

**Producción de biodiesel de piñón manso
(*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis
guineensis*) por transesterificación enzimática
con Callera Trans L**

Mathew Cedeño Avellán

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Octubre, 2014

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Producción de biodiesel de piñón manso
(*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis
guineensis*) por transesterificación enzimática
con Callera Trans L**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Mathew Cedeño Avellán

Zamorano, Honduras

Octubre, 2014

Producción de biodiesel de piñón manso (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) por transesterificación enzimática con Callera Trans L

Presentado por:

Mathew Cedeño Avellán

Aprobado:

Juan A. Ruano, D.Sc.
Asesor principal

Luis F. Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de
Agroindustria Alimentaria

Jorge A. Cardona, Ph.D.
Asesor

Raúl H. Hernán Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Francisco J. Bueso, Ph.D.

Producción de biodiesel de piñón manso (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) por transesterificación enzimática con Callera Trans L.

Mathew Cedeño Avellán

Resumen: Este estudio aborda el desarrollo de combustibles de segunda generación, evaluando el rendimiento y características químicas del biodiesel de Piñón manso (*Jatropha curcas*) y Palma africana (*Elaeis guineensis*) utilizando dos métodos de catálisis enzimática con Callera Trans L comparándola con un catalizador básico (NaOH). Para la catálisis enzimática se utilizaron las condiciones óptimas determinadas por Nielsen y los parámetros determinados en el LAAZ después de ensayos preliminares. Se utilizó un DCA con un arreglo factorial 2×3, dos tipos de aceite por tres métodos de catálisis, con 2 repeticiones. Se utilizó un ANDEVA y separación de medias LSMeans cuando hubo interacción y separación de medias Duncan cuando no hubo interacción con significancia de 0.05 en el programa SAS 9.4. Se midió rendimiento, humedad, índice de estabilidad oxidativa (OSI) y ácidos grasos libres, perfil de ácidos grasos e índice de cetanos usando métodos oficiales de la AOCS y AOAC. El rendimiento de Biodiesel fue afectado por el tipo de aceite (P=0.03), el rendimiento de biodiesel de Palma (94.7%) fue superior al rendimiento de Piñón (90.3%), no existieron diferencias significativas entre el método de catálisis usada (P=0.06), ni interacción entre el método usado (P=0.13). Los estándares de la Norma ASTM D6751 para ácidos grasos libres se cumplieron para la catálisis básica, los índices de estabilidad oxidativa de se cumplieron para el biodiesel elaborado con Palma africana, el parámetro humedad no se cumplió en ningún tratamiento debido al método de cuantificación. Se recomienda agregar antioxidantes al biodiesel para que cumplan los parámetros de la Norma y cambiar mejorar extracción de la planta.

Palabras claves: Ácidos grasos libres, ASTM D6751, DIN V 51 605, estabilidad oxidativa.

Abstract: This study addresses the development of second generation biofuels, assessing performance and chemical characteristics of biodiesel from pinion (*Jatropha curcas*) and african palm (*Elaeis guineensis*) using two methods of enzymatic catalysis with Callera Trans L and then comparing it with a basic catalyst (NaOH). For optimal enzymatic catalysis conditions determined by Nielsen and the parameters determined in the LAAZ after preliminary tests were used. A DCA was used with a 2×3 factorial arrangement and two types of oil by three methods of catalysis with 2 repetitions. ANDEVA and mean separation LSMeans were used when there was interaction and Duncan mean separation when there was no interaction with significance of 0.05 in SAS 9.4 program. Furthermore, performance, moisture, oxidative stability index (OSI), free fatty acid, fatty acid profile and cetane index using official AOCS methods, AOAC was evaluated. The yield of biodiesel was affected by the type of oil (P=0.03); the yield of biodiesel from palm (94.7%), was higher than the yield of pinion (90.3%). There were no significant differences with neither the method of catalysis used (P=0.06), nor the interaction between the method used (P = 0.13). Standards of the ASTM D6751 norm for free fatty acids were accomplished for basic catalysis; oxidative stability rates were fulfilled for biodiesel made from palm. The humidity parameters were not fulfilled in any treatment because of the quantification method. It is recommended to add antioxidants to biodiesel to fulfill the parameters of the standard and change to improve plant extraction.

Keywords: ASTM D6751, DIN V 51 605, free fatty acids, oxidative stability.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
4. CONCLUSIONES	15
5. RECOMENDACIONES	16
6. LITERATURA CITADA.....	17
7. ANEXOS	21

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Parámetros de calidad para aceite y biodiesel.....	5
2. Condiciones del proceso de producción de biodiesel para cada tratamiento.....	7
3. Rendimientos de biodiesel y glicerina obtenidos con Callera Trans L y NaOH en aceite de palma y piñón manso.....	12
4. Análisis de calidad de biodiesel para ácidos grasos libres y estabilidad oxidativa	14

Figuras	Página
1. Actividad enzimática de Callera Trans L en términos de producción de ácidos grasos libres a diferentes temperaturas, tiempos y concentraciones.....	10

Anexos	Página
1. Rendimientos de biodiesel usando una separación de medias Duncan por tipo de aceite.....	21
2. Rendimientos de biodiesel usando una separación de medias Duncan por tipo de catálisis.....	21
3. Efecto de los tratamientos en el rendimiento y calidad del biodiesel.....	21
4. Perfil de ácidos grasos e índice de Cetano del biodiesel de Palma africana.....	22
5. Perfil de ácidos grasos e índice de Cetano del biodiesel de Piñón Manso.....	23
6. Flujograma de semirrefinado de aceite crudo de Piñón Manso.....	24
7. Proceso ilustrado del método planteado por Nielsen de elaboración de biodiesel con Callera Trans L.....	25

1. INTRODUCCIÓN

El biodiesel es la mezcla de monoalquilésteres de ácidos grasos obtenido de compuestos lipófilos de origen orgánico, ya sean estos animales o vegetales, el biodiesel es el resultado de la esterificación de un ácido graso con un alcohol usando un catalizador, sea este un ácido, básico o enzimático. (Benjumea *et al.* 2008 y Gonzáles *et al.* 2008).

Comúnmente se usa un catalizador básico como el NaOH, con el cual se a observado rendimientos en biodiesel para piñón y palma del 74.7 y 72.6%, respectivamente (Moreno 2013), con este tipo de catalizador las disminuciones en rendimiento se observan debido a que el hidróxido de sodio reacciona con los ácidos grasos libres, saponificándolos y reduciendo los rendimientos de los mismos (Meher *et al.* 2006), los rendimientos de biodiesel de la industria son normalmente arriba del 95%, Cesarini *et al.* (2013) obtuvo rendimientos del 96.3% mediante catálisis enzimática.

En otros estudios se a evaluado el uso de catalizadores enzimáticos con la enzima Callera Trans L donde se a observado para piñón y palma un rendimiento de 83.4 y 72.7% respectivamente, (Moreno 2013) en la catálisis enzimática no hay saponificación de ácidos grasos libres (AGL) debido a que no se agregan soluciones alcalinas como NaOH (Fjerbaek *et al.* 2009).

