



2015

Biodiesel: Estudios Analíticos y Desarrollo de Métodos de Análisis para el Control de Calidad



Lic. Francisco D. Ávila Orozco

Universidad Nacional del Sur

Bahía Blanca, Buenos Aires

Argentina



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN QUÍMICA

**Biodiesel: Estudios Analíticos y Desarrollo de Métodos de Análisis
para el Control de Calidad**

Francisco David Ávila Orozco

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2015



PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Química, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Química durante el período comprendido entre el 19 de Mayo de 2009 y el 26 de febrero de 2015, bajo la dirección de la Dra. Beatriz S. Fernández Band y la Dra. Claudia E. Domini.

Lic. Francisco David Ávila Orozco



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el 27/03/2015, mereciendo la calificación de sobresaliente 10 (sobresaliente diez)



RESUMEN

La transesterificación de ácidos grasos ha sido el método comúnmente empleado en la modificación de aceites vegetales para su implementación como biodiesel en motores de combustión interna. Las variables que intervienen en la reacción de transesterificación para la obtención del biodiesel son: tipo de materia prima, alcohol, catalizador y concentración del mismo, entre otras. Las propiedades y la calidad del biodiesel no sólo están determinadas por las variables del proceso de producción sino también por la composición de ésteres alquílicos de ácidos grasos (FAAE) que lo componen. Las muestras de biodiesel B100 (libre de aditivos) fueron producidas a partir de distintas materias primas como aceite de girasol, maíz, soja y uva. Se optimizó el proceso de producción catalizado por una base y empleando metanol. La calidad de las muestras de biodiesel obtenidas en el laboratorio fue evaluada según la norma argentina IRAM 6515-1:2006. Además, se desarrolló un método espectrométrico UV-VIS para la determinación de la estabilidad oxidativa del biodiesel mediante la oxidación acelerada de los FAAE asistida por ultrasonidos. Los valores de tiempo de inducción determinados mediante el método propuesto para todas las muestras de biodiesel, estuvieron en concordancia con los valores medidos a través del método de referencia Rancimat®. Además, se propuso el desarrollo de un método simple y rápido para la determinación del contenido de Na, K, Ca, Mg, P y 20 metales pesados en muestras de biodiesel, mediante espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP OES), usando un multinebulizador Flow Blurring® prototipo de dos boquillas y la calibración on-line por estándar interno. El análisis de las muestras fue realizado sin necesidad de emplear ningún tipo de pretratamiento. La precisión a corto y largo plazo fue estimada a través de la desviación estándar relativa, las mismas fueron aceptables. Los porcentajes de recuperación para los componentes mayoritarios (Na, K, Ca, Mg y P) estuvieron entre un 95% y un 106%.



ABSTRACT

Transesterification of fatty acids has been the method commonly employed in the modification of vegetable oils for implementation as biodiesel in internal combustion engines. The variables involved in the transesterification reaction for obtaining biodiesel are: type of raw material, alcohol, catalyst and concentration of it, among others. The properties and the quality of biodiesel are not only determined by the variables of the production process but also by the composition of fatty acid alkyl esters (FAAE). Samples of Biodiesel B100 (without additives) were produced from different raw materials such as sunflower oil, corn, soybeans and grape seeds. The production process performed via base-catalyst transesterification using methanol, was optimized. The quality of biodiesel samples obtained in the laboratory was evaluated according to Argentina IRAM 6515-1: 2006. Further, a UV-VIS spectrometric method for determining the oxidative stability of biodiesel by an accelerated ultrasonic assisted oxidation of FAAE, was developed. The induction time values determined by the proposed method for all samples of biodiesel, were in accordance with those measured by the Rancimat[®] reference method. Furthermore, the development of a simple and fast method for the determination of Na, K, Ca, Mg, P and 20 heavy metals in biodiesel samples by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES) using a two nozzles Flow Blurring[®] multinebulizer prototype and calibration on-line by internal standard, was proposed. The analysis of samples was conducted without using any pretreatment. Short-term and long term precision was estimated using the relative standard deviation. The precision values were acceptable. The recovery values for major components (Na, K, Ca, Mg and P) were between 95% and 106%.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.

Directora: Beatriz S. Fernández Band



DEDICATORIA

La presente tesis doctoral está dedicada, primeramente, a la memoria de mi abuela materna, *María Nazaret Osorio Urtado* —“*Abu*” como solía llamarla—, quien desde siempre me dio el aliento e infundió en mí la tenacidad y fuerza de voluntad —lo que sus palabras sería: “*la verraquera*”— para iniciar y terminar todas las cosas. A ella, allí en el cielo, agradezco por todo lo que en mi sembró y que hoy está dando su fruto.

