



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA  
DEL ESTADO DE PUEBLA

---

---

DECANATO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE BIOTECNOLOGÍA

**“CARACTERIZACIÓN DEL POTENCIAL DEL ACEITE DE  
SEMILLA DE ROUPALA MONTANA (PROTEACEAE)  
PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL DE ALTA CALIDAD”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

QFB. JUAN CARLOS CIGARROA ZÁRATE

DIRECTOR:

DR. ELIE GIRGISS EL KASSIS

CO-DIRECTORA:

DR. ZAIDA NELLY JUÁREZ

ASESOR EXTERNO:

DR. LUIS RICARDO HERNANDEZ

Puebla, Puebla. Enero de 2018



**UPAEP – Secretaría General**

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

**Tesis Digitales Restricciones de uso:**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# ÍNDICE GENERAL

<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	V
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	VI
<b>DEDICATORIAS</b> .....	VII
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2.-MARCO TEORICO</b> .....	5
2.1. Combustibles fósiles .....	5
2.1.1. Carbón .....	5
2.1.2. Gas natural.....	5
2.1.3. Petróleo.....	6
2.1.3.1. Diesel .....	8
2.2. Cambio climático global .....	9
2.3.- Energías Renovables .....	11
2.4. Biocombustibles.....	12
2.5. Biodiesel .....	14
2.5.1. Proceso de obtención del biodiesel .....	15
2.5.2. Biodiesel a partir de aceites vegetales.....	17
2.5.3. Situación actual del biodiesel a partir de aceites vegetales .....	18
2.5.4. Parámetros de calidad del biodiesel .....	20
2.5.4.1. Punto de inflamación .....	20
2.5.4.2. Temperatura de destilación 90% de recuperación .....	21
2.5.4.3. Residuos de carbón.....	21
2.5.4.4. Viscosidad cinemática a 40°C .....	21
2.5.4.5. Contaminación total.....	22
2.5.4.6. Azufre total .....	22
2.5.4.7. Corrosión en lámina de cobre .....	22
2.5.4.8. Estabilidad de oxidación a 110°C.....	22
2.5.4.9. Número de cetano o índice de cetano (IC): .....	22
2.5.4.10. Ceniza sulfatada.....	23
2.5.4.11. Índice de acidez .....	23
2.5.4.12. Índice de Yodo .....	24
2.5.4.13. Glicerina Libre.....	24

2.5.4.14. Glicerina Total.....	24
2.5.4.15. Metanol.....	24
2.5.4.16. Metales del grupo I (Na, K). Metales del grupo II (Ca, Mg) .....	25
2.5.4.17. Contenido de éster .....	25
2.5.4.18. Monoglicéridos, Diglicéridos, Triglicéridos .....	25
2.5.4.19. Metiléster linoleico y Metiléster poliinsaturado.....	25
2.5.5 Normatividad internacional del Biodiesel.....	26
2.6. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) .....	28
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>30</b>
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>33</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>35</b>
<b>6. OBJETIVOS .....</b>	<b>36</b>
6.1. Objetivo General.....	36
6.2. Objetivos Particulares .....	36
<b>7. ALCANCES .....</b>	<b>37</b>
<b>8. LIMITACIONES.....</b>	<b>38</b>
<b>9. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>10. DIAGRAMA DE TRABAJO.....</b>	<b>40</b>
<b>11. METODOLOGÍA.....</b>	<b>41</b>
11.1. Recolección de semillas.....	41
11.2. Secado.....	41
11.3. Extracción del aceite .....	42
11.4. Transesterificación.....	42
<b>12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
12.1. Investigación y selección de la familia y especie candidata a estudio.....	43
12.2. Análisis cromatográfico del biodiesel del aceite de <i>R. montana</i> .....	45
12.3. Análisis por Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier del biodiesel del aceite de <i>R. montana</i> .....	51
12.4. Estabilidad térmica del biodiesel del aceite de <i>Roupala montana</i> por DSC. ....	56
<b>13. CONCLUSIONES .....</b>	<b>58</b>
<b>14. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>59</b>
<b>15. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>60</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de transesterificación.....	16
Figura 2. Zonas de un Espectro FTIR para su lectura e interpretación.....	29
Figura 3. Semillas secas y verdes de Roupala montana .....	41
Figura 4. Menú principal de la herramienta PlantFAdb .....	43
Figura 5. Relaciones filogenéticas adaptados de la filogenia de angiospermas Poster (2016).....	43
Figura 6. Especies de la familia Proteaceae con producción de ácido palmitoleico.....	44
Figura 7. Portal de Datos Abiertos de Colecciones Universitarias UNAM.....	44
Figura 8. Cromatograma de biodiesel obtenido de la semilla verde de R. montana .....	45
Figura 9. Cromatograma de biodiesel obtenido de la semilla seca de R. montana .....	46
Figura 10. Cromatograma de biodiesel obtenido del fruto verde de R. montana .....	47
Figura 11. Cromatograma de biodiesel obtenido del fruto seco de R. montana .....	48
Figura 12. Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, saturados y poliinsaturados de R. montana .....	50
Figura 13. Espectro de FTIR de diesel .....	51
Figura 14. Espectros de FTIR de (a) diesel convencional, (b) aceite de palma y (c) biodiesel de palma.....	52
Figura 15. Espectro de FTIR de Diesel.....	52

Figura 16. Espectro de FTIR de biodiesel de aceite de Roupala montana.....	53
Figura 17. Espectro de FTIR de biodiesel de aceite de oliva.....	53
Figura 18. Espectros de FTIR de aceite de girasol caducado (A) y biodiesel (B).....	55
Figura 19. Análisis termogravimétrico (TG/DTG) de muestras de aceite de R. montana, aceite de oliva, biodiesel de aceite de oliva, biodiesel de aceite de R. montana, diesel.....	56

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades requeridas en el biodiésel de acuerdo a la norma EN14214.....	26
Tabla 2. Especificaciones del biodiésel puro en la norma ASTM D6751.....	27
Tabla 3. Porcentaje ácidos grasos presentes en el biodiesel de <i>Roupala montana</i> .....	48
Tabla 4. Porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de <i>R. montana</i> .....	50

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por tener un plan perfecto para mí y por ser quien ha puesto a mi alrededor a las personas indicadas en cada una de las etapas personal y profesional durante este “Mi viaje”, que sin duda ha sido maravilloso.

A MIS PADRES, Carmen y Juan Carlos, por ser ellos quienes me han dado el impulso para seguir consumando mis sueños, gracias por su empeño, dedicación y apoyo.

AL DR. ELIE GIRGISS, un gran profesor, amigo e investigador. Gracias por haber confiado en mí para este gran proyecto, y por darme todo el apoyo necesario para dar por concluida esta valiosa aportación al avance de la biotecnología verde.

DRA. ZAIDA Y RICARDO, gracias por todo el apoyo brindado durante la realización de este proyecto, gracias por siempre hacer amenas nuestras reuniones con el gran carisma que les caracteriza y por su conocimiento aportado.

A LA DRA. BEATRIZ PEREZ ARMENDARIZ Y A LA UPAEP, por haberme abierto las puertas de la universidad y así poder avanzar y concluir un peldaño más en mi formación académica.

A FERNANDA ZEPEDA O., por su valioso tiempo y aporte para el arranque de este proyecto.

A LA M.C. EDITH SALOME CASTAÑEDA, AL BIÓLOGO ÁLVARO CAMPOS, por su valiosa aportación para la búsqueda, identificación y recolección de *Roupala montana*. A LA ESTACIÓN DE BIOLOGÍA TROPICAL “LOS TUXTLAS” de la UNAM por la facilitarnos el ingreso al área bajo su resguardo y contribuir al avance de este maravilloso proyecto. A LA ING. ELVA HERNÁNDEZ H., perteneciente al Centro de Servicios de Alta Tecnología (CESAT) de la UPAEP por su valioso apoyo para la realización de pruebas con la finalidad de concluir este proyecto.

## DEDICATORIAS

### A MIS PADRES:

JUAN CARLOS CIGARROA CITALÁN  
MARÍA DEL CARMEN ZÁRAE LÓPEZ

### A MIS ABUELOS:

ELIODORO CIGARROA ORTÍZ  
REYNALDA CITALÁN JOACHÍN  
MANUELA LÓPEZ TRINIDAD (†)

## 1.- INTRODUCCIÓN

En la actualidad el mundo se encuentra enfrentando diversos problemas, de los cuales destacan el deterioro ambiental y la crisis energética. (González, 2012). La exploración y el uso desmedido de los consumos de combustibles fósiles (petróleo, carbón, gas natural) ha propiciado que se llegue a ocasionar la contaminación del aire y ha llevado a una disminución de las reservas mundiales de petróleo, por lo que pronto llegaran a agotarse; la quema de este tipo de combustibles produce grandes cantidades de gases de efecto invernadero (GEI) como son dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno, óxidos de azufre, hidrocarburos no quemados y cenizas finas (Agarwal, 2007; Medina y col., 2012; Taher y col., 2011; Martínez y col., 2015; Medica y col., 2015). Para corregir estos problemas, debe reducirse la dependencia de los combustibles fósiles. A medida que la demanda mundial de energía va en aumento, la manera más eficiente de satisfacer la demanda será mediante los combustibles alternativos. Por lo que el cambio a las energías renovables desempeñará un papel muy importante. (Taher y col., 2011; Medina y col., 2015; Nomanhay y Ong 2017). Así mismo desde el punto de vista del medio ambiente también será muy importante encontrar combustibles alternativos sostenibles y respetuosos con el medio ambiente (Taher y col., 2011).

Rudolf Diesel hace más de un siglo probó el uso de los aceites vegetales como combustibles en su motor. Sin embargo, en ese momento los combustibles de aceite vegetal no eran competitivos porque eran más caros que los combustibles de petróleo, y por lo tanto la idea fue abandonada. Con las preocupaciones sobre la disponibilidad de combustibles de petróleo y los últimos aumentos en los precios del petróleo, el uso de aceites vegetales en los motores diesel ha vuelto a llamar la atención (Meher y col., 2006; Taher y col., 2011). La producción actual de biocombustibles está dominada por el bioetanol producido por fermentación de almidón o sacarosa de los cultivos alimentarios y por el biodiesel producido por la transesterificación de aceites vegetales o animales. Una alternativa prometedora que ha sido utilizada por mucho tiempo es el uso de biomasa de plantas (Henry, 2010) lignocelulósicas no alimentarias, disponible como desechos agrícolas de cultivos alimentarios o producidos a partir de plantas de bajo consumo y no alimentarias (Kolesárová,

y col., 2011; Marriott y col., 2014). El biodiesel es un candidato prominente como combustible diesel alternativo (Kolesárová, y col., 2011).

El biodiesel es un combustible líquido que se obtienen a partir de aceites vegetales o animales, es de color amarillo-ámbar, con una viscosidad similar a la del diesel de petróleo, no es inflamable, no es explosivo, con un punto de inflamación superior comparado con el diesel de petróleo, es biodegradable, disminuye significativamente las emisiones de gases tóxicos y de otras sustancias volátiles cuando se quema como combustible. Además, presenta mejor índice de cetano y mejor eficiencia en la lubricación (Castellar y col., 2014; Martínez y col., 2015). Pueden reemplazar total o parcialmente a los de origen fósil en motores diesel con rendimientos comparables a estos últimos con la posibilidad de mezclarlo con diésel de petróleo y usarlo de forma directa, y el gran número de materias primas que pueden ser usadas en su producción hacen de él una interesante alternativa. (García, 2012; Ramírez y col., 2012). Los parámetros, que definen la calidad del biodiesel, se pueden dividir en dos grupos. Un grupo contiene parámetros generales, que también se utilizan para combustible basado en aceite mineral, y el otro grupo describe especialmente la composición química y la pureza de los ésteres alquílicos de ácidos grasos (Meher y col., 2006)

El biodiesel, según la Asociación Internacional de Normativa de Calidad (ASTM), es una mezcla de ésteres monoalquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de aceites vegetales o grasas animales, que se emplea en motores de ignición-compresión (motores diesel) o en calderas de calefacción. Químicamente, como éster monoalquílico, es el resultado de la reacción que se da entre un aceite o grasa llamado triglicérido con un alcohol de cadena corta (metano o etanol) para formar ésteres de ácidos grasos de cadena larga (biodiesel) y glicerina por una reacción de transesterificación (Meher y col., 2006; Sánchez, 2015). El biodiesel resultante es bastante similar al gasóleo convencional en sus principales características (Meher y col., 2006).

Los aceites que han sido utilizados para producción de biodiesel se caracterizan por el tipo de ácido graso que posean y se reflejan en sus características como son la oxidación, estabilidad y propiedades en frío. En general, los ácidos grasos insaturados son bajos en

punto de fusión, mientras que los saturados son altos. Así, los aceites, que contienen una gran cantidad de ácidos grasos insaturados son líquidos, mientras que las grasas, que son ricas en saturados, son sólidas temperatura ambiente (Imahara y col., 2006).

Uno de los principales criterios para la calidad del biodiesel es la estabilidad de almacenamiento (dentro de los cuales se encuentran su alta viscosidad y baja volatilidad) Los derivados del aceite vegetal tienden especialmente a deteriorarse debido a reacciones hidrolíticas y oxidativas, esto debido al grado de insaturación que poseen ya que los hace susceptibles a efectos térmicos y/o oxidativos, que puede conducir a la formación de productos insolubles que causan problemas dentro del sistema de combustible, especialmente en la bomba de inyección, también pueden ocasionar el desgaste y contaminación del mismo (Meher y col., 2006; Ameer y col., 2009; Favero y col., 2010).

Favero y col., 2010 comentan que diversos estudios han destacado que, el sistema de inyección del motor puede sufrir mayor daño, tales como depósitos debido a una incompleta combustión (Meher y col., 2006), formación de polímeros, corrosión y depósitos de jabón, con el uso de biodiesel. Las propiedades del biocombustible tales como el número de cetano, el calor de combustión, gravedad específica y viscosidad afectan a la combustión y por lo tanto el rendimiento del motor y las características de las emisiones (Canakci, 2007). Este comportamiento puede encontrarse ampliamente a la dependencia de las propiedades del combustible en la estructura de ácidos grasos. Por lo tanto, se ha demostrado que el número de cetano, un descriptor adimensional relacionado con la calidad de ignición de un combustible diesel, disminuye con una disminución de la longitud de cadena, un aumento de la ramificación, y un aumento de la saturación en la cadena de ácidos grasos. Usualmente la calidad de la ignición mejorará en cuanto mayor sea el número de cetano (Knothe, 2008). Estudios realizados han indicado que el biodiesel con contenido alto de ácidos grasos monoinsaturados tiene excelentes características con respecto a la calidad en su ignición, óxido nítrico y las emisiones de la estabilidad del combustible. Sin embargo, la mayoría de los aceites vegetales usados como materia prima para producción de biodiesel poseen un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados lo cual impacta negativamente en la calidad del biodiesel (Qu, J. y col., 2012).

Debido a lo mencionado anteriormente aún se siguen realizando investigaciones con la finalidad de encontrar una mejor composición del biodiesel la cual incluye una elevada presencia de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico y palmitoleico) y disminuir la presencia de ácidos grasos poliinsaturados y controlar el contenido ácidos grasos saturados, por lo que se ha recomendado el uso de C 18:1 (ácido oleico) y C16:1 (ácido palmitoleico), ya que son los que presentan un mejor ajuste en términos de estabilidad oxidativa y comportamiento en clima frío (Pinzi y col., 2009)

## **2.-MARCO TEORICO**

### **2.1. Combustibles fósiles**

En la actualidad el carbón, el petróleo y el gas natural conforman los combustibles fósiles; son las fuentes que en su combustión suministran alrededor del 88 % de la energía consumida por el mundo para satisfacer los requerimientos de la sociedad. Estos recursos se formaron a partir de materia orgánica proveniente de plantas, microorganismos, bacterias y algas, que mediante la fotosíntesis transformaron en energía química la energía electromagnética del sol (Reyes, 1999; Ramírez, 2013).

#### **2.1.1. Carbón**

Fue el primer combustible fósil que utilizó el hombre, al inicio del siglo XX, el carbón fue la fuente dominante de energía para el mundo. A nivel mundial se cuenta con abundantes reservas, representa casi el 70% de las reservas energéticas mundiales de los combustibles fósiles. Ha tenido un fuerte crecimiento desde el año 2000, lo que lo posiciona firmemente como la segunda fuente más grande, proporcionando el 26.6 por ciento de la producción mundial de energía primaria en 2005. El consumo mundial de carbón se ha incrementado. Asia aumentó su consumo en un período del 2002 al 2008 en un 72.7% seguido de América Central y Sur América con un “7% y África con un 19.4%. Para el 2008 Asia alcanzó un promedio de 61.48% del total, seguida por América del Norte con 18.37 y Europa con 15.82% El consumo de América del Sur y América Central solo ha alcanzado un 0.7% del total mundial (Nehring, 2009; Núñez, 2010).

#### **2.1.2. Gas natural**

Es una mezcla de gases localizados al interior de la tierra, de fácil extracción comparado con el petróleo. Su composición es 70% gas metano y 30% gases licuables. Ante el aumento del precio del petróleo, el Gas Natural se ha posicionado como una fuente importante en la generación de energía a nivel mundial (Núñez, 2010). Diferencias muy significativas existen en la distribución de los recursos mundiales de gas entre las regiones. A fines de 2005, los

recursos mundiales de gas conocidos se estiman en 246,1 billones de metros cúbicos (Tcm). Los recursos finales de gas natural, que van de 356 a 571 Tcm, son 45-132% más altos que la recuperación conocida. Tres regiones Europa, África y América Latina tienen solo entre un 4 y un 8% de la recuperación mundial (y solo un 14-18% de la recuperación final combinada). Asia / Oceanía tienen un 11-12% de la recuperación definitiva mundial. Los EE. UU. Y Canadá, con el 42 por ciento de la producción acumulativa mundial, tienen solo el 20-22% de la recuperación mundial. Medio Oriente y Eurasia dominan los recursos mundiales de gas natural. Medio Oriente tiene un 26-28% de recuperación definitiva; Eurasia (predominantemente Rusia) tiene 24-25% (Nehring, 2009).

### **2.1.3. Petróleo**

El petróleo es una fuente de energía única. Durante miles de años, en lugares desde Babilonia hasta Rumania y China, donde rezumaba desde el suelo, el petróleo fue reconocido y utilizado como medicina, como combustible y para otros fines (Frumkin y col., 2009). Hace aproximadamente 150 años se perforaron los primeros pozos comerciales de petróleo, es el hidrocarburo que más ha generado una fuerte dependencia entre las naciones (Núñez, 2010).

Existen muchos productos químicos que se derivan del petróleo, por ejemplo, el etileno es un punto de partida para la producción de polietileno, poliésteres, cloruro de vinilo y poliestirenos, productos farmacéuticos, así como también plásticos, resinas, solventes, fibras textiles, lubricantes, pesticidas, fertilizantes, productos de limpieza etc. Sin embargo, la mayoría del petróleo que se extrae ahora, en un porcentaje del 85 % se usa para producir combustibles. La mayoría de estos son combustibles de transporte como la gasolina, el gasóleo y el combustible para aviones. El petróleo representa más del 90% del combustible de transporte, pero solo el 2% de la generación de electricidad. Cuando se refina, un barril de 42 galones de crudo produce aproximadamente 20 galones de gasolina, 10 galones de combustible diesel y combustible para calefacción, cuatro galones de combustible para aviones y cantidades menores de otros productos (Frumkin y col., 2009).

El auge en la extracción de petróleo y producción de combustibles, desencadenó el uso de vehículos como carros, motocicletas, trenes, aviones, para el transporte lo que marcó el inicio de la revolución industrial. Los primeros vehículos desarrollados por Henry Ford y Rudolf Diesel usaron etanol y éster de aceite vegetal (Actualmente llamados biocombustibles) (Laine, 2009).

El consumo mundial del petróleo se evidencia desde los inicios del período (1965 – 2007). En los años 1975 y 1983 se registraron descensos considerables en el consumo mundial. En el año 2008, la humanidad se encontraba consumiendo diario en promedio 84455 millones de barriles de petróleo, reduciendo un 0.6% el consumo promedio diario que se presentó en 2007. En cuanto al % que representan los consumos, encabezando la lista se encuentra con un 30.1% Asia, seguida de 27.4% de América del norte y Europa con un 24.3% (Núñez, 2010).

