



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

**ESTUDIO DE LAS VARIABLES DE PROCESO MEDIANTE  
SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA  
PRODUCCIÓN DE BIODIESEL UTILIZANDO ACEITE DE PALMA  
AFRICANA (*Elaeis guineensis* Jacq) COMO MATERIA PRIMA**

**FRANCISCO ANGUEBES FRANCESCHI**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2013

La presente tesis titulada: **Estudio de las variables de proceso mediante superficie de respuesta para la optimización de la producción de biodiesel utilizando aceite de palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq) como materia prima**, realizada por el alumno: Francisco Anguebes Franseschi, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: \_\_\_\_\_  
DR. ARMANDO GURRERO BENA

ASESOR: \_\_\_\_\_  
DR. MEPIVOSETH CASTELAN ESTRADA

ASESOR: \_\_\_\_\_  
DR. VICTORINO MORALES RAMOS

ASESOR: \_\_\_\_\_  
DR. ATL VICTOR CERDOVA QUIROZ

ASESOR: \_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ DEL CARMEN ZAVALA LORIA

H. CÁRDENAS, TABASCO A 20 DE SEPTIEMBRE DE 2013

## AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados porque a través de su infraestructura, entre estos el Laboratorio de Suelos Aguas y Plantas (LASPA) y de la Lpl-3 de Fuentes Alternas de Energía y Biomateriales, se recibieron los apoyos materiales y económicos para el desarrollo de éste trabajo de investigación.

A la Secretaría Académica del Colegio de Postgraduados por los apoyos recibidos para poder concluir mis estudios de Doctorado.

Mis agradecimientos a la Secretaría de Educación Pública (SEP) y a la Universidad Autónoma del Carmen (UNACAR) por la beca otorgada a través del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) con el proyecto PROMEP/103.5/09/4363.

Mis agradecimientos a mi comité doctoral: Dr. Armando Guerrero Peña por compartir con tanta nobleza su conocimiento en quimiometría y el análisis instrumental, Al Dr. Mepivoseth Castellán Estrada, Dr. Victorino Morales Ramos, Dr. Atl Víctor Córdova Quiroz y Dr. José del Carmen Zavala Loría, por sus valiosos comentarios para mejorar el contenido de los artículos científicos y de la tesis.

Mis agradecimientos al Dr. Ponciano Pérez Hernández y al Dr. Cesar Jesús Vázquez Navarrete por el apoyo recibido y que me permitió terminar el Doctorado.

Mis agradecimientos al Dr. Juan Manuel Zaldívar Cruz y al Dr. Sergio Salgado García, por sus valiosas aportaciones que permitieron mejorar el contenido de la tesis.

A mis profesores del Colegio de Postgraduados por compartir su conocimiento dentro y fuera del aula.

Mis agradecimientos a los compañeros del Laboratorio de Suelos y Plantas (LASPA): Martha P. Hernández, Esteban Osorio y Bernardo Gómez por su apoyo que siempre me brindaron durante el desarrollo de mi proyecto de investigación.

A la maestra Juana Patricia por su invaluable apoyo en la preparación del examen de inglés TOEFL ITP.

Al persona del departamento de servicios académicos por su cordial atención.

Al Dr. Reyes García Zarracino de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Carmen, por apoyarnos con los análisis de las mezclas diesel/biodiesel mediante espectroscopia de infrarrojo.

Mis agradecimientos para el Dr. Lauro Bucio Galindo del Instituto de Física de la Universidad Autónoma de México (UNAM) por apoyarnos con la caracterización de los catalizadores heterogéneos que fueron desarrollados en el Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

Mis agradecimientos al Doctor Ismael León del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) por apoyarnos con la caracterización química del biodiesel.

## DEDICATORIA

A Dios por la vida y por la maravillosa familia que tengo, y por la oportunidad que me das de compartir mis conocimientos a mis alumnos y compañeros.

A mi familia por su apoyo y comprensión por el tiempo que no estuve con Ustedes. Jonathan y Alfonso, gracias por contagiarme con su alegría y cariño, Gloria por estar a mi lado. A mi madre Micaela Franeschi, mis hermanos Yolanda, Agustín y Miguel. A mis primos Luis, Gaspar, Mary, Esmeralda y mi tía Caritina. A las memorias de mí querido papá Francisco y mi tío Gaspar Anguebes Zilli.

A mi querido pueblo La Angostura, Veracruz, México.

Al pueblo de México por permitirme concluir una etapa más en mi formación profesional.

*Hoy en día la ciencia avanza tan rápido que la única forma de mantenerse a la par de los avances científicos es trabajar fuertemente en equipo.*

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
<b>1.1 OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
1.1.1 Objetivo general	3
1.1.2 Objetivos específicos	3
<b>1.2 HIPÓTESIS</b>	<b>3</b>
1.2.1 Hipótesis general	3
1.2.2 Hipótesis específicas	4
1.2.2.1 Los niveles de los factores en estudio permiten optimizar el proceso de obtención de biodiesel.	4
1.2.2.2 El análisis por espectroscopia de infrarrojo y UV-visible generan información suficiente y confiable para generar modelos de predicción mediante técnicas quimiométricas y pueden ser usados en el control de calidad de mezclas comerciales de biodiesel.	4
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Biodiesel</b>	<b>5</b>
2.1.1 Producción mundial de biodiesel	5
<b>2.2 La palma africana</b>	<b>7</b>
2.2.1 Producción mundial de aceite de palma africana	8
2.2.2 Producción de palma africana en México	9
2.2.3 Composición química del aceite de palma africana	9
<b>2.3 Normas de calidad de biodiesel</b>	<b>10</b>
2.3.1 Algunas propiedades importantes del biodiesel	11
2.3.2 Mezclas petrodiesel biodiesel	15
2.3.3 Técnicas alternativas para el análisis químico de mezclas de petrodiesel-biodiesel	15
<b>2.4 Catalizadores</b>	<b>16</b>
2.4.1 Cinética química de la reacción de transesterificación	17
<b>2.5 Metodología de Superficie de Respuesta</b>	<b>18</b>
2.5.1 Polinomios ortogonales	19
2.5.2 Análisis de modelos cuadráticos	20
2.5.2.1 Localización del punto estacionario y caracterización de la superficie de respuesta	21
<b>2.6 Diseño central rotatable</b>	<b>21</b>
<b>2.7 Análisis instrumental</b>	<b>23</b>
2.7.1 Propiedades generales de la radiación electromagnética	23
2.7.2 El espectro electromagnético	23

2.7.3 Ley de Lambert-Beer	24
2.7.4 Espectroscopia de infrarrojo	26
2.7.4.1 Cambios en el momento del dipolo durante las vibraciones y las rotaciones	27
2.7.4.2 Transiciones rotacionales	27
2.7.4.3 Transiciones vibracionales/rotacionales	27
2.7.4.4 Espectrómetro con transformada de Fourier	31
2.7.4.5 Espectroscopia en el dominio del tiempo	32
2.7.4.6 Ventajas del espectrómetro con transformada de Fourier	33
2.7.4.7 Espectrometría de reflectancia difusa	33
2.7.4.8 Espectrometría de reflectancia atenuada total (ATR)	34
2.7.5 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Visible)	35
2.7.5.1 Transiciones electrónicas	36
2.7.5.2 Interacciones de la radiación y la materia	36
2.7.5.3 Absortividad molecular	38
2.7.5.4 Especies absorbentes	38
2.7.5.5 Absorbancias de compuestos orgánicos	39
<b>2.8 Quimiometría</b>	<b>42</b>
2.8.1 Pretratamiento de datos	44
2.8.1.1 Centrado	44
2.8.1.2 Corrección de línea base (Baseline Correction)	45
2.8.1.3 Modelado explícito de la línea base	46
2.8.1.4 Normalizado (Normalize)	46
2.8.1.5 Suavizado (Smooths)	47
2.8.1.6 Derivadas	48
2.8.1.7 Multiplicación (Multiply)	49
2.8.2 Reconocimiento de pautas no supervisadas	49
2.8.2.1 Análisis de agrupamiento jerárquico. En esta técnica de análisis exploratorio se calcula	49
2.8.2.2 Análisis jerárquico (HCA)	51
2.8.2.3 Análisis de Componentes Principales (PCA)	53
2.8.3 Reconocimiento de pautas supervisadas	57
2.8.3.1 Análisis discriminante lineal (LDA)	59
2.8.3.2 Modelo suave independiente de analogía de clases (SIMCA)	62
2.8.4 Modelos de Calibración	65
2.8.4.1 Calibración univariante	65
2.8.4.2 Regresión lineal múltiple	69
2.8.4.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS)	70
2.8.4.3.1 PLS1	70
2.8.4.3.2 PLS2	71
2.8.5 Validación de modelos	72

2.8.6 Aplicación de los métodos instrumentales y quimiométricos _____	74
<b>2.9 LITERATURA CITADA _____</b>	<b>76</b>
<b>CAPÍTULO III. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE BIODIESEL EN MEZCLAS PETRODIESEL/BIODIESEL: UN MÉTODO BASADO EN LA ESPECTROSCOPIA UV- VISIBLE Y TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS _____</b>	<b>87</b>
<b>3.1 Resumen _____</b>	<b>87</b>
<b>3.2 Abstract _____</b>	<b>88</b>
<b>3.3 Introducción _____</b>	<b>89</b>
<b>3.4 Materiales y Métodos _____</b>	<b>90</b>
3.4.1 Reactivos _____	90
3.4.2 Reactor químico _____	90
3.4.3 Espectrofotómetro UV-visible _____	90
3.4.4 Programas _____	91
3.4.5 Procedimiento para la síntesis de biodiesel _____	91
3.4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras _____	91
3.4.7 Procedimiento para la obtención del modelo de estimación de biodiesel en mezcla con diesel derivado del petróleo _____	92
<b>3.5 Resultados y discusión _____</b>	<b>92</b>
3.5.1 Interpretación de los espectros _____	92
3.5.2 Análisis del modelo de predicción PLS _____	93
<b>3.6 Conclusiones _____</b>	<b>95</b>
<b>3.7 Literatura citada _____</b>	<b>96</b>
<b>CAPITULO IV. USO DE ESPECTROSCOPIA (FTIR-ATR) Y CALIBRACIÓN MULTIVARIADA PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE BIODIESEL EN MEZCLAS CON PETRODIESEL _____</b>	<b>99</b>
<b>4.1 Resumen _____</b>	<b>99</b>
<b>4.2 Abstract _____</b>	<b>100</b>
<b>4.3 Introducción _____</b>	<b>101</b>
<b>4.4 Materiales y métodos _____</b>	<b>102</b>
4.4.1 Reactivos _____	102
4.4.2 Reactor químico _____	102
4.4.3 Espectrofotómetro (FTIR-ATR) _____	103
4.4.4 Programas _____	103
4.4.5 Procedimiento para la síntesis de biodiesel _____	103
4.4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras _____	104
4.4.7 Procedimiento para la obtención del modelo de estimación de biodiesel en mezcla con diesel derivado del petróleo _____	104
<b>4.4 Resultados y discusión _____</b>	<b>105</b>
4.5.1 Interpretación de los espectros _____	105
4.5.2 Análisis del modelo de predicción PLS _____	107



<b>4.6 Conclusiones</b>	<b>109</b>
<b>4.7 Literatura citada</b>	<b>109</b>
<b>CAPITULO V. OPTIMIZACIÓN DE LA SINTESIS DE BIODIESEL EMPLEANDO ACEITE CRUDO DE PALMA AFRICANA (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq) CON ALTAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES</b>	<b>113</b>
<b>5.1 Resumen</b>	<b>113</b>
<b>5.2 Abstract</b>	<b>114</b>
<b>5.3 Introducción</b>	<b>115</b>
<b>5.4 Materiales y métodos</b>	<b>117</b>
5.4.1 Reactivos	117
5.4.2 Reactor químico	117
5.4.3 Programas	117
5.4.4 Diseño experimental	117
5.4.5 Análisis estadístico	119
5.4.6 Procedimiento para la esterificación de OCPA	119
5.4.7 Procedimiento para la transesterificación OEPA	120
5.4.8 Procedimiento Analítico	120
<b>5.5 Resultados y discusión</b>	<b>121</b>
5.5.1 Análisis de varianza de los datos del rendimiento de biodiesel	121
5.5.2 Análisis del efecto de los factores sobre el rendimiento de biodiesel	122
5.5.3 Análisis de la composición química del biodiesel de palma africana	124
<b>5.6 Conclusiones</b>	<b>126</b>
<b>5.7 Literatura citada</b>	<b>127</b>
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES</b>	<b>129</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regiones del espectro electromagnético (Pickering, 2007).	24
Figura 2. Tipos de vibraciones moleculares que presenta el espectro infrarrojo (Osborne et al., 1998).	28
Figura 3. Configuración esquemática de un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (Osborne et al., 1998).	31
Figura 4. Filtración digital con la transformación de Fourier (Osborne et al., 1998).	33
Figura 5. Esquema del fundamento de la espectroscopia UV-Visible (Osborne et al., 1998).	37
Figura 6. Centrado por columnas: a) Objetos definidos por dos variables, b) Los mismos objetos centrados, c) Espectros sin pretratamiento de un compuesto x, d) Los mismos espectros de x centrados (Adams, 1995).	45
Figura 7. Esquema del proceso de corrección de la línea base utilizando un modelo explícito lineal (Brereton, 2003).	46
Figura 8. Suavizado de una señal espectroscópica utilizando 21 puntos y un polinomio de tercer grado (Rubinson y Rubinson, 2001).	47
Figura 9. Resolución de bandas solapadas a través de la segunda derivada (Einax, 1997).	48
Figura 10. Distancia Euclídea y de Manhattan para las muestras k y j.	50
Figura 11. Unión de un grupo con una muestra aislada de acuerdo con los métodos: (a) del centroide, (b) de la unión simple (c) y de la unión completa.	52
Figura 12. Dendograma que representa la cercanía entre muestras.	53
Figura 13. Análisis de componentes principales (PCA).	55
Figura 14. Representación de las puntuaciones de dos clases de objetos en los dos primeros componentes principales.	57
Figura 15. Análisis discriminante: (a) Dos clases de objetos definidos por las variables X1 y X2; (b) línea discriminante que separa a las clases de objetos; (c) proyecciones de las muestras en la recta perpendicular a la línea discriminante y cálculos de centroides.	60
Figura 16. Distancia de Mahalanobis que determina la similitud entre dos variables aleatorias multidimensionales.	61
Figura 17. Modelos de dos clases de objetos A y B en el espacio de sus componentes principales, regiones de confianza y predicción de dos muestras.	63

Figura 18. Diagrama de Coomans (Coomans et al., 1979). _____	64
Figura 19. Representación gráfica del modelo PLS1 (Massart et al., 1997). _____	71
Figura 20. Espectros en la región visible de las mezclas petrodiesel-biodiesel empleados en la construcción de los modelos de predicción. _____	93
Figura 21. Gráfica obtenida para el modelo de regresión PLS usando validación cruzada con un dato. _____	94
Figura 22. Gráfica obtenida para el modelo de regresión PLS usando validación cruzada con cinco datos. _____	95
Figura 23. Bandas de absorbancia en el espectro de infrarrojo de: (a) Biodiesel de palma y (b) petrodiesel. _____	106
Figura 24. Intensidad de absorbancia en diferentes bandas del espectro de infrarrojo que reflejan las variaciones de concentración de biodiesel en las mezclas petrodiesel/biodiesel. _____	107
Figura 25. Gráfica de calibración del modelo de regresión PLS construido con validación cruzada usando cinco datos. _____	108
Figura 26. Gráfica de superficie de respuesta del rendimiento de biodiesel en función de la concentración de catalizador y temperatura de reacción. _____	123
Figura 27. Gráfica de superficie de respuesta del rendimiento de biodiesel en función de la concentración de catalizador y temperatura de reacción. _____	124
Figura 28. Caracterización química del biodiesel de palma Africana. _____	126

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Los diez países con mayor producción de biodiesel en 2004-2005. _____	6
Cuadro 2. Comparativo de la producción total de biodiesel en el mundo en 2010 (toneladas). ____	7
Cuadro 3. Países con mayor potencial para la producción de biodiesel _____	8
Cuadro 4. Composición de ácidos grasos del aceite de palma, oleína y estearina. _____	10
Cuadro 5. Norma Americana ASTM D 6751 para el control de calidad de biodiesel. _____	11
Cuadro 6. Norma Internacional Europea (EN 14214) especificaciones de control de calidad para biodiesel (B100). _____	14
Cuadro 7. Diseño central compuesto rotatable ortogonal y de precisión uniforme. _____	22
Cuadro 8. Términos y símbolos importantes que se utilizan en las mediciones de absorción ____	25
Cuadro 9. Regiones en las que se clasifica el espectro infrarrojo _____	29
Cuadro 10. Resumen de las longitudes de onda para grupos orgánicos funcionales. _____	30
Cuadro 11. Características de absorción de algunos cromóforos comunes. _____	41
Cuadro 12. Absorción por parte de compuestos orgánicos que contienen heteroátomos con electrones no enlazantes. _____	42
Cuadro 13. Comparación de los valores de los parámetros estadísticos empleados para evaluar la capacidad predictiva de los modelos. _____	94
Cuadro 14. Parámetros estadísticos usados para evaluar la capacidad de predicción del modelo PLS. _____	108
Cuadro 15. Estos son los tratamientos generados para el diseño central rotatorio compuesto de segundo orden. _____	118
Cuadro 16. Análisis de varianza para la superficie de respuesta del modelo de segundo orden	121

## RESUMEN

El aceite de palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq) representa una opción atractiva para emplearse como materia prima en la fabricación de biodiesel. El Objetivo de este trabajo fue maximizar el rendimiento de biodiesel sintetizado a partir de oleína cruda de palma africana en el laboratorio. La síntesis de biodiesel se realizó en dos etapas: a) una esterificación ácida realizada con ácido sulfúrico y b) una transesterificación alcalina empleando hidróxido de sodio. Para hallar las condiciones óptimas en la tapa de transesterificación, se empleó un diseño central rotatorio compuesto. Se establecieron como factores de estudio la temperatura de reacción, la concentración de catalizador y el tiempo de reacción; el rendimiento de biodiesel fue la variable de respuesta. El análisis de varianza mostró que la temperatura y tiempo de reacción, la concentración de catalizador, y las interacciones concentración de catalizador\*temperatura de reacción y concentración de catalizador\*tiempo de reacción fueron los factores que tuvieron efecto significativo en el rendimiento de biodiesel. Las condiciones óptimas para la etapa de esterificación se establecieron en 2.5 % peso de ácido sulfúrico, 150 min de reacción y 64.5 °C. Para la etapa de transesterificación las condiciones óptimas fueron: 0.65 % peso para la concentración de catalizador, 56 °C para la temperatura de reacción y 110 min de tiempo de reacción. Bajo estas condiciones de reacción se tuvieron rendimientos de 90 % peso con un tiempo global de 260 min. El control de calidad de biodiesel y de mezclas diesel/biodiesel es de suma importancia, por lo que es necesario contar con técnicas eficientes, rápidas y económicas. En este trabajo se construyeron modelos de calibración basados en la tecnología UV-visible y FTIR para determinar la concentración de biodiesel en mezclas con petrodiesel. Para determinar la robustez de los modelos se realizó una validación interna y una validación externa. Con seis PCs, el modelo de calibración PLS-UV-visible presentó un error estándar de calibración (SEC)=1.41 y un error estándar de validación (SEV)=1.84; los valores del coeficiente de correlación de calibración fue (r Cal)=0.998 y del coeficiente de correlación de validación (r Val)=0.999. Para el modelo de calibración PLS-FTIR los valores fueron (SEC)=1.81, (SEV)= 1.94, (r Cal)= 0.998 y (r Val)=0.998. Los resultados muestran que ambos modelos de calibración, son métodos analíticos que se pueden usar para predecir la concentración de biodiesel de palma en mezclas con petrodiesel en un rango de concentraciones de 0-100 % peso.

**Palabras claves:** Mezclas diesel/biodiesel, Palma africana, Quimiometría FTIR UV-visible.

## ABSTRACT

The African crude palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq) represents a viable option for use as a raw material in the manufacture of biodiesel. The objective of this study was to maximize the yield of synthesized biodiesel from African crude palm oil in the laboratory. The synthesis of biodiesel was realized in two stages: a) an esterification performed with sulfuric acid, and b) an alkaline transesterification using sodium hydroxide. A central composite rotatable design was used to find the optimum conditions in the transesterification stage. Reaction temperature, catalyst concentration and the reaction time were established as study factors, whereas the yield of biodiesel was the response variable. The analysis of variance showed that the reaction temperature, catalyst concentration, reaction time, as well as the catalyst concentration\*reaction temperature and the catalyst concentration\*reaction time interactions were the factors having significant effect on the yield of biodiesel. The optimum conditions for the esterification stage were set at 2.5 wt % of sulfuric acid, a 150 min reaction time and 64.5 °C to the reaction temperature. For the transesterification stage, the optimum conditions were: 0.63 wt% for the catalyst concentration, 56 °C for the reaction temperature and 110 min reaction time. A 90 wt % yield was obtained under these reaction conditions in a total time of 260 min. The quality control of biodiesel and the blends diesel/biodiesel is extremely important; hence, it is necessary to have efficient, fast and economical techniques. In this work were built models calibration based on UV-visible and FTIR spectroscopy, to determine the concentration of palm biodiesel in blends with petrodiesel. To determine the robustness of the prediction models were realize an internal and external validation. The calibration model PLS-UV-visible with six PCs have a standard error of calibration (SEC)=1.41, and the standard error of validation (SEV)=1.84; the value of the correlation coefficient of calibration was (r Cal)=0.998 and the correlation coefficient of validation (r Val)=0.999. The calibration model PLS-FTIR was (SEC)=1.81, (SEV)=1.94, (r Cal)=0.998 and (r Val)=0.998. The results showed that both calibration models are practical analytical methods that can be used to predict the concentration of palm biodiesel in blends with petrodiesel in a concentration range from 0 to 100 % weight.

**Key words:** African palm, Blends diesel/biodiesel, Chemometrics FTIR UV-visible.

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El crecimiento de la población mundial demanda más servicios y bienes para satisfacer sus necesidades básicas; lo que incrementa el consumo de energía. La energía usada en el mundo se obtiene principalmente de recursos fósiles como el petróleo, gas natural y carbón (Abdullah *et al.*, 2009). La creciente demanda de energía está ocasionando la sobreexplotación de yacimientos de petróleo y un rápido agotamiento de las reservas existentes; lo que también ha ocasionado aumentos en el costo de los combustibles (Demain, 2009). Se estima que para el año 2025 la demanda global de petróleo se incrementará en 40 %, por lo que las reservas probadas cubrirían esta demanda por 40 años; y las reservas de gas se estiman suficientes para 60 años (Palligarnai *et al.*, 2010). La futura crisis energética está haciendo que muchos países del mundo empiecen a diversificar su matriz energética, incorporando la producción de energías renovables, con la finalidad de disminuir la dependencia de los combustibles fósiles (Johnston y Holloway, 2007). Otra problemática vinculada a la combustión de combustibles fósiles es el calentamiento global del planeta; lo que causa cambios climáticos que pueden ocasionar problemas sociales severos (Ryan *et al.*, 2006).

El creciente aumento en la fabricación de unidades automotrices incrementa la demanda de gasolina y diesel alrededor del mundo (Quanlu y Huo, 2009). Para satisfacer dicha demanda y para disminuir la emisión de contaminantes al medio ambiente, es necesario desarrollar investigación y tecnologías capaces de producir combustibles renovables y amigables con el medio ambiente (Ramadhas *et al.*, 2004).

Una de estas opciones la representa el biodiesel, el que se obtiene por la transesterificación de aceites vegetales o grasas animales con un alcohol de bajo peso molecular en presencia de un catalizador. Entre los aceites de bajo costo y gran volumen de producción alrededor del mundo, se encuentra el aceite de palma africana. El cual representa una opción viable para emplearse como materia prima para la fabricación de biodiesel (Johnston y Holloway, 2007).

Durante la reacción de transesterificación para la producción de biodiesel tienen lugar un conjunto de cuatro reacciones químicas reversibles; por lo que es de importancia determinar las condiciones óptimas de reacción para la síntesis de biodiesel para maximizar el rendimiento de metil-ésteres. La metodología de superficie de respuesta y el diseño de experimentos son

herramientas matemáticas útiles que permiten evaluar el efecto de variables termodinámicas sobre el rendimiento de biodiesel; por lo que pueden emplearse para hallar las condiciones óptimas de la reacción de transesterificación (Vicente *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2008; Goswami *et al.*, 2009; Umer *et al.*, 2008; Gwi *et al.*, 2009; Chakraborty y Barnejee, 2010; Kapilan *et al.*, 2010).

El control de calidad de biodiesel o mezclas de petrodiesel-biodiesel es de importancia para el buen funcionamiento de los motores Diesel y para minimizar la emisión de contaminantes al medio ambiente. Aunque se han establecido normas para el control de calidad de biodiesel como las Americana ASTM D 6751 y la Europea EU 14214; no existen normas y de análisis específicas para el control de calidad de mezclas petrodiesel-biodiesel o bien para determinar la adulteración de combustibles. Entre las técnicas empleadas para analizar este tipo de compuestos se hallan la Venturi-sonic-spray ionization mass spectrometry (V-EASI-MS); la Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR-MS); o la cromatografía de gases-masas (Tyagi *et al.*, 2010). Estas técnicas tienen las desventajas: de costo del equipo y mantenimiento elevado; los reactivos empleados en los análisis son caros; se requiere de personal especializado para el manejo del equipo e interpretación de los resultados; algunas veces podrían requerirse el uso de estándares; es necesario manipular la muestra lo que podría ocasionar contaminación y aumenta la probabilidad del error; son técnicas destructivas por lo que durante el proceso de análisis emiten contaminantes; y requieren largos tiempos de análisis. Por lo que existe la necesidad de desarrollar técnicas eficientes, baratas y rápidas para el control de calidad de mezclas petrodiesel-biodiesel, y para determinar la adulteración de combustibles (Balabin y Smirnov, 2011). Las técnicas instrumentales como la espectroscopia de infrarrojo (FTIR y NIRS), la resonancia magnética nuclear, la espectroscopia de fluorescencia, espectroscopia Raman y la espectroscopia UV-Visible en conjunto con la quimiometría permiten desarrollar modelos de predicción capaces de determinar propiedades físicas y químicas de mezclas petrodiesel-biodiesel; mientras que con técnicas quimiométricas (*screening*) como el análisis de componentes principales (PCA) y SIMCA, es posible discriminar mezclas adulteradas (Meira *et al.*, 2001; Coelho *et al.*, 2011).

Por lo anterior, para contribuir a solucionar la problemática planteada, en este trabajo se desarrollaron métodos analíticos basados en la espectroscopia FTIR, UV-visible y Quimiometría para generar modelos de estimación capaces de determinar la concentración de



biodiesel en mezclas petrodiesel-biodiesel; y para determinar la adulteración de petrodiesel o de mezclas petrodiesel-biodiesel. Estas técnicas tienen las ventajas de ser eficientes, rápidas, económicas y amigables con el medio ambiente, comparadas con las técnicas convencionales.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo general**

Determinar las condiciones óptimas de reacción para la síntesis de biodiesel a partir de aceite crudo de palma africana (*Eleais guineensis* Jacq).

### **1.1.2 Objetivos específicos**

1.1.2.1 Generar un modelo matemático en función de los factores estudiados: temperatura de reacción, concentración de catalizador y tiempo de reacción para predecir el rendimiento de biodiesel.

1.1.2.2 Construir un modelo de predicción mediante la tecnología FTIR y UV-visible, y técnicas quimiométricas para determinar la concentración de biodiesel en mezclas petrodiesel-biodiesel.

## **1.2 HIPÓTESIS**

### **1.2.1 Hipótesis general**

La cinética química de transesterificación es modelada a través de ecuaciones químicas de segundo orden; por lo que un modelo cuadrático de superficie de respuesta puede emplearse para determinar las condiciones óptimas de reacción de la síntesis de biodiesel de palma africana (*Eleais guineensis* Jacq).

## **1.2.2 Hipótesis específicas**

1.2.2.1 Los niveles de los factores en estudio permiten optimizar el proceso de obtención de biodiesel.

1.2.2.2 El análisis por espectroscopia de infrarrojo y UV-visible generan información suficiente y confiable para generar modelos de predicción mediante técnicas quimiométricas y pueden ser usados en el control de calidad de mezclas comerciales de biodiesel.

## CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biodiesel

El biodiesel se obtiene por la transesterificación de aceites de origen vegetal o grasa animal que reaccionan con un alcohol de bajo peso molecular como el metanol, etanol ó isopropanol en presencia de un catalizador; por su bajo costo y alta eficiencia los catalizadores básicos son los más empleados a escala industrial (Haas *et al.*, 2006).

El biodiesel puede sustituir al petrodiesel debido a que presenta varias ventajas entre las que podemos citar: es renovable, es biodegradable lo que lo hace amigable con el medio ambiente, sus propiedades físicas y químicas son similares a las del petrodiesel por lo que se puede usar en automotores Diesel sin realizar cambios importantes en el motor. La combustión del biodiesel es más limpia que el petrodiesel por lo que emite menos contaminantes al medio ambiente, la comercialización de biodiesel puede generar trabajo y riqueza en su cadena productiva (Meher *et al.*, 2006).

Entre los principales aceites empleados alrededor del mundo para la producción de biodiesel podemos citar: aceite de soya, aceite de canola, girasol, palma africana y aceite de coco; otras especies con potencial son: *Jatropha curcas* (Park *et al.*, 2008), *Tung* (Kapilan *et al.*, 2010) y *Brassica carinata* (Vicente *et al.*, 2005).

#### 2.1.1 Producción mundial de biodiesel

La industria de biodiesel está creciendo rápidamente, la capacidad mundial de producción y de consumo creció alrededor de 32 % en el periodo 2000-2005; posteriormente se observó un rápido crecimiento a una tasa de 115% por año en la capacidad de producción y 101 % por año en la demanda de biodiesel hasta el 2008 (Gubler, 2006).

La producción mundial de biodiesel alcanzó 1.9 millones de toneladas en 2004; la Unión Europea (UE) registró mayor crecimiento en cuanto a producción y consumo de biodiesel; de los países que conforman la UE, Alemania tuvo una producción estimada de 1, 600,000 toneladas en 2005; Francia produjo 492,000 toneladas e Italia con 396,000 toneladas. La producción de biodiesel en la EU registró un incremento de 75 %, favorecido por la demanda

de biodiesel en Alemania, Francia, Italia y Polonia; el volumen de biodiesel producidos fue el triple con respecto a la producción de los Estados Unidos. En el Cuadro 1 se muestran los principales productores de biodiesel en el mundo entre 2004-2005, (Balat, 2011).

Cuadro 1. Los diez países con mayor producción de biodiesel en 2004-2005.

País	2004	2005
Alemania	1,035,000	1,669,000
Francia	348,000	492,000
Italia	320,000	396,000
Estados Unidos	125,000	250,000
República Checa	60,000	133,000
China	50,000	120,000
Polonia	0	100,000
Austria	57,000	85,000
Eslovaquia	15,000	78,000
España	13,000	73,000
Total	2,023,000	3,396,000

(Balat, 2011)

Se estima que la UE continuará siendo el principal mercado consumidor y productor de biodiesel, seguida por Estados Unidos y Brasil. En el Cuadro 2 se presenta un estudio comparativo del crecimiento de la producción de biodiesel en 2010 (Balat, 2011) para la UE, Estados Unidos y Brasil; ya que fueron los países que mostraron un crecimiento importante en la fabricación de biodiesel.

Cuadro 2. Comparativo de la producción total de biodiesel en el mundo en 2010 (toneladas).

País	producción	porcentaje producción
EU	6,000,000	77
Estados Unidos	750,000	10
Brasil	750,000	10
Otros	250,000	3
Total	7,750,000	100

(Balat, 2011)

En el Cuadro 3 se presentan datos de los principales países del mundo que tienen mayor potencial para la fabricación de biodiesel en función de costos y volumen de producción de aceite (Johnston y Holloway, 2007).

## 2.2 La palma africana

La palma aceitera o palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq) es una especie oriunda de Guinea que tiene un ciclo de producción comercial aproximadamente de 25 años; las plantaciones producen unas 44 toneladas de materia seca/ha/año, significativamente mayor que las 25.7 toneladas de materia seca/ha/año producidas por bosques. La longevidad de la palma africana es capaz de sustentar ecosistemas donde se desarrollan y viven una biodiversidad de flora y fauna que no pueden desarrollarse en cultivos anuales o perennes de poca producción (Gee, 2007).

Cuadro 3. Países con mayor potencial para la producción de biodiesel

Rango	País	Volumen potencial (L)	Origen	Costo de producción (USD \$/L)
1	Malasia	14,540,000,000	Palma africana	\$0.53
2	Indonesia	7,595,000,000	Palma africana	\$0.49
3	Argentina	5,255,000,000	Soya, girasol, nabo	\$0.62
4	Estados Unidos	3,212,000,000	Soya, maíz	\$0.70
5	Brasil	2,567,000,000	Palma, soya	\$0.62
6	Holanda	2,496,000,000	Canola, girasol	\$0.75
7	Alemania	2,024,000,000	Canola	\$0.79
8	Filipinas	1,234,000,000	Palma	\$0.53
9	Bélgica	1,213,000,000	Canola, girasol	\$0.78
10	España	1,073,000,000	Canola	\$1.71

(Johnston y Holloway, 2007)

### 2.2.1 Producción mundial de aceite de palma africana

El cultivo de palma africana se ha expandido en el sureste asiático y en la franja ecuatorial africana y sudamericana, es la planta que más aceite produce en el mundo (Poku, 2002). La palma africana proporciona alto rendimiento de aceite, en promedio 3.8-5 toneladas de aceite/ha/año (Abdullah *et al.*, 2009; Matassoli *et al.*, 2009), que es alto comparado con las 0.56 y 0.35 toneladas/ha/año de la canola y soya. Entre los mayores productores de aceite de palma en el mundo se encuentra Malasia con una superficie plantada de 4,049,201 ha, que producen 74,280,593 toneladas de fruta fresca y 14,961,658 toneladas de aceite crudo; la industria malaya cuenta con 65 refinerías y 395 centros de distribución de aceite (Gee y Goh, 2001). Otros países que son importantes en la producción de aceite de palma son: Indonesia, Filipinas, Tailandia, Nepal, Papúa Nueva Guinea, Ghana, Colombia y Brasil. La producción mundial de aceite de palma fue de 17.7 millones de toneladas en 2007 (Johnston y Holloway, 2007). Al comparar el rendimiento de varias especies oleaginosas y costos de producción para la fabricación de

biodiesel; el aceite de palma africana debido a su bajo costo representa una opción viable para la fabricación de biodiesel a escala industrial; ya que el costo del Biodiesel depende principalmente del costo de la materia prima (Darnokoy Cheryan, 2000; Matassoli *et al.*, 2009).