La catálisis enzimática es un proceso alternativo que se ha experimentado en la elaboración de biodiesel (Cesarini *et al.* 2013, Moreno 2013, Mata *et al.* 2012, Rodrigues y Fernández 2010) resaltando dentro de sus principales beneficios que este catalizador puede ser recuperado para reincorporarse al siguiente proceso con una pérdida de eficiencia de 10%, reduce el gasto de metanol y produce menos desechos en lo concerniente a solventes orgánicos y sustancias causticas como el metanol y el NaOH (Nielsen 2014 y Cesarini *et al.* 2013). En este tipo de proceso es recomendable tener cuidado con la desnaturalización de las enzimas debido a la cantidad de metanol agregada o las temperaturas de reacción altas, de igual forma a temperaturas bajas los tratamientos enzimáticos son ineficientes y lentos (Cesarini *et al.* 2013).

La enzima Callera trans L. es una lipasa producida por la empresa Novozymes para la elaboración de biodiesel, Cesarini *et al.* (2013) reporto rendimientos de biodiesel >95% bajo las siguientes condiciones: temperatura de catálisis =35 °C, duración =24 h, agitación 200 RPM, cantidad de enzima =1% con respecto al peso del aceite, metanol =16% con respecto al peso del aceite y agua =5% con respecto al peso del aceite.

Nielsen (2014) repitió el ensayo de Cesarini *et al.* (2013) y determino que se mantienen los rendimientos óptimos con un 0.7% de enzima con respecto al peso del aceite, sostiene que es necesario agregar el metanol de forma paulatina durante las 6 a 10 primeras horas de reacción, obteniendo Biodiesel de Maíz con 1.4% de AGL, lo cual sobrepasa los estándares de calidad del Biodiesel.

Según Crispin *et al.* (2010), el costo del biodiesel de Piñón es de \$ 0.83/L, el costo de elaboración de diesel según la administración de información de energía de E.E.U.U. (2014) es de \$ 0.7/L es decir un 15.7% menor al del aceite. El aumento en los costos de producción de biodiesel de Piñón se debe a las dificultades que presenta los métodos de extracción sin solventes a escala industrial para el aceite normalmente usados Espinal (2012), Castro (2009).

El piñón manso (*Jatropha curcas*) es un cultivo de importancia para la producción de combustibles de segunda generación debido a su elevada cantidad de aceite, Espinal (2012) reporto para la variedad cabo verde del proyecto Syngenta de Zamorano un 49.8% de extracto etéreo así, a través de prensado en frío tuvo un rendimiento del 29% de aceite Castro (2009) sugiere que con una prensa Ecirtec MPE-40 el rendimiento de aceite podría ser de 44.8% de aceite crudo, Galaz *et al.* (2012) reporta rendimientos de 80% realizando el biodiesel con catálisis enzimática.

Por otra parte la palma africana (*Elaeis guineensis*) es un cultivo de importancia económica, en Honduras, la producción anual se estima entorno a las 400,000 TM de aceite de palma SAG (2013), el aceite de palma de la corporación Dinant es usado principalmente en la línea de productos Mazola, se caracteriza por su calidad superior y su prolongada vida útil.

Este estudio tuvo los siguientes objetivos:

- Comparar rendimiento del biodiesel resultante de la transesterificación de aceite de piñón manso y palma africana utilizando dos métodos de catálisis enzimática con la enzima Callera Trans L contra un control de catálisis alcalina.
- Comparar la calidad del biodiesel de aceite de piñón manso y palma africana utilizando dos métodos de catálisis enzimática con la enzima Callera Trans L contra un control de catálisis alcalina de acuerdo a la Norma ASTM D6751.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. La extracción del aceite de piñón se hizo en la Planta de Procesamiento de Biodiesel de Zamorano y el experimento se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) de la Escuela Agrícola Panamericana, ubicada en el departamento de Francisco Morazán, a 32 kilómetros al Este de Tegucigalpa, Honduras.

Diseño Experimental. Se realizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 3×2 . Como parte del arreglo factorial se evaluaron aceite de piñón (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) y tres métodos catálisis de la reacción: catálisis química con NaOH, catálisis enzimática con Callera Trans L con condiciones determinadas en el laboratorio de Análisis de alimentos y la metodología de catálisis enzimática con Callera Trans L determinada por Nielsen (2014). Se realizaron 6 tratamientos con 2 repeticiones, para un total de 12 unidades experimentales, se usó una separación de medias Duncan cuando no existió interacciones entre los factores con un nivel de probabilidad >0.05 y una separación de medias LSmeans cuando la probabilidad de interacción entre los factores fue <0.05 .

Extracción del aceite de Palma africana. El aceite fue extraído el 11 de septiembre en la extractora El Astillero, de la Corporación Dinant, el aceite fue filtrado, desengomado, neutralizado y desodorizado, el aceite no lleva ningún tipo de conservante.

Pesado del grano de *Jatropha curcas*. Se usó una semilla de piñón variedad Cabo Verde cosechada el 5 de septiembre del 2014, producida por el Proyecto Syngenta de Investigación y Producción de *Jatropha curcas* de Zamorano, según Espinal (2012) esta variedad fue la que presentó un mayor potencial de extracción de aceite.

Pelado del grano de *Jatropha curcas*. Se usó el método planteado por Castro (2009) siguiendo los manuales de funcionamiento de una descascaradora ECIRTEC DME-100 donde se ingresó la semilla de piñón entera, se calibró la abertura de los discos con semilla con cascara, posteriormente se encendió el ventilador al 20% de su capacidad y la descascaradora al 60% de su capacidad, se ingresó 8.6 kg de grano para retirar el pericarpio, seguido de una limpieza manual de los residuos de la cáscara que se pudieran encontrar en el grano pelado, el producto final, semilla descascarillada, y subproductos, pericarpio y otros residuos, fueron pesados para medir los rendimientos.

Tostado de grano de *Jatropha curcas*. Se calentaron 2.9 kg de grano descascarillado por media hora a 80 °C de temperatura y 1 atm de presión, el proceso se hizo con la semilla seca y sin agregar agua (Castro 2009).

Prensado de grano de *Jatropha curcas*. Se ingreso grano descascarillado y tostado según el método planteado por Castro (2009) y los manuales de la prensa ECIRTEC MPE-40. Se realizaron dos prensados al material para aumentar la extracción del aceite crudo, el tornillo se uso a un 30% de su potencia, el espacio de salida de la torta entre el tornillo y las paredes de la prensa se ajustaron a 1 cm de espacio entre ellos, aumentándolo a 5 cm cuando la torta se quedaba atascada, se configuro los espacios entre las paredes de la prensa según el padrón general para la prensa MPE-40, obteniendo de esta forma, aceite crudo y torta semidesgrasada.

Centrifugado de aceite crudo de *Jatropha curcas*. Se centrifugo el aceite crudo a 1500 RPM durante 1.5 horas para separar el aceite de los residuos de torta en una centrifuga modelo K115 (IEC).