Si bien no se pueden descartar nuevos hallazgos importantes, las estadísticas recientes sí proporcionan señales preocupantes. Las estimaciones de las reservas se han incrementado con el tiempo, pero el aumento promedio anual de las reservas probadas de petróleo, que se ubicaron en 4.5% en la década de 1980, se ha desacelerado considerablemente desde principios de la década de 1990 a alrededor del 1%. Los descubrimientos solo reemplazaron aproximadamente el 45% de la producción desde 1999. Además, el número de descubrimientos está aumentando, pero los descubrimientos son cada vez más pequeños. Los 25 campos más grandes poseen alrededor del 33% de las reservas descubiertas y los 100 principales campos del 53%; todos menos dos de los campos gigantes fueron descubiertos antes de 1970 (Frumkin y col, 2009). El término "pico de petróleo" se usa comúnmente para describir cuándo se alcanzará la producción máxima de petróleo. El pico del petróleo será seguido por un rápido descenso en nuestras reservas de petróleo. Nashawi et al. (2010) predijo que el pico del petróleo se alcanzará en 2014 (Quintana y col., 2011).

Dadas las múltiples incertidumbres involucradas, las disputas sobre el momento preciso en el que la producción de petróleo comenzara o comience a agotarse resulta un poco inútil estimarlo. Es más relevante la respuesta adecuada al riesgo de aumento de los precios y las limitaciones de la oferta y la medida en que se puede confiar en los mercados para tratar de

disminuir los riesgos que se generen por la disminución de la producción de petróleo o el agotamiento de este. La mitigación se puede lograr a través de la sustitución de combustibles y la reducción de la demanda (Miller & Sorrell, 2014).

### **2.1.3.1. Diesel**

El diesel, también llamado gasóleo o gasoil, se obtiene por la destilación del petróleo crudo, es un líquido de color blancuzco o verdoso con una densidad de 850 kg/m<sup>3</sup> (0,850 g/cm<sup>3</sup>) (Rodríguez 2009; Ameen et al. 2016), es una mezcla compleja de diferentes hidrocarburos (C 6 a C 22 ) y está constituido principalmente por alcanos, tales como pentadecano 2,6,10,14-tetrametil (prístina) hexadecano 2,4,6,10-tetrametil ramificado, alquenos (Luo et al. 2015), e hidrocarburos aromáticos (incluidos los naftalenos y alquilbencenos) (Zanaroli et al. 2010), en menor proporción también posee azufre, nitrógeno, metales y oxígeno; es utilizado principalmente como combustible en motores diésel, en calefacción y en algunas máquinas. Las moléculas de hidrocarburos presentes en el diesel contienen de 8 a 40 átomos de carbono, y en general son más pesados que los que se encuentran en la gasolina. Cuando es obtenido de la destilación del petróleo, se denomina petrodiesel, y cuando es obtenido a partir de aceites vegetales se denomina biodiesel (Rodríguez 2009; Pino et al. 2012; Yergeau et al. 2012; Ameen et al. 2016).

El diesel ha sido uno de los contaminantes principales del agua y suelo, pudiendo llegar como consecuencia de actividades industriales y derrames accidentales, los efectos de esta contaminación son graves para los diferentes ecosistemas ya que interfiere con el crecimiento y el desarrollo normal de la fauna y la flora de diversas maneras (Pino et al. 2012). En el suelo, debido a sus características fisicoquímicas como la permeabilidad, una vez derramado el diesel puede llegar a alcanzar las tomas de agua y / o depósitos de agua subterránea, generando así los riesgos relevantes para los seres humanos (Zanaroli et al. 2010).

## 2.2. Cambio climático global

La Tierra mantiene su temperatura en equilibrio, lo que propicia las condiciones necesarias para la vida tal como se conoce, gracias a la presencia de los llamados gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera. Están constituidos por el vapor de agua y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y otros gases que contribuyen en menor proporción. Las concentraciones de varios gases de efecto invernadero están influidas significativamente por las actividades de los seres humanos. Además de  $\text{CO}_2$ , estos gases incluyen  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y CFC. El efecto sobre el clima es tanto directa como indirecta a través del aumento asociado en vapor de agua atmosférico con la temperatura (Nibleus y Lundin, 2010; Ramírez, 2013).

Los GEI son parte importante para la vida en el planeta, ya que ayudan a mantener la temperatura de la Tierra a cierta temperatura, sin embargo, si la concentración de estos gases aumenta, la temperatura se incrementa (Nibleus y Lundin, 2010; Ramírez, 2013). Diversos científicos han realizado mediciones, observaciones los cuales han plasmado en los reportes del Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC por sus siglas en inglés), los GEI se han incrementado en las últimas décadas, por las actividades que han desarrollado los humanos. Lo que ha desencadenado que el planeta aumente su temperatura medio grado centígrado en los últimos 100 años, mismos que han provocado cambios en el clima. A los cambios naturales más los antropogénicos se le llama Cambio Climático Global. Estos cambios posiblemente pueden llegar a afectar de manera peligrosa el sistema climático, estimulando cambios en la precipitación, aumento en el nivel del mar, incremento en la frecuencia e intensidad de fenómenos extremos (Ramírez 2013).

Hay diez GEI primarios que incluyen vapor de agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), este es producido principalmente por organismos heterotróficos y la respiración de la raíces de las plantas y se emite desde la superficie del suelo a la atmósfera, metano ( $\text{CH}_4$ ) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) que generalmente es liberado del suelo; estos se producen de forma natural y son los que están involucrados principalmente en el cambio climático (Ramírez, 2013; Andrade-Castañeda y col., 2017). Los perfluorocarburos ( $\text{CF}_4$ ,  $\text{C}_2\text{F}_6$ ), los hidrofluorocarburos ( $\text{CHF}_3$ ,  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{F}$  y  $\text{CH}_3\text{CHF}_2$ ) y el hexafluoruro de azufre ( $\text{SF}_6$ )

se encuentran en la atmósfera debido a procesos industriales. El vapor de agua es el gas de efecto invernadero más importante, abundante y dominante, y el CO<sub>2</sub> es el segundo más importante. La concentración de vapor de agua depende de la temperatura y otras condiciones meteorológicas, y no directamente de las actividades humanas (Hashimoto, 2012; Songolzadeh y col., 2014).

El CO<sub>2</sub> es el principal gas antropogénico de efecto invernadero, que representa el 77% de la contribución humana al efecto invernadero en la última década (26 a 30 por ciento de todas las emisiones de CO<sub>2</sub>). Las principales emisiones antropogénicas de CO<sub>2</sub> provienen de la combustión de combustibles fósiles. La concentración de CO<sub>2</sub> en los gases de combustión depende del combustible, como el carbón (12-15 mol-% de CO<sub>2</sub>) y el gas natural (3-4 mol-% de CO<sub>2</sub>). De 2004 a 2011, las plantas de cemento y petroleras han sido las industrias principales para la emisión de CO<sub>2</sub>, de modo que la industria del cemento contribuye con alrededor del 5% a las emisiones antropogénicas mundiales de CO<sub>2</sub>. Además, las industrias petroquímicas son una gran parte de las emisiones de CO<sub>2</sub> (Songolzadeh y col., 2014).

Ramírez (2013) menciona datos emitidos por el último reporte del Panel Intergubernamental de Cambio Climático, lo siguiente:

- A partir de 1970 como resultado de las actividades humanas, las concentraciones atmosféricas del dióxido de carbono, metano y óxido nítrico mundiales han aumentado. El uso de combustibles fósiles y cambios en el uso del suelo, provocan el aumento global de la concentración de dióxido de carbono, mientras que el del metano y óxido nítrico se deben principalmente a la agricultura.

- Las observaciones realizadas sobre los incrementos en las temperaturas medias del aire y del océano, el derretimiento generalizado del hielo y de la nieve, y la elevación del nivel medio del mar en el mundo hacen que el calentamiento del sistema climático sea inequívoco.

- Las emisiones mundiales de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O, HFCs, PFCs y SF<sub>6</sub>, entre 1970 y 2004 han sido medidas por su potencial de calentamiento mundial (PCM), se incrementaron en un 70%

(24% entre 1990 y 2004), pasando de 28,7 a 49 Gigatoneladas de dióxido de carbono equivalente (GtCO<sub>2</sub>-eq).

La Convención de Naciones Unidas para el Cambio Climático (CMNUCC) ha propuesto la mitigación como estrategia para luchar contra el cambio climático. En términos de mitigación, la principal acción es la reducción de emisiones disminuyendo el consumo de combustibles fósiles, a través de la sustitución de las mismas por fuentes de energía renovable o a través de mayor eficiencia energética (Ramírez, 2013; Islam y col., 2014; López, 2014).

### **2.3.- Energías Renovables**

La modernización, automatización y el crecimiento económico dependen principalmente del suministro energético. La demanda mundial energética está creciendo con rapidez lo que ha ocasionado que en la actualidad haya preocupación sobre la forma de satisfacer la demanda de energía en un futuro. Diversas proyecciones a largo plazo indican que la demanda de energía aumentará rápidamente en todo el mundo. Para ello, se han utilizado como fuentes de energía primaria a los combustibles fósiles; sin embargo, estos emiten GEI que afectan el medio ambiente y también que son recursos finitos (Quintana y col., 2011; Cao y col., 2013; Mureddu y col., 2015). Un análisis reciente sobre la sostenibilidad, va relacionado con las políticas de cambio climático, lo que requiere un uso lo más pronto posible de las fuentes de energía renovables, estas fuentes de energía son libres de emisiones en el mundo. (Torres Badillo y Flores Tomalá 2011; Islam y col., 2014; Mureddu y col., 2015).

A diferencia de los combustibles fósiles y nucleares, las energías renovables provienen de los recursos naturales (viento, luz solar, energía geotérmica y biomasa) que se reemplazan constantemente y son una solución ideal porque pueden contribuir significativamente a la producción mundial de energía (Quintana y col., 2011; Islam y col., 2014). El desarrollo y el uso de energías renovables proporcionan un número considerable de beneficios a las naciones de todo el mundo, incluido un aumento de la producción de energía, protección del medio ambiente mediante la disminución de GEI, reducción de la contaminación y creación de

empleo. La energía solar (térmica o fotovoltaica), eólica, hidroeléctrica, de biomasa y geotérmica actualmente constituyen las fuentes de energía sustentables más comunes. Cada una de estas fuentes tiene propiedades particulares que determinan su utilidad y aplicación en nuestra sociedad. Las diferentes características de un recurso energético específico pueden evaluarse en términos de indicadores de sostenibilidad (Quintana y col., 2011). El escenario del "futuro sostenible" de la Agencia Internacional de Energía (AIE) muestra que el 57% de la electricidad mundial proviene de fuentes renovables de energía para 2050 (Islam y col., 2014).

### **2.4. Biocombustibles**

Se denomina biocombustible a aquel recurso energético que se obtiene del tratamiento de la biomasa (materia orgánica), en la actualidad se obtienen de plantas, microorganismos, animales y residuos; su producción que implica varias etapas, como la recolección de biomasa, la desconstrucción del material para obtener componentes de biomasa (por ejemplo, monosacáridos, ácidos grasos, etc.) y su conversión a biocombustibles (Dellomonaco y col., 2010). Todos los biocombustibles convergen en su origen (básico y renovable). En los últimos diez años los biocombustibles se han convertido cada vez más en parte de la mezcla de energía planificada del mundo, los biocombustibles se promocionan comúnmente como una solución dual a los problemas de dependencia de las fuentes de energía no renovables y al cambio climático (Dellomonaco y col., 2010; Ridley y col., 2012), que en su mayoría ayudan a eliminar el dióxido de carbono atmosférico mediante la fotosíntesis (Torres Badillo y Flores Tomalá 2011; Ramírez, 2013; Hein & Leemans, 2012), pero sus impactos no se limitan a estas dos áreas. La producción y uso de energía es una de las empresas humanas más intensivas, con numerosos beneficios económicos y sociales (Ridley y col., 2012).

Con la finalidad de reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> y apoyar la diversificación de las fuentes de energía, muchos gobiernos han promovido fuertemente la producción y uso de biocombustibles. Los biocombustibles que se pueden incluir el bioetanol, biometanol, biodiesel (Stratta, 2010), siendo los más desarrollados y empleados hasta la fecha el bioetanol y el biodiesel (Stratta, 2010; Hein & Leemans, 2012), estos se obtienen mediante el proceso de fermentación orgánica (etanol) o mediante la transesterificación (biodiesel)

(Torres Badillo y Flores Tomalá 2011), también se pueden obtener butanol y / o alcoholes de cadena larga, electricidad , bioalcanos, ésteres de ácidos grasos, hidrógeno, hidrocarburos y ceras (Huang y Zhan, 2011). La producción mundial de bioetanol aumentó de 17 mil millones de litros en 2000 a 65 mil millones de litros en 2008. Las materias primas más importantes para bioetanol son la caña de azúcar, trigo, maíz y remolacha azucarera, y para el biodiesel son las semillas de colza, de soja, y aceite de palma (Hein & Leemans, 2012).

Según la fuente de origen y la tecnología utilizada en la producción de biocombustibles, generalmente se les llama biocombustibles de primera, segunda y tercera generación, mientras que los biocombustibles de cuarta generación hacen uso de nuevas herramientas de biología sintética (Aro, 2016).

Hoy en día, la mayoría de los biocombustibles de primera generación provienen de plantas de cultivo que contienen energía como azúcares, aceites y celulosa. Se obtienen principalmente de fuentes comestibles como la caña de azúcar, el maíz, el trigo y el aceite de palma. Ahora se necesitan esfuerzos para acelerar la generación de biocombustibles avanzados mediante la identificación e ingeniería de materias primas no alimentarias efectivas, mejorar el rendimiento de las tecnologías de conversión y la calidad de los biocombustibles para diferentes sectores del transporte, así como reducir los costos (Aro, 2016; Amin y col., 2017; Xie y col., 2017).

Los biocombustibles de segunda generación ya son una mejora en la producción de biocombustibles a partir de materias primas lignocelulósicas, no alimentarias como *Jatropha miscanthus* (Amin y col., 2017), que incluyen paja, bagazo, residuos forestales, cultivos energéticos cultivados específicamente en tierras marginales (Aro, 2016), aceites vegetales no comestibles, aceite de cocina residual, grasa animal (Xie y col., 2017).

Los biocombustibles de tercera generación se basan en la producción de biomasa mediante la utilización de algas (Aro, 2016; Amin y col., 2017; Xie y col., 2017). Actualmente se encuentran bajo una amplia investigación con el fin de mejorar tanto la producción metabólica de combustibles como los procesos de separación en la producción de biopetróleo

para eliminar los componentes no combustibles y reducir aún más los costos de producción (Aro, 2016).

Y los biocombustibles de cuarta generación provienen de materias primas como los desechos industriales de CO<sub>2</sub> y otras corrientes (Xie y col., 2017), como combustibles solares fotobiológicos y electrógenos (Amin y col., 2017). La tecnología para la producción de tales biocombustibles solares es un campo emergente y se basa en la conversión directa de energía solar en combustible utilizando materias primas que son inagotables, baratas y ampliamente disponibles (Aro, 2016).

## **2.5. Biodiesel**

La American Society for Testing and Materials define de manera química al biodiesel, como un éster metílico de ácidos grasos (FAME) de cadena larga derivados de aceites renovables que pueden ser vegetales (Cao y col., 2013; Lin y col., 2013; Karmee y col., 2015; Souza y col., 2017) o grasas animales (Amin y col., 2017), con características como una alta estabilidad; bajo contenido de agua y volátiles; una baja cantidad de polímeros que contienen elementos de azufre y nitrógeno (Li y col., 2011; Medina Ramírez y col., 2012; Ramírez, 2013; Botella y col., 2014). Estas cadenas largas ayudan a una combustión más limpia cuando se encuentran oxigenadas. El prefijo “Bio” representa el origen orgánico y renovable y “Diesel” refiere al uso en motores diesel. Este biocombustible puede ser utilizado de manera pura (B100) (Mueller y col., 2013) al que se le conoce como “girasol verde” o en diversas mezclas a diferentes concentraciones con diesel del petróleo (Medina Ramírez y col., 2012; Ramírez, 2013; Botella y col., 2014). Hoy en día la mezcla más utilizada es a 20%, es decir, 20 partes de biodiesel y 80 partes de petrodiesel. Cuando es utilizado como aditivo, sus concentraciones normalmente no superan 5% (Medina Ramírez y col., 2012). Así mismo se ha comprobado que la producción de obtenido de aceites vegetales como materia prima proporciona biodiésel con más del 90% de rendimiento (Karmee y col., 2015).

Algunas empresas en Estados Unidos, Francia, Alemania, Brasil y Argentina, que usan biodiesel han comentado que al incorporarlo a un motor convencional se reducen las emisiones de monóxido de carbono (CO) (Souza y col., 2017), esto debido a que la

concentración de carbono, azufre y agua son menores, el bajo contenido de azufre da como resultado que no se generen emisiones de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) el principal causante de enfermedades respiratorias y de la lluvia ácida (Strong y col., 2014) , también se reducen las emisiones de óxidos de azufre, hidrocarburos aromáticos, partículas sólidas (Medina Ramírez y col., 2012), sulfatos, los hidrocarburos policíclicos, los hidrocarburos aromáticos policíclicos nitrados y la materia particulada (MP) en comparación con los motores diesel convencionales de petróleo (Cao y col., 2013; Amin y col., 2017). Puede funcionar en cualquier motor diesel, y se presume que puede llegar a duplicar el tiempo de vida útil de los automóviles. Sin embargo, algunas de sus propiedades como son: alta viscosidad, baja volatilidad, menor poder calorífico, estabilidad a oxidación, entre otras, que deben ser mejoradas para poder lograr reemplazar a 100% el uso de combustibles fósiles (Medina Ramírez y col., 2012).

### **2.5.1. Proceso de obtención del biodiesel**

Los aceites vegetales contienen generalmente ácidos grasos libres, fosfolípidos, esteroides, agua, olores y otras impurezas, debido a ello, el aceite no puede ser utilizado como combustible de manera directa. Es por esta razón que para superar estos problemas, el aceite requiere la modificación química, generalmente se realiza un tratamiento (Vázquez, 2014) que puede realizarse de las siguientes maneras i) química , ii) transesterificación de los aceites vegetales (Mumtaz y col., 2014; Abu-Hamdeh y Alnefaie, 2015; Souza y col., 2016) y grasas animales , el proceso de ruptura de triglicéridos y sustitución del glicerol por tres radicales del alcohol utilizado se conoce como transesterificación y iii) mediante la esterificación de ácidos grasos a un alcohol (Uthoff y col., 2009; González, 2012; Lin y col., 2013; Botella y col., 2014; Amin y col., 2017). En los últimos años, la investigación de biocombustibles se ha dirigido principalmente a explorar los combustibles a base de plantas, es decir, ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de aceites de semillas (Pinzi y col., 2009).

El proceso de transesterificación, es un proceso, en el que participa un catalizador homogéneo que se utiliza para mejorar la velocidad de reacción y el rendimiento, se puede usar un ácido

(ácido sulfúrico, ácido sulfónico o ácido clorhídrico) o una base (hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonatos, y correspondientes alcóxidos de sodio y potasio), los más utilizados por su alto rendimiento son los hidróxidos de sodio o potasio por un alcohol (metanol o etanol), y el resultado es la formación de ácidos grasos unidos con un enlace éster con un radical metil o etil (según el alcohol utilizado), que conduce a un éster metílico de ácido graso (Fatty Acid Methyl Esther, FAME) o un éster etílico de ácido graso (Fatty Acid Ethyl Esther, FAEE). (Kolesárová y col., 2011; Luna y col., 2012; Escobar-Niño y col., 2014; Lau y col., 2016; Souza y col., 2016). La transesterificación catalizada por bases es mucho más rápida que la catalizada por ácidos (la transesterificación catalizada por bases se completa básicamente en una hora) y se usa con mayor frecuencia comercialmente (Kolesárová y col., 2011). El proceso de transesterificación alcalino se lleva a cabo actualmente a escala industrial, porque es rentable y altamente eficiente (Escobar-Niño y col., 2014).

En la figura 1 se observa la reacción general de la producción de biodiesel por transesterificación catalizada por una base. Donde los triglicéridos (1) reaccionan con un alcohol como el metanol o etanol (2) con un catalizador para proporcionar esteres etílicos de ácidos grasos (3) y glicerol (4) (Kolesárová y col., 2011; Hein & Leemans, 2012; Vázquez, 2014).

