

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Obtención de biodiesel a partir de residuos de  
pescado. Ayacucho-2008**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA**

**Con mención en la especialidad de Ecología y Recursos**

**Naturales**

**Presentado por:**

**Bach. HUAYTA BENITES, Jane Casandra**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2011**

A mis queridos padres; Juana y Oscar, por su amor y apoyo Incondicional.

Al amor de mi vida, Felix por todo su apoyo.

## **AGRADECIMIENTO**

- A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias Biológicas, por brindarme sus aulas para mi formación profesional.
- A la Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biorremediación del Departamento de Biología, por haberme acogido y brindado todas las facilidades para desarrollar el presente trabajo de investigación.
- Agradecimiento al asesor externo y patrocinador Blgo. Juan Gabriel Juscamaita Morales, del Laboratorio de Biorremediación, a quien guardo un profundo respeto, que con su profesionalismo me brindó su apoyo incondicional contribuyendo en la elaboración del presente trabajo de investigación.
- Agradecimiento al asesor interno MS .Elmer Avalos Pérez, por su apoyo y acertados consejos en la elaboración de la tesis.
- Hago extensivo el agradecimiento a todas aquellas personas que colaboraron en la realización del presente trabajo de investigación. A todo el equipo del Laboratorio de Biorremediación.

## ÍNDICE

	Pág.
Resumen	
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEORICO	3
2.1. Biodiesel	3
2.2. Antecedentes	3
2.3. Situación actual del biodiésel en el Perú	5
2.4. Marco legal de biocombustibles en el Perú Ley N° 28054	6
2.5. Características químicas del biodiesel	7
2.6. Antecedentes de los residuos pesqueros	10
2.7. Residuos de pescado en el Perú	12
2.8. Materia prima: aceite de pescado	13
2.9. Enzimas proteolíticas	15
2.10. Reacción de transesterificación	18
III. MATERIALES Y METODOS	20
3.1. Características de la zona de estudio	20
3.1.1. Ubicación geográfica	20
3.1.2. Población	20
3.1.3. Muestra	20
I.V.METODOLOGIA	20
3.2.1. Diseño de la investigación	20
3.2.1.1. Recolección de la muestra	20
3.2.1.2. Obtención del aceite de pescado por hidrolisis enzimática	21
3.2.1.3. Tratamiento previo del aceite	21
3.2.1.4. Caracterización del aceite de pescado	22
3.2.1.5. Proceso de transesterificación a escala de laboratorio	23
3.2.1.6. Purificación y rendimiento del biodiesel a escala de laboratorio	24
3.2.1.7. Caracterización del biodiesel como producto final	24
IV. RESULTADOS	26
V. DISCUSION	34
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
IX. ANEXOS	48

**Título: Obtención de Biodiesel a partir de residuos de pescado Ayacucho – 2008.**

**Autor : Bach. Jane Casandra, Huayta Benites.**

**Asesores : MSc. Elmer, Avalos Pérez; Blgo. Juan, Juscamaita Morales.**

### **RESUMEN**

El presente proyecto de investigación descriptiva; fue obtener un biodiésel del aceite de la actividad enzimática de los residuos del pescado. Se colectaron y procesaron 24 muestras de residuos de pescado, usando la enzima proteolítica (A) a temperatura de 70°C. El aceite obtenido mediante la transesterificación del metanol a escala de laboratorio se caracterizó con el método de resultados analíticos determinando el índice de peróxido; índice de acidez; ácidos grasos libres(% ácido oleico); índice de yodo .El biodiesel obtenido a partir del aceite de pescado se caracterizó físico-químicamente mediante los métodos establecidos de la Norma Técnica Peruana del Biodiesel B100 NTP 321.125.2007 y las Normas Internacionales como la Sociedad Americana de Ensayos y Materiales (ASTM) y la Norma Europea EN ,Observando que la destilación °C de productos derivados del petróleo a presión atmosférica recuperado a 90% es de 364,5; agua y sedimentos en los aceites combustibles de 0.050, cenizas de productos derivados del petróleo 0.020; punto de fluidez °C de productos derivados del petróleo 0; corrosión lamina de cobre productos derivados del petróleo 1a, Los resultados de los análisis de Laboratorio y análisis estadísticos revelaron que, se obtuvo un biodiesel de buena calidad con un rendimiento entre el 80% a 90% y encontrándose dentro de las Normas Técnicas indicadas.

**Palabras clave:** Biodiésel, hidrólisis enzimática, enzima proteolítica transesterificación.

## I. INTRODUCCION

El biodiesel es definido por la ASTM (American Society for Testing and Materials) como un combustible conformado por monoalquilesteres de ácidos grasos de cadena larga derivado de aceites vegetales o grasas animales (Van Gerpen y Col., 2001).

Los principales motivos que llevaron a los diferentes países a impulsar la producción de biodiésel fueron: una mayor seguridad en el abastecimiento energético, la reducción de la dependencia de fuentes de energía fósiles, la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, la reducción de emisiones dañinas de efecto local, la protección del suelo mediante el uso de productos biodegradables, la reducción de peligros a la salud mediante el uso de productos no tóxicos (Friedrich; 2004).

En el Perú el uso de combustibles fósiles provoca, además de la emisión de gases de efecto invernadero, serios problemas de contaminación del aire. En los últimos años esta situación ha empeorado debido al incremento del parque vehicular abastecido por el diesel. En el área metropolitana de Lima y Callao el consumo de este combustible ha aumentado de 5 millones 190 mil barriles al año en 1990 hasta 9 millones 177 mil barriles al año en 1998 Ministerio de Transportes y Comunicaciones ( MTC; 2001).

Según estudios realizados por la Dirección General de Salud Ambiental

(DIGESA) el principal contaminante atmosférico en Lima son las emisiones tóxicas de motores de combustión diesel. Recientemente el Consejo Nacional del Ambiente (CONAM) ha informado que alrededor de 4000 personas mueren cada año en Lima víctimas de contaminantes atmosféricos como óxidos de azufre y partículas, que son atribuibles al parque automotor Ministerio de transportes y comunicaciones (MTC; 2001).

En este contexto, se hace necesario investigar mecanismos que permitan obtener fuentes alternativas de energía, que sean de bajo costo y que reduzcan los impactos ambientales negativos de su generación y utilización específicamente; mediante la producción del biocombustible líquido denominado biodiésel.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos:

- Obtener un biodiésel generado a partir del aceite de residuos de pescado obtenido por hidrólisis enzimática.
- Caracterizar el aceite generado a partir de la hidrólisis enzimática de los residuos de pescado y analizar sus propiedades.
- Analizar las propiedades físicas y químicas del biodiésel producido a partir de la grasa de los residuos de pescado.
- Evaluar el porcentaje de rendimiento del biodiésel producido a partir del hidrolizado de pescado.

## **II. MARCO TEORICO**

### **2.1. BIODIESEL**

El biodiésel es un combustible renovable derivado de aceites o grasas de origen vegetal o animal. El prefijo Bio hace referencia a su naturaleza renovable y biológica en contraste con el combustible diésel tradicional derivado del petróleo; mientras que diésel se refiere a su uso en motores de este tipo. Como combustible, el biodiésel puede ser usado en forma pura o mezclado con diésel de petróleo. La Asociación de Productores Norteamericanos de Biodiésel (National Biodiesel Board), lo define como un combustible compuesto de ésteres mono-alquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de aceites o grasas, vegetales o animales (Castro y Col.,2007).

### **2.2. ANTECEDENTES**

El Dr. Rudolf Diesel en la Exposición Mundial de París, en 1900 usaría aceite de mani como biocombustible. Años después Diesel señaló que el motor diésel puede funcionar con aceites vegetales, esto podría ayudar considerablemente al desarrollo de la agricultura de los países que lo usen así. Hacia 1912 afirmaría que «el uso de los aceites vegetales como combustibles para los motores puede ser insignificante, pero con el transcurso del tiempo puede ser tan importante como los derivados del petróleo y el carbón en la actualidad» (Shay., 1993). En el año 1853, los científicos E. Duffy y J. Patrick desarrollaron el proceso

químicamente de transesterificación conocido como alcoholísis de grasas, consiste en la alteración química de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos (TAG) por la adición de un alcohol metílico, formando así un éster el cual recibe el nombre de metilésteres de ácidos grasos (FAME) o llamado biodiésel (BD). El principal motivo por el cual no se pueden utilizar directamente los aceites en motores de combustión interna es su alta viscosidad, la finalidad del proceso de transesterificación es disminuir su alta viscosidad de estos aceites para ser utilizados en motores (Daly., 2003).

En 1981, El Instituto de Química Orgánica de la Universidad de Karl Franzens en Austria, realizó las primeras pruebas a escala de laboratorio para la producción de metilésteres de ácidos grasos provenientes de aceite de colza; estos experimentos fueron el inicio para la instalación de la primera planta de producción de biodiésel en el mundo en Silberberg, luego vendría Styria en el año de 1985. Por otro lado en 1983, a raíz de las investigaciones de la Universidad de Braunschweig, Alemania se convirtió en el líder en volúmenes de producción de biodiésel provenientes de aceite de colza (Pahl., 2004).

Para la década de los noventa, la disponibilidad de grandes extensiones de tierras en descanso en Europa permitió el desarrollo de cultivos energéticos oleaginosos destinados únicamente para la producción de biodiésel, Así se tiene a países de Europa Central que cultivan y utilizan aceite de colza para la fabricación de biodiésel; y a países de la zona mediterránea, que aprovechan el aceite de girasol (*Helianthus annuus*) para el mismo fin (Coello.,2000).

Debido al alto precio del aceite de colza, en Austria se buscaron otras alternativas para producir biodiesel pero a menor costo, encontrando a los aceites vegetales usados como una potencial opción. Por eso se desarrollaron diversas investigaciones antes que la primera planta de producción de biodiésel proveniente de estos aceites fuera creada en Mureck Austria en 1993; para el

año 2001 la elaboración de biodiésel se incrementó a 15,000 toneladas (Mittelbach., 2002).

En Estados Unidos se utilizaron como insumo principal para la elaboración de biodiésel excedentes de producción de aceite de soya, convirtiendo al país en uno de mayor desarrollo tecnológico en esta materia. Sin embargo, para hacer frente a la contaminación que generaban los residuos de papa pre-fritas, la Universidad de Idaho desarrolló un proceso de transesterificación con aceite vegetal usado obteniéndose un biodiésel de muy bajo costo (Daly.,2003).

En América del sur, existen diversos países trabajando actualmente en el tema: Bolivia ha instalado una planta de producción de biodiésel de aceite de soya ubicada en la provincia de Santa cruz. Argentina es el mayor productor de biodiésel en Sudamérica y posee diversas plantas instaladas donde utilizan aceite de soya proveniente de los excedentes de producción. Brasil es el gran productor de etanol para su utilización en mezclas de gasolina, produce biodiésel de aceite de soya utilizando alcohol etílico debido a la gran producción que tiene de este insumo. Colombia comenzó su producción en la Universidad de los Llanos trabajando a escala experimental con aceite de palma y actualmente comercializan sus productos como aditivo para motores diesel (Castro y Col., 2007).

### **2.3. SITUACIÓN ACTUAL DEL BIODIESEL EN EL PERÚ**

La situación actual del Biodiesel en el Perú se encuentra a cargo de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM); en consorcio con Intermediate Technology Development Group (ITDG), quien realizó investigaciones en este campo, las cuales se iniciaron en Junio del 2003 hasta Mayo del 2004, con el proyecto: "Producción de biodiesel a pequeña escala a partir de recursos oleaginosos amazónicos". (Castro y Col., 2007).

Por otro lado; tenemos las primeras empresas dedicadas a este campo del

Biodiesel en el Perú; como la empresa INCOMATIC en el 2005 con su planta de producción de biodiésel en el distrito de Puente Piedra en Lima. También tenemos la empresa Biodiésel Perú Internacional S.A.C en el 2007, con su planta con tecnología de la firma argentina Ingeniería Bioquímica en la provincia de Huarochiri con su página Web (<http://www.biodieselperu.com>); Por otro lado El Grupo Herco, en el año 2007 se anunció el Primer Seminario Internacional: Perspectivas del Biodiésel en el Perú, esto marco el inicio de las operaciones en su planta de producción de biodiesel ubicada en Lurín, a 33 kilómetros al sur de Lima. También El Grupo Romero informa en el 2006 la creación de la empresa Agro Energía S.A. y la intención de producir biodiésel a partir del aceite crudo de palma en la región San Martín (distrito de Uchiza, provincia de Tocache) y en la región Loreto en un plazo de cinco años. En febrero del 2007; la empresa Pure Biofuels Corporation; inició la construcción de su planta de producción de biodiésel en el Callao, la misma que empezaría a operar el segundo semestre del mismo año. Asimismo, cabe resaltar la interesante iniciativa del ingeniero químico Agustín Jacobo Gonzales quien ha implementado una pequeña planta de producción de biodiésel en el distrito de Villa El Salvador, que se abastece con aceite vegetal usado recolectado de restaurantes de la zona (Castro y Col., 2007).

#### **2.4. MARCO NORMATIVO LEGAL DE BIOCOMBUSTIBLES EN EL PERÚ LEY N° 28054**

En el Perú, mediante el Decreto del Consejo Directivo del Consejo Nacional del Ambiente (CONAM) N°024-01-CD/CONAM, se constituyó un Grupo Técnico de Biocombustibles para proponer el uso de biocombustibles líquidos. Este grupo técnico multisectorial también elaboró la iniciativa legislativa Ley N° 28054 para la promoción de los biocombustibles en el Perú; que fue aprobada el 7 de agosto del 2003. La cual establece el desarrollo del mercado y el libre acceso a la

actividad económica, con el objetivo de diversificar el mercado de combustibles y fomentar el desarrollo agropecuario y agroindustrial, generar empleo, disminuir la contaminación ambiental y ofrecer un mercado alternativo en la lucha contra las drogas. En un plazo de 6 meses se presentó un programa de promoción identificando los aspectos del marco político, institucional y normativo requeridos. Mediante el Decreto Supremo Nº 013–2005–EM: se aprobó el reglamento de la Ley de Promoción del Mercado de Biocombustibles, en marzo del 2005. Se determinó la utilización del etanol y del biodiésel, como combustibles líquidos para reemplazar progresivamente parte de la importación de diésel del país, para reducir la contaminación ambiental, promoviendo la agricultura, agroindustria, cultivos alternativos rentables y generando nuevas inversiones, fuentes de trabajo y de cultivo de palma aceitera y soya.