A mi madre, *María Nisma Orozco Osorio*, porque sin su consejo, apoyo incondicional y amor inconmensurable, mi vida simplemente no tendría dirección ni sentido, sencillamente no sería. Y a mi tía, *Vilma Orozco Osorio*, por sus palabras de aliento, su consideración y apoyo incondicional aún en la distancia. A ambas, eternamente gracias por todo el tiempo y amor entregados, desde siempre y aún hasta el día de hoy. Por tantas muestras de cariño y devoción; por la sabiduría compartida, por simplemente ser, estar y escuchar, de nuevo gracias.

A todos mis familiares que estuvieron y desaparecieron a lo largo de estos casi seis años, dejando un gran vacío pero un agradable recuerdo igual de grande: a “*El Mago*”, mi abuelo *Yamil Orozco* y su esposa *Alba Jurado*; mi tío *Clotario Ávila* y su esposa *Omaira Valderrama*. Su recuerdo y herencia estarán en mi mente y corazón hasta el fin de mis días.

“Todo surgió del polvo, y al polvo todo volverá.”

Salomón
Eclesiastés 3:19



AGRADECIMIENTOS

Ante todo quiero agradecer a Dios, a quien debo toda mi fe y devoción; porque a lo largo de todos estos años he podido comprobar que *“el justo por la fe vivirá”*, y no ha podido ser de otra manera.

A la Dra. Beatriz S. Fernández Band por haberme abierto las puertas en su grupo de investigación, por haberme brindado su amistad y confianza; y sobre todo, la oportunidad de haber desarrollado este trabajo de tesis doctoral que hoy tengo el agrado de finalizar.

A la Dra. Claudia E. Domini (*Cali*) por todo el apoyo académico y profesional que en el transcurso de esta etapa me fue tan provechoso; pero sobre todo, por su cariño y apoyo incondicional de tía; por hacerme parte de su familia y abrirme las puertas de su casa, gracias *“Tía Calita”*.

A mis intensas, pero bien amadas y recordadas amigas, Vale (Dra. Valeria Springer) y Mari (Dra. Mariela Razuc), porque sin su compañía y apoyo incondicional (*por todo el aguante*) esta experiencia habría sido insulsa y desabrida (*como una taza de babas*). Por todo y por tanto, gracias enormes.

A mis amigos del alma, Dr. Jorge Gutiérrez (*el ñiñi*) y Dra. Diana Blach (*la mona*), porque por más de 10 años han demostrado ser incondicionales e incircunstanciales; porque se han y se siguen mostrando como amigos cuando otros ya se han arrepentido. Por estar en los momentos más sombríos y en los más cálidos y luminosos, gracias.

A mi amigo y hermano, Manuel Arroyave, por brindarme su leal amistad y más entrañable afecto, por apoyarme y acompañarme en todo momento, por su motivación y



palabras de aliento en los momentos más difíciles que viví en los últimos años, por todo y tanto, gracias.

A mis amigos Jonathan Romero, Angélica López, Diego Nieto y Natalia Ferro, a todos ustedes gracias por tantos años de inquebrantables amigos, por ser mi motivo, mi volver a las raíces, mi recordar la tierra en la que nacía y mi desear volver a ella solo por reencontrarme con ustedes, gracias.

Por último y no por eso menos importantes, gracias Marquitos, Carito y Nati, por haberme recibido y acogido tan bien desde el primer momento que llegué a esta ciudad y a nuestro grupo de investigación, por su apoyo y compañía, gracias. También quiero agradecer a Adri, Moni, Marianito, Marce, María, Susana y todos que conmigo estuvieron desde el principio, queriendo y apoyando a este extranjero y advenedizo Colombiano; muy argentinamente les digo *¡Gracias, Che!*

A todas esas personas que de una u otra manera hicieron parte de esta experiencia: Pilar Guaque, Andrés y Francisco Fioriti, Guillermo Tenconi, Nikolay Kovachev, Antonio Canals y todos aquellos que con su amistad y colaboración hicieron posible esta tesis doctoral.

A la Nación Argentina, el CONICET y la Universidad Nacional del Sur por hacer posible que a través de esta tesis pueda ser Doctor en Química.

*“El necio se cruza de brazos, y acaba muriéndose de hambre.
Más vale poco con tranquilidad que mucho con fatiga...
¡corriendo tras el viento!”*

Salomón
Eclesiastés 4:5-6

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN: HISTORIA, COMPOSICIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL BIODIESEL	2
1.1. Biodiesel: origen e historia del biocombustible	2
1.2. Definición, composición y características del biodiesel	8
1.3. Control de calidad del biodiesel	21
1.3.1. Estabilidad oxidativa del biodiesel	23
1.3.2. Contenido de Na, K y P	24
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	27
2.1. Objetivo general	27
2.2. Objetivos específicos	27
CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL (B100) Y CONTROL DE CALIDAD	29
3.3. Resumen	29
3.4. Introducción	30
3.5. Experimental	32
3.5.1. Materiales y reactivos	32
3.5.2. Equipos	33
3.5.3. Procedimiento	34
3.6. Resultados y discusión	38
3.7. Conclusión	43
CAPÍTULO 4. MÉTODO DE OXIDACIÓN ACCELERADA POR ULTRASONIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL BIODIESEL	46
4.1. Resumen	46
4.2. Introducción	47
4.3. Experimental	53
4.3.1. Reactivos	54
4.3.2. Equipos	54
4.3.3. Procedimiento	55
4.4. Resultados y discusión	57