### **2.2.2 Producción de palma africana en México**

El cultivo de palma africana y su industrialización representa una gran oportunidad para desarrollar el mercado mexicano de aceite de palma. En México, el potencial de dicho cultivo es grande, y con ello, la oportunidad de sustituir importaciones a mediano plazo con miras a alcanzar la autosuficiencia (Velázquez y Gómez, 2010). En el año 2003 se estimó que existían 40,000 ha plantadas de palma de aceite en el Sureste de México, y que existe un potencial para plantar 2, 000,000 hectáreas; de las cuales 400,000 en el estado de Tabasco (Santacruz *et al.*, 2012).

El cultivo de palma africana y producción de aceite en México están liderados por el Estado de Chiapas; otros estados importantes en la producción de aceite de palma son Tabasco, Veracruz y Campeche. En Tabasco, la mayor superficie plantada se encuentra en la zona Centro Sierra, integrada por los municipios de Centro, Jalapa, Macuspana, Tacotalpa y Teapa; este módulo tiene las mejores condiciones agro-climáticas (Velázquez y Gómez, 2010).

### **2.2.3 Composición química del aceite de palma africana**

El aceite crudo de palma africana (ACP), tiene altas concentraciones de ácidos libres y bajas concentraciones de fosfolípidos comparado con otras oleaginosas. El bajo contenido de ácidos poli-insaturados y altos niveles de anti-oxidantes provee alta estabilidad a la oxidación. Otros componentes en menor concentración presentes en el ACP son los carotinoides y tocotrienoles que son potentes anti-oxidantes son solubles en las grasas. Los carotinoides presentan concentraciones entre 500-700 ppm y son responsables del color rojo característico del aceite. Entre los principales carotenos en el ACP se encuentra el  $\beta$ -caroteno (56%) y  $\alpha$ -caroteno (35%) ambos constituyentes de la vitamina A. Sin embargo, todos los carotinoides se destruyen

durante el proceso de refinado. En el Cuadro 4, se presenta la composición de ácidos grasos del aceite de palma africana obtenido en Malasia (Gee, 2007).

Cuadro 4. Composición de ácidos grasos del aceite de palma, oleína y estearina.

Ácido graso	% en el Aceite de palma	% en la Oleína de Palma	% en la estearina de palma
Laúrico, 12:0	0.10-0.40	0.20-0.40	0.10-0.30
Mirístico, 14:0	1.00-1.40	0.90-1.20	1.10-1.70
Palmítico, 16:0	40.90-47.50	36.80-43.20	49.80-68.10
Esteárico, 18:0	3.80-4.80	3.70-4.80	3.90-5.60
Oleico, 18:1	36.40-41.20	39.80-44.60	20.40-34.40
Linoleico, 18:2	9.20-11.60	10.40-12.90	5.00-8.90
Linolénico, 18:3	0.05-0.6	0.10-0.60	0.00-0.50
Araquidoico, 20:0	0.20-0.70	0.30-0.50	0.00-0.50

(Gee, 2007)

### 2.3 Normas de calidad de biodiesel

Los estándares de calidad para el biodiesel han sido establecidos en la norma ASTM-D-6751 Cuadro 5 empleada en Estados Unidos y la Norma EN14214 usada en la Unión Europea Cuadro 6. Los estándares de calidad para el biodiesel incluyen propiedades típicas del diesel y otras específicas para el nuevo combustible, definiendo valores máximos ó mínimos en el rango permitido para cada característica (Knothe, 2006; Demirbas, 2009).



Cuadro 5. Norma Americana ASTM D 6751 para el control de calidad de biodiesel.

Propiedad	Método	Límites	Unidad
Punto de vaporización de ignición.	D 93	130.0 min	°C
Agua y sedimento	D 2709	0.050 max	% volumen
Viscosidad cinemática, 40°C	D 445	1.9-6.0	mm <sup>2</sup> /s
Cenizas sulfatadas	D 874	0.020 max	% masa
Sulfuro	D 5453	0.0015 max	% masa
Cobre corrosión	D 130	No. 3 max	
Número de cetano	D 613	47 min	
Punto de fluidez	D 2500	Report	°C
Carbón residual	D 4530	0.050 max	% masa
Número de acidez	D 664	0.50 max	Mg KOH/g
Glicerina libre	D 6584	0.020	% masa
Glicerina total	D 6584	0.240	% masa
Contenido de fósforo	D 4951	0.001 max	% masa
Sodio/potasio	UOP 391	5 max combinado	ppm
Temperatura de destilación, equivalente a la temperatura del 90 % de destilado	D 1160	360 max	°C

(Knothe, 2006)

### 2.3.1 Algunas propiedades importantes del biodiesel

La viscosidad es una de las propiedades más importantes del biodiesel. Para medir la viscosidad existen diferentes unidades, entre las más usadas están los grados Redwood, los grados Engles y uno de las más empleadas en la industria petrolera son los grados Saybold, cuya magnitud se expresa en segundos. Cuando la temperatura baja, la viscosidad se incrementa y afecta la fluidez del combustible y afectará el flujo del biodiesel en las tuberías y en los orificios de los inyectores, lo que afectará la eficiencia de la atomización, provocando deficiencia en la

combustión y en la eficiencia del motor. Otras variables que pueden afectar la viscosidad es el contenido de metil-ésteres, la concentración de monodiglicéridos, diglicéridos, triglicéridos y glicerol (Tyagi *et al.*, 2010).

Los métodos analíticos convencionales establecidos en estas normas para determinar las propiedades químicas del biodiesel están basados en la cromatografía de gases y la cromatografía líquida. Estos métodos presentan ciertas desventajas, entre las que podemos citar: requieren equipos caros, los reactivos analíticos empleados en los análisis son costosos, el tiempo de análisis es de horas, el costo de mantenimiento de los equipos es elevado, al ser técnicas destructivas contaminan el medio ambiente y requieren de personal calificado.

La densidad es otra variable importante en el buen funcionamiento del motor, ya que determina el volumen de combustible que se inyecta al motor; y porque se requiere en la estimación del índice de cetano (Srivastava y Prasad, 2000). Otra variable que depende de la densidad es el punto de vaporización de ignición.

El número de cetano (CN) es una medida de la calidad de ignición, y está relacionado con el tiempo requerido para que el combustible (líquido) se queme después de la inyección dentro de la cámara de combustión (cilindro). El CN se basa en las propiedades de dos compuestos: el hexadecano con un cetano de 100 y el heptametilnonano con un cetano de 15. El número de cetano también depende de las propiedades de la estructura molecular del combustible; hidrocarburos de cadena lineal y saturado presentan alto número de cetano; comparado con hidrocarburos de número de carbono y peso molecular similares, pero con ramificaciones o compuestos aromáticos donde el CN es menor. Las moléculas de ácidos grasos con cadena de átomos de carbonos lineales saturados tiene mayor CN. El número de cetano en el biodiesel depende de la composición de los ácidos grasos presentes en el aceite o grasa del que fue fabricado. El CN de biodiesel sintetizado a partir de grasa animal tiene mayor número de cetano que el fabricado a partir de aceites vegetales. El CN se mide para determinar la eficiencia del motor. Mientras que, el índice de cetano (CI) se calcula a partir de la densidad y de la volatilidad que presenta el combustible en el punto de ebullición. Generalmente el CI tiene valores muy próximos al número de cetano ((Tyagi *et al.*, 2010).

Dos propiedades de un combustible que se presentan a baja temperatura y que son importantes para su uso son: el punto fluidez (CP) y el punto de precipitación (PP). El CP es la temperatura a la cual un líquido comienza a cristalizarse cuando se enfría, esta propiedad se describe en la norma ASTM-D-6751. El PP es la temperatura a la cual se presenta la precipitación de ceras en la solución, que a cierta concentración tiene la capacidad de provocar que el combustible se gelatinice; esto sucede a muy bajas temperaturas, y es cuando el combustible pierde la capacidad de fluir. El PP se determina de acuerdo a la norma ASTM-D-6751. Estas dos propiedades especifican a la temperatura más baja en la que se puede usar un combustible (Knothe, 2006).

El rango de temperatura de destilación que presenta un combustible está en función de la temperatura de ebullición de los constituyentes presentes en la mezcla; esta es una variable importante que determina la eficiencia del funcionamiento del motor; y que está relacionada con el índice de cetano. Para determinar el rango de destilación del combustible se deberá aplicar la norma ASTM-D-6751 (Knothe, 2006).

El calor de combustión mide la cantidad de energía contenida en un combustible. Esta propiedad también se refiere como valor calorífico. Como criterio termodinámico permite determinar la salida de potencia en el motor. Los valores de calor de combustión del biodiesel (39-41 MJ/kg) son menores que el de la gasolina (46 MJ/kg), petrodiesel (43 MJ/kg), pero mayor que el del carbón (32-37 MJ/kg). Desde punto de vista práctico el biodiesel va a contener cerca del 90 % de contenido energético del diesel de petróleo, medido en base volumétrica. Por otra parte, el biodiesel contiene oxígeno en su molécula lo que hace que el proceso de combustión sea más eficiente, y reduce la emisión contaminantes al medio ambiente; también provee mayor lubricidad que el petrodiesel, estas bondades compensan el déficit energético con respecto al petrodiesel (Demirbas, 2009).

Cuadro 6. Norma Internacional Europea (EN 14214) especificaciones de control de calidad para biodiesel (B100).

Propiedad	Unidad	Límite inferior	Límite superior	Método de análisis
Contenido de éster	% (m/m)	96.5	----	Pr EN 14103d
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 vaporización de ignición	°C	>101	-----	ISO CD 3679e
Contenido de azufre	mg/kg	-----	10	-----
Destilado	% (m/m)	-----	0.3	EN ISO 10370
Número de cetano	-----	51.0	-----	EN ISO 5165
Contenido de cenizas sulfatadas	% (m/m)	-----	0.02	ISO 3987
Contenido de agua	mg/kg	-----	500	EN ISO 12937
Contaminación total	mg/kg	-----	24	EN 12662
Corrosión en tiras de cobre (3 h a 50 °C)	Rating	Clase 1	Clase 1	EN ISO 2160
Estabilidad oxidativa, 110 °C	Horas	6	-----	EN 14112k
Valor ácido	mg KOH/g	-----	0.5	EN 14104
Índice de yodo	-----	-----	120	EN 14111
Ácido Linolénico metil éster	% (m/m)	-----	12	EN 14103d
Poli-insaturados (>= 4 dobles enlaces) metil éster	% (m/m)	-----	1	-----
Contenido de metanol	% (m/m)	-----	0.2	EN 141101
Contenido de monoglicérido	% (m/m)	-----	0.8	EN 14105m
Contenido de diglicérido	% (m/m)	-----	0.2	EN 14105m
Contenido de triglicérido	% (m/m)	-----	0.2	EN 14105m
Glicerina libre	% (m/m)	-----	0.02	EN 14105m/ pr EN 14106
Glicerina total	% (m/m)	-----	0.25	EN 14105m
Metales alcalinos (Na+K)	mg/kg	-----	5	EN 14108/ pr EN 14109
Contenido de fósforo	mg/kg	-----	10	EN 14107p

(Knothe, 2006)

### **2.3.2 Mezclas petrodiesel biodiesel**

La fabricación y consumo de biodiesel se está incrementando en el mundo; esto se puede atribuir al aumento del consumo de mezclas petrodiesel-biodiesel. Estas mezclas se pueden preparar en diferentes proporciones con el diesel de petróleo y usar en motores de combustión Diesel; solamente se requieren pequeñas modificaciones al motor (Kim *et al.*, 2004). Se ha demostrado que el uso de este tipo de mezclas ayuda a disminuir la emisión de contaminantes, principalmente el dióxido de carbono, gas responsable del calentamiento global. Las mezclas más empleadas son B2; B5; B10, B15 y B20, donde el numeral indica el porcentaje de biodiesel usado en la mezclas, el resto corresponde al petrodiesel. Por ejemplo, cuando se emplea biodiesel puro la emisión de contaminantes se disminuye en 90 %; y entre 20-40 % cuando se usa la mezcla B20 (Balat, 2007).

### **2.3.3 Técnicas alternativas para el análisis químico de mezclas de petrodiesel-biodiesel**

Las técnicas instrumentales y la quimiometría se emplean para construir modelos de calibración capaces de predecir propiedades físicas y químicas de combustibles o mezclas de combustibles. La espectroscopia visible e infrarrojo cercano fueron empleadas por Sousa *et al.*, (2011) para construir modelos de calibración capaces de predecir con buena precisión la concentración de biodiesel de soya en mezclas petrodiesel-biodiesel. Mientras que, la espectroscopia de infrarrojo cercana (NIRS) fue usada por Mirghani *et al.*, (2011) para determinar la concentración de biodiesel de soya en mezclas con petrodiesel. La espectroscopia de fluorescencia fue empleada para construir modelos de predicción para determinar la concentración de biodiesel de soya Scherer *et al.*, (2011); y para cuantificar la concentración de biodiesel de canola, biodiesel de girasol, biodiesel de maíz y biodiesel de soya, en mezclas con petrodiesel por Caires *et al.*, (2012). Mientras que para la misma finalidad la resonancia magnética nuclear fue empleada por varios autores (Monteiro *et al.*, 2009a; Monteiro *et al.*, 2009b; Xiao *et al.*, 2011).

El uso de la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) y cercano (NIRS); y el uso de herramientas quimiométricas fueron empleadas por autores previos para determinar la adulteración de mezclas petrodiesel-biodiesel con distintos adulterantes (Oliveira *et al.*, 2007;

Flores *et al.*, 2011; Soares *et al.*, 2011; Gaydou *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2012). Mientras que la espectrofluorimetría y el análisis de componentes principales (PCA) fueron empleadas para determinar la adulteración de combustibles con aceite vegetal usado (Corgozinho *et al.*, 2008; Meira *et al.*, 2011). La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier y la quimiometría también se han usado para estudiar la conversión en tiempo real (*on-line*) de ésteres a biodiesel; y para determinar la vida útil de biocombustibles (Chuck *et al.*, 2010).

## **2.4 Catalizadores**

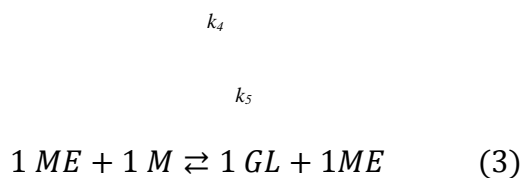
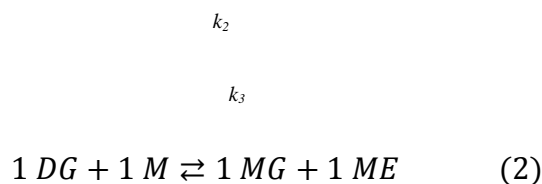
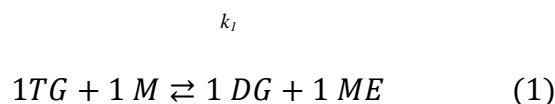
Los catalizadores homogéneos básicos, hidróxido de sodio y potasio, y metóxido de sodio y potasio son los más empleados para sintetizar biodiesel a escala industrial debido a su bajo costo y porque permiten alcanzar rendimientos del 100 % de biodiesel a temperaturas de reacción relativamente bajas (50-60 °C) y tiempos cortos de reacción (80-120 min), lo que economiza el proceso (Qian *et al.*, 2008). Los catalizadores ácidos homogéneos permiten alcanzar rendimientos del 100 % pero se requieren tiempos de reacción de 48 h, y debido a su alta capacidad corrosiva no suelen emplearse para la fabricación de biodiesel; generalmente se usan para la esterificación de ácidos grasos libres (Freedman *et al.*, 1986; Lotero *et al.*, 2005). Los ácidos sulfúrico, fosfórico y clorhídrico, son ejemplos de estos catalizadores (Leung *et al.*, 2010).

Una desventaja de los catalizadores básicos es que durante la síntesis de biodiesel a partir de aceites con altos contenidos de ácidos libres; la base reacciona para formar jabones, lo que disminuye el rendimiento de biodiesel y dificulta su purificación, lo cual aumenta los costos de producción (Vicente *et al.*, 2005). Una solución a este problema es el empleo de catalizadores heterogéneos; ya que tienen la ventaja que no reaccionan con los ácidos grasos libres para formar jabón, lo que favorece el incremento del rendimiento de biodiesel y facilita su purificación (Heet *et al.*, 2007; Albuquerque *et al.*, 2008). Además que pueden reactivarse para usarse nuevamente y permiten la fabricación de biodiesel en procesos continuos (Kiss *et al.*, 2006). Entre las desventajas que pueden presentar los catalizadores heterogéneos podemos citar: requieren altas temperaturas de reacción y tiempo relativamente largos de reacción, pueden desactivarse por la presencia de agua. Muchos trabajos de investigación se han publicado sobre la fabricación y aplicación de catalizadores heterogéneos para la síntesis de biodiesel (Sharma *et al.*, 2011).

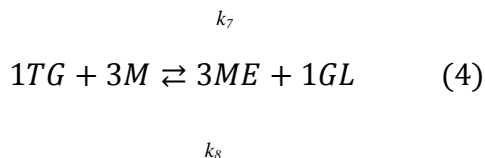
### 2.4.1 Cinética química de la reacción de transesterificación

La reacción de transesterificación se lleva a cabo en varias etapas donde tienen lugar cuatro reacciones químicas reversibles, Ecuaciones 1-4 (Ávila *et al.*, 2008). Debido a la naturaleza de estas reacciones es de suma importancia determinar el efecto de variables de proceso como: la temperatura de reacción, concentración de catalizador, relación aceite:metanol, tiempo de reacción, presión, entre otros factores (Darnoko y Cheryan, 2000; Narvaez *et al.*, 2009); sobre el equilibrio químico, ya que la reversibilidad de las reacciones puede tener efecto negativo sobre el rendimiento de biodiesel.

La transesterificación está representada por las siguientes ecuaciones químicas.



La reacción global queda definida por



Donde *TG*, *DG*, *MG* corresponden a un mol de triglicérido, diglicérido y monoglicérido, respectivamente. *GL* representa a un mol de glicerol; las constantes cinéticas de reacción están

representadas por  $k_i$ . Las ecuaciones cinéticas de estas reacciones químicas podrían emplearse para el diseño preliminar de un reactor para la síntesis de biodiesel.

Sin embargo, los compuestos naturales suelen estar constituidos por mezclas multicomponentes complejas que a veces son difíciles de caracterizar y se requieren de técnicas analíticas especializadas; por ello, la calidad de los aceites empleados en la síntesis de biodiesel es de suma importancia ya que pueden existir compuestos que pueden afectar negativamente el rendimiento de biodiesel; lo más difícil es identificar y cuantificar estos compuestos. Las variables termodinámicas arriba citadas son importantes; sin embargo, por experiencia sabemos que la variable que determina el tipo de proceso a emplear para la fabricación de biodiesel, es la calidad del aceite.

Para determinar las condiciones óptimas que maximizan el rendimiento de biodiesel en trabajos previos, varios autores emplearon el diseño central rotatorio compuesto y la metodología de superficie de respuesta para determinar las condiciones óptimas de la transesterificación de varios aceites. Al respecto, la optimización de la transesterificación del aceite de canola fue estudiado por Goswami *et al.*, (2009); el aceite de *Madhuca indica* por Chakraborty y Barnejee, (2010) y el de *Brassica carinata* por Vicente *et al.*, (2005).

## **2.5 Metodología de Superficie de Respuesta**

La metodología de superficie de respuesta (RSM, *Response Surface Methodology*) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influida por varias variables, esta técnica de optimización basada en planeamientos factoriales que fue introducida por G.E.P. Box en los años cincuenta, y que desde entonces ha sido usada ampliamente empleada para optimizar procesos industriales y en la ciencia.

El objetivo de la RSM consiste en determinar las condiciones óptimas de operación para un sistema, o determinar la región del espacio de los factores en la que satisfacen las condiciones de operación. En la ciencia existen diferentes tipos de problemas donde es útil ajustar una curva de respuesta a los niveles de un factor cuantitativo, a fin de que el experimentador tenga una



ecuación que relaciona la respuesta con el o los factores. Ya que, puede usarse esta ecuación para interpolar o predecir la respuesta en los niveles intermedios a los que se usó originalmente en el experimento (Montgomery, 1991).

### 2.5.1 Polinomios ortogonales

En situaciones en las que los niveles del factor son equidistantes, puede simplificarse mucho el ajuste de modelos polinomiales por el método de mínimos cuadrados. El procedimiento utiliza los coeficientes de los contrastes ortogonales y que consiste en ajustar el modelo Ecuación 5; también en el ajuste de mínimos cuadrados del polinomio se obtiene el efecto lineal, cuadrático, cúbico, y así sucesivamente, así como la suma de cuadrados que pueden ser incorporados en el análisis de varianza. Cada efecto tiene un grado de libertad y puede ser probado comparando su suma de cuadrados con la media de cuadrado del error (Gutiérrez *et al.*, 2010).

$$y_i = \alpha_0 + \alpha_1 P_1(x_i) + \alpha_2 P_2(x_i) + \dots + \alpha_k P_k(x_i) + \varepsilon_i \quad (5)$$

En donde  $P_u(x)$  es un polinomio ortogonal de grado  $u$ . En otras palabras,  $\sum_{i=1}^n P_u(x_i) = 0$ ;  $\sum_{i=1}^n P_u(x_i) P_s(x_i) = 0$  para  $u \neq s$ . Las ecuaciones normales de mínimos cuadrados de este modelo son (Montgomery, 1991).

$$\begin{vmatrix} n & 0 & \dots & \dots & \dots & 0 \\ 0 & \sum_{i=1}^n \{P_1(x_i)\}^2 & & & & 0 \\ 0 & 0 & \dots & \dots & \dots & \sum_{i=1}^n \{P_1(x_1)\}^2 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} \hat{\alpha}_1 \\ \hat{\alpha}_2 \\ \hat{\alpha}_k \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \sum_{i=1}^n y_i \\ \sum_{i=1}^n y_i P_1(x_i) \\ \sum_{i=1}^n y_i P_k(x_i) \end{vmatrix} \quad (6)$$

Los elementos fuera de la diagonal de la matriz  $\mathbf{X}^T \mathbf{X}$  son cero por la propiedad de ortogonalidad de los polinomios  $P_u(x_i)$ . Por tanto, los estimadores de mínimos cuadrados de los parámetros del modelo son:

$$\widehat{\alpha}_0 = \bar{y}$$

$$\widehat{\alpha}_i = \frac{\sum_{j=1}^n y_j P_i(x_j)}{\sum_{j=1}^n \{P_i(x_j)\}^2} \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (7)$$

y la suma de cuadrados de regresión para cualquier parámetro del modelo ajustado por la presencia de los otros parámetros del mismo modelo es.

$$SS_R(\alpha_i) = \widehat{\alpha}_i \sum_{j=1}^n y_j P_i(x_j) = \frac{\{\sum_{j=1}^n y_j P_i(x_j)\}^2}{\sum_{j=1}^n \{P_i(x_j)\}^2} \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (8)$$

$$\text{Con } SS_R(\alpha_0) = (\sum_{j=1}^n y_j)^2 / n$$

### 2.5.2 Análisis de modelos cuadráticos

En la naturaleza existen muchos fenómenos que no pueden ser ajustados a modelos lineales, por lo que es necesario utilizar otros modelos de mayor orden; cuando un fenómeno en estudio los datos obtenidos presentan cierta curvatura de la superficie real, el experimentador requiere de un segundo grado o mayor, para aproximar la respuesta cuando se encuentra cercano al óptimo. En la mayoría de los casos el modelo de segundo orden es el más adecuado y se representa por la Ecuación 9 (Montgomery, 1991).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i>j}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + e \quad (9)$$

Donde  $i < j$  y las literales  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ij}$  representan los coeficientes del modelo y  $e$  representa el error.

### 2.5.2.1 Localización del punto estacionario y caracterización de la superficie de respuesta

La RSM es una técnica secuencial, con frecuencia la estimación inicial de las condiciones de operación para un sistema estará alejado del óptimo real. En tales circunstancias, el objetivo del experimento es moverse rápidamente a la vecindad general del óptimo. Para determinar el punto estacionario se calcula la derivada de la superficie de respuesta con respecto a cada una de las variables codificadas y se resuelve el sistema de ecuaciones (método del gradiente), luego se calculan los valores reales (Mazo *et al.*, 2008). Para determinar si ocurre un máximo o mínimo, esto involucra no solo las primeras derivadas parciales, sino también a la segunda derivada, y se debe emplear la matriz Hessiana (Chapra y Canale, 2006).

$$H = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 f}{\partial x \partial y} \\ \frac{\partial^2 f}{\partial y \partial x} & \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} \end{bmatrix} \quad (10)$$

Se calculan los determinantes de las submatrices, dependiendo del signo obtenido se puede clasificar el punto estacionario así:

- Si  $|H| > 0$  y  $\frac{\partial^2 f}{\partial x^2} > 0$ , entonces  $f(x, y)$  tiene un mínimo local.
- Si  $|H| > 0$  y  $\frac{\partial^2 f}{\partial x^2} < 0$ , entonces  $f(x, y)$  tiene un máximo local.
- Si  $|H| < 0$ , entonces  $f(x, y)$  tiene un punto silla.

## 2.6 Diseño central rotatable

Un diseño experimental para ajustar un modelo de segundo orden debe tener por lo menos tres niveles de cada factor. Existen muchos diseños para ajustar un modelo de segundo orden. Por ejemplo, para un modelo lineal de primer orden, la *ortogonalidad* es la propiedad de diseño óptimo porque minimiza la varianza de los coeficientes de regresión. Además de que resulta ser una propiedad muy conveniente para la varianza de la respuesta predicha  $V(\hat{y})$  (Giovannitti y Myers, 1989).

Para el caso de modelos de segundo orden la rotabilidad es una propiedad muy importante en la elección de un diseño de superficie de respuesta. Se dice que un diseño es rotatorio si la varianza de la respuesta predicha ( $\hat{y}$ ) en algún punto  $x$  es una función solo de la distancia al punto desde el centro de diseño y no es una función de dirección. Además, un diseño de esta propiedad dejará sin cambio la varianza de ( $\hat{y}$ ) cuando el diseño se haga rotar alrededor del centro  $(0, 0, \dots, 0)$ . Un diseño compuesto central se convierte en rotatorio mediante la elección de  $\alpha$ . El valor de  $\alpha$  para lograr la conversión a diseño rotatorio, depende del número de puntos de la porción factorial del diseño. De hecho,  $\alpha=(n_i)^{1/4}$  proporciona un diseño compuesto central rotatorio, donde  $F$  es el número de puntos en la porción factorial del diseño. Otra propiedad útil del diseño central compuesto es que puede crecer a partir de un diseño de primer orden ( $2^k$ ) agregando puntos axiales y algunos puntos centrales (Montgomery, 1991).

Otra propiedad del diseño central es que puede controlarse mediante la elección del número de puntos centrales,  $n_0$ . Con la elección apropiada  $n_0$  el signo del diseño central compuesto puede hacerse *ortogonal* o bien, puede transformarse en uno de *precisión unitaria uniforme*, Cuadro 7. En un diseño de precisión uniforme la varianza de  $\hat{y}$  en el origen es igual a la varianza de  $\hat{y}$  a una distancia unitaria del origen (Myers *et al.*, 1989). Un diseño de precisión uniforme permite mayor protección que un diseño ortogonal contra el sesgo de los coeficientes de regresión producidos por la presencia de términos de tercero y de mayor orden en la superficie real (Montgomery, 1991).

Cuadro 7. Diseño central compuesto rotable ortogonal y de precisión uniforme.

$k$	2	3	4	5	5 ½ rep.	6	6 ½ rep.	7	8 ½ rep.
$n_i$	4	8	16	32	16	64	32	64	128
$n_a$ puntos axiales	4	6	8	10	10	12	12	14	16
$n_c$ (p. u.)	5	6	7	10	6	9	9	14	20
$n_c$ (ort.)	8	9	12	17	10	15	15	22	33
$N$ (p.u.)	13	20	31	52	32	53	53	92	164
$N$ (ort.)	16	23	36	59	36	59	59	100	177
$\alpha$	1.414	1.682	2	2.37	2	2.82	2.37	2.82	3.36

(Mongomery, 1991)

## **2.7 Análisis instrumental**

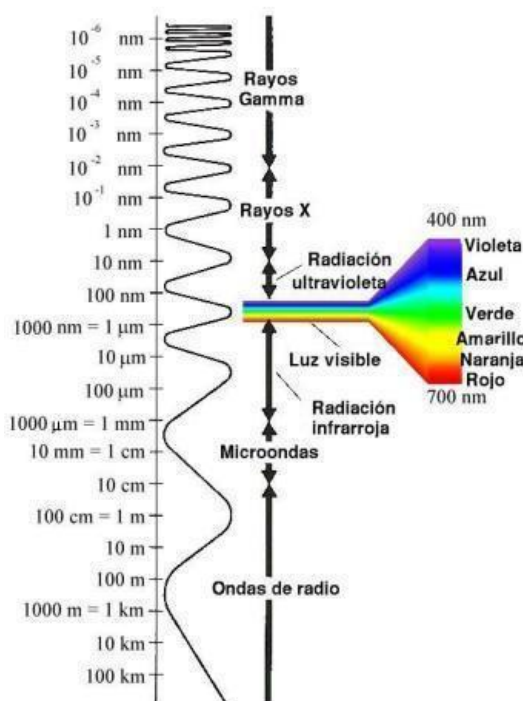
Los métodos analíticos basados en las técnicas instrumentales son una de las alternativas de la Química Analítica para resolver el problema planteado con el menos esfuerzo posible. Además, de tener la característica de ser más rápida, con menor tiempo de análisis, menor consumo de reactivos y con reducción del error analítico al disminuir la manipulación de la muestra problema. A continuación se describen las características de los métodos utilizados en la presente investigación.

### **2.7.1 Propiedades generales de la radiación electromagnética**

Muchas de las propiedades de la radiación electromagnética se describen por medio de un modelo ondulatorio sinusoidal clásico, que incorpora características como longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. En contraste con otros fenómenos ondulatorios, como el sonido, la radiación electromagnética no requiere de un medio de soporte para su transmisión por tanto puede viajar en el vacío. El modelo ondulatorio no toma en cuenta fenómenos relacionados con la absorción o emisión de energía radiante. Para entender éste proceso es necesario recurrir a un modelo de partícula en el cual la radiación electromagnética es vista como una corriente de partículas discretas, de paquetes de onda o de energía llamados *fotones*. La energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación. Estos puntos duales de vistas duales de la radiación como partículas y como ondas no son mutuamente excluyentes sino más bien complementarios. De hecho, se encuentra que la dualidad onda-partícula se aplica al comportamiento de las corrientes de electrones, protones y otras partículas elementales, y es la mecánica cuántica la encargada de darle una explicación racional (Eisberg y Resnick, 1983).

### **2.7.2 El espectro electromagnético**

Espectro electromagnético abarca un intervalo amplio de longitudes de onda y frecuencias, y por lo tanto, de energías (Figura 1). Las divisiones se basan en los métodos usados para generar y detectar las distintas clases de radiación; varios traslapes son evidentes (Pickering, 2007).



**Figura 1. Regiones del espectro electromagnético (Pickering, 2007).**

### 2.7.3 Ley de Lambert-Beer

La espectroscopia por absorción molecular se basa en la medición de la absorbancia  $A$  o transmitancia  $T$  de soluciones que están en celdas transparentes que tienen una longitud de trayectoria de  $b$  cm. Normalmente la concentración de un analito absorbente se relaciona en forma lineal con la absorbancia según la ley de *Lambert-Beer* (Merritt y Settle, 1988).

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (11)$$

La Ecuación 11 representa la ley de *Lambert-Beer* y establece que la absorbancia a cualquier longitud de onda es proporcional al número o concentración de moléculas absorbentes presentes en el camino recorrido por la radiación (Cozzolino, 2002). Las variables de esta ecuación se presentan en la Cuadro 8.

Cuadro 8. Términos y símbolos importantes que se utilizan en las mediciones de absorción

Término y símbolo*	Definición	Nombres y símbolos alternativos
Potencia radiante incidente, $P_0$	Potencia radiante en watti que incide en la muestra	Intensidad incidente, $I_0$
Potencia radiante transmitida, $P$	Potencia radiante que transmite la muestra	Intensidad transmitida, $I$
Absorbancia, $A$	$\text{Log}(P_0/P)$	Densidad óptica, $D$ ; extinción, $E$
Transmitancia, $T$	$P/P_0$	Transmisión, $T$
Longitud de trayectoria de la muestra, $b$	Longitud sobre la que ocurre la atenuación	$l, d$
Concentración del absorbente, $c$	Concentración en unidades especificadas	
Absortividad, $a$	$A/bc$	Coefficiente de extinción, $k$
Absortividad molar, $\varepsilon$	$A/bc$	Coefficiente de extinción molar

(Cozzolino, 2002)

La ley de *Lambert-Beer* también se puede aplicar a un medio que contenga más de una clase de sustancias absorbentes (Ecuaciones 12-13). Siempre que no haya interacción entre las distintas especies, la absorbancia total para un sistema con múltiples componentes es:

$$A_{total} = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (12)$$

$$A_{total} = \varepsilon_1 bc + \varepsilon_2 bc + \dots + \varepsilon_n bc \quad (13)$$

Donde los subíndices se refieren a los componentes absorbentes 1,2,...n.