Entre sus acertadas políticas generales incluye la generación de investigación; la formación de recursos humanos de alta especialización; el desarrollo de proyectos experimentales y la transferencia de tecnología; la participación privada para la producción; y el incentivo de la comercialización para utilizar los combustibles en todos los ámbitos de la economía puros o mezclados con otro combustible (Castro y Col., 2007).

## **2.5. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL BIODIESEL**

La calidad del biodiesel es generalmente controlada en base a ciertos parámetros físicos y químicos establecidos por normas técnicas aprobadas en cada país. Las principales normas técnicas para el biodiesel son la Europea (EN 14214) y la Estadunidense (ASTM D6751-07). Son necesarios para garantizar una adecuada calidad del producto; por ello los estándares de calidad deben de estar de acuerdo a la realidad nacional. Copiar estándares extranjeros puede constituir una barrera, ya que en muchos casos estos estándares son diseñados con el objeto de controlar el mercado en lugar de facilitar su implementación

(Matthews y O'Connor, 2006).

**Punto de inflamación.-** Mide la tendencia de un combustible de formar mezclas inflamables con el aire. Se usa para evaluar el riesgo de inflamación de un material. Se establece un mínimo para seguridad contra incendios. En el biodiesel este límite se utiliza para garantizar que se haya removido todo el metanol. El exceso de metanol además puede afectar a las bombas de combustible, sellos y empaquetaduras y resultar en mala combustión (Castro y Col., 2007).

**Temperatura de destilación.-** El diesel tiene una curva de destilación determinada por los diferentes hidrocarburos que lo contienen. Por eso se establecen porcentajes de destilado recuperado a diferentes temperaturas. El biodiesel tiene prácticamente un punto de destilación, que se ubica en el rango mas alto de la curva de diésel. Este parámetro se incorpora para controlar que el combustible no haya sido contaminado con materiales de mayor punto de evaporación. (Castro y Col., 2007).

**Viscosidad.-** La viscosidad es una medida a la resistencia de fluido del combustible, cuando la temperatura aumenta la viscosidad disminuye. Algunos motores requieren una viscosidad mínima para evitar pérdidas durante la eyección del combustible lo cual no es problema con el biodiesel que normalmente suele tener mayor viscosidad que el diesel. La viscosidad máxima depende del diseño del sistema de inyección un combustible muy viscoso puede causar una mala atomización, que lleva a mala combustión y formación de depósitos (Castro y Col., 2007).

**Agua y sedimentos.-** Se refiere al contenido de gotas de agua y partículas que sedimentan en el combustible. El agua puede generar corrosión y promueve el desarrollo de microorganismos, mientras que los sedimentos pueden causar problemas de taponamientos de filtros e inyectores. (Castro Paula, et al, 2007).

(NTP 209.001.1983) (Castro y Col., 2007).

**Corrosión lámina de cobre.-** Esta prueba indica problemas potenciales con la presencia de partes de cobre o bronce en el sistema de combustible. Si el combustible contiene ácidos o compuestos de azufre puede causar corrosión en el cobre o bronce (Castro y Col., 2007).

**Ceniza Sulfatada.-** El biodiesel puede contener materiales formadores de cenizas bajo tres formas: (sólidos abrasivos, jabones metálicos solubles y catalizador no removido. Los sólidos abrasivos y el catalizador pueden contribuir a incrementar los depósitos en el motor. Los jabones metálicos solubles tienen poco efecto en el desgaste pero pueden contribuir al taponamiento de filtros y los depósitos en el motor. (NTP 209.001.1983) (Castro y Col., 2007).

**Numero de cetano.-** Mide la calidad de ignición de un combustible diesel; un alto numero de cetano indica un menor retraso en la ignición, ayuda a un mejor arranque del motor y minimiza la emisión de humo (Castro y Col., 2007).

**Índice de Cetano.-** Es una medida de calidad de ignición del combustible e influencia el humo blanco y la robustez de la combustión. El requerimiento del índice de cetano depende del diseño del motor, de su tamaño, de las variaciones de velocidad y carga y de las condiciones atmosféricas y de arranque. (NTP 209.001.1983) (Castro y Col., 2007).

**Punto de Nube.-** Es un parámetro que determina la performance del combustible a bajas temperaturas, el punto de nube es importante en el sentido que define la temperatura a la cual una nube o niebla de cristales aparecen en el combustible bajo ciertas condiciones de ensayo prescritas. Esta temperatura se relaciona con la temperatura a la cual empiezan a precipitar cristales en el combustible en uso. El biodiesel generalmente tiene un punto de nube mayor que el combustible de petróleo. (NTP 209.001.1983) (Castro y Col., 2007). **Residuo de Carbón.-** El residuo de carbón proporciona una medición de la tendencia a depositar carbón

de un combustible. Aunque no está directamente relacionado con el depósito en los motores, esta propiedad considera una aproximación. Por lo tanto para el diesel convencional se mide el 10% del residuo de destilación, como el biodiesel se evapora a la misma temperatura, es difícil obtener este residuo de destilación, por lo tanto el residuo de carbón se determina en toda la muestra. (Castro y Col., 2007).

Glicerol Total.- Se utiliza para determinar el nivel de glicerina en el combustible e incluye la glicerina libre y la porción de glicerina de cualquier aceite o grasa no reaccionada o parcialmente reaccionada. Bajos niveles de glicerina total aseguran que se han logrado altos niveles de conversión de aceites o grasas a sus ésteres mono-alquílicos. Altos niveles de mono-di y triglicéridos pueden afectar negativamente la operación en climas fríos. (NTP 209.001.1983). (Castro y Col., 2007).

## **2.6. ANTECEDENTES DE LOS RESIDUOS PESQUEROS**

En la industria pesquera se procesan una gran variedad de especies, de los cuales sólo una parte se emplea como alimento. El resto constituye un subproducto rico en proteína. En la industria pesquera se procesan una gran variedad de especies, de las cuales sólo una parte se emplea como alimento. El resto constituye un subproducto rico en proteína que se puede transformar en diversos productos útiles (Ockerman y Hansen., 1994).

Así mismo los residuos de pescado son considerados la parte no comestible (cabeza, vísceras, espinazo, piel, sangre y otros). Estos residuos constituyen el 50% de la materia prima (Berenz.,1997).

Según Knuckey., (2004) señalan que los residuos de pescado constituyen el 60 a 70% del total de la materia prima.

Por otra parte, las características de los residuos de pescado dependen de la proporción de los componentes físicos y químicos presentes en una o varias

especies de pescados, se puede observar en el cuadro N°1 que el porcentaje de residuos supera el 40 % del total de las especies. En el caso específico de la merluza y lorna este supera el 50% del total. (Fernández., 2001).

**Cuadro N° 01: Porcentaje de partes no comestibles de especies de pescado**

Componente	Merluza	Cachema	Pejerrey	Lorna	Bonito	Jurel	Lisa	Sardina
Cabeza	15.2	13.1	7.8	14.6	8.5	11.5	9.6	8.9
Agallas	4.1	2.7	3.8	5.1	3.5	4.3	5.1	4.8
Hígado	1.8	1.2	4.0	2.8	2.0	1.6	2.4	1.6
Gónadas	4.4	3.6	4.6	3.3	4.9	2.2	1.2	5.5
Visceras	5.6	4.4	5.4	6.5	5.5	7.3	8.0	7.5
Espinazo y cola	6.7	6.8	6.1	6.2	4.9	5.8	6.7	5.8
Piel	4.3	4.0	5.6	5.6	3.7	3.2	5.5	6.0
Aletas	3.8	3.2	2.3	4.0	2.5	2.9	2.5	1.3
Orejetas	4.3	4.3	1.7	3.9	3.5	3.5	4.4	2.6
Sangre y otros	2.3	3.1	3.2	2.8	2.7	1.8	3.4	2.7
Total	52.5	46.4	44.5	54.8	41.7	44.1	48.8	46.7

Según Rustad (2004); señala que hay un gran potencial en la utilización de los desechos o subproductos. En el 2001 se produjo en Noruega un total de

232000 toneladas métricas de subproductos de la pesca de bacalao, de las cuales 125 000 toneladas fueron desechadas y el 107 000 utilizadas. Mientras que para el consumo humano las 36 000 toneladas representa alrededor de 15.5% del total de estos subproductos. El resto es usado para la producción de harina de pescado, ensilado y alimento animal.

Actualmente; se está incrementando el interés en el uso de los residuos de productos pesqueros, que es una fuente de materia prima rica en nutrientes teniendo un gran interés en los últimos años. En el mundo se pescan 91 millones de toneladas de peces y mariscos anualmente. Sólo entre el 50 al 60% de la pesca es usada para el consumo humano, el resto (visceras, cabezas, pieles, etc.) son subproductos, gran parte de los cuales son desechados. Se estima que se desechan aproximadamente 20 millones de toneladas de residuos pesqueros en el mundo al año, lo que representa casi el 25% de la pesca (FAO, 2007).

## **2.7. RESIDUOS DE PESCADO EN EL PERÚ**

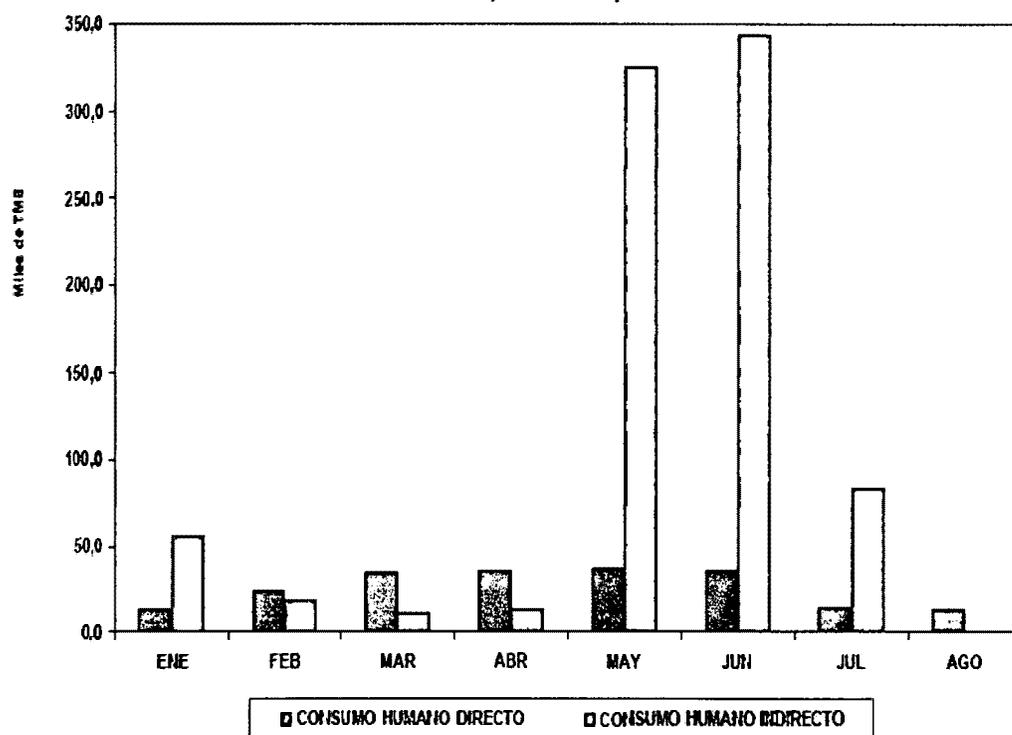
En el Perú la pesca extrae anualmente alrededor de 8 millones de toneladas de peces marinos, siendo la anchoveta la especie de mayor extracción con 6 millones de toneladas anuales (FAO, 2003).

Se sabe que el Perú es uno de los países que tiene el privilegio de tener un mar aledaño con una riqueza marina especial y de grandes volúmenes. La elaboración de harina de pescado es el principal producto que comprende alrededor del 90% del total de la pesca. La elaboración de otros productos pesqueros, aunque de menores volúmenes, también es significativa resultando alrededor de 300 a 400 mil TMB de residuos de pescado por año para la elaboración de harina de baja calidad (Pizar di., 1997).

En la Gráfico Nº 01 se puede apreciar un resumen del volumen de producción y la transformación de los recursos hidrobiológicos marítimo y continentales entre los meses de Enero-Agosto 2010 en el Perú. Debido a la situación actual se ha

clasificado en materia prima destinada al consumo humano directo e indirecto, Así mismo se puede apreciar que durante los meses de Marzo, Abril, Mayo, Junio representan los más altos en producción de dicha materia prima; Mientras que los meses de Mayo y Junio registran un alto incremento del consumo indirecto de harina y de aceite crudo. Esto nos muestra que más del 60% de la materia prima es destinada a este tipo de consumo mientras que menos del 50% es de consumo directo (PRODUCE).

**Gráfico N° 01: Transformación de los recursos hidrobiológicos marítimos y continentales según utilización, ENE-AGO 2010 (Miles de TMB).**



Fuente: Produce- Direpro y Empresas Privadas (2010).