4.4.1.	Optimización de las variables experimentales para el estudio de la estabilidad oxidativa	57
4.4.2.	Determinación del tiempo de inducción.....	61
4.4.3.	Degradación de biodiesel inducida por ultrasonidos.....	64
4.4.4.	Comparación de los resultados obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia <i>Rancimat</i> [®]	65
4.5.	Conclusión.....	67
CAPÍTULO 5. ANÁLISIS DE METALES Y FÓSFORO EN BODIESEL (B100) DE DISTINTO ORIGEN USANDO UN NEBULIZADOR <i>FLOW BLURRING</i>[®] EN ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA CON PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO		70
5.1.	Resumen.....	70
5.2.	Introducción	71
5.3.	Experimental	78
5.3.1.	Reactivos	78
5.3.2.	Muestras.....	79
5.3.3.	Instrumental.....	80
5.3.4.	Sistema de introducción de estándares y muestras	81
5.3.5.	Procedimiento	83
5.4.	Resultados y discusión	84
5.4.1.	Muestras de biodiesel <i>B100</i>	84
5.4.2.	Sistema de introducción de la muestra.....	85
5.4.3.	Cifras de mérito.....	86
5.4.4.	Análisis de materiales de referencia certificados.....	92
5.4.5.	Análisis de muestras reales	93
5.5.	Conclusión.....	96
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES		99
APÉNDICE A. PRODUCTIVIDAD: PRESENTACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS Y ARTÍCULOS.		102
	Congresos nacionales.....	102
	Congresos internacionales	104
	Publicaciones en revistas de divulgación científica con referato.....	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de ácidos grasos de algunos aceites vegetales.....	15
Tabla 2. Ejemplos de ácidos grasos saturados.....	16
Tabla 3. Ejemplos de ácidos grasos insaturados.....	16
Tabla 4. Requisitos y métodos de ensayo establecidos en la norma <i>IRAM 6515-1:2006</i> . 22	
Tabla 5. Matriz del diseño factorial completo usada en la optimización de variables involucradas en la producción de biodiesel de aceite de maíz.	39
Tabla 6. Valores de las variables constantes durante el proceso de producción de biodiesel.	40
Tabla 7. Parámetros de calidad evaluados en las muestras de biodiesel <i>B100</i> de acuerdo a la norma argentina <i>IRAM 6515-1:2006</i>	42
Tabla 8. Diseño experimental usado en la optimización de las variables experimentales de la sonodegradación de biodiesel.....	58
Tabla 9. Valores de los tiempos de inducción de las distintas muestras de biodiesel obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia <i>Rancimat</i> [®]	66
Tabla 10. Parámetros instrumentales para la configuración del equipo de <i>ICP OES</i>	81
Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos de calidad de las diferentes muestras de biodiesel. 85	
Tabla 12. Parámetros analíticos asociados con la validación del método propuesto.....	91
Tabla 13. Resultados del análisis del material de referencia certificado de biodiesel conteniendo 5 elementos por el método propuesto.	92

Tabla 14. Resultados obtenidos en el análisis elemental de muestras de biodiesel por *ICP OES* usando el método propuesto. **94**

Tabla 15. Resultados obtenidos en el análisis elemental de muestras de biodiesel por *ICP OES* usando el método propuesto. **95**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de un motor de combustión interna tipo diesel. Vista lateral izquierda (izq.) y vista lateral derecha (der.).....	2
Figura 2. Lámpara de aceite romana construida en barro y decorada con gladiadores.....	3
Figura 3. Modelo del motor diesel original de 1897 (Deutsches Museum, Múnich, Alemania).....	5
Figura 4. Rudolph Christian Karl Diesel (1858–1913).....	6
Figura 5. Transesterificación en medio básico.	12
Figura 6. Mecanismo de reacción de la transesterificación alcalina del etanoato de etilo.	12
Figura 7. Transesterificación típica de un triglicérido con metanol para la producción de ésteres alquílicos de ácidos grasos y glicerol.....	13
Figura 8. Mecanismos de transesterificación de triglicéridos.....	14
Figura 9. Densímetro portátil marca Anton Paar modelo <i>DMA 35N</i>	36
Figura 10. Viscómetro marca <i>AND</i> modelo <i>SV-10 Series</i>	37
Figura 11. Equipo <i>Rancimat</i> [®] marca <i>Metrohm</i> modelo <i>743</i>	38
Figura 12. Gráfico de pareto para evaluar los efectos de los factores y sus interacciones en la reacción de transesterificación. (Factor A: catalizador, Factor B: concentración del catalizador).....	40
Figura 13. Gráfico para la evaluación del punto óptimo a partir de las variables de proceso estudiadas mediante el diseño factorial completo.	41

