



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIODIESEL MEDIANTE MÉTODOS INSTRUMENTALES Y QUIMIOMETRÍA

CRISTEL SILVÁN DE LA FUENTE

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO

2013

La presente tesis titulada: "EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIODIESEL MEDIANTE MÉTODOS INSTRUMENTALES Y QUIMIOMETRÍA", realizada por la alumna: CRISTEL SILVÁN DE LA FUENTE, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN
PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. ARMANDO GUERRERO PEÑA

ASESOR:



DR. ADOLFO BUCIO GALINDO

ASESOR:



DR. EUGENIO CARRILLO ÁVILA

H. CÁRDENAS TABASCO A 25 DE JUNIO DE 2013

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIODIESEL MEDIANTE MÉTODOS INSTRUMENTALES Y QUIMIOMETRÍA

Cristel Silván De La Fuente, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2013

RESUMEN

El biodiesel es un combustible líquido que consiste en esteres monoalquil de cadenas largas de ácidos grasos derivados de aceites vegetales o grasas animal, que pueden ser usadas como sustituto de combustible diésel. Los principales motivos que llevaron a los diferentes países a impulsar la producción de biodiesel son garantizar la seguridad energética, reducir los gases de efecto invernadero, así como contribuir al desarrollo del sector rural.

Para su uso, la calidad del biodiesel es generalmente controlada en base a parámetros físicos y químicos establecidos por normas técnicas aprobadas en cada país. Las principales normas técnicas para el biodiesel son la europea (EN 14214) y la estadounidense (ASTM D6751-07). Sin embargo, los métodos establecidos en ambas normas consumen tiempo, reactivos, además de aumentar la probabilidad de error por la manipulación de la muestra.

La tendencia actual de la Química Analítica es resolver el problema planteado con el menor esfuerzo posible. Y los métodos instrumentales junto con la interpretación quimiométrica de la información generada con esta tecnología, son una opción para reducir el tiempo de análisis, el consumo de reactivos; así como reducir la probabilidad de error analítico.

La presente investigación consistió en evaluar si la información generada con métodos instrumentales espectroscopia de ultravioleta-visible (UV/Vis), es información útil y suficiente para establecer un modelo discriminante para clasificar biodiesel y mezclas y desarrollar un modelo para estimar la concentración de biodiesel en diésel. Los resultados indican que las huellas espectrales del UV-Vis son información suficiente para establecer modelos de clasificación y estimación, para evaluar la calidad de biodiesel de aceite vegetal refinado, usado y de mezclas diésel-biodiesel.

Palabras clave: Biodiesel, mezclas diésel-biodiesel, huellas espectrales, quimiometría

QUALITY ASSESSMENT OF BIODIESEL BY INSTRUMENTAL METHODS AND CHEMOMETRIC

Cristel Silván De La Fuente, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2013

ABSTRACT

The biodiesel is a liquid fuel that consists in cover monoalquil of long chains of oily acids derived from vegetable oils or fats animal, which they can be used as substitute of diesel fuel. The principal motives that led to the different countries to stimulating the production of biodiesel are to guarantee the energetic safety, to reduce the greenhouse gases, as well as to contribute to the development of rural sector.

For his use, the quality of the biodiesel is generally controlled on the basis of physical parameters and chemists established by technical procedure approved in every country. The principal technical procedure for the biodiesel is the European (IN 14214) and the American (ASTM D6751-07). Nevertheless, the methods established in both procedures consume time, reagents, beside increasing the probability of mistake for the manipulation of the sample.

The current trend of the Analytical Chemistry is to solve the problem raised with the minor possible effort. And the instrumental methods together with the chemometric interpretation of the information generated with this technology, are an option to reduce the time of analysis, the consumption of reagents; as well as to reduce the probability of analytical mistake.

The present investigation consisted to evaluate if the information generated with instrumental methods spectroscopy of ultraviolet - visible (UV/Vis) it is a useful and sufficient information to establish a model discriminate to classify biodiesel and you mix; and a model develops to estimate the concentration of biodiesel in diesel. The results indicate that the spectral fingerprints of the UV-Vis are sufficient information to establish models of classification and estimation, to evaluate the quality of the biodiesel of vegetable refined, secondhand oil and of mixtures diesel-biodiesel.

Key words. Biodiesel, diesel-biodiesel blend, spectral fingerprints, chemometric

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la facilidad y habilidades en diversas áreas profesional, porque todos mis triunfos y logros son gracias a su misericordia.

A toda mi familia De La Fuente Carreta por su gran apoyo y paciencia en todo lo que implicó la elaboración de este proyecto, quienes han sido testigos una vez más de mi logro obtenido profesionalmente en especial a mi mamá.

A mis hermanos Pedro Alberto, Melanie Saray y Pablo Alejandro quienes se encuentran en el camino de la formación profesional y a quienes les agradezco su cariño, amor y su infinita paciencia conmigo.

A la familia Gutiérrez Gutiérrez por sus múltiples apoyos y consejos en todos los aspectos tanto profesional, emocional y espiritual, quienes también han contribuido en mi superación profesional.

Y una vez más te dedico a ti amor un logro más en nuestras vidas, ya que indudablemente has sido parte del principio de este gran proyecto el cual nos forjamos profesionalmente en el área de la ciencia para ti con mucho cariño *Robert*.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser el hacedor del universo y por la gran fortaleza que me ha brindado en cada una de las etapas que me ha tocado vivir y permitirme culminar con éxito un proyecto más en mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento para la realización de mis estudios de Maestría en el Colegio de Postgraduados.

Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por brindarme las facilidades en sus instalaciones y profesores, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional como investigadora.

Al Dr. Armando Guerrero Peña, por ser mi consejero y su gran apoyo en el desarrollo de la investigación además por compartir sus conocimientos y experiencias sobre el tema de biocombustibles.

Al Dr. Adolfo Bucio Galindo, por sus aportaciones y sugerencias en la mejora de esta investigación y por su disposición generosa para acentuar algunos puntos sobre el tema.

Al Dr. Eugenio Carrillo Ávila, por su contribución en el desarrollo de esta tesis a través de sus comentarios en la revisión.

A la Línea Prioritaria de Investigación 3 Energías Alternas y Biomateriales.

Al personal del Laboratorio Agroindustrial, Suelos, Plantas y Aguas (LASPA) para la realización de los análisis requeridos en la investigación, en especial a don Esteban por su paciencia y apoyo.

A todos mis compañeros de la generación quienes compartimos mutuamente momentos agradables y otros no tanto, gracias por su amistad Verónica, Angélica, Capetillo, Guille, Lety, Neto, Alex, Gloria, Bety y Tú también.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. OBJETIVO GENERAL.....	2
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
3. HIPÓTESIS.....	2
4. REVISION DE LITERATURA	3
CAPITULO I. EVALUACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL MEDIANTE ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE Y QUIMIOMETRÍA	40
1.1 Resumen	41
1.2 Abstract	42
1.3 Introducción	43
1.4 Materiales y Métodos	44
1.5 Resultados y Discusión	46
1.6 Conclusión.....	55
1.7. Literatura Citada.....	56
CAPITULO II. CLASIFICACIÓN DE BIODIESEL Y MEZCLAS Y ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BIODIESEL EN MEZCLAS CON DIESEL	57
2.1 Resumen	58
2.2 Abstract	59
2.3 Introducción	60
2.4 Materiales y Métodos	61
2.5 Resultados y discusión	65
2.6 Conclusión.....	77
2.7 Literatura citada.....	78
CONCLUSIONES GENERALES.....	80

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades del biodiesel (García y García, 2008).....	8
Cuadro 2. Producción de combustible biodiesel en la UE-27y Suiza en 2009.....	10
Cuadro 3. Motivos para la regulación y sus medidas de implementación en diferentes países ...	14
Cuadro 4. Relación de aceites refinados	44
Cuadro 5. Relación de aceites (usados) quemados	44
Cuadro 6. Contenido de grasas en las muestras de aceites refinados	46
Cuadro 7. Combinación de biodiesel-diésel para la preparación de mezclas para el modelo de estimación	64
Cuadro 8. Análisis de varianza del modelo	72
Cuadro 9. Datos de las concentraciones preparadas (referencia) y predichos por el modelo (estimado)	74
Cuadro 10. Comparación de t calculada y t de tablas para la comparación de datos apareados ..	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de transesterificación en la producción del biodiesel (metil éster). R representa la cadena larga del radical alquil.	6
Figura 2. Producción de biodiesel de Estados Unidos 1999 al 2011	11
Figura 3. Regiones del espectro electromagnético	17
Figura 4. Unión de un grupo con una muestra aislada de acuerdo con los métodos del centroide (a), de la unión simple (b) y de la unión completa (c).	22
Figura 5. Dendrograma.	23
Figura 6. Análisis de componentes principales (PCA)	24
Figura 7. Representación de las puntuaciones de dos clases de objetos en los dos primeros componentes principales	26
Figura 8. Modelos de dos clases de objetos A y B en el espacio de sus componentes principales, regiones de confianza y predicción de dos muestras	29
Figura 9. Diagrama de Coomans	30
Figura 10. Regresión y correlación lineal simple. En A se observa que la distribución de la regresión es positiva o directa porque el coeficiente de correlación es cercano a 1. En B se observa que la distribución de la regresión es negativa o inversa porque el coeficiente de correlación es cercano a -1. Mientras que en C se muestra que no hay correlación entre las variables porque el coeficiente de correlación es cercano a 0 y porque Y permanece constante y muy dispersa a medida que aumenta X.	32
Figura 11. Representación de la composición química de las muestras de aceite mediante las Caras de Chernoff.	48
Figura 12. Interpretación con los datos de la composición química de los aceites refinados mediante análisis de agrupamiento jerárquico.	50
Figura 13. Biplot de las muestras de aceite y las variables dadas por su composición química ..	51

Figura 14. Espectros UV-Vis completos (a) e intervalo espectral seleccionado (b), de las muestras de aceite refinado.....	52
Figura 15. Análisis de agrupamiento jerárquico de las huellas espectrales UV-Vis de los aceites refinados.....	53
Figura 16. Análisis de los componentes principales de los aceites refinados y usados, obtenidos de las huellas espectrales	54
Figura 17. Espectros UV-Vis completo (a) e intervalo seleccionado (b), de los aceites refinados	65
Figura 18. Representación de las puntuaciones de las huellas espectrales UV-Vis de las muestras de biodiesel y las mezclas en los dos primeros componentes principales	66
Figura 19. Diagrama de Coomans del model de clasificación SIMCA para muestras de biodiesel puro, mezclas y aceites quemados analizados con espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) 68	
Figura 20. Espectro UV-Vis del conjunto de muestras biodiesel-diésel a diferentes concentraciones, región completa (a) y región seleccionada (b).	69
Figura 21. Modelo de regresión lineal simple generado con la concentración de 100 muestras de biodiesel y mezclas con diésel, y la absorbancia de cada muestra en la longitud de onda 458....	70
Figura 22. Modelo de regresión lineal simple generado con la concentración de 99 muestras de biodiesel y mezclas con diésel y la absorbancia de cada muestra en la longitud de onda 458.....	71
Figura 23. Gráfico de correlación de los valores de referencia vs estimados por el modelo; de las muestras de biodiesel y las mezclas con diésel.....	73
Figura 24. Gráfico de correlación de los valores de referencia vs estimados por el modelo; de las muestras de biodiesel y las mezclas con diésel; para la validación externa	75

INTRODUCCIÓN GENERAL

El biodiesel es un combustible líquido que consiste en ésteres monoalquilo de cadenas largas de ácidos grasos derivados de aceites vegetales o grasas animal, que pueden ser usadas como sustituto de combustible diésel. Los principales motivos que llevaron a los diferentes países a impulsar la producción de biodiesel han sido: 1) una mayor seguridad en el abastecimiento energético, 2) la reducción de la dependencia de fuentes de energía fósiles, 3) la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, 4) la reducción de emisiones dañinas de efecto local, 5) la protección del suelo mediante el uso de productos biodegradables, 6) la reducción de peligros a la salud mediante el uso de productos no tóxicos y 6) la reducción de los excedentes de la producción agraria.

Para su uso, la calidad del biodiesel es generalmente controlada en base a ciertos parámetros físicos y químicos establecidos por normas técnicas aprobadas en cada país. Las principales normas técnicas para el biodiesel son la europea (EN 14214) y la estadounidense (ASTM D6751-07). Sin embargo, los métodos establecidos en ambas normas consumen tiempo, reactivos, además de aumentar la probabilidad de error por la manipulación de la muestra.

La tendencia actual de la Química Analítica es resolver el problema planteado con el menor esfuerzo posible. Y los métodos instrumentales junto con la interpretación quimiométrica de la información generada con esta tecnología, son una opción para reducir el tiempo de análisis, el consumo de reactivos; así como reducir la probabilidad de error analítico.

La presente investigación consistió en evaluar si la información generada con métodos instrumentales espectroscopia de ultravioleta-visible (UV/Vis), es información útil y suficiente para establecer un modelo discriminante para clasificar biodiesel y mezclas y desarrollar un modelo para estimar la concentración de biodiesel en diésel.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

1. OBJETIVO GENERAL

Establecer una metodología para evaluar la calidad del biodiesel mediante instrumentales “espectroscopia de ultravioleta-visible (UV/Vis)”.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Implementar un modelo discriminante para clasificar biodiesel y mezclas.
2. Desarrollar un modelo para estimar la concentración de biodiesel en diésel.

3. HIPÓTESIS

La información generada con la espectroscopia UV-Vis es suficiente para generar modelos para clasificar biodiesel y mezclas y para estimar la concentración de biodiesel en diésel.

4. REVISION DE LITERATURA

4.1 Antecedentes del biodiesel

La idea de usar aceites vegetales como combustible para los motores de combustión interna data de 1895, cuando el Dr. Rudolf Diesel desarrollaba su motor. En la presentación del motor diésel en la Exposición Mundial de París, en 1900, el Ing. Diésel usaría aceite de maní como combustible, o mejor dicho, como biocombustible (Castro *et al.*, 2007).

Años después diésel fue muy claro al señalar que “el motor diésel puede funcionar con aceites vegetales, esto podría ayudar considerablemente al desarrollo de la agricultura de los países que lo usen así”. Hacia 1912 afirmaría que “el uso de los aceites vegetales como combustibles para los motores puede parecer insignificante hoy en día, pero con el transcurso del tiempo puede ser tan importante como los derivados de petróleo y el carbón en la actualidad” (Shay, 1993).

Las predicciones de diésel tomarían su tiempo para empezar a tomar a cuerpo y en este lapso de más o menos un siglo, los motores diésel evolucionarían y se perfeccionarían utilizando fundamentalmente destilados medios de petróleo con mucha menor viscosidad que los aceites vegetales. La transesterificación este proceso fue desarrollada por los científicos E. Duffy y J. Patrick a mediados del siglo XIX, cuarenta años antes que Diésel desarrollara su motor combustión interna. Los aceites vegetales (y también las grasas animales) están constituidos por moléculas (ésteres) de ácidos grasos y glicerol. A éste último, los aceites y grasas le deben su elevada viscosidad (Castro *et al.*, 2007).

Durante el siglo XX, algunos intentos se realizaron para utilizar aceites como combustible para vehículos. Antes de la segunda guerra mundial se introdujo el uso de aceites transesterificados como combustibles en vehículos pesados en el África. Durante la década de los 40 años, los franceses trabajaron con el aceite de piñón (*Jatropha curcas*) como combustible sin tener resultados positivos. Posteriormente se realizaron algunos ensayos en la República Federal de Alemania y Austria con aceite de colza (*Brassica napus*); y en Cabo Verde y en Malí también con aceite de piñón, obteniéndose excelentes resultados (Castro *et al.*, 2007).

Sin embargo, el resurgimiento de la idea de Diésel, de emplear aceites vegetales en sus motores empieza a cobrar fuerza nuevamente hacia finales del siglo XX, esta vez bajo la forma de biodiesel, e impulsado principalmente, por preocupaciones ambientales relacionadas con el cambio climático y la necesidad de encontrar alternativas al uso de combustible fósiles. Hasta hace pocos años era posible identificar otras motivaciones, además de las ecológicas, para impulsar su uso en diferentes regiones; por ejemplo, los excedentes en la producción de soya en los Estados Unidos, o los excedentes de la producción agraria en Europa que impulsaron la política de poner tierras en descanso para no afectar los precios de los productos agrícolas. En ambos casos, la producción de biodiesel, sea a partir de soya en los Estados Unidos, o de otros cultivos energéticos como la colza o el girasol en Europa, aparecía como excelente alternativa a estas situaciones específicas, a la vez que contribuía con la mitigación del cambio climático. No obstante, requería aún de importantes subsidios o exenciones tributarias para asegurar su viabilidad, ya que los precios de los aceites vegetales eran sustancialmente que los del diésel (Castro *et al.*, 2007).

Es con la espectacular subida de los precios del petróleo a partir del 2004, que los precios de los aceites vegetales y las grasas animales se empiezan a equiparar con los del diésel y generan este reciente *boom* de los biocombustibles líquidos a nivel mundial (Castro *et al.*, 2007).

4.2 El biodiesel

El biodiesel es un combustible líquido que consiste en ésteres monoalquil de cadenas largas de ácidos grasos derivados de aceites vegetales o grasas animal, que pueden ser usadas como sustituto de combustible diésel (Hu *et al.*, 2004; Veljković *et al.*, 2006).

Otros autores describen al biodiesel como ésteres mono-alquil de cadenas largas de ácidos grasos derivados de materia prima renovable, como los aceites vegetales o grasas animales, para ser usados en máquinas de ignición compresión (diésel). Siendo el biodiesel más atractivo por los beneficios medio ambientales y el hecho de que son generados de fuentes renovables (Ma and Hanna, 1999).

El biodiesel es sintetizado por la transesterificación de triglicéridos (TG), los principales componentes de los aceites vegetales y grasas animales, con un mono-alcohol en presencia de un catalizador, en alquil esteres de ácidos grasos (Darkono and Cheryan, 2000).

4.2.1 Reacción de transesterificación

Actualmente el biodiesel es producido por la metilación de triglicéridos de catálisis básica, el cual por el ataque del ion metóxido son secuencialmente convertidos vía diglicéridos y monoglicéridos a glicerol, con una molécula de éster metílico comienza a formarse en cada etapa como sigue:



Donde TG representa a los triglicéridos, MI el ion metóxido, DG diglicéridos, MG monoglicéridos, G glicerol y ME éster metílico (Mahajan *et al.*, 2007).

Es importante señalar que las especies que atacan es el ion metóxido y no el metanol. También debe señalarse que los glicéridos del lado derecho de cada ecuación son inicialmente formados como sus aniones, que luego son convertidos rápidamente a sus formas neutras por abstracción de protones del metanol, así se regeneran los iones de metóxido. También en aquellos casos donde se utilizan catalizadores de hidróxido, los iones de metóxido son generados por equilibrio de iones de hidróxido con metanol:



Finalmente, cabe señalar que, mientras las reacciones de iones metóxido con enlaces glicéridos forma éster metílico reversiblemente, las reacciones de los iones de hidróxido con todos los enlaces éster (incluidos los de éster metílico) irreversiblemente forma jabón. Este jabón, si se acidifica, forma ácidos grasos, que luego aumenta el índice de acidez del éster metílico (Mahajan *et al.*, 2007).