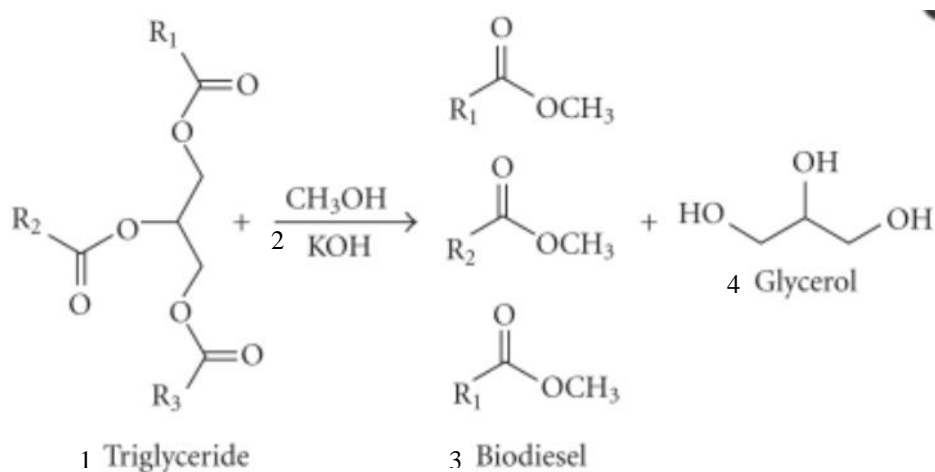


Figura 1. Reacción de transesterificación.

### 2.5.2. Biodiesel a partir de aceites vegetales

El uso de aceites vegetales como una energía alterna ha sido de alrededor de unos 100 años, cuando el inventor del motor diesel Rudolf Diesel probó el aceite de cacahuete en su motor de encendido por compresión. (Meher y col., 2006; Taher y col., 2011). Él dijo, "El uso de aceites vegetales para combustibles del motor puede parecer insignificante hoy. Pero tales aceites puede que con el tiempo llegarán a ser tan importantes como el petróleo y los productos de alquitrán". Sin embargo, debido a que los productos derivados del petróleo son baratos, tales combustibles no convencionales no funcionan (Meher y col., 2006).

La viabilidad de biocombustibles emerge nuevamente debido a que el biodiesel puede fabricarse a partir de numerosos aceites y grasas, incluidos aceites vegetales vírgenes, las fuentes actuales de biodiesel comercial son principalmente el aceite de soja (Pinzi y col., 2009; Amin y col., 2017), el aceite de colza, el aceite de palma, el aceite de maíz, el aceite de cocina residual y grasas animales, como sebo o manteca de cerdo (Jesús y col., 2009; Pinzi y col., 2009; Li y col., 2011; Tamada y col., 2012; Ren y col., 2013; Abu-Hamdeh y Alnefaie, 2015; Hood, 2016). Hoy en día, con la creciente preocupación ambiental por la contaminación y la degradación de los ecosistemas, las fuentes de energía con un mayor atractivo ecológico emergen como alternativas a los recursos no renovables (Tamada y col., 2012).

Los ácidos grasos que generalmente están contenidos en el biodiesel en la actualidad son el ácido palmítico (C 16:0), ácido esteárico (C 18:0), ácido oleico (C 18:1 9), ácido linoleico (C 18:2 9,12), ácido linolénico (C18:3 9,12,15). Esto aplica para el biodiesel proveniente de materia prima como el aceite de soja, girasol, canola, palma y cacahuete. Algunos aceites tropicales, como el aceite de coco, contienen cantidades significativas ácidos grasos de cadena corta, como el ácido láurico (C 12:0). Una variedad de otros ácidos grasos se encuentra en pequeñas cantidades en casi todos los aceites y grasas utilizados como materias primas de biodiesel (Knothe, 2008).

Actualmente, más del 95% del biodiésel mundial se produce a partir de aceites comestibles fácilmente disponibles a gran escala en la industria agrícola. Sin embargo, la producción continua y en gran escala de biodiesel a partir de aceites comestibles. Por lo que se puede llegar a dar una competencia entre las necesidades de combustible y combustible comestible y esto puede causar una desproporción mundial en la industria alimentaria y las demandas del mercado. Por lo tanto, existe la necesidad de una materia prima no comestible y económica para la producción de biodiesel. (Das y col., 2014; Elsheikh y Akhtar, 2014).

### **2.5.3. Situación actual del biodiesel a partir de aceites vegetales**

Entre las principales especificaciones del biocombustible que se relacionan con la composición química de los aceites son el número de cetano, valor de calentamiento, viscosidad, estabilidad oxidativa, propiedades de flujo en frío en forma de punto de enturbiamiento (CP), punto de fluidez (PP), y el punto de obturación de filtro frío (CFPP), las emisiones de los gases de escape, la lubricidad y calor de combustión (Knothe, 2005; Knothe, 2008; Puhan y col., 2010). Otros parámetros que se ven influenciados por la composición de ácidos grasos son la tasa de conversión de la fama y la cantidad óptima de reactivos implicados en la reacción de transesterificación (Bamgboye and Hansen, 2008; Knothe, 2008; Pinzi y col., 2009).

Actualmente aún existen ciertos problemas con la utilización del biodiesel que se pueden observar, dicho comportamiento se encuentra relacionado con la estructura de ácidos grasos del aceite del cual proviene el combustible. Los problemas son (Knothe, 2008):

- Problemas con la estabilidad oxidativa
- Pobres propiedades a baja temperatura
  - Punto de enturbiamiento (CP)
  - Punto de fluidez (PP)
  - Punto de obturación de filtro frío (CFPP)

La *estabilidad oxidativa*, se afecta de manera directa por la composición de la fuente de aceite. Los ácidos grasos saturados son estables a la oxidación, un aumento en sus insaturaciones (existencia de dobles enlaces) va a propiciar una disminución de la estabilidad oxidativa (Botella y col., 2014; Vázquez, 2014). La resistencia del biodiesel frente a la oxidación también dependerá de la presencia de antioxidantes y de las condiciones de almacenamiento (Botella y col., 2014). Diversos son los procesos que favorecen la oxidación del biocombustible, por ejemplo, oxidación en condiciones anaerobias, hidrólisis en presencia de humedad, descomposición térmica por exceso de calor, contaminación de impurezas lo que va a cambiar las propiedades del biocombustible de manera considerable (Yaakob y col., 2014).

La oxidación del biodiesel altera sus propiedades químicas, como el número de cetano, la viscosidad cinemática, el índice de peróxidos, la acidez, gravedad específica, punto de nube, punto de fluidez. Además, la extensa degradación oxidativa de biodiésel puede producir polímeros insolubles de alto peso molecular, que tienen un efecto perjudicial mientras está en uso. Lo que da como resultado la formación de sedimentos insolubles que pueden llegar a bloquear las líneas de combustible y el filtro del motor provocando una combustión incompleta y coquización del inyector (Yaakob y col., 2014)

Las pobres propiedades a baja temperatura que son el punto de nube (cloud point, **CP**), punto de fluidez (*plugging point*, **PP**). El CP, que generalmente se produce a una temperatura superior a la PP y es la temperatura a la que un material graso se vuelve turbio debido a la formación de cristales y la solidificación de sus ácidos grasos saturados. Los sólidos y cristales crecen y se aglomeran rápidamente, provocando la obstrucción de las tuberías de combustible y filtros, causando importantes problemas de operabilidad en los motores, sistemas de almacenamiento y tuberías de distribución (Vázquez, 2014). El punto de fluidez es la temperatura más baja a la que puede circular el combustible (Sadrolhosseini y col., 2011). Con la disminución de la temperatura, se forman más sólidos y el material se aproxima al punto de congelación, la temperatura más baja a la que todavía fluiría hasta llegar al punto de obstrucción del filtro en frío (*cold filter pluggin point*, **CFPP**), éstos deben ser considerados cuando se operen los motores de encendido por compresión, en climas

moderados de temperatura durante los meses de invierno (Sadrolhosseini y col., 2011; Vázquez, 2014).

#### **2.5.4. Parámetros de calidad del biodiesel**

El biodiesel depende de la composición en ácidos grasos de las materias primas, que pueden provenir de fuente ya sea animal o vegetal, y de la este le dará características particulares al nuevo biodiesel. Por esta razón, se le deben de realizar una serie de ensayos para verificar la calidad del nuevo biodiesel (Pinzi y col., 2009; Puhan y col., 2010; Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013). Entre las principales especificaciones de combustible relacionados con la composición química son número de cetano, viscosidad cinemática, estabilidad oxidativa, propiedades de flujo en frío en forma de punto de nube (CP), punto de fluidez (PP), y el punto de obturación de filtro frío (CFPP); las emisiones de los gases de escape; la lubricidad; y calor de combustión. (Knothe, 2008; Pinzi y col., 2009).

##### **2.5.4.1. Punto de inflamación**

Temperatura mínima a la que se inflama una mezcla de aire y vapores generados por un material inflamable. Este parámetro informa de la seguridad para el transporte, manipulación y almacenamiento del biocombustible. Así un biodiesel con alto punto de inflamación puede causar depósitos de carbón en la cámara de combustión. En el biodiesel se utiliza para garantizar que todo el exceso de metanol haya sido removido del biocombustible. El exceso de metanol a parte podría afectar a las bombas de combustible, sello y empaquetaduras, provocando una mala combustión. Diversos estándares especifican que el punto de inflamación debe estar por arriba de los 100°C., ya que una baja temperatura del biocombustible provoca que se espese y eso afecta el desempeño de la máquina, específicamente los inyectores y bombas (Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.2. Temperatura de destilación 90% de recuperación**

El biodiesel tiene un punto de destilación, el cual, se ubica en la curva del diesel en el rango más alto. Este parámetro es considerado para controlar que el combustible se encuentre libre de contaminantes que posean un mayor punto de evaporación (Martínez-Valencia y col., 2011).

#### **2.5.4.3. Residuos de carbón**

En el biodiesel pueden llegar a formarse depósitos carbonosos, eso supone una transesterificación incompleta (Mono, di, y triglicéridos pueden estar presentes). Así mismo los residuos de carbono indican la posibilidad que un combustible tiene al ser depositado en la máquina, puede causar diversos daños como corrosión y daño de los componentes. Se considera de mayor calidad cuando menor es este parámetro (Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.4. Viscosidad cinemática a 40°C**

Se define como la resistencia del líquido a fluir y es una medida de la fricción interna entre las moléculas, afectando a la atomización del combustible en la cámara de combustión. Según el tipo de motor, algunos requieren de una viscosidad mínima para evitar pérdidas durante la inyección de combustibles (esto no sucede en el biodiesel ya que suele tener una viscosidad mayor a la del diesel). Este parámetro viene determinado por el aceite de origen y, por su contenido en mono, di y triglicéridos. Una transesterificación completa es necesaria para asegurar el cumplimiento de este parámetro. En lo referido a los motores, habrá que buscar un equilibrio entre valores altos y bajos de viscosidad. Valores muy bajos provocan fugas en la bomba de inyección y valores altos generan problemas en la atomización del combustible (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015)

#### **2.5.4.5. Contaminación total**

Es un parámetro que informa sobre impurezas del biodiesel (contenido de gotas de agua y partículas que sedimentan en el combustible) las cuales proceden de la materia prima, son indicativo de técnicas inadecuadas en el secado del biodiesel lo que se ve reflejado en la calidad del biocombustible (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.6. Azufre total**

Es un indicador de la calidad del biodiesel. Se controla para evitar las emisiones de óxidos de azufre a la atmósfera y para minimizar la corrosión, desgaste y a la aparición de depósitos. (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.7. Corrosión en lámina de cobre**

Este ensayo se utiliza para indicar problemas potenciales de la presencia de partes de cobre o aleaciones de bronce en el sistema del combustible. El contacto prolongado del biodiesel con estos metales si puede causar la degradación del combustible y la formación de depósitos (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015)

#### **2.5.4.8. Estabilidad de oxidación a 110°C**

Parámetro que aporta información sobre la degradación del biodiesel mediante una oxidación acelerada, dependerá mucho del aceite que da origen al biodiesel. Se mide por el periodo de inducción y un valor inferior a 6 no aseguraría la estabilidad del biodiesel para su correcto almacenaje y distribución (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.9. Número de cetano o índice de cetano (IC):**

Es un indicador de la calidad del combustible. Mide que tan fácilmente ocurre la ignición y cuanto humo arroja la combustión, esto dependerá del nivel de saturación del aceite de origen. Se toman como referencia el cetano (C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>) al que se le asigna un IC igual a 100

y el  $\alpha$ -metil naftaleno ( $C_{11}H_{14}$ ) que se le asigna un valor igual a cero. Cuanto más alto sea el número de cetano indicarán mejores propiedades de la ignición. El número de cetano afecta el desempeño de la máquina en cuanto a estabilidad, combustión, ruido, humo blanco, facilidad de manejo, emisiones de monóxido de carbono e hidrocarburos. Aceite o grasas altamente saturados tendrán un número de cetano muy alto (70 o más). Aceites poliinsaturados tendrán un menor número de cetano de alrededor de 47 (Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.10. Ceniza sulfatada**

Parámetro que mide la cantidad de residuos que quedan luego de someter a un calentamiento y tratamiento con ácido sulfúrico al combustible. Estos residuos generan desgaste en la bomba de inyección, en los inyectores, pistón y formación de depósitos en el motor. El lavado del biodiesel asegura el cumplimiento de este parámetro (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.11. Índice de acidez**

Altos índices de acidez han sido asociados a depósitos en el sistema de combustible y Es el indicativo de la presencia de ácidos grasos en el combustible, esta propiedad permite especificar si el combustible tiene un buen uso o si se lleva a cabo un adecuado proceso. El índice de acidez depende de la materia prima de partida y del proceso de producción. Varios estándares especifican que este parámetro debe estar entre 0.5 y 0.8 mg KOH/g. Esta propiedad tiene gran influencia en los depósitos que puedan formarse en los inyectores de las máquinas. Un contenido alto en ácidos grasos provoca corrosión en diversas partes del motor, un aumento en la velocidad de degradación del biodiesel y una menor vida útil de bombas y filtros de combustibles (Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.12. Índice de Yodo**

Este valor depende de la materia prima de la que proviene el biodiesel y cuantifica el grado de insaturación. En consecuencia, cuanto mayor es el índice de yodo, mayor es el número de insaturaciones de los ácidos grasos presentes en el biodiesel (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.13. Glicerina Libre**

Se relaciona con una deficiencia en el lavado o purificación durante la producción del biodiesel. Su presencia genera depósitos en el inyector y la colmatación de los filtros, debido a los compuestos que se acumulan en la glicerina (jabones y compuestos inorgánicos) (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.14. Glicerina Total**

Parámetro que indica el contenido de glicerina libre, mono-, di- y triglicéridos presentes en el biodiesel. Parámetro que indica el contenido de glicerol residual y de mono, di y triglicéridos debido a una transesterificación incompleta. Cuanto más bajo sea más alta ha sido la conversión de la reacción (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.15. Metanol**

Parámetro exclusivamente dependiente del proceso de obtención de biodiesel. Los restos de metanol provocan: baja temperatura de inflamación y corrosión en piezas de aluminio y zinc. El exceso de metanol incrementa los riesgos de incendio, puede afectar a las bombas de combustibles, sellos y empaquetaduras y resultar una mala combustión. Por ello se requiere eliminar todo el exceso de metanol después de una transesterificación (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.16. Metales del grupo I (Na, K). Metales del grupo II (Ca, Mg)**

Parámetro incorporado por la norma europea y americana para controlar la pureza del biodiesel. La presencia de metales depende exclusivamente del proceso de producción. El contenido en sodio y potasio indica que el biodiesel contiene restos del catalizador. Los metales calcio y al magnesio indican la presencia de jabones insolubles. Los metales en el biodiesel generan depósitos, aumentan los residuos carbonosos y el contenido en cenizas (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.17. Contenido de éster**

Mide la pureza del biodiesel. Es un indicador del rendimiento de la reacción de transesterificación puesto que muestra que cantidad de ésteres se formó a partir del aceite empleado en la reacción. Un valor bajo de este parámetro implica una reacción incompleta (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.18. Monoglicéridos, Diglicéridos, Triglicéridos**

Su presencia tiene relación con el proceso de transesterificación. Por lo que son indicadores de una reacción incompleta ya que son restos de aceite que no han terminado de reaccionar. Un alto contenido en monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos puede provocar depósitos en el tanque de almacenamiento, sistema de combustible, motor, inyectores y la colmatación de los filtros (Martínez-Valencia y col., 201; Gómez, 2015).

#### **2.5.4.19. Metiléster linoleico y Metiléster poliinsaturado**

Parámetro incorporado por la norma europea para limitar la presencia de ácidos grasos poliinsaturados en el biodiesel, los cuales favorecen la dilución del aceite lubricante. La presencia de ácido linoleico se relaciona con el valor del índice de yodo. Ciertos aceites presentan grandes cantidades de este ácido, por eso el biodiesel de estos aceites tendrá menor estabilidad. Un valor elevado de Metiléster poliinsaturado da lugar a polímeros que crean depósitos a alta temperatura (Martínez-Valencia y col., 2011; Gómez, 2015).

### 2.5.5 Normatividad internacional del Biodiesel

Las normas son importantes para los productores, proveedores y usuarios de biodiésel, por lo que las autoridades necesitan normas aprobadas para la evaluación de riesgos para la seguridad y la contaminación ambiental. Las normas son necesarias para las homologaciones de vehículos operados con biodiésel y por lo tanto, son un requisito para la introducción en el mercado y la comercialización de biodiésel y de esta manera se encuentre un biocombustible confiable (Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Vázquez, 2014; Gómez, 2015).

Propiedad	Unidades	Límites		Método de prueba
		Mínimo	Máximo	
Contenido de ácidos grasos (FAME)	% de masa	96.5	-	EN 14103
Densidad a 15°C	kg/m <sup>3</sup>	860	900	EN ISO 3675 EN ISO 12185
Viscosidad a 40°C	mm <sup>2</sup> /s	3.5	5	EN ISO 3104
Punto de inflamación	°C	101	-	EN ISO 2719 EN ISO 3679
Contenido de azufre	mg/kg	-	10.0	EN ISO 20846 EN ISO 20884
Residuo de carbono	°C	-	0.30	EN ISO 10370
Número de cetano	-	51.0	-	EN ISO 5165
Contenido de ceniza sulfatada	% de masa	-	0.02	ISO 3987
Contenido de agua	mg/kg	-	500	EN ISO 12937
Contaminación total	mg/kg	-	24	EN 12662
Prueba de tira de cobre a la corrosión (3h a 50°C)	clasificación	clase 1		EN ISO 2160
Estabilidad a la oxidación, 110°C	horas	6.0	-	EN 15751 EN 14112
Índice de acidez	mg KOH/g	-	0.50	EN14104
Índice de yodo	g de yodo/ 100 g	-	120	EN 14111
Éster metílico del ácido linolénico	% de masa	-	12.0	Método en desarrollo por CEN
Éster metílico poliinsaturado (≥4 enlaces dobles)	% de masa	-	1	EN 14110
Contenido de metanol	% de masa	-	0.20	EN 14105
Monoglicéridos	% de masa	-	0.80	EN 14105
Diglicéridos	% de masa	-	0.2	EN 14105
Triglicéridos	% de masa	-	0.2	EN 14105
Gliceroles libres	% de masa	-	0.02	EN 14105 EN 14106
Gliceroles totales	% de masa	-	0.25	EN 14105
Metales Grupo I (Na+K)	mg/kg	-	5.0	EN 14108 EN 14109 EN 14538
Metales Grupo II (Ca+Mg)	mg/kg	-	5.0	EN 14538
Contenido de fósforo	mg/kg	-	4.0	EN 14107

Tabla 1 Propiedades requeridas en el biodiésel de acuerdo a la norma EN14214.

Existen dos estándares de biodiésel principales que son los más mencionados, que son la norma Europea para biodiésel llamada EN 14214 y el estándar de Estados Unidos para el combustible biodiésel llamado ASTM 6751 (Knothe, 2008; Martínez-Valencia y col., 2011; Ramírez, 2013; Vázquez, 2014; Gómez, 2015).

El Parlamento Europeo contribuyó entre los años 1992 y 1994 a aumentar la capacidad de producción de biodiesel a más de 1.1 millones de toneladas por año y con ello se favoreció la producción de semillas oleaginosas. La EN 14214 especifica los requisitos y los métodos de ensayo de los ésteres de metilo de ácidos grasos comercializados y suministrados para su empleo bien como combustible de automoción en motores diesel en una concentración del 100%, bien como diluyente para dicho combustible de acuerdo a los requisitos de la norma EN 590 (Martínez-Valencia y col., 2011).