## 2.7.4 Espectroscopia de infrarrojo

La espectroscopia molecular se basa en la interacción entre la radiación electromagnética y las moléculas. Dependiendo de la región del espectro en la que se trabaje y de la energía de la radiación estudiada, esta interacción será de diferente naturaleza: excitación de electrones, vibraciones moleculares y rotaciones moleculares (Schwedt, 1997). La molécula al absorber la radiación infrarroja, cambia su estado de energía vibracional o rotacional. La transición entre dos estados rotacionales requiere muy poca energía, por lo que solo es posible observar específicamente en el caso de muestras gaseosas. En el caso del estudio del espectro infrarrojo (IR) de muestras sólidas y líquidas sólo se tienen en cuenta los cambios entre estados vibracionales (Osborne *et al.*, 1998). Utilizando los fundamentos de la mecánica cuántica y el modelo del oscilador anarmónico para representar los enlaces (Eisberg y Resnick, 2000); se demuestra que las bandas en el infrarrojo se producen como consecuencia de transiciones entre niveles de energía en los que el número cuántico vibracional ( $\nu$ ) cambia en una unidad ( $\Delta\nu=\pm 1$ ), denominado banda fundamental, o en más de una unidad ( $\Delta\nu=\pm 2, \Delta\nu=\pm 3\dots$ ), que se denominan sobretonos (Hollas, 1992). Aunque teóricamente son posibles  $\Delta\nu$  superiores, en la práctica sólo se observan estas tres transiciones. Las bandas de absorción aparecen aproximadamente a frecuencias:  $\nu$  (la banda fundamental,  $2\nu$  y  $3\nu$  (los sobretonos) (Osborne *et al.*, 1998). Estos últimos tienen una menor intensidad que la banda fundamental. También se producen bandas como consecuencia de las interacciones de dos vibraciones diferentes y que se pueden calcular.

$$\nu_{comb} = n_1\nu_1 + n_2\nu_2 \pm \dots \quad (14)$$

Una molécula poliatómica ( $n$  átomos) tiene  $3n-6$  modos de vibración diferentes y una molécula lineal de  $3n-5$ . Cada uno de estos modos de vibración viene representado por una curva de energía potencial y da lugar a una banda fundamental y sus correspondientes sobretonos en el infrarrojo. Los modos de vibración que se pueden producir incluyen: cambios en las distancias de enlace (elongaciones o *stretching*, que puede ser simétricas o asimétricas) y en cambios en el ángulo de enlace, o *bending* (simétricas en el plano, asimétricas en el plano, simétricas en el plano y asimétricas fuera del plano) (Silverstein y Webster, 1998).



#### 2.7.4.1 Cambios en el momento del dipolo durante las vibraciones y las rotaciones

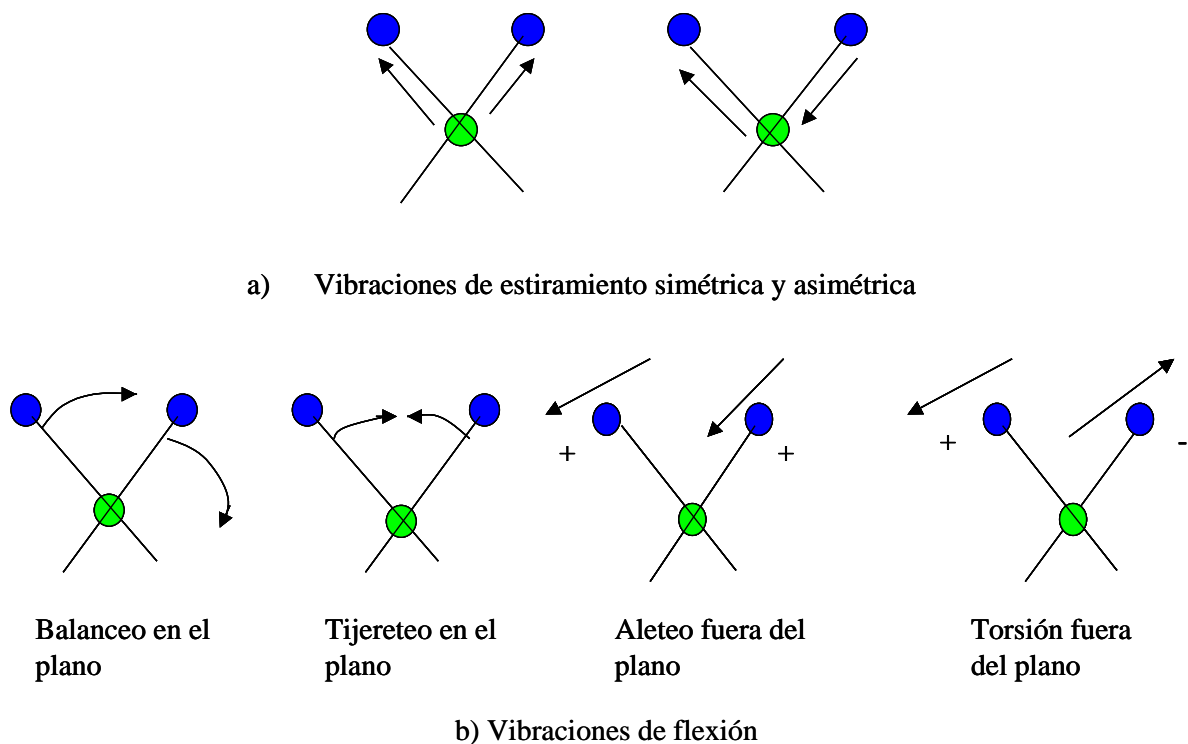
La radiación infrarroja no tiene suficiente energía para producir la clase de transiciones electrónicas que se encuentran en las radiaciones ultravioleta y visible; por esta razón, la absorción de infrarrojo se limita en gran parte a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los diferentes estados vibracionales y rotacionales. Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe sufrir un cambio neto en su momento dipolar cuando vibra o gira. Sólo en estas circunstancias el campo eléctrico alternante de la radiación puede interactuar con la molécula y modificar la amplitud de alguno de sus movimientos. El momento dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga y por la distancia entre los dos centros de carga. Cuando una molécula vibra, se produce una fluctuación angular en su momento dipolar y se establece un campo que puede interactuar con el campo eléctrico asociado con la radiación. Si la frecuencia de radiación coincide exactamente con la frecuencia vibracional natural de la molécula, tiene lugar la absorción de la radiación lo cual origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular. De manera análoga, la rotación de las moléculas asimétricas alrededor de sus centros de masa produce fluctuaciones periódicas en el momento dipolar que permiten la interacción con el campo de radiación (Merritt y Settle, 1988).

#### 2.7.4.2 Transiciones rotacionales

La energía necesaria para provocar un cambio en los niveles rotacionales es muy pequeña y corresponde a radiaciones de  $\nu \leq 100 \text{ cm}^{-1}$  ( $\lambda > 100 \text{ }\mu\text{m}$ ). Como los niveles rotacionales están cuantificados, la absorción por los gases en la región del infrarrojo lejano se caracteriza por líneas discretas bien definidas. En líquidos o sólidos los choques e interacciones intramoleculares causan ensanchamiento de las líneas y originan un espectro continuo (Pickering, 2007).

#### 2.7.4.3 Transiciones vibracionales/rotacionales

Los niveles de energía vibracionales también están cuantizados, y en la mayoría de las moléculas las diferencias de energía entre los estados cuantizados corresponden a la región infrarrojo medio. El espectro de un gas consta de una serie de líneas muy próximas entre sí debido a la existencia de varios estados energéticos rotacionales para cada estado vibracional (Figura 2).



**Figura 2. Tipos de vibraciones moleculares que presenta el espectro infrarrojo (Osborne *et al.*, 1998).**

Por otra parte, en los sólidos y en los líquidos la rotación está muy restringida; en este tipo de muestras, las líneas discretas vibracionales-rotacionales desaparecen y sólo quedan bandas vibracionales algo ensanchadas (Osborne *et al.*, 1998). Como se muestra en la Cuadro 9 las aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo se dividen en tres grandes categorías relacionadas con tres regiones espectrales (Harris, 2008).

Cuadro 9. Regiones en las que se clasifica el espectro infrarrojo

Región	Longitud de onda ( $\lambda$ ), $\mu\text{m}$	Número de onda ( $\nu$ ), $\text{cm}^{-1}$	Frecuencia ( $\nu$ ), Hz
Cercana	0.78 a 2.5	12 800 a 4000	$3.8 \times 10^{14}$ - $1.2 \times 10^{14}$
Media	2.5 a 50	4000-200	$1.2 \times 10^{14}$ - $6.0 \times 10^{14}$
Lejana	50 a 100	200 a 10	$6.0 \times 10^{14}$ - $3.0 \times 10^{11}$
La más utilizada	2.5 a 15	4000 a 670	$1.2 \times 10^{14}$ - $2.0 \times 10^{13}$

(Harris, 2008)

La región más utilizada es la del infrarrojo medio que se extiende desde casi 670 hasta 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de absorción, reflexión y emisión se utilizan en los análisis cualitativos y cuantitativos. La región del infrarrojo cercano, comprendida entre 4000 y 14 000  $\text{cm}^{-1}$ , también es muy útil en la determinación cuantitativa rutinaria de ciertas especies: agua, dióxido de carbono, azufre, hidrocarburos de bajo peso molecular, nitrógeno presente en las aminas y muchos otros compuestos sencillos que tienen interés en la agricultura e industria, (Cuadro 10). El principal uso de la región lejana es en la determinación de estructuras de especies inorgánicas y organometálicas con base en mediciones de absorción. La espectroscopia infrarroja es ampliamente usada en investigación y en la industria como una práctica simple y confiable para realizar mediciones, control de calidad y mediciones dinámicas. Los instrumentos son en la actualidad pequeños y pueden transportarse fácilmente, incluso en su uso para ensayos en terreno. Con una tecnología de filtración y manipulación de resultados en agua, las muestras en solución pueden ser medidas con precisión (el agua produce una absorbancia amplia a lo largo del rango de interés, volviendo al espectro ilegible sin este tratamiento computacional). Algunas máquinas indican automáticamente cuál es la sustancia que está siendo analizada a partir de miles de espectros de referencia almacenados.

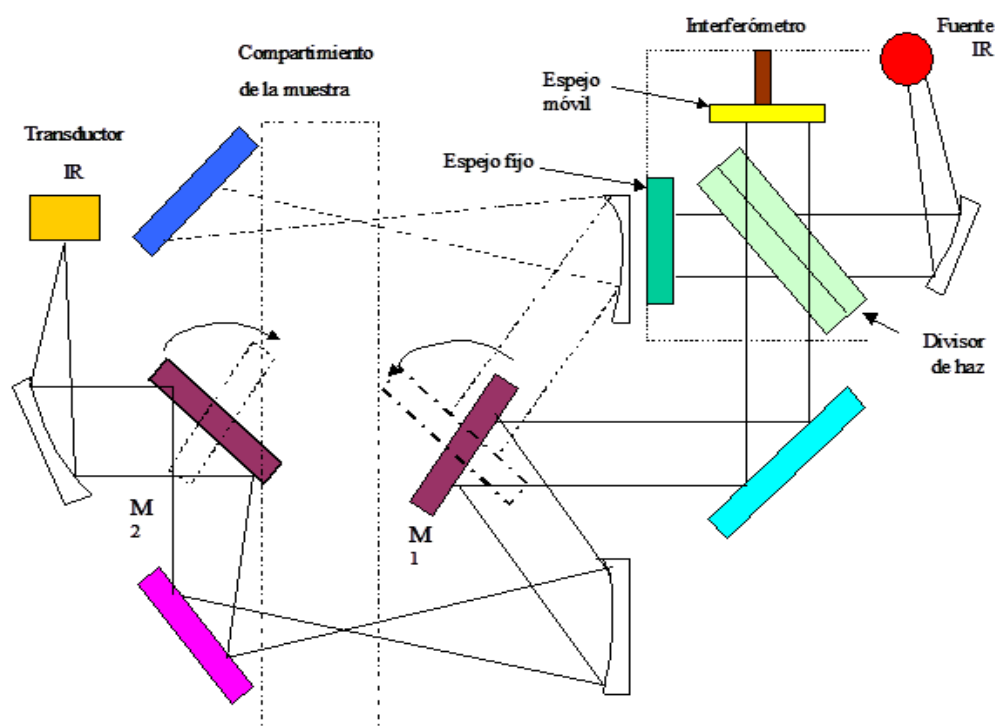
Cuadro 10. Resumen de las longitudes de onda para grupos orgánicos funcionales.

Grupo funcional	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
OH (enlace de hidrógeno)	3100-3200	-C ≡ C-	2300-2100
OH (sin enlace de hidrógeno)	3600	-C ≡ N	~ 2250
Cetonas	1725-1700	-N=C=O	~ 2270
Aldehídos	1740-1720	-N=C=S	~ 2150
Aldehídos y cetonas α,β-insaturados	1715-1660	C=C=C	~ 1950
Ciclopentanonas	1750-1740	NH	3500-3300
Ciclobutanonas	1780-1760	C=N-	1690-1480
Ácidos carboxílicos	1725-1700	NO <sub>2</sub>	1650-1500 1400-1250
Ésteres	1750-1735	S=O	1070-1010
Ésteres α,β-insaturados	1750-1715	sulfonas	1350-1300 1150-1100
δ-Lactonas	1750-1735	Sulfonamidas y sulfonatos	1370-1300 1180-1140
γ-lactonas	1780-1760	C-F	1400-1000
Amidas	1690-1630	C-Cl	780-580
-COCl	1815-1785	C-Br	800-560
Anhídridos	1850-1740 <sup>(2)</sup>	C-I	600-500

(Osborne *et al.*, 1998)

#### 2.7.4.4 Espectrómetro con transformada de Fourier

Un espectrómetro es un instrumento que proporciona información relacionada con la intensidad de la radiación en función de la longitud de onda o de la frecuencia. La mayor parte de los instrumentos analíticos multiplex dependen de la *transformada de Fourier* para decodificar la señal. Dichos instrumentos no están restringidos a la espectroscopia óptica, también se utilizan en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear, en la espectrometría de masas y en la espectroscopia de microondas. En la Figura 3 se muestra un esquema de un equipo de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) de doble haz, el rayo que sale del interferómetro choca contra el espejo  $M_1$ , el cual en una posición dirige el haz a través de la celda de referencia, y en la otra posición lo dirige a través de la celda de la muestra. El espejo  $M_2$ , que está sincronizado con  $M_1$ , dirige de manera alternada el haz de referencia y el haz de la muestra hacia el transductor (Osborne *et al.*, 1998).

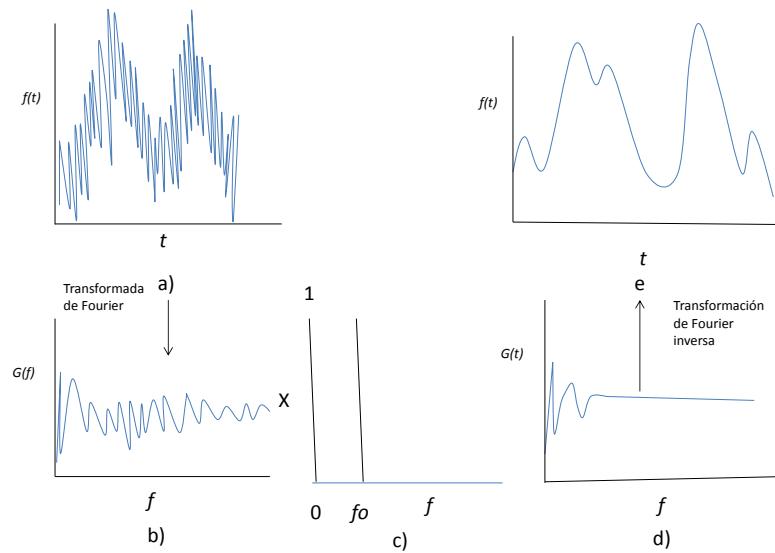


**Figura 3. Configuración esquemática de un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (Osborne *et al.*, 1998).**

#### 2.7.4.5 Espectroscopia en el dominio del tiempo

La espectroscopia ordinaria se puede llamar espectroscopia del dominio de la frecuencia porque los datos de la potencia radiante se registran en función de la frecuencia o de la relación inversa de la longitud de onda. En cambio, la espectroscopia del dominio del tiempo, la cual se puede efectuar mediante la transformada de Fourier, se relaciona con los cambios en la potencia radiante respecto al tiempo. Es importante apreciar que una señal en el dominio del tiempo contiene la misma información que un espectro en el dominio de la frecuencia y, de hecho, uno se puede convertir en otro mediante cálculos numéricos. La inter-conversión de señales en el dominio del tiempo y en el dominio de la frecuencia es compleja y tediosa desde el punto de vista matemático, y más cuando el espectro contiene sólo unas pocas líneas. La operación solo es práctica con ayuda de una computadora. En la actualidad, los algoritmos rápidos de la transformada de Fourier facilitan los cálculos de los espectros en el dominio de la frecuencia a partir de espectros en el dominio del tiempo, en un lapso de segundos o menos (Merrit y Settle, 1998).

En la transformación de Fourier, una señal espectral (Figura 4a), captada en el dominio del tiempo, se convierte en una señal del dominio de frecuencias en el cual la variable independiente es la frecuencia  $f$  y no en el tiempo, (Figura 4b). Esta transformación se consigue mediante el uso de algoritmos matemáticos y programas computacionales. La señal en el dominio de la frecuencia en  $b$ ) se multiplica luego por la respuesta de frecuencia de un filtro digital con frecuencia de corte superior  $f_o$  que se muestra en  $c$ ), la cual tiene el efecto de eliminar todos los componentes de frecuencias por arriba de  $f_o$  como se ilustra en  $d$ ). La transformación inversa de Fourier recupera luego el espectro filtrado en el dominio del tiempo de la (Figura 4e). La transformación de Fourier se usa en la mayor parte de los modernos espectrómetros infrarrojos y de resonancia magnética nuclear, así como en múltiples instrumentos de prueba que se usan en los laboratorios y en osciloscopios digitales (Osborne *et al.*, 1998).



**Figura 4. Filtración digital con la transformación de Fourier (Osborne *et al.*, 1998).**

#### 2.7.4.6 Ventajas del espectrómetro con transformada de Fourier

Los instrumentos de transformada de Fourier, en la mayor parte del intervalo espectral infrarrojo medio, presentan una relación señal-ruido menor que la de los instrumentos dispersivos de buena calidad en más de un orden de magnitud. La relación señal-ruido mejorada puede intercambiarse por un barrido rápido, pudiéndose obtener, en la mayoría de los casos, buenos espectros en pocos segundos. Los instrumentos interferométricos también se caracterizan por sus altas resoluciones ( $<0.1 \text{ cm}^{-1}$ ) y por sus determinaciones muy exactas y de frecuencia reproducible. Esta última propiedad es útil sobre todo cuando se restan los espectros para las correcciones de fondo (Harris, 2008).

#### 2.7.4.7 Espectrometría de reflectancia difusa

La espectrometría de transformada de Fourier y reflectancia difusa (DRIFTS) es una forma eficaz de obtener directamente espectros infrarrojos a partir de muestras pulverizadas con un mínimo de preparación de las mismas. Además de ahorrar tiempo en la preparación de la muestra, facilita la obtención de datos espectrales en la región ordinaria del infrarrojo de muestras que no han sufrido una alteración importante en su estado original.

La reflexión difusa es un proceso complejo que tiene lugar cuando un haz de radiación choca con la superficie de un polvo fino. En este tipo de muestras se produce una reflexión especular en cada superficie plana. Sin embargo, como hay múltiples superficies planas y se encuentran orientadas en forma aleatoria, la radiación se refleja en todas direcciones. Es característico que la intensidad de la radiación sea reflejada sea más o menos independiente del ángulo de visión. Ya hay varios modelos que se han desarrollado para describir la intensidad de radiación reflejada difusa en términos cuantitativos (Merrit y Settle, 1998).

#### 2.7.4.8 Espectrometría de reflectancia atenuada total (ATR)

La espectroscopia de reflexión interna es una técnica que permite obtener espectros infrarrojos de muestras que presentan alguna dificultad, como sólidos de baja solubilidad películas, pastas, fibras, adhesivos y polvos. Cuando un haz de radiación pasa de un medio denso a uno menos denso, hay reflexión. La fracción de haz incidente que se refleja es mayor a medida que aumenta el ángulo de incidencia; más allá de un cierto ángulo crítico la reflexión es completa; durante el proceso de reflexión el haz penetra una cierta distancia en el medio denso antes de reflejarse. La profundidad de penetración, que puede variar desde una fracción de longitud de onda hasta varias longitudes de onda, depende de la longitud de onda, del índice de refracción de los dos materiales y del ángulo que forma el haz incidente con la interfase. La radiación que penetra se denomina *onda evanescente*. A longitudes de onda en las que el medio menos denso absorbe la radiación evanescente, ocurre atenuación del haz, lo cual se conoce como *reflectancia atenuada total* (ATR) (Osborne *et al.*, 1998).

En un espectro de reflectancia atenuada total, las absorbancias aunque dependen del ángulo de incidente, son independientes del espesor de la muestra debido a que la radiación sólo penetra unos cuantos micrómetros en ella. La profundidad de penetración efectiva  $d_p$  se calcula mediante la Ecuación 15; y depende de la longitud de onda del haz, de los índices de refracción del cristal y de la muestra y del ángulo del haz.

$$d_p = \lambda_c / 2\pi \{ \text{sen}^2 \theta - (n_s/n_c)^2 \}^{1/2} \quad (15)$$



Donde  $\lambda_c$  es la longitud de onda del cristal,  $\theta$  es el ángulo de incidencia,  $n_s$  y  $n_c$  son los índices de refracción de la muestra y del cristal, respectivamente. La profundidad de penetración se puede variar si se cambia el material del cristal, el ángulo de incidencia o ambos. Una de las ventajas de la espectroscopia de reflectancia atenuada total es que, con una mínima preparación, se puede obtener con facilidad los espectros de absorción de una gran variedad de tipos de muestras. Se pueden estudiar hilos, telas y fibras comprimiendo las muestras sobre el cristal denso (Merritt y Settle, 1988). De una manera similar se puede manipular pastas, polvos o suspensiones.

### **2.7.5 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Visible)**

La espectroscopia de emisión de fotones y la espectrofotometría infrarroja cercano (NIR) utilizan la radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana del espectro electromagnético, es decir, una longitud de onda entre 380nm y 780nm. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas (Harris, 2008).

La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. Se utiliza extensivamente en laboratorios de química y bioquímica para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo (Quinn *et al.*, 1999).

El principio de la *espectroscopia ultravioleta-visible* involucra la absorción de radiación ultravioleta – visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor. La longitud de onda ( $\lambda$ ) comprende entre 190 y 800 nm. La luz visible o UV es absorbida por los electrones de valencia, éstos son promovidos a estados excitados (de energía mayor). Al absorber radiación electromagnética de una frecuencia correcta, ocurre una transición desde uno de estos orbitales a un orbital vacío. Las diferencias entre energías varían entre los diversos orbitales (Pickering, 2007).

### 2.7.5.1 Transiciones electrónicas

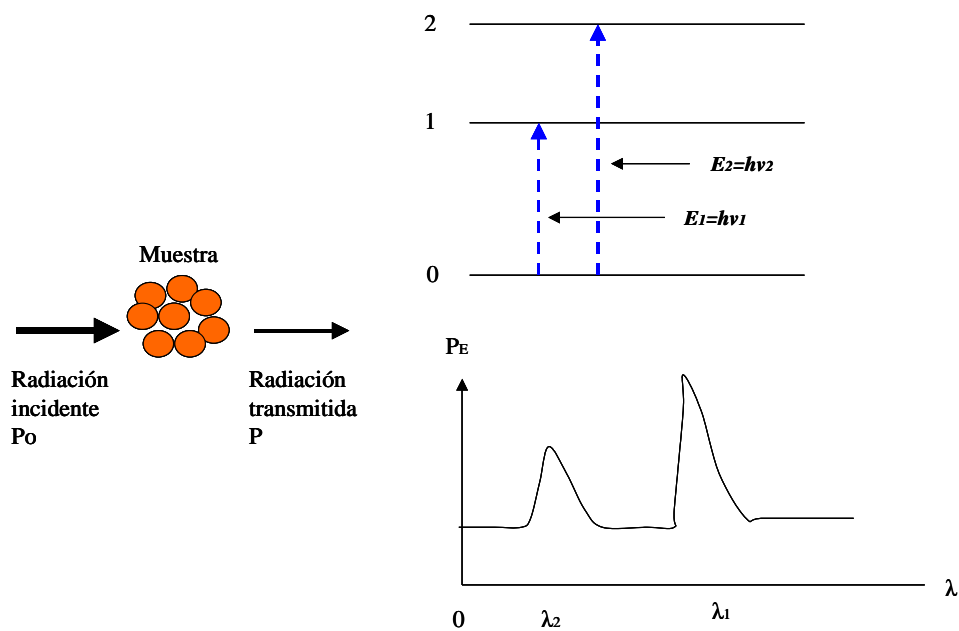
El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia. Todas las sustancias pueden absorber energía radiante. El vidrio, que parece ser completamente transparente, absorbe longitudes de onda que pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del IR. La absorción de las radiaciones UV, visibles e IR depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. El color de las sustancias se debe a que absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y sólo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbida. Esta espectrofotometría utiliza radiaciones del campo UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm (UV cercano) y de luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar las soluciones en la región ultravioleta-visible del espectro. Se rige por una ley muy importante: la ecuación de Lambert-Beer (Merritt y Settle, 1988).

### 2.7.5.2 Interacciones de la radiación y la materia

Cuando la radiación electromagnética es emitida o absorbida, se establece una transferencia permanente de energía desde el objeto emisor o hacia el medio absorbente. Para explicar estos fenómenos se requiere tratar la radiación electromagnética no como un conjunto de ondas, sino como una corriente o flujo de partículas discretas llamadas fotones o cuantos (Eisberg y Resnick, 1983).

El análisis espectroscópico utiliza interacciones de la radiación con la materia para obtener información de una muestra. La muestra se estimula aplicándole energía en forma de calor, electricidad, luz, partículas o reacciones químicas. Antes de aplicar el estímulo, el analito está en su estado energético más bajo, (*estado basal*). Entonces, el estímulo hace que algunas de las especies del analito transiten hacia un estado energético superior o *estado excitado*. Se adquiere información relacionada con el analito al medir la radiación electromagnética emitida cuando regresa a su estado basal o al medir la cantidad de radiación electromagnética absorbida o difundida como resultado de la excitación (Eisberg y Resnick, 1983).

Cuando la muestra se estimula mediante la aplicación de una fuente de radiación electromagnética externa, son posibles varios procesos: 1) La radiación se puede reflejar, 2) Difundir o 3) Absorber. Cuando se absorbe una parte de la radiación incidente, se favorece que algunas especies del analito pase a un estado excitado. En la *espectroscopia de absorción* se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda. En la *espectroscopia de fotoluminiscencia (fluorescencia y espectroscopia de fosforescencia)*, la emisión de fotones se mide después de la absorción. En los métodos de absorción la radiación de la energía radiante incidente  $P_0$  puede ser absorbida por el analito, lo que resulta en la transmisión de un haz de potencia radiante baja  $P$ . Para que haya absorción, la energía del haz incidente tiene que corresponder a una de las diferencias de energía (Figura 5). Los espectros de absorción producen dos picos en función de la longitud de onda (Osborne *et al.*, 1998).



**Figura 5. Esquema del fundamento de la espectroscopia UV-Visible (Osborne *et al.*, 1998)**

### 2.7.5.3 Absortividad molecular

La espectrometría por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible se reportan absortividades molares (valores de  $\epsilon$  que van de cero hasta un máximo de  $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Para un máximo de absorción particular, la magnitud de  $\epsilon$  depende de la sección transversal de captura de las especies y de la probabilidad de que tenga lugar una transición que absorba energía. La relación entre  $\epsilon$  y esta variable es:

$$\epsilon = 8.7 \times 10^{19} PA \quad (16)$$

Donde  $P$  es la probabilidad de la transición y  $A$  es el área blanco de la sección transversal en centímetros cuadrados por molécula. Para las transiciones permitidas de acuerdo a la mecánica cuántica, los valores de  $P$  están comprendidos entre 0.1 y 1, lo que ocasiona bandas de absorción intensas ( $\epsilon_{\text{max}}=10^4$  a  $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Los picos de absorbancia con absortividades molares menores a  $10^3$  se clasifican de baja intensidad; son el resultado de transiciones prohibidas cuya probabilidad de suceder es menor que 0.01.

### 2.7.5.4 Especies absorbentes

La absorción de la radiación ultravioleta o visible por parte de una especie atómica o molecular  $M$  se considera como un proceso de dos etapas. La primera de ellas consiste en una excitación electrónica, como lo muestra la ecuación.



El producto de la absorción del fotón  $h\nu$  por la especie  $M$  es una especie excitada electrónicamente simbolizada por  $M^*$ . El tiempo de vida de la especie excitada es breve ( $10^{-8}$  a  $10^{-9}$  s). Alguno de entre varios procesos de relajación ocasiona que  $M^*$  salga del estado de

excitación. La forma de relajación más común supone la conversión de energía de excitación en calor, como lo demuestra.



La relajación puede ocurrir también por medio de un proceso fotoquímico, como la descomposición de  $M^*$  para dar lugar a nuevas especies. Otra posibilidad es que la relajación ocasione reemisión de fluorescencia o fosforescencia (Harry, 2008).

La absorción de radiación ultravioleta o visible es resultado de la excitación de los electrones de enlace. Debido a esto, las longitudes de onda de las bandas de absorción se pueden correlacionar con los tipos de enlaces de la especie en estudio. Por lo tanto, la espectroscopia de absorción molecular es valiosa para identificar grupos funcionales en una molécula. Pero lo más importante son las aplicaciones de la espectroscopia de absorción ultravioleta y visible en la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes (Pickering, 2007).

La absorción de la radiación ultravioleta y visible que manifiestan las moléculas ocurre en general en una o más bandas de absorción electrónicas, cada una de las cuales está conformada por muchas líneas discretas muy juntas. Cada línea surge de la transición de un electrón que va del estado fundamental a uno de los estados energéticos vibracionales y rotacionales asociados a cada estado energético electrónico excitado (Osborne *et al.*, 1998).

#### 2.7.5.5 Absorbancias de compuestos orgánicos

Todos los compuestos orgánicos son capaces de absorber radiación electromagnética porque contienen electrones de valencia que pueden ser excitados para llegar a niveles de energía superiores. La energía de excitación asociada con los electrones que constituyen a la mayoría de los enlaces sencillos es lo suficientemente alta para que su absorción quede restringida a la región conocida como ultravioleta de vacío ( $\lambda < 185$  nm); dichas transiciones requieren la excitación de  $n$  electrones no enlazantes hacia orbitales  $\sigma^*$ . Las absorptividades molares  $n \rightarrow \sigma^*$

transiciones son bajas a intermedias, y por lo regular varían entre 100 y 3000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; a causa de las dificultades experimentales asociadas con la región ultravioleta de vacío, la mayoría de las investigaciones espectrofotométricas de compuestos orgánicos involucran longitudes de onda superiores a 185 nm (Merrit y Settle, 1998).

La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos se basan en transiciones de los electrones  $n$  y  $\pi$  al estado excitado  $\pi^*$  porque la energía requerida para estos procesos lleva las bandas de absorción hacia dentro de la región ultravioleta-visible (200 a 700 nm). Ambas transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$  requieren la presencia de un grupo funcional no capaces de absorber la radiación UV-visible se les denomina *cromóforos*. En general, los espectros electrónicos de moléculas orgánicas que contienen cromóforos son complejos porque la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas ocasiona una intrincada combinación de líneas traslapadas. El resultado es una banda de absorción ancha que a menudo parece ser continua. La compleja naturaleza de los espectros dificulta o imposibilita el análisis teórico detallado. No obstante, es posible deducir enunciados cualitativos o semicuantitativos en relación con los tipos de transiciones electrónicas causantes de un espectro de absorción en particular a partir de consideraciones sobre orbitales moleculares (Osborne *et al.*, 1998).

En el Cuadro 11, se presentan los cromóforos orgánicos comunes y las longitudes de onda aproximadas a las cuales presentan absorción. Los datos para la ubicación ( $\lambda_{\max}$ ) y la intensidad máxima ( $\epsilon_{\max}$ ) sirven sólo como una guía aproximada para la identificación, porque ambas se ven influenciadas por los efectos del solvente y por la naturaleza de la estructura de la molécula. Además, la conjugación entre dos o más cromóforos tienden a ocasionar desplazamientos en los máximos de absorción a longitudes de onda más largas. Para finalizar, los efectos vibracionales ensanchan los picos de absorción en las regiones ultravioleta y visible, lo cual dificulta con frecuencia la determinación precisa de la absorción máxima. Las absorptividades molares para las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  son normalmente bajas y por lo regular varían de 10 a 100 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Por otra parte, los valores de las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  oscilan siempre entre 1000 y 15 000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

Cuadro 11. Características de absorción de algunos cromóforos comunes.