Calculo de rendimientos de la planta de extracción de aceite crudo. Se calculo rendimiento del grano descascarado, cáscara, torta semidesgrasada y aceite crudo con las formulas 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

$$\text{Rendimiento semilla descascarillada (\%)} = \frac{\text{Semilla descascarillada (lb)}}{\text{Semilla con cáscara (lb)}} * 100 \quad [1]$$

$$\text{Rendimiento cáscara (\%)} = \frac{\text{Cáscara extraida (lb)}}{\text{Semilla con cáscara (lb)}} * 100 \quad [2]$$

$$\text{Rendimiento torta semidesgrasada(\%)} = \frac{\text{Torta semidesgrasada (lb)}}{\text{Semilla sin cáscara (lb)}} * 100 \quad [3]$$

$$\text{Rendimiento aceite crudo (\%)} = \frac{\text{Aceite crudo (lb)}}{\text{Semilla sin cáscara (lb)}} * 100 \quad [4]$$

Determinación de calidad de aceites y biodiesel. Para la elaboración de biodiesel de calidad se debe usar materias primas que cumplan con padrones internacionales, en este caso la Norma del Instituto de Estandarización Alemán DIN V 51 605, en el caso del biodiesel se opto por seguir los estándares establecidos por la Norma ASTM D6751, estos se especifican el en Cuadro 1 (Moreno 2013, Espinal 2012, Baccaro 2007).

Cuadro 1. Parámetros de calidad para aceite y biodiesel.

Parámetro de Calidad	Aceite DIN V 51 605	Biodiesel ASTM D6751	Unidades de la expresión
Humedad	Max 0.075	Max 0.05	%/p/pm
Ácidos Grasos Libres	Max 2.00	Max 0.5	mg KOH/g
Estabilidad Oxidativa	Min 6	Min 3	Horas
Índice de Cetano	Min 39	Min 47	

Determinación de grasa AOAC 991.36 (% de extracto etéreo). Se determinó el extracto etéreo para la cáscara y la torta desgrasada, para ver que tan eficiente fue la prensa en la extracción del aceite, se realizó el análisis por duplicado.

Desengomado del aceite de *Jatropha curcas*. Se realizó el desengomado según la metodología propuesta por Espinal (2012), Dahyabhai y Krishna (2011), Has *et al.* (2000) y Gibon *et al.* (2007). Se peso y calentó el aceite a 80 °C con agitación a 400 RPM, al producto se le agrego una mezcla a 90 ° C de 0.2% de ácido cítrico y 3% de agua respecto al peso del aceite. Se agito en un Erlenmeyer por 60 minutos a 400 RPM y luego se traslado a la centrifuga para separar las gomas precipitadas del aceite sobrenadante a 1500 RPM durante una hora.

Neutralizado del aceite de *Jatropha curcas*. Después del desengomado se uso el método planteado por Moreno (2013), Espinal (2012), Mis (2007), Wan y Wakelyn (1997) y Gunstone y Narris (1983) para el neutralizado, donde se especifica que hay que hacer un análisis de ácidos grasos libres por el método AOCS Ca 5a-40 y determinar si el aceite cumple los requisitos de calidad para biodiesel establecidos por la Norma DIN V 51605, (Max. 2.0 mg KOH/g), de no ser así se pesa el aceite y se calcula el porcentaje de solución neutralizante, NaOH 1 M, a utilizar con la ecuación 6, que usa una relación del peso molecular del NaOH (40 g/mol) por el peso molecular del ácido oleico libre (282 g/mol) indicado en la ecuación 5, mas un ajuste del 0.175%. Se usa el peso molecular del ácido Oleico debido a que este es el ácido graso más común en el aceite de piñón. La cantidad de NaOH fue diluida al 10% en agua destilada y se mezclo el aceite y la solución a temperatura ambiente durante con 20 min con agitación a 400 RPM. Se coloco el aceite en la centrifuga durante 1 hora a 1500 RPM, al final se separo el aceite sobrenadante de los compuestos saponificados. Se lavo el aceite con agua destilada a 80 °C, la cantidad de agua destilada que se uso fue 1/3 del peso del aceite, se repitió el procedimiento hasta que el agua residual fuera transparente, se seco el aceite durante 24 horas a 105 °C en un horno de aire forzado Fisher Scientific.

$$\text{Relación molar NaOH: Ácido graso Oleico} = 0.142 \quad [5]$$

$$\% \text{ de NaOH} = \% \text{ de AGL} \times 0.142 + 0.175 \quad [6]$$

Determinación de calidad de aceites y biodiesel. Se realizó un control de calidad de los aceites para verificar que cumplan con la Norma del Instituto de Estandarización Alemán DIN V 51 605. Para el biodiesel obtenido se realizaron análisis para verificar que cumplieran con la Norma ASTM D6751.

Determinación de humedad AOAC 952.08 (% de humedad). Se determinó el porcentaje de humedad pesando las muestras de aceite y biodiesel y los crisoles por separado, guardando estas en un horno de aire forzado Fisher Scientific, calentado a una temperatura de 105 °C durante 24 horas y se asumió que la pérdida de peso en la muestra después de ese tiempo era el agua presente en la muestra, la Norma DIN V 51 605 establece un máximo de 0.075% de humedad para el aceite y la Norma ASTM D6751 un 0.05% de humedad para el biodiesel.

Ácidos grasos libres AOCS Ca 5a-40 (% de ácidos grasos libres). Se realizó el análisis de ácidos grasos libres al aceite después del desengomado para determinar la cantidad de solución neutralizante a usar, y después de la neutralización para verificar que el aceite cumpliera con la Norma DIN V 51605, que establece que un aceite no debe contener más de 2 mg KOH/g de muestra y después de la elaboración del biodiesel para verificar que este cumpliera con la Norma ASTM D6751 que establece un máximo de 0.25% de ácidos grasos libres, se usó un factor de corrección para ácido oleico en el aceite y biodiesel de *Jatropha curcas* de 28.2 y un factor de ácido palmítico en el aceite y biodiesel de Palma de 25.6, debido a que esos son los ácidos grasos más comunes en cada una de dichas materias primas (Moreno 2013, Espinal 2012, Baccaro 2007).

Estabilidad oxidativa AOCS Cb 12b-92 (h de inducción). Se exponen las muestras a condiciones de 9 L de Oxígeno por hora a una temperatura constante de 110 °C con el uso del Rancimat (873 Metrohm) para determinar su vida de anaquel en horas de inducción. Se compararon los resultados con la Norma DIN V 51605 que establece un tiempo mínimo de 6 horas para el aceite, la Norma ASTM D6751 establece un tiempo mínimo de 3 horas para el biodiesel.

Perfil de ácidos grasos AOCS Ce 2b-11 (%). Se determinó la concentración en porcentaje de cada uno de los ácidos grasos presentes en el aceite y el biodiesel por duplicado. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases modelo 7890 A (Agilent), para la identificación de cada ácido graso se usó un estándar GLC-463, para el biodiesel se realizó el mismo análisis con la diferencia de que el biodiesel no se transesterifica antes de ser inyectado al cromatógrafo debido a que durante su elaboración sucede este proceso (Moreno 2013, González 2012, Manzanares 2011).