En la Tabla 2 se ennumeran las especificaciones contempladas en la norma ASTM D6751 para el biodiésel puro.

<b>Propiedades</b>	<b>Método ASTM</b>	<b>Límite</b>	<b>Unidades</b>
Punto de inflamación	D93	130 min.	°C
Agua y sedimentos	D2709	0.050 máx.	% de volumen
Viscosidad (40°C)	D445	1.9 - 6.0	mm <sup>2</sup> /s
Cenizas sulfatadas	D874	0.020 máx.	% de masa
Azufre	D5453	0.05 máx.	% de masa
Tira de cobre corrosión	D130	No. 3 máx	
Número de cetano	D613	47 min.	
Punto de enturbamiento	D2500	Report	°C
Residuos de carbono (100% de la muestra)	D4530	0.050 máx.	% de masa
Índice de acidez	D664	0.80 máx.	mg KOH/g
Glicerol libre	D6584	0.020 máx.	% de masa
Total de glicerol	D6584	0.240 máx.	% de masa
Contenido de fósforo	D4951	0.001 máx.	% de masa
Temperatura de destilación, temperatura atmosférica equivalente (90% recuperado)	D1160	360 máx.	°C

Tabla 2 Especificaciones del biodiésel puro en la norma ASTM D6751

## 2.6. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Durante la última década, la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) ha sido una herramienta analítica bien establecida y muy valiosa para la caracterización de moléculas orgánicas con la región IR media ( $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ , que es rica en información sobre la estructura de los grupos funcionales) e inorgánicas, hasta la posible monitorización de procesos biológicos. (Hughes y col., 2013; Chen y col., 2015; Amenabar y col., 2017; Kosa., 2017), esto permite la adquisición rápida de una huella digital bioquímica de la muestra bajo investigación (Ami y col., 2014; Amenabar y col., 2017). La espectroscopía FTIR es un método biofísico rápido y no destructivo que detecta las vibraciones de los enlaces moleculares. A diferencia de los métodos analíticos tradicionales, la espectroscopía FTIR no está restringida a una característica específica de la célula. Dado que el FTIR se basa en la medición de muchas características diferentes de las células espectrales, el espectro resultante es una firma precisa de la composición química general y estructural de una muestra (Amenabar y col., 2017). Los espectros FTIR son altamente reproducibles e informativos, y se pueden usar tanto para fines de identificación como para el análisis cuantitativo y cualitativo de los componentes químicos de la muestra, como pueden ser lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, biopolímeros (Hughes y col., 2013; Kosa., 2017), hasta investigación *in situ* de sistemas biológicos complejos, incluyendo células intactas, tejidos y organismos de modelo completo (Ami y col., 2014).

El mecanismo subyacente de la técnica FTIR se asocia con transiciones entre estados cuantificados de energía vibratoria. En el análisis FTIR, la absorción de radiación IR ocurre cuando un fotón se transfiere a una molécula y la excita a un estado de energía más alta. Los estados excitados dan como resultado vibraciones de enlaces moleculares (*es decir*, estiramiento, flexión, torsión, balanceo, meneo y deformación fuera del plano) que se producen en diferentes números de onda (o frecuencias) en la región IR del espectro de luz. El número de onda de cada pico de absorbancia IR está determinado por las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de la molécula correspondiente, y por lo tanto es diagnóstico, como una huella dactilar de ese grupo funcional particular (p. Ej., C-H, O-H, C = O, *etc.*). Las absorbancias de las vibraciones moleculares bajo radiación IR son proporcionales a la

abundancia de los grupos funcionales. La absorbancia de cada banda vibratoria a menudo se mide por la altura máxima o el área integrada entre el pico y una línea de base. (Brandes & Brandl, 2011; Chen y col., 2015). En términos generales, es conveniente dividir un espectro IR en dos regiones aproximadas:

- 4000-1000  $\text{cm}^{-1}$  conocida como la región del grupo funcional, y
- <1000  $\text{cm}^{-1}$  conocida como la región de huellas dactilares

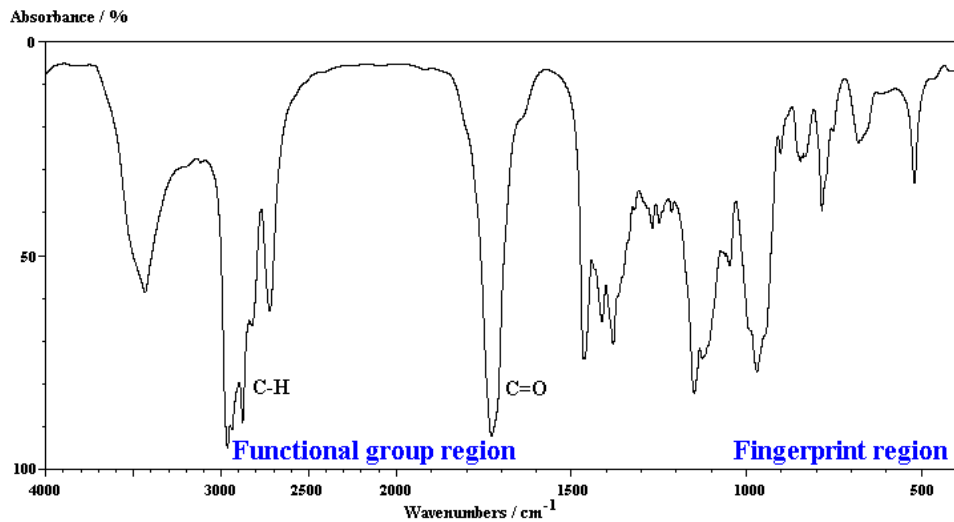


Figura 2. Zonas de un Espectro FTIR para su lectura e interpretación.

### 3. ANTECEDENTES

México es un país que se ha caracterizado por poseer una riqueza natural que puede ser explicada por su posición latitudinal, su historia geológica, su topografía y su litoral frente a dos océanos y un mar propio (Cruz y col., 2016). Dentro de esta gran diversidad se encuentran especies vegetales endémicas que pueden ser utilizadas para la producción de energías sustentables (Reveles y col., 2010). Por ello, el gobierno mexicano ha reconocido la importancia de conservar su gran biodiversidad y dar un uso sostenible, con la finalidad de llegar a permitir el crecimiento económico del país y de esta manera lograr una transición hacia una “economía verde” (Estrategia Nacional sobre Biodiversidad de México y el Plan de Acción 2016 - 2030).

La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) elaboró la Estrategia Nacional sobre Biodiversidad de México (ENBioMex) y Plan de Acción 2016 – 2030, con la finalidad de armonizar esfuerzos entre sociedad y gobierno para la conservación y uso sustentable de la biodiversidad del país; para lograrlo, se fijaron objetivos a largo plazo y un plan de acción para alcanzarlos, que se resume en los 6 "ejes estratégicos" con los que cuenta: 1) creación de conocimiento, 2) conservación y restauración, 3) uso y manejo sustentable, 4) atención a los factores de presión, 5) la educación, la comunicación y la cultura ambiental, y 6) la integración y la gestión de los asuntos públicos.

El objetivo a largo plazo del eje *Creación del conocimiento* es: "Profundizar y promover la investigación científica bajo un enfoque de bioseguridad con la finalidad de generar conocimiento estratégico, proteger el conocimiento tradicional, a fin de contribuir al desarrollo sostenible del país y al desarrollo de una cultura de reconocimiento de la biodiversidad".

Mediante el *Uso y Manejo Sustentable* se pretende a largo plazo “Incorporar criterios y requerimientos de sustentabilidad para el aprovechamiento de la biodiversidad, así como la aplicación de prácticas de uso sustentable”.

Dentro de las energías sustentables se encuentra la producción y uso de biodiesel, del que se ha demostrado que su calidad depende de la composición en ácidos grasos de los aceites, la longitud de la cadena presente y el número de dobles enlaces (Ramos y col., 2009), sin embargo, como el biodiesel se compone de ésteres de ácidos grasos, no sólo la estructura de los ácidos grasos sino también la fracción de ésteres derivados del alcohol puede influir en las propiedades biodiesel (Knothe, 2005). Los ácidos grasos más comunes de los cuales se ha logrado producir biodiesel son ácido palmítico (C 16:0) ácido esteárico (C 18:0) ácido oleico (C 18:1<sup>9</sup>) ácido linoleico (C 18:2<sup>9,12</sup>) ácido linolénico (C 18:3<sup>9,12,15</sup>) (Knothe, 2005; Knothe, 2008; Puhan y col., 2010).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), en su publicación “Calidad fisicoquímica de insumos bioenergéticos para la producción de biodiesel en México” detalla que las características en la composición de ácidos grasos van a afectar la calidad del biodiesel (Martínez-Valencia y col., 2011), dentro de los problemas técnicos que han persistido con el uso del biodiesel, se encuentran:

- Estabilidad oxidativa: La estabilidad oxidativa de ácidos grasos está influenciada por factores tales como la presencia de aire, el calor, los restos de metal, peróxidos, luz o características estructurales de los propios compuestos, principalmente la presencia de dobles enlaces (Jesús y col., 2009). Los ácidos grasos con más insaturaciones, tienden a presentar una menor estabilidad oxidativa (Martínez-Valencia y col., 2011). Cadenas de ácidos grasos con presencia de dobles enlaces interrumpidos (ácido linoleico C18:2 y ácido linolénico C18:3), tales como la soja, el girasol y el aceite de semilla de uva, tienden a dar biocombustibles con baja estabilidad oxidativa (Knothe, 2008; Jesús y col., 2009)
- Número de cetano: Descriptor adimensional relacionado con la calidad de ignición del biodiesel (Knothe, 2008; Puhan y col., 2010). Depende de la longitud de la cadena, ramificaciones y saturaciones presentes en el ácido graso. Si la longitud de la cadena disminuye y a su vez aumentan las ramificaciones y saturaciones del ácido graso, el NC disminuirá (Knothe, 2008; Puhan y col., 2010), ácidos grasos altamente saturados tendrán un número de cetano muy alto (70 o más), ácidos grasos poliinsaturados

tendrán un menor número de cetano de alrededor de 47 (Martínez-Valencia y col., 2011).

- Propiedades de flujo en frío (Punto de enturbiamiento (CP), punto de fluidez (PP), y el punto de obturación de filtro frío (CFPP)). Uno de los principales problemas asociados con el uso de biodiesel son las pobres propiedades que posee en el flujo a bajas temperaturas, la solidificación parcial puede causar obstrucción de los conductos de combustible y los filtros, que conduce a falta de combustible y problemas durante el arranque del motor. Cadenas largas de ácidos grasos saturados incrementan significativamente el CP y PP, la reducción de los ácidos grasos saturados, un bajo contenido de ácidos grasos saturados puede mejorar las propiedades de flujo en frío del biodiesel. Varios autores han afirmado que el método más barato y más eficaz para mejorar las propiedades de flujo en frío del biodiesel es la optimización de la composición en ácidos grasos de la materia prima. Imahara y col., 2017 observó que la CP depende principalmente del contenido de ácidos grasos saturados, mientras que el efecto de los ácidos grasos insaturados puede ser insignificante (Pinzi y col., 2009).

Jesús y col. (2009) evaluaron la influencia de la composición en ácidos grasos de los aceites vegetales en la calidad del biodiesel producido y asociaron que los ácidos grasos insaturados (C18:2 y C18:3) están asociados con un bajo número de cetano. Los biocombustibles con un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados (aceite de soja, girasol, semilla de uva). Pinzi y col. (2009) han sugerido que la composición ideal del biodiesel deberá poseer una elevada presencia de ácidos grasos monoinsaturados (ácido palmitoleico C16:1 y ácido oleico C18:1), disminución de la presencia de ácidos poliinsaturados, y controlar el contenido de ácidos grasos. Los ácidos palmitoleico y oleico son los ácidos que mejoran la calidad del biodiesel en términos de estabilidad oxidativa y propiedades de flujo en frío. Knothe (2008), Pinzi y col. (2009), Jesús y col. (2009) y Martínez-Valencia y col. (2011) sugieren que la calidad del biodiesel mejorara cuando este provenga de un aceite con un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Diversos problemas técnicos han persistido con el uso del biodiesel, entre los que se encuentran la estabilidad oxidativa, pobres propiedades de baja temperatura y un ligero aumento de las emisiones de escape de NO<sub>x</sub>, aunque este último problema puede desvanecerse con el tiempo con el advenimiento de las nuevas tecnologías de control de emisiones de escape. Este comportamiento se relaciona ampliamente con la estructura de los ácidos grasos, por lo tanto, se ha demostrado que el número de cetano, un descriptor adimensional relacionado con la calidad de ignición del biodiesel disminuye con una disminución de la longitud de cadena, un aumento de la ramificación, y un aumento de la saturación en la cadena de ácidos grasos. De manera que, la calidad de la ignición mejorará en cuanto mayor sea el número de cetano. Por otra parte, los ácidos grasos saturados, que tienen un elevado número de cetano, poseen pobres propiedades de flujo en frío. Los ácidos grasos insaturados, especialmente los poliinsaturados tienen una mayor densidad, mayor cantidad de yodo y puntos de fusión inferior, que son deseables para mejorar las propiedades de baja temperatura, pero tienen también una menor viscosidad, valor de calentamiento (Puhan y col., 2010) bajo número de cetano y reduce la estabilidad oxidativa, lo cual no es deseable para un biodiesel (Knothe, 2008).

Son varios los posibles enfoques para resolver estos problemas, el enfoque más común es el uso de aditivos, sin embargo, plantea las cuestiones de compatibilidad, y ver si estos aditivos funcionan para el biodiesel con diferentes perfiles de ácidos grasos. Otro enfoque es el de remover los ésteres saturados con más ciclos de refrigeración, esto con la finalidad de mejorar las propiedades de baja temperatura. Otro enfoque es el uso de aceites con un perfil de ácidos grasos inherente (por modificación genética u otros procesos) dando ventajas a las propiedades del combustible (Knothe, 2008).

En la búsqueda de mejorar la calidad del biodiesel, se necesita una perfecta composición del aceite vegetal para lo que se requiere de una elevada presencia de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico y palmitoleico), la disminución de la presencia de ácidos grasos poliinsaturados, y controlar los ácidos grasos saturados, se recomienda el uso de C18:1 (ácido oleico) y C16:1 (ácido palmitoleico) (Pinzi y col., 2009; Martínez y col., 2011) ya que son los que mejor se ajustan a la estabilidad oxidativa y comportamiento en clima frío (Pinzi y col., 2009).

## 5. HIPÓTESIS

Una especie vegetal que tiene en su aceite una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados, en particular ácido oleico (C18:1) y palmitoleico (C16:1), y una baja proporción de ácidos grasos poliinsaturados y saturados permite la producción de biodiesel de alta calidad.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo General

Determinar el efecto de la acumulación del ácido palmitoleico (C16:1) en las semillas de *Roupala montana* en la mejora del biodiesel producido a través de la caracterización del perfil de ácidos grasos de su aceite por cromatografía de gases y espectrometría de masas y la determinación de las características fisicoquímicas del biodiesel producido para la propuesta de un perfil de ácidos grasos idóneo para la producción de biodiesel de alta calidad.

### 6.2. Objetivos Particulares

- Identificar especies endémicas de México con potencial de acumulación de ácido palmitoleico en el aceite de su semilla.
- Extraer el aceite de semilla de la o las especies candidatas.
- Determinar del perfil de ácidos grasos en los aceites por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
- Producción de biodiesel a partir de los aceites obtenidos y análisis de sus características fisicoquímicas relevantes.
- Relacionar la composición de los ácidos grasos del aceite con la calidad del biodiesel producido.

## **7. ALCANCES**

- Se estudiarán plantas endémicas de México.
- Se analizarán los perfiles de ácidos grasos de las semillas únicamente.
- Se analizarán las características fisicoquímicas relevantes del biodiesel producido, sin realizar pruebas en motores.

## **8. LIMITACIONES**

- Accesibilidad a las especies candidatas (Localización geográfica, en peligro de extinción, etc).
- Obtener los permisos necesarios de SEMARNAT.
- Baja producción de aceite de algunas especies.
- Bajo rendimiento en la producción de biodiesel de los aceites de algunas especies.
- Variabilidad en el período de producción de semillas.
- Disponibilidad de equipo para medición de características fisicoquímicas a micro escala.

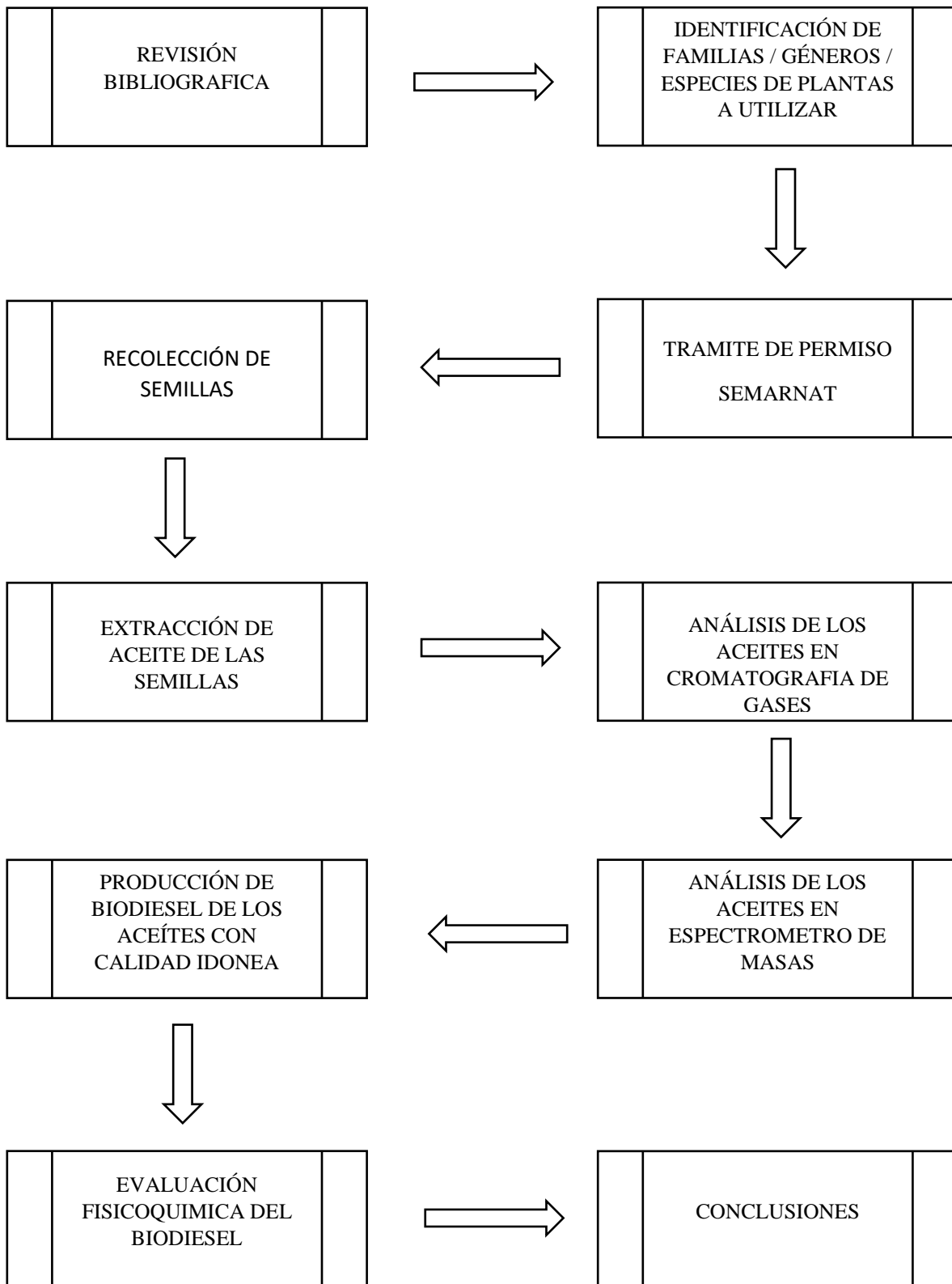
## 9. JUSTIFICACIÓN

El uso indiscriminado de combustibles fósiles ha causado emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) provocando grandes efectos indeseables en el medio ambiente. La inestabilidad en los suministros de petróleo y la continua fluctuación de los precios del combustible, así como la escasez de energía han generado un mayor interés en las fuentes de energía alternas (Dellomonaco y col., 2010; Hein & Leemans, 2012; Ren y col., 2013). En este sentido, los biocombustibles ofrecen una ruta para reemplazar una porción de las cantidades finitas de petróleo líquido y combustibles a base de gas natural (Parreiras y col., 2014), así mismo ayuda a la reducción de los gases de efecto invernadero, ya que la combustión de combustibles bioderivados reduce las emisiones netas de gases de efecto invernadero en comparación con los combustibles fósiles (Bünger y col., 2012; Hein & Leemans, 2012).