Cromóforo	Ejemplo	Solvente	$\lambda_{\max}$ nm	$\epsilon_{\max}$	Tipo de transición
Alqueno	$C_6H_{13}CH=CH_2$	n-Heptano	177	13,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alquino	$C_5H_{11}C \equiv C-CH_3$	n-Heptano	178	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2000	-----
			225	160	-----
Carbonilo	$CH_3COCH_3$	n-Hexano	186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
	$CH_3CH=O$	n-Hexano	180	Grande	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$CH_3COOH$	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amida	$CH_3CONH_2$	Agua	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	$CH_3NO_2$	Isooctano	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrato	$C_2H_5ONO_2$	Dioxano	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

(Merritt y Settle, 1988).

Los compuestos orgánicos que contienen heteroátomos como oxígeno, nitrógeno, azufre o halógenos cuentan con electrones no enlazantes que se pueden excitar mediante radiación en el intervalo 170 a 250 nm en espectro ultravioleta (Merritt y Settle, 1998). En el Cuadro 12 se enlistan ejemplos de dichos compuestos.

Cuadro 12. Absorción por parte de compuestos orgánicos que contienen heteroátomos con electrones no enlazantes.

Compuesto	$\lambda_{\max}$ nm	$\epsilon_{\max}$
CH <sub>3</sub> OH	167	1480
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O	184	2520
CH <sub>3</sub> Cl	173	200
CH <sub>3</sub> I	258	365
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S	229	140
CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	215	600
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N	227	900

(Merrit y Settle, 1998)

## 2.8 Quimiometría

El aumento progresivo de la complejidad de la instrumentación analítica ha permitido obtener volúmenes de datos cada vez mayores. La conversión de estos datos en información útil requiere del uso de herramientas matemáticas y estadísticas, que se han agrupado en la disciplina denominada Quimiometría (Massart *et al.*, 1997). En este apartado se presenta brevemente la base teórica de las herramientas quimiométricas utilizadas en la presente tesis.

La quimiometría es la disciplina química que utiliza métodos estadísticos y matemáticos para diseñar procedimientos de medida y para utilizar la mayor cantidad de información química posible a partir de datos obtenidos mediante técnicas espectrométricas (Massart *et al.*, 2003). Trata, específicamente de todos aquellos procesos que transforman señales analíticas generados mediante el uso de espectros, tales como UV-visible, infrarrojo (cercano, medio y lejano), electroforesis, Raman, cromatografía; en datos más o menos complejos y luego en información útil.

La quimiometría utiliza métodos de origen matemático, estadístico, químico y otros procedentes del campo de la lógica para conseguir sus fines; entre las principales herramientas empleadas para llevar a cabo el análisis quimiométrico podemos citar:



- El diseño experimental
- Los métodos de exploración de datos
- Los métodos de reconocimiento de pautas supervisadas
- Los métodos de calibración
- Los sistemas expertos e inteligencia artificial, entre otros.

En el análisis multivariante cada muestra puede considerarse como un punto en el espacio multidimensional. El objetivo es extraer la información útil de todo el conjunto de variables medidas en una experiencia. El diseño de experimentos es un complemento de éste análisis porque proporciona una estrategia para diseñar la experimentación de un proceso. Esto permite obtener la mayor información útil posible con el menor número de experimentos. Además, la calidad de los parámetros calculados depende exclusivamente del diseño seleccionado y esta es óptima (menor varianza) cuando la matriz del diseño es ortogonal, es decir, las concentraciones de los diferentes compuestos no están correlacionadas (Massart *et al.*, 2003).

*Los métodos de reconocimiento de pautas.* Tienen la finalidad de clasificar o agrupar muestras según las características de las mismas (Brereton, 1992). Pueden distinguirse dos tipos de técnicas de reconocimiento de pautas: supervisadas y no supervisadas.

*Las técnicas no supervisadas.* Tienen como objetivo determinar relaciones entre muestras sin utilizar ninguna información previa con respecto a la pertenencia a determinadas clases. Permiten reconocer la existencia de estructuras en los datos y tener una idea de la utilidad de la información contenida en los mismos. Entre estos métodos se encuentran el análisis de agrupamiento, una de cuyas modalidades es el agrupamiento jerárquico (HCA) en el que las muestras se asocian en función de unos índices de similitud, y el análisis de componentes principales (PCA), en el que se reduce la dimensión de un conjunto de datos mediante el cálculo de combinaciones lineales de las variables originales (Massart *et al.*, 1997).

*Las técnicas de reconocimiento de pautas supervisadas.* Tienen como fin desarrollar reglas de clasificación y modelos de clases para muestras desconocidas a partir de un grupo de muestras conocidas que están caracterizadas por los valores de las variables medidas. El éxito de la predicción depende de las reglas de clasificación y modelación así como de que los límites

marcados para ellas sean adecuados. El objetivo final es predecir si una muestra desconocida pertenece a un grupo o no. Algunas de las técnicas de clasificación y modelado de clases son:

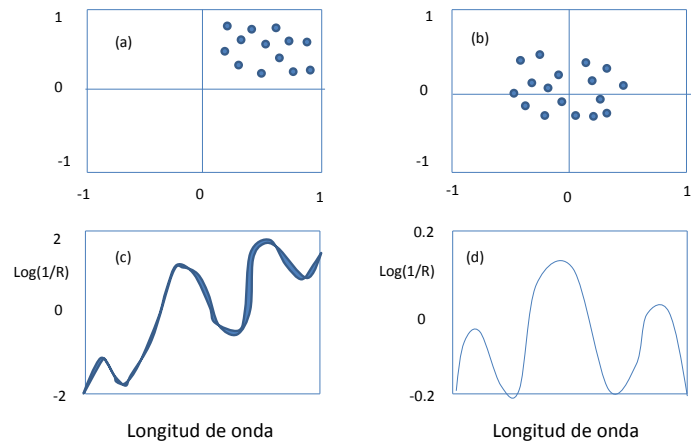
- El análisis discriminial lineal (LDA)
- El modelado independiente de clases (SIMCA)
- The support vector machines (SVM)
- El método de los k vecinos más próximos (k-NN)
- Las redes neuronales artificiales (ANN)

### **2.8.1 Pretratamiento de datos**

Para realizar un análisis quimiométrico es importante minimizar las contribuciones no deseadas presentes en las señales; que pueden ser causadas debido a la dispersión de la luz, ruido y a las características físicas de las muestras. Para ello, se utiliza un método basado en la reducción de variables, análisis de componentes principales y distintos pre-tratamientos espectrales; que a continuación se describen (Miller y Miller, 2000).

#### **2.8.1.1 Centrado**

El centrado de una variable consiste en la sustracción del valor medio a todos sus elementos. En el caso de datos espectrales, el centrado consiste en restar al espectro de cada una de las muestras el espectro medio (Figura 6). Este pretratamiento pone de relieve las diferencias entre espectros, al haber eliminado la tendencia común (el espectro medio). Se utiliza tanto en PCA como en PCR o PLS (Ramis y García, 2010).



**Figura 6. Centrado por columnas: a) Objetos definidos por dos variables, b) Los mismos objetos centrados, c) Espectros sin pretratamiento de un compuesto  $x$ , d) Los mismos espectros de  $x$  centrados (Adams, 1995).**

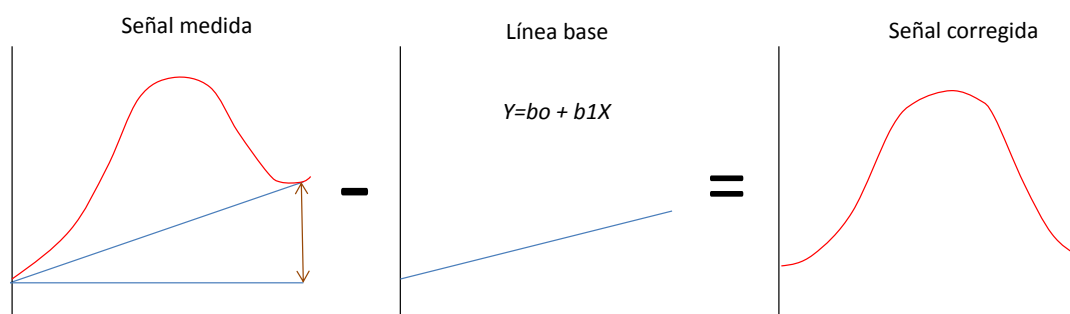
#### 2.8.1.2 Corrección de línea base (Baseline Correction)

Cuando se presentan fuentes de variabilidad de alta frecuencia, como sería el ruido, la señal medida puede contener fuentes de variabilidad de baja frecuencia, no relacionadas con la propiedad de interés, y que se denominan variaciones de línea base.; el método corrige el error por sustracción de un perfil en lugar de un solo punto, éste perfil puede ser una fila en la tabla de datos o puede ser derivado de un ajuste de la curva (Adams, 1995). Encontrar una línea base por cada muestra requiere conocimiento acerca de cuáles variables lo pueden usar y los grados de ajuste (lineal). La vía más sencilla para especificar las líneas base es enmascarar las variables, esto es un método iterativo de ajuste. Primero todas las variables son incluidas para ser usadas y calcular un aproximado de los grados especificados. Solamente las variables con puntos fuera o por debajo de lo aproximado son retenidas como variables de la línea base y otro aproximado es calculado, como este proceso se repite pocas variables permanecen en la línea base. Cuando solamente el 1 % de todas las variables incluidas son menores o cuando el número de variables no disminuye, el proceso se detiene y la línea base es calculada sobre las variables detenidas. Por tanto, y como muchas variables son determinadas para estar en la línea base, hay variación de muestra a muestra (Einax *et al.*, 1997).

### 2.8.1.3 Modelado explícito de la línea base

Este método consiste en aproximar la línea base del espectro con una función polinómica, que se resta posteriormente al espectro para obtener el espectro corregido. El caso más sencillo sería el polinomio de grado 0 (una constante); consiste en restar a cada espectro la absorbancia medida a una determinada longitud de onda. La selección de esta longitud de onda se puede hacer en base al conocimiento químico de la muestra (debe ser una zona sin absorción de ningún componente que varíe en la muestra), tomado a la longitud de onda de menor variabilidad entre muestras o a la longitud de onda que al realizar un modelo PLS tiene un valor próximo a cero (Brereton, 2003).

Se puede utilizar polinomios de grado superior, para adaptar la corrección a las características de la variación de la línea base. Los más habituales son el uso de una línea recta (polinomio de grado 1) o de una curva cuadrática (polinomio de grado 2). Cuando se utilizan polinomios de grado 1 ó 2, esta corrección se denomina “*detrending*” (Brereton, 2003). La Figura 7 muestra un ejemplo esquemático de una corrección utilizando un polinomio de primer grado.



**Figura 7. Esquema del proceso de corrección de la línea base utilizando un modelo explícito lineal (Brereton, 2003).**

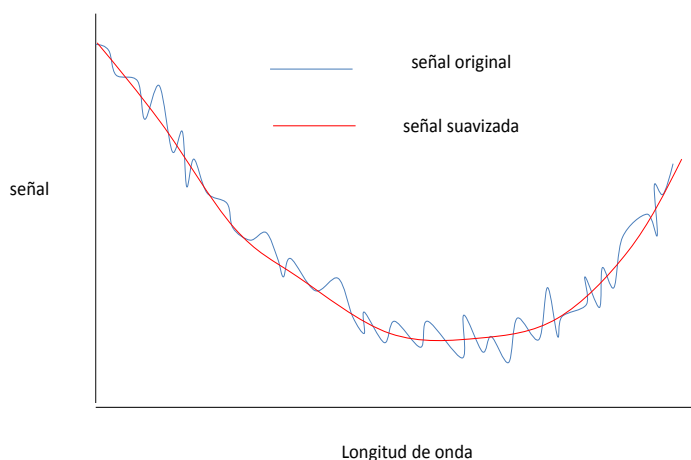
### 2.8.1.4 Normalizado (Normalize)

Existen muchas definiciones para la normalización. Todas muestran la idea de dividir cada valor del dato por un factor de normalización. Las distintas opciones proveen flexibilidad en los cálculos del factor de normalización de la muestra describen un conjunto de opciones diferentes de otras transformaciones y depende de cuales variables son usadas en los cálculos del factor

de normalización. La normalización es adecuada cuando la variable de respuesta depende del tamaño de la muestra (Einax *et al.*, 1997).

#### 2.8.1.5 Suavizado (Smooths)

La aplicación de técnicas de suavizado tiene el objeto de reducir matemáticamente el ruido aleatorio que acompaña a la señal analítica y también permite disminuir problemas como los presentados en bandas superpuestas. Se calculan las diferencias entre las distintas partes del espectro, suavizando partes del mismo (Figura 8). Aunque existen otros métodos más sencillos como el de la media móvil, en esta tesis se ha utilizado una herramienta basada en un ajuste polinómico móvil, como es el filtro polinomial de Savitzki-Golay (Rubinson y Rubinson, 2001).



**Figura 8. Suavizado de una señal espectroscópica utilizando 21 puntos y un polinomio de tercer grado (Rubinson y Rubinson, 2001).**

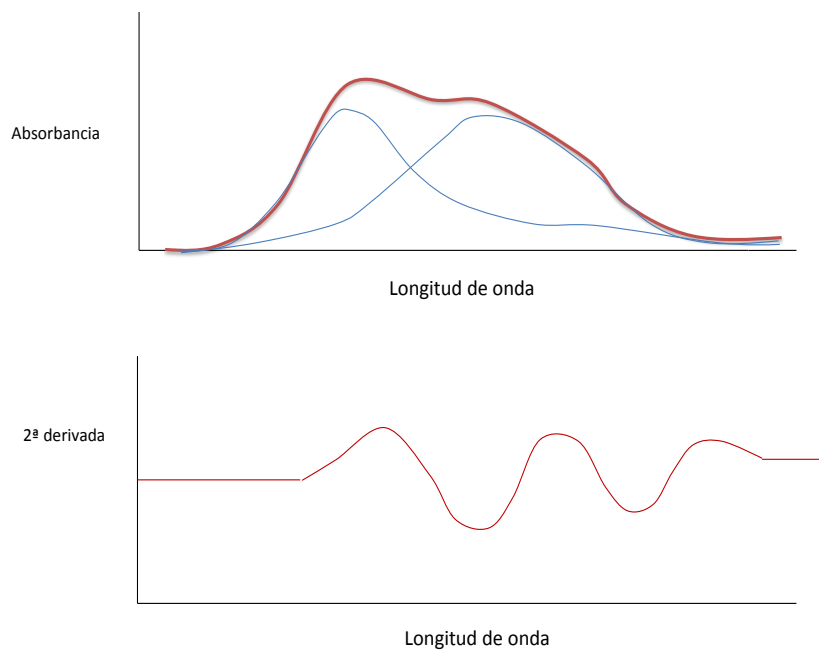
Este suavizado consiste en interpolar un polinomio de grado  $n$ , en cada serie de  $m$  puntos de la señal, de forma que el valor de la respuesta en cada punto se reemplaza por una combinación lineal de los puntos vecinos. Este método al requerir el uso de  $2m + 1$  valores para el cálculo de cada valor de la señal corregida, provoca el truncamiento del espectro en sus extremos, perdiendo  $2m + 1$  valores en cada aplicación. Este problema se resuelve en la generalización presentada por Rubinson y Rubinson, (2001).

### 2.8.1.6 Derivadas

El uso de derivadas consigue diferenciar mejor picos solapados y elimina desplazamientos lineales y cuadráticos de la línea base. La primera derivada se obtiene como la diferencia entre las absorbancias  $A$ , a dos longitudes de onda consecutivas ( $\lambda_I$  y  $\lambda_{I+\alpha}$ ) (Einax, 1997):

$$dA = \frac{\lambda_1 - \lambda_{1+\alpha}}{\Delta\lambda} \quad (17)$$

La derivada reduce la correlación entre variables y el efecto de dispersión debido al tamaño de las partículas. Presenta el inconveniente de magnificar el ruido en la señal, por lo que habitualmente se utiliza en combinación con métodos de suavizados de la señal, como el ajuste polinómica móvil. Derivadas de orden superior se obtienen aplicando sucesivamente la derivada, aunque no suelen utilizarse superiores a orden 2 (segunda derivada), ya que decrece la relación señal-ruido (Einax, 1997). La segunda derivada de los espectros es una alternativa al problema de la superposición de picos y a la corrección de la línea base es el uso de la segunda derivada del espectro (Figura 9).



**Figura 9. Resolución de bandas solapadas a través de la segunda derivada (Einax, 1997).**

La segunda derivada se obtiene aplicando otra vez el proceso de la primera derivada. La segunda derivada tiene características muy interesantes: tiene mínimos en la posición de las bandas de absorción del espectro original, facilitando en gran medida la resolución de picos solapados (Figura 9). Además, también elimina problemas en la línea base. Sus principales desventajas son que disminuye la relación señal/ruido y aumenta la complejidad del espectro. Debido a que la diferenciación es una operación lineal, la ley de Lambert-Beer sigue siendo válida en el espectro derivado, por lo que éste puede ser utilizado para determinaciones cuantitativas.

#### 2.8.1.7 Multiplicación (Multiply)

Se puede decir que tiene efecto contrario a la derivada, y evita que los efectos de la dispersión se impongan a las señales químicas (Einax, 1997).

### 2.8.2 Reconocimiento de pautas no supervisadas

2.8.2.1 Análisis de agrupamiento jerárquico. En esta técnica de análisis exploratorio se calcula y compara la similitud entre las muestras. Algunas de las posibilidades para determinar la similitud entre los objetos se describen a continuación (Massart *et al.*, 2003).

- *Coefficiente de correlación entre muestras.* Un coeficiente de correlación ( $r=1$ ) implica que las muestras tienen características idénticas. Este coeficiente se obtiene cuando una muestra se compara con ella misma. Los valores pueden oscilar entre +1 y -1; aunque es habitual trabajar con el cuadrado de éste número, es decir, el cuadrado de coeficiente de correlación.
- *Distancia Euclidiana.* La distancia Euclídea entre dos muestras  $k$  y  $l$  está definida por:

$$d_{kl} = \sqrt{\sum_{j=1}^J (x_{kj} - x_{lj})^2} \quad (18)$$

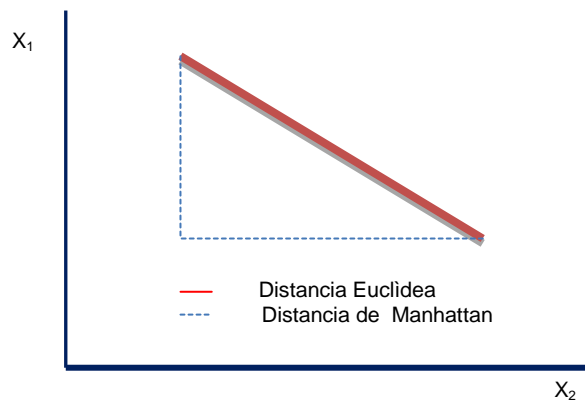
Donde  $J$  representa el número total de variables medidas y  $x_{kj}$  y  $x_{lj}$  son los valores de la variable  $j$  para las muestras  $k$  y  $l$ , respectivamente. Esta medida es, en cierta forma, contraria al coeficiente de correlación y estrictamente es una medida de “no similitud”. No hay restricciones para su valor si bien es siempre positivo (Massart *et al.*, 2003).

$$d_{kl} = \sqrt{(X_k - X_l)(X_k - X_l)'} \quad (19)$$

➤ *Distancia de Manhattan.* La distancia entre dos muestras  $k$  y  $l$  se determinan según:

$$d_{kl} = \sum_{j=1}^J [x_{kj} - x_{lj}] \quad (20)$$

Las diferencia entre las distancias Euclídea y de Manhattan se ilustran en la Figura 10 en caso de dos variables. Esta distancia es siempre mayor o al menos igual que la Euclídea (Kramer, 1998).



**Figura 10. Distancia Euclídea y de Manhattan para las muestras  $k$  y  $j$**

➤ *Distancia de Mahalanobis.* Se asemeja a la distancia Euclídea pero tiene en cuenta que algunas variables pueden estar correlacionadas y por lo tanto miden en cierto



grado la misma propiedad (Massart *et al.*, 1997). La distancia entre dos objetos  $k$  y  $l$  se puede definir como:

$$d_{kl} = \sqrt{(x_k - \bar{x}_l)C^{-1}(x_k - \bar{x}_l)'} \quad (21)$$

Donde  $C$  es la matriz varianza-covarianza de las variables. Es una matriz simétrica cuyos elementos representan las covarianzas entre pares de variables. Los elementos de la diagonal corresponden a la varianza de cada variable. La matriz es de dimensiones  $J \times J$ . Este método no es fácilmente aplicable cuando el número de variables excede al de las muestras analizadas debido a que la matriz  $C$  no tiene inversa. Una posible solución requeriría seleccionar un número más pequeño de variables. Su utilización requiere trabajar con componentes principales (PCA) en lugar de las variables originales.

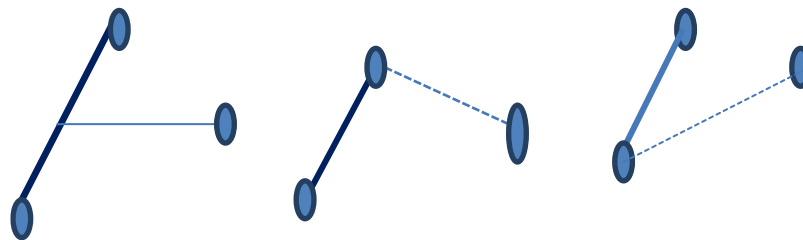
El análisis de agrupamiento puede dividirse en dos tipos de técnicas (Einax *et al.*, 1997; Massart *et al.*, 2003):

- Agrupamiento jerárquico. En los agrupamiento jerárquicos se generan dendogramas en los que se visualizan las distancias entre muestras y en los que pueden considerarse diferentes grupos en función de determinados niveles de similitud.
- Agrupamiento no jerárquico. Es necesario prefijar el número de grupos en los que se quiere dividir las muestras y éstos se generan mediante un proceso iterativo en el que la pertenencia de cada muestra a un grupo concreto se va modificando hasta llegar a una situación estable.

#### 2.8.2.2 Análisis jerárquico (HCA)

Después de calcular las distancias entre todos los pares de muestras, el siguiente paso es generar los agrupamientos. Los pasos son los siguientes (Brereton, 2003).

1. Encontrar las dos muestras más similares, esto es, aquellas entre las que existe la menor distancia.
2. Formar un grupo con estas muestras. Ahora se sustituye el grupo ya formado por un punto que lo represente. Para seleccionar al representante se suelen aplicar los métodos que se ilustran en la Figura 11. En el método del centroide, los puntos que ya se forman, un grupo quedan representados por su centroide. Sin embargo en los otros métodos, el grupo queda representado por aquel punto que presente la menor distancia con respecto a la nueva muestra en el caso de la unión simple y por el de mayor distancia si se aplica el método de la unión completa; y a continuación se calculan las nuevas distancias entre el nuevo grupo formado y todas las demás muestras buscando de nuevo el valor más pequeño (Massart *et al.*, 2003).



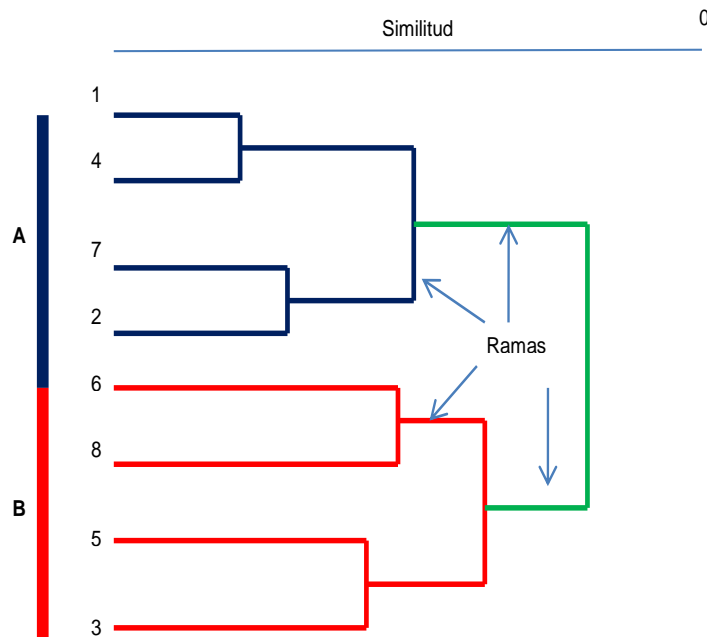
**Figura 11. Unión de un grupo con una muestra aislada de acuerdo con los métodos: (a) del centroide, (b) de la unión simple (c) y de la unión completa.**

3. Los siguientes pasos consisten en agrupar los datos de manera similar hasta que todos los objetos se unan.

El resultado es una representación gráfica llamada *dendograma*. Es una estructura en forma de árbol donde la longitud de las ramas es proporcional a la distancia entre los grupos unidos. La forma del dendograma depende del método de unión (Massart *et al.*, 2003). Habitualmente las distancias entre muestras se transforman según la siguiente escala de similitud:

$$S = 1 - \frac{d_{kj}}{d_{max}} \quad (22)$$

Donde  $d_{max}$  es la mayor distancia del conjunto de datos. En el ejemplo de la Figura 12 los objetos se dividen formando fundamentalmente dos agrupamientos ( $A$  y  $B$ ). Las muestras 1, 4, 7 y 2 presentan características similares entre sí pero distintas a las del otro grupo, constituido por las muestras 6, 8, 5 y 3.



**Figura 12. Dendrograma que representa la cercanía entre muestras.**

### 2.8.2.3 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Al utilizar métodos espectroscópicos se obtienen respuestas de cada muestra para cientos o miles de variables, en este caso longitudes de onda. La matriz,  $X_{IJ}$  representa las respuestas de  $I$  muestras analizadas a  $J$  longitudes de onda diferentes. El elevado número de variables  $J$  que caracterizan a cada muestra impiden un análisis y representación gráfica sencilla de las muestras (Adams, 1995; Kramer, 1998).

El análisis de componentes principales, es una técnica de reconocimientos por pautas no supervisadas que permite encontrar la estructura “latente” en una tabla de datos cuya lectura directa lo impide. El método trata de reducir la dimensión del conjunto de datos construyendo

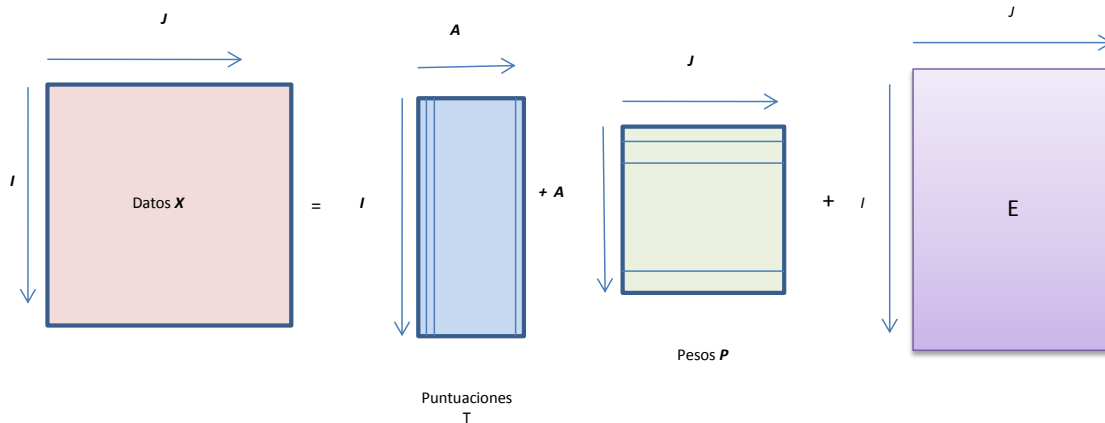
unas nuevas variables, que son ortogonales entre sí, y que reciben el nombre de componentes principales (PCs) y que son combinaciones de las variables originales o primitivas.

En este análisis la matriz de datos  $X$  formada por  $I$  objetos o muestras y  $j$  variables (dimensión  $I \times J$ ) se descompone en el producto de la matriz  $T$  y  $P$  que contienen la información relacionada con las muestras y con las variables, respectivamente (Massart *et al.*, 1997).

$$X = T \cdot P + E \quad (23)$$

En la expresión anterior la matriz  $T$  contiene las puntuaciones, valores (scores) de cada muestra en las nuevas variables de  $I$  objetos en  $A$  componentes principales. La matriz  $P$  contiene los pesos, coeficientes (*loading*) en las variables originales para generar las nuevas variables sobre  $A$  componentes principales; los escores capturan la estructura de las filas o lo que es lo mismo, las relaciones entre objetos (muestras) y los *loadings* retienen la relación existente entre las variables; donde  $E$  es una matriz residual (Massart *et al.*, 1997; Brereton, 2003).

Las matrices de puntuaciones y pesos consisten en una serie de vectores columna y fila respectivamente (Figura 13). Ambas matrices están formadas por tanto vectores como PCs puedan calcularse. Estos vectores se representan como  $t_a$  y  $p_a$  donde  $a$  es el componente considerado y reciben el nombre de vectores principales. Si la matriz de datos originales es de dimensiones  $I \times J$ , el número máximo de PCs que pueden ser calculados es el valor de la dimensión más pequeña (Massart *et al.*, 2003).



**Figura 13. Análisis de componentes principales (PCA).**

El objetivo de la técnica es que el número de componentes principales elegido explique la parte determinante de la matriz de datos de modo que los residuales sean lo más pequeños posibles. El análisis de componentes principales se aplica frecuentemente cuando se trabaja con datos colineales. Esta colinealidad en los datos significa que la información principal de las variables de  $X$  se puede condensar en un conjunto pequeño de datos  $A$ ; cada una de estas nuevas  $A$  variables se les denomina componente principal o factor. En el caso de estudiar mezclas de compuestos (Brereton, 2003), el número de PCs debería ser idéntico al número de compuestos existentes. Sin embargo, esto no es tan simple y debemos tener en cuenta otros factores como por ejemplo el ruido que pueden presentar los datos. Los primeros componentes son sin duda los más importantes. El primero explica el mayor porcentaje de varianza de los datos, el segundo el mayor de la restante y así sucesivamente. Mediante el proceso de selección del número de PCs se retiene la información significativa de las matrices y se separa de aquella relacionada con el ruido (Massart *et al.*, 2003).

La importancia de cada componente puede medirse mediante la suma de los cuadrados de las puntuaciones según la expresión:

$$g_a = \sum_{i=1}^I t_{ia}^2 \quad (24)$$

Donde  $g_a$  es el valor propio (*eigenvalue*) del componente principal  $a$ . Además, la suma de todos los valores de  $g_a$  es la suma de los cuadrados de los valores de la matriz de datos  $X$ :

$$\sum_{a=1}^K g_a = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J X_{ij}^2 \quad (25)$$

Donde  $K$  corresponde al valor más pequeño de  $I$  ó  $J$ . Frecuentemente estos valores se presentan como porcentajes tal y como lo muestra la expresión:

$$V_a = 100 \cdot \frac{g_a}{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J X_{ij}^2} \quad (26)$$

Donde  $V_a$  es el porcentaje de información modelada por el componente  $a$ . El porcentaje acumulado es utilizado a menudo para determinar la proporción de información que ha sido modelada (Adams, 1995).

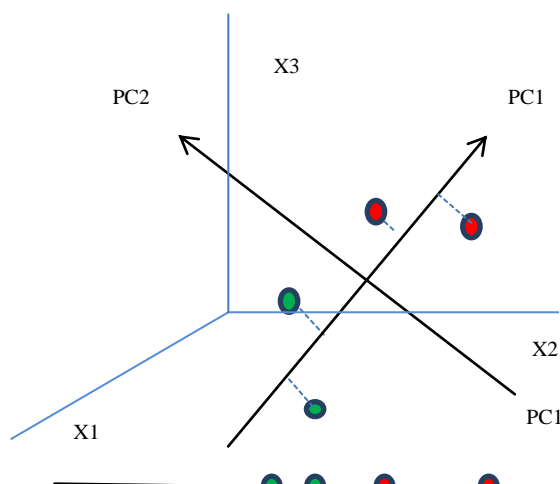
Tras aplicar esta técnica, los datos originales quedan matemáticamente modelados por medio de unos pocos componentes principales. Usando un número  $A$  de componentes es posible establecer un modelo para cada elemento de  $X$  de la forma:

$$X_{ij} = \sum t_{ia} \cdot p_{aj} + e_{ij} = \widehat{X}_{ij} + e_{ij} \quad (27)$$

que es la expresión no matricial de la ecuación (23).

Una forma más clara de visualizar esta sección es buscar una interpretación gráfico-geométrica a este análisis. Así, un objeto queda definido por un punto en el hiperespacio constituido por  $J$  variables. Esta técnica trata de reducir la dimensión construyendo unas nuevas variables de forma que los objetos estén situados en el nuevo espacio, de forma similar a como lo estaban

en el original. Esto produce un giro en el hiperespacio definido por las  $J$  variables de forma que la primera variable nueva (primer eje calculado) contenga la máxima información; la segunda (ortogonal a la primera) el máximo de la restante y así sucesivamente (Blanco y Cerda, 1988). La matriz de puntuaciones está constituida por las proyecciones de cada uno de los objetos del conjunto de datos en los nuevos ejes o componentes principales. La representación de las puntuaciones de los objetos sobre los componentes principales permite reconocer agrupamientos de las muestras (Massart *et al.*, 2003). Esto se ilustra en la Figura 14.



**Figura 14. Representación de las puntuaciones de dos clases de objetos en los dos primeros componentes principales.**

### 2.8.3 Reconocimiento de pautas supervisadas

Los métodos de reconocimiento de pautas supervisadas son también conocidos como métodos de clasificación. Su objetivo es clasificar muestras desconocidas en determinados grupos o clases a partir de la información suministrada por un grupo de entrenamiento. Aunque hay numerosos algoritmos es habitual utilizar una estrategia común para clasificar las muestras independientes de la herramienta matemática que se utilice. La estrategia consta de tres etapas (Breton, 2003).