Índice de Cetano ASTM D 613 (Adimensional). Se realizó con la ecuación 7 planteada por Bamgboye y Hansen (2008), que predice este valor usando los resultados del perfil de ácidos grasos, la Norma ASTM D6751 establece un índice mínimo de 47 para biodiesel.

$$\begin{aligned}
 \text{IC} = & 61.1 + 0.088 * (14:0)\% + 0.133 * (16:0)\% + 0.152 * (18:0)\% - 0.101 \\
 & * (16:1 \text{ cis}9)\% - 0.039 * (18:1 \text{ cis}9)\% - 0.243 \\
 & * (18:2\text{n}6 \text{ cis}9,12)\% - 0.395 \\
 & * (18:3\text{n}3 \text{ cis}9,12,15)\%
 \end{aligned}
 \tag{7}$$

Pruebas de concentración, tiempo y temperatura de enzima. Basado en Nielsen (2014), Moreno (2013) y Rose y Pike (2006) se elaboraron preliminares para establecer las mejores condiciones de reacción posible, se probaron concentraciones de enzima a 0, 0.62, 1.24 y 1.87% de enzima con respecto al peso del aceite de soya a temperaturas de 30, 35 y 40 °C en una cámara de vida de anaquel (NORLAKE SCIENTIFIC), durante 0, 4, 8 y 24 horas, bajo agitación constante, se paró la reacción enzimática agregando un mililitro de metanol por cada mililitro de aceite. Se evaporó el metanol por medio de un evaporador modelo Flexivap (GLAS-COL) a una corriente de nitrógeno de 25 PSI y 65 °C. Se midieron ácidos grasos libres (AGL) por medio del método AOCS Ca 5a-40 y se determinó como el mejor tratamiento el que obtuviera mayor porcentaje de AGL.

Elaboración del biodiesel. Para cada tratamiento se usaron las condiciones del cuadro 2 realizando dos repeticiones de cada uno, para los tratamientos enzimáticos se agregó 33.3% de metanol al inicio de la reacción, el 66.6% restante se agregó durante las primeras 10 horas de reacción a intervalos de 2.5 horas para evitar la desnaturalización de la enzima causada por el metanol (Nielsen 2014), después de llevada a cabo la reacción se procedió a lavar el biodiesel usando 1/3 agua destilada a 80 °C con respecto al peso del biodiesel en agitación constante, la mezcla fue centrifugada a 1500 RPM por 30 minutos (Moreno 2013, Mis 2008, Wan y Wakelyn 1997 y Gustone y Narris 1993), se procedió a separar el biodiesel sobrenadante de la glicerina precipitada, se dieron dos lavados más al biodiesel usando 1/3 de agua con respecto al peso del aceite a una temperatura de 50 °C. Finalmente se secó el biodiesel durante 24 horas a 105 °C en un horno de aire forzado Fisher Scientific (Moreno 2013, González 2012).

Cuadro 2. Condiciones del proceso de producción de biodiesel para cada tratamiento.

TRT	Aceite	Catalizador	Concentración catalizador (%/p/pa)	Agua (%/p/pa)	Relación Molar (Metanol - Aceite)	Temperatura de reacción (°C)	Tiempo de reacción (h)
1	Palma	NaOH	1	0	6-1	60	1
2	Palma	Callera Trans L	0.7	2	3-2	35	24
3	Palma	Callera Trans L	1.87	3.2	3-2	30	24
4	Jatropha	NaOH	1	0	6-1	60	1
5	Jatropha	Callera Trans L	0.7	2	3-2	35	24
6	Jatropha	Callera Trans L	1.87	3.2	3-2	30	24

TRT=Tratamiento.

%p/pa= porcentaje en peso en base al peso del aceite.

Rendimiento biodiesel (%). El porcentaje de biodiesel de cada unidad experimental se midió con la ecuación 8 (Moreno 2013).

$$\text{Rendimiento Biodiesel \%} = \frac{(\text{g}) \text{ de biodiesel obtenido}}{(\text{g}) \text{ de aceite usado}} \times 100 \quad [8]$$

Rendimiento glicerina (%). El porcentaje de glicerina producto de la reacción se determino con la ecuación numero 9 (Moreno, 2013).

$$\text{Rendimiento Glicerina \%} = \frac{\sum (\text{g}) \text{ de presipitado} - \sum (\text{g}) \text{ Agua agregada}}{\sum (\text{g}) \text{ de aceite usado}} \times 100 \quad [9]$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de aceite de *Jatropha curcas*. Para el proceso de extracción de aceite crudo se ingresaron a la descascaradora 8.6 kg de grano de piñón con cáscara, de los cuales salieron 2.9 kg de grano pelado y 5.7 kg de cáscara, es decir un rendimiento de 34.2% de semilla descascarillada y de 65.79% de cáscara, lo cual difiere de Chún (2013), Castro (2009) y King *et al.* (2009) que establecieron que el rendimiento esperado debería ser alrededor de 60-70% de semilla y 30-40% de cáscara. Esta diferencia se debió a un problema de eficiencia del proceso de descascarillado adoptado, pues al quitar la cáscara también se fraccionó la semilla haciendo que los cotiledones fraccionados y los embriones que son menos pesados fueran acarreados por la corriente de aire y perdiéndose así con los restos de la cáscara.

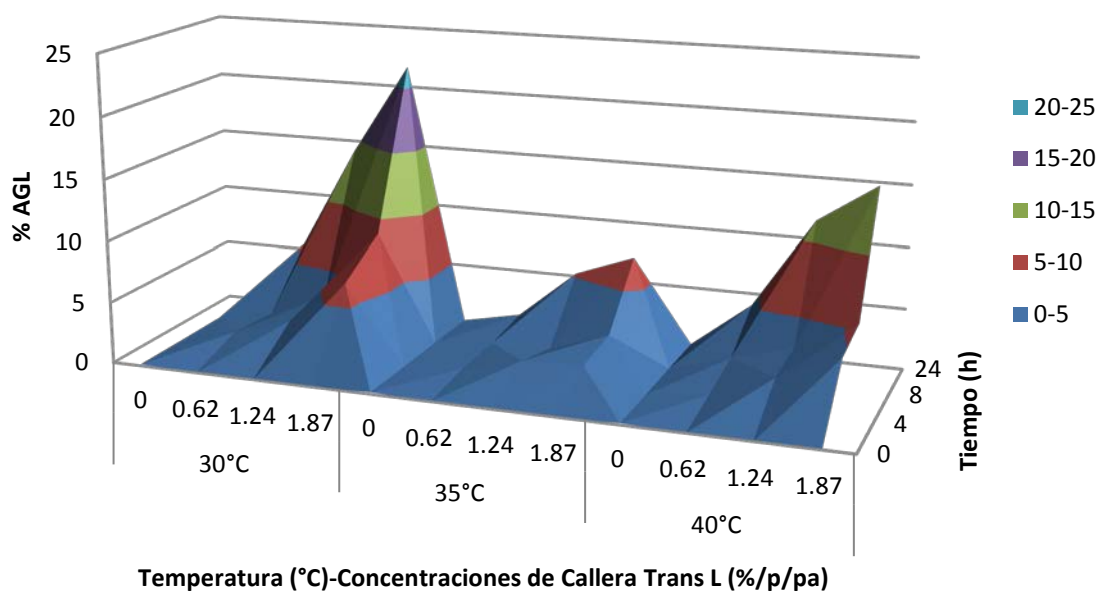
De las 2.9 kg de grano de piñón descascarado se extrajeron 544.3 g de aceite crudo y 317.51 g de aceite refinado, desengomado y neutralizado, además de 2.4 kg de torta semidesgrasada. Esto equivale a un rendimiento de 18.5% de aceite crudo con respecto al grano de piñón pelado que difiere de las estimaciones de Espinal (2012) que estableció un rendimiento de 29% de aceite crudo con respecto al grano pelado usando un prensado con tornillo sin fin. En otras palabras, se obtuvo un 63.8% de rendimiento de aceite crudo esperado. Esto puede deberse a que se siguió el procedimiento recomendado por Castro (2009) que consiste en cocinar el grano sin agua antes de ingresarlo al proceso de presado. El fabricante de la prensa MPE-40 ECIRTEC recomienda moler y cocinar con agua el grano llevándolo a 14% de humedad antes de ingresarlo a un extrusor pues de esta forma se aumenta la extracción del aceite (ECIRTEC 2014).

