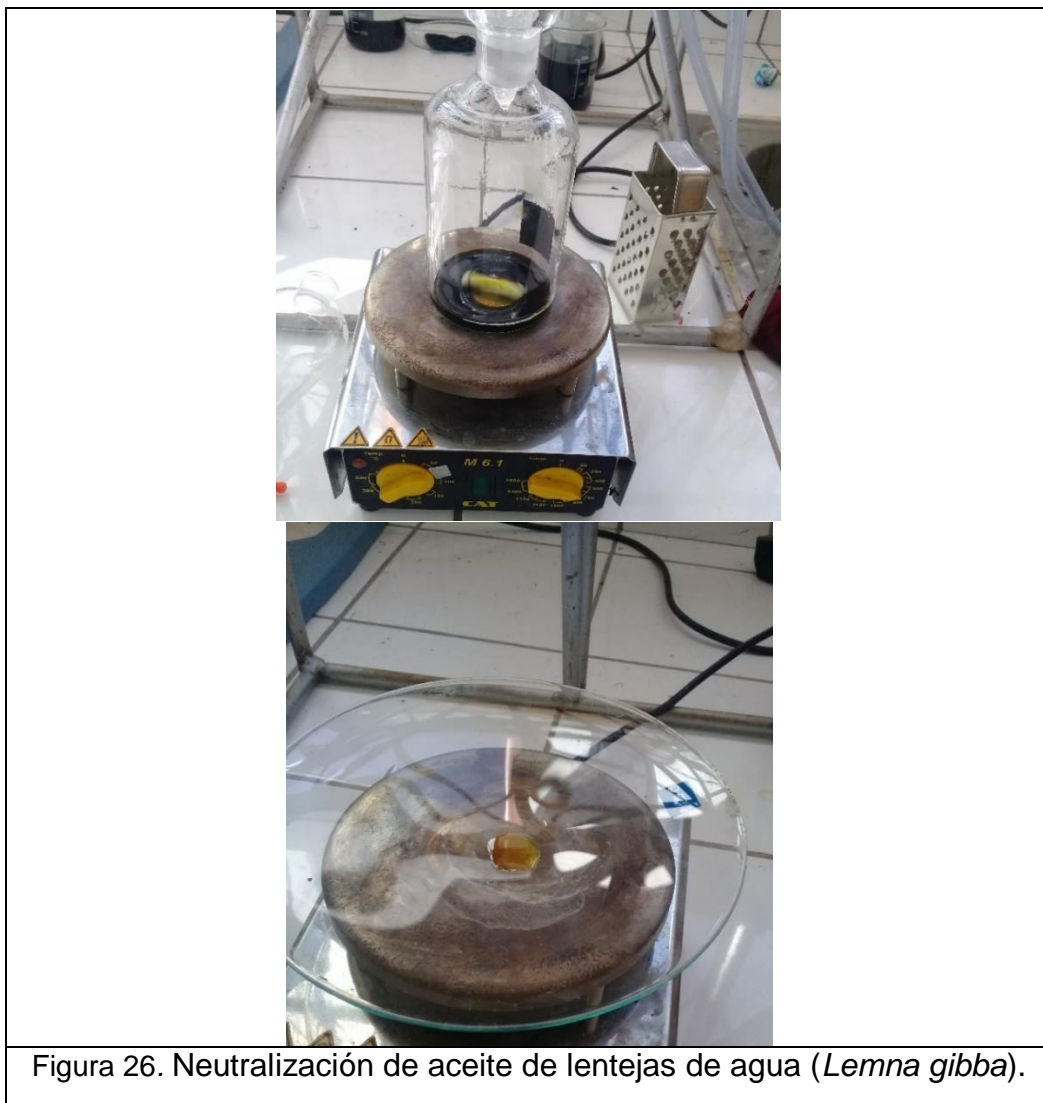




Figura 28. Separación del biodiesel y 1,2,3-propanotriol (glicerina).



Figura 29. Lavado del biodiesel crudo de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 30. Lavado del biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).

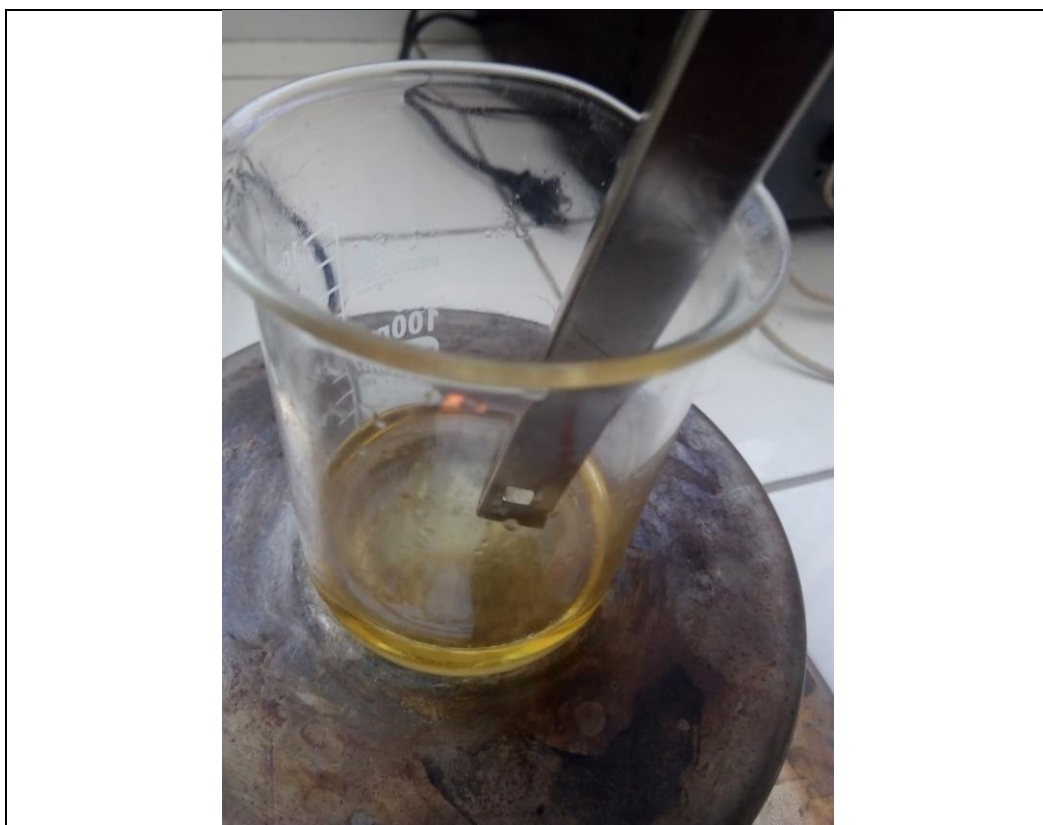


Figura 31. Verificación del punto de inflamación del biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).



Figura 32. Biodiesel de Lentejas de agua (*Lemna gibba*).