- a) Crear un modelo con el grupo de entrenamiento.

El primer paso es generar un modelo matemático que relacione los valores de las variables medidas del conjunto de muestras con el grupo al que pertenecen. Estos objetos reciben el nombre de conjunto de entrenamiento.

- b) Comprobar la capacidad predictiva del modelo.

Después de generar el modelo se determina su capacidad predictiva. Un parámetro representativo puede ser el porcentaje de objetos correctamente clasificados.

Esto puede realizarse siguiendo distintos criterios. Dos de los más habituales se describen a continuación.

- Validación cruzada (*cross validation*).

Es una forma de validación interna del modelo. Una muestra o conjunto pequeño de muestras de ellas se excluyen del conjunto de entrenamiento. Ahora se construye un nuevo modelo sin las muestras excluidas y se comprueba la capacidad de predicción del modelo sobre ellas. El procedimiento se repite hasta que todas las muestras han quedado fuera del modelo al menos una vez (Kramer, 1998; Breerton, 2003).

- Validación externa (*test set*).

Para comprobar la calidad del modelo se realiza la predicción de un grupo independiente de muestras que no han sido utilizadas en ninguna etapa de la construcción del modelo. Se asume que estas muestras son desconocidas y se comparan los valores obtenidos tras aplicar el modelo con los valores reales conocidos (Massart *et al.*, 2003).

Cuando el modelo generado no es satisfactorio existen diferentes posibilidades de mejorarlo. Por un lado puede utilizarse otro algoritmo de cálculo o realizar una selección de variables ya que algunas pueden estar ampliamente influidas por el ruido. En lugar de utilizar todas las variables medidas se seleccionan sólo aquellas que aportan mayor información. El resto podría estar relacionado con el ruido.



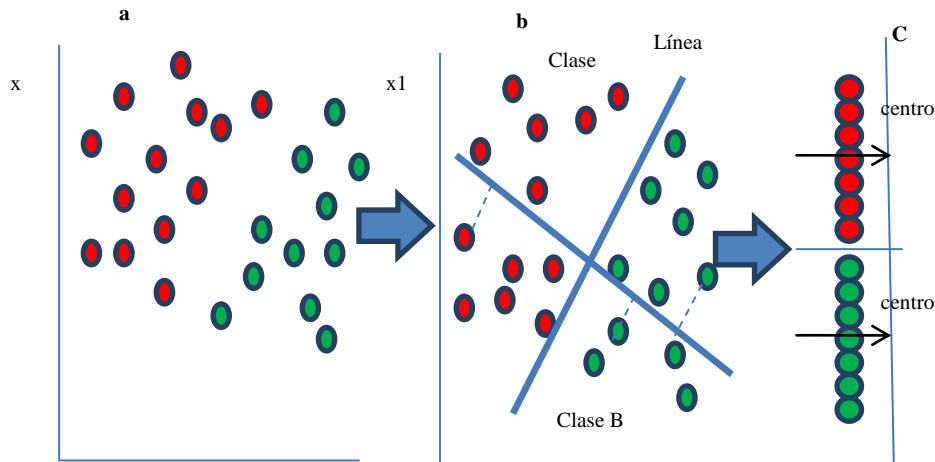
c) Predicción del conjunto desconocido de muestras.

Una vez se dispone de un modelo satisfactorio, éste podrá ser aplicado a muestras desconocidas. Un aspecto importante que se debe tener en cuenta es la estabilidad del modelo con el tiempo; es decir, cuando el conjunto desconocido de muestras se analiza semanas o incluso meses después que las correspondientes del grupo de clasificación. En algunas ocasiones es posible que existan variaciones en la respuesta instrumental registrada debido a problemas de inestabilidad de la señal con el transcurso de los días. Esto puede tener seria influencia sobre la capacidad del modelo para clasificar satisfactoriamente una muestra. En problemas de clasificación es habitual realizar algún tipo de normalización de los datos antes de su análisis (Brereton, 2003).

#### 2.8.3.1 Análisis discriminante lineal (LDA)

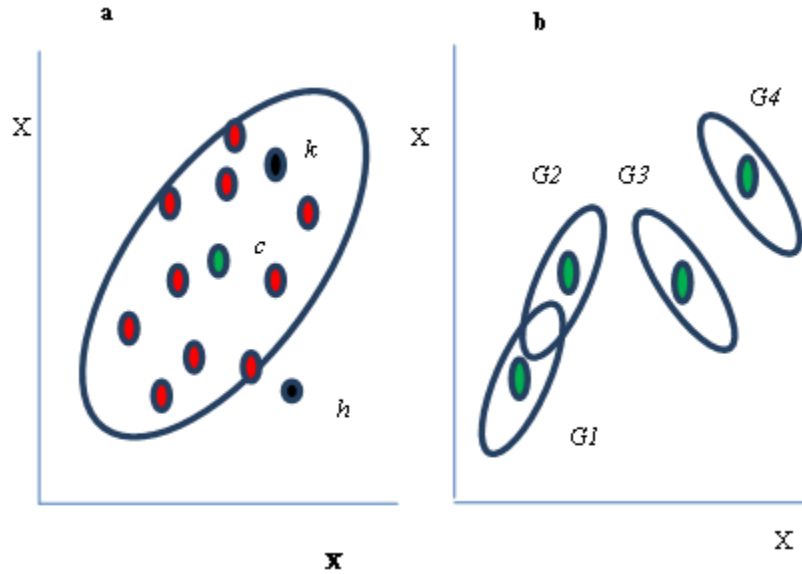
La clasificación univariante es el método más sencillo. Solo se dispondría de una variable para dividir los objetos en los grupos. Sin embargo, a menudo se requiere más de una medida para determinar a qué grupo pertenece una muestra. En la Figura 15, los objetos representados en color rojo podrían considerarse distintos de los representados en color verde. Ninguna de las variables ( $x_1$ ,  $x_2$ ) por separado es capaz de discriminar los objetos. Ambos son esenciales. En la Figura 15 es posible dibujar una línea (línea discriminante) entre ambos grupos. Los objetos por encima de la línea pertenecen a la clase A y los que están por debajo a la clase B. Gráficamente esto se puede representar mediante las proyecciones de los objetos sobre la línea perpendicular a la discriminante tal y como se muestran en las Figuras 15b y 15c. Ahora es fácil calcular el centro de cada clase y la distancia de una muestra desconocida a ambos centroides. La muestra desconocida se asignará al grupo más cercano (Massart *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos con este análisis deben ser cuidadosamente estudiados ya que aquellas muestras con características de ambas clases siempre serán asignadas, exclusivamente, a una de ellas e incluso, las muestras que no pertenecen a ninguna clase siempre serán asignadas a una de ellas (Coomans *et al.*, 1979).



**Figura 15. Análisis discriminante: (a) Dos clases de objetos definidos por las variables  $x_1$  y  $x_2$ ; (b) línea discriminante que separa a las clases de objetos; (c) proyecciones de muestras en la recta perpendicular a la línea discriminante y cálculos de centroides.**

En muchas ocasiones se utiliza la distancia de *Mahalanobis* para medir distancias entre grupos de muestras. Las Figuras 16a y Figura 16b ilustran las principales características de esta distancia. La distancia Euclídea entre el centro del grupo (punto  $C$ ) y los objetos  $k$  y  $h$  de la Figura es idéntica pero  $k$  forma parte del grupo mientras que  $h$  no. Sería deseable que la distancia de  $C$  a  $h$  fuera mayor que la distancia entre  $C$  y  $k$ . La distancia de *Mahalanobis* indica que el punto  $k$  está más “cerca” que  $h$  de  $C$  porque está situado en la dirección del eje mayor de la elipse mientras que  $h$  no. Los objetos situados dentro de la elipse tienen valores  $x_1$  y  $x_2$  que están fuertemente correlacionados. Este no es el caso de  $h$ . De manera similar en la Figura 16b, los grupos  $G_1$  y  $G_2$  están “más cerca” entre ellos que  $G_3$  y  $G_4$  según la distancia de *Mahalanobis* aunque presenten la misma distancia Euclídea. Todos los grupos tienen la misma forma y el mismo volumen pero  $G_1$  y  $G_2$  se solapan mientras que  $G_3$  y  $G_4$  no, (Massart *et al.*, 2003).



**Figura 16. Distancia de Mahalanobis que determina la similitud entre dos variables aleatorias multidimensionales.**

La distancia de Mahalanobis de una muestra  $k$  al centroide de una clase ( $A$ ) viene definida por la expresión:

$$d_{kA} = \sqrt{(x_k - \bar{x}_A)C_A^{-1}(x_k - \bar{x}_A)'} \quad (28)$$

Donde  $x_k$  es el vector fila de la muestra  $k$  que recoge el valor de todas las variables y  $\bar{x}_A$  es el que corresponde al centroide de esta clase.  $C_A$  es la matriz varianza-covarianza para este grupo (Massart *et al.*, 1997; Kramer, 1998).

En el análisis discriminante lineal pueden considerarse dos etapas: construcción de las funciones discriminantes y determinación de las reglas de clasificación. Esta técnica establece unas funciones discriminantes que forman un espacio reducido con respecto a las variables originales. La dimensión de éste espacio es, generalmente, una menos que el número de clases que posea el grupo de entrenamiento. Para la construcción de las funciones se considera el caso donde existan dos clases de objetos  $A$  y  $B$  caracterizados por una serie de variables. El objeto es ponderar y combinar linealmente las variables de manera que los conjuntos de muestras se

diferencien todo lo posible reduciendo a la vez el número de dimensiones con una pérdida mínima de información. Es posible calcular distintas funciones discriminantes lineales para separar dos clases de objetos aunque, en este caso sencillo, es suficiente una única función del tipo (Massart *et al.*, 2003).

$$D = \sum_{j=1}^J w_j y_j \quad (29)$$

Donde  $D$  es la función discriminante,  $w_j$  es el coeficiente,  $y_j$  es la variable y  $J$  es el número de variables.

La obtención de los coeficientes resulta fundamental ya que no todos los ejes proporcionan una diferencia adecuada entre clases. Esto se consigue seleccionando de entre todas las posibles funciones aquellas que producen las mayores distancias de *Mahalanobis* entre grupos diferentes. Si el número de clases es superior a dos se necesita un mayor número de funciones discriminantes. Éstas deben ser ortogonales entre sí, de forma que no compartan información.

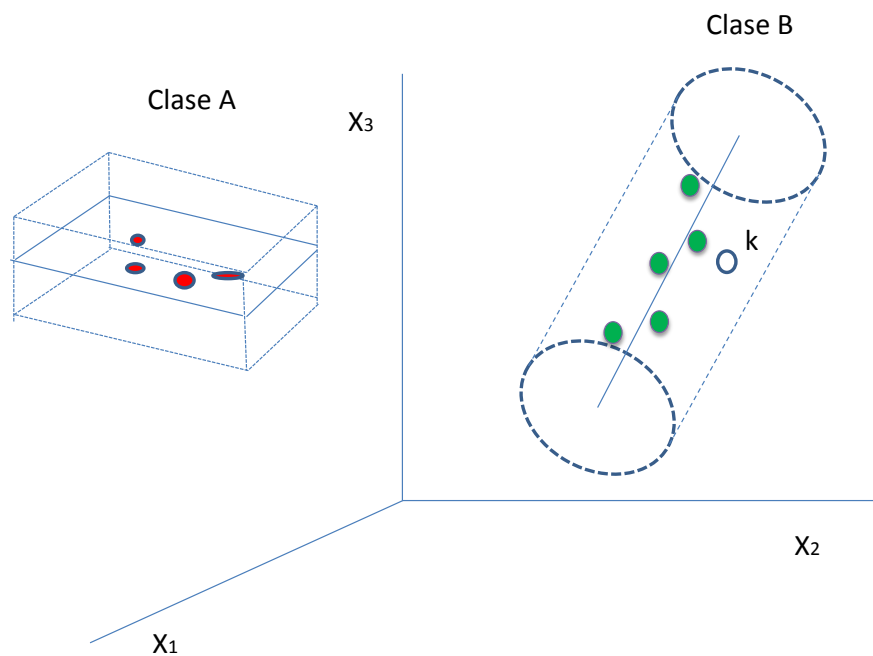
Una vez determinadas las funciones, se necesita desarrollar una regla matemáticas de clasificación que divida el espacio en tantas regiones como clases. Una posible regla, mencionada anteriormente, puede ser considerar la distancia de una muestra a los centros de las clases de forma que la muestra desconocida se asigna a la clase cuyo centroide esté más cercano.

#### 2.8.3.2 Modelo suave independiente de analogía de clases (SIMCA)

Uno de los métodos de reconocimiento por pautas supervisadas más utilizados es SIMCA (Massart *et al.*, 1997; Brereton, 1992). Mientras que en otros métodos de clasificación cada muestra se asigna solamente a una clase y ninguna queda fuera de ellas, éste permite que el resultado de la clasificación para una muestra sea que no pertenece a ninguna de las clases o que pertenece a más de una (con la misma o diferente probabilidad). En muchas situaciones

reales no es posible asignar una muestra concreta a alguna de las clases o existe la posibilidad de que algunas muestras pertenezcan a dos clases simultáneamente.

El método se basa en construir un modelo independiente para cada una de las clases mediante PCA. El número de componentes principales utilizados para cada clase puede prefijarse si se dispone de información previa o mantener un número de ellos que explique un determinado porcentaje de la varianza de los datos. En la Figura 17 se presentan dos clases de objetos, A y B; al aplicar PCA a la clase A (puntos rojos) se obtiene un modelo de dos componentes (un plano), mientras que la clase B (puntos verdes) se ajusta a un modelo de una única variable (una recta).



**Figura 17. Modelos de dos clases de objetos A y B en el espacio de sus componentes principales, regiones de confianza y predicción de dos muestras.**

Las regiones de confianza aparecen alrededor de cada clase. La asignación de los nuevos objetos se hace comprobando si están localizados en la región de confianza de algún modelo. Así el objeto  $k$  de la Figura 17 se puede asignar a la clase B mientras que  $h$  no pertenece a ninguna clase, es un “outlier”. Para cada clase y su modelo correspondiente se define la sensibilidad como el porcentaje de muestras que perteneciendo a esa clase son reconocidas

correctamente por el modelo matemático. Análogamente se define la especificidad como el porcentaje de muestra que perteneciendo a otra clase son reconocidas como ajenas al modelo (Massart *et al.*, 1997; Brereton, 2003).

Los diagramas de *Coomans* permiten visualizar estos índices ya que son representaciones bidimensionales de las distancias de las muestras a los modelos. La Figura 18 es un esquema de estos diagramas. En el eje de las abscisas se representa la distancia de la clase A y en el eje de las ordenadas a la clase B. La recta horizontal discontinua delimita el recinto de la clase B; mientras que la línea vertical discontinua delimita el recinto de la clase A. El cuadro inferior izquierdo (1) es el recinto común a ambas clases y mientras menos muestras tengan sus coordenadas en él, mayor será la especificidad de los modelos. El cuadro superior derecho (2) representa el espacio que queda fuera de ambos modelos. Las muestras con coordenadas en él son muestras extrañas a los modelos generados (Brereton, 2003).

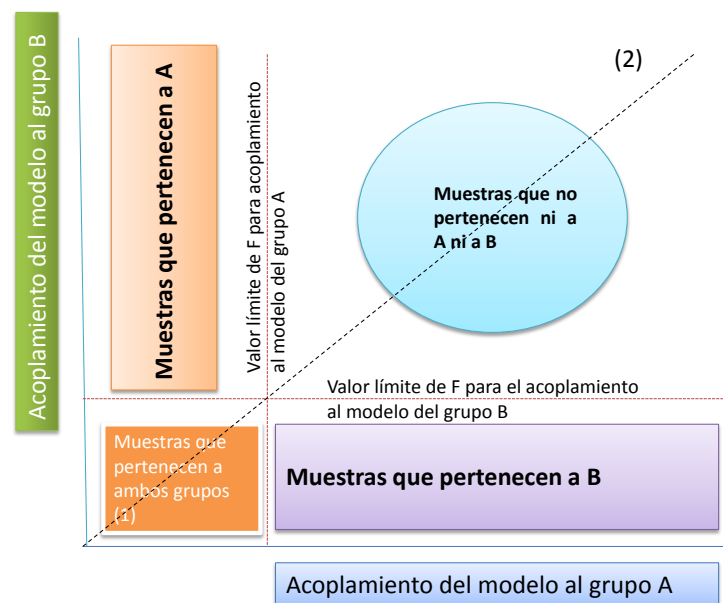


Figura 18. Diagrama de Coomans (Coomans *et al.*, 1979).

Cuando SIMCA se utiliza únicamente como técnica clasificatoria, todas las muestras que se encuentren por encima de la diagonal serán asignadas a la clase A y las muestras por debajo a la clase B.

## 2.8.4 Modelos de Calibración

### 2.8.4.1 Calibración univariante

La calibración univariante permite obtener modelos capaces de predecir una variable respuesta conociendo valores de otra correlacionada con ella (Miller y Miller, 2000). La expresión característica de este tipo de calibración es:

$$X = c's \quad (30)$$

Donde  $X$  es un vector que está formado por las respuestas analíticas para el número de muestras analizadas y  $c$  es el vector que corresponde a las concentraciones. Ambos, vectores tienen la misma longitud,  $I$ , que es igual al número de muestras el escalar  $S$  relaciona ambos parámetros.

En muchas situaciones será apropiado incluir el término adicional en el modelo de calibración, la ordenada en el origen. La calidad de las predicciones puede determinarse mediante la expresión:

$$E = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (c_i - \hat{c}_i)^2}{d}} \quad (31)$$

Donde  $(c_i - \hat{c}_i)$  es la diferencia entre las concentraciones añadidas y predicha para la muestra  $i$ , “ $a$ ” son los grados de libertad. Para la calibración univariante el número de grados de libertad es igual al número de experimentos menos el número de parámetros calculados en el modelo. Este error absoluto puede representarse como porcentaje mediante la expresión (Brereton, 2003).

$$E\% = \frac{E}{\bar{c}}100 \quad (32)$$

Donde  $\bar{c}$  es la media de las concentraciones de todas las muestras.

A partir de los modelos clásicos que incluyen ordenada en el origen es posible determinar tres varianzas de interés (Massart *et al.*, 2003).

- La varianza explicada por el modelo. Es la suma de cuadrados (SC) de las desviaciones de los valores predichos respecto a las coordenadas del centroide dividida por el número de grados de libertad que es uno.

$$S_{exp}^2 = \sum_{i=1}^I (\hat{x}_i - \bar{x}_i)^2 = SC_{exp} \quad (33)$$

- La varianza residual. Es la suma de cuadrados de las desviaciones de los valores reales respecto a los predichos divididos entre el número de grados de libertad, que en este caso es el número de experimentos realizados menos dos. Ese tipo de varianza es una medida de la dispersión de las medidas a lo largo de la línea de regresión ajustada y representa la varianza en la respuesta que el modelo no tiene en cuenta.

$$S_{tot}^2 = \frac{\sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x}_i)^2}{I-1} = \frac{SC_{tot}}{I-1} \quad (34)$$

- La varianza total. La varianza total de los puntos en ausencia del modelo se calcula mediante la suma de cuadrados de las desviaciones de los puntos respecto al centroide dividida por el número de grados de libertad,  $I-1$ .



$$S_{tot}^2 = \frac{\sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x}_i)^2}{I-1} = \frac{SC_{tot}}{I-1} \quad (35)$$

La relación entre las sumas de cuadrados es:

$$SC_{tot} = SC_{exp} + SC_{res} \quad (36)$$

Lo que manifiesta que el modelo divide la varianza total en dos, la explicada por él, y la residual. Fácilmente se puede demostrar que la relación entre  $SC_{exp}$  y  $SC_{tot}$  equivale al cuadrado del coeficiente de correlación lineal (Brereton, 2003).

$$R^2 = \frac{\sum(\hat{x}_i - \bar{x}_i)^2}{\sum(x_i - \bar{x}_i)^2} = \frac{SC_{exp}}{SC_{tot}} \quad (37)$$

El parámetro  $R^2$  se denomina coeficiente de determinación y expresa el porcentaje de variación total de los datos que es explicada por el modelo. Se utiliza para comprobar el porcentaje de información modelada por la regresión pero necesariamente no implica que el modelo más adecuado, para ajustar los datos, sea el lineal incluso cuando sus valores sean próximos a 1. Además de obtener un buen coeficiente de correlación es importante comprobar que el modelo generado no contiene fallo de ajuste. Para ello, es necesario tener réplicas de cada nivel de concentración (Massart *et al.*, 1997; Kramer, 1998).

La secuencia que se representa a continuación corresponde a un conjunto de muestras con  $n$  niveles de concentraciones diferentes, repetido cada uno  $p$  veces.  $X_{ij}$  son los valores experimentales obtenidos para las muestras.

$$\begin{bmatrix} C_1 & X_{11} \cdots X_{1j} & X_{1p} \\ C_2 \vdots & X_{21} X_{22} \ddots & \vdots X_{2p} \\ C_N & X_{n1} \cdots X_{nj} & X_{np} \end{bmatrix} \quad (38)$$

Ahora es posible dividir la variación residual,  $SC_{res}$ , en dos partes:

- Variación debido al error puro. Mide la variación debida al error experimental según la expresión:

Donde  $\bar{x}_i$  es la media de las medidas realizadas para cada nivel de concentración.

- Variación debida al cambio de ajuste. Es un componente que mide la variación de la media de las muestras repetidas para cada nivel de concentración a lo largo de la línea de regresión mediante la expresión:

$$SC_{fallo\ de\ ajus} = SC_{res} - SC_{error} \quad (39)$$

Las varianzas asociadas a estos factores se obtienen dividiendo las sumas de cuadrados entre el número de grados de libertad tal y como se indica en las siguientes expresiones:

$$S_{error} = \frac{SC_{error}}{n(p-1)} \quad (40)$$

$$S_{fallo\ de\ ajus}^2 = \frac{SC_{res} - SC_{error}}{n-2} \quad (41)$$

El posible fallo de ajuste se puede comprobar comparando la relación  $F = \frac{S_{fallo\ de\ ajus}^2}{S_{error}^2}$  obtenida experimentalmente con el valor crítico tabulado de F a  $(n-2)$  y  $n(p-1)$  grados de libertad y un

determinado nivel de significancia. Si la diferencia es significativa (la varianza del fallo de ajuste es mayor que la varianza debida al error puro) se puede concluir que el modelo es inadecuado debido a que la variación de las medias correspondientes a las muestras repetidas con el mismo nivel de concentración no puede ser explicado en términos de la incertidumbre del error puro. En este caso es aconsejable adoptar un modelo diferente. En caso contrario el modelo no representa fallo de ajuste y es adecuado para representar el conjunto de muestras estudiadas (Massart *et al.*, 1997).

#### 2.8.4.2 Regresión lineal múltiple

La regresión lineal múltiple (MLR) es una extensión del modelo univariante, en la MLR se utiliza más de una variable predictora o respuesta instrumental. Las principales razones para utilizar estos métodos son dos: en primer lugar es posible que exista más de un compuesto en las muestras que se quieren analizar. En estas circunstancias es necesario utilizar más de una respuesta (Esbensen *et al.*, 1996).

Para  $n$  compuestos al menos deben medirse  $n$  respuestas diferentes. La segunda razón está relacionada con el hecho de que cada respuesta contiene algún tipo de información, y aunque algunas pueden contener ruido o interferencias desconocidos, los modelos que incluyen más de una variable predictora proporcionan, generalmente mejores resultados que aquellos contruidos con una sola.

Esta técnica proporciona buenos resultados cuando se incluyen en el modelo todos los compuestos que contribuyen a la señal de medida. En caso contrario las predicciones empeoran notablemente. Supongamos una mezcla de diez compuestos. La MLR proporciona resultados adecuados si se dispone de información suficiente de los diez compuestos. Sin embargo, si solo se sabe de la presencia de tres de ellos, las predicciones son erróneas, ya que el resto de los compuestos distorsionan el modelo. Los compuestos no modelados contribuyen al cálculo de los coeficientes de las variables predictoras aunque luego se afirma que el modelo formado corresponde a un número menor de compuestos. Este problema podría solucionarse en parte, si se seleccionan exclusivamente las variables más importantes de los tres compuestos que se

estudian. La necesidad de modelar todos los compuestos significativos es la mayor limitación de la MLR (Brereton, 2003).

#### 2.8.4.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS)

La regresión por mínimos cuadrados parciales es a menudo considerada como la técnica de regresión multivariante más importante y a diferencia de la técnica anterior no requiere de un modelo exacto para todos los compuestos (Brereton, 2003).

El método está basado en el análisis de componentes principales y no requiere detalles de todos los compuestos presentes en las muestras aunque será necesario realizar una estimación del número de componentes principales significativos que no se correspondan necesariamente con el número de especies químicas (Brereton, 2000).

Uno de los aspectos más importantes de esta técnica de calibración frente a otras como la regresión por componentes principales (PCR) es que tiene en cuenta no solo los posibles errores del bloque de datos  $X$ , sino también los relacionados con la estimación de la concentración. Existen dos métodos que se denominan PLS1 Y PLS2, que a continuación se describen.

##### 2.8.4.3.1 PLS1

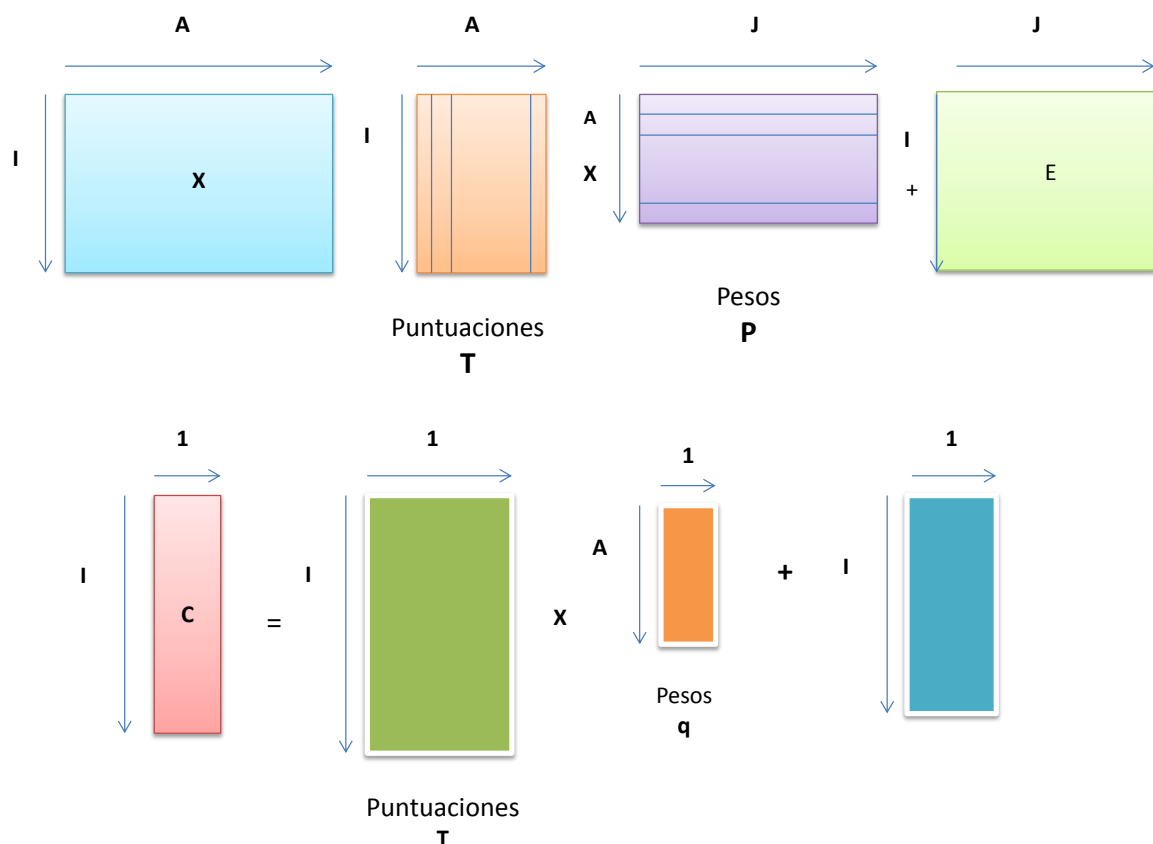
Los bloques de matrices  $X$  y  $c$  se descomponen en sus componentes principales de acuerdo con las siguientes expresiones (Brereton, 2003).

$$x = T \cdot P + E \quad (42)$$

$$c = T \cdot q + f \quad (43)$$

Estas matrices se representan en la Figura 19; el producto de las matrices  $T \cdot P$  y  $T \cdot q$  se aproxima a los valores medidos con la configuración instrumental utilizada y a las concentraciones reales

de cada muestra; E y f son las matrices de error. La matriz de puntuaciones T es común a ambos bloques, X y c. Como puede observarse para cada componente “a” existe un vector de puntuaciones o “scores”, un vector de peso o “loadings” y una matriz residual (Massart *et al.*, 1997). Cada compuesto considerado genera una matriz de puntuaciones distintas, al contrario que en otras técnicas como PCR donde hay una matriz de puntuaciones para todos los compuestos de la mezcla.



**Figura 19. Representación gráfica del modelo PLS1 (Massart *et al.*, 1997).**

#### 2.8.4.3.2 PLS2

La calibración mediante PLS2 permite el uso de una matriz de concentraciones  $C$ , en lugar de los vectores de concentración  $c$  de cada compuesto individual de la mezcla. Las ecuaciones (42-43) se transforma ligeramente y  $q$  se convierte en la matriz  $Q$ ; el número de columna en  $C$  y en

$Q$  es igual al número de compuestos estudiados. En PLS1 se requiere que cada compuesto sea modelado independientemente mientras que en PLS2 todos se modelan conjuntamente. Las concentraciones estimadas mediante ambas técnicas pueden no ser iguales.

PLS2 puede ser útil (Brereton, 2003), en los casos donde existe correlación entre la concentración de los compuestos estudiados. En lugar de obtener un modelo independiente para cada compuesto de una mezcla, PLS2 permite analizar todos los datos de una vez. Sin embargo, en muchas situaciones las predicciones realizadas mediante esta técnica son peores que las estimaciones correspondiente mediante PLS1. Una posible estrategia puede ser realizada por PLS2 sobre el conjunto de datos como primera aproximación y después realizar PLS1 individualmente sobre cada compuesto conocido.

### 2.8.5 Validación de modelos

Uno de los aspectos más importantes de los métodos de calibración es la validación de los modelos. Esta facilita la información fundamental sobre el número de componentes significativos necesarios para caracterizar un conjunto de datos y sobre la capacidad predictiva de los modelos en futuras muestras. Es posible obtener un buen ajuste entre los valores reales y los calculados mediante PLS aumentando el número de componentes considerados. Éste puede llegar, incluso, a ser completo si se utilizan todos los componentes PLS. Los principales métodos de validación se describen a continuación (Massart *et al.*, 1997).

- Auto predicción. Es la aproximación más sencilla y se basa en calcular la raíz cuadrada de las medias del error de calibración al cuadrado para cada compuesto, se calcula mediante la expresión (Kramer, 1998).

$$E_{cal} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (c_i - \hat{c}_i)^2}{I}} \quad (44)$$

Donde  $I$  es el número de muestras y la expresión entre paréntesis representa la diferencia entre la concentración puesta y predicha por el modelo. Generalmente este modelo de validación no se utiliza, ya que los datos pueden llegar a tener un ajuste perfecto aumentando simplemente el número de componentes del modelo.

- Validación cruzada (*cross validation*). La capacidad predictiva del modelo se comprueba separando pequeños números de muestras del conjunto de calibración y analizando las predicciones obtenidas para este conjunto para el modelo reducido. Aunque existen diversos criterios, es habitual retirar solo una muestra del modelo y predecir su concentración. Este se repite  $I$  veces de modo que al final todas las muestras se han predicho una vez. El error cometido cuando se utiliza la validación cruzada (CV) se calcula mediante la expresión (Massart *et al.*, 2003).

$$E_{cv} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (C_i - \hat{C}_i^{cv})^2}{I}} \quad (45)$$

Donde  $\hat{C}_i^{cv}$  es la concentración predicha de la muestra  $i$  del grupo de validación cruzada.

- Validación externa (*Test set*). Uno de los puntos débiles de la validación cruzada es que depende de cómo se ha realizado el diseño experimental para formar el modelo de calibración. Si dos compuestos están correlacionados, de forma que cuando la concentración de uno aumenta la del otro también y viceversa, la auto-predicción e incluso la validación cruzada puede sugerir que el modelo de calibración es adecuado. Sin embargo, si una futura muestra de predicción con un contenido elevado de los compuestos presenta un contenido bajo del otro es muy probable que los resultados de predicción se alejen de los valores reales. La validación cruzada es muy útil para informar sobre el ruido instrumental o errores de dilución y pesada por ejemplo; pero no es de gran ayuda si existe correlación en las concentraciones del grupo de patrones de calibración (Massart *et al.*, 2003).

En lugar de la validación interna es posible comprobar la calidad predictiva del modelo con un conjunto independiente de muestras que no se han utilizado en ninguna etapa durante la construcción del modelo. El error cometido cuando se utiliza un grupo independiente o “test set” de muestra  $I$  es:

$$E_{test} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (C_i - \hat{C}_i^{test})^2}{I}} \quad (46)$$

Donde  $\hat{C}_i^{test}$  es la concentración predicha de la muestra  $i$  del grupo e validación externa. A partir de los valores absolutos de las Ecuaciones (44 y 45) es habitual expresar el resultado en término relativos, nuevamente, mediante la expresión (32). Finalmente el sesgo (*bias*) del modelo y del grupo de validación se cuantifica mediante la expresión (Massart *et al.*, 2003).

$$S = \frac{\sum_{i=1}^I (C_i - \hat{C})}{I} \quad (47)$$

Donde  $I$  es el número de muestras del modelo o del grupo de validación.