Para asegurar que la extracción deficiente (<29%) se debió al proceso de la planta, se realizó un análisis de extracto etéreo a la torta semidesgrasada y al residuo producido por la descascaradora DME-100 ECIRTEC; se obtuvo un promedio de 50.9% de extracto etéreo para la torta semidesgrasada de piñón y un 14% para el residuo de la descascaradora. Realizando un balance de materia e incluyendo el aceite crudo, se obtiene 26.1% de extracto etéreo en la semilla, esto difiere de los resultados observados por Espinal (2012) que establece un contenido de aceite de promedio de 49.8% de extracto etéreo en la variedad Cabo Verde cosechada en Zamorano, esta diferencia puede deberse a que la cosecha de la semilla usada en este estudio pudo hacerse en zonas que tuvieran un manejo agronómico mas deficiente que la usada antes en términos de fertilización, sequía, tipo de suelo y densidad de siembra, (Marrone 2009 y Villalta 2009), también existieron diferencias entre el método de cuantificación usado, pues en lugar de analizar la semilla entera, se analizó los productos y subproductos descritos anteriormente de la extracción pudiendo existir mermas en los mismos (Espinal 2012).

Prueba de actividad de enzimas. Tomando en cuenta que el objetivo era generar la mayor cantidad de AGL para que reaccionaran en la transesterificación se observó que entre mayor fue el tiempo de reacción mejor fue el resultado, siendo en todos los casos la producción de AGL mayor al 5% para las 24 horas. Con respecto a la concentración para asegurar que la enzima fuera lo más eficiente posible se usó la concentración de 1.87% durante un periodo de 24 h independientemente de la temperatura de reacción. Por otra parte, se observó una mayor producción de AGL a temperaturas de 30 °C y que la cantidad de los mismos, a temperaturas de 35 °C y 40 °C, disminuyeron. La disminución de AGL a 40 °C pudo ser a causa de la desnaturalización de la enzima Callera Trans L debido a que la temperatura de reacción era demasiado alta. Al ser proteína, esta enzima es susceptible a recibir energía en forma de calor y que ésta modifique su estructura cuaternaria haciendo que pierda su capacidad de catálisis (Gutiérrez *et al* 2010).

Para la reacción a 35 °C no se tomaron en cuenta estos valores como correctos, debido a que durante la reacción hubo pérdidas de agitación por cortes en el suministro de energía eléctrica, haciendo difícil mantener las condiciones de agitación de la reacción. Esto causó que disminuyera la superficie de contacto entre la enzima y el aceite, pues la enzima Callera Trans L es una enzima hidrófila que se precipita en medios como el aceite (Nielsen 2014 y Šinkūnienė *et al.* 2011).

Es decir que en los preliminares el mejor tratamiento fue la reacción a 30 °C, con una concentración de enzima de 1.87% con respecto al peso del aceite durante 24 horas.



%AGL= Porcentaje de ácidos grasos libres.
 %/p/pa=Porcentaje del peso con respecto al aceite.

Figura 1. Actividad enzimática de Callera Trans L en términos de producción de ácidos grasos libres a diferentes temperaturas, tiempos y concentraciones.

Calidad de aceites. Se comparó la calidad del aceite con la Norma DIN V 51 605 que establece un máximo de 0.075% de humedad con respecto al peso del aceite, para medir esta variable se usó el método AOAC 952.08, los resultados fueron de 1.35% de humedad para piñón y 0.19% para palma, de esta forma los aceites utilizados no se encontraron dentro del límite permitido por la Norma (0.075%). Los valores altos de humedad pueden deberse a que el método AOAC 952.08 no es muy preciso para medir concentraciones tan bajas de agua, así que los valores determinados deberían ser medidos por con métodos mas precisos como el método AOCS Ca 2e-84 que realiza la cuantificación de la humedad por un procedimiento Karl Fischer (Espinal 2012).

Para el parámetro de estabilidad oxidativa, la Norma DIN V 51 605 establece un mínimo de 6 horas de inducción, este parámetro fue cumplido por el aceite de palma que sobrepaso las 48 horas. El aceite de piñón obtuvo un resultado de 4.75 horas de inducción. Gerhard (2007) determinó que existen antioxidantes que alargan la estabilidad oxidativa del biodiesel, el mas común de ellos es el tocoferol, existen otros antioxidantes más baratos como el galato de propilo (Larson y Marley 2011), por lo cual se recomienda para futuros estudios agregar un antioxidante que para aumentar la estabilidad oxidativa del aceite.

Con respecto a ácidos grasos libres el aceite de palma obtuvo un valor de 0.12 mg de KOH/g de aceite cumpliendo con la Norma DIN V 51 605 que establece un máximo de 2 mg de KOH/g de aceite, el aceite de piñón no cumplió este parámetro por lo que fue neutralizado, después obtuvo un valor de 0.41 mg de KOH/g de aceite cumpliendo también con la norma.

Rendimiento de biodiesel. Para el rendimiento de biodiesel se observo que el tipo de aceite usado en la elaboración presento diferencias significativas con una probabilidad de 0.03 según la separación siendo mas eficiente en el rendimiento el biodiesel de Palma según la separación de medias Duncan, de igual forma no se observaron diferencias significativas en el rendimiento de biodiesel del control con los tratamientos enzimáticos bajo la separación de medias Duncan, no se observaron diferencias significativas en la interacción de el aceite con el método de catálisis, la separación de medias LSmeans no muestra diferencias estadísticas (<0.05) entre ninguno de los tratamientos del factorial como se ve en el cuadro 3.

Con respecto al rendimiento de glicerina, se observo diferencias significativas entre los métodos usados en la elaboración del biodiesel con una probabilidad <0.0001 , el método de catálisis alcalina fue mas eficiente en la producción de glicerina, mientras que la catálisis con las condiciones del LAAZ fue estadísticamente igual que el método que uso las condiciones planteadas por Nielsen, sin embargo en la separación de medias LS means no se observó diferencias significativas entre los tratamientos enzimáticos, aunque el tratamiento con catálisis alcalina presento un rendimiento de glicerina estadísticamente mayor.

En otras palabras no existieron diferencias estadísticas en el rendimiento de biodiesel del control contra los tratamientos enzimáticos, aunque existieron diferencias en el rendimiento de glicerina donde el control de catálisis alcalina fue mejor (<0.05) que los de

catálisis enzimática, los resultados en todos los casos superan los rendimientos observados por Moreno (2013) que atribuye sus rendimientos a una alta concentración inicial de ácidos grasos libres que reaccionan con el catalizador formando jabón, en este caso el %AGL inicial del aceite de *Jatropha* (0.062%) fue un 22.6% menor que el reportado en el estudio previo.

Los rendimientos obtenidos con catálisis enzimáticas fueron equivalentes a los de Cesarini *et al.* (2013) es decir > al 95% de rendimiento de biodiesel, superando los bajos resultados reportados por Moreno (2013), esto puede deberse a la implementación del procedimiento planteado por Nielsen (2014), que sugiere agregar paulatinamente el metanol durante las primeras 6-10 horas de la reacción.