## 2.8. MATERIA PRIMA: ACEITE DE PESCADO

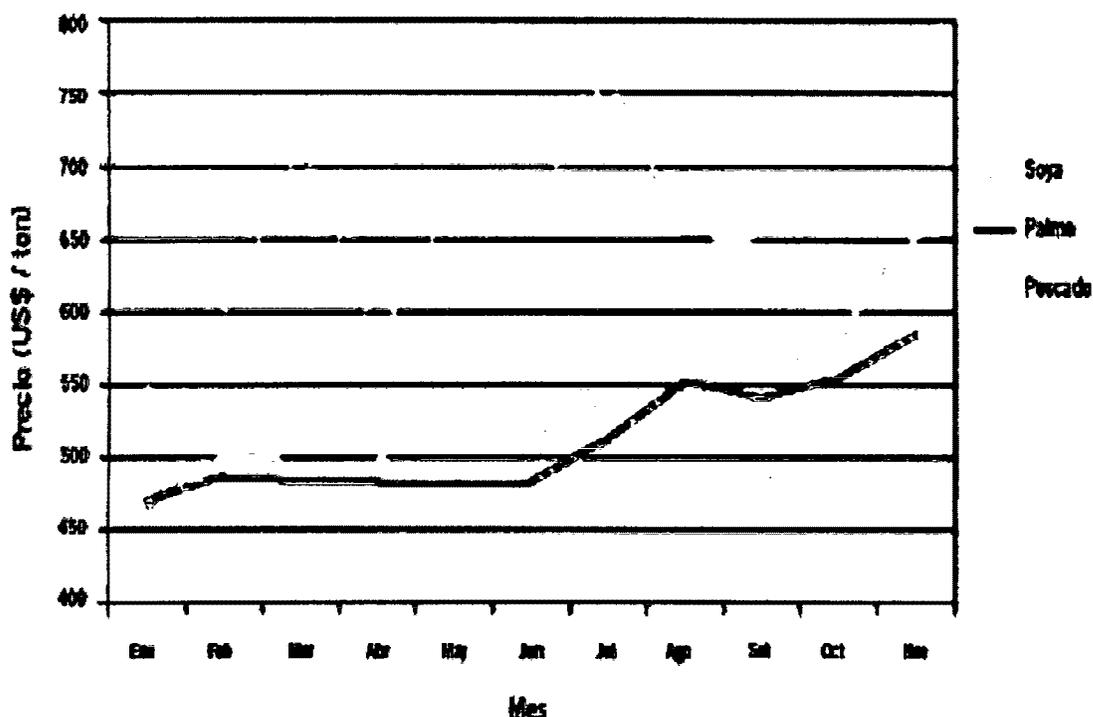
Las dos fuentes más comunes de aceites y grasas para producir biodiésel son los cultivos oleaginosos y los tejidos adiposos (grasos) de animales. Las posibilidades para producir biodiésel en el Perú son variadas: aceites vegetales, grasas animales (sebo), aceite de pescado, aceites y mantecas comestibles

usados. Sin embargo, su cantidad no es suficiente para satisfacer una posible demanda a gran escala de biodiésel. Asimismo, el Perú es un importador neto de aceites vegetales, con casi un 60% de la demanda total nacional de aceite vegetal proveniente de importaciones en el 2002 (Castro y Col., 2007).

El aceite de pescado es otra opción de materia prima para el biodiésel, y en el Perú se produce en gran cantidad, según cifras del Ministerio de la Producción, en el año 2005 se fabricó un total de 290 mil toneladas de aceite de pescado crudo. Sin embargo, aún existe poca experiencia en el mundo de la producción de biodiésel a partir de este aceite, y por lo tanto se requiere investigación específica sobre el proceso de producción y la calidad del combustible que se obtendría, así como de la viabilidad económica de su uso como combustible: históricamente, su precio siempre ha sido mayor al del aceite de soya (Castro y col., 2007).

En el Gráfico Nº 02 se puede apreciar un resumen de la situación actual y potencial de las principales fuentes de materia prima oleaginosa en el Perú, que comparadas con la demanda actual para la producción de alimentos y, en el caso del aceite de pescado, para exportación estarían mostrando el saldo potencial de aceite disponible para la producción de biodiésel. Cabe mencionar que la demanda puede variar según la evolución de los precios y el mercado además, la posibilidad de que parte de la producción de aceite de pescado, destinada hoy a la exportación, se use en el futuro para producir biodiésel, no está considerada en el gráfico con el cual se hace el cuadro comparativo con el aceite de palma que se encuentra después del aceite de pescado ,pero liderando el aceite de soya que es la principal materia en la evolución de los precios de los aceites comestibles.

**Gráfico Nº 02: Evolución del precio de los aceites comestibles crudos (año 2006).**



Fuente: (Castro y Col., 2007).

## 2.9. ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

El origen de algunas proteasas han sido aisladas del musculo de los pescados en descomposición proteolítica, presentándose un ablandamiento del tejido muscular entre las que se encuentran las catepsinas, las calpains y las colagenasas. En las vísceras también encontramos enzimas proteolíticas como la quimiotripsina, la tripsina y la carboxipeptidasa (FAO.,2003).

Las enzimas proteolíticas son sustancias específicas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, que actúan sobre los sustratos específicos, las cuales se convierten en diferentes moléculas o productos siempre que sean termodinámicamente viables. La actividad catalítica de las enzimas es como la analogía de la cerradura y la llave (enzima), con la llave apropiada esta puerta se puede abrir sin esfuerzo, pero en la ausencia de una llave (enzima) se requiere de una gran fuerza para romper una puerta y abrirla (Figallo., 2001). Aproximadamente el 60% de las enzimas empleadas en la industria alimentaria

son proteolíticas y el 30% carbohidrasas, aunque la cantidad total es baja, pues comúnmente se usan en concentraciones menores al 1% en peso del sustrato a procesar (Wiseman.,1991).

Así mismo las enzimas proteolíticas poseen una alta especificidad, tanto estructural como óptica. Sus reacciones pueden ser catalizadas a bajas temperaturas y dentro de los límites de pH comprendidos entre dos y nueve , pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: las endopeptidasas, que hidrolizan enlaces peptídicos internos y las exopeptidasas que hidrolizan las uniones peptídicas terminales (Neilands.,1967).

Para obtener una mejor fermentación del pescado, se pueden emplear enzimas proteolíticas que realicen la digestión del pescado en forma rápida y efectiva. Las enzimas proteolíticas pueden ser de origen vegetal, animal y microbiano (Chávez., 1980).

Se sabe que las enzimas comerciales como la pepsina, papaína y pancreatina son de buena actividad y bajos costos; estas suelen ser empleadas a temperaturas superiores a los 40°C. Para efectuar la hidrólisis de las proteínas se han empleado ácidos y enzimas proteolíticas provenientes de diferentes fuentes. Entre ellas la papaína, ficina y bromelina (origen vegetal); la pepsina, la renina y quimiotripsina (origen animal); las enzimas de origen microbiano como los hongos o bacterias (Alder-Nissen.,1976).

### **2.9.1. OTRAS ENZIMAS USADAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIESEL**

Se han encontrado que los materiales lignocelulosicos, como los residuos agrícolas y agroindustriales, como los pastos etc, son de bajo costo y tienen un alto contenido de material fermentable, presentando un ciclo de combustión con cero emisiones de gases y alta disponibilidad, lo que permite su uso en la producción de etanol, lípidos (biodiesel) y butanol .La principal limitante radica en el acceso a los compuestos fermentables (pectina, hemicelulosa y celulosa) por

parte de enzimas y microorganismos; si esta es superada, se abriría la posibilidad de usar el compuesto más abundante y renovable de la tierra, la lignocelulosa. Ello reduciría la emisión de gases invernadero y aseguraría la disponibilidad de energía limpia. El microorganismo seleccionado fué el hongo *Umbelopsis isabellina* por poseer una capacidad para crecer en sustratos sólidos de baja actividad de agua y su habilidad para acumular lípidos. Este hongo fue provisto por el grupo Genómica de la Universidad de Wageningen (Holanda).

### **2.9.2. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LAS PROTEÍNAS (RESIDUOS DE PESCADOS)**

La hidrólisis enzimática de las proteínas que son química o enzimáticamente rotas a péptidos de varios tamaños transcurren a través de un conjunto de etapas en serie:

Proteínas  $\Longrightarrow$  Proteosas  $\Longrightarrow$  Peptonas  $\Longrightarrow$  Péptidos  $\Longrightarrow$  Aminoácidos

La hidrólisis de las proteínas de pescado se puede realizar de dos formas. La primera depende de las enzimas digestivas del mismo pescado y la segunda depende de la hidrólisis del pescado utilizando las enzimas comerciales (Rustad., 2004).

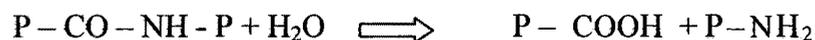
Estos hidrolizados se producen mediante la molienda de desechos de pescado, adicionando un ácido y luego agitando la mezcla hasta que el proceso de hidrólisis enzimática este completa. El Acido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), añadido al 2% en peso ayuda a iniciar la hidrólisis del pescado, pero su objetivo principal es reducir el pH para prevenir el ataque de los microorganismos; es el más usado debido a que es de fácil manejo y poco costoso; además el azufre (S) es beneficioso para los cultivos (Knuckey.,2004).

Se ha demostrado que la carne de pescado hidrolizada por enzimas permite

mejor crecimiento bacteriano que los hidrolizados preparados por hidrólisis química; desde entonces se ha visto que los hidrolizados de las proteínas de pescado son muy buenas peptonas bacterianas comparables con las mejores peptonas cárnicas del mercado (Ruite.,1995).

Cada una de estas especies intermedias se diferencian una de otras en su solubilidad, que corresponden a los tamaños moleculares medios, cuya relación nitrógeno amino/nitrógeno es total (Guadix y col., 2000).

La proteasa actúa sobre el enlace peptídico rompiéndolo y liberando al grupo amino y al grupo carboxilo según la siguiente reacción:



Estos grupos amino y carboxilo pueden estar parcialmente ionizados, dependiendo del pH del proceso de hidrólisis (Guadix y Col.,2000).

Para efectuar la hidrólisis de las proteínas se han empleado ácidos y enzimas proteolíticas provenientes de diferentes fuentes. Se pueden citar la papaína, ficina y bromelina extraídas de plantas; la pepsina, la renina y quimiotripsina de tejidos animales y, finalmente las enzimas de origen microbiano ya sea a partir de hongos o bacterias; en general, estas enzimas se clasifican como de carácter ácido, neutro o básico, según sea el pH al cual exhiban su mayor actividad (Alder-Nissen 1976).

## 2.10. REACCIÓN DE TRANSESTERIFICACIÓN

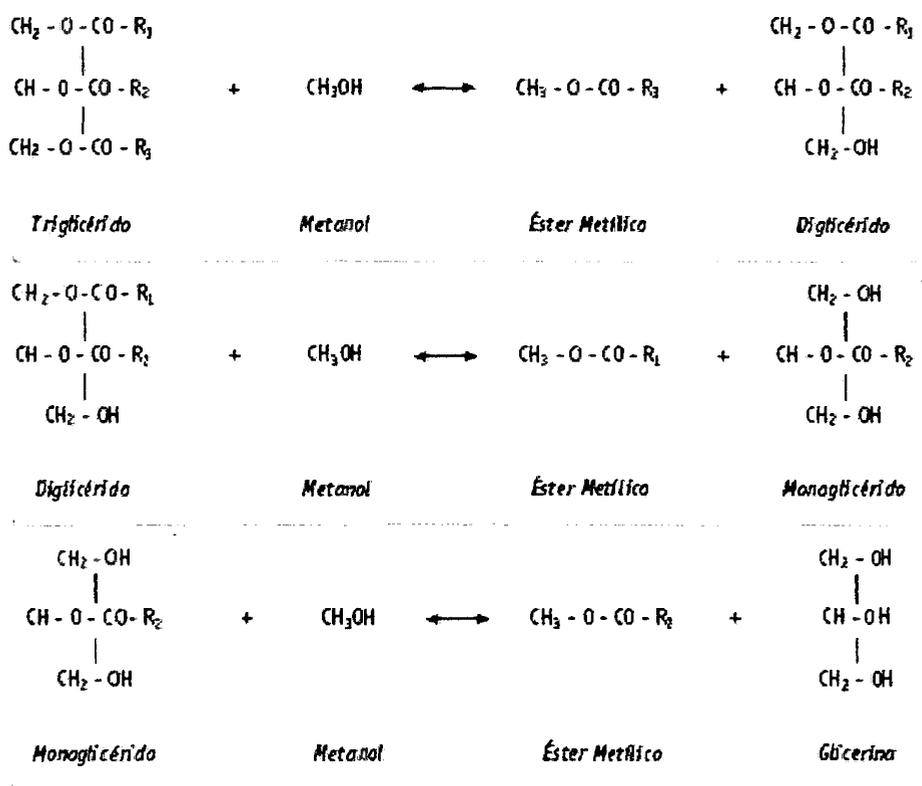
La transesterificación es una reacción química de alcoholisis de los ésteres carboxílicos la cual separa el glicerol de los triglicéridos, triacilglicerol (TAG) y se forman los ésteres lineales de ácidos grasos. De acuerdo al alcohol utilizado pueden resultar metilésteres o etilésteres (Schuchardt y col., 1997).



La reacción química de alcoholólisis de triglicéridos, produce glicerol libre, triglicéridos de estructura cambiada a diferencia de los monoglicéridos y los diglicéridos, junto con los ésteres del nuevo alcohol. La finalidad de realizar esta reacción es reducir la alta viscosidad de los triglicéridos que los hace poco aptos como combustibles en motores diesel actuales sin modificar el proceso químico durante la transesterificación (Schuchardt y Col., 1997).

Los aceites y grasas vegetales o animales están compuestos principalmente por moléculas denominadas triglicéridos (o triacilglicerol), que son ésteres de tres ácidos grasos unidos a un glicerol. Se caracterizan por ser insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos no polares (Lawson; 1994).

**Grafico N° 03: Reacciones Intermedias del Proceso de Transesterificación.**



Fuentes: *National Biodiesel Board (NBB)* y *BioDiesel International (BDI)*

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO**

##### **3.1.1. Ubicación Geográfica**

El trabajo de investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Biorremediación del Departamento de Biología, perteneciente a la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

##### **3.1.2. Población**

Comprendida por todos los residuos de pescado colectados en el mercado Santa Rosa la Molina durante los meses de Marzo hasta Agosto del 2008.

##### **3.1.3. Muestra**

Comprendió una muestra de 20 Kg de residuos de pescado colectados del mercado Santa Rosa La Molina. Durante los meses de marzo 2008 a agosto del 2008.