### 2.8.6 Aplicación de los métodos instrumentales y quimiométricos

Los métodos instrumentales y quimiométricos son empleados con frecuencia; ya que son rápidos, confiables, económicos, efectivos y amigables con el medio ambiente (Irudarayaj *et al.*, 2001). Podemos decir que la aplicación de la quimiometría puede ser ilimitada, citaremos algunos ejemplos de su uso:

- En la industria de alimentos son utilizados con éxito en la caracterización de distintos productos (Downey, 1998), como el aceite de oliva (García *et al.*, 2005) y vinos (Coimbra *et al.*, 2002). En la caracterización de propiedades físicas y química de quesos (Prabhakar *et al.*, 2011) y del jugo de manzana (Sivakesava *et al.*, 2001). La quimiometría es usada también en la tipificación de muestras de harina de pescado, carne y soya (Cozzolino *et al.*, 2009).
- En la industria farmacéutica son útiles para determinar la vida de anaquel de fármacos (Mösli *et al.*, 1997).



- En las ciencias ambientales son una herramienta versátil para caracterizar y estudiar procesos de degradación de diversos contaminantes como petróleo, plaguicidas, suelos contaminados por petróleo, entre otros (Guerrero *et al.*, 2006).
- En la agricultura se pueden emplear para determinar la fertilidad de los suelos, el contenido de minerales en plantas, determinar parámetros de calidad de en frutos y semillas; y en la adulteración genética de plantas y semillas (Casale *et al.*, 2007; Jarquín *et al.*, 2012).
- En la industria química y petroquímica se están usando para desarrollar modelos de calibración para el control en tiempo real de procesos industriales; y para la optimización de procesos en la industria del petróleo y petroquímica (Macho y Larrechi, 2002).
- Control de calidad de combustibles y biocombustibles. La espectroscopia de infrarrojo y técnicas quimiométricas (PCA, SIMCA) se han empleado para determinar la adulteración de combustibles (Balabin y Smirnov, 2011). Así mismo, se han usado para construirse modelos de predicción para determinar propiedades físicas y químicas de combustibles o biocombustibles (Santos *et al.*, 2005). También puede usarse la quimiometría para desarrollar modelos matemáticos para el control del proceso de transesterificación en tiempo real “*on-line*” (Romain *et al.*, 2011) o para determinar la vida útil de biocombustibles en contenedores (Chuck *et al.*, 2010).

## 2.9 LITERATURA CITADA

- Abdullah, A. Z., Salamatinia, B., Mootabadi, H. and Bhatia S. 2009. Current status and policies on biodiesel industry in Malaysia as the world's leading producer of palm oil. *Energy Police*. 37:5440-5448.
- Adams, M. J. 1995. *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*. First edition. Editorial The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK. 214 p.
- Albuquerque, M. C. G., Santamaría, G. J., Mérida, R. J. M., Moreno, T. R., Rodríguez, C. E., Jiménez, L. A., Azevedo, D. C. S., Cavalcante, C. L. and Maireles, T. P. 2008. MgM (M=Al and Ca) oxides as basic catalyst in transesterification processes. *Applied Catalysis A: General*. 347:162-168.
- Ávila, A., Bula, A. y Sanjuán, H. 2008. Cinética de la transesterificación de la oleína de palma africana con etanol. *Interciencia*. 33: 232-236.
- Balabin, R. M. and Smirnov, S. V. 2011. Variable selection in near-infrared spectroscopy: benchmarking of feature selection methods on biodiesel data. *Analytica Chimica Acta*. 692:63-72.
- Balat, M. 2011. Prospects for worldwide biodiesel market development. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning, and Policy*. 4:48-58.
- Blanco, M. y Cerdá, V. 1998. *Quimiometría*. Editorial, Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, España. 326 p.
- Brereton, R. G. 1992. *Chemometrics applications of mathematics and statistics to laboratory systems*. First edition. Editorial Ellis Harwood. Chichester, England. 387 p.
- Brereton, R. G. 2000. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *Analyst tutorial Review. Chemometrics*. 125:2125-2154.
- Brereton, R. G. 2003. *Chemometrics data analysis for the laboratory and chemical plant*. First edition. Editorial John & Wiley Sons, Ltd. Chichester, England. 423 p.

- Caires, A. R. L., Lima, V. S. and Oliveira, S. L., 2012. Quantification of biodiesel content in diesel/biodiesel blends by fluorescence spectroscopy: evaluation of the dependence on biodiesel feedstock. *Renewable Energy*. 46:137-140.
- Casale, M., Armanino, C., Casolino, C. and Forina, M. 2007. Combining information from headspace mass spectrometry and visible spectroscopy in the classification of the Ligurian olive oils. *Analytica Chimica Acta*. 589:89-95.
- Chakraborty, R. and Barnejee, A. 2010. Prediction of fuel properties of biodiesel produced by sequential esterification and transesterification of used frying soybean oil using statistical analysis. *Waste Biomass Valor*. 1:201-208.
- Chapra, S. C. y Canale, P. R. 2007. *Métodos Numéricos para Ingenieros*. Quinta edición, Editorial McGraw-Hill. México, D. F. 976 p.
- Chuck, C. J., Bannister, C. D., Hawley, J. G. and Davidson, M. G. 2010. Spectroscopic sensor techniques applicable to real-time biodiesel determination. *Fuel*. 89:457-461.
- Coelho, M. J., Fernandes, C., Pimentel, M. F., Vera Cruz, F. and Brito, A. G. 2011. Screening analysis to detect adulteration in diesel/biodiesel blends using near infrared spectroscopy and multivariate classification. *Talanta*. 85:2159-2165.
- Cogorzinho, C. N. C., Pasa, V. M. D. and Barbeira, P. J. S. 2008. Determination of residual oil in diesel oil by spectrofluorimetric and chemometrics analysis. *Talanta*. 76:479-484.
- Coimbra, M. A., Gonscalves, F., Barros, A. S. and Delgadillo, I. 2002. Fourier transforms infrared spectroscopy and chemometrics analysis of white wine polysaccharide extract. *J. Agric. Food Chem*. 50:3405-3411.
- Coomans, D., Massart, D. L. and Kaufman, L. 1979. Optimization by statistical linear discriminate analysis in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*. 112:97-122.
- Cozzolino, D., Restaino, E., La Manna, A. Fernández, E. and Fassio, A. 2009. Usefulness of near infrared reflectance (NIR) spectroscopy and chemometrics to discriminate between fishmeal, meat meal and soya meal samples. *Cienc. Inv. Agr*. 36:209-214.

- Darnoko, D. and Cheryan, M. 2000. Continuous producción of palm methyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77:1269-1272.
- Demain, A. L. 2009. Biosolutions to the energy problem. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.* 36:319-332.
- Demirbas, A. 2009. Characterization of biodiesel fuels. *Energy Sources, Part A.* 31:889-896.
- Downey, G. 1998. Food and food ingredient authentication by Mid-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Trends Anal. Chem.* 17:312-319.
- Einax, J. W., Zwanziger, H. W. and Geiß, S. 1997. Chemometrics in environmental analysis. First edition. Editorial Wiley-VCH Verlag. Weinheim, Germany. 379 p.
- Eisberg, R. y Resnick, R. 1983. Física Cuántica, átomos, moléculas, sólidos, núcleos y partículas. Primera edición. Editorial Limusa, México, D. F. 839 p.
- Esbensen, K., Schonkopf, S. and Midtgaard, T. 1996. Multivariate analysis in practice. First edition. Editorial Camo. Trondheim, UK. 294 p.
- Flóres, F. M., de Souza, V. M., Panta, P. R. E., Fachini, D., Gerbase, A. E. and Marder, L. 2011. Simultaneous determination of quality parameters of biodiesel/diesel blends using HATR-FTIR spectra and PLS, *i*PLS or *si*PLS regressions. *Fuel.* 90:701-706.
- Freedman, B., Butterfield, R. O. and Pryde, E. H. 1986. Trasesterificación kinetics of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63:1375-1380.
- García, S. A., Ramos, N. N. y Ballesteros, E. 2005. Estudio comparativo de distintas técnicas analíticas (espectroscopia de NIR y RMN y extracción mediante Soxhlet) para la determinación del contenido graso y de humedad en aceitunas y orujo de Jaén. *Grasas y Aceites.* 3:220-227.
- Gaydou, V., Kister, J. and Dupuy, N. 2011. Evaluation of multiblock NIR/MIR PLS predictive models to detect adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetal oil. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* 106:190-197.

- Gee, P. T. and Goh, S. H. 2001. Chiral and dietary diacylglycerols. *Malays Oil Sci. Technol.* 10:49-50.
- Gee, P. T. 2007. Analytical characteristics of crude and refined palm oil fractions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109:373-379.
- Giovannitti J. A. and Myers R. H. 1989. Graphical assessment of the prediction capability of response surface designs. *Technometrics.* 31:159-175.
- Goswami, D., Sen, R., Basu, J. K. and De, S. 2009. Maximization of bioconversion of castor oil into ricinoleic acid by response surface methodology. *Biores. Technol.* 100:4067-4073.
- Gubler, R. 2006. Biodiesel. CEH Marketing research report, Chemical Economic Handbook-SRI Consulting, USA.
- Guerrero, P. A. 2006. Estudio de la contaminación en suelos por petróleo crudo mediante generación de espacio de cabeza-espectrometría de masas. Tesis de Doctorado. Universidad de Salamanca. Salamanca, España.
- Gutiérrez, R. J. A., Olmos, G. M. A. y Casillas, G. J. M. 2010. Análisis numérico. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill. México, D. F. 528 p.
- Gwi T. J., Hee-Seung, Y. and Park, D. H. 2009. Optimization of transesterification of animal fat ester using response surface methodology. *Biores. Technol.* 100:25-30.
- Harris, C. D. 2008. Análisis cualitativo. Primera edición. Grupo Editorial Iberoamericano. México, D. F. 354 p.
- Haas, M. J., Mc-Aloon, A. J., Yee, W. C. and Foglia, T. A. 2006. A process model to estimate biodiesel production costs. *Biores. Technol.* 97:671-678.
- He, C., Boaxiang, P., Dezheng, W. and Jinfu, W. 2007. Biodiesel production by the transesterification of cottonseed oil by solid acid catalysts. *Front. Chem. Eng. China.* 1:11-15.
- Hollas, J. M. 1992. *Modern Spectroscopy*. First edition. Editorial John Wiley & Sons. Chichester, UK. 671 p.

- Infometrix 2000. Pirouette. Multivariate data analysis, V. 4.5, Woodinville, W. A., USA.
- Irundayaraj, J., Sivakesava, S., Kamath, S. and Yang, H. 2001. Monitoring chemical changes in some food using Fourier Transform photoacoustic spectroscopy. *Journal of Food Science*. 9:1416-1421.
- Johnston, M. and Holloway, T. 2007. A global comparison of national biodiesel production potentials. *Policy Analysis*. 41(23):7967-7973.
- Kapilan, N., Babu, T. P. A. and Reddy, R. P. 2010. Study of variables affecting the synthesis of biodiesel from *Madhuca indica* oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 112:180-187.
- Kim, H. J., Kang, B. S., Kim, M. J., Park, Y., Kim, D. K., Lee, J. S. and Lee, K. Y. 2004. Transesterification of vegetables oil to biodiesel using heterogeneous base catalyst. *Catal. Today*. 93-95:315-320.
- Kiss, A. A., Omota, F., Dimian, A. C. and Rothenberg, G. 2006. The heterogeneous advantage: biodiesel by catalytic reactive distillation. *Topics in Catalysis*. 40:1-4.
- Knothe, G. 2006. Analyzing biodiesel: Standards and others methods. *Review. J. Am. Oil Chem. Soc.* 83(10):823-833.
- Kramer, R. 1998. *Chemometrics techniques for quantitative analysis*. First edition. Editorial Marcel Dekker. N. Y. USA. 197 p.
- Leung, D. Y. C., Wu, X. and Leung, M. K. H. 2010. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy*. 87:1083-1095.
- Lotero, E., Liu, Y., Lopez, D. E., Suwannakern, K., Bruce, D. A. and Goodwin, J. G. 2005. Synthesis of biodiesel via acid catalysis. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44:5353-5363.
- Macho, S. and Larrechi, M. S. 2002. Near-infrared spectroscopy and multivariate calibration for the quantitative determination of certain properties in the petrochemical industry. *Trends in Analytical Chemistry*. 21:799-806.

- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. M., Michotte, Y. and Kaufman, L. 2003. Chemometrics: a textbook. Fifth edition. Editorial Elsevier. Amsterdam, Netherlands. 487 p.
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. J. and Smeyers-Verbeke, J. 1997. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics. First edition. Editorial Elsevier. Amsterdam. Netherlands. 429 p.
- Matassoli, A. L., Correa, I. N. S., Portilho, M. F., Veloso, C. O. and Langone, M. A. P. 2009. Enzymatic synthesis of biodiesel via alcoholysis of palm oil. Appl. Biochem. Biotechnol. 155:347-355.
- Mazo, P. C., Restrepo, G. M., Ríos, L. A. y Marín, J. M. 2008. Optimización de la producción de alquil ésteres a partir de aceite de palma, empleando la metodología de superficie de respuesta. Información Tecnológica. 19:37-48.
- Meher, L. C., Sagar, V. and Naik, S. N., 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification- a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 10:248-268.
- Meira, C. M. Quintella, T. M. Ferrer, H. R. Goncalves, A. K. Guimarães, M. Andrade, P. R. da Costa R. and Pepe L. M. 2001. Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3D e análise das componentes principais. Quim. Nova. 34: 621-624.
- Merritt, W. and Settle, D. 1988. Métodos instrumentales de análisis. Segunda edición. Editorial CECSA, México, D. F. 872 p.
- Miller, J. C. and Miller, J. N. 2000. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. Second edition. Editorial Addison-Wesley. Wilmington, Delaware, E. U. A. 210 p.
- Mirghani, M. E. S., Kabbashi, N. A., Alam, M. Z., Qudsieh, I. Y. and Alkabit, M. F. R. 2011. Rapid Method for the determination of moisture content in biodiesel using FTIR spectroscopy. J. Am. Oil Chem. Soc. 88:1897-1904.
- Montgomery, D. C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Primera edición. Grupo Editorial Iberoamericana. México, D. F. 589 p.

- Monteiro, M. R., Ambrozin, A. R. P., Da Silva, S. M., Boffo, E. F., Rodrigues, P. F. E., Morais, L. L., and Ferreira, A. G. 2009a. Evaluation of biodiesel-diesel blends quality using  $^1\text{H}$  NMR and chemometrics. *Talanta*. 78:660-664.
- Monteiro, M. R., Ambrozin, A. R. P., Liao, L. M., Boffo, E. F., Pereira, F. E. R. and Ferreira, A. G. 2009b.  $^1\text{H}$  NMR and multivariate calibration for the prediction of biodiesel concentration in diesel blends. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86:581-585.
- Mösli, W. S. S., Kreyschmar, J. A. and Baumann, T. W. 1997. N-methyl transferase activities in caffeine biosynthesis: biochemical characterization and time course during leaf development of coffee Arabica. *Phytochemistry*. 44:853-859.
- Myeres R. H., Khuri A. I. and Carter H. W. 1989. Response surface methodology: 1966-1988. *Technometrics*. 31:137-157.
- Narvaez, P. C., Sánchez, F. J. and Godoy-Silva, R. D. 2009. Continuous methanolysis of palm oil using liquid-liquid film reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86:343-352.
- Oliveira, F. C. C., Brandao, C. R. R., Ramalho, H. F., da Costa, L. A. F., Suarez, P. A. Z. and Rubim, J. C. 2007. Adulteration of diesel/petrodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. 587:194-199.
- Osborne, B. G., Fearn, T. and Hindle, P. H. 1998. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. First edition. Editorial Longman Scientific & Technical. UK.497 p.
- Palligarnai, T., Vasudevan, M. B. and Winkle J. 2008. Biodiesel production state of the art and challenges. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 35:421-430.
- Park, J. Y., Kim, D. K., Wang, Z. M., Lu, P., Park, S. C. and Lee, J. S. 2008. Production and characterization of biodiesel from tung oil. *Appl Biochem Biotechnol*. 148:109-117.
- Pickering, W. F. 2007. Química analítica moderna. Primera edición. Editorial Reverte. México, D. F. 702 p.



- Poku, K. 2002. Small-scale palm oil processing in Africa. *FAO agricultural services bulletin*. 148.
- Prabhakar, V., Kocaoglu, V. N., Harper, J. and Rodriguez, S. L. 2011. Classification of swiss cheese starter and adjunct cultures using Fourier transform infrared microspectroscopy. *J. Dairy Sci.* 94:4374-4382.
- Qian, J. F., Wang, F., Liu, S. and Yun, Z. 2008. In situ alkaline transesterification of cottonseed oil for production of biodiesel and nontoxic cottonseed meal. *Bioresour Technol.* 99:9009-12.
- Quanlu, W. M. and H. Hong. 2009. Transportation: meeting the dual challenges of achieving energy security and reducing greenhouse gas emissions. *Front. Energy Power Eng. China.* 3(2):212-215.
- Quinn, A. C., Gemperline, P. J., Baker, B., Zhu, M. and Dwight, S. W. 1999. Fiber-optic UV/visible composition monitoring for process control batch reactions. *Chemometrics Intelligent Laboratory Systems.* 45:199-214.
- Ramadhya, A. S., Jayaraj, S. and Muraleedharan, C. 2004. Use of vegetable oils as I. C. engine fuels-A review. *Renew. Energy.* 29:727-742.
- Ramis, R. G. y García, C. M. C. 2001. *Quimiometría*. Primera edición. Editorial Síntesis. Madrid, España. 240 p.
- Ryan, L., Convery, F. and Ferreira, S. 2006. Stimulating the use of biofuels in the European Unión: implications for climate change policy. *Energy Policy.* 34:3184-3194.
- Romain, R., Li, Y., Dubreuil, B., Thiebaud-Roux, S. and Prat, L. 2011. On-line monitoring of the transesterification reaction between triglycerides and the ethanol using near infrared spectroscopy combined with gas chromatography. *Biores. Technol.* 102:6702-6709.
- Rubinson, K. A. and Rubinson, J. F. 2001. *Análisis instrumental*. Primera edición. Editorial Prentice Hall. Madrid, España. 872 p.

- Santacruz, E. E., Morales, G. S. y Palacio, M., V. H. 2012. Políticas gubernamentales y reconversión productiva: el caso de la palma africana en México. *Observatorio de la Economía y la Sociedad Latinoamericana*. 170:1-34.
- Santos, V. O., Oliveira, F. C. C., Lima, D. G., Petry, A. C., García, E., Suarez, P. A. Z. and Rubin, J. C. 2005. A comparative study of diesel analysis by FTIR, FTNIR and FT-Raman spectroscopy using PLS and artificial neural network analysis. *Analytica Chimica Acta*. 547:188-196.
- Scherer, M., Oliveira, S. L., Lima, S. M., Andrade, L. H. C. and Caires, A. R. L. 2011. Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: a method based on fluorescence spectroscopy. *J. Fluoresc.* 21:1027-1031.
- Schwedt, G. 1997. *The essential guide to analytical chemistry*. First edition. Editorial John Wiley & Sons. Chichester, England. 461 p.
- Sharma, Y. C. and Bhaskar, S. 2011. Advancements in solid acid catalysts for ecofriendly and economically viable synthesis of biodiesel. *Biofuels Bioproducts & Biorefining*. 5:69-92.
- Silverstein, R. M. and Webster, F. X. 1998. *Spectroscopic identification of organic compounds*. First edition. John Wiley & Sons, N. Y. USA. 398 p.
- Sivakesava, S. and Irudayraj, J. 2001. A rapid spectroscopic technique for determining honey adulteration with corn syrup. *Journal of Food Science*. 6:787-791.
- Soares, I. P., de Oliveira, R. M., Dardot, P. R. G., Augusti, R., Pereira, I. C. and Duarte, V. M. 2011. Avaliação da eficiencia das tecnicas ESI-MS e ATR/FTIR na determinação de adulteração de bioetanol com querosene e óleo residual. *Quimica Nova*. 34, 1439-1442.
- Sousa, F. D. D., Gomes, A. A., Bezerra, G., Da Silva, G. W. B. and Vêras, G. 2011. Determination of biodiesel content in biodiesel/diesel blends using NIR and visible spectroscopy with variable selection. *Talanta*. 87:30-34.
- Srivastava, A. and Prasad, R. 2000. Triglycerides-based diesel fuels. *Renew. Sust. Energy Rev.* 4:111-113.

- Tyagi, O., Atray, N., Kumar, B. and Datta, A. 2010. Production, characterization and development of standards for biodiesel-A Review. *Journal of Metrology Society of India*. 25(3):197-218.
- Umer, R., Farooq, A. and Arif, M. 2008. Optimization of base catalytic methanolysis of sunflower (*Helianthus annuus*) seed oil for biodiesel production by using response surface methodology. *Ind. & Eng. Chem. Res.* 48:1719-1726.
- Velázquez, M. J. R. y Gómez, V. A. 2010. Palma africana en Tabasco. Primera edición. Editorial Colección José N. Robirosa. Universidad Juárez de Tabasco, México. 288 p.
- Vera, F., Fernandes, P., Pimentel, M. F., Coelho, M. J. and Fernandes, C. 2012. Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils. *Analytica Chimica Acta*. 716:101-107.
- Vicente, G., Martínez, M. and Aracil, J. 2005. Optimizacition of *brassica carinata* oil methanolysis for biodiesel production. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82:899-904.
- Xiao, X., J., Ellis, N. and Zhaoping, Z. 2011. Fuel properties of bio-oil/bio-diesel mixture characterized by TG, FTIR and <sup>1</sup>H NMR. *Korean J. Chem. Eng.* 28:133-137.

**CAPÍTULO III. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE BIODIESEL EN  
MEZCLAS PETRODIESEL/BIODIESEL: UN MÉTODO BASADO EN LA  
ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE Y TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS**

## **CAPÍTULO III. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE BIODIESEL EN MEZCLAS PETRODIESEL/BIODIESEL: UN MÉTODO BASADO EN LA ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE Y TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS**

### **3.1 Resumen**

En este trabajo se desarrolló un método analítico basado en la espectroscopia UV-visible para determinar la concentración de biodiesel de palma africana en mezclas con petrodiesel. Para ello se prepararon en el laboratorio 75 muestras con concentraciones de biodiesel entre 0-100 % peso. Las huellas espectrales obtenidas del análisis de las muestras por UV-visible se usaron para construir un modelo de predicción mediante regresión PLS. La capacidad predictiva de los modelos se evaluó mediante validación cruzada y validación externa, con los estadísticos: error estándar de calibración SEC, error estándar de predicción SEV, coeficientes de correlación, de calibración  $r$  Cal y de validación  $r$  Val, relación SEC/SEV, coeficiente de determinación  $R^2$  y prueba *t-student* para datos apareados, validación cruzada y validación externa. Los resultados muestran que el modelo PLS predice de modo consistente y con alta precisión la concentración de biodiesel de palma en mezclas con petrodiesel. El método desarrollado en este trabajo puede aplicarse para determinar la concentración de biodiesel de palma en mezclas con petrodiesel de más rápido, con menor error analítico, más barata y amigable con el medio ambiente; que los métodos convencionales.

**Palabras clave:** Espectroscopia UV-visible, Mezclas petrodiesel/biodiesel, Modelo de regresión PLS, Palma Africana.

# DETERMINATION OF THE BIODIESEL CONTENT IN PETRODIESEL/BIODIESEL BLENDS: A METHOD BASED ON UV-VISIBLE SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS TOOLS

## 3.2 Abstract

In this work, we developed an analytical method based on UV-visible spectroscopy to determine the concentration of biodiesel from African palm in blends of petrodiesel. Seventy-five samples with biodiesel concentrations between 0-100 wt% were prepared. The spectral fingerprints that were obtained from the analysis of the samples by UV-visible spectroscopy were used to build predictive model using PLS regression. The predictive ability of the models was evaluated through statistical parameters: the standard error of calibration (SEC), the standard error of validation (SEV), the correlation coefficient of calibration ( $r_{Cal}$ ) and validation ( $r_{Val}$ ), the ratio (SEC/SEV), the coefficient of determination  $R^2$ , the paired data *Student's t-test*, cross-validation and external validation. The results indicate that the PLS model predicts the concentration of biodiesel from African palm with high precision in mixtures with petrodiesel. The method developed in this study can be applied to determine the concentration of biodiesel African palm in mixtures of petrodiesel is more rapid and economical way. Moreover, this method has less analytical error and is more environmentally friendly, than are conventional methods.

**Key words:** African palm, Petrodiesel/biodiesel blends, Regression model PLS, Spectroscopy UV-visible.

### 3.3 Introducción

El biodiesel es un combustible renovable compuesto de mono-alkil-ésteres que se obtiene por la transesterificación de aceite de origen vegetal o grasa animal en presencia de un catalizador. El uso de biodiesel está aumentando en el mundo porque se usa para producir mezclas con petrodiesel, como combustible de motores (De Oliveira *et al.*, 2009). Las mezclas más empleadas actualmente son: 2, 3, 5, 10, 15 y 20 % de biodiesel y que se denotan como B2, B3, B5, B10, B15 y B20, respectivamente. El uso de estas mezclas contribuye a disminuir el consumo de combustibles fósiles y reducir la emisión de contaminantes, principalmente dióxido de carbono (Ng *et al.*, 2010).

Por lo general, el control de calidad de los combustibles se realiza mediante técnicas analíticas muy especializadas como la cromatografía de gases o líquida cuyos equipos y reactivos son costosos (Knothe, 2006; Lôbo *et al.*, 2009). Estas técnicas son destructivas y emiten contaminantes al medio ambiente; las muestras pueden requerir derivaciones lo que contribuye a generar errores en las mediciones; los análisis son caros y tardados.

Por lo anterior, es necesario desarrollar técnicas analíticas eficientes, rápidas, económicas y amigables con el medio ambiente. Las técnicas espectrométricas y el análisis quimiométrico son útiles para tal fin. La espectroscopia de infrarrojo y el análisis multivariante se emplearon para obtener modelos de predicción para determinar concentraciones de biodiesel presente en mezclas petrodiesel-biodiesel o para generar modelos de discriminantes (Knothe, 2001; De Lira *et al.*, 2010; Pontes *et al.*, 2011; Fernandes *et al.*, 2011). La espectroscopia fluorescente (Scherer *et al.*, 2011; Meira *et al.*, 2013); la resonancia magnética nuclear (Monteiro *et al.*, 2009) y la espectroscopia UV-visible se han usado para el mismo fin (Isausti *et al.*, 2012; Guerrero *et al.*, 2012).

Debido a la importancia que tiene el uso de mezclas petrodiesel-biodiesel a nivel mundial y el potencial que representa el aceite de palma africana para emplearse en la fabricación de biodiesel. El objetivo de este trabajo fue construir modelos de predicción para determinar la concentración de biodiesel de palma africana en mezclas con petrodiesel usando las huellas espectrales UV-visible y técnicas quimiométricas.

### **3.4 Materiales y Métodos**

#### **3.4.1 Reactivos**

Los reactivos empleados fueron metanol e hidróxido de sodio de grado reactivo marca Fermont; el aceite de palma africana fue comercial, donado por la empresa AGROIPSA de Tabasco, México; el petrodiesel se compró en una franquicia certificada de petróleos mexicanos (PEMEX).

#### **3.4.2 Reactor químico**

La reacción de transesterificación en el laboratorio se llevó a cabo en un matraz esférico de vidrio, con capacidad de un litro; al matraz se le colocó un condensador recto para evitar la fuga de vapores de metanol. Los cambios de temperatura durante la reacción se midieron con un termómetro digital marca Scientific Thomas ( $\pm 0.001$ ) con sensor de platino. Los reactivos se mezclaron usando agitación magnética y para el calentamiento se empleó una mantilla eléctrica envolvente Barnstead-Electrothermal (BI) controlada manualmente.

#### **3.4.3 Espectrofotómetro UV-visible**

Para obtener las huellas espectrales se utilizó un espectrómetro de ultravioleta visible (UV-Vis) de un solo haz, modelo Lambda 10 marca Perkin-Elmer Corporation, Part Number 0993-5051. El equipo registra el intervalo de las longitudes de onda de 200 a 1100 nm; y para realizar las lecturas cuenta con dos fuentes de radiación prealineadas, una lámpara de deuterio (175 y 350 nm) y una lámpara de halógeno. El monocromador está conformado de una rejilla holográfica cóncava con 1053 líneas por mm en el centro; y una celda para espectrofotometría tipo estándar (1 cm). El instrumento es controlado con el programa WinLab.



### **3.4.4 Programas**

El programa utilizado para la interpretación de los datos y las huellas espectrales fueron el Pirouette Chemometrics Multivariate Data Analysis versión 4.5 de infometrix, Inc. Copyright 2007. Excel de Microsoft, 2010 sirvió de plataforma de enlace para la extracción de los datos espectrales que fueron generados en el equipo instrumental y se exportaron a la plataforma de Pirouette. Así mismo, se utilizó para realizar la prueba de datos apareados (*t-student*).

### **3.4.5 Procedimiento para la síntesis de biodiesel**

El aceite crudo de palma (ACP) se pesó en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se transfirió al reactor por lotes. El catalizador se preparó haciendo reaccionar metanol anhidro (1:12 aceite/metanol) con hidróxido de sodio (2 % peso referido al peso del aceite) en otro matraz Erlenmeyer de 500 mL, la mezcla se agitó hasta la dilución total del hidróxido. Al ACP contenido en el reactor se le agregó el catalizador; la mezcla se calentó hasta 60°C y la reacción se mantuvo durante 150 min a presión atmosférica. Finalizada la reacción, la mezcla se vertió en un embudo de separación y se lavó con agua desionizada. Los ésteres metílicos se colocaron en un matraz de destilación y se destilaron a 100 °C para remover metanol y agua. El biodiesel se refinó haciéndolo pasar a través de una columna de vidrio empacada con 100 g de resina iónica *dry* 10, lo que permitió eliminar trazas de contaminantes. El biodiesel se envasó en frascos color ámbar y se mantuvo en refrigeración a 5 °C para uso posterior; durante el tiempo de almacenamiento no se formaron sedimentos.

### **3.4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras**

Para la construcción del modelo de predicción se prepararon 75 muestras mezclando biodiesel de palma con petrodiesel en concentraciones comprendidas entre 0 a 100 % peso. Las mezclas se depositaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL y se pesaron en una balanza Ohaus, con una precisión (0.0001 g).

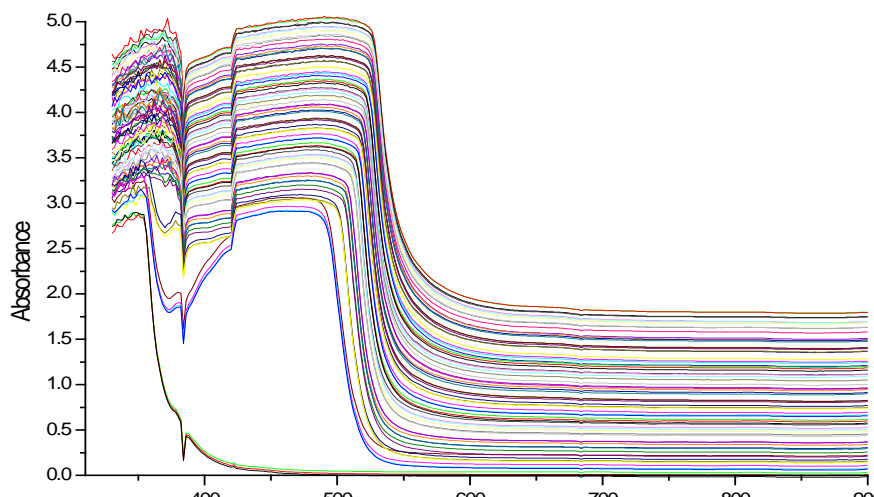
### **3.4.7 Procedimiento para la obtención del modelo de estimación de biodiesel en mezcla con diesel derivado del petróleo**

Para construir el modelo de calibración se usaron 65 muestras las que fueron analizadas por espectroscopia UV-visible; los datos de las huellas espectrales estuvieron comprendidos en el intervalo entre 325 a 900 nm. Cada espectro está constituido por 286 variables, por lo que se tiene una matriz de 65x286 con un total 18,590 variables. Para la construcción de los modelos de regresión PLS, a los datos de las huellas espectrales se les realizó un pretratamiento de media central y una normalización. El error estándar de calibración (SEC) se usó para determinar la capacidad predictiva del modelo creado. El error estándar de validación (SEV) se usó para determinar la precisión del modelo multivariado. Para determinar la robustez, el modelo se construyó usando validación cruzada primero retirando un dato a la vez del conjunto total de datos, después se repitió el procedimiento retirando cinco datos a la vez. La capacidad predictiva del modelo se evaluó a través de validación externa, usando un conjunto de diez mezclas de petrodiesel/biodiesel preparadas en el laboratorio, y que nos fueron empleadas en la construcción del modelo de calibración.

## **3.5 Resultados y discusión**

### **3.5.1 Interpretación de los espectros**

El espectro de biodiesel presenta bandas de absorbancia en el intervalo de longitud de onda entre 400-550 nm de la región visible (Figure 20). Estas bandas se atribuyen a la absorción de energía por los enlaces dobles de compuestos carbonilos insaturados, ya que la absorbancia de energía en este tipo de compuestos orgánicos se basa en transiciones de los electrones  $n$  y  $\pi$  al estado excitado  $\pi^*$  (Fernandes *et al.*, 2011).