A continuación se presenta la formula desarrollada de la transesterificación para la producción de biodiesel:

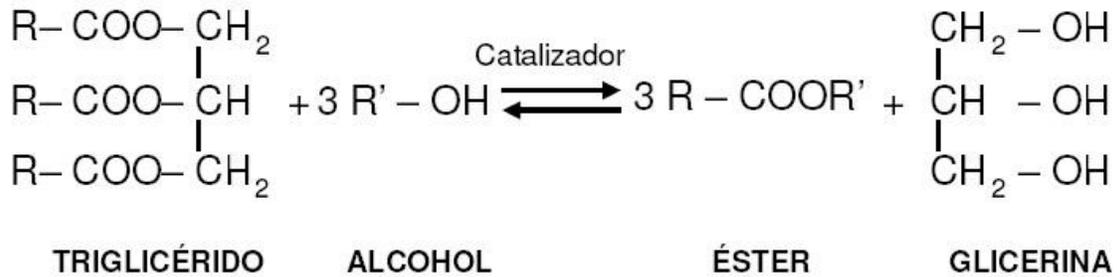


Figura 1. Reacción de transesterificación en la producción del biodiesel (metil éster). R representa la cadena larga del radical alquil.

4.2.2. Parámetros de calidad

Las propiedades del biodiesel son prácticamente las mismas que las del gasóleo de automoción en cuanto a densidad y número de cetano. Además, presenta un punto de inflamación superior. Por todo ello, el biodiesel puede mezclarse con el gasóleo para su uso en motores e incluso sustituirlo totalmente si se adaptan éstos convenientemente (García y García, 2008).

En cuanto a la utilización del biodiesel como combustible de automoción, ha de señalarse que las características de los ésteres son más parecidas a las del gasóleo que las del aceite vegetal sin modificar. La viscosidad del éster es dos veces superior a la del gasóleo frente a diez veces o más a la de la del aceite crudo; además el índice de cetano de los ésteres es superior, siendo los valores adecuados para su uso como combustible. ASTM ha especificado distintas pruebas que se deben realizar a los combustibles para asegurar su correcto funcionamiento (García y García, 2008).

Los biocarburantes utilizan productos vegetales como materia prima. Por ello es preciso tener en cuenta las características de los mercados agrícolas, además de los mercados energéticos. El desarrollo de la industria de los biocarburantes no depende principalmente de la disponibilidad local de la materia prima (salvo en situaciones especulativas) si no de la existencia de una demanda suficiente (García y García, 2008).

Los requerimientos específicos y los métodos de control/ensayo para la comercialización y distribución de esteres metílicos de ácidos grasos (FAME) para su utilización en motores diésel con 100% de concentración se encuentra en la norma UNE EN 14214:2003 transcrita en el RD 398/1996 (García y García, 2008).

En caso de utilizarse el biodiesel como diluyente debe cumplir los requisitos para los combustibles minerales de automoción y que se encuentran recogidas en la norma europea EN-590 (García y García, 2008).

La calidad del biodiesel dependerá del aceite o grasa de partida; o bien del grado de correcta fabricación (García y García, 2008).

En el cuadro 1 se encuentran cada uno de las especificaciones establecidas por la Norma Europea EN 14214.

Cuadro 1. Propiedades del biodiesel (García y García, 2008)

Propiedad	Unidad	Límites		Método de ensayo
		Mínimo	Máximo	
Contenido en éster	% (m/m)	96,5		EN 14103
Densidad a 15°C	Kg/m ²	860	960	EN ISO 3675 EN ISO 12185
Viscosidad a 40°C	mm ² /g	3,50	5,00	EN ISO 3104
Punto de inflamación	°C	120	---	prEN ISO 3679
Contenido de azufre	mg/kg	---	10,0	prEN ISO 20846
Índice de cetano		51,0		EN ISO 5165
Contenido de cenizas sulfatadas	% (m/m)	---	0,02	ISO 3987
Contenido en agua	mg/kg	---	500	EN ISO 12937
Contaminación total	mg/kg	---	24	EN 12662
Corrosión de la tira de cobre (3 hr a 50°C)	Clasificación		Clase 1	EN ISO 2160
Estabilidad de la oxidación 110 °C	Horas	6,0		EN 14112
Índice de ácido	mg KOH/g		0,50	EN 14104
Índice de Yodo	g de yodo/100g		120	EN 14111
Éster de metilo de ácido linoleico	% (m/m)		12,0	EN 14103
Ésteres de metilo poli-insaturados (>= a 4 dobles enlaces)	% (m/m)		1	
Contenido de metanol	% (m/m)		0,20	EN 14110
Contenido en monoglicéridos	% (m/m)		0,80	EN 14105
Contenido en diglicérido	% (m/m)		0,20	EN 14105
Contenido en triglicérido	% (m/m)		0,20	EN 14105
Glicerol libre	% (m/m)		0,02	EN 14106
Metales del grupo I (Na+K)	mg/kg		5,0	EN 14108
Metales del grupo II (Ca+Mg)	mg/kg		5,0	prEN 14538
Contenido de fósforo	mg/kg		10,0	EN 14107

4.3 La industria del biodiesel

El biodiesel es un combustible cada vez más popular con estudios que indican su rápido crecimiento en consumo. Europa representa en la actualidad el 90% del consumo, con otros países poniéndose al día rápidamente. En Estados Unidos, el número de puntos de venta ha aumentado desde 300 en 2005 a más de 950 en 2006. Un estudio de Emerging Markets Online predice que el combustible podría representar tanto como el 20% de todo el consumo de diésel de carretera en Brasil, Europa, China e India en 2020 (Mills, 2007).

4.3.1 Producción mundial de biodiesel

Según el F.O. Licht's World Ethanol & Biofuels Report, la producción de biodiesel en el mundo en el 2005 habría superado los 3 mil 500 millones de litros, siendo Alemania el principal productor con 1.920 millones de litros, seguido de Francia (511 millones), Estados Unidos (290 millones), Italia (227 millones) y Austria (83 millones) (Castro *et al.*,2007).

Por lo tanto hubo un crecimiento de la producción del 17% en 2009 respecto a 2008, la Unión Europea sigue siendo el principal productor de biodiesel en el mundo. En 2009, la producción de biodiesel en la UE alcanzó 10'187 millones de litros (es decir 55-60% de la producción mundial). Con una producción de 2'060 millones de litros en 2009 (por debajo de 2'650 millones de litros en 2008) de acuerdo a los EE.UU. National Biodiesel Board, los Estados Unidos vienen en segundo lugar, por delante de Brasil (1'535 ml de acuerdo con biodiesel.gov.br) y Argentina (1'340 ml de acuerdo con la Cámara Argentina de Energías Renovables). La producción de biodiesel en los países asiáticos (Tailandia, China, Corea, India, Malasia, Filipinas, Indonesia, etc) en el año 2009 se estima en alrededor de 2'000 Millones de litros. En general, la producción de biodiesel en todo el mundo en 2009 es de 18.000 ml (es decir 11% con respecto al 2008).

La producción de biodiesel en la UE y en Suiza se muestra en el Cuadro 2. Las cifras se presentan en millones de litros (MI) y se refieren al año 2009.

Cuadro 2. Producción de combustible biodiesel en la UE-27y Suiza en 2009

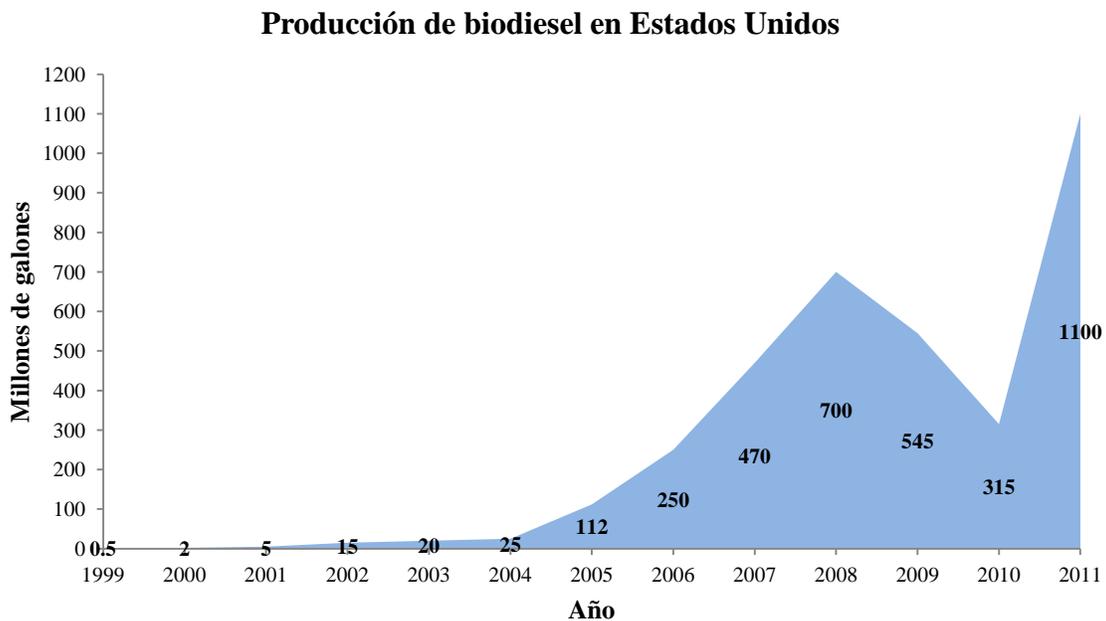
Pais	Producción (millones de litros)	Porcentaje
Alemania	2,859	16
Francia	2,206	12
Estados Unidos	2'060	11
Brasil	1,535	9
Argentina	1,340	7
España	967	5
Italia	830	5
Tailandia	610	3
Bélgica	468	3
Polonia	374	2
Países bajos	364	2
Austria	349	2
China	338	2
Colombia	330	2
Korea del Sur	300	2
Total	17,929	100
De los cuales la Unión Europea	8,733	49
De los cuales Suiza	8	--

Informes por la European Biodiesel Board en el 2011 señalaron un rápido crecimiento de la producción de biodiesel en la Unión Europea por varios años (de 1998 al 2011), de 1998 al 2005 la producción haciendo hincapié que la producción del año 2010 fue de 9.5 millones toneladas métricas, teniendo un incremento del 5.5 % en la producción respecto al año 2009 y liderando en todos los años Alemania. Siendo hasta ahora, el biodiesel el biocombustible más producido y comercializado en Europa.

4.3.2 Producción de biodiesel en Estados Unidos

La industria del biodiesel en EE.UU. alcanzó un hito clave en la producción de más de 1 billón de galones de combustible en 2011 (Figura 2), según cifras de fin de año publicados por la EPA en enero de 2012. El volumen total de cerca de 1,1 mil millones de galones es por lejos un récord para la industria y fácilmente superando la meta de 800 millones de galones que exige la Norma de Combustibles Renovables de la EPA (RFS). El récord anterior para la producción de biodiesel fue alrededor de 690 millones de galones en 2008 (Biodiesel America's Advanced Biofuel, 2012).

Un reciente estudio económico encargado por la Junta Nacional de Biodiesel encontró que la producción de biodiesel de 1 mil millones de galones apoya 39,027 puestos de trabajo en todo el país y más de \$2.1 mil millones en los ingresos del hogar. Un adicional de 11.698 puestos de trabajo se podría añadir entre 2012 y 2013 solo en un crecimiento continuo en la Norma de Combustibles Renovables (RFS) y con una extensión de los incentivos fiscales de biodiesel (Biodiesel America's Advanced Biofuel, 2012).



Fuente: Estimaciones anuales del Consejo Nacional de Biodiesel

Figura 2. Producción de biodiesel de Estados Unidos 1999 al 2011

En los Estados Unidos, se estimó aumento en la producción de biodiesel de 2 millones de galones (7,56 = millones de litros, aproximadamente 6.700 toneladas métricas) en el 2000, 700 millones de galones (= 2.646 millones de litros, aproximadamente 2,33 millones de toneladas métricas) en 2008, las producciones mayores ocurrieron en los últimos años. En junio de 2009, la capacidad de producción en los Estados Unidos era de 2,69 millones de galones lo que equivale a aproximadamente 10,17 mil millones litros y aproximadamente 8,97 millones de toneladas métricas (National Biodiesel Board, 2009).

4.3.3 Factores que impulsan el uso del biodiesel

Los principales motivos que llevaron a los diferentes países a impulsar la producción de biodiesel han sido (Friedrich, 2004):

- Una mayor seguridad en el abastecimiento energético
- La reducción de la dependencia de fuentes de energía fósiles
- La reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero
- La reducción de emisiones dañinas de efecto local
- La protección del suelo mediante el uso de productos biodegradables
- La reducción de peligros a la salud mediante el uso de productos no tóxicos
- La minimización de los excedentes de la producción agraria

Como se puede observar, todas estas razones están directamente relacionadas con las ventajas del biodiesel. Ellas se relacionan también con los tipos de medidas regulatorias y de fomento que han implementado los gobiernos para alcanzar estas metas, tal como se aprecia en el cuadro 2.

4.4 Principales usos del biodiesel

El uso del biodiesel en los vehículos automotores se debe apreciar como una alternativa para preservar los recursos petrolíferos del país y mitigar los gases de efecto invernadero, sin embargo desde el punto de vista de ahorro de energía se requieren hacer pruebas para evaluar el impacto que tendría en el rendimiento de combustible (CONAE, 2007).

La calidad del biodiesel es generalmente controlada en base a ciertos parámetros físicos y químicos establecidos por normas técnicas aprobadas en cada país. Las principales normas técnicas para el biodiesel son la europea (EN 14214) y la estadounidense (ASTM D6751-07) (Matthews y O'Connor, 2006).

La principal aplicación vehicular que se tiene del biodiesel en Estados Unidos esta en las flotas vehiculares del ejército así como de agencias gubernamentales, sin embargo los gobiernos estatales y el Ministerio de Energía han venido trabajando en expandir el mercado del biodiesel en base al reconocimiento que obtuvo el empleo de biodiesel (B100) como combustible alterno. Entre los gobiernos estatales más activos en promover el uso del biodiesel se encuentra el de Minnesota; que a partir del año 2005 promovió un mandato para que el diésel destinado al autotransporte contenga un 2% de biodiesel (CONAE, 2007).

La Unión Europea es líder mundial en la producción y consumo de biodiesel, tan sólo en el año 2004 produjo alrededor de 2.2 billones de litros de biodiesel y donde los tres principales países productores de este bioenergético son: Alemania (con 1.4 millones de toneladas), Francia (0.35 millones de toneladas) e Italia (0.32 millones de toneladas). Alemania y Austria han concentrado sus esfuerzos a la promoción del B100, en contraste con el uso exclusivo de B5 en Francia. En Italia, la mitad de la producción de biodiesel es utilizada para emplearlo como aceite de calefacción y el resto para utilizarlo como mezcla B5 (CONAE, 2007).

Cuadro 3. Motivos para la regulación y sus medidas de implementación en diferentes países

Motivo	Territorio	Medida legal
Seguridad del abastecimiento energético	Estados Unidos	Vehículos con combustibles alternativos/EPAct
	Unión Europea	Cuota obligatoria de 2% y 5% del mercado de combustibles
Reducción de emisiones dañinas	Estados Unidos	Ley de aire limpio Programa de ciudades limpias
	Italia	Programas de ciudades limpias
Salud ocupacional	Estados Unidos	Minería subterránea: límites de emisiones
	Alemania	Montacargas en interiores
Protección del suelo	Austria	Trabajo en túneles: límites de emisiones
	Austria Holanda	Regulación sobre la lubricación en motosierras: Mayor depreciación en los equipos
Protección del agua	Alemania, Austria y Suiza	Comisión para el Tráfico Internacional de Barcos en el lago Constanza: límites
Protección del clima	Alemania	Sistemas de impuestos ecológicos
Minimización de excedentes agrarios	Unión Europea	Política de tierras puestas en descanso y de promoción de cultivos con fines no alimentarios
Motivo	País	Medida voluntaria
Reducción de costos de la disposición de residuos y mejoramiento de la imagen de la ciudad	Austria	Ciudad de Leibnitz: Recolección de aceites usados y uso como biodiesel en la flota
Imagen regional: <<Pureza natural>>	Austria	Región turística de Lech/Tirol
Imagen corporativa <<Nos preocupamos>>	Alemania	Sistema de tráfico de buses de Heisberg
Incentivos para el uso de buses públicos	Austria	Sistema de tráfico de buses Feldkirch
Incentivos para el uso de vehículos limpios	Suecia	Estacionamiento gratuito para vehículos con bioetanol

Fuente: Austrian Biofuels Institute: World-wide trends in production and marketing of biodiesel, presentado en el seminario ALTENER <<New Markets for Biodiesel in Modern Common Rail Diesel Engines>>, Universidad Tecnológica de Graz, Graz, Austria (22 mayo 2000); Friedrich, 2004.

4.4.1 Uso del biodiesel puro

El biodiesel puro (B100, como se conoce en la nomenclatura técnica asumida por varios países, donde B representa al biodiesel y 100 representa al porcentaje de mezcla con diésel – en este caso 100 porque la «mezcla» es 100% de biodiesel y 0% de diésel) tiene propiedades físicas y químicas similares a las del diesel de petróleo, y por lo tanto puede ser utilizado con los mismos equipos y motores que el diésel con poca o ninguna modificación (DOE, 2006a).

El cumplimiento de las normas técnicas de calidad es suficiente para garantizar que su uso no va a causar problemas de performance en el motor. Sin embargo, algunas propiedades específicas del B100 deben ser tomadas en cuenta durante su manipulación y uso (DOE, 2006a).

4.4.2 Uso del biodiesel en mezclas

La forma más común de utilizar el biodiesel es en mezclas – en diferentes porcentajes – con el diésel de petróleo, es decir, en forma de aditivo. Las mezclas más comunes son las B2 (2% de biodiesel y 98% de diésel de origen fósil), las B5 (5% de biodiesel y 95% de diésel de origen fósil), así como la B20 (20% de biodiesel con un 80% de diésel de origen fósil) y que pueden usarse generalmente sin modificar el motor, sin embargo también se puede emplear un 100% de biodiesel pero es necesario ciertas modificaciones del motor que le permitan evitar problemas de mantenimiento y de desempeño (Castro *et al.*, 2007).

Este enfoque tiene las siguientes ventajas:

- Se reducen los problemas de uso en climas fríos.
- Se evitan los problemas de incompatibilidad del biodiesel con el caucho y otros plásticos de mangueras y empaquetaduras.
- Se reduce el efecto de solvente.
- Se mejoran las emisiones (aunque en menor porcentaje que si se usa biodiesel puro), sin reducir significativamente la potencia y torque.

Diferentes países fomentan determinados porcentajes de mezcla, según los objetivos que quieran alcanzar:

Si se desea promover el empleo en el sector agropecuario mediante la producción de aceites vegetales para biodiesel, se debe tener en cuenta la capacidad de producción local de oleaginosas. Este es el enfoque de Brasil – que establece mezclas del 2% en un inicio y luego del 5% - y de la Comunidad Europea – con diferentes enfoques de mezcla según países (Castro *et al.*, 2007).

Si el objetivo es mejorar la calidad del aire en las ciudades, se requiere mezclas de al menos 20% ó 30% de biodiesel (Castro *et al.*, 2007).