El biodiésel puede producirse a partir de semillas oleaginosas, las fuentes actuales de biodiesel comercial son principalmente el aceite de soja (Pinzi y col., 2009; Amin y col., 2017), el aceite de colza, el aceite de palma, el aceite de maíz, (Jesús y col., 2009; Pinzi y col., 2009; Li y col., 2011; Tamada y col., 2012; Ren y col., 2013; Abu-Hamdeh y Alnefaie, 2015; Hood, 2016); estudios recientes se han enfocado en la aplicación de aceites no comestibles para la producción de biodiesel, como los desechos y varios aceites vegetales, incluso de *Jatropha curcas* L. (Ren y col., 2013; Souza y col., 2016). Los diferentes tipos de biodiesel basados en cultivos tienen un rendimiento diferente en aspectos económicos, ambientales y sociales. La economía, el medioambiente y la sociedad son los tres pilares de la sostenibilidad. Por ello, para cumplir con el concepto de desarrollo sostenible, la selección del biodiesel basado en cultivos más sostenible es de vital importancia (Ren y col., 2013).

México es un país que se ha caracterizado por poseer especies vegetales endémicas que pueden utilizarse para la producción de biocombustibles (Reveles y col., 2010). Debido a esta gran diversidad con la que se cuenta, se propone el estudio de diversas especies nativas para encontrar la composición ideal de un ácido graso del cual se logre la obtención de un biodiesel de mejor calidad y que cumpla con la sostenibilidad requerida.

**10. DIAGRAMA DE TRABAJO**



## 11. METODOLOGÍA

### 11.1. Recolección de semillas

Las semillas que fueron utilizadas en este proyecto de investigación fueron recolectadas en la Estación de Biología “Los Tuxtla” en el municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz. Se recolectaron frutos secos y frutos verdes para su posterior análisis.

Las semillas recolectadas fueron transportadas al Laboratorio de Investigación de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, en donde fueron clasificadas por su grado de madurez, se colocaron en bolsas tipo ziploc y fueron puestas en un congelador a  $-8^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

### 11.2. Secado

Para el secado de las semillas, se procedió a romper el fruto de manera manual y así lograr separar las semillas del fruto.

Una vez separadas las semillas del fruto, estas se colocaron sobre una caja de Petri y fueron puestas en una estufa bacteriológica (RIOSSA E-33) a una temperatura de  $53^{\circ}\text{C}$  durante 4 días.



Figura 3. Semillas secas (A) y verdes (B) de *Roupala montana*.

### 11.3. Extracción del aceite

Una vez concluido el proceso de secado, las semillas fueron colocadas en una licuadora de acero inoxidable para proceder a la trituración del material biológico, una vez que se finalizó la trituración se adicionó heptano, el cual fue evaporado mediante un Rotavapor (HAHN SHIN HS-3001), a una temperatura de 60° y a una agitación de 80 RPM.

### 11.4. Transesterificación

Procedimiento:

1. 1 ml de la muestra (aceite de *R. montana*)
2. Agregar 20 ml. de tolueno.
3. Vortex por 15 segundos a velocidad máxima.
4. Agregar 150 ml. de Metanol.
5. Vortex por 15 segundos a velocidad máxima.
6. Agregar 30 ml. de HCl-Metanol 8%.
7. Vortex por 15 segundos a velocidad máxima.
8. Meter la muestra a baño maría durante una hora a 80 °C
9. Tomar 200 ml. de Heptano.
10. Vortex por 15 segundos a velocidad máxima.
11. Centrifugar durante 10 minutos a 500 RPM.
12. Remover la capa superior (heptano) y pasar a otro tubo.
13. Repetir los pasos 9 a 12 dos veces más.
14. Lo removido durante las tres veces (capa superior de la muestra) que se centrifuga la muestra contiene los ácidos grasos.
15. Terminado el proceso de transesterificación, se evaporo el heptano con la ayuda del Rotavapor (HAHN SHIN HS-3001), a una temperatura de 60° y a una agitación de 80 RPM.
16. La muestra fue resguardada en un tubo y puesta a -8° hasta su utilización.

## 12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 12.1. Investigación y selección de la familia y especie candidata a estudio.

La herramienta PlantFAdb administrada por el Instituto Max Rubner (Alemania), es una base de datos que cuenta con un gran recurso, en ella se presentan datos de >1,500 Publicaciones (datos no publicados) para >300 ácidos grasos y que se basa en el análisis de ~7,000 especies de plantas.

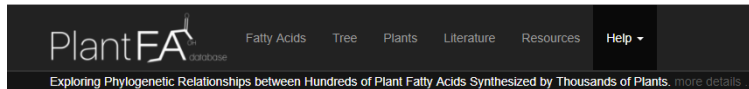


Figura 4. Menú principal de la herramienta PlantFAdb.

A través de PlantFAdb, se apoyó la presente investigación para seleccionar plantas candidatas a ser estudiadas para analizar su composición de ácidos grasos, prefiriendo a las familias de plantas con una alta concentración de ácidos grasos monoinsaturados, especialmente ácido palmitoleico.

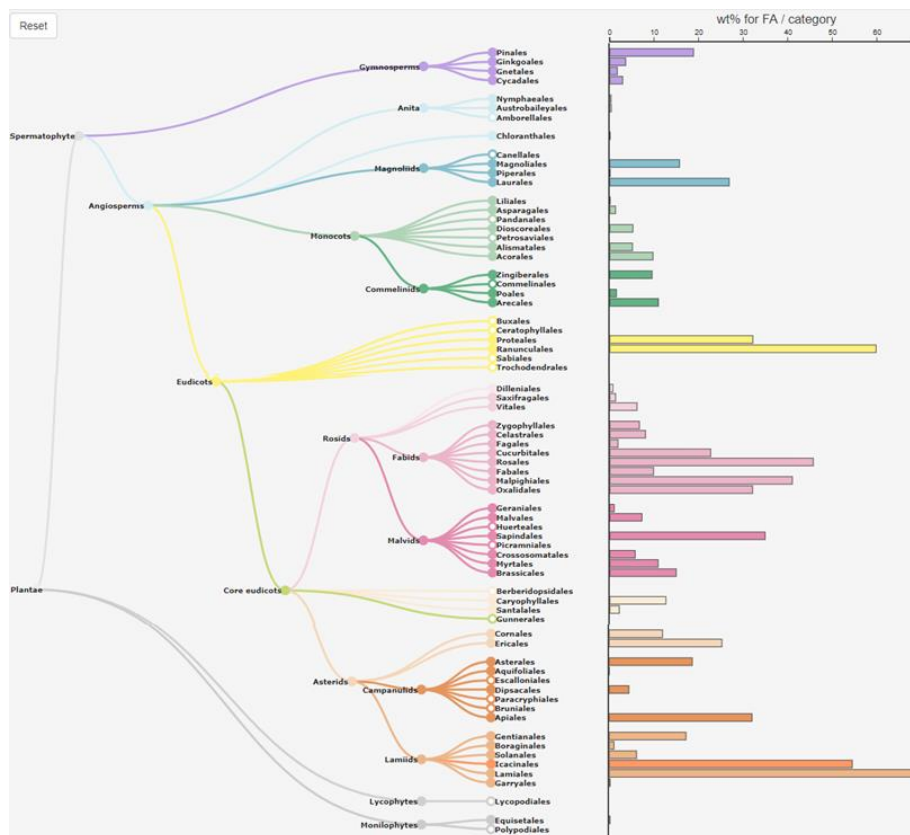


Figura 5. Relaciones filogenéticas adaptados de la filogenia de angiospermas Poster (2016).

A través de la relación filogenética entre las familias de plantas se procedió a buscar plantas candidatas endémicas de México. Se observó que la familia “Proteaceae” tiene varias especies con altas concentraciones de ácido palmitoleico, por lo cual se decidió seleccionar a la familia como posible candidata para estudiar especies endémicas.

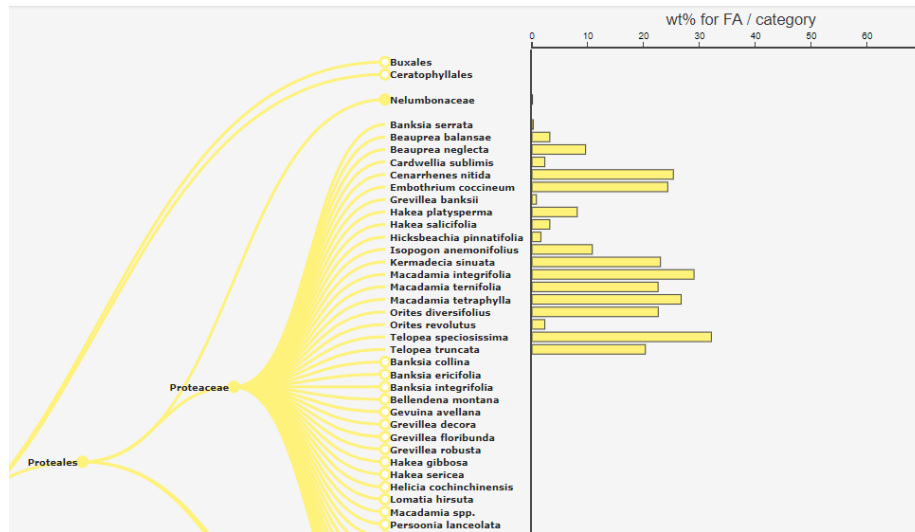


Figura 6. Especies de la familia Proteaceae con producción de ácido palmitoleico.

Con el apoyo de las Colecciones Universitarias del Portal de Datos Abiertos UNAM, se encontró una especie endémica de México, perteneciente a la familia “Proteaceae” que es *Roupala montana* y se localiza en la Región de los Tuxtlas, Veracruz.

Portal de Datos Abiertos UNAM  
Colecciones Universitarias

Search: Roupala montana

55 registros en colecciones encontrados.  
Tiempo de consulta: 0.677 segundos.

- Roupala montana* Aubl.** | IBUNAM: MEXU:273434  
Plantae - Tracheophyta - Magnoliopsida - Proteales - Proteaceae - Roupala  
México (MX) - Tabasco - A 22 km al N de Tenosique  
Oswaldo Téllez, Everardo Martínez • 924 • 1979-09-22  
Título: *Roupala montana* Aubl. | Género: *Roupala* | Nombre científico: *Roupala montana* Aubl. | Especie: *Roupala montana*
- Roupala montana* Aubl.** | IBUNAM: MEXU:991729  
Plantae - Tracheophyta - Magnoliopsida - Proteales - Proteaceae - Roupala  
México (MX) - Veracruz - Hueyapan de Ocampo - Samaria Mun.  
Marco Leonti • LEONTI 408 • 2000-01-27  
Título: *Roupala montana* Aubl. | Género: *Roupala* | Nombre científico: *Roupala montana* Aubl. | Especie: *Roupala montana*

Figura 7. Portal de Datos Abiertos de Colecciones Universitarias UNAM.

### 12.2. Análisis cromatográfico del biodiesel del aceite de *R. montana*

Las determinaciones cualitativas de los ácidos grasos contenidos en el aceite de *R. montana* se realizaron usando un cromatógrafo de gases VARIAN 4000 con una columna capilar VF-5ms, 30m 0.25mm. El volumen de inyección fue de 1,0  $\mu\text{L}$ , la temperatura del puerto de inyección fue de 250°C y se utilizó nitrógeno como gas transportador. La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando los picos de las curvas del cromatógrama con la biblioteca del Software (NIST y AMDIS).

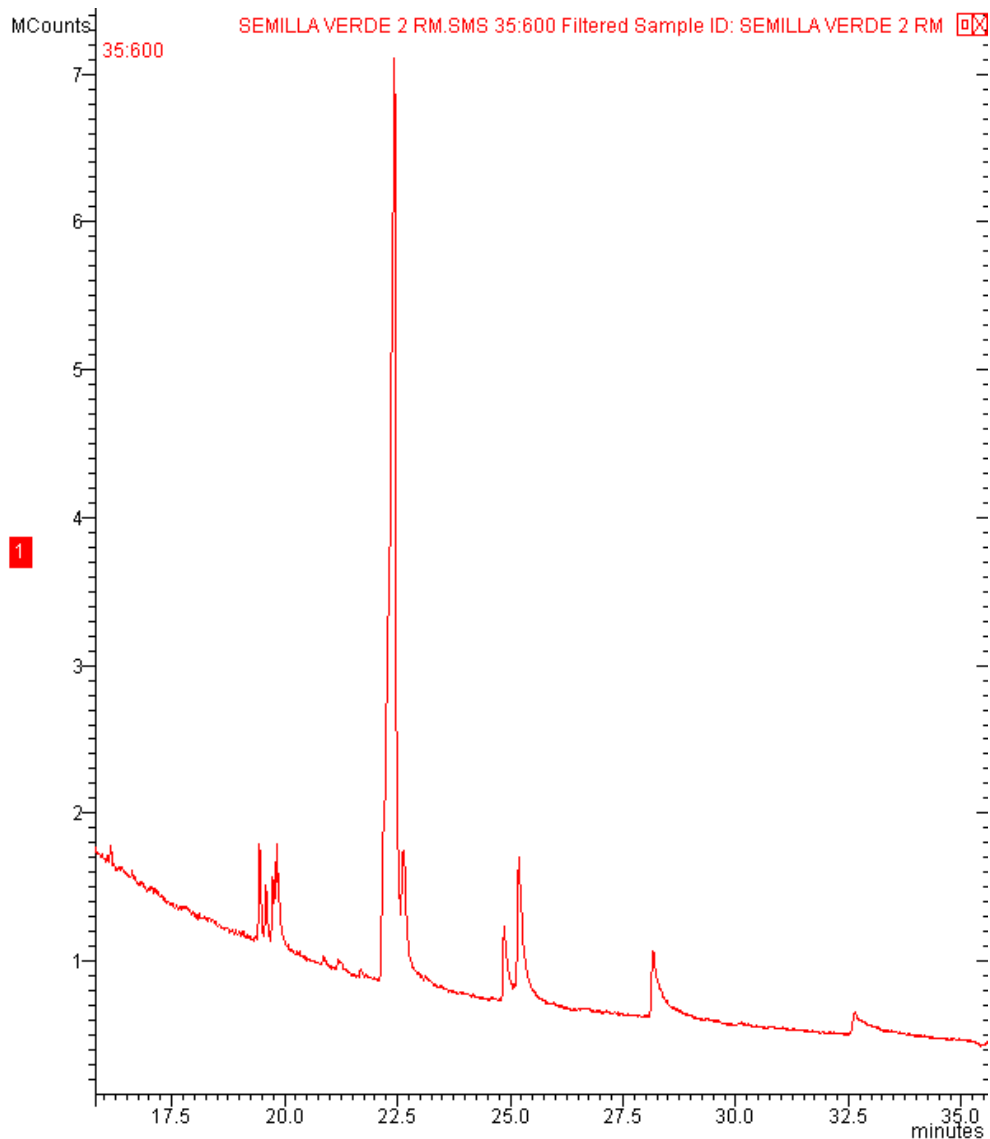


Figura 8. Cromatograma de biodiesel obtenido de la semilla verde de *R. montana*.

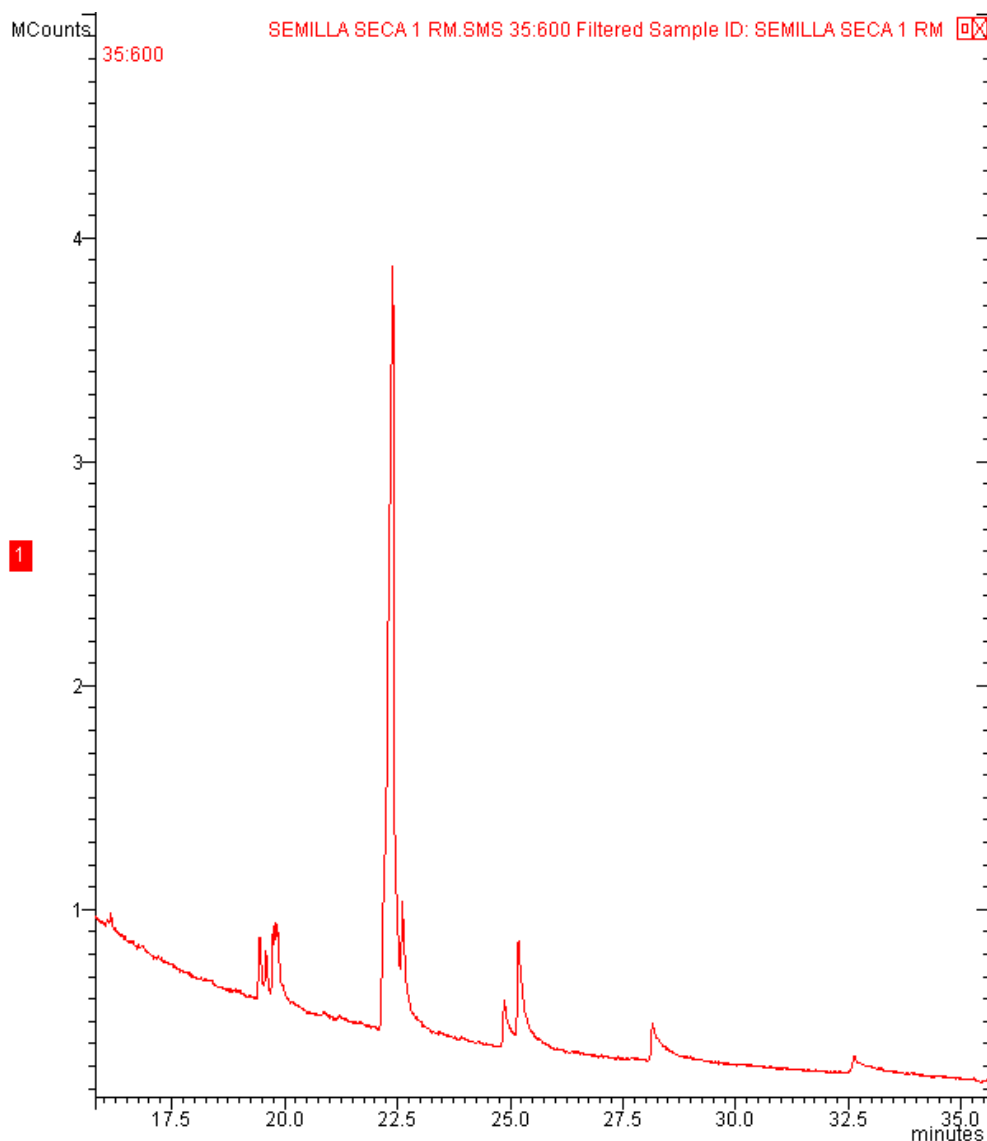


Figura 9. Cromatograma de biodiesel obtenido de la semilla seca de *R. montana*.

Las semillas vegetales almacenan aceite en forma de triacilglicerol (TAG) (Carlsson y col., 2011; Troncoso-Ponce y col., 2011; Branham y col., 2016; Li y col., 2017). *R. montana* no es la excepción, ya que en los cromatogramas (Figura 8,9,10,11) se pueden observar los picos que corresponden a los ácidos grasos presentes en las semillas y frutos de esta especie endémica de México. De acuerdo con Troncoso-Ponce y col. (2011), Branham y col. (2016) y Li y col. (2017) el objetivo de almacenar TAG es proporcionar carbono y energía para ser utilizadas por la plántula después del proceso de germinación.

Después de realizar el análisis de los cromatogramas de las figuras 8 y 9 se encontró que los ácidos grasos presentes en el aceite obtenido de la semilla de *R. montana* son ácido palmitoleico (C16:1), ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1), ácido esteárico (C18:0), ácido eicosanoico (C20:1), ácido araquídico (C20:0), ácido behenico (C22:0) y ácido lignocérico (C24:0), con lo que se confirma que *R. montana* pertenece al grupo de semillas oleaginosas, apoyado en lo que menciona Carlsson y col., (2011) que, las semillas oleaginosas contienen cinco ácidos grasos principales en su aceite, que difieren en su proporción relativa dependiendo de las especies de plantas (Dussert y col., 2013), contienen ácido palmítico (16: 0), ácido esteárico (18: 0), ácido oleico (18: 1  $\Delta$ 9), ácido linoleico (18:2  $\Delta$ 9,12) y ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3  $\Delta$ 9,12, 15).