**Figura 20. Espectros en la región visible de las mezclas petrodiesel-biodiesel empleados en la construcción de los modelos de predicción.**

Estas transiciones requieren de un grupo funcional con enlaces no saturado para el aporte los orbitales  $\pi$  (Skoog *et al.*, 2011). Los espectros de las mezclas de petrodiesel/biodiesel presentan múltiples bandas de absorbancia en el intervalo de longitud de onda entre 200-325 nm de la región ultravioleta, estas bandas podrían estar relacionadas por la presencia de compuestos aromáticos que contienen dobles enlaces insaturados en su estructura molecular (Scherer *et al.*, 2011).

### 3.5.2 Análisis del modelo de predicción PLS

El modelo de predicción PLS con seis componentes principales explica el 99.8% de la varianza. Los bajos valores del (SEC) y (SEV) indican que el modelo de regresión PLS tiene alta capacidad predictiva. Los valores de ambos coeficientes de correlación de calibración ( $r_{Cal}$ ) y del coeficiente de correlación de validación ( $r_{Val}$ ) son cercanos a la unidad, lo que indica que existe alta correlación entre la concentración real de biodiesel y la concentración de biodiesel predicha por el modelo. La  $R^2$  predictiva que se obtuvo para la validación cruzada indica alta precisión del modelo PLS para predecir nuevas observaciones (Cuadro 13). El valor del criterio de similitud (SEC/SEV) estuvo comprendido entre 0.5 y 1, lo que indica buen ajuste del modelo, esto basado en reportes de trabajos previos (Ferrão *et al.*, 2004).

Cuadro 13. Comparación de los valores de los parámetros estadísticos empleados para evaluar la capacidad predictiva de los modelos.

Modelo	Val.		%						
	Cr. <sup>(a)</sup>	PCs <sup>(b)</sup>	Var <sup>(c)</sup>	SEV <sup>(d)</sup>	rVal <sup>(e)</sup>	SEC <sup>(f)</sup>	rCal <sup>(g)</sup>	SEC/SEV <sup>(h)</sup>	R <sup>2(i)</sup>
PLS	1	6	99.80	1.842	0.998	1.404	0.999	0.762	0.99
PLS	5	6	99.80	1.841	0.998	1.404	0.999	0.762	0.99

<sup>a</sup>Datos empleados en la validación cruzada.

<sup>b</sup>Componentes principales.

<sup>c</sup>Porcentaje de varianza explicada.

<sup>d</sup>Error estándar de validación.

<sup>e</sup>Coefficiente de correlación entre la concentración real y la concentración predicha en la validación.

<sup>f</sup>Error estándar de calibración.

<sup>g</sup>Coefficiente de correlación entre la concentración real y la concentración predicha en la calibración.

<sup>h</sup>Criterio de similitud.

<sup>i</sup>Coefficiente de determinación para la concentraciones predichas.

La línea de regresión del modelo PLS (Figuras 21-22) muestra que el intercepto y la pendiente son cercanos a cero y a la unidad, respectivamente, lo que indica bajo error sistemático de la regresión; esto se confirma con el bajo valor que presentó el *bias*. La validación cruzada muestra que el modelo es robusto, ya que los valores de los parámetros estadísticos empleados para evaluarlo fueron buenos (Cuadro 13).

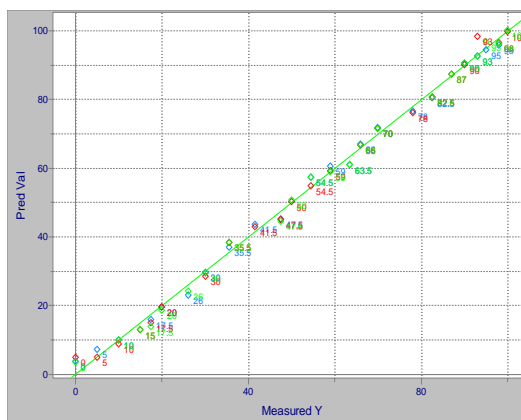
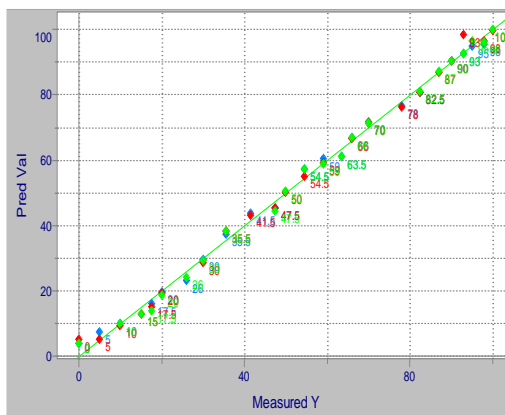


Figura 21. Gráfica obtenida para el modelo de regresión PLS usando validación cruzada con un dato.



**Figura 22. Gráfica obtenida para el modelo de regresión PLS usando validación cruzada con cinco datos.**

La capacidad predictiva del modelo PLS también se evaluó mediante un análisis de datos apareados con la prueba *t-student* donde se compararon los valores de las concentraciones reales del biodiesel y las concentraciones predichas por el modelo. Los valores de  $t$  ( $t_{cal}$ ) se calcularon con las ecuaciones propuestas por (Corgozinho *et al.*, 2008), y se compararon con valores tabulados usando 64 grados de libertad y un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ . El valor de  $t_{cal}=0.1204$  fue menor que el valor de  $t_{tab}=1.668$  por lo que se concluye con una certidumbre de 95 % que los valores de las concentraciones de biodiesel predichas no son significativamente diferentes a las concentraciones reales de biodiesel.

### 3.6 Conclusiones

El modelo de predicción PLS construido en este estudio a partir de las huellas espectrales de la región visible del espectro electromagnético es un método analítico práctico, que puede usarse para predecir la concentración de biodiesel de palma africana en mezclas con petrodiesel en un rango de concentraciones de 0-100 % peso. La técnica presenta ventajas por ser rápida, eficiente, económica y amigable con el medio ambiente, cuando es comparada con los métodos químicos convencionales.

### 3.7 Literatura citada

- Corgozinho, C. N. C., Pasa, V. M. D. and P. J. S. Barbeira, P. J. S. 2008. Determination of residual oil in biodiesel oil by spectrofluorimetric and chemometric analysis. *Talanta*. 76:479-484.
- De Lira, L. F. B., de Vasconcelos, F. V. C., Pereira, C. F., Paim, A. P. S., Stragevitch, L. and Pimentel, M. F. 2010. Prediction of properties of diesel/biodiesel blends by infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Fuel*. 89:405-409.
- De Oliveira, I. K., Rocha, W. F. C. and Poppi R. J. 2009. Application of near infrared spectroscopy and multivariate control charts for monitoring biodiesel blends. *Anal. Chim. Acta*. 642:217-221.
- Fernandes, D. D. S., Gomes, A. A., da Costa, G. B., da Silva, G. W. B. and Vêras, G. 2011. Determination of biodiesel content in biodiesel/diesel blends using NIR and visible spectroscopy with variable selection. *Talanta*. 87:30-34.
- Ferrão, M. F., Carvalho, C. W., Müller, E. I. and Davanzos, C. U. 2004. Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. *Food Science and Technol. (Campinas)*. 24:333-340.
- Guerrero, A., Anguebes, F., Silvan, C. and Gutiérrez, G. 2012. Caracterización de insumos y biodiesel mediante métodos instrumentales y quimiometría. *Ingeniería Química*. 512:66-70.
- Insausti, M., Gomes, A. A., Cruz, F. V., Pistonesi, M. F., Araujo, M. C. U., Galvão, R. K. H., Pereira, C. F. and Band, B. S. F. 2012. Screening analysis of biodiesel feedstock using UV-vis, NIR and synchronous fluorescence spectrometries and the successive projections algorithm. *Talanta*. 97:579-583.
- Jarquín, A., Salgado, S., Palma, D. J. and Camacho, W. 2012. Analysis of soil organic matter in tropical soils with near-infrared spectroscopy (NIRS) and chemometrics. *Cienn. Inv. Agr.* 39:387-394.

- Knothe, G. 2006. Analyzing biodiesel: standards and another methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83:823-833.
- Knothe, G. 2001. Determining the blend level of mixtures of biodiesel with conventional diesel fuel by fiber-optic near-infrared spectroscopy and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78:1025-1028.
- Lôbo, I. P., Ferreira, S. L. C. and da Cruz, R. S. 2009. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim. Nova.* 32:1596-1608.
- Meira, M., Quintella, C. M., Ribeiro, E. M. de O., Guimaraes, A. K., Santos, M. A., Cerqueira, G. S., Del Cid, A. L., Luna, S. and Silva, W. L. 2013. Prediction of concentration of animal fat in mixture with vegetable oil by multivariate calibration associated with spectrofluorimetry. *American Journal of Analytical Chemistry.* 4:99-103.
- Monteiro, M. R., Ambrozin, A. R. P., Santos, M. S., Boffo, E. F., Pereira-Filho, E. R., Lião, L. M. and Ferreira, A. G. 2009. Evaluation of biodiesel-diesel blends quality using  $^1\text{H}$  NRM and chemometrics. *Talanta.* 78:660-664.
- Ng, J. H., Ng, H. K. and Gan, S. 2010. Recent trends in policies, socioeconomy and future directions of the biodiesel industry. *Clean Technol. and Environ Policy.* 12: 213-238.
- Pontes, M. J. C., Pereira, C. F., Pimentel, M. F., Vasconcelos, F. V. and Silva, A. G. B. 2011. Screening analysis to detect adulteration in diesel/biodiesel blends using near infrared spectrometry and multivariate classification. *Talanta.* 85:2159-2165.
- Scherer, M. D., Oliveira, S. M., Lima, S. M., Andrade, L. H. C. and Caires, A. R. L. 2011. Determination of the biodiesel content in diesel/biodiesel blends: a method based on fluorescence spectroscopy. *J. Fluoresc.* 21:1027-1031.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. and Nieman, T. A. 2011. *Principios de Análisis Instrumental.* Primera edición. Editorial McGraw-Hill. Madrid, España. 988 p.

**CAPÍTULO IV. USO DE ESPECTROSCOPIA (FTIR-ATR) Y CALIBRACIÓN  
MULTIVARIADA PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE  
BIODIESEL EN MEZCLAS CON PETRODIESEL**



## **CAPITULO IV. USO DE ESPECTROSCOPIA (FTIR-ATR) Y CALIBRACIÓN MULTIVARIADA PARA LA DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE BIODIESEL EN MEZCLAS CON PETRODIESEL**

### **4.1 Resumen**

El uso creciente de mezclas carburantes de biodiesel-petrodiesel alrededor del mundo requiere técnicas analíticas rápidas, económicas y eficientes para el control de calidad de dichos combustibles. En este trabajo se desarrolló un método analítico para determinar la concentración de biodiesel de palma africana en mezclas con petrodiesel; el método se basa en la espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR). Con el propósito de construir un modelo de predicción se prepararon 114 mezclas de petrodiesel-biodiesel con concentraciones de biodiesel entre 0-100 % peso/peso. Las mezclas se analizaron usando espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier; los datos de las huellas espectrales se usaron para construir un modelo de predicción mediante regresión PLS. El número óptimo de componentes principales; el error estándar de calibración (SEC); el error estándar de validación (SEV); el coeficiente de correlación de calibración ( $r_{Cal}$ ) y el coeficiente de correlación de validación ( $r_{Val}$ ) fueron usados para validar la capacidad predictiva del modelo. Los resultados muestran que el modelo obtenido en este trabajo presenta buena capacidad para determinar la concentración de biodiesel de palma africana en mezclas petrodiesel-biodiesel.

**Palabras clave:** Mezclas petrodiesel/biodiesel, Regresión mínimos cuadrados parciales, Palma Africana, Técnicas quimiométricas FTIR-ATR.

## USING OF FTIR-ATR MULTIVARIATE CALIBRATION FOR THE PREDICTION OF BIODIESEL CONCENTRATION IN PETRODIESEL BLENDS

### 4.2 Abstract

The increasing use of petrodiesel/biodiesel fuel blends throughout the world requires fast, economic and efficient analytical technique that can be used for the quality control of these fuels. In this work we development an analytical method for determining the concentration of African palm biodiesel in blends with petrodiesel; the method is based on infrared spectroscopy (FTIR-ATR). To build a prediction model, nineteen petrodiesel/biodiesel blends were prepared in triplicate with biodiesel concentration for 0-100% by weight. The blends were analyzed using Fourier transform infrared spectroscopy; the spectral fingerprint data were used to build a prediction model through PLS regression. The optimal number of principal components (PCs); the standard error of calibration (SEC); the standard validation error (SEV); the correlation coefficient of calibration ( $r_{Cal}$ ) and the validation correlation coefficient ( $r_{Val}$ ) were used to validate the predictive ability of the model. The results show that the model obtained in this work has a good ability for determining the concentration of African palm biodiesel in petrodiesel/biodiesel blends.

**Key words:** African palm, FTIR-ATR Chemometrics tools, Partial least squares regression, petrodiesel/biodiesel blends.

### 4.3 Introducción

En la actualidad la mayor parte de la energía consumida en el mundo proviene del petróleo, carbón y gas natural, pero estas fuentes son limitadas por su origen fósil y su agotamiento en un futuro cercano es una realidad evidente; por ello, es imprescindible encontrar energías alternas a partir de fuentes renovables. El empleo de biodiesel representa un potencial promisorio para el mundo entero. En primer lugar, como una fuente estratégica de energía renovable para sustituir al diesel de petróleo y en segundo lugar, para reducir la emisión de gases de efecto invernadero (Faria *et al.*, 2007). Se ha establecido que la combustión de diesel de petróleo por los motores genera mezclas de contaminantes anhídridos ( $\text{CO}_x$ ,  $\text{SO}_x$  y  $\text{NO}_x$ ), partículas sólidas e hidrocarburos sin combustionar cuya emisión al medio genera múltiples problemas ambientales y de salud, contribuye al calentamiento global y a la generación de lluvia ácida (Hosseinpour *et al.*, 2005; Ryan *et al.*, 2006). Estudios recientes han mostrado que el empleo de mezclas biodiesel-petrodiesel en los motores de combustión disminuye la emisión de contaminantes, principalmente dióxido de carbono (Cetin *et al.*, 2009). En la actualidad varios países entre los que podemos citar: Estados Unidos de América, Alemania, Francia, Italia, España, Brasil entre otros, emplean estas mezclas en diferentes proporciones, las más comunes son 98-2, 85-15 y 80-20 % petrodiesel-biodiesel (Fazal *et al.*, 2011).

A nivel mundial la superficie cultivada de palma Africana (*Elaeis guineensis*) muestra un rápido aumento debido a la demanda creciente de aceites para la fabricación de biocombustibles. La palma Africana llega a producir 5.5 toneladas de aceite por hectárea (Fargione *et al.*, 2010); por ello, representa un recurso potencial para la síntesis de biodiesel; actualmente el 26 % del aceite que se produce en el mundo proviene de la palma africana pero su producción continua en aumento (Johnston y Holloway, 2005).

El consumo de biodiesel se incrementa debido a la sustitución total o parcial del petrodiesel. Estados Unidos de América consumió  $1.135 \times 10^8$  L de biodiesel en 2004; mientras que la Unión Europea consumió de  $9.274 \times 10^8$  L en 2006 y se pronostica que el consumo alcance  $2.65 \times 10^9$  L en 2015; este aumento en el consumo de biodiesel se atribuye a la demanda de mezclas petrodiesel-biodiesel para motores a diesel (Fazal *et al.*, 2011).

Para determinar la calidad de biodiesel o mezclas con petrodiesel se han desarrollado diferentes técnicas instrumentales, entre las más empleadas están la cromatografía de gases, la cromatografía líquida y las técnicas espectroscópicas (Knothe, 2006). La espectroscopia de infrarrojo (IR) es una de las técnicas más versátiles que se ha usado para monitorear procesos de transesterificación de aceites vegetales (Lima *et al.*, 2008; Trevisan *et al.*, 2008; Meira *et al.*, 2011); y también para cuantificar concentraciones de biodiesel en mezclas con petrodiesel (Oliveira *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2007; Aliske *et al.*, 2007; Nani *et al.*, 2008).

Debido al aumento en la demanda de mezclas de biodiesel-petrodiesel a nivel mundial y del potencial que presentan la palma africana como materia prima para la síntesis de biodiesel, el objetivo de este trabajo fue elaborar modelos de predicción para estimar la concentración de biodiesel de palma Africana en mezclas con petrodiesel, mediante el uso de técnicas quimiométricas y espectroscopia de infrarrojo (FTIR-ATR).

#### **4.4 Materiales y métodos**

##### **4.4.1 Reactivos**

Los reactivos empleados fueron metanol e hidróxido de sodio de grado reactivo marca Fermont; el aceite de palma africana fue comercial, donado por la empresa AGROIPSA de Tabasco, México; el petrodiesel se compró en una franquicia certificada de petróleos mexicanos (PEMEX).

##### **4.4.2 Reactor químico**

La reacción de transesterificación en el laboratorio se llevó a cabo en un matraz esférico de vidrio, con capacidad de un litro; al matraz se le colocó un condensador recto para evitar la fuga de vapores de metanol. Los cambios de temperatura durante la reacción se midieron con un termómetro digital marca Scientific Thomas ( $\pm 0.001$ ) con sensor de platino. Los reactivos se mezclaron usando agitación magnética y para el calentamiento se empleó una mantilla eléctrica envolvente Barnstead-Electrothermal (BI) controlada manualmente.

#### **4.4.3 Espectrofotómetro (FTIR-ATR)**

Las mezclas se analizaron usando un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier equipado con un ATR con celda de punta de diamante; marca Agilent modelo Cary 660. Todos los espectros se obtuvieron en el intervalo de longitud de onda comprendido entre 549-4002  $\text{cm}^{-1}$ , con una resolución de 2  $\text{cm}^{-1}$ . Por cada análisis se realizaron 16 barridos y se utilizó como referencia la celda de vacío; los espectros se colectaron a 25 °C y después de cada análisis la celda se limpió tres veces con acetona. Los datos colectados se grabaron en código ASCII y fueron exportados a Excel 2007 de Microsoft para construir la matriz inversa; la que se exportó al software Pirouette de Infometrix V. 4 para construir el modelo usando mínimos cuadrados parciales (PLS).

#### **4.4.4 Programas**

Excel de Microsoft, 2010 sirvió de plataforma de enlace para la extracción de los datos espectrales que fueron generados en el equipo instrumental y se exportaron a la plataforma de Pirouette. El programa utilizado para la interpretación de los datos y las huellas espectrales fueron el Pirouette Chemometrics Multivariate Data Analysis versión 4.5 de infometrix, Inc. Copyright 2007.

#### **4.4.5 Procedimiento para la síntesis de biodiesel**

El aceite crudo de palma (ACP) se pesó en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se transfirió al reactor por lotes. El catalizador se preparó haciendo reaccionar metanol anhidro (1:12 aceite/metanol) con hidróxido de sodio (2 % peso referido al peso del aceite) en otro matraz Erlenmeyer de 500 mL, la mezcla se agitó hasta la dilución total del hidróxido. Al ACP contenido en el reactor se le agregó el catalizador; la mezcla se calentó hasta 60°C y la reacción se mantuvo durante 150 min a presión atmosférica. Finalizada la reacción, la mezcla se vertió en un embudo de separación y se lavó con agua desionizada. Los ésteres metílicos se colocaron en un matraz de destilación y se destilaron a 100 °C para remover metanol y agua. El biodiesel se refinó haciéndolo pasar a través de una columna de vidrio empacada con 100 g de resina

iónica *dry* 10, lo que permitió eliminar trazas de contaminantes. El biodiesel se envasó en frascos color ámbar y se mantuvo en refrigeración a 5 °C para uso posterior; durante el tiempo de almacenamiento no se formaron sedimentos.

#### **4.4.6 Procedimiento para la preparación de las muestras**

Para la construcción del modelo de predicción, se prepararon 19 mezclas petrodiesel/biodiesel por triplicado. Las mezclas se prepararon usando biodiesel sintetizado en el laboratorio con petrodiesel comercial, comprado a una franquicia certificada de Petróleos Mexicanos. Para pesar las cantidades correspondientes de las mezclas B0, B5, B10, B15, B20, B25, B30, B40, B50, B53, B60, B70, B75, B80, B82, B90, B95 y B100, que se depositaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, se usó una balanza analítica (Ohaus  $\pm 0.001$  g) y una pipeta automática de 100-1000  $\mu$ L.

#### **4.4.7 Procedimiento para la obtención del modelo de estimación de biodiesel en mezcla con diesel derivado del petróleo**

El modelo de calibración se construyó con los datos de cincuenta y siete huellas espectrales comprendidas en un rango de longitud de onda de 651-4001  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro consiste en 1,738 variables, teniéndose un total de 99,066 variables que conforman los datos matriciales. Los datos fueron pretratados usando una media central y una normalización. Para determinar la capacidad predictiva del modelo de calibración, el modelo se evaluó usando validación cruzada con uno y cinco datos; y a través de validación externa donde se usaron doce muestras que se prepararon en el laboratorio; estas muestras no se usaron en la construcción del modelo de calibración.

Para evaluar la capacidad predictiva del modelo de predicción se usaron algunos parámetros estadísticos: número óptimo de componentes principales (PCs); varianza explicada (% Var) en la matriz X; error estándar de calibración (SEC); error estándar de validación (SEV); coeficiente de correlación entre la concentración real de biodiesel y la concentración de biodiesel predicha

en la validación ( $r_{Val}$ ); coeficiente de correlación entre la concentración real de biodiesel y la predicha en la calibración ( $r_{Cal}$ ).

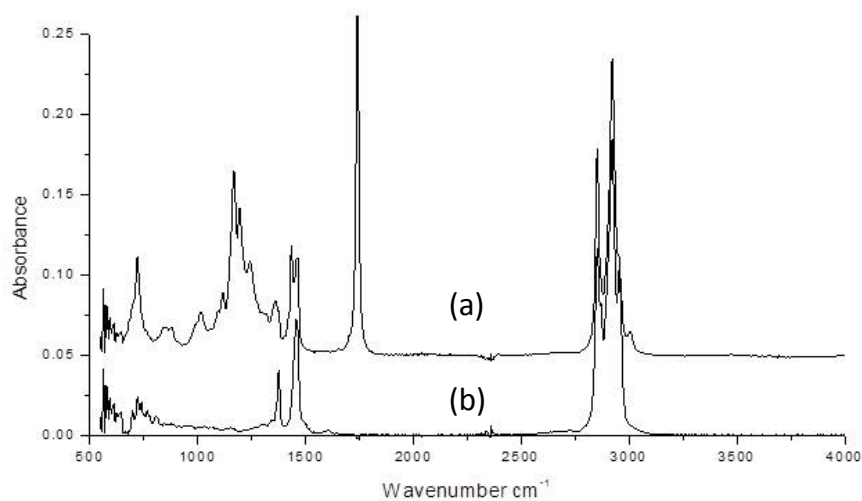
## 4.4 Resultados y discusión

### 4.5.1 Interpretación de los espectros

El petrodiesel y biodiesel de palma africana se analizaron mediante espectroscopia de infrarrojo. El espectro de biodiesel muestra que es más complejo que el de petrodiesel (Figura 23). La banda ubicada aproximadamente a los  $3012\text{ cm}^{-1}$  se atribuye al estiramiento (C-H) de los dobles enlaces del grupo ( $=\text{C}-\text{H}$ ) constituyente de las olefinas (Ghesti *et al.*, 2006); las bandas ubicadas a los  $2924$  y  $2852\text{ cm}^{-1}$  están relacionadas a vibraciones (C-H) de los grupos metilenos y de estiramiento y contracción del grupo metilo. El pico intenso ubicado en  $1745\text{ cm}^{-1}$  corresponde al radical carbonilo y es característico de los ésteres (C=O). La banda ubicada a  $1450\text{ cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento asimétrico del enlace ( $-\text{C}-\text{H}$ ) y flexiones asimétricas del grupo funcional. Existe un conjunto de bandas entre  $1000$  y  $1300\text{ cm}^{-1}$  que están asociadas a vibraciones asimétricas de los enlaces  $[\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}]$  y  $(\text{O}-\text{C}-\text{C})$ ; las bandas de alta intensidad ubicadas a  $1200\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen al estiramiento del grupo metilo ( $\text{O}-\text{CH}_3$ ) y a la deformación axial asimétrica de los enlaces (C-C=O). Las bandas comprendidas entre  $1100-1170\text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones del grupo (C- $\text{CH}_2$ -O), estiramiento asimétrico (C-O-C) y estiramiento del enlace (C-C) (Lima *et al.*, 2008). El pico de alta intensidad ubicado a  $950\text{ cm}^{-1}$  corresponde a deflexiones fuera del plano del grupo ( $-\text{C}-\text{O}$ ) y la ubicada a  $1000\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la deformación angular simétrico del enlace (C-H) de las olefinas (Pimentel *et al.*, 2006).

El espectro IR del petrodiesel presenta menos bandas en comparación con el biodiesel; se observan tres bandas traslapadas que corresponden a los grupos metilenos y metilo en la región comprendida entre  $2985$  y  $2870\text{ cm}^{-1}$ ; el primer pico se atribuye a las vibraciones de estiramiento del grupo ( $\text{CH}_2$ ) terminal en la cadena de las olefinas. El segundo y tercero corresponden a vibraciones de estiramiento y contracciones de los enlaces (C-H) y ( $\text{CH}_2$ ) de los grupos metilos y metilenos. Las vibraciones de doblaje más relevantes de los grupos metilo son

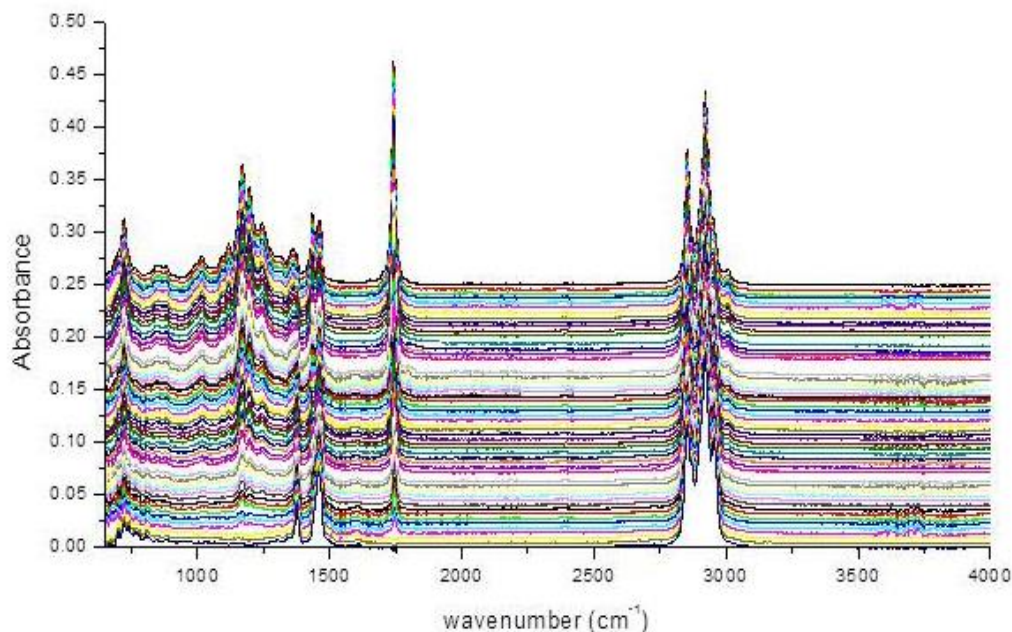
los que corresponden al doblaje de deformación en fase (banda  $1378\text{ cm}^{-1}$ ) y el doblaje de deformación degenerado fuera de fase (banda  $1463\text{ cm}^{-1}$ ). Los doblajes corresponden a torsión y balanceo que aparecen a frecuencias bajas. El grupo metileno presenta vibraciones de tijeras a  $1463$  y de torsión a  $721\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.



**Figura 23. Bandas de absorbancia en el espectro de infrarrojo de: (a) Biodiesel de palma y (b) petrodiesel.**

La variación en la concentración de biodiesel en las mezclas con petrodiesel se refleja en la intensidad de absorbancia que presentan los grupos funcionales o enlaces químicos y que generan múltiples bandas superpuestas a diferentes longitudes de onda del espectro infrarrojo Figura 24. Esta información contenida en las huellas espectrales sirvió para desarrollar un modelo de predicción mediante análisis quimiométrico que se empleó para determinar con alta precisión la concentración de biodiesel en mezclas con diesel de petróleo.





**Figura 24. Intensidad de absorbancia en diferentes bandas del espectro de infrarrojo que reflejan las variaciones de concentración de biodiesel en las mezclas petrodiesel/biodiesel.**

#### **4.5.2 Análisis del modelo de predicción PLS**

Con seis componentes principales el modelo de predicción explica el 99.3 % de la varianza total. Los coeficientes de correlación de calibración ( $r$  Cal) y de validación ( $r$  Val) presentan valores cercanos a la unidad, lo que indican que existe alta correlación entre los valores reales de la concentración de biodiesel y la concentración predicha por el modelo; con seis componentes principales, los valores del error estándar de calibración (SEC) y del error estándar de validación presentan valores menores a la unidad, lo que indica que el modelo tiene alta capacidad predictiva (Cuadro 14). El valor de criterio de similitud (SEC/SEV) con un valor de 0.935, cercano a la unidad, indica que el modelo tiene buen ajuste, porque este valor se encuentra en el intervalo 0.5-1 (Ferrão *et al.*, 2011). El valor del error estándar de predicción (SEP=0.763) muestra que el modelo presenta precisión. La validación cruzada realizada con cinco datos muestra que el modelo es robusto Figura 25.

Cuadro 14. Parámetros estadísticos usados para evaluar la capacidad de predicción del modelo PLS.

Número de componentes	Varianza explicada (%)	SEV	r Val	SEC	r Cal
1	88.295	29.284	0.577	29.336	0.618
2	94.799	4.391	0.988	3.885	0.992
3	96.627	3.583	0.993	3.604	0.993
4	98.815	3.061	0.995	2.946	0.995
5	99.128	2.426	0.997	2.298	0.997
6	99.306	1.941	0.998	1.815	0.998
7	99.625	1.603	0.999	1.436	0.999
8	99.751	1.179	0.999	1.052	0.999
9	99.784	1.141	0.999	0.978	0.999
10	99.839	1.043	0.999	0.918	0.999

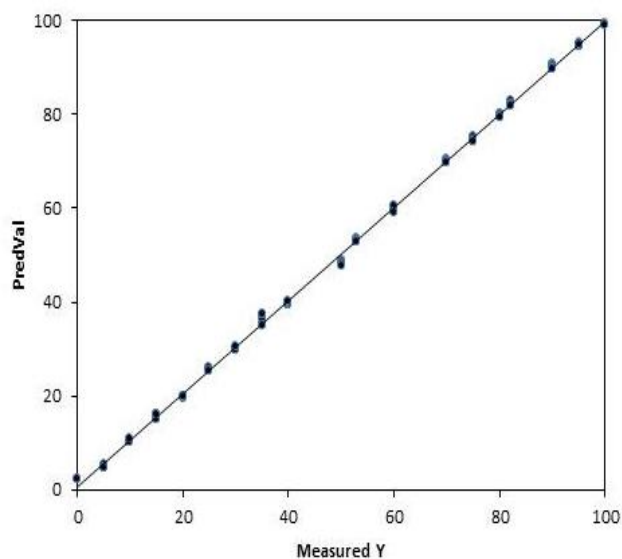


Figura 25. Gráfica de calibración del modelo de regresión PLS construido con validación cruzada usando cinco datos.

## 4.6 Conclusiones

El modelo de predicción construido en este trabajo y que estuvo basado en la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR-ATR) y el análisis quimiométrico; es un método práctico que permite determinar con alta precisión la concentración de biodiesel de palma en mezclas con petrodiesel. La técnica de espectroscopia puede emplearse junto con el modelo desarrollado de manera rutinaria para el control de calidad de mezclas combustibles petrodiesel-biodiesel con la ventaja de ser rápida, barata, eficiente y amigable con el medio ambiente.

## 4.7 Literatura citada

- Aliske, M. A., Fernandes, Z. J., Costa, B. J., Veiga, W. and Ketzer, S. C. 2007. Measurement of biodiesel concentration in a diesel oil mixture. *Fuel*. 86:1461-1464.
- Cetin, M., Yüksel, F. and Kus H. 2009. Emission characteristics of a converted diesel engine using ethanol as fuel. *Energy for Sustainable Development*. 13:250-254.
- Fargione, J. E., Plevin, R. J. and Hill. J. D. 2010. The Ecological Impact of Biofuels. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41: 351–377.
- Faria, R. C. M., Rezende, M. J. C., Rezende, C. M. and Pinto A. C. 2007. Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas biodiesel:diesel utilizando cromatografia gaseosa-espectrometria de massas. *Quim. Nova*. 30:1900-1905.
- Fazal, M. A., Haseeb, A.S.M.A. and Masjuki H. H. 2011. Biodiesel feasibility study: An evaluation of material compatibility; performance; emission and engine durability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15:1314-1324.
- Ferrão, MF, De Souza, VM, Panta, P.R.E., Fachini, D, Gerbase A. E. and Marder, L. 2011. Simultaneous determination of quality parameters of biodiesel/diesel blends using HATR-FTIR spectra and PLS, iPLS or siPLS regressions. *Fuel*. 90:701-6.
- Ghesti, G. F., Macedo, J. L., Braga, V., T. C. P., de Souza, A., C. I., Parente, V., Figueredo, E. S., Resck I. S., Dias J. A. and Dias S. C. L. 2006. Application of Raman Spectroscopy to Monitor and Quantify Ethyl Ester in Soybean Oil Transesterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83:597-601.