Figura 14. Esquema del sistema y procedimiento empleados en el proceso de sonodegradación de las muestras de biodiesel para la determinación de la estabilidad oxidativa mediante el método propuesto.....	56
Figura 15. Gráfico de Pareto de los principales efectos estandarizados obtenido a partir del diseño central compuesto. (c: ciclos de trabajo, p: potencia, t: tiempo de sonicación; p^2 , t^2 , c^2 : efectos cuadráticos de las principales variables; tp, tc, pc: interacciones entre las variables).....	59
Figura 16. Superficie de respuesta obtenida para el diseño CCD con $p < 0,05$, graficando el tiempo de sonicación vs. la potencia de sonicación. (c: ciclos de trabajo).....	60
Figura 17. Espectros UV adquiridos, cada 2 min durante 16 min, en el proceso de sonoxidación de un muestra de biodiesel obtenida a partir de aceite de girasol.	61
Figura 18. Determinación del punto de inducción mediante la curva de la segunda derivada de la absorbancia a 270 nm.	63
Figura 19. Evolución del cambio de color durante la degradación de una muestra de biodiesel de girasol por acción de los ultrasonidos.....	64
Figura 20. Gráfico de correlación entre los valores de tiempo de inducción obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia <i>Rancimat</i> [®] (IT: Tiempo de inducción).....	67
Figura 21. Vistas frontal y lateral del FBMN de dos boquillas.....	83

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN: HISTORIA, COMPOSICIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL BIODIESEL

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN: HISTORIA, COMPOSICIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL BIODIESEL

1.1. Biodiesel: origen e historia del biocombustible

Los recursos naturales tanto renovables como no renovables y los productos derivados de ellos han sido aprovechados por la humanidad desde hace miles de años. En este contexto, la posibilidad de usar aceites vegetales y grasas animales¹ como combustible ha sido aprovechada por el hombre a lo largo del tiempo, no solo para su uso en sistemas de iluminación y calefacción, sino también para el funcionamiento del motor de combustión interna en la edad moderna (Figura 1).



Figura 1. Modelo de un motor de combustión interna tipo diesel. Vista lateral izquierda (izq.) y vista lateral derecha (der.).

Este artefacto no sólo ha sido importante en el desarrollo de la industria automotriz, aeronáutica y naval, sino también en la industria de los combustibles; repercutiendo en el ámbito industrial, económico, político, social y ecológico. Así, en los últimos 300 años, la

¹ K Kimpe, P.A Jacobs, M Waelkens, Analysis of oil used in late Roman oil lamps with different mass spectrometric techniques revealed the presence of predominantly olive oil together with traces of animal fat, Journal of Chromatography A 937 (2001) 87-95.

creación y evolución de las máquinas automotrices ha sido tan importante como el descubrimiento y explotación de los combustibles fósiles como el petróleo, el carbón y el gas natural y, los biocombustibles como el biodiesel, el bioetanol y el biogás.

Para comprender la situación actual del biodiesel y la importancia de establecer la calidad de este producto, es necesario conocer la historia de este biocombustible desde sus orígenes, partiendo de las materias primas empleadas en su elaboración hasta las diversas aplicaciones que tiene el mismo en el mundo contemporáneo.

En la antigüedad, una de las primeras formas en las que el hombre usó grasas animales y aceites vegetales como combustible se limitaba casi que exclusivamente a la alimentación de sistemas de iluminación rudimentarios que iban desde las antorchas, palos de madera cubiertos con materiales combustibles y sustancias inflamables en uno de sus extremos, hasta las lámparas de aceite conocidas como candiles y/o lucernas, los cuales consistían de un recipiente para contener algún combustible y una mecha consumible (Figura 2).



Figura 2. Lámpara de aceite romana construida en barro y decorada con gladiadores.

Se tienen evidencias arqueológicas de la existencia de estos artefactos desde tiempos tan remotos como la prehistoria, pasando por la era romana y la edad media. De hecho es bastante común encontrar este tipo de objetos en prácticamente toda excavación arqueológica romana.

Aceites como el aceite de oliva, pescado y también el de ciertas nueces eran comúnmente empleados para tales fines en los países occidentales del viejo mundo, aquellos romanizados. Además, se sabe que los egipcios empleaban aceite de ricino con el objeto de alimentar sus candiles, de la misma manera que los indios usaban los aceites de algunas semillas como el sésamo, maní y mostaza para tal fin^{2,3,4,5}.