Con mezclas mayores al 20-30% se logran mayores beneficios de reducción de emisiones de CO, material particulado e hidrocarburos, pero las emisiones de NOx pueden subir (dependiendo del tipo de motor). De importancia especial es la reducción en las emisiones de hidrocarburos policíclicos aromáticos y otros compuestos carcinogénicos o tóxicos que se encuentran normalmente en los escapes del diésel (Castro *et al.*, 2007).

Sin embargo, con estos niveles de mezcla se debe tener cuidado con el uso del combustible en climas fríos (por debajo de 0 °C), con el efecto de disolución y limpieza del biodiesel, y con compatibilidad con los materiales de las mangueras y empaquetadoras (DOE, 2006a).

4.5 Métodos Instrumentales

Los métodos espectroscópicos se consideran como una de las mejores y más utilizadas técnicas instrumentales a disposición del científico, para la adquisición de información tanto cuantitativa como cualitativa (Skoog y West, 1989).

Los métodos espectroscópicos se clasifican según la región del espectro electromagnético que esté implicada (Figura 3); siendo las más importantes las regiones de rayos X, ultravioleta, visible, infrarroja, microondas, y radiofrecuencia (Skoog y West, 1989).

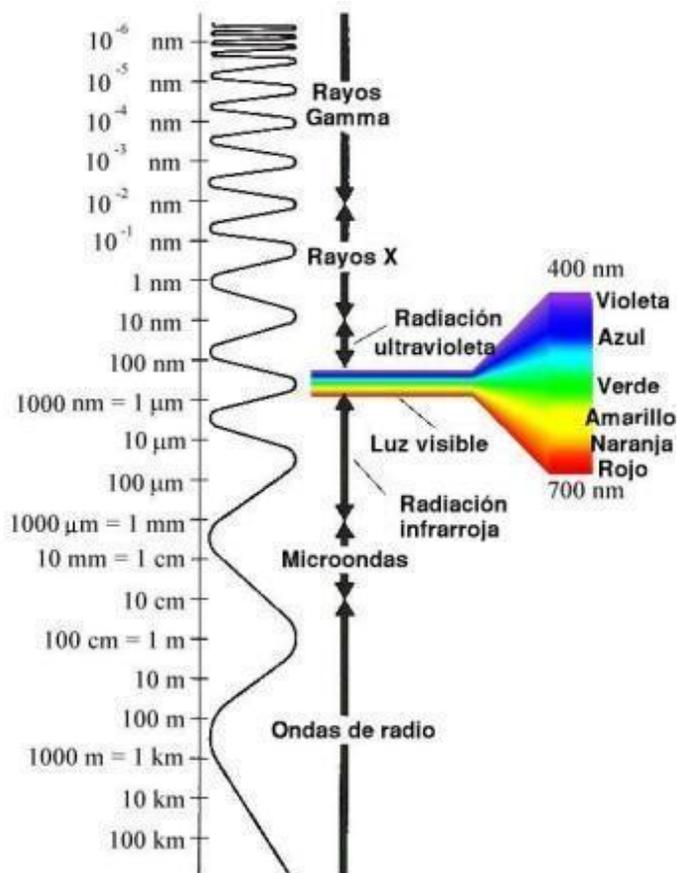


Figura 3. Regiones del espectro electromagnético

Dichos métodos espectroscópicos están basados en la radiación electromagnética ya sea emitida (cuando un analito es excitado por energía) o bien absorbida por el analito (cuando disminuye la potencia de la radiación debido a la absorción por la interacción con el analito), esto con la finalidad de identificarlo o determinar su concentración (Skoog y West, 1989).

4.5.1 Radiación electromagnética

Es una forma de energía que se transmite a través del espacio a alta velocidad debido a ciertos fenómenos que se explican más adelante (Skoog y West, 1989).

Como ya se había hecho mención, existen varios tipos de radiación electromagnética: luz (visible, ultravioleta, infrarrojo), rayos X, ondas de radio y radar, que forman parte de un espectro muy amplio extendido desde los rayos gamma, cuyas longitudes de onda se miden en

fracciones de un Angstrom, hasta las ondas de radio, cuyas longitudes de onda se expresan en metros e incluso en kilómetros. Todas estas ondas tienen la misma velocidad, 3×10^{10} cm por segundo. Su frecuencia está relacionada con la longitud de onda por la expresión

$$\nu = c / \lambda$$

Donde:

ν = frecuencia, en Hz (hertz, ciclos/s)

λ = longitud de onda, en cm

c = velocidad, 3×10^{10} cm/s

Cuanto más corta es la longitud de onda, mayor es la frecuencia (Morrison y Boyd, 1998).

Si se hace pasar un haz de radiación electromagnética por una sustancia, la radiación puede ser absorbida o transmitida, dependiendo de su frecuencia y de la estructura de las moléculas que encuentra. La radiación electromagnética es energía, por lo que cuando una molécula absorbe radiación, gana energía. La cantidad que gana depende de la frecuencia de la radiación: cuanto mayor es la frecuencia (cuanto más corta es la longitud de onda), mayor es la ganancia en energía (Morrison y Boyd, 1998).

$$\Delta E = h\nu$$

Donde:

ΔE = ganancia en energía, en erg

h = constante de Planck, 6.5×10^{-27} erg s

ν = frecuencia, en Hz

La energía ganada por la molécula puede causar un aumento de las vibraciones o rotaciones de los átomos, o subir electrones a niveles superiores de energía. La frecuencia particular de radiación que puede absorber una molécula determinada depende de los cambios vibracionales, rotacionales o electrónicos permitidos en dicha molécula. El espectro de un compuesto es un gráfico que indica cuánta radiación electromagnética se absorbe (o transmite) en cada frecuencia, y puede ser muy característico de la estructura de dicha sustancia (Morrison y Boyd, 1998).

4.5.2 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV/Vis)

La espectroscopia ultravioleta-visible o espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/Vis) como también se le conoce emplea la radiación electromagnética de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético, abarcando un intervalo de longitud de onda (λ) comprendida entre 190 y 800 nm (Skoog y West, 1989).

La base de la espectroscopia de UV/Vis consiste en la absorción de la radiación UV/Vis por una molécula, causando el impulso de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberando el exceso de energía en forma de calor. 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. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en el visible así como en el UV, como es el caso del β -caroteno (Skoog y West, 1989).

Las medidas de absorción en las regiones visible y ultravioleta del espectro proporcionan información características que se utilizan frecuentemente para la identificación cualitativa y cuantitativa sobre moléculas o sustancias de interés orgánico, inorgánico y bioquímico. La espectroscopia de UV/Vis se utiliza extensamente en laboratorios de química y bioquímica para la determinación de pequeñas cantidades de sustancias, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento, etc. (Skoog y West, 1989).

Es por ello que esta investigación está basada sobre los principios de los métodos instrumentales modernos y la quimiometría, generando así resultados confiables, debido a que la muestra no necesitó un pretratamiento para el análisis del mismo; y así disminuir el tiempo, costo del análisis y reducir el error analítico (Skoog y West, 1989).

4.5.2.1 Proceso para la medida de absorción (UV/Vis)

Cuando un haz de luz UV/Vis atraviesa un analito absorbente, como consecuencia de interacciones entre los fotones y las partículas absorbentes, la intensidad incidente del haz (P_o) es atenuada (P). Esta fracción de radiación donde no logra traspasar la muestra se denomina

transmitancia $T = (P/P_0)$, pero por estar relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente se usa $A = -\log T$, según la Ley de Beer-Lambert: $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ (ϵ : coeficiente de absorptividad molar, l : camino óptico, c : concentración de la especie absorbente) (Skoog y West, 1989).

4.6 Análisis quimiométrico

La Quimiometría puede definirse como una disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar procedimientos de medida y para obtener la mayor cantidad de información química posible a partir del análisis de datos (Massart *et al.*, 1997).

Dentro de la Quimiometría pueden citarse los métodos de diseño experimental y exploración de datos, los métodos de reconocimiento de pautas, calibración y regresión simple y multivariante así como los sistemas expertos e inteligencia artificial, entre otros (Pirouette, 2003)

Para la realización de los análisis quimiométricos de esta investigación, se llevaron a cabo los métodos de reconocimientos de pautas (SIMCA, HCA y PCA).

4.6.1 Métodos de reconocimiento de pautas

Los métodos de reconocimiento de pautas tienen la finalidad de clasificar o agrupar muestras según las características de las mismas (Brereton, 1990). 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 conocer 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 agrupamientos, 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 (Pirouette, 2003). El HCA y PCA se utilizaron en nuestra investigación porque se necesitaban separar los grupos de clasificación del biodiesel así como de relacionar las muestras entre las mismas para comparar su similitud.

Las técnicas de reconocimiento de pautas supervisadas tienen como fin desarrollar reglas de clasificación para muestras (objetos) 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 que las reglas de clasificación y los límites marcados por ellas sean adecuados. El objetivo final es predecir a qué grupo (clase) pertenece una muestra desconocida. Algunas de las técnicas más importantes son el análisis discriminante lineal (LDA), modelado independiente de clases (SIMCA), “support vector machines” (SVM), el método de los k vecinos más próximos (k-NN) y las redes neuronales artificiales (ANN), entre otros (Pirouette, 2003). Dentro de las técnicas supervisadas podemos secundar los grupos de clasificación del biodiesel que es el modelado independiente de clases (SIMCA).

4.6.1.1 Análisis de agrupamiento jerárquico (HCA)

El análisis de agrupamiento puede dividirse en dos tipos de técnicas: agrupamientos jerárquicos y no jerárquicos.

En los agrupamientos jerárquicos se generan dendrogramas en los que se visualizan las distancias entre muestras y en los que pueden considerarse diferentes grupos en función de determinados niveles de similitud (Brereton, 2003).

En los agrupamientos no jerárquicos es necesario prefijar el número de grupos en los que se quieren 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 (Brereton, 2003).

En el caso del análisis de agrupamientos jerarquizados (HCA), después de calcular las distancias entre todos los pares de muestras, el siguiente paso es generar los agrupamientos.

Los pasos que se deben seguir son los siguientes (Brereton, 2003):

- a) Encontrar las dos muestras más similares, esto es, aquellas entre las que existe la menor distancia.

b) 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 (Ramis y García, 2001) que se ilustran en la Figura 4. En el método del centroide, los puntos que ya forman 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. A continuación se recalculan las nuevas distancias entre el nuevo grupo formado y todas las demás muestras buscando de nuevo el valor más pequeño.

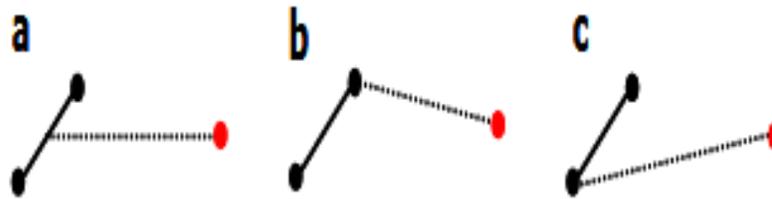


Figura 4. Unión de un grupo con una muestra aislada de acuerdo con los métodos del centroide (a), de la unión simple (b) y de la unión completa (c).

c) 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 dendrograma. 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 dendrograma depende del método de unión. Habitualmente, las distancias entre muestras se transforman según la siguiente escala de similitud:

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

donde d_{max} es la mayor distancia del conjunto de datos.

En el ejemplo de la Figura 5 los objetos se dividen formando fundamentalmente 2 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.

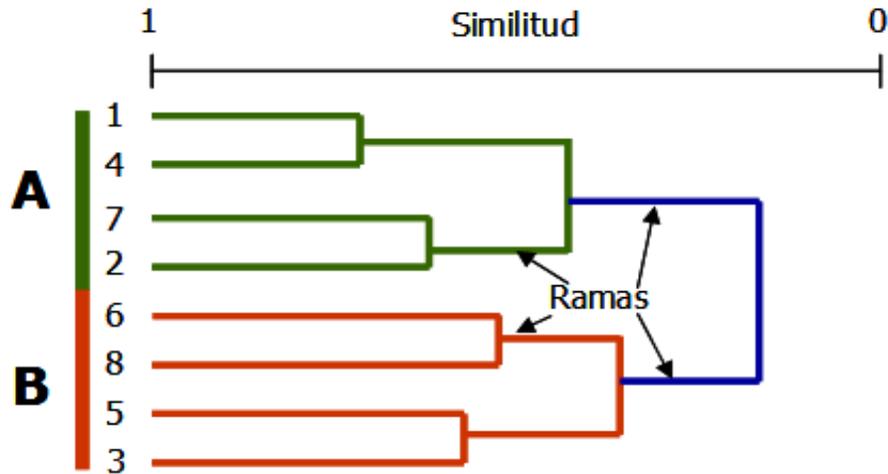


Figura 5. Dendrograma.

4.6.1.2 Análisis de componentes principales (PCA)

Es una técnica de reconocimiento de 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, ortogonales entre sí, que reciben el nombre de componentes principales (PCs) y que son combinaciones lineales de las variables primitivas (Pirouette, 2003).

En este análisis la matriz de datos X formada por I objetos o muestras y J variables (dimensión $I \times J$) se descompone (Massart *et al.*, 1997) el producto de las matrices T y P que contienen la información relacionada con las muestras y con las variables respectivamente (Pirouette, 2003).

$$X = T \cdot P + E \quad (1)$$

En la expresión (1) 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 (*loadings*) en las variables originales para generar las nuevas, de J variables sobre A componentes principales. E es una matriz residual. Las matrices de puntuaciones y pesos consisten en una serie de vectores columna y fila respectivamente según muestra la Figura 6. Ambas matrices están formadas por tantos 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 (Pirouette, 2003).

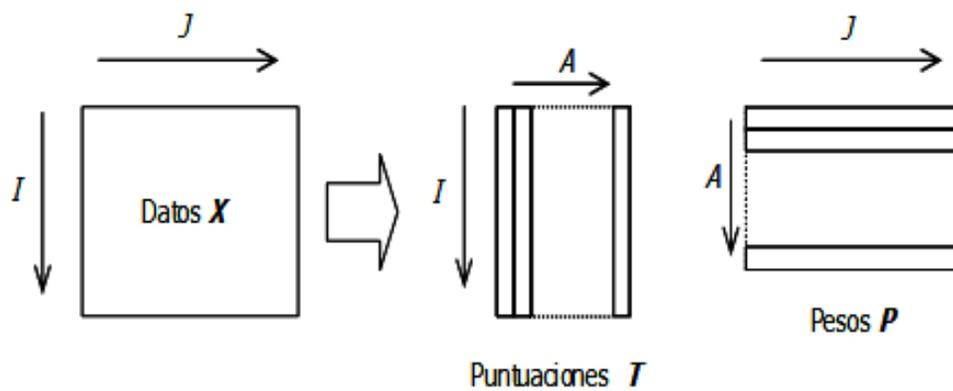


Figura 6. Análisis de componentes principales (PCA)

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 (Blanco y Cerda, 1988). En el caso de estudiar una mezcla de compuestos (Brereton, 2003), el número de PCs debería ser idéntico al número de compuestos existentes. Sin embargo esto no es generalmente tan simple y debemos tener en cuenta otros factores como por ejemplo el ruido que pueden presentar los datos (Pirouette, 2003).

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 (Pirouette, 2003).

La importancia de cada componente puede medirse mediante la suma de los cuadrados de las puntuaciones según la expresión (Massart *et al.*, 1997):

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

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 (Pirouette, 2003):

$$\sum_{a=1}^K g_a = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J x_{ij}^2 \quad (3)$$

donde K corresponde al valor más pequeño de I ó J . Frecuentemente estos valores se presentan como porcentajes tal y como muestra la expresión (4) (Pirouette, 2003).

$$V_a = 100 \cdot \frac{g_a}{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J x_{ij}^2} \quad (4)$$

donde V_a es el porcentaje de información modelada por el componente a (Pirouette, 2003).

El porcentaje acumulado es utilizado a menudo para determinar la proporción de información que ha sido modelada (Pirouette, 2003).

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 (Pirouette, 2003):

$$x_{ij} = \sum t_{ia} \cdot p_{aj} + e_{ij} = \hat{x}_{ij} + e_{ij} \quad (5)$$

que es la expresión no matricial de la ecuación (1).

Una forma más clara de visualizar esta sección es buscar una interpretación gráfico-geométrica (Blanco y Cerda, 1988) 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. 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 (Pirouette, 2003) como se muestra en la Figura 7.

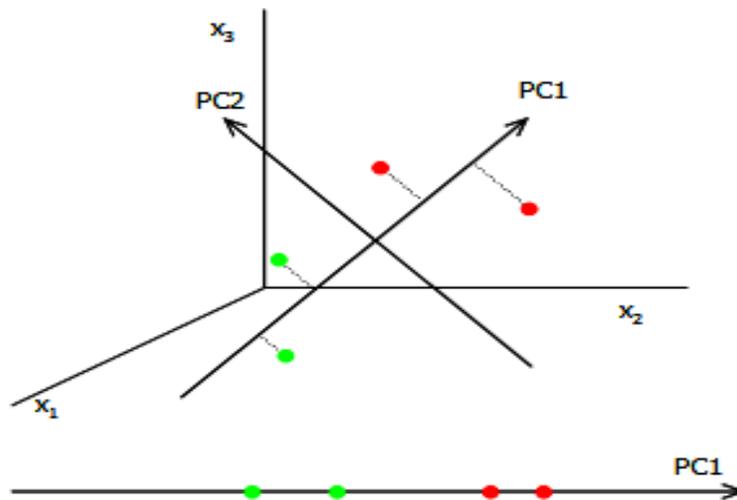


Figura 7. Representación de las puntuaciones de dos clases de objetos en los dos primeros componentes principales

4.6.2 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 independientemente de la herramienta matemática que se utilice. La estrategia consta de tres etapas (Brereton, 2003).

a) Crear un modelo con el grupo de entrenamiento

El primer paso es generar un modelo matemático que relaciones 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 un conjunto pequeño 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.

- Validación externa (*test set*)

Para comprobar la calidad del modelo se realiza la predicción de un grupo independiente de muestras que no ha sido utilizado 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.

Cuando el modelo generado no es satisfactorio existen diferentes posibilidades de mejorarlo. Por un lado se puede utilizar 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 podrían estar relacionadas con el ruido.

c) Predicción del conjunto desconocido de muestras

Una vez que 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.

4.6.2.1 Modelado independiente de clases “SIMCA”

Uno de los métodos de reconocimiento de pautas supervisadas más utilizados es SIMCA (Brereton, 1990 y Massart, 1997).

Mientras que en otros métodos de clasificación cada muestra se asigna solamente a una clase y ninguna queda fuera de alguna 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 (Pirouette, 2003).

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 9 se presentan dos clases de objetos, A y B. Al aplicar PCA a la clase A (puntos verdes) se obtiene un modelo de dos componentes (un plano), mientras que la clase B (puntos rojos) se ajusta a un modelo de una única variable (una recta). Las regiones de confianza aparecen alrededor de cada clase (Pirouette, 2003).

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 8 se puede asignar a la clase B mientras que h no pertenece a ninguna clase, es un “outlier” (Pirouette, 2003).