El rendimiento de glicerina es un fuerte indicativo de que la transesterificación fue eficiente, aunque no existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos enzimáticos se observó que el rendimiento en glicerina del control fue superior estadísticamente al enzimático, debido a que se usó más metanol en la reacción.

Cuadro 3. Rendimientos de biodiesel y glicerina obtenidos con Callera Trans L y NaOH en aceite de palma y piñón manso.

Catálisis	Fuente del aceite	Rendimiento de Biodiesel % \pm D.E. ³	Rendimiento Glicerina % \pm D.E.
NaOH	Piñón	89.96 \pm 2.55 ^{bcd*}	26.60 \pm 1.04 ^a
	Palma	92.31 \pm 1.51 ^{abc}	25.09 \pm 0.25 ^a
Catálisis Nielsen	Piñón	95.08 \pm 2.53 ^{abc}	6.37 \pm 2.01 ^c
	Palma	96.37 \pm 3.99 ^{ab}	3.39 \pm 0.21 ^c
Catálisis LAAZ	Piñón	85.99 \pm 0.90 ^{cd}	7.28 \pm 1.78 ^{bc}
	Palma	95.33 \pm 2.77 ^{abc}	10.77 \pm 2.70 ^{bc}
C.V. (%) ²		2.78	12.21

D.E.³= Desviación estándar.

*= Medidas seguidas de letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas, si son iguales indican que no hay diferencias estadísticas según la separación de medias LS means ($P < 0.05$).

C.V. (%)²=Coeficiente de variación.

Calidad de biodiesel. Como se observa en el cuadro 4 la catálisis alcalina fue significativamente menor en la producción de ácidos grasos libres después de la transesterificación, la probabilidad de este resultado fue < 0.0001 , la catálisis enzimática de ninguno de los tratamientos produjo una cantidad de ácidos grasos que cumpliera lo permitido por la Norma ASTM D6751, es decir fueron mayores de 0.25% de ácidos grasos libres en todos los casos.

Para el parámetro de estabilidad oxidativa se observó para la separación de medias LS means que los mejores tratamientos fueron los realizados con palma africana siendo el mejor de todos la catálisis alcalina, seguido de la catálisis enzimática realizada con la metodología desarrollada en el LAAZ y por último la reportada en el método Nielsen, en todos los casos se cumple con los parámetros de calidad de la ASTM D6751 que establece un tiempo mínimo de 3 horas.

La separación de medias LS means no se encontró diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en la estabilidad oxidativa para ninguno de los tratamientos de biodiesel elaborado a partir de aceite de piñón, ninguno de estos tratamientos cumplió con el mínimo de 3 horas que establece la Norma ASTM D6751.

Para el parámetro de humedad no existieron diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos, se observó que ninguno cumplió con los requisitos de la Norma ASTM D6751 que establece un límite de 0.05% como máxima humedad permitida en el biodiesel.

Con respecto a los valores de AGL, son mayores a los observados por Moreno (2013), que establece que los tratamientos enzimáticos no cumplieron con los requerimientos establecidos por la Norma ASTM D6751, Según Gonzales (2012) y Manzanares (2011), esto se debe a que el catalizador enzimático solo rompe el enlace entre el ácido graso y el glicerol mientras que el NaOH favorece la unión entre el ácido graso y el metanol.

La cantidad de AGL en los tratamientos enzimáticos puede deberse al maltrato sufrido por la enzima durante su transporte y el tiempo que paso en aduana sin refrigeración, es decir pudo sufrir daños debido a que se mantuvo en condiciones que pudieron favorecer su desnaturalización, haciéndola menos eficiente, en otras palabras el proceso de separación de los ácidos grasos pudo ser mas lento debido a que la cantidad de enzima funcional fue menor. (Gutiérrez *et al.* 2010).

El índice de estabilidad Oxidativa (OSI) fue menor para piñón debido a que este aceite presento una estabilidad oxidativa inicial muy baja que no cumplía con las tres horas de inducción mínimas que establece la Norma DIN V 51 605, esta característica se traslado de igual forma al biodiesel, también se observó que el OSI para los tratamientos enzimáticos con palma fue menor estadísticamente al del tratamiento con NaOH, esto puede deberse a la relación inversa que hay entre la cantidad de ácidos grasos libres y la estabilidad oxidativa Gerpen (2005).

La razón por la que ningún aceite cumplió el parámetro de humedad pudo ser que el método usado para medir la misma no fue el mas adecuado, el método usado por Moreno (2013), Espinal (2012) y Baccaro (2007) fue el AOCS Ca 2e-84 el cual no se pudo aplicar debido a una falta de reactivos necesarios, otra hipótesis es la posibilidad de que el biodiesel se rehumedeciera, pues se midió este parámetro 3 días después del secado, el biodiesel es Higroscópico debido a los ácidos grasos libres que atrapan moléculas de agua, Oliveira *et al.* (2008) determinó que el biodiesel puede absorber hasta un 16% de su peso en agua.

Cuadro 4. Análisis de calidad de biodiesel para ácidos grasos libres y estabilidad oxidativa.

Catálisis	Fuente	AGL ^z	OSI^φ	Humedad
		% ± D.E. ^z	h ± D.E.	% ± D.E.
NaOH	Piñón	0.11 ± 0.05 ^d	0.27 ± 0.06 ^d	3.29 ± 0.48 ^{ab}
	Palma	0.09 ± 0.01 ^d	10.52 ± 0.11 ^a	1.59 ± 0.40 ^{bcd}
Catálisis Nielsen	Piñón	14.66 ± 0.40 ^b	0.54 ± 0.35 ^d	0.51 ± 0.14 ^{cd}
	Palma	10.79 ± 0.35 ^c	3.87 ± 0.09 ^c	2.77 ± 1.01 ^{abc}
Catálisis LAAZ	Piñón	16.06 ± 1.18 ^a	0.42 ± 0.52 ^d	0.79 ± 0.42 ^{cd}
	Palma	13.88 ± 0.14 ^b	4.723 ± 0.04 ^b	2.20 ± 0.45 ^{abc}
C.V. (%)		5.48	7.78	29.56

A.G.L.=Porcentaje de ácidos grasos libres.

OSI^φ=Estabilidad oxidativa.

D.E.^z= Desviación estándar.

*= Medidas seguidas de letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas, si son iguales indican que no hay diferencias estadísticas (P<0.05).

C.V.^z=Coeficiente de variación.

A los tratamientos se les realizó el perfil de ácidos grasos y el índice de Cetano (Anexos 4 y 5), para el perfil de ácidos grasos se obtuvieron resultados similares a los de Moreno (2013) que observo que en la catálisis enzimática se esterificaron mas ácidos grasos saturados, con respecto al índice de cetano en todos los casos cumplieron con la Norma ASTM D6751 siendo el promedio 64.9 para palma y 55.4 para piñón, este ultimo fue similar a los resultados obtenidos por González (2012) que obtuvo un índice de 52.8 para biodiesel de piñón.