#### **3.2. METODOLOGIA**

##### **3.2.1. Diseño de la Investigación**

###### **3.2.1.1. Recolección de la muestra**

La recolección de residuos de pescado (vísceras, cabezas, espinazos, pieles y restos de carne). Se realizó durante los meses de marzo 2008 a agosto del 2008 en el mercado Santa Rosa de La Molina. Así mismo al llegar al laboratorio inmediatamente los residuos de pescado fueron pesados, solo los que eran de la

misma condición fueron separados del resto de materia extraña que trajera la muestra colectada de 20 Kg. Luego se le agregó la enzima A (Proteasa); en una cantidad de 0,5% en solución del peso de la muestra de los residuos de pescado, para optimizar la ruptura de las proteínas y los lípidos existentes en los residuos de pescado, estos se mezclaron bien y se cerró el bidón que fue llevado a la estufa a una temperatura de 70°C, por un periodo de tiempo de 7 - 10 horas. Luego del tiempo transcurrido se procedió a separar el aceite obtenido de los residuos de pescado. Aproximadamente se logró colectar 20 litros de aceite en cada muestra procesada a lo largo del experimento; esto dependió del tipo de especie colectada en el día de la toma de muestra. Por otro lado la concentración de enzimas y temperatura de incubación se trabajaron de acuerdo a la metodología desarrollada en los experimentos previos, en el Laboratorio de Biorremediación (Bossio., 2007).

#### **3.2.1.2. Obtención del aceite de pescado por hidrólisis enzimática**

Después de que los residuos de pescado se sometieron al proceso de hidrólisis enzimática; que duró aproximadamente un tiempo de 7-10 horas como máximo y a una temperatura de 70 C°; se logró separar del aceite de pescado en proteínas y lípidos, este proceso optimizó y garantizó la colecta del aceite, separando los residuos hidrolizados en dos fases; una liposoluble y la otra hidrosoluble. Luego se procedió a colectar la muestra de aceite (Bossio.,2007).

#### **3.2.1.3. Tratamiento previo del aceite**

Después de la colecta del aceite obtenido del bidón de los residuos de pescado hidrolizados, fue necesario asegurarnos que el aceite estuviera libre de sólidos y agua, por ello se desarrollo una serie de tratamientos que garantizaron que el aceite estaba optimo y libre de impurezas. Este tratamiento consistió en decantación, Filtración, Evaporación del agua.

Decantación; se dejó decantar por unas horas el aceite; para eliminar las

partículas mayores que se encontraron y sedimentarán en el fondo.

Filtración.- luego de la decantación, el aceite pasó por un proceso de filtración sencilla, se utilizó un papel de filtro para eliminar las partículas pequeñas que quedaron retenidas así obteniéndose un aceite libre de impurezas.

Evaporación del agua.- el aceite que resultó libre de sólidos y partículas pequeñas (impurezas) se calentó a 100°C, para dejarlo libre de agua contenida en el aceite de pescado listo para la elaboración del biodiesel (Castro y Col., 2007).

#### **3.2.1.4. Caracterización del aceite de pescado**

Se ha demostrado que es posible elaborar biodiésel en todo tipo de aceites y grasas ya que estos dependen de la cantidad de ácidos grasos libres presentes en la muestra (Canakci y col.,2001).

Por lo tanto se caracterizó el aceite de pescado colectado, que sirvió de materia prima para la elaboración del biodiesel. Así mismo se midieron los siguientes parámetros (Castro y Col., 2007).

- Índice de Peróxido miliequivalente de Peróxido/Kg/muestra.

Utilizando el método de ensayos estándar de la AOAC 1998 (parte 965.33), realizado por el Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNAL).

- Índice de Acidez mg KOH necesario para neutralizar 1gr de muestra.

Usando el método de resultados analíticos internacional (AOAC 1998 parte 940.28), realizado por el Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNAL).

- Ácidos grasos libres,(% ácido oleico).Por el método de resultados analíticos internacional (AOAC 1998 parte 940.28), realizado por el Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNAL).

- Índice de Yodo, usando el método estándar de la AOAC 1995 AOCS (parte CD 1-25), realizado por el Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNAL).

### 3.2.1.5. Proceso de transesterificación a escala de laboratorio

Luego del proceso de caracterización del aceite se procedió a pesar la muestra de aceite, para calcular la titulación del aceite, con el hidróxido de potasio (KOH) p/v. con el cual se midió el volumen de gasto de la muestra.

La determinación del índice de acidez es por medio de la siguiente fórmula:

Formula a usar:

$$I. A = \frac{V \times N \times 56,1}{\text{gr muestra}}$$

I.A= Índice de acidez

V = Volumen en ml de la disolución de KOH 0.1 N utilizada

N= Normalidad exacta de la solución de KOH utilizada

Pm= Peso en gramos de la muestra

El índice de acidez obtenido determina la cantidad de (KOH) en perlas de miligramos a utilizarse en el proceso de transesterificación. Posteriormente se utilizó aproximadamente 250 ml de volumen de aceite neutro de los 2 litros de aceite obtenido. Luego se midió 50 ml de metanol y se mezcló en un matraz de Erlenmeyer con la cantidad de catalizador calculado (0.5% con relación a la acidez del aceite). La mezcla se agitó hasta disolver el catalizador (KOH) por completo. Posteriormente se calentó la muestra de aceite en el agitador magnético hasta una temperatura de 70°C. Luego el aceite en proceso se

mezcló con el (metóxido) metanol y el catalizador hidróxido de potasio (KOH). Así mismo permaneció en el agitador por 2 horas de calentamiento (tiempo de reacción de la transesterificación).

Terminado el tiempo de la reacción, la mezcla se colocó en una pera de decantación, por un espacio de 24 horas separándose en dos fases: glicerina y biodiesel; Se extrajo la glicerina para seguir tratando el biodiesel (producto final). (Castro y Col., 2007).

### **3.2.1.6. Purificación y rendimiento del biodiésel a escala de laboratorio**

- El lavado del producto final se realizó con agua del caño del laboratorio de Biorremediación con un pH: 7.74, CE: 3.45 Ds/m, Dureza.500 ppm.
- Por otro lado luego de realizar las etapas de lavado del biodiesel, para cumplir con los parámetros de operación, se realizó un filtrado para eliminar cualquier tipo de impurezas existente en la muestra.

Posteriormente se calculó el porcentaje de rendimiento del biodiesel como producto final a escala de laboratorio. (Castro y Col., 2007).

Formula a usar:

$\text{Rendimiento} = \frac{B \times 100}{A}$
A : volumen del aceite (ml)
B : volumen del biodiésel (ml)

### **3.2.1.7. Caracterización del biodiesel como producto final**

Para definir la calidad del producto final del Biodiesel; se determinaron los siguientes valores que cumpla con los estándares de calidad exigidos por las Normas Técnicas Peruanas (NTP), desarrollados en el centro de certificación, inspección y ensayos de productos petroléos, gas natural y derivados

(CERTIPETRO) de la Facultad de Ingeniería del Petróleo de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI).

1. Agua y sedimento %volumen.- Por el método de ensayo estándar de la ASTM D1796-97. Realizado por el Laboratorio CERTIPETRO de la Facultad de Ingeniería de Petróleo de la UNI.
2. Ceniza sulfatada %masa.- Por el método de ensayo estándar ASTM D482-03. Realizado por el Laboratorio CERTIPETRO de la Facultad de Ingeniería de Petróleo de la UNI.
3. Punto de fluidez °C.- Por el método de ensayo estándar ASTM D97-96<sup>a</sup>. Realizado por el Laboratorio CERTIPETRO de la Facultad de Ingeniería de Petróleo de la UNI.
4. Corrosión lamina de cobre 3h 50°C N°.- Por el método de ensayo estándar ASTM D130-04e1. Realizado por el Laboratorio CERTIPETRO de la Facultad de Ingeniería de Petróleo de la UNI.
5. Destilación C°(a 760 m m Hg). Por el método de ensayo estándar ASTM D86-07b. Realizado por el Laboratorio CERTIPETRO de la Facultad de Ingeniería de Petróleo de la UNI.

#### **IV. RESULTADOS**

**CUADRO Nº 02: Análisis de la composición del aceite de pescado hidrolizado en el Laboratorio de análisis químico La Universidad Nacional Agraria de la Molina – 2009**

<b>INFORME DE ENSAYOS N°046-2009-DQ</b>			
<b>Producto declarado</b>	<b>: Aceite de pescado.</b>		
<b>Marca</b>	<b>: s/n.</b>		
<b>Muestreado por</b>	<b>: Muestra proporcionada por el solicitante.</b>		
<b>Ensayos solicitados</b>	<b>: Físico / Químico.</b>		
<b>Fecha de ingreso</b>	<b>: 2009-01-23.</b>		
<b>Fecha de entrega de resultados:</b>	<b>2009-01-27.</b>		
<b>ENSAYO</b>	<b>UNIDADES</b>	<b>METODO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Índice de peróxido</b>	Miliequivalente de Peróxido/Kg/muestra.	(AOAC 1998 parte 965.33).	<b>10,6</b>
<b>Índice de acidez</b>	mg KOH/gr aceite para neutralizar 1gr de muestra.	(AOAC 1998 parte 940.28).	<b>3,05</b>
<b>Ácidos grasos libres</b>	%ácido oleico.	(AOAC 1998 parte 940.28).	<b>1,53</b>
<b>Índice de yodo</b>	-----	(AOCS parte CD 1_25)	<b>168,63</b>

**CUADRO Nº 03: Características del aceite de pescado hidrolizado obtenido según los valores establecidos en la Norma Técnica Peruana, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos .**

<b>ENSAYO</b>	<b>UNIDADES</b>	<b>ACEITE DE PESCADO</b>	<b>NTP 209.9001.1983</b>	<b>USDA</b>
<b>Índice de peróxido</b>	Meq O <sub>2</sub> /Kg	<b>10,6</b>	<b>&lt;5</b>	<b>100</b>
<b>Índice de acidez</b>	mg KOH/ 1gr	<b>3,05</b>	<b>&lt; 0.2</b>	<b>2</b>
<b>Ácidos grasos libres</b>	<b>%</b>	<b>1,53</b>	-----	-----
<b>Índice de yodo</b>	-----	<b>168,63</b>	-----	-----

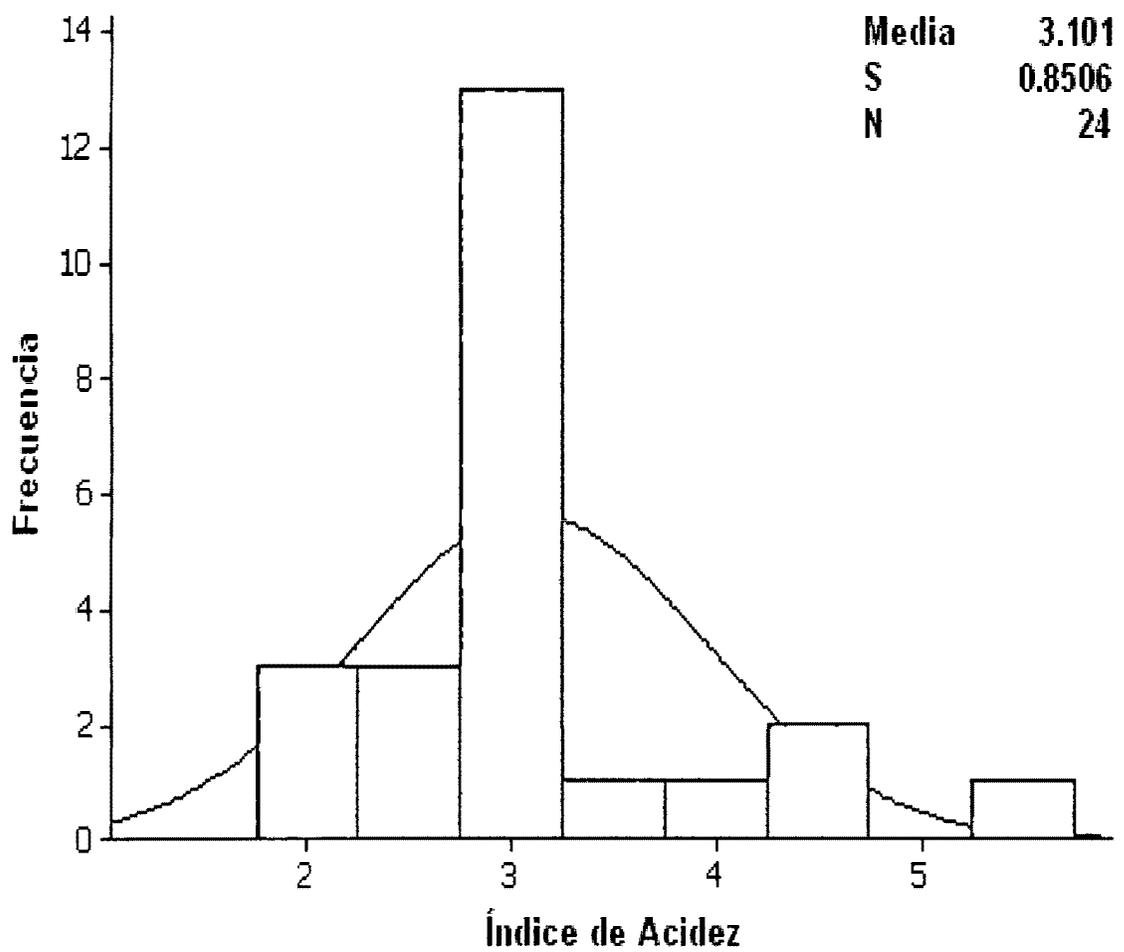
**CUADRO N° 04: Análisis de las características fisicoquímicas del biodiésel de aceite de pescado en el laboratorio de Certipetro de la Universidad Nacional de Ingeniería.**