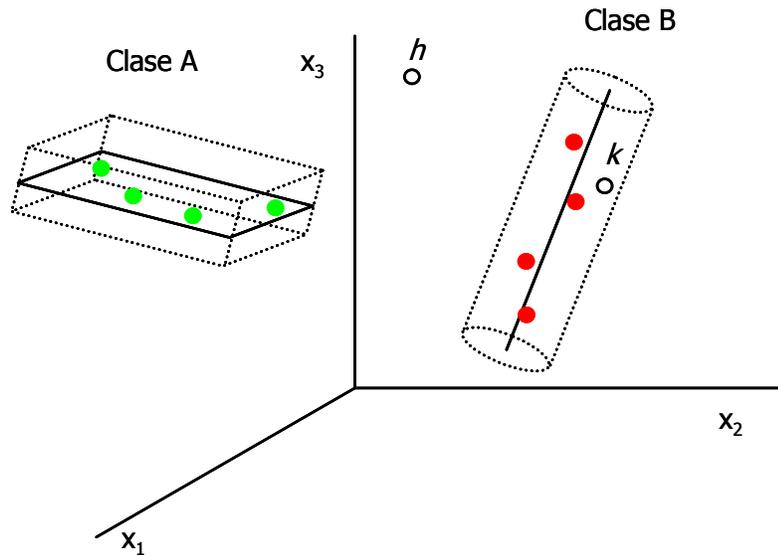


Figura 8. Modelos de dos clases de objetos A y B en el espacio de sus componentes principales, regiones de confianza y predicción de dos muestras

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 muestras que perteneciendo a otra clase son reconocidas como ajenas al modelo (Pirouette, 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 9 es un esquema de estos diagramas. En el eje de abscisas se representa la distancia a la clase A y en el de 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 cuadrado inferior izquierdo (1) es el recinto común a ambas clases y cuantas menos muestras tengan sus coordenadas en él, mayor será la especificidad de los modelos. El cuadrado 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 (Pirouette, 2003).

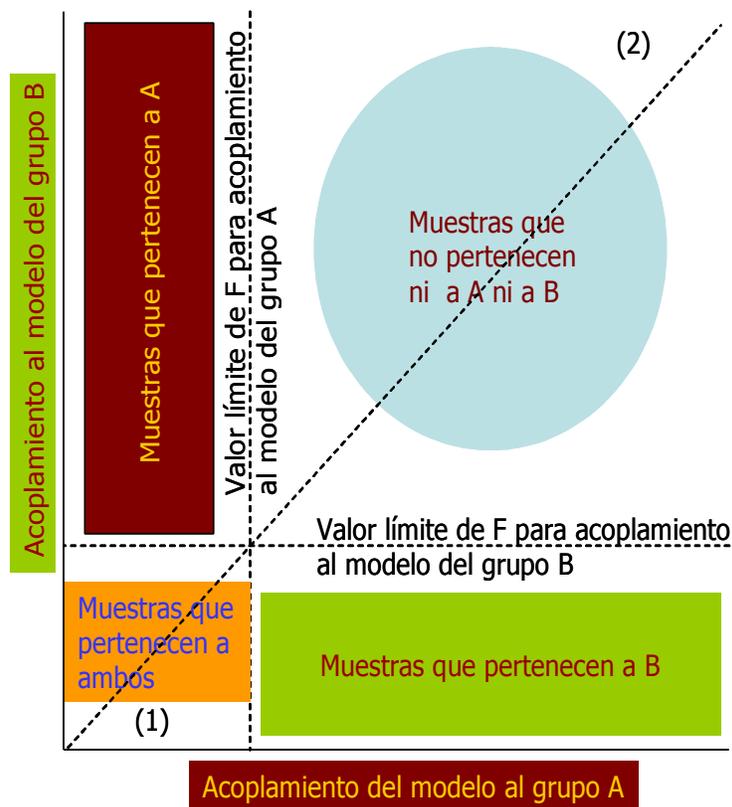


Figura 9. Diagrama de Coomans

Cuando SIMCA se utiliza únicamente como técnica de clasificación, 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.

4.7 Análisis estadístico

En las diversas áreas con frecuencia buscamos identificar el efecto de condiciones por medio del análisis estadístico, deseando conocer si alguna variable de exposición se asocia con algún efecto. Este último también es conocido como “variable de respuesta predicha” o “variable de respuesta dependiente”, mientras que la exposición es conocida como “variable explicativa predictor” o variable explicativa independiente” (Reding *et al.*, 2011).

En esta investigación se utilizó el método de regresión lineal simple para evaluar la robustez del modelo y estimar la concentración de biodiesel en el diésel fósil (mezclas).

4.7.1 Modelo de regresión lineal simple

La regresión lineal simple es útil para encontrar la fuerza o magnitud de cómo se relacionan dos variables: una independiente, que se representa con una X , y otra dependiente, que se identifica con una Y ; sin embargo, la regresión lineal simple se distingue de otras pruebas, pues con ella puede estimarse o predecirse el valor de la variable de respuesta a partir de un valor dado a la variable explicativa. Para asociar estas dos variables se propone una línea recta –que describe la tendencia de los datos-, de ahí el nombre de regresión lineal. Dicha recta se expone en un plano y su grado de inclinación representa la pendiente, y una inclinación muy destacada indica grandes cambios en la variable dependiente (Reding *et al.*, 2011).

En los modelos de regresión lineal pueden analizarse varias variables explicativas, pero en el modelo de regresión lineal simple sólo se considera una variable.

4.7.1.1 Coeficiente de correlación

El coeficiente de correlación es una medida de la fuerza del grado de correlación entre la ordenada y los valores de X , siendo una de las estadísticas comúnmente utilizadas en la medición analítica (Barwick, 2003).

Sean $(x_1, y_1); (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$, n observaciones hechas en dos características. Sean s_{xy} , s_x y s_y la covarianza entre ellas y las desviaciones estándar correspondientes. El coeficiente de correlación (r_{xy}), o simplemente la correlación entre las dos variables, tiene como expresión:

$$r_{xy} = \frac{S_{xy}}{S_x S_y}$$

La correlación es una medida de la asociación entre dos variables, que tiene las siguientes propiedades (Infante y Zarate, 1991):

- Es independiente de las unidades de medida utilizadas en las variables.
- Valores positivos del coeficiente indican que las variables tienden a crecer (o decrecer) simultáneamente, y valores negativos indican que una aumenta cuando la otra disminuye.
- Toma valores exclusivamente entre -1 y 1.

Para ello debe considerarse el valor del coeficiente, cuyos límites son -1 a 1 y el valor de p obtenido. Una correlación que se acerque a 1 indica que el valor de Y aumenta a medida que aumenta el valor de X (Figura 10A). En caso de que el valor se acerque a 1 pero con signo negativo (-1) indica que la correlación es negativa o inversa; esto es, el valor de Y disminuye a medida que aumenta el valor de X (Figura 10B). Finalmente, si el valor es cercano a cero, esto indica que la relación entre X y Y produce una línea horizontal, y por tanto, no hay correlación; es decir, la variable dependiente Y permanece constante a medida que cambia X (Figura 10C) (Reding *et al.*, 2011).

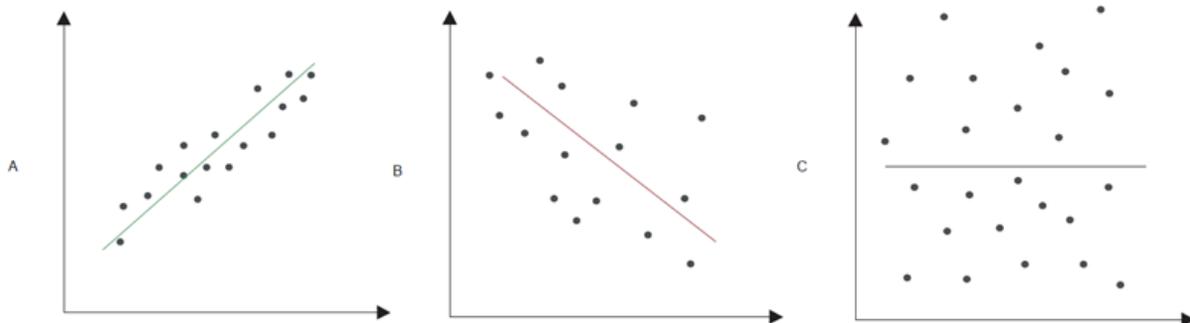


Figura 10. Regresión y correlación lineal simple. En A se observa que la distribución de la regresión es positiva o directa porque el coeficiente de correlación es cercano a 1. En B se observa que la distribución de la regresión es negativa o inversa porque el coeficiente de correlación es cercano a -1. Mientras que en C se muestra que no hay correlación entre las variables porque el coeficiente de correlación es cercano a 0 y porque Y permanece constante y muy dispersa a medida que aumenta X .

4.7.1.2 Coeficiente de determinación R^2

Una vez que se traza la recta de regresión en el diagrama de dispersión, es importante disponer de una medida que indique si el modelo ha ajustado bien y que, además, permita decidir si el ajuste lineal es suficiente o si deben buscarse modelos alternativos; para ello se calcula el coeficiente de determinación (Reding *et al.*, 2011).

La R^2 nos da una medida cuantitativa de qué tan bien el modelo ajustado predice a la variable independiente, y la medida usualmente se expresa en forma de porcentaje (Reding *et al.*, 2011).

Cuanto mayor sea el porcentaje de cambios que sea capaz de explicar mejor será el ajuste obtenido. Para ello se aplica un índice estadístico que es el coeficiente de determinación: R^2 , y que es fundamental a la hora de valorar la calidad del ajuste obtenido mediante la recta de regresión. Su cálculo es simple, se obtiene elevando al cuadrado el coeficiente de correlación (Etxeberria *et al.*, 1999).

Otra forma de valorar la calidad del ajuste que obtenemos mediante la recta de regresión, es analizar las distancias o diferencias que hay entre los diferentes valores de la variable Y_i , y las aproximaciones que hacemos de ellos mediante la ecuación: $Y_i = a + bX_i$. Las mayores o menores diferencias que se dan entre los conjuntos de datos y las rectas me permitirán valorar la calidad del ajuste. La magnitud de estas distancias está relacionada con el coeficiente de determinación. A mayor R^2 (mayor relación), menores distancias, es decir, cuanto mejor es el ajuste obtenido (menores son las distancias entre los puntos y la recta de regresión), mayores son el coeficiente de correlación y el de determinación (Etxeberria *et al.*, 1999).

4.7.2 Calibración lineal univariante

Desde el punto de vista del análisis químico, la calibración lineal es un medio utilizado en la gran mayoría de los casos para un fin muy concreto: conocer la concentración de analito presente en una muestra a partir de la respuesta instrumental medida (Blanco *et al.*, 1994).

La calidad en el proceso de medida químico exige, además de saber hallar la concentración de analito, unos valores elevados de ciertos parámetros de calidad tales como exactitud o precisión (Blanco *et al.*, 1994).

Según la perspectiva expuesta, la calibración tiene a menudo, como finalidad la predicción de un valor de concentración a partir de un cierto valor experimental del instrumento. Esta etapa final, la predicción, se puede llevar a cabo si previamente se ha establecido una relación matemática válida, o modelo matemático, entre la respuesta, $\langle\langle y \rangle\rangle$, y la concentración de analito, $\langle\langle x \rangle\rangle$.

Las tres etapas básicas son entonces:

1. Establecimiento del modelo de línea recta
2. Validación del modelo establecido
3. Predicción mediante interpolación inversa

Establecimiento del modelo de línea recta

La relación existente entre la variable independiente, x , y la dependiente, y , se expresa formalmente mediante la ecuación:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \epsilon$$

donde β_0 y β_1 representan los valores verdaderos de los parámetros denominados ordenadas en el origen y pendiente respectivamente, y ϵ es el valor del error aleatorio asociado a la respuesta y . Dado que β_0 , β_1 y ϵ representan valores verdaderos, conceptualmente estos nunca podrán calcularse con total certeza. En la práctica hallaremos estimaciones de estos valores. Dichas estimaciones se representan mediante los términos b_0 , b_1 y e . Así, para n pares de valores concretos x_i , y_i ($i=1,2,\dots,n$) se posee la relación:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \epsilon_i$$

4.7.3 Validación de modelos

Uno de los aspectos más importantes de los métodos de calibración es la validación de los modelos. Esta facilita la información fundamentalmente 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.

- Auto predicción

Es la aproximación más sencilla y se basa en calcular la raíz cuadrada de a media del error de calibración al cuadrado para cada compuesto, se calcula mediante la expresión:

$$E_{cal} = \sqrt{\frac{1}{I} \sum_{i=1}^I (c_i - \hat{c}_i)^2} \quad (27)$$

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 componentes del modelo.

- Validación cruzada (*cross validation*)

La capacidad predictiva del modelo se comprueba separando un pequeño número 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:

$$E_{cv} = \sqrt{\frac{1}{I} \sum_{i=1}^I (c_i - \hat{c}_i)^2} \quad (28)$$

Donde c_i 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 lo hace y al revés, la auto predicción e incluso la validación cruzada puede sugerir que el modelo de la 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.

4.8 Literatura citada

Barwick, V. Preparation of Calibration Curves. A Guide to Best Practice. 2003.

Biodiesel America's Advanced Biofuel.

<http://www.biodiesel.org/production/production-statistics>. Acceso 14 mayo 2012

Blanco, M., Boqué, R., Cela, R., Coello, J., MasPOCH, S., Ortíz, M. C., Riba, J., Rius, F. X., Ruíz, A., Sarabia, L. A. y Tomàs, X. 1994. Avances en Quimiometría Práctica. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico Campus Universitario.

Blanco, M. y Cerdá, V. 1988. Quimiometría. Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra.

Brereton, R. G. 1990. Chemometrics Applications of Mathematics and Statistics to Laboratory Systems. Ellis Horwood, Chichester.

Brereton, R. G. 2003. Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. Wiley, Chichester.

Castro, P., Coello, J., Castillo, L. 2007. Opciones para la producción del biodiesel en el Perú.

CONAE. Vargas, G. M. Comisión Nacional para el Ahorro de Energía. 2007.

Darkono, D., Cheryan, M. 2000. Kinetics of palm oil transesterification in a batch reactor. JAOCS 77, 1263-1267.

DOE. 2006a. Biodiesel handling and use guidelines. Oak Ridge: U.S. Department of Energy - Office of Scientific and Technical Information. 61 pp.

European Biodiesel Board.

<http://www.ebb-eu.org/stats.php>,

http://www.ebb-eu.org/prev_stats_production.php. Accessed 2 Nov 2009

- Etxeberria, M. J., Ardanuy, A. R., Rodríguez, G. G. y Tejedor, T. F. C. Regresión Múltiple. Cuadernos de estadística. Ed. La Muralla. España. 1999.
- Friedrich, S. 2004. A world wide review of the comercial production of biodiesel-A technological, economic and ecological investigation base don case studieds. Schriftenreihe Umweltschutz und Ressourcenökonomie. Band 41. Viena: Institut für Technologie und nachhaltiges Produktmanagement der Wirtschaftsuniversität. 150 pp.
- García, C. J. M. y García, L. J. A. 2008. Informe de Actualización “Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol. Universidad Rey Juan Carlos del Círculo de Innovación y tecnologías Medioambientales y Energía (CITME).
- Hu, J., Du, Z., Tang., Z., Min, E. 2004. Study on the solvent power of new green solvent: biodiesel. Ind. Eng. Chem. Res. 43, 7928-7931.
- Ley de Promoción y Desarrollo de los Bionergéticos. Nueva Ley DOF 01-02-2008.
- Ma, F., and M. A. Hanna. 1999. Biodiesel production: A review. *Biores. Technol.* 70:1–15.
- Mahajan, S., Konar, S. K., Boocock, D. G. B. 2007. Variables affecting the production of standard biodiesel. *JAOCS* 84, 189-195.
- Massart, D. L. Vandeginste, G. M. Buydens, L. M. C. De Jong, S. Lewi, P. J. and Smeyers-Verbeke, J. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A. Elsevier, Amsterdam, 1997, Part B, 1998. Elsevier. Amsterdam.
- Matthew, W. G. y O’Connor, D. 2006. Analizar la Aplicabilidad de los Biocombustibles en el Perú. Lima: Ministerio de Energía y Minas –Dirección General de Hidrocarburos. PeruHydrocarbonAssistance Project. 74 pp.
- Mills, R. 2007. El arte del biodiesel. In focus 31, 14-16.

Morrison, R. T. y Boyd, R. N. 1998. Química Orgánica. Quinta Edición. Pearson Educación. México.

National Biodiesel Board.

http://www.biodiesel.org/pdf_files/fuelfactsheets/Production_Capacity.pdf,

http://www.biodiesel.org/pdf_files/fuelfactsheets/Production_Graph_Slide.pdf. Accessed 2 Nov 2009

Ramis Ramos, G. García Álvarez-Coque, M. C. 2001. Quimiometría. Síntesis, Madrid.

Reding, B. A., Zamora, M. M., López, A. J. C. 2011. ¿Cómo y cuándo realizar un análisis de regresión lineal simple? Aplicación e interpretación. Dermatología Rev. Mex. 55 (6): 395-402.

Shay, E. G. 1993. Diesel fuel from vegetable oil: status and opportunities. Biomassbioenergy 4, 227-42.

Skoog, D. A. y West, D. M. 1989. Química Analítica. Cuarta Edición. España.

Software Manual. Piroutte: Multivariate Data Analysis. 2003. Infometrix. Version 3.11.

Veljković, V.P., Lakíccević, S.H., Stamenković, O.S., Todorović, Z.B., M.L. 2006. Biodiesel production from tobacco (*NicotianaTabacum L.*) seed oil with a hight content of free fatty acids. Fuel 85, 2671-2675.

CAPITULO I. EVALUACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL MEDIANTE ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE Y QUIMIOMETRÍA

EVALUACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL MEDIANTE ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE Y QUIMIOMETRÍA

1.1 Resumen

El estudio fue realizado con objeto de comprobar si la información generada con un espectrómetro ultravioleta-visible es suficiente para caracterizar diferentes muestras de aceite vegetal refinado y de aceite vegetal usado. Los análisis quimiométricos usados para interpretar la información de la composición química fue una estadística descriptiva, caras de Chernoff, análisis de componentes principales (PCA) y análisis de agrupamiento jerárquico (HCA). Las huellas espectrales fueron obtenidas en un espectrómetro ultravioleta-visible, para cada tipo de aceite vegetal, refinado o usado; la interpretación quimiométrica fue mediante PCA y HCA. Los resultados indican que los aceites vegetales refinados y los aceites vegetales usados presentan características químicas y huellas espectrales diferentes; por lo cual, fue posible utilizar las huellas espectrales para establecer una estrategia metodológica que genera resultados similares a los obtenidos con la caracterización química convencional de los aceites. La diferencia y similitud que presentan las muestras de aceite es útil para definir en los procesos de producción de biodiesel la cantidad de catalizar, metanol, calor y tiempo de reacción.

Palabras clave: Aceites refinados, quimiometría, huellas espectrales.