4. CONCLUSIONES

- El rendimiento de biodiesel mediante catálisis enzimática fue estadísticamente igual comparado con la catálisis alcalina bajo la separación LS means ($P=0.06$), mostrando resultados por encima del 85 % en todos los casos.
- Los tratamientos que usaron catálisis enzimática como catalizador no cumplieron con los parámetros de AGL de la norma ASTM D6751.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio para determinar el método más eficiente de extraer el aceite del grano de piñón manso en la planta de biodiesel Zamorano.
- Alargar el tiempo de reacción de los tratamientos enzimáticos a 48 horas para que el metanol pueda reaccionar con los ácidos grasos libres presentes en el aceite.
- Hacer pruebas de recuperación de enzima y medir la disminución de eficiencia de la misma.
- Agregar antioxidantes al biodiesel para elevar estabilidad oxidativa de los tratamientos que no cumplen con el parámetro.
- Buscar forma de separar el grano de Piñón por tamaños antes del descascarillado.

6. LITERATURA CITADA

Benjumea, P., J. Agudelo y A. Agudelo. 2008. Basic properties of palm oil biodiesel-diesel blends. Elsevier. Fuel 87: 2069-2075.

Baccaro, J.R. 2007. Evaluación de rendimiento de biodiesel elaborado a partir de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis*) y etanol anhidro de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 34p.

Bamgboye, A. y A. Hansen, 2008. Prediction of cetane number of biodiesel fuel from the fatty acid methyl ester (FAME) composition. International Agrophysics (2008) 22: 21.29.

Castro, F.H. 2009. Diseño de una planta de extracción, semi-refinamiento y transesterificación de aceite de jatropha (*Jatropha curcas*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 87p.

Crispin, M., E. Felix y J.A. Quintero. 2010. Bioenergía y seguridad alimentaria “BEFS”. Capítulo 6: Análisis de costos de producción de biocombustible en Perú: Una dimensión social. Proyecto Bioenergía y Seguridad Alimentaria. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 19p.

Cesarini, S., P. Diaza y P.M. Nielsen. 2013. Exploring a new, soluble lipase for FAMEs Production in water-containing systems using crude soybean oil as a feedstock. Process Biochemistry 48: 484–487.

Chún, R.D. 2013. Cuantificación de ésteres de forbol en partes estructurales de semilla descascarada en ocho accesiones de *Jatropha curcas*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 27p.

Dahyabhai, J. y B. Krishna. 2011. Refining of rice oil by neutralization with calcium hydroxide. Instituto de Ciencia y Tecnología de Estudios avanzados e Investigación. Gujarat, India. European Journal of Lipid Science and Technology 2011-113. 1161-1167 p.

Espinal, A.F. 2012. Composición de la semilla y evaluación de la calidad del aceite y torta desgrasada de tres variedades de piñón (*Jatropha curcas*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 28p.

Fjerbaek, L., K.V. Christesen y B. Norddahl. 2009. A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification. Biotechnology and Bioengineering. 102: 1298-1315.

Galaz, R., R.N. Avilez, C.M. Ucan, J.A. Chan, y J.M. Loyola. 2012. *Jatropha curcas* una Alternativa para la Obtención de Biodiésel sin Afectar al Sector Alimentario. Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería 16(2):94-114.

Gerhard, K. 2007. Some Aspects of Biodiesel Oxidative Stability. Fuel Processing Technology 88(7): 669–677p.

Gerpen, J.V. 2005. Biodiesel processing and production. Fuel Processing Technology 86: 1097–1107p.

Gibon, V., W. Greyt y M. Kellens. 2007. Palm oil refining. De Smet Technologies and Services, Zaventem, Belgica European Journal of Lipid Science and Technology 109(4):315-335 p.

González. A.F. 2008. Biocombustibles de segunda generación y Biodiesel: Una mirada a la contribución de la Universidad de los Andes. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia.

González, E.E. 2012. Caracterización fisicoquímica de biodiésel producido a partir de tres variedades de piñón (*Jatropha curcas*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 27p.

Gunstone, F. y F Narris. 1983. Lipids in food chemistry, biochemistry and technology. Pergamon Press. Oxford.

Gutiérrez A., J.C. del Río, D. Ibarra, J. Rencoret, J. Romero, M. Speranza, S. Camarero, M.J. Martínez y A.T. Martínez. 2010. Enzymatic removal of free and conjugated sterols forming pitch deposits in environmentally sound bleaching of eucalypt paper pulp. Environ Sci Technol. 40:3416-3422 p.

Haas, W. y M. Mittelbach. 2000. Detoxification experiment with the seed oil from *Jatropha curcas* L. Indian Crops Production. 12, 111–118 p.

King, A., W. He, J. Cuevas, M. Freudenberger, D. Raimaramana y I. Graham. 2009. Analysis of seed phorbol-ester and curcumin content together with genetic diversity in multiple provenances of *Jatropha curcas* L. from Madagascar and Mexico. Plant Physiology and Biochemistry, 49:1183-1190.

Larson, R.A. y Marley, K.A. 2011. Optimized antioxidants for biodiesel. Department of Natural Resources and Environmental Sciences. 19p.

Manzanares, K.G. 2011. Predicción del número de cetano de biodiesel de piñón (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) por cromatografía de gases. Proyecto especial de graduación de programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 27 p.

Marrone, J.A. 2009. Efecto de las deficiencias nutricionales en el cultivo de piñón (*Jatropha curcas*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 31p.

Mata, T.M., I.R. Sousa y N.S. Caetano. 2012. Transgenic Corn Oil for Biodiesel Production Via Enzymatic Catalysis with Ethanol. Chemical Engineering Transactions. The Italian Association of Chemical Engineering. 27:19-24p.

Meher, L.C., D.V. Sagar y S.N. Naik. 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 10: 248–268p.

Mis, K.E. 2008. Efecto del tiempo de freído del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) sobre las características físico-químicas del biodiesel. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 30p.

Moreno, L.E. 2013. Producción de biodiesel de piñón (*Jatropha curcas*) y palma africana (*Elaeis guineensis*) con dos enzimas derivadas de *Candida antarctica*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 44p.

Nielsen, P.M. 2014. Enzyme-catalyzed biodiesel made from low-quality oils. Biodiesel Magazine. 25(7): 412-415p.

Oliveira, M.B., Varanda, F.R., Marrucho, I.M., Queimada, A.J. y Coutinho J.A. 2008. Prediction of Water Solubility in Biodiesel with the CPA Equation of State. University of Aveiro. Porto, Portugal. American Chemical Society. 4278 – 4285p.

Rodrigues, R.C. y R. Fernandez. 2010. Lipase from *Rhizomucor miehei* as a biocatalyst in fats and oils modification. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 66:15-32 p.

Rose, D.J. y O. A. Pike. 2006. A Simple Method to Measure Lipase Activity in Wheat and Wheat Bran as an Estimation of Storage Quality. JAOCS 83: 415-419p.

SAG (Secretaría de Agricultura y Ganadería de Honduras). 2013. Palma africana en Honduras. (En línea) Consultado el 20 de octubre de 2014. Disponible en: <http://www.iica.int/Esp/regiones/central/honduras/Documentospublicos/vc%20agrocadenas/Cadena%20Palma%20Africana%20-Honduras%202013.pdf>

Šinkūnienė, D., V. Bendikienė y B. Juodka. 2011. Response surface methodology-based optimization of lipase-catalyzed triolein hydrolysis in hexane. Romanian Biotechnological Letters. 16(1): 5891- 5901p

U.S. Energy Information Administration. 2014. Diesel fuel Pump componentes history. Data of petroleum and other liquids. (En línea) Consultado el 20 de septiembre del 2014. Disponible en: http://www.eia.gov/petroleum/gasdiesel/dieselpump_hist.cfm

Villalta, M.Y. 2009. Estudio descriptivo del comportamiento del piñón (*Jatropha curcas*) en el departamento de Yoro, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 25p.