<b>INFORME DE ENSAYOS N° IE-103109</b>			
<b>Solicitud para servicios de ensayos (n°)</b>		<b>: ss-011-09.</b>	
<b>Fecha de recepción de solicitud</b>		<b>: 2009-01-08.</b>	
<b>Ensayos/servicios solicitados</b>		<b>:05 ensayos fisicoquímicos.</b>	
<b>Producto (nombre genérico)</b>		<b>: biodiesel.</b>	
<b>Marca comercial o especial de las muestras</b>		<b>: ninguna.</b>	
<b>Numero de muestras recepcionadas</b>		<b>: 01.</b>	
<b>Cantidad de muestra decepcionada</b>		<b>: 800 mi apróx.</b>	
<b>Forma de presentación de las muestras</b>		<b>: envase de plástico.</b>	
<b>ENSAYOS</b>	<b>UNIDADES</b>	<b>METODO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Temperatura de destilación al 90%.</b>	<b>°C</b>	<b>(ASTM D86-07b)</b>	<b>364,5</b>
<b>Agua y sedimento</b>	<b>%volumen</b>	<b>(ASTM D1796-97)</b>	<b>0,0</b>
<b>Ceniza sulfatada</b>	<b>%masa</b>	<b>(ASTM D482-03)</b>	<b>0,001</b>
<b>Punto de fluidez</b>	<b>°C</b>	<b>(ASTM D97-96<sup>a</sup>)</b>	<b>0</b>
<b>Corrosión lámina de cobre</b>	<b>3h,50°C,N°</b>	<b>(ASTMD130-04e1)</b>	<b>N°1<sup>a</sup></b>

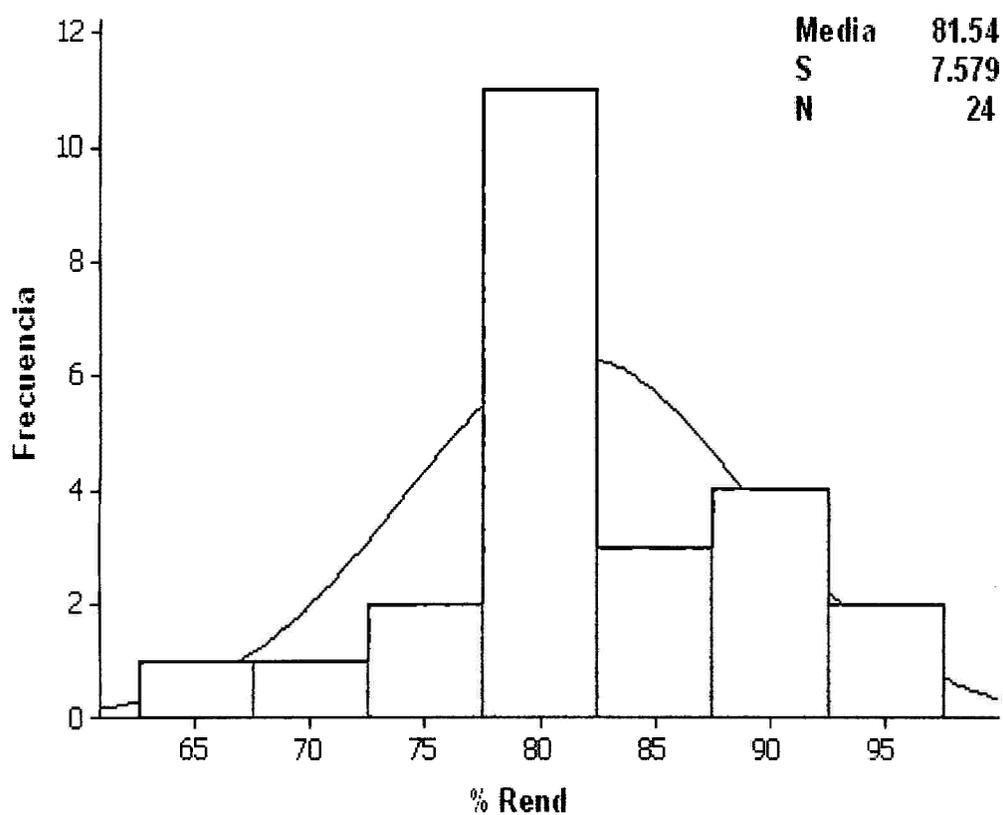
**Cuadro N° 05: Características del biodiésel de técnica Estadounidense (ASTM D6751-07) y la Europea (EN 14214), con el biodiésel de pescado obtenido.**

**ESPECIFICACIONES DEL BIODIESEL**

<b>Parámetros</b>	<b>Unid.</b>	<b>Norma técnica Estadounidense (ASTM D6751-07)</b>	<b>Norma técnica Europea (EN 14214)</b>	<b>Norma técnica Peruana (B 100)</b>	<b>Biodiesel de Pescado</b>
<b>Destilación 90% recuperado.</b>	<b>°C</b>	<b>360 Máx.</b>	<b>-----</b>	<b>360 Máx.</b>	<b>364,5</b>
<b>Punto de fluidez</b>	<b>°C</b>	<b>-----</b>	<b>-----</b>	<b>-----</b>	<b>0</b>
<b>Agua y sedimento</b>	<b>%vol</b>	<b>0.050 Máx.</b>	<b>0.050 Máx.</b>	<b>0.050 Max</b>	<b>0,0</b>
<b>Corrosión lamina de cobre</b>	<b>3h,50°c,n °</b>	<b>N°3 Máx.</b>	<b>N°1 Máx.</b>	<b>N°3</b>	<b>N°1</b>
<b>Ceniza sulfatada</b>	<b>%masa</b>	<b>0.020 Máx.</b>	<b>0.020 Máx.</b>	<b>0.020 Máx</b>	<b>0,001</b>



**GRAFICO N° 03: Frecuencia del índice de acidez en mg de KOH/gr de aceite hidrolizado para la obtención de biodiesel, Ayacucho – 2008.**



**GRAFICO N° 04: Frecuencia del porcentaje de rendimiento obtenido en las la cantidad de hidróxido de potasio (KOH) gr usado como catalizador en el proceso de Transesterificación del biodiesel, Ayacucho-2008.**

**CUADRO N° 06: Características de aceites en relación con los rendimientos de producción de biodiésel.**

Insumo	Aguaje	Umari	Tempate	Sacha Inchi	Palmiste	Castaña	Girasol	Soya	Palma	Pescado
Acidez del aceite	10	2	8	0.55	6.5	0.6	1.7	1.33	5.9	3.05
Rendimiento del Biodiesel	81.02%	90.58%	77.86%	96.50%	88.80%	97.50%	93.00%	95.25%	87.16%	80%

## V. DISCUSIÓN

Del cuadro nº 02: Análisis de la composición del aceite de pescado hidrolizado en el laboratorio de análisis químico La Universidad Nacional Agraria de la Molina –2009 se observa los resultados obtenidos:

El índice de acidez obtenido del aceite de los residuos de pescado con sus ácidos libres al someterse al alto grado de hidrolisis registra un Índice de acidez (IA) de 3,05 siendo favorable y cumpliendo con los estándares establecidos por la NTP (Norma Técnica Peruana) para ser usado como biodiesel; Porque los aceites comestibles establecidos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos; cumplen con un rango establecido de 0.2%. Se sabe que en Perú no hay normas que consideren rancios los aceites (Cruz y Col .,2002)

Por otro lado (Arango, 2002) nos muestra que los aceites y grasas refinados deben tener un nivel de ácidos grasos libres inferior al 0,2% como ácido oleico para ser aptos para su uso en alimentación (NTP 209.001.1983). Sin embargo, los aceites crudos y los usados previamente en frituras, así como el aceite de pescado comúnmente tienen un contenido de ácidos grasos libres significativamente superior a éste (2% o más).

Por lo tanto el Índice de acidez es importante en el proceso de producción del

biodiesel específicamente en el proceso de transesterificación ya que los ácidos grasos libres reaccionan con el catalizador (KOH) formando jabones y produciendo un menor rendimiento, se puede decir que existe una relación indirecta entre el índice de la acidez del aceite y el rendimiento por lo tanto a menor índice de acidez, mayor rendimiento obtenido en la transformación del biodiesel presentando mejores resultados (Castro y Col.,2007).

El índice de peróxido (IP) obtenido en el cuadro N°03 nos indicó un grado de oxidación de 10,6 esto quiere decir que el aceite no ha sido oxidado en su totalidad durante el proceso de hidrólisis. Por lo que no alcanzo el valor de 100 del (USDA) Departamento de Agricultura de los Estados Unidos establece los valores en aceites considerados rancios y no aptos para consumo. Esto permite estimar la calidad del aceite; relacionándose directamente con el índice de acidez del aceite obtenido, Por lo tanto nos garantiza que el aceite de pescado no ha sufrido enranciamiento o la presencia de malos olores. En el caso del aceite apto para el consumo humano se establece que debe tener un índice de peróxido inferior a 5 meq O<sub>2</sub>/kg (NTP 209.001.1983). (Castro y Col.,2007).

Según (Fennema.,1993) La oxidación de las grasas en general es una de las principales causas de su deterioro, dando lugar a la aparición de malos olores y sabores desagradables conocidos como los enranciamientos en los aceites.

El índice de yodo (IY) del análisis de aceite de pescado obtenido se encuentra en 168.63 miliequivalentes o partes de yodo absorbido por 100 partes de peso de sustancia. Esto nos muestra el numero de instauraciones del acido graso en el aceite de pescado, que están dentro del rango de diversos aceites y grasas. Siendo una característica de los aceites insaturados como el aceite de soya que se encuentra en un índice de yodo de 130 miliequivalentes o partes de yodo

absorbido, al igual que el aceite de linaza con 178 miliequivalentes o partes de yodo absorbido, estos índices de yodo al igual que el índice de yodo del aceite de pescado fluctúan dentro del rango de aceites óptimos para biodiesel. (Castro y Col.,2007).

Según Calais y Clark (2000), el índice de yodo del aceite de linaza se encuentra en un índice de yodo promedio de 183 N° miliequivalentes mayor que lo obtenido en escala de laboratorio; siendo este el más alto entre todos los índices de yodo promedio y el más bajo el aceite de palmiste que fluctúa en un 37 N° miliequivalentes. de índice de yodo.

Los ácidos grasos libres (AGL) del aceite de pescado que no se unió a un glicerol o alguna otra molécula en un aceite o grasa, nos indicó un valor de 1,53%. en este caso Según (Lawson, 1994) nos indica que la mayoría de aceites no refinados contienen cantidades relativamente altas de ácidos grasos libres (AGL) siendo estos óptimos para la producción de biodiesel. En el caso del aceite de soya crudo, por ejemplo, contiene típicamente entre 0,5 y 1,5%. El aceite crudo de palma contiene entre 3% y 5% de ácidos grasos libres. Los aceites y grasas refinados para uso alimenticio deben tener un nivel de ácido graso libre (AGL); inferior al 0,05%. La calidad del biodiésel es generalmente controlada en base a ciertos parámetros físicos y químicos establecidos por normas técnicas aprobadas en cada país. Las principales normas técnicas para el biodiésel son la Europea (EN 14214) y la Estadounidense (ASTM D6751-07).

Es importante recalcar que aunque es necesario garantizar una adecuada calidad para que los usuarios se animen a consumir el producto, los estándares de calidad deben estar de acuerdo con la realidad nacional. Copiar estándares

extranjeros puede constituir una barrera, ya que en muchos casos estos estándares son diseñados con el objetivo de controlar el mercado en lugar de facilitar su implementación (Matthews y O'Connor.,2006).En este caso también se considero la Norma Técnica Peruana del Biodiesel (NTP) B 100.

Según los resultados obtenidos en el Cuadro N° 04: Análisis de las características fisicoquímicas del biodiésel de aceite de pescado en el laboratorio de Certipetro de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI).

Se observa que la destilación°C (A 760 mm Hg). Utilizando el Método estándar destilación °C de productos derivados del petróleo a presión atmosférica (ASTM D86-07b) en el Biodiesel de pescado a escala de laboratorio y recuperado al 90%; es óptimo con un valor de 364.5 presentando una ligera variación con el establecido en la N.T.P: Norma Técnica Peruana del Biodiésel B100 que admite un valor máximo de 360; Así mismo las Normas Técnicas de calidad para Biodiesel Estadounidense (ASTM D6751-07) y la Norma Técnica Europea (EN 14214) no tiene establecido este parámetro.

El porcentaje de agua y sedimento %volumen. Por el Método estándar agua y sedimentos en los aceites combustibles (ASTM D1796-97) aplicado al Biodiesel de aceite de pescado se obtuvo un resultado de 0,0 óptimo, siendo menor al establecido en las Especificaciones de la Norma de Técnicas Peruanas (NTP) de 0,05 máx. Así mismo este estándar se mantiene igual para la Norma Técnica de Europa (EN 14214) y la Norma Técnica de Los Estados Unidos (ASTM D 6751-07). Según (ASTM,2005 e INDECOPI, 2005); este resultado nos muestra que si se logró hacer un buen lavado y por lo tanto no hubo una absorción de agua que pueden generar una corrosión y el desarrollo de microorganismos, tampoco se encontraron sedimentos o partículas que puedan causar problemas

de taponamientos en los filtros. Según Mittelbach (2002) indica que el biodiésel es más higroscópico que el diesel y tiende a absorber agua, por lo que no considera razonable una especificación para este parámetro.

Debido al buen lavado y no encontrar la presencia de agua y sedimentos, las cenizas sulfatadas %masa utilizando el Método Estándar cenizas de productos derivados del petróleo (ASTM D482-03). Resulto 0,001 siendo óptimo según las Normas técnicas de calidad para biodiesel en la Norma Técnica Peruana del Biodiesel N.T.P ;( B100) con su máximo valor permitido de 0,02 .De igual forma en la Norma técnica Estadounidense (ASTM D6751-07) su valor permitido es 0,02 máximo y en la Norma Europea (EN 14214) (Castro y Col., 2007).

Según (Fangrui.,1991) afirma que después de la transesterificación de triglicéridos, los productos son de mixtura de esteres, glicerol, alcohol, catalizador remanente, tri-,di- y monogliceridos que causan turbidez.