EVALUATION OF RAW MATERIAL FOR BIODIESEL PRODUCTION BY SPECTROMETRY UV-VISIBLE AND CHEMOMETRICS

1.2 Abstract

The study was realized in order to verify if the information generated with an ultraviolet - visible spectrometer is sufficient to characterize different samples of vegetable refined oil and of vegetable secondhand oil. The chemometrics analyses used to interpret the information of the chemical composition was a descriptive statistics, Chernoff's faces, analysis of principal components (PCA) and analysis of hierarchic grouping (HCA). The spectral fingerprints were obtained in an ultraviolet - visible spectrometer, for every type of vegetable, refined or secondhand oil; the chemometric interpretation was by means of PCA and HCA. The results indicate that the vegetable refined oils and the vegetable secondhand oils present chemical characteristics and spectral different fingerprints; for which, it was possible to use the spectral fingerprints to establish a methodological strategy that generates results similar to the obtained ones with the chemical conventional characterization of the oils. The difference and similarity that the samples of oil present is useful to define in the processes of production of biodiesel the quantity of catalyzing, methanol, heat and time of reaction.

Key words. Biodiesel, diesel-biodiesel blends, chemometric

1.3 Introducción

Existen diversas fuentes de biomasa para la producción de energía, repartidas en diversas zonas geográficas del mundo. La mayor parte de la energía obtenida a partir de biomasa y usada como combustible se deriva de subproductos o coproductos de la elaboración de alimentos, forrajes y fibras (FAO, 2008). Sin embargo, el ámbito de mayor crecimiento durante los últimos años ha sido la producción de combustibles líquidos para el transporte a partir de cultivos agrícolas. Siendo los productos derivados de cultivos oleaginosos la base para obtener biodiesel (FAO, 2008).

La Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos define al biodiesel como un combustible que se obtiene por la transesterificación de aceites de origen animal y vegetal.

El aceite vegetal no modificado (sin procesar) es un combustible potencial para motores diésel que se puede producir a partir de cultivos oleaginosos como colza, el girasol, la soja y la palma. También puede usarse, para la producción de combustible de vehículos diésel, el aceite de cocina utilizado por los restaurantes y la grasa animal de desecho de las industrias de elaboración de carne como fuente (FAO, 2008).

El objetivo de la presente investigación es evaluar con la información generada con un espectrómetro de ultravioleta-visible y su interpretación quimiométrica para tipificar diferentes muestras de aceite.

1.4 Materiales y Métodos

1.4.1 Materia prima

Para la presente investigación fueron utilizadas doce muestras de aceites refinados, diferentes por el tipo de semilla (Cuadro 4); además, fueron incluidas tres muestras de aceites usados de diferentes procedencias (uso doméstico, antojitos y fritura de pescado) como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Relación de aceites refinados

Tipo de Semilla	Marca	Identificación
Canola	Vita	CV
Canola	Capullo	CC
Canola	Patrona	CP
Girasol	Patrona	GP
Maíz	La Gloria	MG
Maíz	Soriana	MS
Maíz	Patrona	MP
Oliva	Carbonell	OC
Soya	Nutrioli	SN
Soya	Soriana	SS
Girasol/Canola	1.2.3	#123
Cártamo, girasol y/o soya	Soriana	VS

Las muestras fueron identificadas y registradas según su tipo de semilla como canola (C), girasol (G), maíz (M), oliva (O), soya (S), seguida de la primera letra de la marca del aceite o la procedencia del mismo. A excepción de los aceites que contienen dos o más tipos de semillas en el caso de girasol/canola (#) y el aceite que contiene cártamo, girasol y/o soya (V).

Cuadro 5. Relación de aceites (usados) quemados

Tipo de Aceite	Uso	Identificación
Desconocido	Fritura de pescado	AUOP
Patrona	Uso doméstico	AUOD
Desconocido	Fritura de antojitos	AUOA

Para el análisis de los aceites refinados y generar las huellas espectrales no se aplicó ningún tratamiento previo a la lectura en el espectrómetro de ultravioleta visible (UV-Vis). Las muestras de aceites vegetal usado fueron filtradas a través de papel Whatman N° 40 antes de su lectura para separar las partículas sólidas; y cada muestra se calentó, para eliminar el agua, a una temperatura de 110 °C en una parrilla eléctrica.

1.4.2 Evaluación de la materia prima

Para evaluar la materia prima fue utilizada la información de la composición química que presenta cada aceite en su etiqueta. La cual consiste en la cantidad de grasas saturada, polinsaturada y monoinsaturada, que contiene cada tipo de semilla. La interpretación quimiométrica de esta información fue mediante la técnica de caras de Chernoff; así como las técnicas de reconocimiento de pautas no supervisadas, análisis de agrupamiento jerárquico (HCA), el análisis de componentes principales (PCA) y biplot.

1.4.3 Instrumento

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.

1.4.4 Programas

Los programas 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; y el programa Statistica.

1.5 Resultados y Discusión

Los resultados de la investigación fueron integrados en dos apartados, en la primera parte se presenta el análisis quimiométrico de la información de la etiqueta de cada muestra de aceite (contenido de grasa saturada, grasa poliinsaturada y grasa monoinsaturada). En la segunda parte son presentados los resultados de las huellas espectrales de la materia prima de aceites refinados y aceites usados. La información de la primera parte fue utilizada como referencia para validar los resultados obtenidos del análisis con el método instrumental.

1.5.1 Análisis de la información de la etiqueta

Con la composición química que presenta cada muestra de aceite en su etiqueta fue construida el Cuadro 6. La información utilizada que presentaron todos los aceites son las variables grasa saturada, grasa poliinsaturada y grasa monoinsaturada.

Cuadro 6. Contenido de grasas en las muestras de aceites refinados

Tipo de semilla	Marca	Grasas		
		Saturada	Poliinsaturada	Monoinsaturada
Canola	Vita	0.98	4.48	8.54
Canola	Capullo	0.98	4.48	8.54
Canola	Patrona	1	5	9
Girasol	Patrona	1.5	9	4
Maíz	La Gloria	2	8	4
Maíz	Soriana	1.8	8.7	3.5
Maíz	Patrona	1.69	7.81	4.49
Oliva	Carbonell	2	1	11
Soya	Nutrioli	2.1	8.5	3.4
Soya	Soriana	2.1	8.5	3.4
*	1,2,3	1.2	7.3	5.5
**	Soriana	2	8.5	3.5

*Girasol/canola; **Cártamo, girasol y/o soya

Las grasas saturadas de los aceites refinados presentaron para un valor promedio de 1.61 g L^{-1} con una desviación estándar de ± 0.46 ; y un valor mínimo de 0.98 g L^{-1} en los aceites canola de la marca Vita y canola de la marca Capullo; y un máximo de 2.1 g L^{-1} en los aceites de soya de la marca Nutrioli y de la marca Soriana. Los valores de grasas saturadas en los aceites están en el intervalo de 1.12 g L^{-1} .

Las grasas poliinsaturadas presentan un valor promedio de 6.77 g L^{-1} con una desviación estándar de ± 2.48 . El valor mínimo de grasa es de 1 g L^{-1} en el aceite oliva de la marca Carbonell; mientras que el máximo es de 9 g L^{-1} en el aceite Girasol de la marca Patrona. El intervalo de grasa polinsaturada en las muestras es de 8 g L^{-1} .

Finalmente, en las grasas monoinsaturadas se estimó una media de 5.74 g L^{-1} , una desviación estándar de ± 2.74 ; un valor máximo de 11 g L^{-1} en el aceite oliva de la marca Carbonell, un valor mínimo de 3.4 g L^{-1} en los aceites de soya de las marcas Nutrioli y Soriana.

En general, el aceite de oliva marca Carbonell presento mayor variación en su composición, en relación a los demás aceites. Con el mayor contenido de grasas monoinsaturadas y menor de grasas poliinsaturadas.

1.5.2 Caras de Chernoff

La grafica caras de Chernoff (*Chernoff faces*), fue utilizada para observar la similitud y diferencias entre las muestras de acuerdo con la magnitud de las variables de los aceites refinados: grasa saturada, grasa poliinsaturada y grasa monoinsaturada. La variable de las grasas saturadas está indicada por lo ancho de la cara (*face/w*) de cada muestra (entre más ancha sea la cara, mayor es el contenido de grasa saturada); la variable de las grasas polinsaturadas es indicada por el nivel o la altura (*ear/lev*) (arriba o abajo) de las orejas en la cara de cada muestra (entre más arriba estén las orejas mayor es el contenido de grasas polinsaturadas). Mientras que la variable grasas monoinsaturadas es indicada por lo largo de la cara (*half/h*) de cada muestras (entre más larga sea la cara mayor es el contenido de grasas monoinsaturadas). Esta información está representada en la Figura 11.

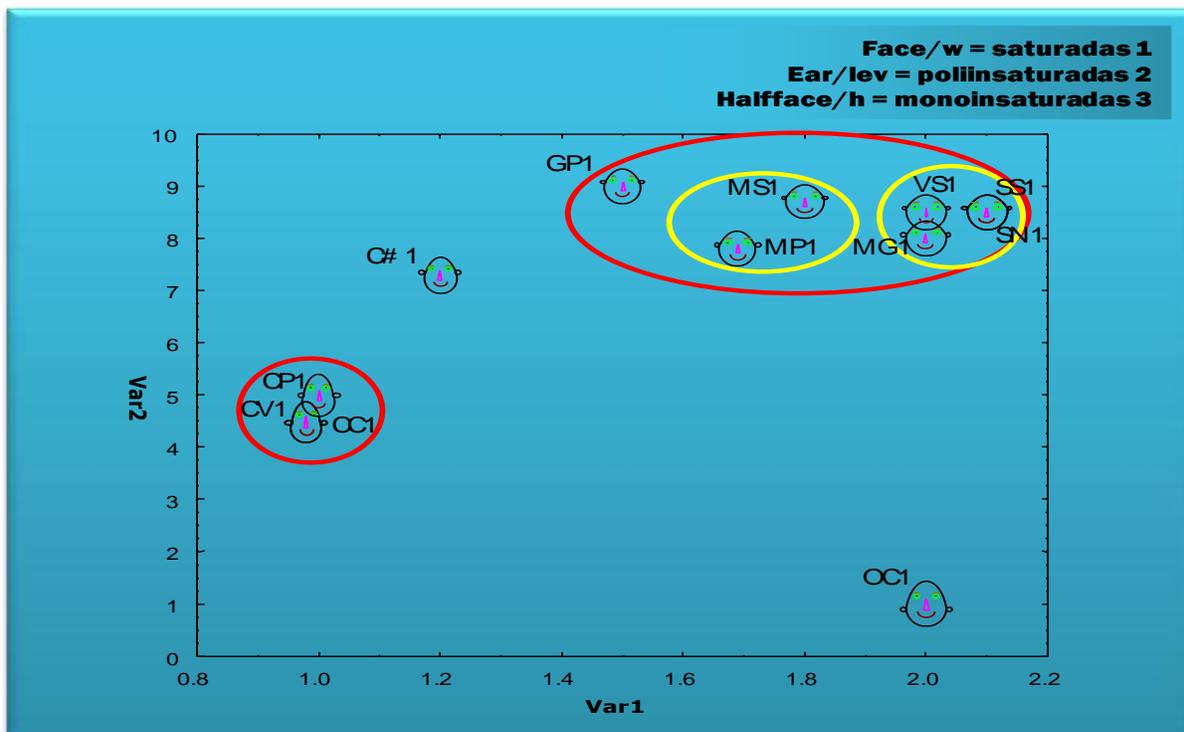


Figura 11. Representación de la composición química de las muestras de aceite mediante las Caras de Chernoff.

En la Figura 11 se observa la formación de cuatro grupos. El primer grupo está formado por tres subgrupos; un subgrupo conformado por las muestras de aceite soya Soriana, soya Nutrioli, varios Soriana y maíz La Gloria, estos aceites son los que contienen mayor contenido de grasas saturadas por lo que la cara es redonda y las orejas están a la altura de los ojos lo cual indica que tienen alto contenido de grasas poliinsaturadas. Otro subgrupo es conformado por los aceites de maíz Soriana y maíz Patrona, los cuales, contienen menor grasas saturadas que el primer subgrupo por eso sus caras no son tan redondas, sus orejas están a la altura de sus ojos lo cual indica que el contenido de grasas poliinsaturadas es similar. Finalmente, hay otro subgrupo constituido por el aceite girasol Patrona, el cual, dentro del grupo es el de menor contenido de grasas saturadas eso hace que su cara sea menos redonda; pero su contenido de grasas poliinsaturadas es similar al de los aceites los otros subgrupos.

El segundo grupo está constituido por el aceite de girasol 1.2.3, la separación de este aceite del primer grupo, es por la baja cantidad de grasas saturadas, debido a que su cara no está tan

redonda y las orejas están debajo de los ojos, lo cual, es debido a que la cantidad de grasas poliinsaturadas es menor que en los aceites del grupo 1. En los grupos 1 y 2 la cantidad de grasas monoinsaturadas son bajas.

El tercer grupo está formado por los aceites de canola Patrona, canola Capullo y canola Vita. Éste grupo se separó del primer grupo por la baja cantidad de las grasas saturadas (en donde sus caras no son redondas); sus orejas están a la mitad de la cara lo cual nos indica que el contenido de grasas poliinsaturadas está aproximadamente en el punto intermedio. La cara de estos aceites tomó una forma ovalada o larga lo que indica que su contenido de grasas monoinsaturadas es mayor a las otras grasas.

El cuarto grupo está formado por el aceite de oliva Carbonell el cual está separado de todos los grupos debido al contenido alto de grasas monoinsaturadas; por lo cual, resulta una cara muy ovalada. Tiene un contenido alto de grasas saturadas, lo cual, es reflejado en lo redondo de la cara. El contenido mínimo de grasas poliinsaturadas es observado en la posición de sus orejas más abajo que las otras muestras.

Para la construcción de las caras de Chernoff fueron incluidas doce muestras de aceite (Tabla 1.3.); sin embargo, solo observamos diez imágenes en la Figura 1.1. Esto se debe a que las imágenes de los aceites canola Capullo y canola Vita, así como, soya Nutrioli y soya Soriana están sobrepuestas por tener la misma composición.

1.5.3 Análisis de Agrupamiento Jerárquico

Con el análisis quimiométrico HCA de la composición química de los aceites refinados es posible observar en un gráfico el valor de la similitud de las muestras de aceite. El valor de similitud está indicado en un intervalo de 1.0 a 0.0, en la parte superior de la figura; donde 1.0 corresponde a un resultado máximo de similitud y 0.0 corresponde a la distancia de mínimo de similitud.

En el dendrograma (Figura 12) es posible observar la formación de tres grandes grupos. Uno formado por las muestras de aceite: soya (Soriana y Nutrioli), maíz (Soriana), girasol (Patrona), maíz (Patrona y La Gloria) y girasol (1.2.3); el índice de similitud de este grupo está entre 7 y 8. El segundo grupo lo forman las muestras de aceite de canola (Patrona, Capullo y Vita), el índice de similitud de este grupo es mayor a 8. Finalmente un grupo o muestra corresponde al aceite de oliva. El grado de similitud entre los dos primeros grupos y el formado por el aceite de oliva es menor a 0.1.

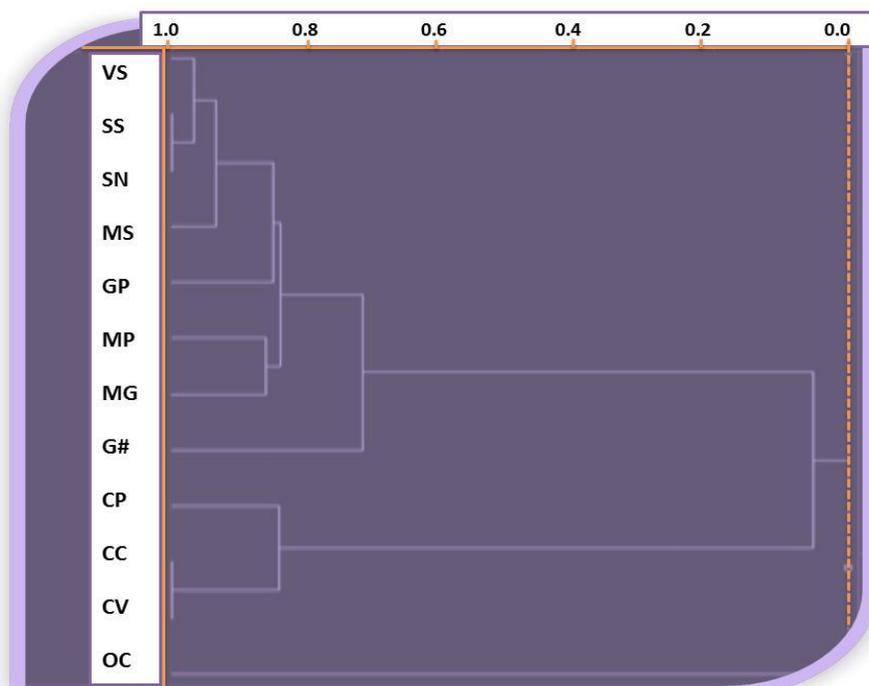


Figura 12. Interpretación con los datos de la composición química de los aceites refinados mediante análisis de agrupamiento jerárquico.

1.5.4 Análisis de Componentes Principales y Biplot

Con objeto de observar la relación de las muestras con las variables, se realizó, a partir de las figuras del análisis de componentes principales (PCA), la Figura 13 denominada Biplot; en la cual se están distribuidos en un espacio de dos dimensiones las muestras de los aceites refinados; así como la variable que se asocia más a cada tipo de aceite.

En la gráfica biplot podemos observar como el aceite de oliva (Carbonell) se asocia más con las grasas monoinsaturadas; mientras que las grasas poliinsaturadas se asocian con los aceites de soya, maíz y girasol. El aceite de canola queda más retirado de las grasas saturadas y monosaturadas, pero más cerca de las poliinsaturadas. En el caso de las grasas saturadas presentan un intervalo de concentración de 0.98 a 2 g L⁻¹; lo cual indica que los aceites sean muy similares en este compuesto; por lo que su aportación a la diferenciación y relación con un aceite en especial es mínima.

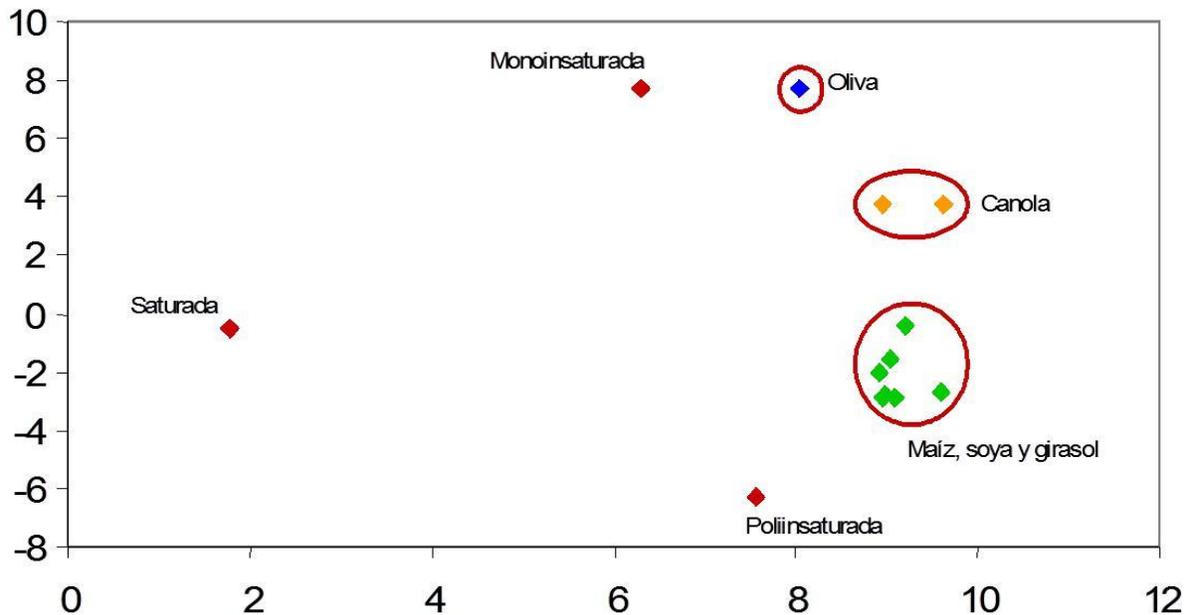


Figura 13. Biplot de las muestras de aceite y las variables dadas por su composición química

1.5.5 Análisis de las huellas espectrales de las muestras de aceite refinado y usado

Las huellas espectrales (dos por cada muestras de aceite) obtenidas con la técnica UV-Vis fueron en un intervalo de 200 a 1100 nm. La cual, se redujo a un intervalo espectral útil de 398 a 920 nm. El intervalo seleccionado no contiene el ruido espectral generado durante la lectura. En la Figura 14 se muestran los espectros completos (a) y el intervalo del espectro seleccionado (b).