Wan, P. y P. Wakelyn. 1997. Technology and Solvent for extracting Oilseeds and non petroleum Oils. American Oil Chemists Society. 353p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Rendimientos de biodiesel usando una separación de medias Duncan por tipo de aceite.

Fuente del aceite	Rendimiento de Biodiesel (%)	DE ^z
Palma	94.67	2.7 ^{a*}
Piñón	90.34	4.02 ^b

D.E.^z= Desviación estándar calculada en Excel 2010.

*= Medidas seguidas de letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (P<0.05).

C.V. (%)²=Coeficiente de variación.

Anexo 2. Rendimientos de biodiesel usando una separación de medias Duncan por tipo de catálisis.

Fuente del aceite	Rendimiento de Biodiesel (%)	DE ^z
Catálisis Nielsen	95.73	2.45 ^{a*}
Catálisis Alcalina	91.14	1.89 ^b
Catálisis LAAZ	90.66	4.89 ^b

D.E.^z= Desviación estándar calculada en Excel 2010.

*= Medidas seguidas de letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (P<0.05).

C.V. (%)²=Coeficiente de variación.

Anexo 3. Efecto de los tratamientos en el rendimiento y calidad del biodiesel.

Característica	GL ^z	CM ^φ	F ²	P ³ <0.05	%CV [†]
Rendimiento de Biodiesel	11	31.41	4.76	0.0418	2.77572
Rendimiento de Glicerina	11	201.94	77.14	<0.0001	12.20974
Humedad	11	2.41	7.97	0.0126	29.56284
Ácidos grasos libres	11	106.75	414.99	<0.0001	5.47555
Estabilidad Oxidativa	11	31.82	457.69	<0.0001	7.77996

GL^z= Grados de libertad.

CM^φ= Cuadrado medio.

F² = Valor F.

P³= Probabilidad.

%Cv[†]= Coeficiente de variación.

Anexo 4. Perfil de ácidos grasos e índice de Cetano del biodiesel de Palma africana.

Ácido Graso	Catálisis Alcalina	Catálisis Nielsen	Catálisis LAAZ
	% ± D.E. ^ξ	% ± D.E.	% ± D.E.
06:0	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
08:0	0.45 ± 0.00	0.45 ± 0.09	0.44 ± 0.02
10:0	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
12:0	0.33 ± 0.00	0.41 ± 0.12	0.4 ± 0.01
14:0	1.20 ± 0.06	1.08 ± 0.08	0.84 ± 0.60
15:0	0.07 ± 0.05	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.01
16:0	40.91 ± 1.74	52.03 ± 4.21	51.94 ± 0.84
18:0	4.68 ± 0.09	4.31 ± 0.94	4.86 ± 1.33
20:0	0.60 ± 0.08	0.61 ± 0.07	0.61 ± 0.01
13:1 cis-12	0.04 ± 0.03	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
16:1 cis-9	0.73 ± 0.28	0.76 ± 0.03	0.74 ± 0.02
18:1n9c cis-9	41.70 ± 1.23	33.30 ± 2.33	33.4 ± 1.01
20:1 cis-11	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.03
18:2n6 cis-9,12	8.61 ± 0.16	6.31 ± 0.25	6.17 ± 0.32
18:3n3 cis-9,12,15	0.56 ± 0.06	0.58 ± 0.32	0.46 ± 0.12
∑ AC. Saturados	48.30 ± 1.67	59 ± 2.94	59.18 ± 0.85
∑ AC. Monoinsaturados	42.53 ± 1.46	34.11 ± 2.36	34.19 ± 1.02
∑ AC. Polinsaturados	9.17 ± 0.22	6.89 ± 0.58	6.63 ± 0.21
Índice de Cetano	63.34453	65.63226	65.76231

D.E.^ξ= Desviación estándar calculada en Excel 2010.

Anexo 5. Perfil de ácidos grasos e índice de Cetano del biodiesel de Piñón Manso.

Ácido Graso	Catálisis Alcalina	Catálisis Nielsen	Catálisis LAAZ
	% ± D.E.	% ± D.E.	% ± D.E.
06:0	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
08:0	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02
10:0	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
14:0	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02
15:0	0.10 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01
16:0	16.08 ± 0.65	20.22 ± 0.01	20.72 ± 0.14
17:0	1.08 ± 0.23	0.04 ± 0.06	0.08 ± 0.01
18:0	6.43 ± 0.14	8.22 ± 0.22	8.32 ± 0.65
11:1 cis-10	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
14:1 cis-9	0.03 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
16:1 cis-9	1.03 ± 0.27	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02
17:1 cis-10	0.02 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
18:1n9c cis-9	43.85 ± 0.39	37.91 ± 0.06	39.23 ± 0.34
18:1 cis-11	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
18:2n6 cis-9,12	31.06 ± 1.2	33.14 ± 0.02	31.22 ± 0.26
18:3n6 cis-6,9,12	0.14 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.09 ± 0.13
20:4 cis-5,8,11,14	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.07	0.01 ± 0.01
22:5 cis-7,10,13,16,19	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.03	0.05 ± 0.01
22:6n3 cis-4,7,10,13,16,19	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.03	0.02 ± 0.03
∑ AC. Saturados	23.74 ± 1.01	28.65 ± 0.18	29.29 ± 0.52
∑ AC. Monoinsaturados	44.94 ± 0.17	37.99 ± 0.06	39.31 ± 0.02
∑ AC. Polinsaturados	31.32 ± 1.17	33.36 ± 0.12	31.39 ± 0.19
Índice de Cetano	54.80774	55.46442	55.97204

D.E.²= Desviación estándar calculada en Excel 2010.



Descascarillado



Prensado



Centrifugado



Secado



Neutralizado



Desengomado

Anexo 6. Flujograma de semirrefinado de aceite crudo de Piñón Manso.

Anexo 7. Proceso ilustrado del método planteado por Nielsen de elaboración de biodiesel con Callera Trans L.

1. Preparar los tratamientos con las concentraciones de 2% de agua y 0.7% de enzima con respecto al peso del aceite (Foto 1), agregar el 33% del metanol a utilizar en la reacción (relación molar 1.5-1).



Foto 1. Preparación de los tratamientos.

2. Precalear la cámara de vida de anaquel a 35 °C (Foto 2), ingresar los Erlenmeyer con aceite y aumentar la agitación hasta que la fase de metanol no pueda ser diferenciada de la de aceite, agregar el metanol en porciones de 16.5% del total a utilizar después de 2.5, 5, 7.5 y 10 horas de iniciada la reacción.



Foto 2. Reacción de catálisis.

3. Después de completadas 24 horas de reacción se agrega agua a 80°C en un 33% del peso del aceite, bajo una agitación de 400 RPM y se separaran las fases con un centrifugado a 1500 RPM por 30 minutos (Foto 3).



Foto 3. Centrifugado de la glicerina.

4. Lavar el aceite dos veces mas con 33% de su peso en agua a 50°C (Foto 4) y separar el agua por medio de un embudo de decantación (Foto 5).

5. Secar el Biodiesel por 24 horas a 105°C.



Foto 6. Biodiesel de Piñón después del secado.



Foto 5. Separación de fases.



Foto 4. Lavado del Biodiesel