Según (Mittelbach.,1996 )la formación de las cenizas se deben a la presencia de materia inorgánica como impurezas que se encuentran en el catalizador; después del lavado, lo que contribuye a la formación de depósitos en el inyector, la bomba el pistón, el anillo y el motor.

El Punto de fluidez °C, por el método estándar punto de fluidez °C de productos derivados del petróleo (ASTMD97-96a); este valor nos permitido reportar el punto de niebla con un valor de 0, siendo óptimo este según las Normas técnicas de calidad para biodiesel, porque dependiendo del punto de fluidez se ve el nivel de taponamientos de los filtros de los vehículos; siendo específico para cada país la Norma establecida como la Norma técnica Estadounidense

(ASTM D6751-07); en la Norma Europea (EN 14214) (Castro y Col.,2007).

Corrosión Lamina de Cobre 3h,50°C,N°;utilizando el método.(ASTM D130-04e1)el valor obtenido de 1a, se encuentra dentro del valor establecido por la Norma Peruana Diesel 2 (NTP 321.003 2005 y D.S. 041-2005)38 porque el índice de corrosión a la lamina de cobre de N3, está establecido en la Técnica Estadounidense (ASTM D6751-07); y en la Norma Europea (EN 14214) se establece un máximo.

Se puede observar en el Gráfico Nº 03: en la frecuencia del índice de acidez en mg de KOH/gr de aceite hidrolizado para la obtención de biodiesel, Ayacucho – 2008. Usando el análisis estadístico básico descriptivo nos reportó una Media de 3,101; alcanzando una frecuencia de 3 de KOH/gr del Índice de acidez del aceite de pescado. Según José Calle (2003), en su informe opciones para la producción de biodiesel en el Perú. Sustenta las diferentes cantidades de índice de acidez obtenidos de los cultivos oleaginosos evaluados como el Umari con un índice de acidez de 2, comparando con el índice de acidez del aceite de pescado podemos observar que se encuentra dentro del rango a diferencia del índice de acidez del aceite de palma que tiene un rango de 5.9; Por lo tanto de establece una relación directa entre el índice de acidez y el rendimiento así la transformación en biodiesel tiene mejores resultados.

De los resultados obtenidos en el Grafico Nº 04: titulado Frecuencia del porcentaje de rendimiento obtenido la cantidad de hidróxido de potasio (KOH) gr, usando como catalizador (KOH) en el proceso de transesterificación del biodiesel, Ayacucho-2008.

Usando el análisis estadístico básico descriptivo se puede observar una frecuencia de un 80% de rendimiento óptimo encontrándose dentro del rango

para la producción de biodiesel, Podemos decir que existe una relación inversamente proporcional a menor uso de un catalizador hidróxido de potasio (KOH); mayor será el porcentaje de rendimiento obtenido. Según Calle (2003), en su informe de opciones para la producción de biodiesel en el Perú, manifiesta las diferentes calidades de aceites empleados, medidas en términos de los ácidos grasos libres que contienen y los rendimientos en la producción de biodiesel para cada uno de los insumos oleaginosos evaluados, como el aceite de palma con un rendimiento de 72.64% optimo; También se observa que el porcentaje del aguaje es de 81.02%. Por lo tanto se puede decir que el rendimiento del aceite de pescado se encuentra dentro del rango, sin ser de materia oleaginosa.

Observando el Cuadro N°06 : titulado características de aceites en relación con los rendimientos de producción de biodiesel, se muestran las diferentes calidades de los aceites empleados, medidas en términos de los ácidos grasos libres que contienen y los rendimientos en la producción de biodiesel para cada uno de los insumos oleaginosos evaluados. Se puede apreciar que existe una relación directa entre la acidez del aceite y el rendimiento de la transesterificación por catálisis alcalina. A menor índice de acidez, mayor rendimiento y por lo tanto la transformación del biodiesel tiene mejores resultados. En el caso del aceite de pescado al no ser de materia oleaginosa se puede observar que presenta un buen índice de acidez de 3.05 y con un rendimiento de 80%, mayor que el índice de acidez del Umari que se encuentra en 2 y con un rendimiento de 90.58%; encontrándose dentro del rango; por consiguiente en el caso del aceite de palma con un índice de 5.9 y un rendimiento de 87.16%; el palmiste con 6.5 respectivamente; y con un rendimiento de 88.80%, según Shay,(1996). La producción de biodiesel a partir de aceites vegetales no refinados con alto

contenido de ácidos grasos libres puede ser mucho más eficiente si se utiliza un paso previo de esterificación en medio ácido, proceso que recomiendan diversos artículos científicos para procesar también aceites y grasas de desecho (Mittelbachy Col., 1996).

## **VI. CONCLUSIONES**

- El presente trabajo de investigación ha demostrado que el proceso de transesterificación en el aceite de materia orgánica como el pescado son una buena opción para lograr un buen biodiésel, así logrando un mejor aprovechamiento en los residuos pesqueros.
- Se puede decir que el aceite generado de la hidrólisis enzimática con un índice de acidez de 3.05; puede ser aprovechado en la elaboración de biodiesel.
- Así mismo Las propiedades físicas y químicas del biodiesel del aceite de pescado se encuentran dentro de los límites de la Norma Técnica Peruana (NTP) e internacionales ASTM y europea que establecen para el biodiesel.
- Tomando en cuenta el rendimiento obtenido de 80%; respecto a otros biodiesel de origen oleaginoso se puede decir que el biodiesel de pescado es óptimo de ser usado como biocombustible.

## VII. RECOMENDACIONES

- En base a los resultados obtenidos se proponen las siguientes recomendaciones:
- Se recomienda una buena colecta del aceite después de la hidrólisis enzimática; porque por este motivo se puede perder materia prima.
- Es recomendable tomar en cuenta el índice de acidez de la muestra; para calcular la cantidad de catalizador necesario para el proceso de transesterificación, esto garantizará la buena separación del biodiesel con el glicerol.
- Se recomienda realizar una buena separación del biodiesel; luego de realizarse el proceso de transesterificación, porque se puede arrastrar metanol existente en el ensayo.
- Se recomienda realizar bien el proceso de purificación del biodiesel, para eliminar las impurezas existentes y lograr obtener un buen producto y este cumpla con las Normas Técnicas establecidas.
- Se recomienda realizar más estudios que busquen el aprovechamiento de otras materias de descarte en la obtención de biodiesel.

### VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Adler-Nissen, J** 1976. Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility. *Journal Agriculture Food Chemical*. Vol. 24, N°6. 1090-1094.
2. **Arango, G.** 2002. **Metabolitos primaries de interes farmacognosico.** Universidad de Antioquia. Medellin, Colombia.
3. **Berenz, Z** 1997. Procesamiento de ensilado de pescado. En XII curso internacional: tecnología de procesamiento de productos pesqueros. ITP. Callao. 49p.
4. **Bossio, F** 2007. **Obtención de un biofertilizante basado en residuos de pescado y roca fosfatasa.** Tesis (Biologo). Lima,Perú.Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias.46p.
5. **Castro, P. Coello, J. Castillo, L** 2007. **Opciones para la Producción y uso del Biodiesel en el Perú .**Primera Edición .Hecho el depósito legal en la Biblioteca Nacional del Perú N°2007-04879. Disponible en: [URL:http://www.solucionespracticas.org.pe/publicaciones/Biodiesel/1/castillopdf](http://www.solucionespracticas.org.pe/publicaciones/Biodiesel/1/castillopdf)
6. **Calais P.,Clark A.R.** 2000 .Waste vegetable oils as a diesel replacement fuel.Perth,Australia: Murdoch University y Western Australian Renewable Fuels Association.clark\_NO-SPAM@arach.net.au. Abstract. In the past, waste edible oils and ..This paperdiscusses the use of waste vegetablo and animal oils and fats as disponible en: [URL:http://www.shortcircuit.com.au/warfa/paper/paper.htm](http://www.shortcircuit.com.au/warfa/paper/paper.htm)
7. **Coello, J. y Gnecco, M** 2000. **El Biodiesel.** Documento interno de Soluciones prácticas, tecnologías desafiando la pobreza (ITDG).Lima - Perú. Disponible en: [URL:http://www.solucionespracticas.org.pe/.](http://www.solucionespracticas.org.pe/)
8. **Cruz, E. y Huamán** 2002. **Formación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y del 3,4- Benzopireno en aceites comestibles alterados por recalentamiento.** Tesis (Químico Farmacéutico).Lima, Perú Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
9. **Chávez, S** 1980. **Elaboración de un hidrolizado de pescado por métodos químico y enzimático.**Tesis Bach. Ing.Pesquero. Lima, Perú.UNALM.80 p.
10. **Daly, A** 2003. **La industria oleaginoso peruana: situación actual y perspectivas.** En: Primer Encuentro Nacional de Palma Aceitera-ProAmazonia,Lima.
11. **FAO.** 2007. **State of the World's Forests 2007.** Roma: FAO.State of the

World's Forests 2007. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 2007 ... Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy. Disponible en URL:

<http://www.fao.org/docrep/009/a0773e/a0773e00.HTM>.

12. **FAO.** 2003. Cambios post-mortem en el pescado. En: El pescado fresco: su calidad y cambios. FAO documento técnico de pesca. N°348. Disponible en URL: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/V7180S06.HTM>
13. **Fangrui, M. Y Milford, A** 1999. Biodiesel production: a review. Lincoln, Nebraska: Bioresource Technology.
14. **Fennema O.R.** 1993. Química de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia.
15. **Fernández, A** 2001. Elaboración de un hidrolizado de residuos de pescado por fermentación en sustrato sólido con hongos filamentosos. Tesis Ing. Pesquero, UNALM. Lima.
16. **Figallo, V** 2001. Elaboración de un jarabe de glucosa a partir de grano de maíz morado (*Zea Mays L.* variedad Morado Canteño) mediante hidrólisis enzimática. Tesis -UNALM. Fac. Ind. Alimentarias. Lima.
17. **Friedrich, S** 2004. A world wide review of the commercial production of biodiesel – A technological, economic and ecological investigation based on case studies. Schriftenreihe Umweltschutz und Ressourcenökonomie. Band 41. Viena: Institut für Technologie und nachhaltiges Produktmanagement der Wirtschaftsuniversität.
18. **Guadix, A. Guadix, E. Paez-Dueñas, M. Gonzales-Tello, P. y Camacho, F.** 2000. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars pharmaceutica*. Vol. 41 N°1. 79-89.
19. **INDECOPI,** 1983. Norma Técnica Peruana NTP 209.001.1983: Definiciones y Requisitos Generales para un aceite comestible Lima.
20. **INDECOPI,** 2005. Norma Técnica Peruana NTP 321.003.2005: Petróleo y Derivados: Diesel especificaciones. Lima; 1983. Especificaciones, 1ª Edición, disponible en: En URL <http://bvirtual.indecopi.gob.pe/normas/321.125.pdf> HTM
21. **José Calle,** 2003. En su informe opciones para la producción de biodiesel en el Perú, disponible en: En URL <http://www.solucionespracticas.org.pe/publicaciones/Biodiesel/1/castillo.pdf>