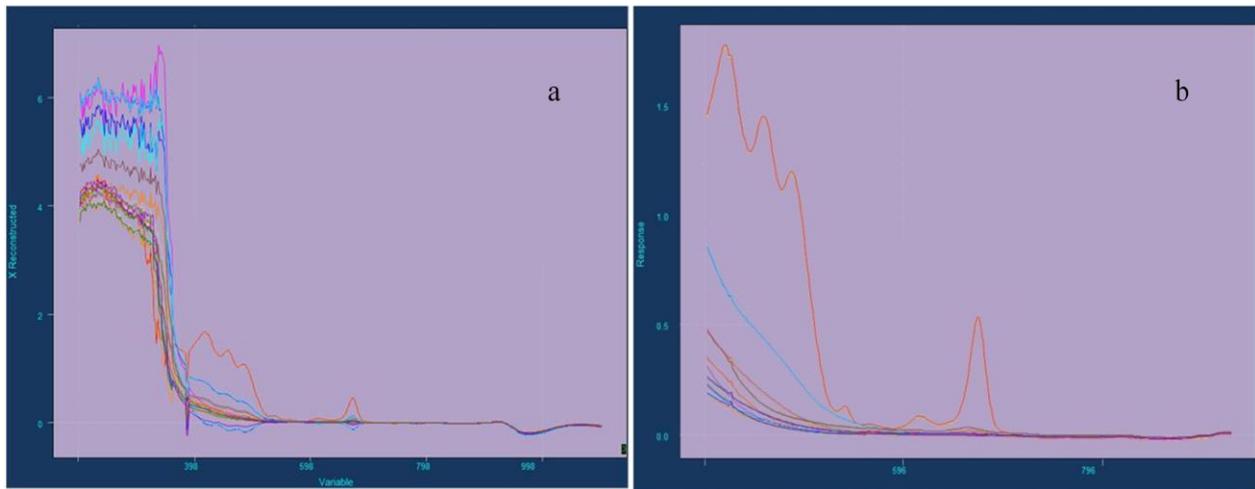


Figura 14. Espectros UV-Vis completos (a) e intervalo espectral seleccionado (b), de las muestras de aceite refinado

1.5.6 Análisis de agrupamiento jerárquico de las huellas espectrales

El análisis de HCA que se muestra en la Figura 15, presenta medidas de similitud no esperadas entre los aceites refinados como fueron observadas en el análisis quimiométrico de los datos de la composición química. Los resultados nos muestran tres ramificaciones siendo el aceite de oliva el que presenta el valor más bajo de similitud con respecto de los demás aceites ubicándose las dos muestras en un solo grupo, en la siguiente ramificación se ubican las muestras de aceite de soya y maíz de la marca Soriana y en la última ramificación se posicionan las demás muestras cubriendo la mayoría de los aceites presentando un valor alto de similitud entre estas muestras.

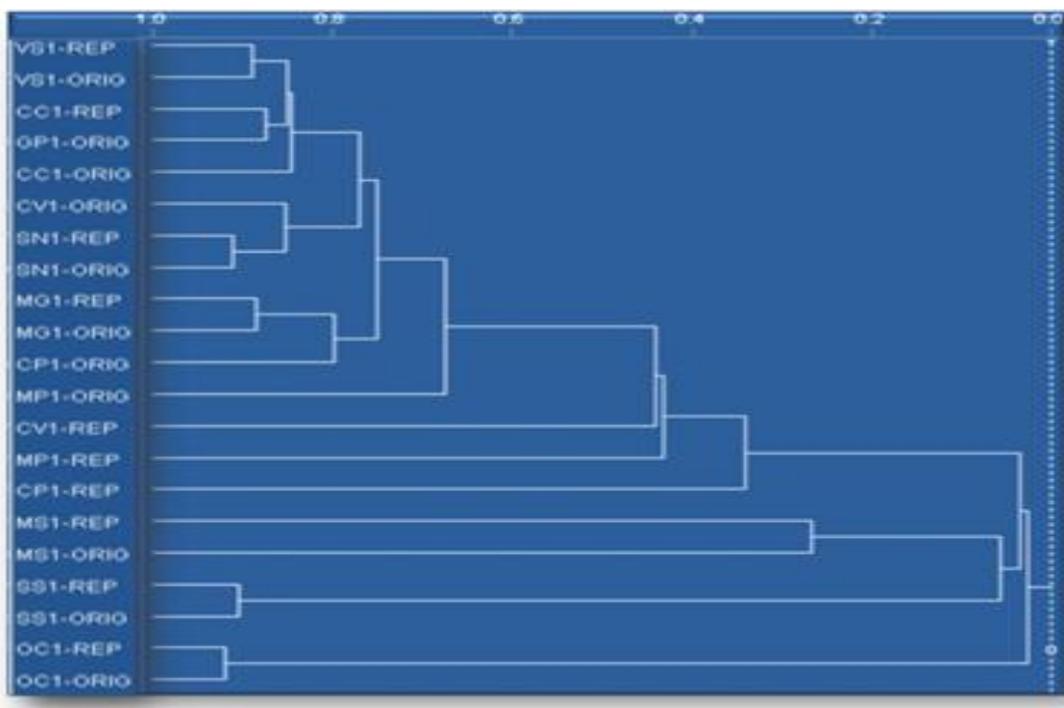


Figura 15. Análisis de agrupamiento jerárquico de las huellas espectrales UV-Vis de los aceites refinados

1.5.6.1 Análisis de componentes principales de las huellas espectrales

Finalmente se integraron los espectros de todas las muestras, de aceites refinados y aceites usados interpretándolo mediante el análisis de componentes principales. No se realizó ningún preprocesado de los datos espectrales ni tampoco se les realizó transformación. El número de muestras incluidas fue de 28, el número de variables incluidas fue de 450, su tipo de rotación fue normal y su probabilidad de umbral fue de 0.9500. En la Figura 1.6 se muestra los componentes principales generados con el programa Pirouette.

El análisis PCA para los aceites usados con respecto a los aceites refinados (Figura 16) nos muestra la formación de tres grupos, en el grupo más grande están todos los aceites refinados; en el segundo grupo se localizan los aceites usados (AUOD1 y 2, AUOP1 y 2) incluyendo al aceite de oliva que siempre se mantuvo separado del resto de los aceites refinados y el grupo pequeño está formado por AUOA1 y AUOA2. El aceite usado de fritura de antojitos (AUOA1 y 2) se separó totalmente debido a que presentó un espectro diferente a los obtenidos en los aceites refinados y usados de origen doméstico y de fritura de pescado.

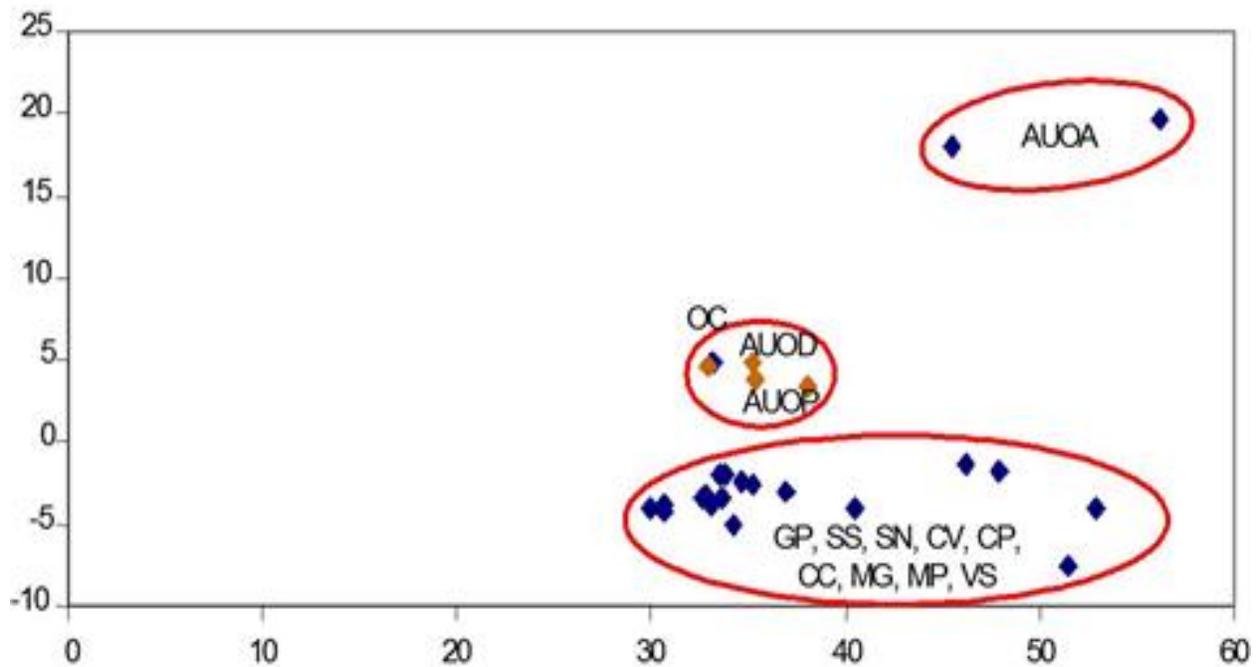


Figura 16. Análisis de los componentes principales de los aceites refinados y usados, obtenidos de las huellas espectrales

1.6 Conclusión

Los datos de la etiqueta y las huellas espectrales proporcionan información similar en cuanto a la similitud de las muestras de aceite y a la formación de los agrupamientos.

El análisis de componentes principales dio como resultado que el aceite de oliva de la marca Carbonell, fue el único que se separó de los demás aceites refinados debido a su mayor contenido de grasas monoinsaturadas, diferenciando a los demás aceites por la cantidad de grasas poliinsaturadas que estos contienen. Así mismo resultó la separación del aceite usado de antojitos de los demás aceites, (refinados y usados) siendo punto clave el aspecto del aceite usado al momento de seleccionar la materia prima que de no tener un buen aceite ocasionaría una producción de biodiesel de baja calidad.

Los análisis estadísticos y quimiométricos (estadística descriptiva, caras de Chernoff, HCA y PCA) proporcionaron información suficiente para caracterizar la materia prima desde antes de ser procesada y ser transformada a biodiesel. Lo que permite establecer estrategias de transformación para cada grupo de aceites.

1.7. Literatura Citada

Brereton, R. G. 2003. Chemometrics Data analysis for the Laboratory and Chemical Plant. Wiley, Chichester.

Ley de Desarrollo Rural Sustentable – Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de febrero de 2008. Texto Vigente Últimas Reformas Publicadas, Diario Oficial de la Federación, 18 de junio de 2010

Massart, D. L., Vandeginste, G. M., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. J. y Smeyers-Verbeke, J. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A. Elsevier, Amsterdam, 1997, Part B, 1998. Elsevier. Amsterdam.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Parte I. Biocombustibles: perspectivas, riesgos y oportunidades. Roma, 2008.

Skoog, D. A. y West, D. M. 1989. Química Analítica. Cuarta Edición. España

CAPITULO II. CLASIFICACIÓN DE BIODIESEL Y MEZCLAS Y ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BIODIESEL EN MEZCLAS CON DIESEL

CLASIFICACIÓN DE BIODIESEL Y MEZCLAS Y ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BIODIESEL EN MEZCLAS CON DIESEL

2.1 Resumen

Los métodos instrumentales representan ventajas al momento de realizar análisis químicos debido a que se caracterizan por ser más rápidas y exactas; debido a que la manipulación de las muestras es mínima, el tiempo de análisis es más corto, se reduce el uso de reactivos químicos y, en algunos casos, las muestras no se destruyen en el análisis. En este trabajo fue utilizada la tecnología Ultravioleta-Visible (UV-Vis) para elaborar un modelo de clasificación de muestras y diferenciar el biodiesel producido a partir de aceite refinado, aceite usado y mezclas; además de establecer un modelo para estimar la concentración de biodiesel en mezclas con diésel. Las huellas espectrales UV-Vis es información es información útil y suficiente para generar modelos de clasificación y estimación para identificar y cuantificar biodiesel en mezclas con diésel derivado del petróleo.

Palabras clave: Biodiesel, mezclas diésel-biodiesel, quimiometría.

CLASSIFICATION OF BIODIESEL AND MIXTURES AND ESTIMATION OF THE CONCENTRATION OF BIODIESEL IN MIXTURES WITH DIESEL

2.2 Abstract

The instrumental methods represent advantages to the moment to realize chemical analyses due to the fact that they are characterized for being more rapid and exact; due to the fact that the manipulation of the samples is minimal, the time of analysis is more short, there diminishes the use of chemical reagents and, in some cases, the samples are not destroyed in the analysis. In this work there was used the Ultraviolet - visible technology (UV-Vis) to elaborate a model of classification of samples and to differentiate the biodiesel produced from refined oil, secondhand oil and you mix; beside a model establishes to estimate the concentration of biodiesel in mixtures with diesel. The spectral finger prints UV-Vis is information is useful and sufficient information to generate models of classification and estimation to identify and to quantify biodiesel in blends with diesel derived from the oil.

Key words: Biodiesel, diesel-biodiesel blends, chemometric.

2.3 Introducción

El biodiesel constituye una alternativa energética renovable, a los combustibles fósiles actuales; además de favorecer la reducción de las emisiones de gas invernadero. Así como la insostenibilidad de la dependencia del petróleo para el transporte a diésel (Melero *et al.*, 2010).

La mayoría de los países desarrollados están definiendo políticas de manera voluntaria para obligar mediante las legislaciones a incrementar la participación de los biocombustibles en el mercado de los energéticos (Majer *et al.*, 2009). Para promover el uso de biocombustibles en el transporte; la nueva legislación de energía implementó en la Unión Europa establece que para finales del 2020 los combustibles para vehículos deberá contener un 10% de energía procedente de fuentes renovables (Directive, 2009). En este contexto, la capacidad de producción de biodiesel se ha incrementado en los últimos años en el mercado internacional (Licht, 2008).

El biodiesel tiene excelentes propiedades lubricantes. Cuando se agrega al combustible diésel regular, se convierte en un combustible con propiedades de lubricación aceptables (Allawzi y Kandah, 2008). Las mezclas de biodiesel con diésel convencional representa la forma más utilizada del biodiesel. En la U.S.A., el biodiesel es utilizado al 20 % v/v en mezcla con el petrodiesel; el cual es comúnmente referido como B20 y es reconocido como un combustible diésel alternativo (Foglia, *et al.*, 2005). El gobierno de Brasil tiene establecido el uso comercial de mezclas de biodiesel, introduciendo así el biodiesel en la matriz energética brasileña. Hoy, Brasil requiere la adición del 5% (B5) de biodiesel (Flôres *et al.*, 2011).

En consecuencia, existe interés y necesidad para el desarrollo de métodos para determinar o verificar el nivel de mezclas de biodiesel en diésel derivado del petróleo (Foglia *et al.*, 2005). A la fecha, el método que mayor se usa para determinar los niveles de biodiesel en mezclas es mediante espectroscopia IR (Borova *et al.*, 2002 y Knothe, 2001), el cual también ha sido usado para supervisar la reacción de transesterificación (Knothe, 2000), y constituye la base de las normas europeas para determinar los niveles de biodiesel en las mezclas. Otros métodos que han sido usados para la determinación incluye la espectroscopia H-NMR (Knothe, 2001).

En los últimos años el análisis mediante métodos espectroscópicos presenta ventajas en las investigaciones científicas debido a la rapidez en que se efectúa el análisis, menor costo, bajo

porcentaje de error y utilizan poco reactivos (Miller y Miller, 2002). También existen los métodos quimiométricos que consisten en obtener la mayor cantidad de información química posible a partir del análisis de datos (Massart *et al.*, 1997); en nuestro caso, generado por el espectrómetro de ultravioleta visible (UV-Vis).

El objetivo de esta investigación fue de establecer una metodología para evaluar la calidad del biodiesel mediante métodos no destructivos como la espectroscopia de ultravioleta-visible (UV/Vis).

2.4 Materiales y Métodos

2.4.1 Procedimiento experimental para el modelo de clasificación de biodiesel en mezclas con diésel

La preparación del biodiesel fue a condiciones normales de laboratorio especialmente la temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ temperatura ambiente). Para establecer un patrón de referencia de calidad se produjo biodiesel a partir de aceite vegetal refinado, aceite vegetal usado y mezclas. El metanol (componente de la reacción) fue de grado analítico, así como el hidróxido de sodio (catalizador de la reacción) el cual estaba en forma de hojuelas, ambos grado analítico de la marca Fermont.

2.4.1.1 Procedimiento para la producción de biodiesel a partir de aceite vegetal refinado

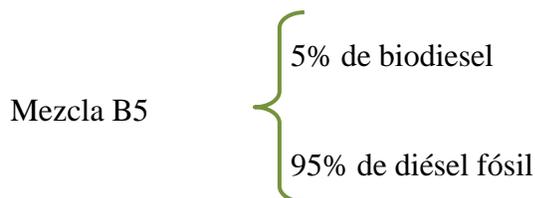
Para la elaboración del biodiesel se preparó el metóxido haciendo una mezcla con CH_3OH e NaOH , y se agitó hasta disolver las hojuelas del NaOH . La reacción de transesterificación fue en un tiempo de 60 minutos y se llevó a cabo en un matraz Erlenmeyer de vidrio con capacidad de 1 litro marca Pyrex. La agitación se realizó mediante una placa con agitación magnética marca Thermo Scientific. La mezcla obtenida se dejó reposando por 48 horas en un embudo de separación; después de este tiempo se separó el glicerol del biodiesel. El biodiesel fue lavado repetidamente con agua desionizada con el propósito de eliminar las impurezas o alguna fracción restante de glicerina, el biodiesel limpio fue conservado en frascos color ámbar.

2.4.1.2 Procedimiento experimental de biodiesel vegetal usado y mezclas

Para generar biodiesel a partir de aceite usado fue necesario pre-tratar el aceite para que las impurezas no alteraran el biocombustible y así obtener un biodiesel de buena calidad. El pre-tratamiento del aceite consistió en quitarle cualquier impureza (basura de fritura o cualquier materia sólida) y eliminar el contenido de agua que esta pudiera tener (obtenida durante el uso del aceite).