El potencial uso de los aceites vegetales como combustible en máquinas impulsadas por motores de combustión interna empezó a investigarse antes de la crisis energética de 1970, y ya para la década de 1980 había un interés cada vez más creciente en el uso de estos productos como combustibles alternativos. Sin embargo, el origen del biodiesel, nombre con el que se designa comúnmente al producto principal obtenido a partir de la transesterificación de ácidos grasos o triglicéridos, se remonta a 1853 cuando los científicos británicos E. Duffy y J. Patrick⁶ llevaron a cabo por primera vez la reacción de transesterificación, tratando de obtener glicerina a partir de aceites vegetales para la

² R. Amairan, *Ancient pottery of the Holy Land: From its beginnings in the Neolithic period to the end of the Iron Age*, First Edition, Massada Press Ltd., Jerusalem, 1969.

³ V. Sussman, *The Samaritan oil lamps from Apollonia-Arsuf*, Tel Aviv, 10, 1983.

⁴ L. Wexler and G. Gilboa, *Oil lamps of the Roman period from Apollonia-Arsuf*, Tel Aviv, 23, 1996.

⁵ D. M. Bailey, "A Catalogue of the lamps in the British museum: Roman provincial lamps", Vol. 3, British Museum, London, 1988.

⁶ B.K. Abdalla, F.O.A. Oshaik, *Base-transesterification process for biodiesel fuel production from spent frying oils*, *Agricultural Sciences* 4 (2013) 85-88.

producción de jabón. El descubrimiento fortuito del biodiesel, se dio muchos años antes de la creación de la primera máquina de combustión interna, esto es, muchos años antes de que se pensara en el biodiesel como combustible alternativo y de que se diera su explotación comercial. Es aquí entonces donde se hace necesario conocer tan sólo brevemente la historia de los motores de combustión interna, ya que la misma está estrechamente relacionada con la historia e importancia de los biocombustibles, particularmente con la del biodiesel.

El primer motor de combustión interna fue construido y patentado en 1872 por el ingeniero alemán Nicolaus Otto y el francés Letenne Lenoir. En 1890, el inventor inglés Herbert Stuart y el canadiense Charles Binney desarrollaron una máquina basada en un sistema presurizado de inyección directa de combustible, sistema que dos años después sirviera de base para el desarrollo de Rudolph Diesel (Figura 3).

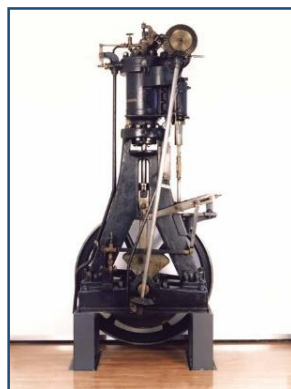


Figura 3. Modelo del motor diesel original de 1897 (Deutsches Museum, Múnich, Alemania).

En 1892, Rudolph Diesel (Figura 4), inventó y patentó una máquina híbrida de combustión interna que combinaba el sistema de compresión-ignición y el sistema de inyección directa

que hacía al funcionamiento de la máquina de Stuart-Binney. Sin embargo, el nuevo sistema de compresión-ignición desarrollado por Diesel se valía además de un sistema de inyección basado en una técnica de combustión isobárica patentada en 1874 por George Brayton. No obstante, la novedosa máquina híbrida presentada por Diesel tenía como principal ventaja el incremento en la eficiencia térmica del motor —la cual era de hasta un 60%— debida al aumento de presión (500 PSI) en la cámara de compresión. En el caso del dispositivo desarrollado por Stuart-Binney la presión era de 90 PSI y generaba una eficiencia de tan solo el 12%. Además de las ventajas termo-mecánicas que presentaba el motor desarrollado por Diesel, con relación a la eficiencia térmica de una máquina térmica ideal como la descrita por el físico francés Sadi Carnot en 1824, debe destacarse sobre todo que su motor funcionaba empleando aceite de maní como combustible alternativo⁷.



Figura 4. Rudolph Christian Karl Diesel (1858–1913).

Durante la década de los años 30 y 40, particularmente durante la Segunda Guerra Mundial, los aceites vegetales llegaron a usarse como sustitutos del diesel en situaciones

⁷ J.W. Young, M.I. Mech, E. Member, Notes on the practical development of the oil engine. Transactions of the Newcomen society, The International Journal for the History of Engineering & Technology 17 (1936) 109-129.

de emergencia. En su libro titulado “*Combustibles líquidos*”, Rudolf Diesel menciona que ya en 1900 el biodiesel era empleado en motores diesel y que ya en la Exposición de París de ese mismo año la French Otto Company presentó un motor diesel que funcionaba empleando aceite de maní. Aquella máquina diseñada originalmente para funcionar con petróleo operaba también con aceite y sin la necesidad de hacer ninguna modificación mecánica. Además, en aquella ocasión, las pruebas de consumo de combustible resultaron en un aprovechamiento calórico idéntico al obtenido con petróleo.