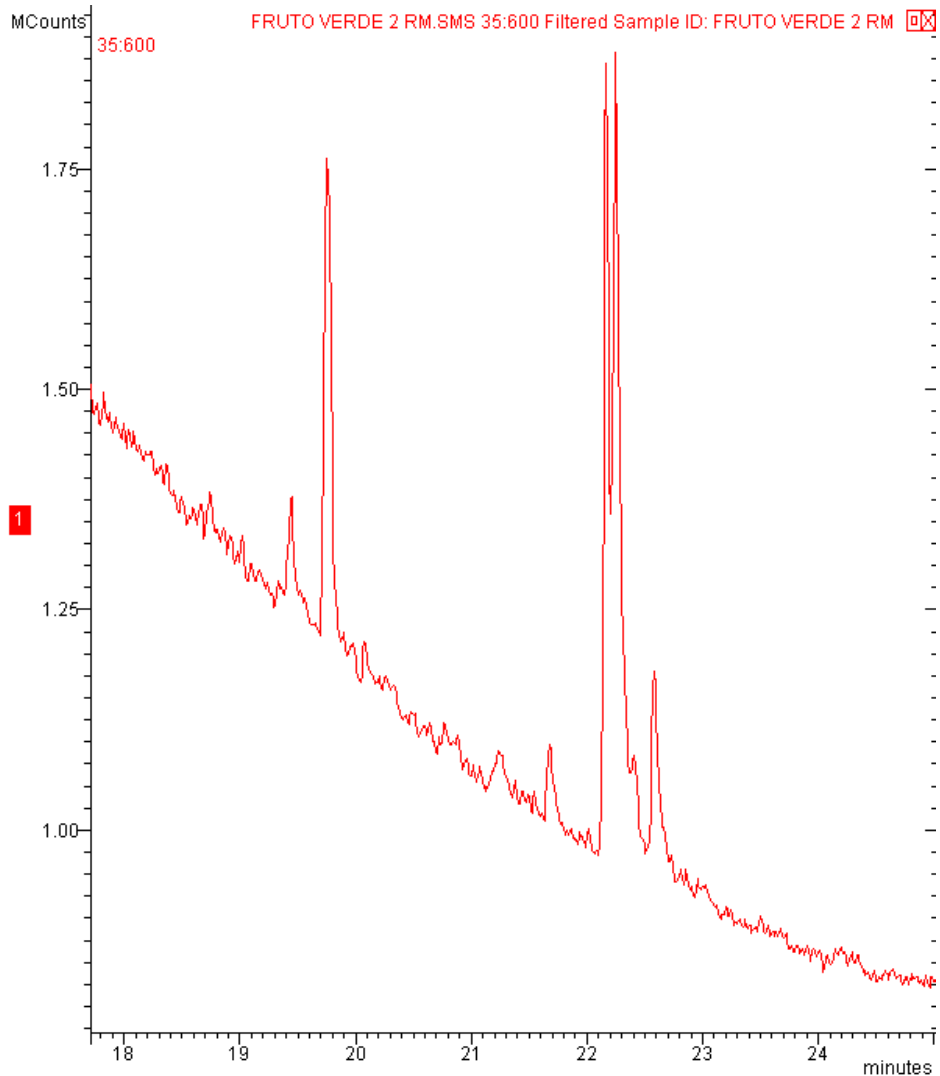


Figura 10. Cromatograma de biodiesel obtenido del fruto verde de *R. montana*.

Mediante el análisis de los cromatogramas correspondientes a las figuras 10 y 11, se encontró que la composición química de los aceites procedentes de los frutos verde y seco de *R. montana* son: ácido palmítico (C16:0), ácido linoleico (C18:2), ácido oleico (C18:1) y ácido esteárico (C18:0).

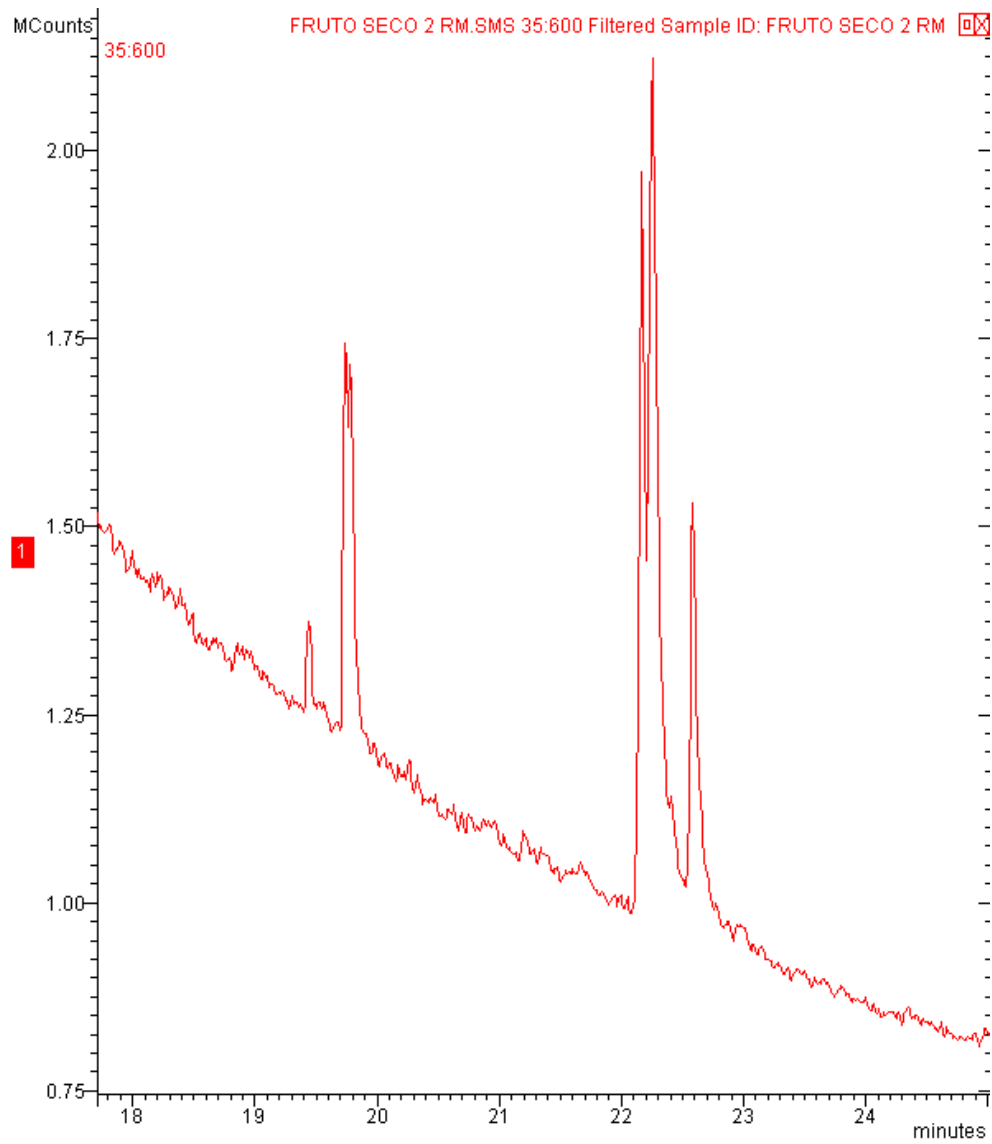


Figura 11. Cromatograma de biodiesel obtenido del fruto seco de *R. montana*.

En diversas semillas oleaginosas, la producción y acumulación de ácidos grasos tiene lugar durante tres fases de desarrollo embrionario: morfogénesis, acumulación de células / acumulación de reserva y desecación / detención del desarrollo. También se observa una gran diversidad sustancial entre si el aceite se almacena en el embrión o en el tejido endospermo (Troncoso-Ponce y col., 2011; Nguyen y col., 2016). A pesar de los extensos estudios llevados a cabo durante más de 30 años, todavía no se conocen bien varios factores moleculares y bioquímicos asociados con estas variaciones entre las semillas oleaginosas (Troncoso-Ponce y col., 2011). Analizando los resultados obtenidos que se muestran en la tabla 3, tienen relación con lo que comenta Troncoso-Ponce y col. (2011) y Nguyen y col. (2016), ya que la composición de ácidos grasos del fruto y la semilla presentan variación cualitativa y cuantitativamente. Para el caso de los frutos de la semilla de *R. montana* solo se encuentran cuatro tipos de ácidos grasos que son: ácido palmítico (C16:0), ácido linoleico (C18:2), ácido oleico (C18:1) y ácido esteárico (C18:0) y para la semilla se encuentran nueve tipos de ácidos grasos que son: ácido palmitoleico (C16:1), ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1), ácido esteárico (C18:0), ácido eicosanoico (C20:1), ácido araquídico (C20:0), ácido behénico (C22:0) y ácido lignocérico (C24:0).

Tabla 3. Porcentaje ácidos grasos presentes en el biodiesel de *Roupala montana*.

Porcentaje de ácidos grasos presentes en <i>Roupala montana</i> .										
Ácido graso	C16:1Δ9	C16:1Δ11	C16:0	C18:2	C18:1	C18:0	C20:1	C20:0	C22:0	C24:0
Fruto Seco (%)	0	0	16.35	21.96	45.45	16.24	0	0	0	0
Fruto Verde (%)	0	0	22.71	28.41	39.95	8.92	0	0	0	0
Semilla Seca (%)	2.06	1.78	6.41	0	64.24	7.99	3.54	7.86	4.25	1.86
Semilla Verde (%)	5.44	3.10	10.83	0	20.55	15.98	8.09	21.33	12.14	2.52

Carlsson y col. (2011) menciona que hay una gran cantidad de ácidos grasos "exóticos" en los aceites de las semillas de diversas especies los cuales tienen un gran potencial en la industria química debido a la presencia de grupos funcionales como, por ejemplo: dobles enlaces en posiciones inusuales, dobles enlaces conjugados, triples enlaces, grupos hidroxilo, grupos epoxi y anillos ciclopropenoides, y para esta especie *Roupala montana* presenta un bajo porcentaje de ácidos grasos "exóticos" que podrían modificar favorablemente las características del biodiesel.

Tabla 4. Porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de *R. montana*.

Porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en <i>Roupala montana</i>				
Ácidos Grasos	Fruto Seco	Fruto Verde	Semilla Seca	Semilla Verde
Saturados (%)	32.59	31.63	28.38	27.48
Monoinsaturados (%)	45.45	39.95	71.62	72.52
Poliinsaturados (%)	21.96	28.41	0	0

A pesar de que el desarrollo de la semilla es un proceso altamente regulado, la acumulación de materia seca en el llenado de semillas se ve afectada tanto por factores genéticos y ambientales que conducen a cambios en las concentraciones de aceite y proteínas de las semillas. Por ejemplo, en el caso de la soya, la acumulación de aceite se lleva a cabo en la maduración de las semillas, es un período corto, que tarda aproximadamente de 4 a 6 semanas comparado con los de otras plantas como el aceite de oliva, aceite de palma. Los cultivos son sensibles a condiciones de estrés durante su breve período de llenado de semillas, y esto los hace susceptibles a sufrir cambios permanentes en el contenido de aceite, así como la calidad y la productividad (Nguyen y col., 2016).

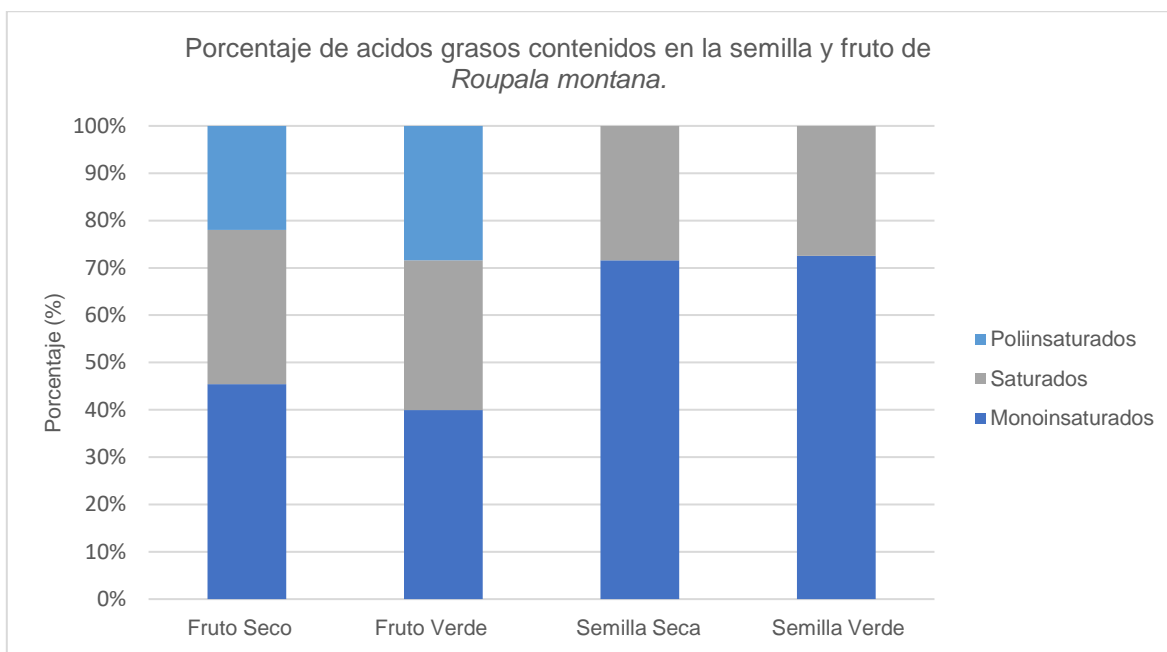


Figura 12. Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, saturados y poliinsaturados de *R. montana*.

Analizando la tabla 4 y figura 12, se aprecia que la semilla seca y verde presentan similitud cuantitativamente y cualitativamente en su contenido de ácidos grasos, la semilla (verde y seca) presentan mayor porcentaje en el contenido de ácidos grasos monoinsaturados y sin presencia de ácidos grasos poliinsaturados a diferencia del fruto (verde y seco) que presentan bajo porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y con presencia de ácidos grasos poliinsaturados, por lo que de acuerdo con lo sugerido por Knothe (2008), Pinzi y col. (2009), Jesús y col. (2009) y Martínez-Valencia y col (2011), en este proyecto solamente será utilizado el aceite obtenido de las semillas verdes y secas de *Roupala montana*.

### 12.3. Análisis por Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier del biodiesel del aceite de *R. montana*

Se utilizó un equipo Agilent Cary 630 FTIR para realizar las mediciones en modo de reflexión total atenuada (ATR) de diamante monolítico equipado con un prisma de seleniuro de zinc (ZnSe). Se colocó una pequeña cantidad (aproximadamente de 2 a 5 mg) de muestra, suficiente para cubrir el prisma, en el accesorio ATR y se recogieron los espectros. La muestra de Diesel fue adquirida en una Gasolinera PEMEX, con dirección en Av. Manuel Espinosa Yglesias (31 poniente) esquina 3 sur, Puebla, Puebla.

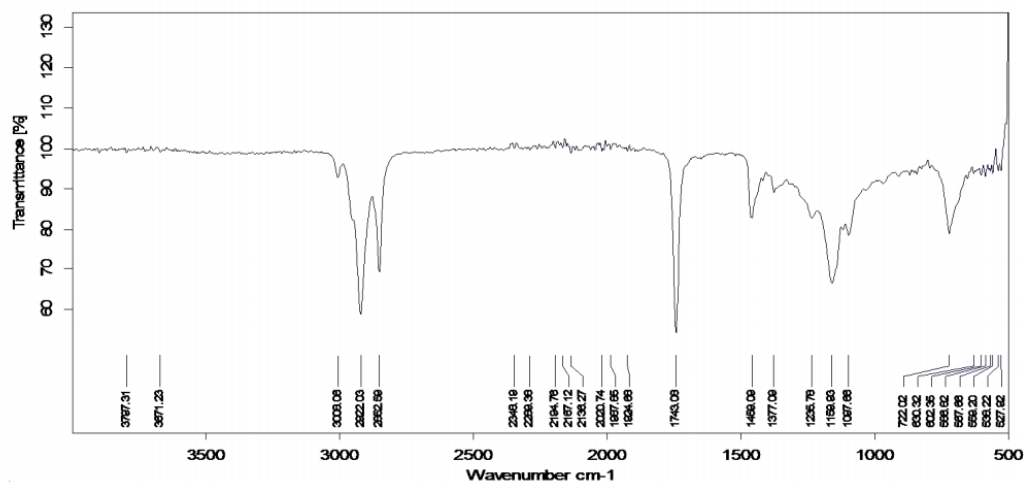


Figura 13. Espectro de FTIR de diesel.  
Tomado de Qasim y col. (2017).

El resultado del FTIR obtenido de la muestra de diesel (figura 15), es similar al obtenido por Guerrero y col. (2014) (figura 14-a) y Qasim y col (2017) (figura 13). De igual manera el biodiesel del aceite de *R. montana* (figura 16) y el biodiesel del aceite oliva (17) son similares al biodiesel de palma (figura 14-c) obtenido por Guerrero y col. (2014). En las dos muestras de biodiesel analizadas en este estudio, no se encontraron picos en las regiones 1,800-2,800  $\text{cm}^{-1}$  y 3,010-4,000  $\text{cm}^{-1}$  similares a los resultados obtenidos por Wembabazi y col. (2015) al analizar biodiesel.

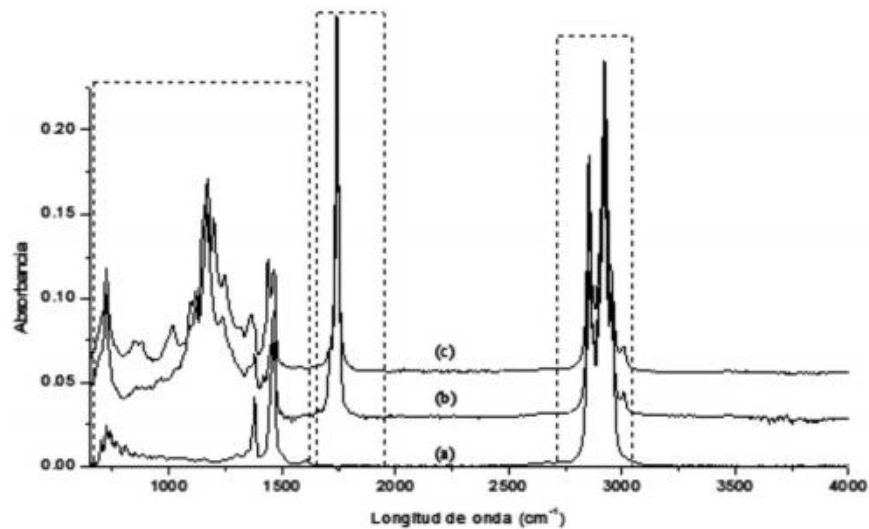


Figura 14. Espectros de FTIR de (a) diesel convencional, (b) aceite de palma y (c) biodiesel de palma. Tomado de Guerrero y col. (2014).

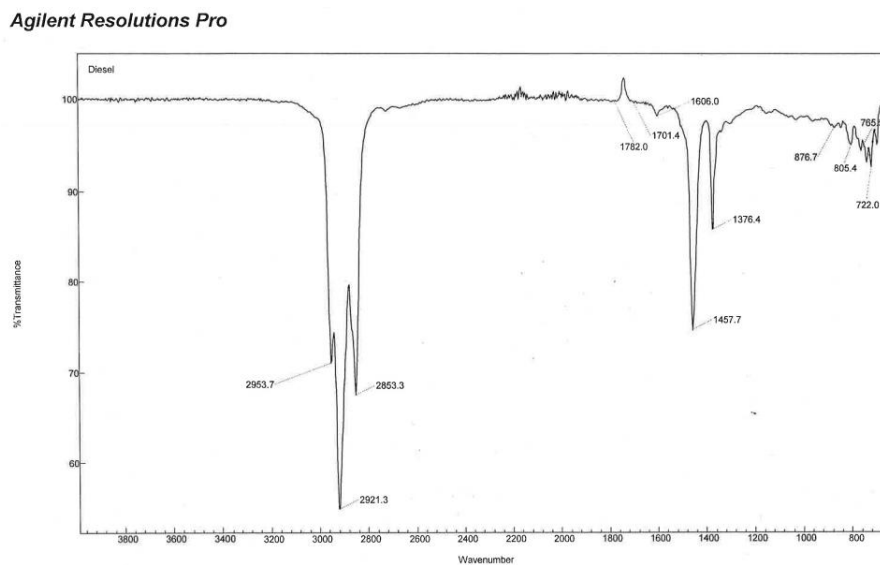


Figura 15. Espectro de FTIR de Diesel.