Para eliminar las impurezas fue necesario filtrar el aceite a través de papel filtro Whatman #40 posteriormente se eliminó el exceso de agua, calentando el aceite a 120 °C durante 20 minutos para que el agua pudiera evaporarse completamente.

La preparación de las mezclas B5, B10 y B20 fueron preparadas con biodiesel y diésel fósil. La letra B refiere a la palabra Biodiesel seguido por un número el cual indica el porcentaje de biodiesel que hay en dicha mezcla, por ejemplo:



Las mezclas preparadas (B5, B10 y B20) fueron según el tipo de semilla y de marca, con un total de 36 mezclas, de las cuales 12 fueron B5, 12 B10 y 12 B20.

2.4.1.3 Procedimiento de análisis

Se analizaron cada una de las muestras para obtener sus huellas espectrales realizando los barridos en el espectrómetro de UV-Vis Lambda 10 marca Perkin Elmer, cubriendo las longitudes de onda de 200 a 1100 nm, para cada una de las muestras de biodiesel: aceite vegetal refinado, aceite vegetal usado y las mezclas a diferentes concentraciones, generando 450 longitudes de onda para cada una de las muestras analizadas.

Se realizaron las mezclas para medirlas junto con el biodiesel producido y poder definir alguna diferencia o similitud mediante de la interpretación quimiométrica de los espectros.

2.4.1.4 Análisis estadístico

Con el objeto de establecer un modelo de clasificación de las muestras de biodiesel generadas a partir de aceite vegetal refinado, aceite vegetal usado y las mezclas; fueron utilizadas técnicas quimiométricas como el análisis de componentes principales (PCA) y el modelado independiente de clases (SIMCA)

2.4.2 Procedimiento para la obtención del modelo de estimación de biodiesel en mezcla con diésel derivado del petróleo

Para la elaboración de las muestras de biodiesel se utilizó como materia prima aceite vegetal usado recolectado de un restaurante de la zona de influencia del Campus Tabasco - Colegio de Postgraduados.

El biodiesel fue sintetizado en el Laboratorio, Agroindustrial, Suelo, Planta y Agua del Campus Tabasco. Para ello fue usada una relación de 1:6 aceite metanol. La cantidad de catalizador fue a una concentración de 1.5 g hidróxido de sodio (NaOH) (% p/p) y una concentración de metanol de 125 mL (% v/v), ambos grado analítico marca Fermont (Guerrero *et al.*, 2012). Las condiciones de operación en la reacción de transesterificación fue a una temperatura de 55 °C medido con un termómetro de mercurio marca Taylor (de -20 a 150 °C) en un tiempo de reacción de 120 minutos con agitación magnética mediante una mantilla eléctrica Barnstead-Electrothermal (BI) controlada manualmente. La reacción de transesterificación fue hecha en un matraz esférico de vidrio de un litro y fue acoplado con un condensador para evitar pérdida de vapores de metanol.

La mezcla se vertió en un embudo de separación y la glicerina fue separada del biodiesel. El biodiesel fue lavado con sesiones repetidas de agua desionizada para eliminar las impurezas así como restos de NaOH. Posteriormente se colocó la muestra de biodiesel en una columna con resina Amberlite Dry 10 para el lavado en seco. Finalmente las muestras fueron almacenadas en frascos color ámbar en refrigeración.

2.4.2.1 Preparación de las mezclas

La preparación consistió en realizar un conjunto de combinaciones de mezclas biodiesel-diésel a diferentes concentraciones para generar el modelo y estimar la concentración de biodiesel en el diésel, las combinaciones de biodiesel-diésel fueron medidas en porcentaje volumen-volumen (% v/v). El total de combinaciones analizadas fue de 10 con 10 repeticiones cada una. El Cuadro 7 muestra las combinaciones de las mezclas utilizadas para predecir el modelo.

Cuadro 7. Combinación de biodiesel-diésel para la preparación de mezclas para el modelo de estimación

N° C	Mezclas	Concentración % v/v		
		Biodiesel	Diesel	Repetición
1	B0	0	100	10
2	B6	6	94	10
3	B12	12	88	10
4	B24	24	76	10
5	B36	36	64	10
6	B48	48	52	10
7	B60	60	40	10
8	B72	72	28	10
9	B84	84	16	10
10	B100	100	0	10

2.4.2.2 Procedimiento de análisis

Para la obtención de las huellas espectrales se realizaron los barridos en el espectrómetro UV-Vis en el intervalo de longitudes de onda de 200 a 1100 nm para cada una de las muestras a diferentes concentraciones; con un total de 450 señales espectrales, un para cada dos longitudes de onda. Lo cual, se obtiene una matriz de 100 muestras x 450 señales generando 45,000 señales espectrales o datos.

2.4.2.3 Análisis estadístico

Después de obtener los barridos se seleccionaron las longitudes de ondas para eliminar el ruido espectral. La información generada con el UV-Vis fue interpretada mediante un análisis de dispersión, para conocer la relación entre las dos variables (concentración vs absorbancia) se aplicó el modelo de regresión lineal simple para ilustrar el análisis y la interpretación del modelo usando el programa Excel.

2.5 Resultados y discusión

Los resultados de la investigación se describen en dos apartados, en la primera parte se presenta el modelo discriminante para clasificar biodiesel y mezclas; mientras que la segunda parte se discute el desarrollo del modelo para estimar la concentración de biodiesel en diésel.

2.5.1 Modelo discriminante para clasificar biodiesel y mezclas

2.5.1.1 Información espectral

Los datos espectrales obtenidos durante la lectura del UV-Vis fueron en un intervalo de 200 a 1100 nm el cual, se redujo a un intervalo espectral útil (seleccionado) de 400 a 900 nm. La selección del intervalo útil fue basada en el análisis visual realizada para eliminar el ruido espectral. En la Figura 17 se muestran los espectros completos y el intervalo del espectro seleccionado.

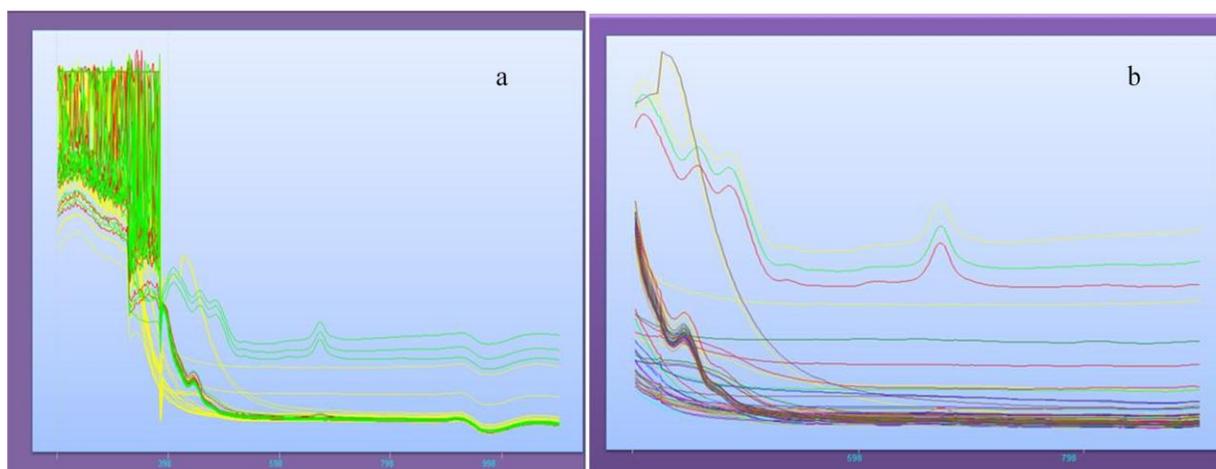


Figura 17. Espectros UV-Vis completo (a) e intervalo seleccionado (b), de los aceites refinados

2.5.1.2 Análisis de componentes principales de las huellas espectrales del biodiesel y mezclas

Los espectros fueron analizados mediante componentes principales (PCA) con un tratamiento de autoescalado y transformación aplicando la segunda derivada. Los grupos de muestras que se ubican en la parte inferior de la Figura 18 corresponden a las muestras de biodiesel generado a partir de aceite refinado “biodiesel puro”. En el mismo grupo son localizadas las muestras de biodiesel producido en el Instituto de Bioenergéticos de Chiapas (marcada en azul); estas muestras se ubican en las coordenadas 1.93 y -7.49, 1.28 y -6.53 y 1.03 y -6.71 para las repeticiones 1, 2 y 3, respectivamente. La indicación de las coordenadas de estas muestras se hace debido a lo compacto del agrupamiento que dificulta diferenciar las muestras de biodiesel de Chiapas respecto a las de biodiesel puro. En la parte superior de la gráfica se agruparon las tres diferentes concentraciones de mezclas biodiesel-diésel B5, B10 y B20; que se utilizaron para evaluar el modelo.

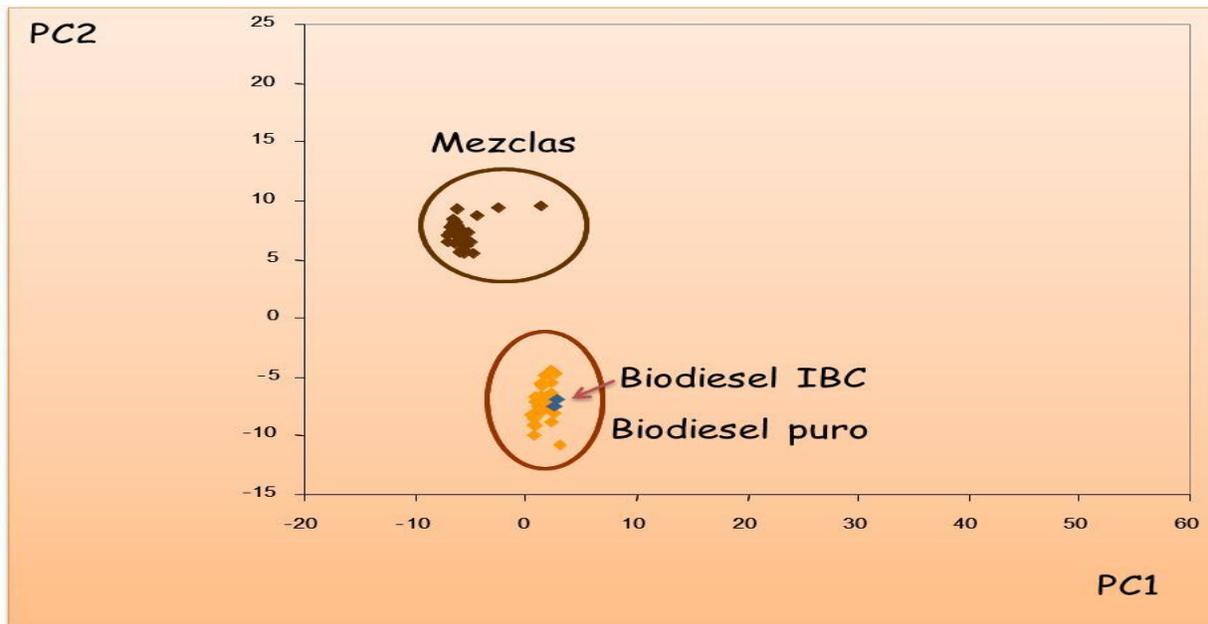


Figura 18. Representación de las puntuaciones de las huellas espectrales UV-Vis de las muestras de biodiesel y las mezclas en los dos primeros componentes principales

Los resultados obtenidos hasta aquí, indican que la espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis) genera información útil y suficiente para diferenciar muestras de biodiesel puro mezclas de biodiesel y diésel.

2.5.1.3 Modelo independiente de clases (SIMCA)

Con objeto de establecer un modelo de clasificación fueron utilizados los espectros UV-Vis de las muestras de biodiesel y las mezclas preparadas con el procedimiento descrito en la sección anterior: Procedimiento experimental para el modelo de clasificación de biodiesel en mezclas con diesel. Las huellas espectrales fueron analizadas con la técnica quimiométrica de modelado independiente de clases (SIMCA)

El modelado SIMCA se basa en encontrar los ejes de los componentes en el espacio de las mediciones multivariantes para cada categoría y distribuye las muestras en cuatro clases: la clase A, clase B, muestras que pertenecen a ambas clases y muestras que no pertenecen ni a la clase A ni a la clase B. Información que se presenta en un diagrama de Coomans.

El modelo SIMCA se obtuvo mediante un preprocesado de los datos espectrales y una transformación aplicando la segunda derivada. En la Figura 19 se muestra el modelo para las muestras de biodiesel obtenido con los aceites refinados, el biodiesel obtenido con el aceite usado (quemado) y las mezclas.

En el diagrama de Coomans de la Figura 20, la clase A corresponde a las muestras de biodiesel obtenido con aceite vegetal refinado y aceite usado. En la clase B se ubican las mezclas de biodiesel-diésel en concentraciones conocidas como B5, B10 y B20. En el cuadrante inferior izquierdo, correspondiente a las muestras con similitud a ambas clases (A y B), no se ubicaron muestras.

Finalmente en la zona de muestras desconocidas se ubican las muestras producto del proceso de conversión del aceite usado procedente de frituras de antojitos. La ubicación de estas muestras en esa zona se debe a que el aceite utilizado para la preparación de biodiesel, no tenía una composición, química y física, similar a los aceites refinados que se utilizaron para generar

biodiesel. Esto confirma lo observado en el análisis del espectro UV-Vis del aceite, ya que presenta una huella espectral muy diferente a las de los demás aceites.

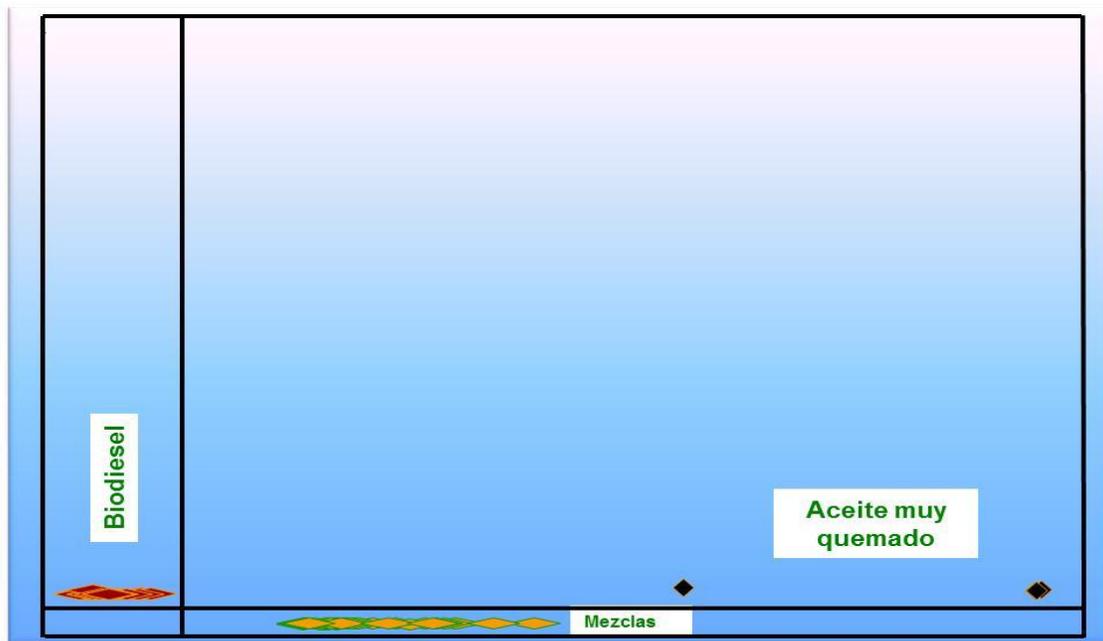


Figura 19. Diagrama de Coomans del modelo de clasificación SIMCA para muestras de biodiesel puro, mezclas y aceites quemados analizados con espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis)

Para finalizar, se puede afirmar que las huellas espectrales del UV-Vis son información suficiente para generar modelos de clasificación independientes, para cada uno de los grupos de biodiesel puro y mezclas, producidos a partir de aceite vegetal refinado o usado; basada en las clases predeterminadas mediante análisis de componentes principales.

2.5.2 Modelo para estimar la concentración de biodiesel en diésel

2.5.2.1 Información espectral

La región espectral comprendida entre 200 a 1100 nm fue utilizada para obtener un total de 100 espectros de las muestras preparadas a diferentes concentraciones, con el espectrómetro de UV-Vis (Figura 20). En una primera etapa fue seleccionado un intervalo útil basado en el análisis visual realizado para eliminar el ruido espectral comprendiendo los rangos de 458 a 480 nm; en la Figura 21b se presenta el intervalo seleccionado.

La información generada con el UV-Vis fue interpretada mediante un análisis de regresión lineal simple para conocer la dispersión de los datos sobre la línea de tendencia. Después de obtener el gráfico se eligió trabajar sólo con la longitud de onda 458.

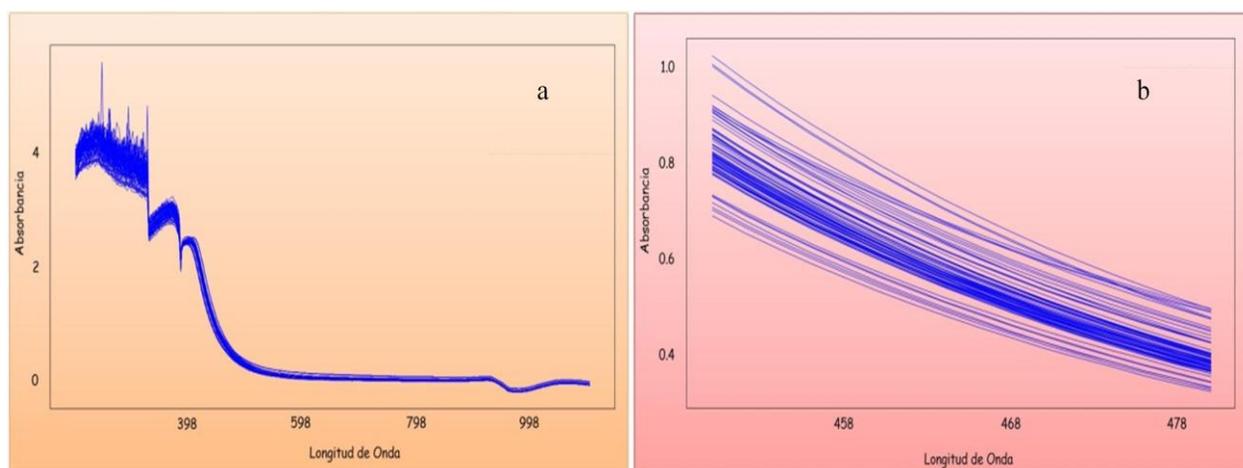


Figura 20. Espectro UV-Vis del conjunto de muestras biodiesel-diésel a diferentes concentraciones, región completa (a) y región seleccionada (b).