Sin embargo, el empleo de aceites vegetales como combustibles en motores de combustión interna presentaba una desventaja técnica, y ésta es que estos aceites poseen una viscosidad más alta que los combustibles comerciales derivados del petróleo. Esta condición dificulta la atomización del combustible y facilita la penetración, la cual es la causante de formación depósitos, el deterioro de los anillos del pistón, la obstrucción del inyector y el espesamiento del aceite lubricante. Con el objeto de disminuir la viscosidad de los aceites usados como combustibles se han desarrollado diferentes métodos como el *blending* (dilución o mezclado), la microemulsificación, la pirolisis (craqueo térmico) y la transesterificación.

Finalmente, Diesel optó por usar un producto estable que se obtenía como subproducto a partir de la destilación del petróleo. Este combustible es conocido hoy en día como *gasoil* o gasóleo y en algunos países se conoce como combustible diesel o simplemente diésel. Este carburante líquido derivado del petróleo está compuesto principalmente por parafinas y es utilizado como combustible para calderas y motores tipo diesel. No obstante, no fue

sino hasta 1937, según los registros bibliográficos, que tuvo lugar la primera producción de biodiesel, patente número 422.877, en la cual se presentaba un procedimiento, descrito por G. Chavanne, para la transformación de aceites vegetales para su uso como combustible mediante una reacción de alcoholisis (transesterificación) de aceites vegetales usando etanol⁸.

1.2. Definición, composición y características del biodiesel

Etimológicamente hablando, la palabra biodiesel proviene de la conjunción de *bio-*, que en griego (βίος-bios) significa vida; y *diesel*, que proviene del apellido del inventor alemán Rudolph Diesel. El biodiesel es un biocombustible, y un biocombustible por definición, es un combustible obtenido mediante el tratamiento físico o químico de materia vegetal o de residuos orgánicos⁹. Se puede decir entonces que el biodiesel es un combustible que se obtiene a partir del tratamiento de material biológico o biomasa, no solo de origen vegetal sino también animal. La biomasa es toda aquella materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía. Sin embargo, no todo material biológico presente en la biomasa es útil en la obtención del biodiesel sino que dicho material debe tener ciertas características físicas y químicas que lo hagan idóneo para tal fin.

⁸ G. Knothe, J.H. Van Gerpen, J. Krahl. The biodiesel handbook. AOCS press, Champaign, IL, 2005.

⁹ J.Y. Zhu, X. Pan, R.S. Zalesny Jr., Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technologies, and recalcitrance, Applied microbiology and biotechnology 87 (2010) 847-857.

Químicamente y de acuerdo con la especificación D 6751-08 de la *ASTM (American Section of the International Association for Testing Materials)*, el biodiesel se define como un combustible compuesto por ésteres mono-alquílicos de ácidos grasos de cadena larga derivados de aceites vegetales o grasas animales, y se designa como *B100*¹⁰. Los ácidos grasos son aquellas biomoléculas de naturaleza lipídica que poseen una cadena hidrocarbonada larga (o cadena alquílica) lineal o ramificada y un grupo carboxilo en un extremo. Genéricamente, los ácidos grasos se formulan $R-COOH$, en donde R es la cadena hidrocarbonada que identifica al ácido graso. Por su parte, los ésteres alquílicos son compuestos derivados de los ácidos grasos en los cuales uno o más protones están sustituidos por grupos alquilo.

Los triglicéridos o triacilglicéridos son glicéridos o acilgliceroles que se obtienen por la esterificación de los grupos hidroxilo (OH) de una molécula de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos de cadena larga (de hasta 24 carbonos de extensión) que pueden ser iguales o distintos entre sí. Dentro de los ácidos grasos que suelen constituir a los triacilgliceroles como radicales grasos, encontramos por ejemplo el ácido oleico, linoleico y palmítico, entre otros; los cuales pueden poseer o no instauraciones a lo largo de su cadena carbonada, las cuales a su vez determinan las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos. Por su parte, El glicerol, propanotriol o glicerina es un polialcohol trihidroxilado, líquido a una temperatura de 25°C, higroscópico e inodoro. Se obtiene como producto principal en la degradación digestiva de las grasas antes del ciclo de Krebs y

¹⁰ ASTM D6751, Standard specification for biodiesel fuel blend stock (*B100*) for middle distillate fuels. EE.UU., 2011.

también como producto intermedio en la fermentación alcohólica. El glicerol es, junto con los ácidos grasos constituyente de los triglicéridos. La mayor parte tanto de las grasas animales como de los aceites vegetales están constituidos por triacilgliceroles, pero también pueden estar presentes en ellos otras sustancias orgánicas e inorgánicas. La palabra aceite es un término genérico que se usa para designar a todos los líquidos grasos insolubles en agua y menos densos que ésta, extraíbles del fruto o semilla de plantas oleaginosas como la soja, el girasol o el maíz.