Se observa que en la región que corresponde a la “huella dactilar” el biodiesel del aceite de *R. montana* y el biodiesel del aceite de oliva poseen picos que no están presentes en el diesel convencional, esto es porque cada compuesto posee su particular “huella dactilar”, que corresponden a múltiples movimientos vibracionales atribuidos a diferentes grupos funcionales (Lafont 2011; Baker y col., 2014; Guerrero y col., 2014; Cao y col., 2017).

**Agilent Resolutions Pro**

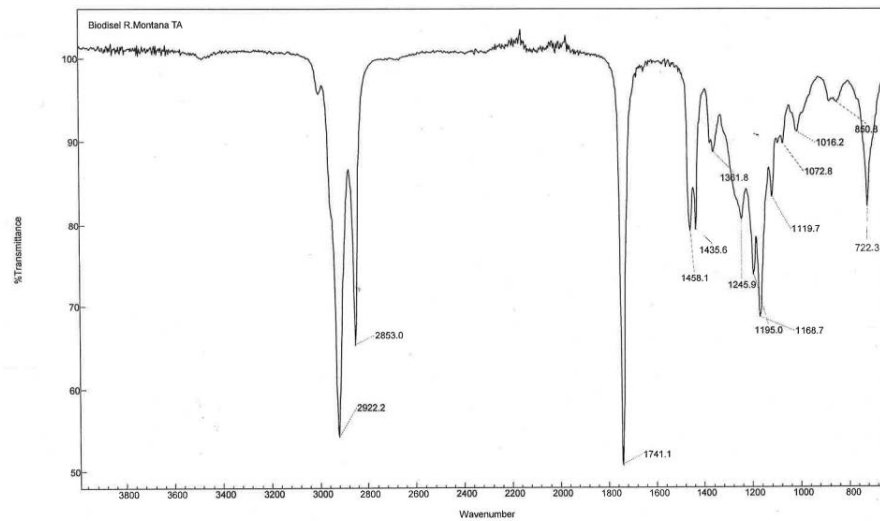


Figura 16. Espectro de FTIR de biodiesel de aceite de *Roupala montana*.

**Agilent Resolutions Pro**

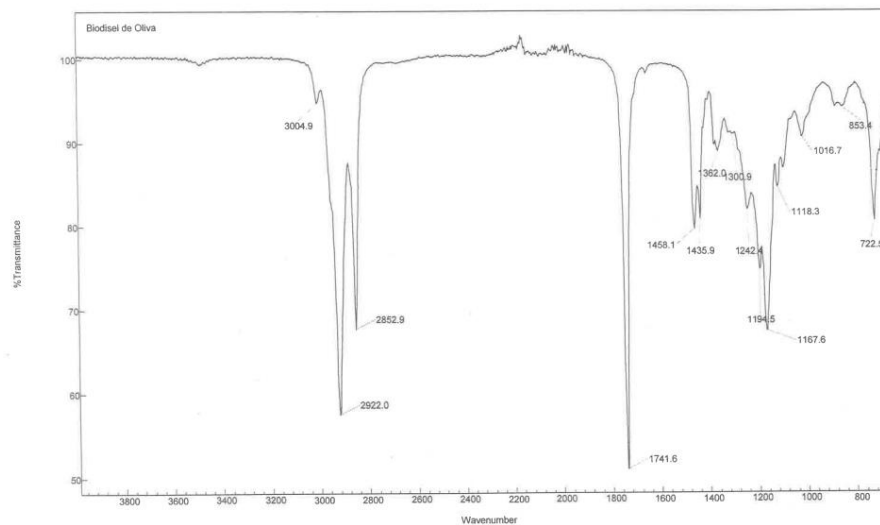


Figura 17. Espectro de FTIR de biodiesel de aceite de oliva.

Guerrero y col. (2014), mencionan que en el intervalo de  $2,800\text{ cm}^{-1} - 3,000\text{ cm}^{-1}$ , las bandas corresponden a movimientos de estiramiento del doble enlace (C=C) en posición cis de ésteres de ácidos grasos correspondientes al biodiesel, y comparando con las bandas que se obtuvieron del biodiesel del aceite de *R. montana* (figura 16) y del biodiesel de aceite de oliva (figura 17), se puede observar que en ese mismo rango aparecen las bandas de ambos biodiesel, lo que confirma la presencia del C=C. Para el caso del diesel según Qasim y col. (2017), los picos presentados en ese mismo rango corresponden al estiramiento de los C-H y la banda que aparece en  $1,459.09\text{ cm}^{-1}$  representa la flexión del enlace C-H lo que confirma la presencia de alcanos en el diesel, comparando este resultado con los obtenidos en esta investigación se puede observar que en el caso del diesel (figura 15) que, esta banda aparece a  $1,457.8\text{ cm}^{-1}$ , el comportamiento de este enlace en el biodiesel de aceite de *R. montana* y del biodiesel de aceite de oliva se presenta a  $1,458.1\text{ cm}^{-1}$ . El grupo metileno según Guerrero y col. (2014) se presenta a  $1,745\text{ cm}^{-1}$ , que al compararlos con los resultados obtenidos del biodiesel de aceite de *R. montana* (figura 16) este grupo se encuentra en  $1,741.6\text{ cm}^{-1}$ , y para el biodiesel obtenido de aceite de oliva (figura 16) se encuentra a  $1,741.6\text{ cm}^{-1}$ . Qasim y col. (2017) indica que los líquidos que tienen presencia de hidrocarburos (C-H) tienen potencial para ser utilizados como combustibles.

Guerrero y col. (2014), mencionan que en el intervalo de  $2,800\text{ cm}^{-1} - 3,000\text{ cm}^{-1}$ , las bandas corresponden a movimientos de estiramiento del doble enlace (C=C) en posición cis de ésteres de ácidos grasos correspondientes al biodiesel, y comparando con las bandas que se obtuvieron del biodiesel del aceite de *R. montana* (figura 16) y del biodiesel de aceite de oliva (figura 17), se puede observar que en ese mismo rango aparecen las bandas de ambos biodiesel, lo que confirma la presencia del C=C. Para el caso del diesel según Qasim y col. (2017), los picos presentados en ese mismo rango corresponden al estiramiento de los C-H y la banda que aparece en  $1,459.09\text{ cm}^{-1}$  representa la flexión del enlace C-H lo que confirma la presencia de alcanos en el diesel, comparando este resultado con los obtenidos en esta investigación se puede observar que en el caso del diesel (figura 15) que, esta banda aparece a  $1,457.8\text{ cm}^{-1}$ , el comportamiento de este enlace en el biodiesel de aceite de *R. montana* y del biodiesel de aceite de oliva se presenta a  $1,458.1\text{ cm}^{-1}$ . El grupo metileno según Guerrero y col. (2014) se presenta a  $1,745\text{ cm}^{-1}$ , que al compararlos con los resultados obtenidos del

biodiesel de aceite de *R. montana* (figura 16) este grupo se encuentra en  $1741.6\text{ cm}^{-1}$ , y para el biodiesel obtenido de aceite de oliva (figura 17) se encuentra a  $1,741.6\text{ cm}^{-1}$ . Qasim y col. (2017) indica que los líquidos que tienen presencia de hidrocarburos (C-H) tienen potencial para ser utilizados como combustibles.

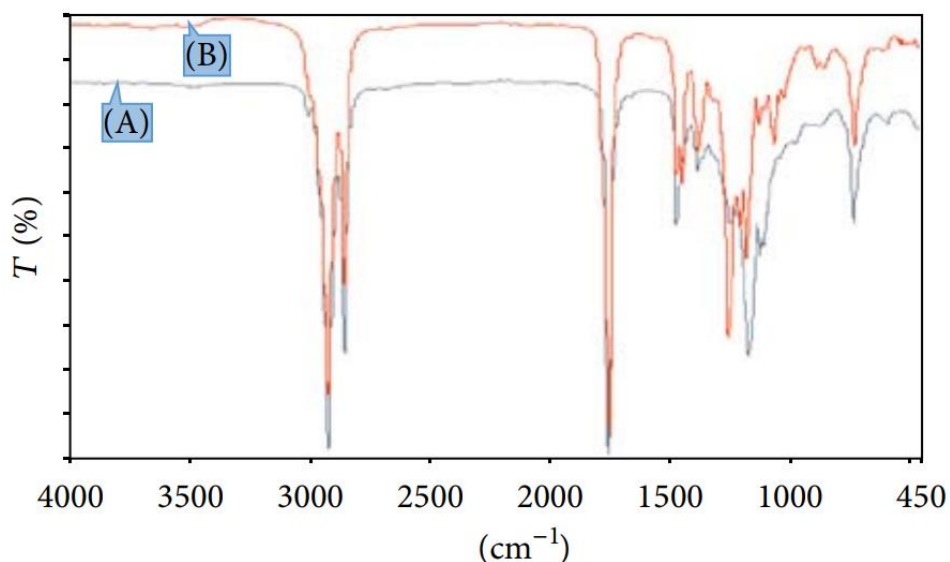


Figura 18. Espectros de FTIR de aceite de girasol caducado (A) y biodiesel (B).

Tomado de Wembabazi y col., 2015

Wembabazi y col. (2015) menciona que la principal diferencia que se da entre el espectro del diesel y del biodiesel se dan en la región  $500\text{--}1,500\text{ cm}^{-1}$  y son principalmente por los ésteres encontrados en el biodiesel, como resultado de las vibraciones de C-O. Para el caso del biodiesel este pico se produce a las  $1,245\text{ cm}^{-1}$  (C-O) y corresponde a la proporción de ésteres metílicos de ácidos grasos, la longitud es similar a los resultados obtenidos en este estudio, en el biodiesel del aceite de *R. montana* (figura 16) la vibración del C-O se presenta a  $1,245.9\text{ cm}^{-1}$  y para el biodiesel del aceite de oliva (figura 17) en  $1,242.4\text{ cm}^{-1}$ . Meena y col. (2015) y Wembabazi y col. (2015) mencionan que otros picos también han servido como diagnóstico para identificar biodiesel, y son los que se encuentran en las posiciones  $1,742\text{ cm}^{-1}$  -  $1743\text{ cm}^{-1}$  que corresponden al estiramiento C=O, aunque la banda en  $1740\text{ cm}^{-1}$  indica la formación de compuestos que contengan otros grupos C=O, en este estudio para el caso del biodiesel del aceite de *R. montana* (figura 16) se presenta  $1,741.1\text{ cm}^{-1}$  y para el biodiesel del aceite de oliva (figura 17) en  $1,741.6\text{ cm}^{-1}$  indicando la presencia del grupo

C=O. Avinash y Murugesan (2017) publicaron que la presencia del grupo de alcoholes (OH) es típico que se presente en la longitud 3397  $\text{cm}^{-1}$ , dicha banda no se encuentra presente en el biodiesel de aceite de *R. montana* (figura 16) ni el en el biodiesel obtenido de aceite de oliva (figura 17), lo que indica que el proceso se realizó de manera correcta ya que no hay residuos de alcohol.

#### 12.4. Estabilidad térmica del biodiesel del aceite de *Roupala montana* por DSC.

La determinación del análisis se realizó en un equipo NETZSCH-Gerätebau GmbH STA 409 PC Luxx. En rango de volatilización de los triglicéridos se observa en el intervalo de  $300^{\circ}$  -  $500^{\circ}$  incluyendo los tocoferoles, esteroides y la cera y por encima de  $500^{\circ}$  el de los residuos de carbón (Andrade y col., 2012). En la figura 19 se puede observar la descomposición térmica (rango de  $0^{\circ}$  -  $500^{\circ}$ ) de las muestras analizadas, mediante la eliminación de las diferentes fracciones de moléculas presentes, dichas muestras corresponden al aceite de *R. montana*, aceite de oliva, biodiesel de aceite de oliva, biodiesel de aceite de *R. montana* y diesel. Se puede ver que en un primer rango de  $0^{\circ}$  -  $100^{\circ}$  no hay pérdida de peso de ninguna de las muestras por lo que de acuerdo a lo comentado por Soares y col. (2010) y Zhao y col. (2012), las muestras analizadas se encuentran libres de impurezas, agua y alcohol.

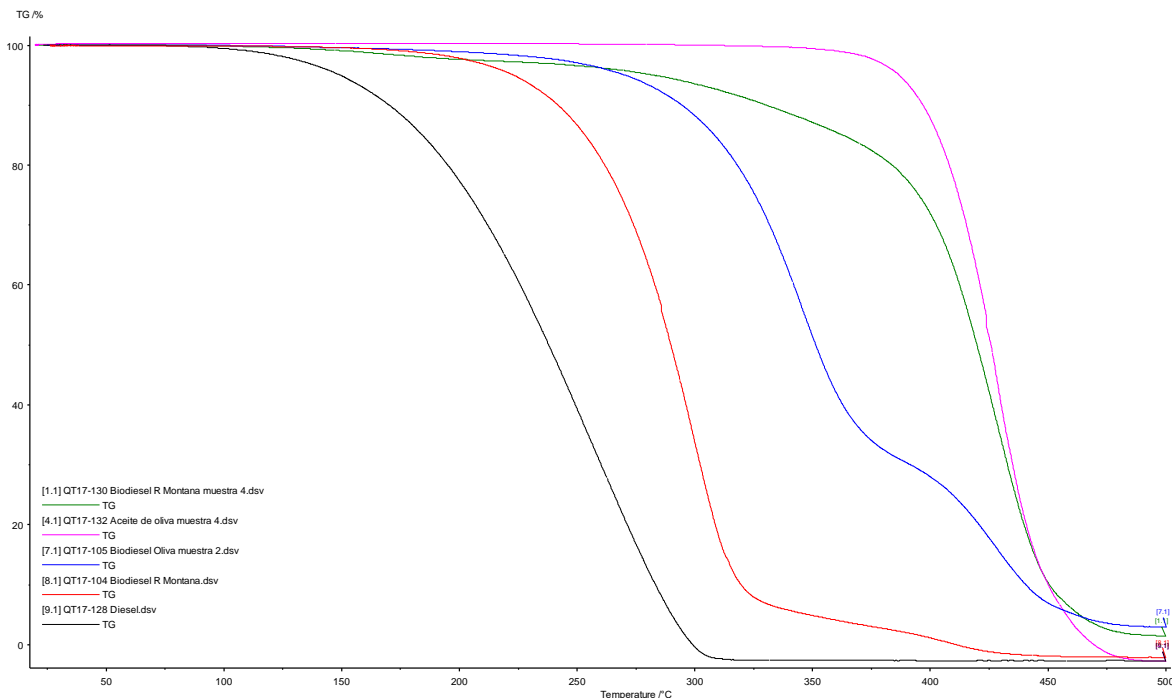


Figura 19. Análisis termogravimétrico (TG/DTG) de muestras de (—) **aceite de *R. montana***, (—), **aceite de oliva**, (—) **biodiesel de aceite de oliva**, (—) **biodiesel de aceite de *R. montana***, (—) **diesel**.

En la segunda etapa de 100° a 300° se observa que el diesel fue el primer compuesto químico en ese rango de temperatura que comenzó a degradarse, seguido del biodiesel de aceite de oliva, el cual comenzó a perder peso a 120° y finalmente el biodiesel de aceite de *R. montana* que comenzó a 135° respectivamente, que de acuerdo con Soares y col. (2010) este efecto es atribuido a la descomposición térmica de los ésteres puros. El tipo de curva que se observa en el biodiesel de aceite de oliva (325°) y en el biodiesel de aceite de *R. montana* (380°) de acuerdo con Zhao y col. (2012) corresponden a un proceso de transesterificación incompleto. Finalmente, el aceite de oliva y aceite de *R. montana* fueron las muestras que perdieron peso a temperaturas más altas, el aceite de *R. montana* comenzó con una descomposición pronunciada a los 275° y el aceite de oliva comenzó a 350°

### 13. CONCLUSIONES

- ✓ *R. montana* almacena aceite en su fruto y su semilla con una diferencia en su composición de ácidos grasos entre ambos órganos.
- ✓ La composición del aceite del fruto de *R. montana* tiene un 25.2 %, ácidos grasos poliinsaturados, 32.1 % de ácidos saturados y 42.7 % de ácidos grasos monoinsaturados, lo cual no es favorable para la producción de biodiesel.
- ✓ La composición del aceite de la semilla de *R. montana* incluye un 72 % de ácidos grasos monoinsaturados, un 28% de ácidos grasos saturados y un 0% de ácidos grasos poliinsaturados, dicha composición podría mejorar las principales características del biodiesel.
- ✓ Dentro de los ácidos grasos que se encuentran en el aceite de la semilla de *Roupala montana* se encuentran presente 3.1 % de ácido palmitoleico (C16:1) y 42.4 % de ácido oleico (C18:1).
- ✓ El análisis realizado por espectrofotometría del biodiesel de *R. montana* confirma la presencia de grupos funcionales correspondientes a los grupos característicos de los biodiesel estudiados hasta el momento.
- ✓ La estabilidad térmica del biodiesel del aceite de *R. montana* es mayor a la del diesel siendo un efecto favorable, la degradación del biodiesel del aceite de *R. montana* comienza a 120°, no es una temperatura óptima ya que un motor de combustión interna puede alcanzar los 300°C, sin embargo, la degradación del diesel comienza a 90° y ha sido utilizado en los motores.

## 14. RECOMENDACIONES

- ✓ Recolección de semillas de *R. montana* en mayor cantidad y de esta manera obtener mayor cantidad de biodiesel, para poder analizar a mayor detalle otras características del biodiesel.
- ✓ Continuar con la búsqueda de familias y especies de plantas que almacenen ácido palmitoleico y ácido oleico en su aceite y a su vez que las especies posean un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y bajo porcentaje de ácidos grasos saturados y poliinsaturados.