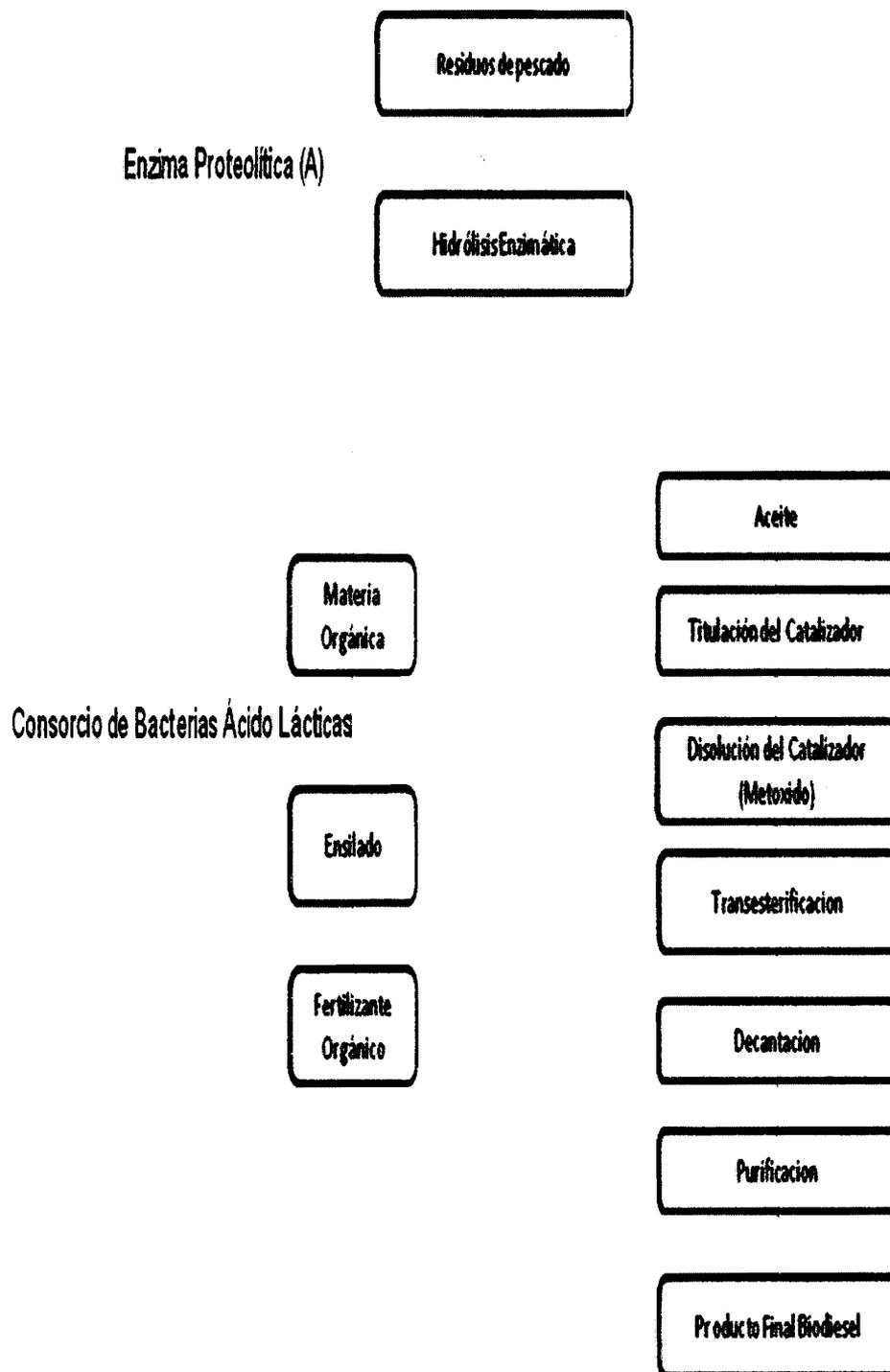
22. **Knuckey, I. Sinclair, C. Surapaneni, A. and Ashcroft, W. 2004.** Utilization of seafood processing waste – challenges and opportunities. En 3<sup>rd</sup> Australian New Zealand Soils Conference. [www.regional.org.au/au/assi/](http://www.regional.org.au/au/assi/)
23. **Lawson, H. 1994.** Aceites y grasas alimentarios. Tecnología, utilización y nutrición. Zaragoza, España. Editorial Acribia.
24. **MTC. 2001.** Iniciativa Aire Limpio para Lima y Callao Perú. Ministerio de Transportes y Comunicaciones.
25. **Matthews W.G, O Connor D 2006.** Analizar la aplicabilidad de los Biocombustibles en el Perú. Lima: Ministerio de Energía y Minas- Dirección General de Hidrocarburos. Perú Hydrocarbon Assistance Project. 74 pp.
26. **Ministerio de la Producción - Viceministerio de Pesquería, 2010.** La producción, motor del crecimiento disponible en: URL <http://www.produce.gob.pe/.../apsportalproduce/pesqueria?>
27. **Mittelbach, M. 2002.** Experience with Biodiésel from Used Frying Oil in Austria. Osterreich, Austria: Institute for Chemistry. Working Group Renewable Resources.
28. **Mittelbach, M 1996.** Diesel fuel derived from vegetable oils, VI: Specifications and quality control of biodiesel. En: Bioresource Technology. Vol. 56.
29. **Neilands, J. 1967.** Principios de Enzimología. Segunda edición. Madrid, John Wiley and Sons Inc. 437 p.
30. **Ockerman, H. y Hansen, C 1994.** Industrialización de subproductos de origen animal. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España).
31. **Pahl, G 2004.** Biodiesel Growing a New Energy Economy. USA: Chelsea Green Publishing. 224; 2005.
32. **Pizardi, C 1997.** Situación de la Producción de Harina de Pescado en el Perú. En: "VI Congreso Nacional de Pesquería". Arequipa-Perú.
33. **PRODUCE Direpro y Empresas Privadas, 2010.** La producción motor del crecimiento para Lima-Perú. disponible en: En URL <http://www.produce.gob.pe/HTM>
34. **Ruiter, A 1995.** El pescado y los productos derivados de la pesca: composición propiedades nutritivas y estabilidad .Ed. Acribia. S.A., Zaragoza (416 p).
35. **Rustad, T 2004.** Utilization of marine by-products. Disponible en :URL

<http://www.onlinelibrary.wiley.com>

36. **Shay, E** 1993. Diesel fuel from vegetable oil: status and opportunities. *Biomass Bioenergy* 4(4): 227–42.
37. **Schuchardt, U., Sercheli,R., y Matheus,R.** 1997. Transesterification of Vegetable Oils .Campinas, Brasil: Instituto de Química, Universidad Estatal de Campinas.
38. **Van Gerpen, J., and Canakci, M.** 2001. Comparison of Engine Performance and Emissions for Petroleum Diesel Fuel, Yellow Grease Biodiesel, and Soybean Oil Biodiesel. Annual International Meeting Sacramento Convention (ASAE).California, USA.
39. **Wiseman, A.** 1991. Manual de Biotecnología de las Enzimas. Editorial Acribia, S.A Zaragoza-España.

## **ANEXOS**

**DIAGRAMA DE FLUJO DE LA OBTENCIÓN DE BIODIESEL DE RESIDUOS DE PESCADO**



**RESIDUOS DE PESCADO: Materia prima para la preparación del biodiésel.**

**Fotografía n°1: Pesado de los residuos de pescado**



**Fotografía n°2: Muestra a trabajar de residuos de pescado**



**El ACEITE es la principal materia prima para producir el biodiésel.**

**Fotografía nº3: Aceite recolectado de los residuos de pescado.**



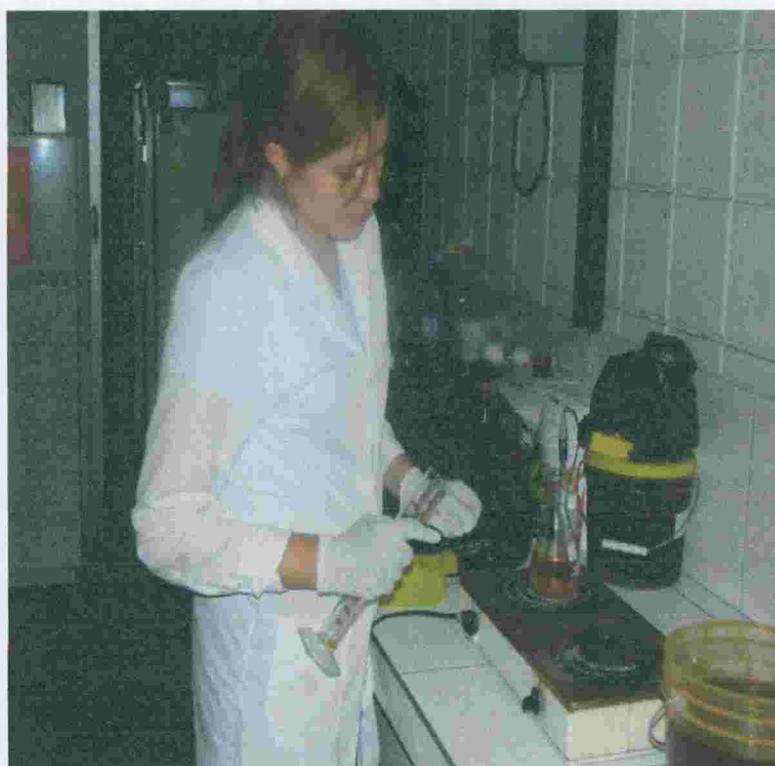
**Fotografía nº4 : Aceite listo para la preparación de biodiesel.**



**Fotografía nº5: Filtrando el aceite de pescado para empezar el proceso.**



**Fotografía nº6 : Extracción del agua del aceite.**



**TITULACIÓN:** en esta etapa se calcula la cantidad de catalizador a utilizar y se mide la acidez del aceite.

**Fotografía n°7: Pesando el aceite de pescado**



**Fotografía n°8: Comenzando el proceso de titulación**



**Fotografía n°9: Neutralización del alcohol**



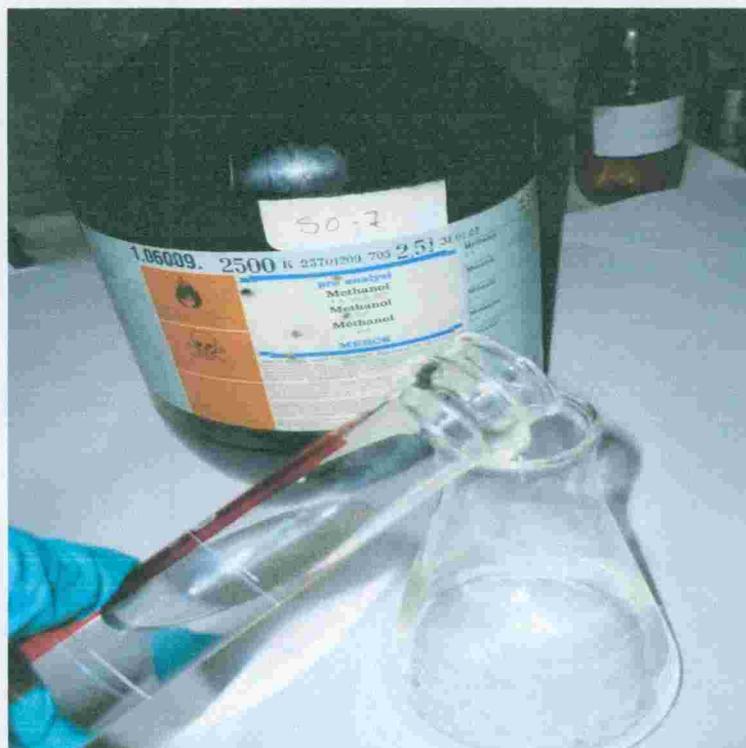
**Fotografía n°10: Titulando las muestras de aceite de pescado**



**Fotografía nº11: Disolución del catalizador: es la mezcla del (metanol) con el catalizador (hidróxido de sodio o potasio).**



**Fotografía nº12: Mezcla el catalizador con el metanol**



**Fotografía n°13: Proceso de Transesterificación, reacción química que separa la glicerina del aceite.**



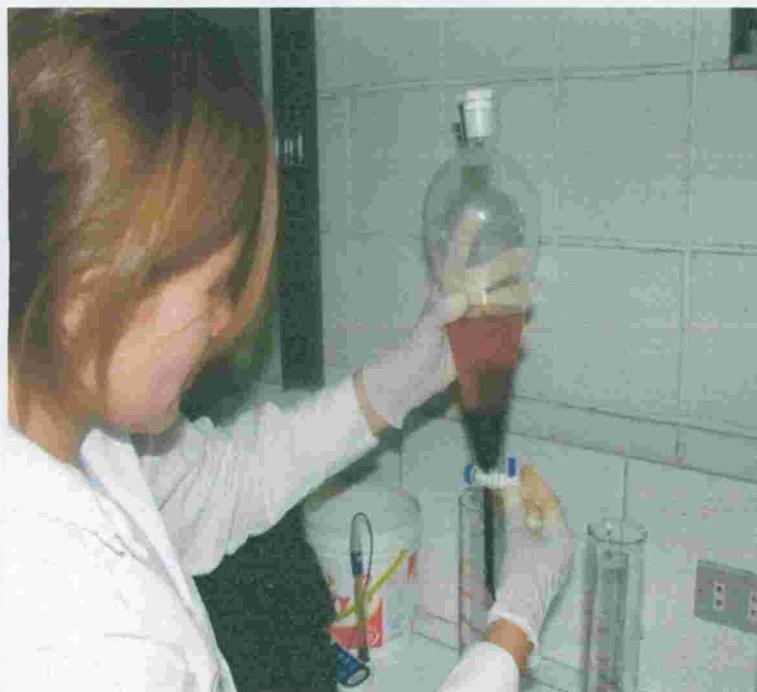
**Fotografía n°14: Agregando el metoxido, para la separación del biodiesel glicerol**



**Fotografía n°15: Decantación etapa en que se separa el biodiésel de la glicerina.**



**Fotografía n°16: Separación del biodiesel y la glicerina en la pera de decantación**



**Fotografía n°17: Purificación en esta etapa se eliminan los residuos que quedaron luego del proceso.**



**Fotografía n°18: El biodiésel es sometido a un proceso de lavado**



**Fotografía nº19: Separación manual del biodiesel**



**Fotografía nº20: Producto Final**



**CUADRO 07 : Parámetros evaluados en la obtención del biodiesel a partir de los residuos de pescado Ayacucho -2008.**

<b>Acidez del aceite mgKOH/gr aceite</b>	<b>Cantidad de biodiesel ml</b>	<b>%porcentaje rendimiento biodiesel</b>	<b>Peso de catalizador en gr</b>	<b>Cantidad de aceite mi</b>	<b>Cantidad de glicerol enml</b>
4.72	198	79.2	3.18	198	160
2.25	194	77.6	2.56	235	48
4.72	198	79.2	3.18	205	160
2.25	194	77.6	2.56	235	48
1.98	205	82.0	2.50	250	35
2.23	200	80.0	2.56	245	35
3.05	200	80.0	2.77	238	38
5.33	210	84.0	3.33	235	48
3.14	240	96.0	2.78	255	29
3.90	210	84.0	2.98	245	35
2.97	160	64.0	2.74	225	36
2.93	182	72.8	2.73	225	36
3.04	172	68.8	2.76	220	60
1.89	220	88.0	2.47	248	35
3.53	214	85.6	2.80	230	35
2.80	204	81.6	2.99	240	49
2.50	224	89.6	2.50	230	52
2.80	200	80.0	2.38	220	38
3.21	248	81.2	2.87	240	39
2.95	185	74.5	3.18	239	39

Parámetro	Unidad de medida	Norma Estadounidense Biodiésel (ASTM D6751-07)	Norma Europea Biodiésel (EN 14214)	Norma Peruana Diésel 2 (NTP 321.003 2005 y D.S. 041-2005) <sup>**</sup>
<b>VOLATILIDAD</b>				
Punto de inflamación	°C	130 mín.	120 mín.	55 mín. (52 mín.)
Temperatura de destilación, 90% de recuperación	°C	360 máx.		(282 – 360)
Temperatura de destilación, 95% de recuperación	°C			360 máx. (no indica)
Destilado recuperado a 250°C	% vol			65 máx. (no indica)
Destilado recuperado a 350°C	g/cm <sup>3</sup>			80 mín. (no indica)
Densidad a 15°C			0,86 – 0,90	0,82 – 0,845 (reportar)
<b>FLUIDEZ</b>				
Viscosidad cinemática a 40°C	mm <sup>2</sup> /s	1,9 – 6,0	3,5 – 5,0	2,0 – 4,5 (1,7 – 4,1 para el diésel y 1,9 – 4,1 para el diésel especial) (4 máx.)
Punto de escurrimiento	°C			
Punto de niebla	°C	Reportar al consumidor		
Punto de taponamiento de filtros	°C		Específico para cada país	
<b>CONTAMINANTES</b>				
Agua y sedimentos	% vol.	0,05 máx.	0,05 máx.	0,05 máx. (0,05 máx.)
Material particulado	mg/L			24 máx. (no indica)
Contaminación total	% peso		0,0024 máx.	