- Hosseinpoor, A.R., Forouzanfar, M. H., Yunesian, M., Asghari, F., Naieni, K. H. and Farhood, D. 2005. Air pollution and hospitalization due to angina pectoris in Theran. *Environ Res.* 99:126-131.
- Johnston, M. and Holloway, T. 2007. A global comparison of national biodiesel production potentials. *Environmental Science & Technology.* 41:7967-7973.
- Knothe, G. 2006. Analyzing Biodiesel: Standar and Other Methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83:823-833.
- Lima, S. M., Izida, T., Figueiredo, M. S., Andrade, L. H. C., del Ré, P.V., Buba, G. E. and Aristone, F. 2008. Analysis of biodiesel and frying vegetables oils by means of FTIR photoacoustic spectroscopy. *The European Physical Journal Special Topics.* 153:535-537.
- Meira, M., Quintella, C. M., Ferrer, T. M., Goncalves, H. R., Guimarães, Andrade, A. K. and Santos, M. 2011. Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3D e análise das componentes principais. *Quim. Nova.* 34:621-624.
- Nani, G. L. L., Pinto, A. C., Fernandes de Aguiar, P. and Moura, R. N. 2008. Metodología analítica para quantificar o teor de biodiesel na mistura biodiesel:diesel utilizando espectroscopia na região do infravermelho. *Quim. Nova.* 31:421-426.
- Oliveira, J S., Montalvão, R., Daher, L., Suarez, P. A. Z. and Rubim, J. C. 2006. Determination of methyl ester contents in biodiesel blends by FTIR-ATR and FTNIR spectroscopies. *Talanta.* 69:1278-1284.
- Oliveira, F. C. C., Brandão, C. R. R., Ramalho, H. F., da Costa, L. A. F., Suarez, P. A. Z. and Rubim, J. C. 2007. Adulteration of diesel/biodiesel blends by vegetable oil as determined by Fourier transform (FT) near infrared spectrometry and FT-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta.* 587:194-199.
- Pimentel, F. M., Ribeiro, G., Da Cruz, R. S., Stragevitch, L., Pacheco, J. G. and Teixeira, L. S. G. 2006. Determination of biodiesel content when blended with mineral diesel fuel

using infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Microchemical Journal*. 82: 201-206.

Ryan, L., Convery, F. and Ferreira, S. 2006. Stimulating the use of biofuels in the European Union: Implications for climate change policy. *Energy Policy*. 34:3184-3194.

Trevisan, M. G. Garcia, C. M.; Schuchardt, U. and Poppi, R. 2008. Evolving factor analysis-based method for correcting monitoring delay in different batch runs for use with PLS: On-line monitoring of a transesterification reaction by ATR-FTIR. *Talanta*. 74:971-976.

**CAPÍTULO V. OPTIMIZACIÓN DE LA SINTESIS DE BIODIESEL EMPLEANDO  
ACEITE CRUDO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis* Jacq) CON ALTAS  
CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES**

## **CAPITULO V. OPTIMIZACIÓN DE LA SINTESIS DE BIODIESEL EMPLEANDO ACEITE CRUDO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis* Jacq) CON ALTAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES**

### **5.1 Resumen**

En este estudio se empleó oleína cruda de palma africana (OCPA) para sintetizar biodiesel a escala de laboratorio. El objetivo fue determinar las condiciones óptimas de reacción de la metanólisis de la oleína. La (OCPA) utilizada presentó una concentración de 5.72 % de ácidos grasos libres (FFA) por lo que la síntesis de biodiesel se hizo en dos etapas: 1) esterificación empleando ácido sulfúrico y 2) transesterificación empleando metóxido de sodio. Para optimizar el rendimiento de biodiesel durante la transesterificación se empleó un diseño central rotatorio y la metodología de superficie de respuesta. Las variables estudiadas fueron: concentración de catalizador, tiempo y temperatura de reacción. El análisis de varianza mostró que las variables con efecto significativo fueron la concentración de catalizador, la temperatura y el tiempo de reacción; y las interacciones concentración de catalizador\*temperatura de reacción y concentración de catalizador\*tiempo de reacción. Los resultados indican que las condiciones óptimas de reacción durante la transesterificación son: concentración de catalizador a 0.65 % (p/p<sub>a</sub>), tiempo 135 min y temperatura 56 °C. Las condiciones óptimas de reacción durante la esterificación son: 2.5 % peso de catalizador, tiempo 150 min y temperatura 64.5°C. En estas condiciones se obtuvo un rendimiento de 90 % de biodiesel.

**Palabras clave:** biodiesel, catálisis alcalina, optimización de proceso, superficie de respuesta

## **OPTIMIZATION OF BIODIESEL SYNTHESIS USING AFRICAN CRUDE PALM OIL (*Elaeis guineensis* Jacq) WITH HIGH CONCENTRATION OF FREE FATTY ACIDS**

### **5.2 Abstract**

In this study, African crude palm olein (ACPO) was used to synthesize biodiesel. The objective was to determine the optimal reaction conditions for the methanolysis of olein. The used (ACPO) had a 5.72% concentration of free fatty acids (FFA); thus, the production of biodiesel was carried out in two stages: 1) esterification using sulfuric acid and 2) transesterification using sodium methoxide. In order to optimize the yield of biodiesel during the transesterification process, a central rotatable design and the response surface methodology were used. The studied variables were: concentration of the catalyst, time and reaction temperature. The analysis of variance showed that the variables with significant effect were the concentration of catalyst, temperature and reaction time; as well as the concentration of catalyst\*reaction temperature and concentration of catalyst\*reaction time. Results indicate that the optimal reaction conditions during transesterification are: 0.63 % concentration of catalyst (w/w<sub>a</sub>), a time of 110 min and a temperature of 56° C. The optimal reaction conditions during esterification are: 2.5% weight of catalyst, a time of 150 min and a temperature of 64.5° C. Under these conditions, a 90% yield of biodiesel was obtained.

**Key words:** alkaline catalysis, biodiesel, process optimization, response surface.



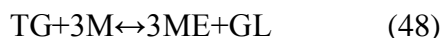
### 5.3 Introducción

El biodiesel es un biocombustible que se obtiene a partir de la transesterificación de aceite vegetal o de grasa animal con un alcohol de bajo peso molecular, en presencia de un catalizador; los hidróxidos de sodio o potasio son los catalizadores más empleados por su bajo costo y alta eficiencia (Haas *et al.*, 2004). El biodiesel se puede usar puro o en mezclas con petrodiesel, como sustituto parcial o total del diesel de petróleo en máquinas de combustión interna. El biodiesel comparado con el petrodiesel presenta ventajas como; es biodegradable, se obtiene a partir de materiales renovables, su combustión es más limpia pues emite menos contaminantes, no es tóxico, da buena lubricación de las autopartes del motor, entre otras. Socialmente la industria del biodiesel podría generar beneficios socioeconómicos como: dar valor agregado a la materia prima, generar empleos rurales, generación de empleos para la fabricación y distribución del biodiesel (Demmirbas, 2007).

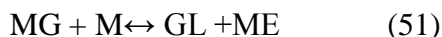
Una de las especies vegetales con más potencial para producción de aceite es la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq) cuyo cultivo se ha expandido rápidamente debido a su adaptación y altos rendimientos, de hasta 5.5 t ha<sup>-1</sup> de aceite (Fargione *et al.*, 2010). La producción de palma como bioenergético se ha incrementado de manera importante por su bajo costo; de la producción mundial de aceite, el 25.5 % corresponde a la palma africana, con un volumen de 37 millones de toneladas métricas por año. Otras ventajas de las plantaciones de palma africana es que presentan gran capacidad de captura de CO<sub>2</sub> (hasta 4.8 t ha<sup>-1</sup> por año), lo que resulta en otro beneficio ambiental por la reducción de gases de invernadero. Además, los subproductos de la palma sirven para generar electricidad (Reinhardt *et al.*, 2008).

En el proceso de síntesis de biodiesel tienen lugar un conjunto de reacciones químicas reversibles que son complejas porque son sensibles a las variaciones siguientes: la concentración de catalizador, concentración de alcohol, temperatura y al tiempo de reacción, entre otras. Estas variaciones pueden afectar significativamente el equilibrio químico, lo que puede favorecer la reversibilidad de la reacción y en consecuencia disminuir el rendimiento de metil ésteres (Darnoko y Cheryan 2000; Karmee *et al.*, 2006).

#### Reacción global



#### Reacciones intermedias



Donde, TG representa el número de moles de triglicéridos; M, DG, MG, ME y GL son los moles de metanol, diglicérido, monoglicérido, metil éster y glicerol, respectivamente.

Por esto es importante determinar las condiciones óptimas de reacción que incrementen el rendimiento de biodiesel. Para ello algunos autores recomiendan emplear la metodología de superficie de respuesta y un diseño central compuesto rotatorio (Buttler y Morales, 2007). Estas técnicas ya se han empleado para maximizar la producción de biodiesel a partir de diferentes aceites (Gwi y Park, 2009; Umer *et al.*, 2009).

Una propiedad importante que se debe cuantificar en los aceites, es el contenido de ácidos grasos libres (FFA); ya que esta propiedad podría determinar el tipo de proceso que se debe emplear para llevar a cabo la síntesis de biodiesel. Para aceites con altas concentraciones de FFA (> 1 %) no es recomendable emplear la catálisis básica porque se favorece la formación de jabón, disminuye el rendimiento de biodiesel y aumenta los costos de producción. Por ello, es necesario dar un pretratamiento (esterificación) con un catalizador ácido para disminuir la concentración de FFA a menos del 1 % (Marchetti y Errazu, 2008).

Debido a la rápida expansión del cultivo de palma africana en México para la producción de aceite y el potencial que representa como materia prima para la síntesis de biodiesel, el objetivo de este estudio fue determinar las condiciones óptimas de la reacción de metanólisis de la oleína cruda de palma africana a nivel de laboratorio.

## **5.4 Materiales y métodos**

### **5.4.1 Reactivos**

Todos los reactivos usados en el desarrollo de la investigación fueron de grado reactivo: metanol, hidróxido de sodio y ácido sulfúrico, marca Fermont. La OCPA fue de grado comercial producida por la empresa Agroindustrias de Palenque S.A. de C.V., y presentó una concentración de 5.72 % peso de FFA, por ello se hizo un pretratamiento para disminuir la concentración de FFA a menos del 1 %.

### **5.4.2 Reactor químico**

En las pruebas de laboratorio, las reacciones esterificación y transesterificación se llevaron a cabo en un matraz esférico de vidrio de tres bocas, de un litro de capacidad. Los cambios de temperatura durante la reacción se midieron con un termómetro digital con sensor de platino, marca Thomas Scientific (precisión de 0.01 °C). El matraz se equipó con un condensador que emplea agua como medio de enfriamiento lo que permitió condensar los vapores de metanol y evitar fugas al medio ambiente. El mezclado de los reactivos se realizó mediante agitación magnética y para el calentamiento se empleó una mantilla eléctrica Barnstead-Electrothermal (BI) controlada manualmente.

### **5.4.3 Programas**

Para el análisis de varianza de los datos experimentales, para la construcción del modelo de predicción, y para generar las superficies de respuesta y de contorno se empleó el paquete estadístico Statistica V. 7. De Statsoft, Inc.

### **5.4.4 Diseño experimental**

La superficie de respuesta y un diseño compuesto central rotatorio se emplearon para determinar las condiciones óptimas de la metanólisis de la OCPA. Se estudiaron el efecto de tres factores: concentración de catalizador; temperatura y tiempo de reacción, con cinco niveles cada uno. En total se realizaron veinte ensayos con triple repetición, ocho factoriales ( $2^3$ ); seis axiales y seis centrales (Cuadro 15) (Kafuku *et al.*, 2010). Los códigos y valores de los niveles

para cada variable incluyen la variable de respuesta (y) que corresponde al rendimiento de metil ésteres y se calcula con la Ecuación 52, propuesta por (Umer *et al.*, 2009).

$$Y = [(masa \text{ de metil ester producido (g)}) / (masa \text{ de aceite empleado (g)})] \times 100 \quad (52)$$

Cuadro 15. Estos son los tratamientos generados para el diseño central rotatorio compuesto de segundo orden.

Ensayo	Concentración de catalizador, % (x <sub>1</sub> )	Temperatura de reacción, °C (x <sub>2</sub> )	Tiempo de reacción, min (x <sub>3</sub> )	Rendimiento de biodiesel, % (y)
1	0.4	50	60	68.96
2	0.8	50	60	74.52
3	0.4	60	60	71.39
4	0.8	60	60	73.98
5	0.4	50	100	74.13
6	0.8	50	100	82.57
7	0.4	60	100	77.18
8	0.8	60	100	82.57
9	0.26	55	80	57.38
10	0.96	55	80	64.91
11	0.6	46.6	80	78.82
12	0.6	63.4	80	83.57
13	0.6	55	46.4	76.41
14	0.6	55	113.6	90.15
15	0.6	55	80	88.57
16	0.6	55	80	87.13
17	0.6	55	80	89.02
18	0.6	55	80	86.94
19	0.6	55	80	88.78
20	0.6	55	80	87.97

#### 5.4.5 Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados con la metodología de superficie de respuesta mediante el paquete STATISTICA V 7. Un polinomio de segundo orden fue empleado para predecir el rendimiento del biodiesel sintetizado a partir de la OEPA, Ecuación 2 (Gwi y Park, 2009).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i>j}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + e \quad (53)$$

Donde  $y$  es la variable de respuesta (rendimiento de biodiesel, en por ciento en peso);  $X_i$  y  $X_j$  son variables independientes;  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  y  $\beta_{ij}$  son los parámetros del modelo;  $e$  es el error experimental. La capacidad de predicción del modelo de segundo orden se evaluó mediante un análisis de varianza. El efecto de cada factor y sus interacciones fueron determinados mediante el valor del estadístico  $p$  para valores de ( $p < 0.05$ ). Los valores de  $p$  fueron usados para determinar la significancia de cada coeficiente y sus respectivas interacciones.

#### 5.4.6 Procedimiento para la esterificación de OCPA

Para disminuir la concentración de FFA en la OCPA se hizo la esterificación con ácido sulfúrico; un volumen de 5 kg de OCPA fue tratado en el laboratorio; se realizaron diez ensayos, para cada uno se pesaron 500 g de OCPA en un vaso de precipitado de 1000 mL; el aceite se transfirió al matraz esférico de un litro (reactor) y se precalentó a 60 °C. Por separado, en un matraz Erlenmeyer de 500 mL se preparó el catalizador mezclando 20 % p/p de metanol y 2.5 % p/p de ácido sulfúrico, referido al peso de la OCPA. El catalizador se agregó a la OCPA y la mezcla se calentó hasta el punto de ebullición del metanol (64.5 °C), la reacción se llevó a reflujo durante 150 min a presión atmosférica. Para favorecer la transferencia de masa entre los reactivos estos se mezclaron mediante agitación magnética. Finalizada la reacción, los productos se vertieron en un embudo de separación de 1000 mL; la diferencia de polaridades entre los componentes de la mezcla originó que sus componentes se separasen formando dos fases inmiscibles. La fase inferior contenía la oleína esterificada de palma africana (OEPA)

que fue separada por decantación, se envasó en frascos color ámbar y se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta utilizarse en la etapa de transesterificación. Los análisis muestran que la OEPA presentó una concentración de 0.45 % de FFA, lo que permite emplear la catálisis básica para la etapa de transesterificación.

#### **5.4.7 Procedimiento para la transesterificación OEPA**

Para esta etapa se pesaron 150 g de OEPA en un matraz Erlenmeyer de 250 mL que se precalentó hasta la temperatura fijada para cada ensayo (Cuadro 15). El catalizador se preparó haciendo reaccionar metanol anhidro con hidróxido de sodio en otro matraz del mismo tipo; la mezcla se agitó hasta la dilución total del hidróxido. La OEPA se transfirió al reactor y luego el catalizador; la mezcla se calentó hasta la temperatura establecida en cada ensayo (Cuadro 15). Finalizada la reacción, la mezcla se vertió en un embudo de separación, el biodiesel se lavó con agua destilada lo que originó la formación de dos fases; la fase inferior contenía glicerol, metanol, jabón y restos de catalizador que se separaron por decantación. El proceso de lavado se repitió hasta que eliminar la presencia de jabón. La fase superior que contenía los ésteres metílicos se decantó y se vertió en un matraz de destilación de 250 mL, donde se calentó para eliminar restos de metanol y agua. El biodiesel resultante se pesó para calcular el rendimiento.

#### **5.4.8 Procedimiento Analítico**

El método analítico para el análisis químico del biodiesel se desarrolló en cooperación con el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad del Estado de Morelos (UAEM). Las muestras de biodiesel fueron analizadas mediante un cromatógrafo de gases 6890 acoplado a un detector de masas 5973N marca Agilent con una columna cromatográfica HP 5MS 5 % difenil – 95 % dimetilsiloxano (25mx0.2mmx0.33µm) y técnica de ionización EI a 70 eV. Como gas acarreador se usó helio a un flujo de 1 mL min<sup>-1</sup>. La temperatura inicial del horno fue programada a 40 °C durante un minuto; la temperatura de la columna se fijó en 250 °C, la rampa lineal de temperatura fue programada a razón de 5 °C min<sup>-1</sup> hasta 250 °C y permaneció a 250 °C durante 5 min. El inyector y detector se mantuvieron en 250 °C y 280 °C, respectivamente. A un volumen de 2 µL de la muestra problema le fueron adicionados 500 µL de diclorometano;

y 1  $\mu\text{L}$  de ésta fue inyectado al cromatógrafo. Los espectros de masa fueron comparados con la base de datos de la biblioteca NIST (versión 1.7a) para identificar los componentes del biodiesel y la abundancia de los picos característicos de los compuestos de interés para cuantificar la concentración.

## 5.5 Resultados y discusión

### 5.5.1 Análisis de varianza de los datos del rendimiento de biodiesel

El análisis de varianza muestra que el modelo de segundo orden predice eficientemente los valores observados en función de los factores estudiados. Los valores del estadístico  $p$ , evaluado con una confiabilidad del 95 %, destacan las variables que tuvieron un efecto significativo sobre la reacción de transesterificación y fueron aquellas que presentaron valores menores a 0.05 de  $p$  (Cuadro 16). La concentración de catalizador, la temperatura de reacción y el tiempo de reacción; las interacciones concentración de catalizador\*temperatura de reacción y la concentración de catalizador\*tiempo de reacción fueron las variables que tuvieron mayor contribución sobre el rendimiento de biodiesel.

Cuadro 16. Análisis de varianza para la superficie de respuesta del modelo de segundo orden

Efecto	SS	Grados de libertad	MS	F	$p$
Intercepto	78.093	1	78.093	94.629	0.000002
$x_1$	189.535	1	189.535	229.668	0.000000
$x_1^2$	1250.050	1	1250.050	1514.743	0.000000
$x_2$	78.029	1	78.029	94.552	0.000002
$x_2^2$	77.268	1	77.268	93.630	0.000002
$x_3$	7.432	1	7.432	9.006	0.013320
$x_3^2$	35.757	1	35.757	43.329	0.000062
$x_1*x_2$	4.530	1	4.530	5.489	0.041134
$x_1*x_3$	4.033	1	4.033	4.887	0.050509
$x_2*x_3$	0.168	1	0.168	0.204	0.661291
Error	8.253	10	0.825		

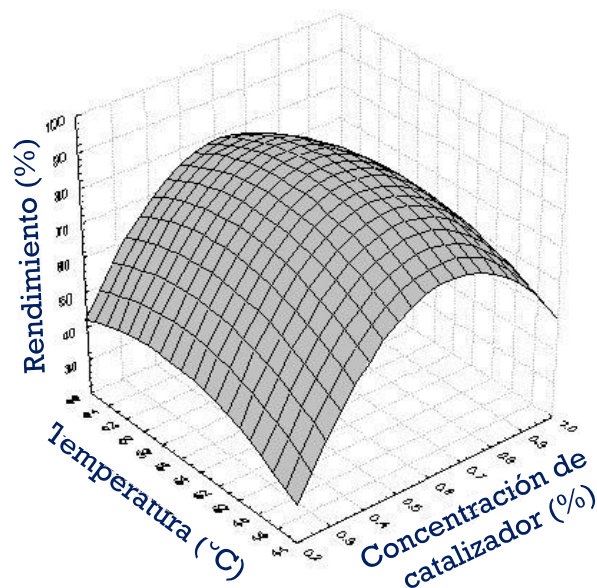
El valor del coeficiente de determinación entre los valores observados y predichos tuvo un valor altamente significativo ( $R^2=97.28$ ) e indica que una alta proporción de la variabilidad en la respuesta es atribuible a las cuatro variables predictivas y el 2.72 % de variabilidad en la respuesta es atribuible a factores no controlados. El modelo matemático se construyó usando los factores e interacciones que tuvieron efecto significativo sobre el rendimiento de biodiesel, Ecuación 54.

$$y = 340.355 + 303.461x_1 - 218.288x_1^2 + 10.735x_2 - 0.0298x_2^2 + 0.6191x_3 - 0.00388x_3^2 - 0.7525x_1 * x_2 + 0.1775x_1x_3 + 0.00145x_2x_3 \quad (54)$$

### 5.5.2 Análisis del efecto de los factores sobre el rendimiento de biodiesel

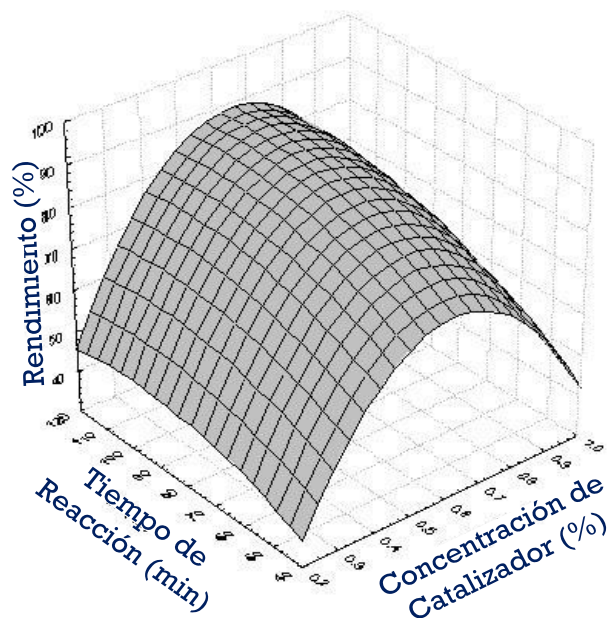
El análisis de varianza muestra que la concentración de catalizador y la temperatura de reacción fueron los factores que más contribuyeron al rendimiento de metil ésteres (Cuadro 16). Un incremento simultáneo de la concentración de catalizador a partir de 0.26 % peso y de la temperatura de reacción por arriba de 46.6 °C favorece el rendimiento de biodiesel; lo que se podría atribuir a que el aumento de temperatura favorece la velocidad de reacción entre los reactivos (Figura 26). Para concentraciones de catalizador de 0.60 % peso y temperatura de reacción de 55 °C, se logran conversiones del orden del 90 % peso. Mientras que para valores por arriba de estos, el efecto es negativo; esto se atribuye a que un exceso de catalizador favorece la saponificación de triglicéridos y en consecuencia disminuye el rendimiento de biodiesel. Este fenómeno también fue observado en trabajos previos en la transesterificación de aceite de soya y de higuera por De Oliveira *et al.*, (2005) y en la transesterificación de aceite de *Brassica carinata* por Aracil *et al.*, (2007).





**Figura 26. Gráfica de superficie de respuesta del rendimiento de biodiesel en función de la concentración de catalizador y temperatura de reacción.**

El rendimiento de biodiesel en función de la concentración de catalizador y tiempo de reacción se presenta en la (Figura 27), se puede observar que el rendimiento de biodiesel se incrementa con el tiempo. Para una concentración de catalizador de 0.6 % peso y 113.4 min de tiempo de reacción se alcanza un rendimiento máximo de 90.18 % peso de metil ésteres (Cuadro 15). El análisis cromatográfico del biodiesel sintetizado en el ensayo 14 muestra que está constituido de 100 % de metil ésteres (Cuadro 17), que la conversión de triglicéridos a metil ésteres fue completa y que se alcanzó el equilibrio químico. A través del análisis de superficies de contorno se determinó que las condiciones óptimas de reacción son: concentración de catalizador de 0.62 % peso, temperatura de reacción 56 °C y 110 min para el tiempo de reacción.



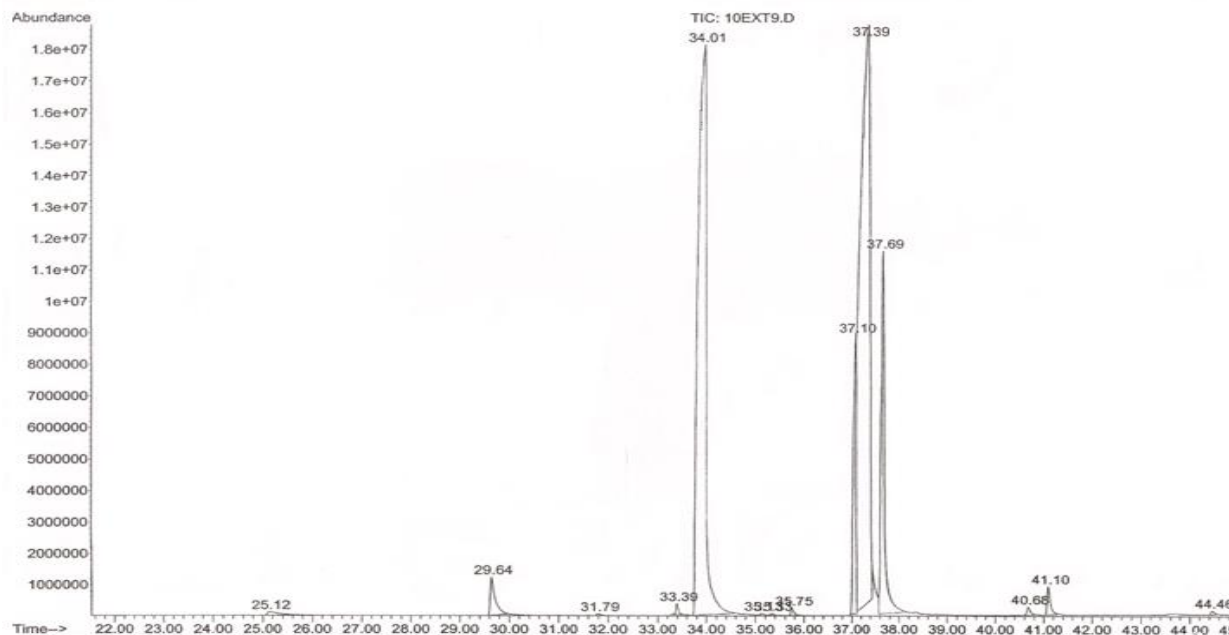
**Figura 27. Gráfica de superficie de respuesta del rendimiento de biodiesel en función de la concentración de catalizador y temperatura de reacción.**

### **5.5.3 Análisis de la composición química del biodiesel de palma africana**

La caracterización química del biodiesel de palma, indica que son cuatro los componentes con mayor concentración (Figura 28). Los tiempos de retención, componentes y concentraciones del biodiesel de palma africana se presentan en (Cuadro17). El primer compuesto, identificado a los 34 min corresponde al hexadecanoato de metil éster con una concentración de 39.1 % en peso; el compuesto identificado a los 37.1 min es el 9,12-octadecadienoato de metil éster con 5.755 % en peso; el compuesto de mayor concentración fue identificado a los 37.397 min y corresponde al 9-octadecenoato metil éster con 44.378 % en peso, el componente identificado a los 37.68 min es el octadecanoato metil éster con 9.592 % en peso. El análisis cromatográfico muestra que el biodiesel de palma sintetizado en este trabajo cumple con el contenido mínimo de metil ésteres que es de 96.5 % peso, y que está estipulado en la norma EU 14214.

Cuadro 17. Composición química del biodiesel de palma Africana

Componentes	Tiempo de retención (min)	Peso (%)
Dodecanoato de metilo	25.084	0.426
Tetradecanoato de metilo	29.621	2.090
Pentadecanoato de metilo	31.773	0.072
9-Hexadecenoato de metilo	33.375	0.334
Hexadecanoato de metilo	34.144	36.686
Hexadecanoato de etilo	35.321	0.037
Ciclopropano-octanoato de2-hexilmetilo	35.746	0.263
Heptadecanoato de metilo	37.567	49.244
9,12-Octadecadienoato de metilo	37.799	9.634
9-Octadecenoato de metilo	41.097	0.941
Octadecanoato de metilo	44.454	0.152
11-Eicosenoato de metilo	49.236	0.1209



**Figura 28. Caracterización química del biodiesel de palma Africana.**

## 5.6 Conclusiones

Los resultados muestran que la metodología de superficie de respuesta y el diseño compuesto central rotatorio son útiles para determinar el efecto de la concentración de catalizador, la temperatura y tiempo de reacción sobre las reacciones de transesterificación de la oleína cruda de palma africana. Permite encontrar los valores óptimos de los factores estudiados que maximizan el rendimiento de biodiesel. El análisis de varianza muestra que las variables con efecto significativo sobre el rendimiento de biodiesel fueron: concentración de catalizador ( $x_1$ ), temperatura de reacción ( $x_2$ ) y tiempo de reacción ( $x_3$ ); así como las interacciones concentración de catalizador\*temperatura de reacción y concentración de catalizador\*tiempo de reacción. Las condiciones óptimas para la esterificación se establecen en; concentración 2.5 % peso de ácido sulfúrico, tiempo de reacción de 150 min y temperatura 64.5 °C. Para la etapa de transesterificación se establecen en; 0.65 % peso de concentración de catalizador, temperatura de reacción de 56 °C y tiempo de reacción de 114 min y concentración de metanol al 20 % peso. Los resultados muestran que es factible producir biodiesel empleando oleína cruda de palma africana como materia prima de bajo costo a través de un proceso de dos etapas; una esterificación ácida y una transesterificación alcalina. Los rendimientos de biodiesel obtenidos

a escala de laboratorio fueron de 90 % en peso, con un bajo costo energético y un tiempo de reacción global de 264 min. Estos datos podrían emplearse para pruebas preliminares a nivel piloto.

## 5.7 Literatura citada

- Aracil, J., Bouaid, A. and Martínez, M. 2007. A comparative study of ethyl esters from vegetable oils as a biodiesel fuel optimization by factorial design. *Chem. Eng. Journal.* 134: 93-99.
- Buttler, N. and Morales, V. 2007. Optimal Additions to and Deletions from Two-Level Orthogonal Arrays. *Journal of the Royal Statistical Society Serie B.* 1: 51-61.
- Darnoko, D. and Cheryan, M. 2000. Kinetics of Palm Oil Transesterification in a Batch Reactor. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77: 1263–1267.
- Dermirbas, A. 2007. Importance of biodiesel as transportation fuel. *Energy Police.* 35: 4661-4670.
- De Oliveira, D., Di Luccio, M., Faccio, C. Dalla Rosa, C., Bender, J. P., Lipke, N., Amroginski, C., Dariva, C. and de Oliveira, J. V. 2005. Optimization of alkaline transesterification of soybean oil for biodiesel production. *App. Biochem. and Biotechnol.* 121-124: 553-560.
- Fargione, J. E., Argione, J. E., Plevin, R. J. and Hill, J. D. 2010. The Ecological Impact of Biofuels. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41: 351–377.
- Gwi, T., J. and Park D. H. 2009. Optimization of biodiesel production from castor oil using response surface methodology. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 156: 431-441.
- Haas, M. J., Scott, K. M., Marmer, W. N. and Foglia, T. A. 2004. *In situ* Alkaline Transesterification: An Effective Method for the Production of Fatty Acid Esters from Vegetable Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81: 83-89.
- Kafuku, G., Teong, L. K. and Mbarawa, M. 2010. The use of sulfated tin oxide as solid superacid catalyst for heterogeneous transesterification of *Jatropha curcas* oil. *Chemical Papers.* 64: 734-740.

- Karmee, S. K., Chandna, D., Ravi, R. and Chadha, A. 2006. Kinetics of base-catalyzed transesterification of triglycerides from pongamia oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83: 873-877.
- Marchetti, J. M. and Errazu, A. F. 2008. Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. *Biomass and Bioenergy.* 32: 892-895.
- Reinhard, G. A., Rettenmaier, N. and Münch, J. 2008. Ökologische optimierungspotenziale der energetischen Nutzung von Palmöl. *Umweltwiss Schadst Forsch.* 20: 180-188.
- Umer, R., Farooq, A., Tariq, M. A., Muhammad, A. and Mushtaq, A. 2009. Optimization of alkaline transesterification of rice bran oil for biodiesel production using response surface methodology. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84: 1364-1370.

## **CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES**

La metodología de superficie de respuesta y el diseño factorial central rotatable fueron útiles para determinar las condiciones óptimas de la transesterificación de la oleína cruda de palma africana. El modelo cuadrático construido en función de la concentración de catalizador, temperatura y tiempo de reacción muestra buena capacidad predictiva del rendimiento de biodiesel, en el intervalo establecido para cada factor. El modelo es capaz de predecir el 97.28 % de la variación total del sistema. Bajo condiciones optimizadas se logran rendimientos del orden del 90 % peso y 100 % de conversión de triglicéridos a metil ésteres.

Se puede afirmar que las huellas espectrales del UV-Vis y del infrarrojo son información suficiente para establecer modelos de predicción. Los modelos de regresión PLS obtenidos estiman la concentración de biodiesel en diesel, con resultados estadísticamente iguales a los valores de referencia. Con lo cual es posible predecir el porcentaje de concentración a la cual está hecha una mezcla biodiesel-diesel para ser empleada en los vehículos a motores diesel. Los modelos propuestos son más rápidos, consumen menos tiempo y reactivos, y presentan menor error analítico cuando se comparan contra los métodos convencionales.