Si bien pueden emplearse distintos tipos de aceites vegetales en la producción del biodiesel, tanto comestibles como no comestibles, reciclados, crudos y/o refinados, industrialmente se prefieren los aceites vegetales vírgenes con cierto grado de refinamiento (no alimenticio)¹¹. En la práctica, el biodiesel se puede producir a partir del aceite de cualquier oleaginosa; sin embargo, los aceites más empleados en las plantas productoras del biocombustible son el aceite de soja¹², palma¹³ y colza¹⁴. Así mismo pueden usarse una amplia variedad de alcoholes en la transesterificación para la producción de biodiesel. El alcohol más empleado para este fin es el metanol¹⁵. Por otra parte, son muchos los catalizadores que pueden usarse en la transesterificación de triglicéridos e igual de

¹¹ J.M. Dias, M.C.M. Alvim-Ferraz, M.F. Almeida, Comparison of the performance of different homogeneous alkali catalysts during transesterification of waste and virgin oils and evaluation of biodiesel, *Fuel* 87 (2008) 3572-3578.

¹² I. Istadi, Sebastianus A. Prasetyo, Tito S. Nugroh, Characterization of K₂O/CaO-ZnO catalyst for transesterification of soybean oil to biodiesel, *Procedia Environmental Sciences* 23 (2015) 394-399.

¹³ Seik Lih Lee, Yong Chen Wong, Yen Ping Tan, Sook Yan Yew, Transesterification of palm oil to biodiesel by using waste obtuse horn shell-derived CaO catalyst, *Energy Conversion and Management* 93 (2015) 282-288.

¹⁴ R. Zakaria, A.P. Harvey, Direct production of biodiesel from rapeseed by reactive extraction/in situ transesterification, *Fuel Processing Technology* 102 (2012) 53-60.

¹⁵ H. An, W.M. Yang, J. Li, Numerical modeling on a diesel engine fueled by biodiesel-methanol blends, *Energy Conversion and Management* 93 (2015) 100-108.

variada es su naturaleza química; los mismos pueden clasificarse como homogéneos o heterogéneos¹⁶. Los catalizadores homogéneos son disoluciones como el hidróxido de sodio o potasio; y los heterogéneos son suspensiones o dispersiones como algunos óxidos metálicos¹² o polímeros¹⁷. Los catalizadores pueden ser básicos¹⁸, ácidos¹⁹ o enzimáticos²⁰ y pueden usarse individualmente o combinados²⁰. Comúnmente suelen emplearse en la industria los catalizadores alcalinos como los hidróxidos o alcóxidos de sodio y potasio, dada la efectividad que tienen en el proceso en comparación a otros catalizadores químicos y también por su bajo costo²¹. No obstante, la influencia del tipo de catalizador a emplearse en la transesterificación y la concentración del mismo siguen siendo objeto de numerosas investigaciones.

La transesterificación de ésteres alquílicos con un alcohol en medio alcalino ocurre en dos etapas: una primera en la que se da la adición nucleofílica de un grupo alcoxi al grupo carbonilo, y una segunda en la que se produce la eliminación del alcohol formado. En la Figura 5 se ejemplifica una transesterificación en medio alcalino en la que el etanoato de metilo [1] reacciona con el metanol en presencia de metóxido de sodio, quien actúa como catalizador, para generar etanoato de etilo [2] y metanol [3].

¹⁶ M. Farooq, A. Ramli, A.I Naeef, Biodiesel production from low FFA waste cooking oil using heterogeneous catalyst derived from chicken bones, *Renewable Energy* 76 (2015) 362-368.

¹⁷ A.P. Singh Chouhan, A.K. Sarma, Modern heterogeneous catalysts for biodiesel production: A comprehensive review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15 (2011) 4378-4399.

¹⁸ Feng Guo, Zhen-Gang Peng, Jian-Ying Dai, Zhi-Long Xiu, Calcined sodium silicate as solid base catalyst for biodiesel production, *Fuel Processing Technology* 91 (2010) 322-328.

¹⁹ H.V. Lee, J.C. Juan, Y.H. Taufiq-Yap, Preparation and application of binary acid-base CaO-La₂O₃ catalyst for biodiesel production, *Renewable Energy* 74 (2015) 124-132.

²⁰ Jing Li, Hui Xu, Zhong An Fei, Huan Liu, Dai Rong Qiao, Yi Cao, CaO/NaA combined with enzymatic catalyst for biodiesel transesterification, *Catalysis Communications* 28 (2012) 52-57.