<sup>\*\*</sup> El Decreto Supremo 041-2005 aprobó unas nuevas especificaciones para el Diésel 2 a ser utilizado en el Perú, en reemplazo de las especificaciones indicadas en la NTP 321.003. El mismo Decreto Supremo establece que la NTP será de aplicación recién a partir del 2010, para dar tiempo a los productores a adaptarse a sus requerimientos más estrictos. En el cuadro, los cambios introducidos por el DS 041-2005 se encuentran entre paréntesis y

Parámetro	Unidad de medida	Norma Estadounidense Biodiésel (ASTM D6751-07)	Norma Europea Biodiésel (EN 14214)	Norma Peruana Diésel 2 (NTP 321.003 2005 y D.S. 041-2005) <sup>38</sup>
Azufre total	% peso	0,0015 máx. (S15), 0,05 máx. (S500)*	0,001 máx.	0,035 máx (S350), 0,005 máx. (S50) (0,5 máx. para el Diésel 2 y 0,05 máx. para el Diésel 2 Especial)
<b>CORROSIVIDAD Y ESTABILIDAD</b>				
Corrosión de lámina de cobre	Horas	No. 3 máx.	No. 1 máx	No. 1 máx. (No. 3 máx.)
Estabilidad a la oxidación a 110°C	mg/100 ml	3 min.	6 min.	
Estabilidad a la oxidación	mm			25 máx. (no indica)
Lubricidad, diámetro rasgado de uso corregido, HFRR a 60°C				0,46 máx. (no indica)
<b>COMPOSICIÓN</b>				
Número de cetano		47 mín.	51 mín.	51 mín. (45 mín. para Diésel 2 y 50 mín. para Diésel 2 Especial)
Índice de cetano				46 mín. (40 mín. para Diésel 2 y 45 mín. para Diésel 2 Especial)
Ceniza sulfatada	% peso	0,02 máx.	0,02 máx.	
Cenizas	% peso			0,01 máx. (0,01 máx.)
Residuo de carbón	% peso	0,05 máx.**		0,3 máx. (0,35 máx.)***
Residuo de carbón del 10% del destilado	% peso		0,3 máx.	
Índice de acidez	mg KOH/g	0,50 máx.	0,50 máx.	0,08 máx. (no indica)
Índice de yodo			120 máx.	
Glicerina libre	% peso	0,02 máx.	0,02 máx.	

ANEXO A  
(NORMATIVO)

BIODIESEL. ESPECIFICACIONES

TABLA 1 – Especificaciones del Biodiesel (B100)

Propiedad	Método de Ensayo (a)	Biodiesel B100	Unidades
Contenido de calcio y magnesio combinado	EN 14538	5 Máx	ppm ( $\mu\text{g/g}$ )
Punto de inflamación. (Copa cerrada)	ASTM D93	93 min.	$^{\circ}\text{C}$
Control de Alcohol (uno de los siguientes debe ser cumplido):			
1. Contenido de Metanol 2. Punto de inflamación	EN14110 ASTM D93	0.2 Máx. 130.0 min.	$\% \text{ volumen}$ $^{\circ}\text{C}$
Agua y sedimento	ASTM D2709	0.050 Máx.	$\% \text{ volumen}$
Viscosidad cinemática a 40 $^{\circ}\text{C}$	ASTM D445	1.9–6.0(b)	$\text{mm}^2/\text{s}$
Ceniza sulfatada	ASTM D 874	0.020 Máx.	$\% \text{ masa}$
Azúfre (c)	ASTM D5453	0.0015 Máx. (15)	$\% \text{ masa (ppm)}$
Corrosión a la lámina de cobre	ASTM D 130	N $^{\circ}$ 3	
Numero Cetano	ASTM D613	47 min.	
Punto nube	ASTM D2500	Reportar (d)	$^{\circ}\text{C}$
Residuo de carbón (e)	ASTM D4530	0.050 Máx.	$\% \text{ masa}$
Numero acidez	ASTM D664	0.50 Máx.	$\text{MgKOH/g}$
Glicerina libre	ASTM D 6584	0.020 Max.	$\% \text{ masa}$
Glicerina total	ASTM D6584	0.240 Máx.	$\% \text{ masa}$
Contenido de fósforo	ASTM D 4951	0.001 Máx.	$\% \text{ masa}$
Temperatura de destilación. Temperatura del 90% de recuperado equivalente a presión atmosférica.	ASTM D 1160	360 Máx.	$^{\circ}\text{C}$
Contenido de sodio y potasio combinado	EN14538	5 Máx.	ppm ( $\mu\text{g/g}$ )
Estabilidad a la oxidación	EN 14112	3 min.	horas

(a) Los métodos de ensayo indicados son los aprobados como métodos directos. Otros métodos aceptables, se listan en el apartado 5.1

(b) Véase B.3.1. El límite de viscosidad de 6.0  $\text{mm}^2/\text{s}$  es mayor que el del combustible diesel derivado del petróleo lo que debe tomarse en cuenta cuando se mezclan, o cuando se use como B100 puro.

(c) Pueden ser de aplicación otras limitaciones del contenido de azúfre en determinadas áreas del territorio nacional.

(d) El punto de nube del biodiesel es generalmente mayor que el del combustible diesel derivado del petróleo lo que debe tomarse en cuenta cuando se mezclan, o cuando se use como B100 puro.

(e) El residuo de carbón debe ser realizado sobre el 100% de la muestra (véase 5.1.10)



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



**INFORME DE ENSAYOS**  
N° 046-2009-DQ

Solicitante : JUAN JUSCAMAITA  
Fecha de Ingreso : 23 de Enero 2009.  
Producto declarado : ACEITE DE PESCADO.  
Marca : s/m  
Muestreado por : Muestra proporcionado por el solicitante  
Ensayos solicitados : FISICO/QUIMICO.  
Fecha de Entrega de Resultado : 27 de Enero 2008.

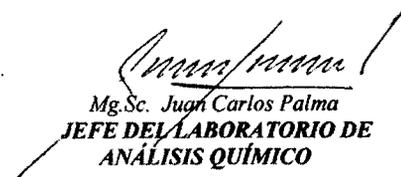
**ENSAYOS FISICO/QUIMICOS:**

ENSAYO	RESULTADOS
1.- Índice de Peroxido (miliequivalente de Peroxido / kg de muestra)	10.60
2.- Índice de Acidez (mg KOH necesarios para neutralizar 1g de muestra)	3.05
3.- Ácidos Grasos Libres.% Acido Oleico	1.53
4.-Índice de Yodo	168.63

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:**

- 1.-AOAC 1998 parte 965.33
- 2.-AOAC 1998 parte 940.28
- 3.-AOAC 1998 parte 940.28
- 4.-AOCS parte CD 1-25

Atentamente :

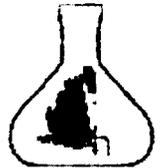
  
Mg.Sc. Juan Carlos Palma  
JEFE DEL LABORATORIO DE  
ANÁLISIS QUÍMICO



  
Mg.Sc. Elva María Ríos Ríos  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE  
QUÍMICA



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**  
**Facultad de Ingeniería de Petróleo, Gas Natural y Petroquímica**



**CERTIPETRO**

CEP-100 DE ESTADÍSTICA - MARZO DE 2005 - 003  
 VÁLIDA HASTA EL 31 DE MARZO DE 2005

**INFORME DE ENSAYOS Nº IE -103109**

IEP-103109/Página 1 de 1

1. INFORMACIÓN GENERAL DEL SOLICITANTE				
1.1	Nombre de Norma Legal	JUAN JUSCAMAITA MORALES		
1.2	Dirección Legal	Av. La Jirca s/cada B/N La Molina-La Vidua		
1.3	Provincia/Departamento	Lima/Lima		
1.4	Teléfono/Fax	9368-80535/9368-39772		
1.5	Registro Único de Contribuyente (RUC)			
1.6	Solicitud para Servicios de Ensayos (SSE)	88471-01		
1.7	Forma de Entrega de Resultados	PUNTO-CO		
1.8	Fecha de Recibo de Solicitud	20 de Mayo de 2005		
2. INFORMACIÓN DEL PRODUCTO				
2.1	Producto (Nombre Comercial)	Diodiesel		
2.2	Identificación de las Muestras Recogidas			
2.3	Marca Comercial/Espécimen de las Muestras	Ninguna		
2.4	Información de Muestras Recogidas	SI		
2.5	Cantidad de Muestra Recogida	600 ml aprox		
2.6	Forma de Presentación de las Muestras	Envase de Plástico		
3. RESULTADOS				
Item	ENSAYOS	MÉTODO DE ENSAYO APLICADO	RESULTADOS OBTENIDOS	INDETERMINACIÓN
3.1	Desviación FC (p. 760 a 1mg/l) Punto inicial 10% Recuperado 50% Recuperado 90% Recuperado TUNCP (%) Recuperado (Svol.) Residuo (Svol.) Pérdida (Svol.)	ASTM D6752	152.5 31.25 326.5 364.5 365.5 36.0 3.0	± 2.40 ± 4.12 ± 4.20 ± 4.68 14.68
3.2	Aqua y Sedimentos, %w/w	ASTM D1788-02	0.0	
3.3	Centígrafos, %w/w	ASTM D1788-02	100	
3.4	Punto de Fluidez, °C	ASTM D97-99e	2	
3.5	Composición Lubrificante Grupos I, II, III, IV, V	ASTM D1561-02e1	1a	
4. OBSERVACIONES				
<p>- Los resultados de los ensayos, en los cuales se usó el método de ensayo 42, se expresan en %w/w.</p> <p>- Especificación de aceite de motor: Normas de Ensayos.</p> <p>- El método de ensayo utilizado para determinar el punto de fluidez, en este caso, fue el método de ensayo ASTM D97-99e.</p> <p>- Los resultados de los ensayos de recuperación de los volúmenes de muestra, expresados en %w/w, se expresan en %w/w.</p> <p>- El método de ensayo utilizado para determinar el punto de fluidez, en este caso, fue el método de ensayo ASTM D97-99e.</p> <p>- El método de ensayo utilizado para determinar el punto de fluidez, en este caso, fue el método de ensayo ASTM D97-99e.</p> <p>- El método de ensayo utilizado para determinar el punto de fluidez, en este caso, fue el método de ensayo ASTM D97-99e.</p> <p>- El método de ensayo utilizado para determinar el punto de fluidez, en este caso, fue el método de ensayo ASTM D97-99e.</p>				
 <b>ING. EDGAR ARGUMENTO CHAVEZ</b> DIRECTOR TÉCNICO del DE CERTIPETRO				

Formulario TL-05-03



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

---

## CONSTANCIA

Hace constar que la Srta **JANE CASANDRA HUAYTA BENTES**, realizó los ensayos correspondientes en la obtención de biodiésel de residuos de pescado; en el Laboratorio de Biorremediación de la Facultad de Ciencias.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para fines que estime conveniente.

La Molina, 24 de noviembre del 2009.



 Elgo Juan Huacama Mora

**RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BIORREMEDIACION**

**Acta de Sustentación de Tesis  
RDN° 018-2011-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las tres de la tarde del día lunes diecisiete de Enero del año dos mil once, reunido el jurado de tesis en el auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presencia del Master en Ciencias Elmer Avalos Pérez como Decano de la Facultad y miembro calificador y con la asistencia de los docentes Mg. Fidel Mujica Lengua; Mg. Jesús Paniagua Segovia; Mg. Edwin Portal Quicaña (cuarto jurado), actuando como secretario docente encargado según memorando N° 037-2011-UNSC-FCB el Mg. Edwin Portal Quicaña para administrar y recepcionar la tesis: "Obtención de Biodiesel a partir de residuos de pescado Ayacucho-2008" presentado por el Bachiller en Ciencias Biológicas Jane Casandra Huayta Benites quien pretende optar el Título profesional de Biólogo en la especialidad de Recursos Naturales y Ecología.

El Decano inicia la primera etapa del acto de sustentación, solicitando al secretario docente la verificación de los documentos en mesa presentados por el suscrito y la lectura de la Resolución Decanal N°018-20011-FCB-D, de fecha de 14 de Enero del 2011, luego del cual instruye a la sustentante los aspectos relacionados a la exposición del trabajo de investigación durante el tiempo correspondiente de cuarenta y cinco minutos y para la evaluación por parte de los docentes de treinta minutos como máximo.

Culminada la exposición de la sustentante, se inicia la segunda parte del acto de sustentación en la que los jurados, realizaran las observaciones y preguntas que crean convenientes.

Inicia la evaluación el profesor Edwin Portal Quicaña, luego el Prof. Jesús Paniagua Segovia, Prof. Fidel Mujica Lengua y por ultimo el profesor Elmer Avalos Pérez como asesor del trabajo.

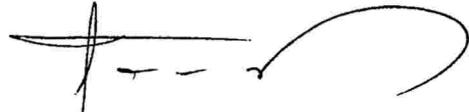
Seguidamente el Decano solicita a la sustentante y publico en general que abandonen el auditorium, para que el jurado pueda deliverar y calificar como sigue:

Jurado calificador	Exposición	Rpta a preguntas	Promedio
MSc. Elmer Avalos Pérez	17	17	17
Mg. Fidel Mujica Lengua	15	15	15
Mg. Jesús Paniagua Segovia	14	14	14
Mg. Edwin Portal Quicaña	15	15	15

Luego de la evaluación, la sustentante obtuvo la nota o calificación promedio de QUINCE (15) de lo cual dan fe el jurado calificador estampando su firma al pie de la presente. Concluye el acto de sustentación.

  
MSc. Elmer Avalos Pérez  
Presidente-Miembro Asesor

  
Mg. Fidel Mujica Lengua  
Miembro

  
Mg. Jesús Paniagua Segovia  
Miembro

  
Mg. Edwin Portal Quicaña  
Cuarto Jurado - Secretario docente