2.5.2.2 Modelo de regresión lineal simple

Para estimar la concentración con el modelo de predicción se realizó el análisis de RLS para la longitud de onda 458 (por corresponder a la absorbancia que presente en el grupo funcional carbonilo de los ésteres) y las 100 observaciones. Dando como resultado un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9698, un coeficiente de correlación de 0.9847 y un error típico de 0.0350; siendo todos estos calificadores del modelo considerados como valores aceptables. La

ecuación de la recta generada por el modelo de regresión presentada en el gráfico fue $y = 0.006x + 0.108$ (Figura 21), de la misma forma haciendo un análisis general sobre el gráfico se observó la presencia de un punto influyente en el modelo debido a un error aleatorio o experimental. Por lo que se decidió eliminar este punto para trabajar sólo con 99 datos para el modelo.

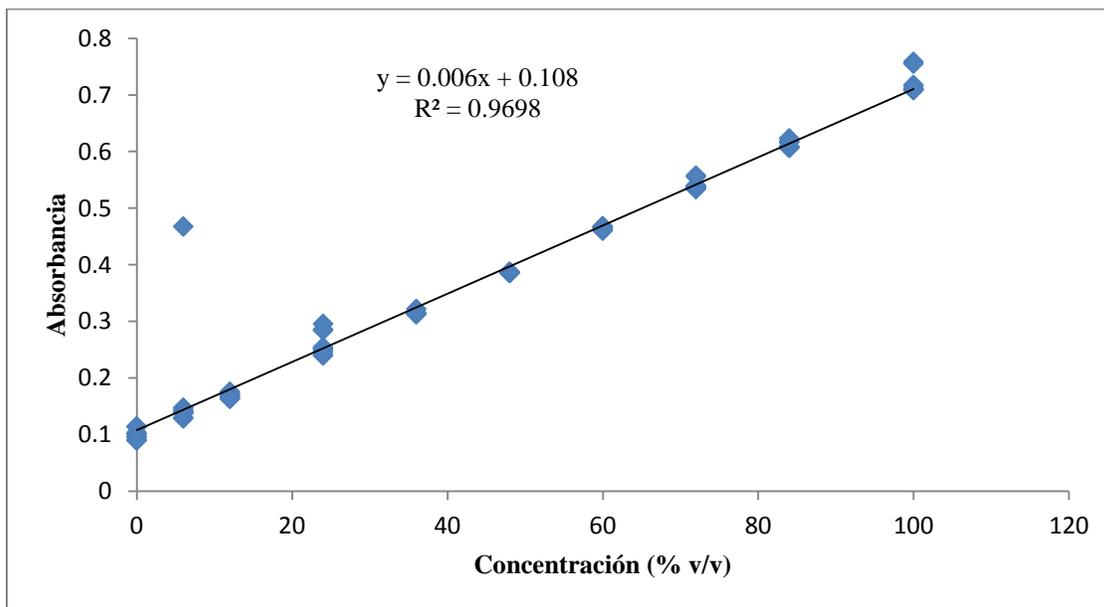


Figura 21. Modelo de regresión lineal simple generado con la concentración de 100 muestras de biodiesel y mezclas con diésel, y la absorbancia de cada muestra en la longitud de onda 458

2.5.2.2.1 Validación Interna del modelo

Una vez eliminado el dato extraño, se generó un nuevo modelo de RLS con los 99 datos. Se observa que la nube de puntos se ajusta más a la línea recta, con lo cual se generan resultados en la estadística de la regresión.

En una primera etapa de evaluación del modelo se procede a una validación interna (*cross validation*) del mismo. Esto consiste en obtener los calificadores estadísticos propios del modelo; así como pruebas de correlación y de t para datos apareados.

La validación cruzada consiste en dividir el conjunto de muestras en 10 grupos; 9 grupos se utilizan para construir el modelo de calibración mientras que en el grupo de muestras que queda

es estimada la concentración de biodiesel en la mezcla. Esta ronda se repite hasta que todas las muestras son estimadas.

La evaluación estadística del modelo generó un R^2 de 0.9967, un coeficiente de correlación de 0.9983 y un error típico de 0.0116; siendo todos estos valores aceptables mejores que el modelo presentado con los 99 datos. La ecuación de la recta generada por el modelo de regresión presentada en el gráfico fue $y = 0.0061x + 0.0994$ (Figura 22). Los datos anteriores confirman la exactitud del valor estimado por el modelo con respecto al valor de referencia de las muestras de biodiesel y las mezclas con diésel.

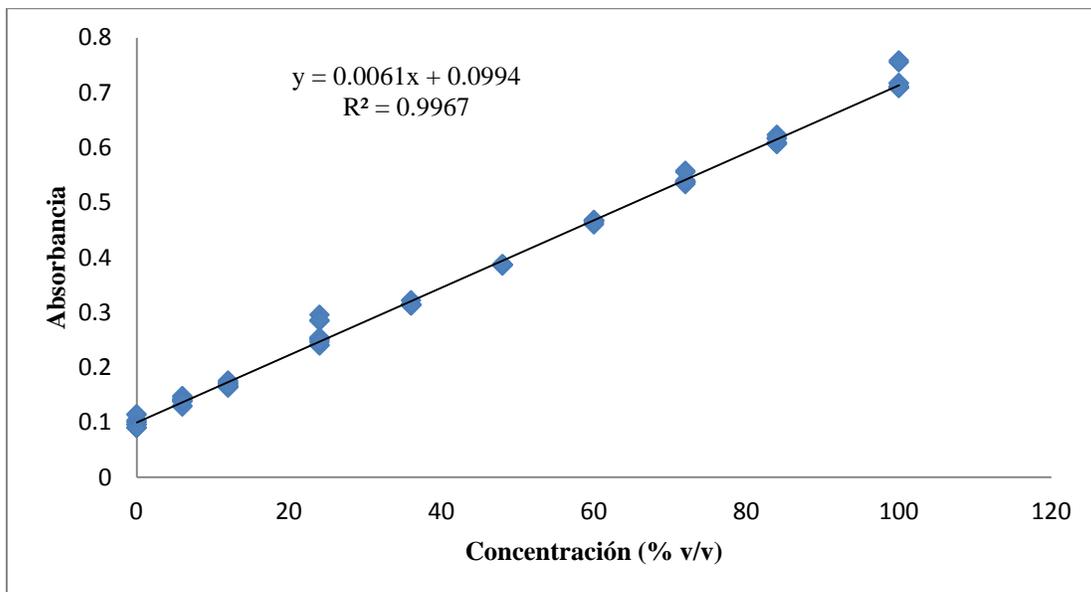


Figura 22. Modelo de regresión lineal simple generado con la concentración de 99 muestras de biodiesel y mezclas con diésel y la absorbancia de cada muestra en la longitud de onda 458.

2.5.2.2.2 Estadístico F

Para probar si el uso de la recta es adecuada para describir la relación entre las variables de estudio se realizó una tabla de ANOVA (Cuadro 8) en el modelo de regresión, el análisis de varianza para el modelo optimizado con $n-1$ grados de libertad presentó un total en la suma de los cuadrados de 105122.02 una F de 29205.25 y un valor crítico de F de 4.1867×10^{-122} .

Cuadro 8. Análisis de varianza del modelo

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	104774.0321	104774.0321	29205.2531	4.1867E-122
Residuos	97	347.9881197	3.587506389		
Total	98	105122.0202			

Para evaluar la hipótesis de la propuesta se verificó el valor de F asociado con el valor crítico de F, tal como se muestra en la salida del ANOVA. Para nuestra investigación, con una confianza del 95% no rechazamos la hipótesis del modelo debido a que $F_n \geq F_o$; por lo que se comprueba que la concentración del biodiesel, puro y en las mezclas, es estimado por el modelo, con resultados estadísticamente igual.

2.5.2.2.3 Validación del modelo

Con objeto de evaluar la robustez del modelo, fue utilizada la prueba de correlación entre los datos generados por el modelo y los de referencia. Para presentar la correlación fue elaborado un gráfico de correlación (Figura 23). Los datos estimados por el modelo y los de referencia son presentados en la Cuadro 9.

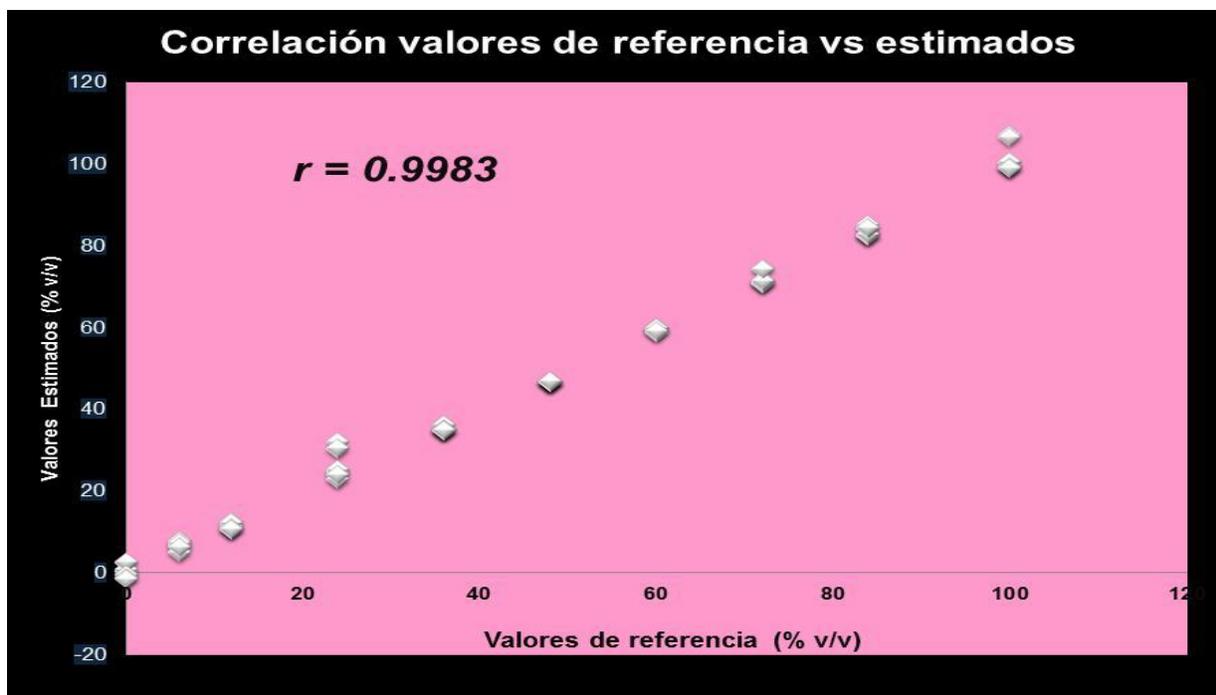


Figura 23. Gráfico de correlación de los valores de referencia vs estimados por el modelo; de las muestras de biodiesel y las mezclas con diésel

El gráfico generado presentó un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9983 indicando que existe una correlación muy fuerte entre los valores de referencia (concentración conocida al preparar las mezclas) y los valores de concentración estimados por el modelo; ya que este un valor es muy cercano a 1.

Una prueba más que sirvió para probar la robustez del modelo fue la comparación de los valores de referencia y los estimados. Para ello fue utilizada la prueba de datos apareados, t de student, con n-1 grados de libertad; la cual prueba el criterio si $t_o > t_c$ no se rechaza la hipótesis, caso contrario se rechaza. En esta investigación se calculó el valor de t_o con 98 grados de libertad y 95 % de confianza, siendo un valor de $t_o=1.984$ y la t_c fue de 3.39×10^{-14} ; por lo tanto, al ser menor t_c que t_o , la hipótesis no se rechaza.

valores de referencia (concentración conocida al preparar las mezclas) y los valores de concentración estimados por el modelo; ya que este un valor es muy cercano a 1.

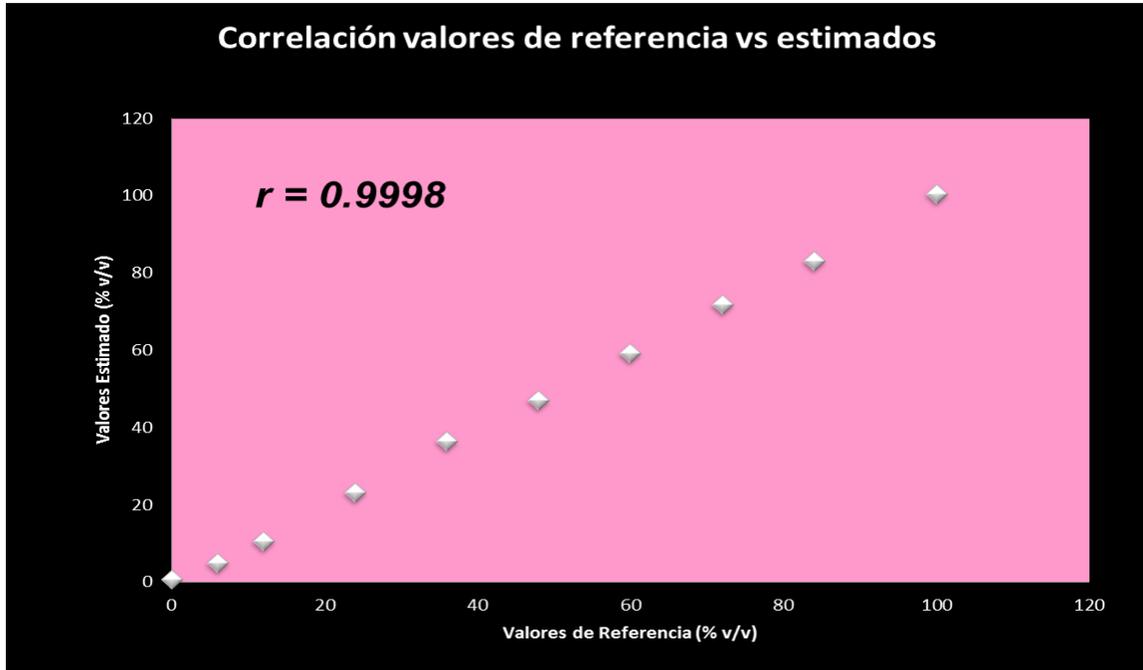


Figura 24. Gráfico de correlación de los valores de referencia vs estimados por el modelo; de las muestras de biodiesel y las mezclas con diésel; para la validación externa

Una prueba más, fue la comparación de los datos apareados, los valores estimados por el modelo y los valores de referencia. Los cuales, fueron analizados empleando el modelo de *t de student* con $n-1$ grados de libertad (Ramis *et al.*, 2001); esta hipótesis se emplea bajo el criterio $t_0 > t_c$, si este criterio se cumple entonces la hipótesis no se rechaza, en caso contrario se rechaza; se calculó el valor de t_0 con 9 grados de libertad y 95 % de confianza. El valor de t_c es menor que t_0 . Por lo tanto, al ser menor t_c que t_0 , la hipótesis no se rechaza (Cuadro 10).

Cuadro 10. Comparación de t calculada y t de tablas para la comparación de datos apareados

Validación externa	
GL	9
t_o	2.2622
t_c	-2.0421

La prueba de correlación y la de datos apareados confirman que el modelo obtenido presenta buena capacidad de predicción.

2.6 Conclusión

Se puede afirmar que las huellas espectrales del UV-Vis son información suficiente para establecer modelos de clasificación y estimación, que permitan clasificar muestras de biodiesel de aceite vegetal refinado y usado y de mezclas diésel-biodiesel.

El modelo de regresión lineal simple estima la concentración de biodiesel en diésel, 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-diésel para ser empleada en los vehículos a motores diésel.

Los modelos propuestos son más rápidos, consumen menos tiempo y reactivos, y presentan menor error analítico cuando se comparan contra los métodos convencionales. Su aplicación puede emplearse en producciones de biodiesel a escala industrial.

2.7 Literatura citada

- Allawzi, M., Kandah, M. I. 2008. Parametric study of biodiesel production from used soybean oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110: 760-767.
- Borova, A., Svajdlenka E., Cvengros J., Dostalíkova V. 2002. Determination of the mass fraction of methyl esters in mixed fuels. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104: 271-277.
- Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of April 23rd 2009 on the promotion of the use of energy coming from renewable feedstock and which modifies and abolishes Directives 2001/77/CE and 2003/30/CE. *Off J Eur Union*; June 5th 2009.
- Flores, F. M., De Souza, V. M., Panta, P. R. E., Fachini, D., Gerbase, A. E., Marder, L. 2011. Simultaneous determination of quality parameters of biodiesel/diesel blends using HATR-FTIR spectra and PLS, iPLS or siPLS regressions. *Fuel*, 90: 701-706.
- Foglia, T. A., Jones, K. C., Nuñez, A., Philips, J. G. Mittelbach, M. 2004. *Chromatographia*, 60: 305-311.
- Foglia, T. A., Jones, K. C., Philips, J. G. 2005. Determination of Biodiesel and Triacylglycerols in Diesel Fuel by LC. *Chromatographia*, 62: 115-119.
- Guerrero, P. A., Anguebes, F. F., Aguilar, U. C., Córdova, Q. Atl V., Rovira, G. I. A. 2012. Aceite vegetal usado como recurso renovable para la síntesis del biodiesel: Determinación de las condiciones óptimas de la reacción. *Ingeniería Química*, 506: 70-74.
- Knothe, G. 2000. *J. Am Oil Chem. Soc.* 77: 489-493.
- Knothe, G. 2001. *J. Am Oil Chem. Soc.* 78: 1025-1028.
- Licht, F. O. 2008/2009. *World Ethanol & Biofuels Reports*. Agra Informa Ltd., Kend TN1 2UN.

- Majer, S., Mueller, L. F., Zeller, V., Kaltschmitt, M. 2009. Implications of biodiesel production and utilisation on global climate. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 111: 747-762.
- Massart, D. L. Vandeginste, G. M. Buydens, L. M. C. De Jong, S. Lewi, P. J. and Smeyers-Verbeke. *J. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*. Elsevier, Amsterdam, 1997, Part B, 1998. Elsevier. Amsterdam.
- Melero, J. A., Vicente, G., Morales, G., Paniagua, M., Bustamante, J. 2010. Oxygenated compounds derived from glycerol for biodiesel formulation: Influence on EN 14214 quality parameters. *Fuel*, 89: 2011-2018.
- Miller, N. J., Miller J. C. 2002. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. (4a Ed). Pearson Educación, S.A., Madrid.

CONCLUSIONES GENERALES

En la evaluación de la calidad del biodiesel se utilizan en las normas internacionales, métodos convencionales que consumen reactivos, tiempo y recursos humanos; además de que la probabilidad de error es alta debido a la manipulación de las muestras. Como una alternativa a los métodos convencionales la tendencia de la química analítica es a utilizar métodos instrumentales que permiten resolver el problema planteado con el menor esfuerzo. En la presente investigación fue posible establecer métodos instrumentales basados en la espectroscopia ultravioleta-visible.

Con los métodos instrumentales se establecieron técnicas de clasificación basado en el modelado independiente de clases (SIMCA) con el cual es posible diferenciar muestras de biodiesel puro de mezclas, así como material que no corresponde a ninguno de los dos.

La estimación de la concentración del biodiesel en mezclas con diesel derivado del petróleo fue posible mediante el desarrollo de la espectroscopia ultravioleta-visible. Para ello desarrollamos un modelo de regresión lineal simple.

Por tanto se concluye que es posible evaluar la calidad del biodiesel y mezclas con diesel derivado del petróleo mediante métodos instrumentales y quimiometría con la ventaja de ser técnicas no destructivas, sin consumo de reactivos, con menor error analítico y en menor tiempo que los métodos convencionales establecidos en las normas internacionales.