**15. BIBLIOGRAFÍA**

1. Abu-Hamdeh, N. H., & Alnefaie, K. A. (2015). A Comparative Study of Almond Biodiesel-Diesel Blends for Diesel Engine in Terms of Performance and Emissions. *BioMed Research International*, 2015, 529808. <http://doi.org/10.1155/2015/529808>
2. Abu-Hamdeh, N. H., & Alnefaie, K. A. (2015). A Comparative Study of Almond Biodiesel-Diesel Blends for Diesel Engine in Terms of Performance and Emissions. *BioMed Research International*, 2015, 529808. <http://doi.org/10.1155/2015/529808>
3. Ali Elsheikh, Y., y Hassan Akhtar, F. (2014). Biodiesel de *Citrullus colocynthis* Oil: Sulfonic-Ionic Liquid-Catalyzed Esterification de un proceso de dos pasos. *The Scientific World Journal*, 2014, 540765. <http://doi.org/10.1155/2014/540765>
4. Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2016). Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from Red Sea Coast of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(2), 211–218. <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.005>.
5. Amenabar, I., Poly, S., Goikoetxea, M., Nuansing, W., Lasch, P., & Hillenbrand, R. (2017). Hyperspectral infrared nanoimaging of organic samples based on Fourier transform infrared nanospectroscopy. *Nature Communications*, 8, 14402. <http://doi.org/10.1038/ncomms14402>
6. Ami, D., Posterl, R., Mereghetti, P., Porro, D., Doglia, S. M., & Branduardi, P. (2014). Fourier transform infrared spectroscopy as a method to study lipid accumulation in oleaginous yeasts. *Biotechnology for Biofuels*, 7, 12. <http://doi.org/10.1186/1754-6834-7-12>

7. Amin, L., Hashim, H., Mahadi, Z., Ibrahim, M., & Ismail, K. (2017). Determinants of stakeholders' attitudes towards biodiesel. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 219. <http://doi.org/10.1186/s13068-017-0908-8>
8. Amin, L., Hashim, H., Mahadi, Z., Ibrahim, M., & Ismail, K. (2017). Determinants of stakeholders' attitudes towards biodiesel. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 219. <http://doi.org/10.1186/s13068-017-0908-8>
9. Andrade-Castañeda HJ, Arteaga-Céspedes CC, Segura-Madrigal MA. 2017. Emisión de gases de efecto invernadero por uso de combustibles fósiles en Ibagué, Tolima (Colombia). *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 18(1):103-112.
10. Aro, E.-M. (2016). From first generation biofuels to advanced solar biofuels. *Ambio*, 45(Suppl 1), 24–31. <http://doi.org/10.1007/s13280-015-0730-0>
11. Avinash, A., & Murugesan, A. (2017). Chemometric analysis of cow dung ash as an adsorbent for purifying biodiesel from waste cooking oil. *Scientific Reports*, 7, 9526. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-09881-z>
12. Baker, M. J., Trevisan, J., Bassan, P., Bhargava, R., Butler, H. J., Dorling, K. M., ... Martin, F. L. (2014). Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature Protocols*, 9(8), 1771–1791. <http://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>
13. Botella L., Bimbela Serrano F., Abrego Garrués J., Gonzalo A., Sánchez J. L. (2014). El biodiésel dentro de la biorrefinería. Nuevas estrategias. *Boletín del Grupo Español del Carbón*. N°. 33, 2014, págs. 7-10.
14. Botella, L., Bimbela, F., Martín, L., Arauzo, J., & Sánchez, J. L. (2014). Oxidation stability of biodiesel fuels and blends using the Rancimat and PetroOXY methods. Effect of 4-allyl-2,6-dimethoxyphenol and catechol as biodiesel additives on oxidation stability. *Frontiers in Chemistry*, 2, 43. <http://doi.org/10.3389/fchem.2014.00043>

15. Brandes Ammann, A., & Brandl, H. (2011). Detection and differentiation of bacterial spores in a mineral matrix by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and chemometrical data treatment. *BMC Biophysics*, 4, 14. <http://doi.org/10.1186/2046-1682-4-14>
16. Branham, S. E., Wright, S. J., Reba, A., & Linder, C. R. (2016). Genome-Wide Association Study of *Arabidopsis thaliana* Identifies Determinants of Natural Variation in Seed Oil Composition. *Journal of Heredity*, 107(3), 248–256. <http://doi.org/10.1093/jhered/esv100>
17. Cao, H., Zhang, Z., Wu, X., & Miao, X. (2013). Direct Biodiesel Production from Wet Microalgae Biomass of *Chlorella pyrenoidosa* through In Situ Transesterification. *BioMed Research International*, 2013, 930686. <http://doi.org/10.1155/2013/930686>
18. Cao, Z., Wang, Z., Shang, Z., & Zhao, J. (2017). Classification and identification of *Rhodobryum roseum* Limpr. and its adulterants based on fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and chemometrics. *PLoS ONE*, 12(2), e0172359. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0172359>
19. Carlsson, A. S., Yilmaz, J. L., Green, A. G., Stymne, S., & Hofvander, P. (2011). Replacing fossil oil with fresh oil – with what and for what? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(7), 812–831. <http://doi.org/10.1002/ejlt.201100032>
20. Chen, Y., Zou, C., Mastalerz, M., Hu, S., Gasaway, C., & Tao, X. (2015). Applications of Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Geological Sciences—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30223–30250. <http://doi.org/10.3390/ijms161226227>
21. Das, S., Thakur, A. J., & Deka, D. (2014). Two-Stage Conversion of High Free Fatty Acid *Jatropha curcas* Oil to Biodiesel Using Brønsted Acidic Ionic Liquid and KOH

- as Catalysts. *The Scientific World Journal*, 2014, 180983.  
<http://doi.org/10.1155/2014/180983>
22. Dellomonaco, C., Fava, F., & Gonzalez, R. (2010). The path to next generation biofuels: successes and challenges in the era of synthetic biology. *Microbial Cell Factories*, 9, 3. <http://doi.org/10.1186/1475-2859-9-3>
  23. Dussert, S., Guerin, C., Andersson, M., Joët, T., Tranbarger, T. J., Pizot, M., ... Morcillo, F. (2013). Comparative Transcriptome Analysis of Three Oil Palm Fruit and Seed Tissues That Differ in Oil Content and Fatty Acid Composition. *Plant Physiology*, 162(3), 1337–1358. <http://doi.org/10.1104/pp.113.220525>
  24. Escobar-Niño, A., Luna, C., Luna, D., Marcos, A. T., Cánovas, D., & Mellado, E. (2014). Selection and Characterization of Biofuel-Producing Environmental Bacteria Isolated from Vegetable Oil-Rich Wastes. *PLoS ONE*, 9(8), e104063. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0104063>
  25. Espejo M. C. (2005). La biomasa en la producción de electricidad en España). *Estudios geográficos*. Vol. 66, Nº 258, 2005, págs. 105-128.
  26. Frumkin, H., Hess, J., & Vindigni, S. (2009). Energy and Public Health: The Challenge of Peak Petroleum. *Public Health Reports*, 124(1), 5–19.
  27. Gómez G. J., (2015). Posible utilización de aceite de tártago en la producción de biocombustible. Trabajo de obtención de grado. Universidad de la Laguna.
  28. González Duran E. E. (2012). Caracterización fisicoquímica de biodiésel producido a partir de tres variedades de piñón (*Jatropha curcas*). (Tesis de Licenciatura). Honduras. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1008/1/AGI-2012-T020.pdf>

29. Guerrero P. A., Anguebes F. F., Castelán E. M., Morales R. V., García Z. R., C. Zavala L. J.C. y Atl V. Córdova Q. A. V.(2014). Fourier transform infrared-attenuated total reflectance (ftir-atr) spectroscopy and chemometric techniques for the determination of adulteration in petrodiesel/ biodiesel blends. *Quim. Nova*, Vol. 37, No. 3, 392-397.
30. Hansen, J., Kharecha, P., Sato, M., Masson-Delmotte, V., Ackerman, F., Beerling, DJ, ... Zachos, JC (2013). La evaluación de “cambio climático peligroso”: Reducción de las Emisiones de carbono necesario para proteger a los jóvenes, las generaciones futuras y la naturaleza. *PLoS ONE* , 8 (12), e81648. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0081648>
31. Hashimoto, S. (2012). A New Estimation of Global Soil Greenhouse Gas Fluxes Using a Simple Data-Oriented Model. *PLoS ONE*, 7(8), e41962. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0041962>
32. Hein, L., & Leemans, R. (2012). The Impact of First-Generation Biofuels on the Depletion of the Global Phosphorus Reserve. *Ambio*, 41(4), 341–349.
33. Hood, E. E. (2016). Plant-based biofuels. *F1000Research*, 5, F1000 Faculty Rev–185. <http://doi.org/10.12688/f1000research.7418.1>
34. Hu, Z.-Y., Hua, W., Zhang, L., Deng, L.-B., Wang, X.-F., Liu, G.-H., ... Wang, H.-Z. (2013). Seed Structure Characteristics to Form Ultrahigh Oil Content in Rapeseed. *PLoS ONE*, 8(4), e62099.
35. Huang, W.-D., & Zhang, Y.-H. P. (2011). Energy Efficiency Analysis: Biomass-to-Wheel Efficiency Related with Biofuels Production, Fuel Distribution, and Powertrain Systems. *PLoS ONE*, 6(7), e22113. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0022113>
36. Hughes, J., Ayoko, G., Collett, S., & Golding, G. (2013). Rapid Quantification of Methamphetamine: Using Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared

- Spectroscopy (ATR-FTIR) and Chemometrics. *PLoS ONE*, 8(7), e69609.  
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0069609>
37. Islam, M. A., Hasanuzzaman, M., Rahim, N. A., Nahar, A., & Hosenuzzaman, M. (2014). Global Renewable Energy-Based Electricity Generation and Smart Grid System for Energy Security. *The Scientific World Journal*, 2014, 197136. <http://doi.org/10.1155/2014/197136>
38. Islam, M. A., Hasanuzzaman, M., Rahim, N. A., Nahar, A., & Hosenuzzaman, M. (2014). Global Renewable Energy-Based Electricity Generation and Smart Grid System for Energy Security. *The Scientific World Journal*, 2014, 197136. <http://doi.org/10.1155/2014/197136>
39. Jadraque G. E. (2011). Uso de la energía solar fotovoltaica como fuente para el suministro de energía eléctrica en el sector residencial. (Tesis doctoral). Universidad de Granada. Granada. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/17709/1/19852125.pdf>
40. Jesús R. M., María F. C., Casas A., Rodríguez L., Pérez A. (2009). Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology* 100, 261–268.
41. Karmee, S. K., Patria, R. D., & Lin, C. S. K. (2015). Techno-Economic Evaluation of Biodiesel Production from Waste Cooking Oil—A Case Study of Hong Kong. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 4362–4371. <http://doi.org/10.3390/ijms16034362>
42. Kolesárová, N., Hutňan, M., Bodík, I., & Špalková, V. (2011). Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 126798. <http://doi.org/10.1155/2011/126798>

43. Kosa, G., Shapaval, V., Kohler, A., & Zimmermann, B. (2017). FTIR spectroscopy as a unified method for simultaneous analysis of intra- and extracellular metabolites in high-throughput screening of microbial bioprocesses. *Microbial Cell Factories*, 16, 195. <http://doi.org/10.1186/s12934-017-0817-3>
44. Laine J. (2009). Ciento cincuenta años de combustión de hidrocarburos fósiles: las alternativas emergentes. *Ingeniería y Ciencia*. Volumen 5, número 10, páginas 11–31.
45. Lau, P.-C., Kwong, T.-L., & Yung, K.-F. (2016). Effective heterogeneous transition metal glycerolates catalysts for one-step biodiesel production from low grade non-refined *Jatropha* oil and crude aqueous bioethanol. *Scientific Reports*, 6, 23822. <http://doi.org/10.1038/srep23822>
46. Li, C., Cheng, X., Jia, Q., Song, H., Liu, X., Wang, K., ... Zhang, M. (2017). Investigation of Plant Species with Identified Seed Oil Fatty Acids in Chinese Literature and Analysis of Five Unsurveyed Chinese Endemic Species. *Frontiers in Plant Science*, 8, 224. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.00224>
47. Li, P., Miao, X., Li, R., & Zhong, J. (2011). In Situ Biodiesel Production from Fast-Growing and High Oil Content *Chlorella pyrenoidosa* in Rice Straw Hydrolysate. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 141207. <http://doi.org/10.1155/2011/141207>
48. Lin, H., Wang, Q., Shen, Q., Zhan, J., & Zhao, Y. (2013). Genetic engineering of microorganisms for biodiesel production. *Bioengineered*, 4(5), 292–304.
49. López Jiménez J. M. (2014). Un ejemplo preocupante de externalidad negativa: los gases con efecto invernadero. *eXtoikos*, N°. 15, 2014, págs. 29-33.
50. Luna, D., Posadillo, A., Caballero, V., Verdugo, C., Bautista, F. M., Romero, A. A., ... Calero, J. (2012). New Biofuel Integrating Glycerol into Its Composition Through the

- Use of Covalent Immobilized Pig Pancreatic Lipase. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(8), 10091–10112. <http://doi.org/10.3390/ijms130810091>
51. Martínez-Valencia, B.B., Zamarripa-Colmenero, A., Solís-Bonilla, J.L., López-Ángel, L.J. México 2011. Calidad fisicoquímica de insumos bioenergéticos para la producción de biodiesel en México. Folleto Técnico Num.24. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas. México. 63 p.
  52. Medina Ramírez I. E. Chávez Vela N. A. Jáuregui Rincón J. (2012). Biodiesel, un combustible renovable *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. N°. 55, 2012, págs. 62-70
  53. Miller, R. G., & Sorrell, S. R. (2014). The future of oil supply. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 372(2006), 20130179. <http://doi.org/10.1098/rsta.2013.0179>
  54. Moratilla S. B. Y. (2006). LA energía eólica. *Anales de mecánica y electricidad*. Vol. 83, Fasc. 1, 2006, págs. 7-15. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1448348>.
  55. Mueller, D., Ferrão, M. F., Marder, L., da Costa, A. B., & de Cássia de Souza Schneider, R. (2013). Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Multivariate Analysis for Identification of Different Vegetable Oils Used in Biodiesel Production. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 13(4), 4258–4271. <http://doi.org/10.3390/s130404258>
  56. Mumtaz, M. W., Mukhtar, H., Anwar, F., & Saari, N. (2014). RSM Based Optimization of Chemical and Enzymatic Transesterification of Palm Oil: Biodiesel Production and Assessment of Exhaust Emission Levels. *The Scientific World Journal*, 2014, 526105. <http://doi.org/10.1155/2014/526105>

57. Mureddu, M., Caldarelli, G., Chessa, A., Scala, A., & Damiano, A. (2015). Green Power Grids: How Energy from Renewable Sources Affects Networks and Markets. *PLoS ONE*, 10(9), e0135312. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0135312>
58. Mureddu, M., Caldarelli, G., Chessa, A., Scala, A., & Damiano, A. (2015). Green Power Grids: How Energy from Renewable Sources Affects Networks and Markets. *PLoS ONE*, 10(9), e0135312. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0135312>
59. Nehring, R. (2009). Traversing the mountaintop: world fossil fuel production to 2050. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1532), 3067–3079. <http://doi.org/10.1098/rstb.2009.0170>
60. Nguyen, Q. T., Kisiala, A., Andreas, P., Neil Emery, R. J., & Narine, S. (2016). Soybean Seed Development: Fatty Acid and Phytohormone Metabolism and Their Interactions. *Current Genomics*, 17(3), 241–260. <http://doi.org/10.2174/1389202917666160202220238>
61. Nibleus, K., y Lundin, R. (2010). El cambio climático y la mitigación. *Ambio* , 39 (Suppl 1), 11-17. <http://doi.org/10.1007/s13280-010-0058-8>
62. Núñez Suárez E. M. (2010). Combustibles fósiles; análisis, impactos y alternativas, estudio para el caso colombiano. (Tesis de grado Economista). Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.
63. Pino Rodríguez N.J., Carvajal S., Gallo A., Peñuela G. (2012). Comparación entre bioestimulación y bioaumentación para la recuperación de suelos contaminados con diesel. *Producción + Limpia*. Vol.7, No.1 .101-108.
64. Puhan S., Saravanan N., Nagarajan G., Vedaraman N. (2010). Effect of biodiesel unsaturated fatty acid on combustion characteristics of a DI compression ignition engine biomass and bioenergy 34 1079–1088

65. Qasim M., Mahmood A. T. and Hussain M. (2017). Combustion, Performance, and Emission Evaluation of a Diesel Engine with Biodiesel Like Fuel Blends Derived from a Mixture of Pakistani Waste Canola and Waste Transformer Oils. *Energies*, 10, 1023; doi:10.3390/en10071023.
66. Quintana, N., Van der Kooy, F., Van de Rhee, M. D., Voshol, G. P., & Verpoorte, R. (2011). Renewable energy from Cyanobacteria: energy production optimization by metabolic pathway engineering. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(3), 471–490. <http://doi.org/10.1007/s00253-011-3394-0>
67. Ramírez Suárez M. E. (2013). Potencial técnico y económico del uso de biodiésel a partir de aceite comestible usado en México (Tesis de Ingeniería). Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
68. Ren, J., Manzardo, A., Mazzi, A., Fedele, A., & Scipioni, A. (2013). Emergy Analysis and Sustainability Efficiency Analysis of Different Crop-Based Biodiesel in Life Cycle Perspective. *The Scientific World Journal*, 2013, 918514. <http://doi.org/10.1155/2013/918514>
69. Reyes Torres P. J. (1999). Combustibles Fósiles y Contaminación. Disponible en: <http://www.umng.edu.co/documents/63968/74798/8n1art9.pdf>.
70. Ridley, C. E., Clark, C. M., LeDuc, S. D., Bierwagen, B. G., Lin, B. B., Mehl, A., & Tobias, D. A. (2012). Biofuels: Network Analysis of the Literature Reveals Key Environmental and Economic Unknowns. *Environmental Science & Technology*, 46(3), 1309–1315. <http://doi.org/10.1021/es2023253>
71. Rodríguez Bazan M. A. (2009). Mitigación y biorremediación de suelos contaminados por el derrame de combustible diésel 2 en la Quebrada del Toro, Camaná, 2009. CIENDES 10.

72. Sadrolhosseini, A. R., Moxsin, M. M., Nang, H. L. L., Norozi, M., Yunus, W. M. M., & Zakaria, A. (2011). Physical Properties of Normal Grade Biodiesel and Winter Grade Biodiesel. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(4), 2100–2111. <http://doi.org/10.3390/ijms12042100>
73. Songolzadeh, M., Soleimani, M., Takht Ravanchi, M., & Songolzadeh, R. (2014). Carbon Dioxide Separation from Flue Gases: A Technological Review Emphasizing Reduction in Greenhouse Gas Emissions. *The Scientific World Journal*, 2014, 828131. <http://doi.org/10.1155/2014/828131>
74. Souza, L. T. A., Mendes, A. A., & de Castro, H. F. (2016). Selection of Lipases for the Synthesis of Biodiesel from Jatropha Oil and the Potential of Microwave Irradiation to Enhance the Reaction Rate. *BioMed Research International*, 2016, 1404567. <http://doi.org/10.1155/2016/1404567>
75. Stratta J. (2000). Biocombustibles: los aceites vegetales como constituyentes principales de biodiesel. Bolsa de comercio de Rosario. Disponible en: [http://www.bcr.com.ar/Publicaciones/investigaciones/biocombustibles\\_stratta.pdf](http://www.bcr.com.ar/Publicaciones/investigaciones/biocombustibles_stratta.pdf) .
76. Strong C., Erickson C., Shukla D. (2004). Evaluation of Biodiesel Fuel: Literature Review Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.456.3604&rep=rep1&type=pdf>
77. Suárez, J, y Martín, G. J. (2010). Producción de agroenergía a partir de biomasa en sistemas agroforestales integrados: una alternativa para lograr la seguridad alimentaria y la protección ambiental. *Pastos y Forrajes*, 33(3) Recuperado en 12 de mayo de 2017, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942010000300001&lng=es&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000300001&lng=es&tlng=pt).
78. Taher, H., Al-Zuhair, S., Al-Marzouqi, A. H., Haik, Y., & Farid, M. M. (2011). A Review of Enzymatic Transesterification of Microalgal Oil-Based Biodiesel Using

- Supercritical Technology. *Enzyme Research*, 2011, 468292.  
<http://doi.org/10.4061/2011/468292>
79. Tamada, I. S., Montagnolli, R. N., Lopes, P. R. M., & Bidoia, E. D. (2012). Toxicological evaluation of vegetable oils and biodiesel in soil during the biodegradation process. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1576–1581.  
<http://doi.org/10.1590/S1517-838220120004000042>
80. Torres Badillo R. G., Flores Tomalá D. G. (2011). Control de procesos de energías renovables: Proceso de producción de biodiesel usando algas. Una alternativa para no afectar el ecosistema o la cadena alimentaria. Aspectos técnicos y económicos. (Tesis de Ingeniería). Escuela Superior Politécnica del Litoral. Ecuador. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/20018/2/TESIS%20FINAL.pdf>
81. Troncoso-Ponce, M. A., Kilaru, A., Cao, X., Durrett, T. P., Fan, J., Jensen, J. K., ... Ohlrogge, J. B. (2011). Comparative deep transcriptional profiling of four developing oilseeds. *The Plant Journal*, 68(6), 1014–1027. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04751.x>
82. Uthoff S., Bröker D., Steinbüchel A. (2009). Current state and perspectives of producing biodiesel-like compounds by biotechnology. *Microb Biotechnol.* 2(5): 551–565.
83. Vázquez H.D.I. (2014). Biodiésel a partir de palma de aceite en el transporte mexicano. Tesis de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/3546/Tesis.pdf?sequence=1>
84. Wembabazi E., Joram M. P., Ratibu A., Wendi D., Kyambadde J., California V. P. (2015). Spectroscopic Analysis of Heterogeneous Biocatalysts for Biodiesel

Production from Expired Sunflower Cooking Oil. *Journal of Spectroscopy*, Volume 2015, Article ID 714396.

85. Xie, X., Zhang, T., Wang, L., & Huang, Z. (2017). Regional water footprints of potential biofuel production in China. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 95. <http://doi.org/10.1186/s13068-017-0778-0>
86. Yaakob Z., Narayanan N.B., Padikkaparambil S., Unni K. S., Akbar P. M. (2014). A review on the oxidation stability of biodiesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 35 , 136–153.
87. Yergeau, E., Sanschagrín, S., Beaumier, D., & Greer, C. W. (2012). Metagenomic Analysis of the Bioremediation of Diesel-Contaminated Canadian High Arctic Soils. *PLoS ONE*, 7(1), e30058. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0030058>
88. Zanolli, G., Di Toro, S., Todaro, D., Varese, G. C., Bertolotto, A., & Fava, F. (2010). Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a non acclimated, complex source of microorganisms. *Microbial Cell Factories*, 9, 10. <http://doi.org/10.1186/1475-2859-9-10>