²¹ K. Maeda, H. Kuramochi, T. Fujimoto, Y. Asakuma, K. Fukui, M. Osako, Kazuo Nakamura, S. Sakai, Phase equilibrium of biodiesel compounds for the triolein/palmitic acid-methanol system with dimethyl ether as cosolvent, *Chem Eng data* 53 (2008) 973-7.

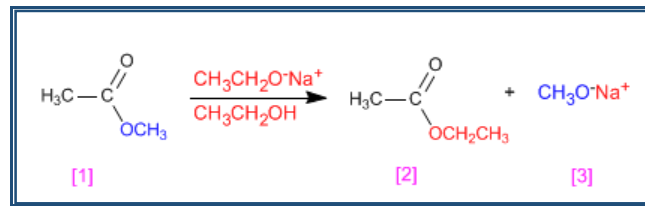


Figura 5. Transesterificación en medio básico.

En la primera etapa de la transesterificación del etanoato de etilo (Figura 6) se da la adición del grupo metoxilo del metóxido de sodio al grupo carbonilo del etanoato de etilo mediante una adición nucleofílica, en la segunda etapa se genera la eliminación del grupo metoxilo produciéndose metanol como se puede ver en la Figura 6.

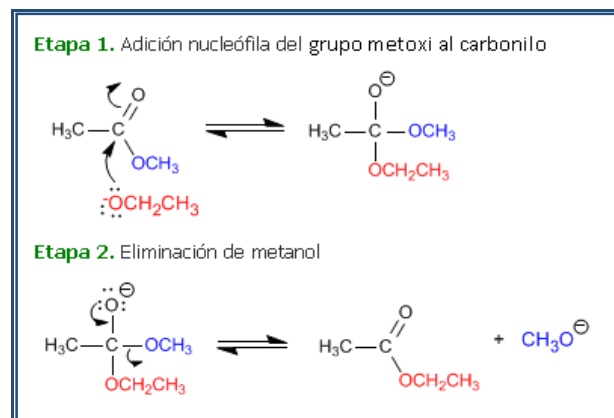


Figura 6. Mecanismo de reacción de la transesterificación alcalina del etanoato de etilo.

Por otra parte, la transesterificación de triglicéridos en la producción de biodiesel se desarrolla típicamente en una serie de reacciones consecutivas y reversibles como se ilustra en la Figura 7, en donde los radicales R^1 , R^2 y R^3 representan los grupos alquílicos de cadena

larga^{22,23}. De forma homóloga a los ésteres alquílicos simples, el proceso de transesterificación de los triglicéridos, ocurre mediante reacciones sucesivas de adición nucleofílica de una molécula de un grupo alcoxi en cada una de las tres posiciones del triacilglicerol, siguiendo cualquiera de los tres mecanismos de reacción que se muestran en la Figura 8.

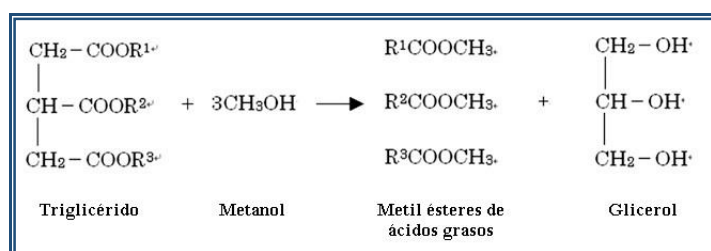


Figura 7. Transesterificación típica de un triglicérido con metanol para la producción de ésteres alquílicos de ácidos grasos y glicerol.

De esta manera, el triglicérido se transforma en un diglicérido, este en un monoglicérido y finalmente tiene lugar la formación de una molécula de glicerol y los mono alquil ésteres correspondientes a los grupos alquílicos grasos que conformaban inicialmente el triglicérido^{24,25}. Es por este motivo que a estos ésteres alquílicos se les denomina comúnmente ésteres alquílicos de ácidos grasos *FAAE* (del inglés *Fatty Acid Alkyl Esters*) o *FAME* (del inglés *Fatty Acid Methyl Esters*) cuando se usa metanol para producir metil ésteres.

²² M. Kouzu, T. Kasuno, M. Tajika, Y. Sugimoto, S. Yamanaka, J. Hidaka, Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and its application to biodiesel production, *Fuel* 87 (2008) 2798–806.

²³ Demirbas A. Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils and fats. *Energy Conversion Manage* 49 (2008) 125–30.

²⁴ N. Barakos, S. Pasias, N. Papayannakos, Transesterification of triglycerides in high and low quality oil feeds over an HT2 hydrotalcite catalyst, *Bioresour Technol* 99 (2008) 5037–42.

²⁵ D.G.B. Boocock, S.K. Konar, V. Mao, C. Lee, S. Buligan, Fast formation of high-purity methyl esters from vegetable oils, *JAACS* 75 (1998) 1167–72.

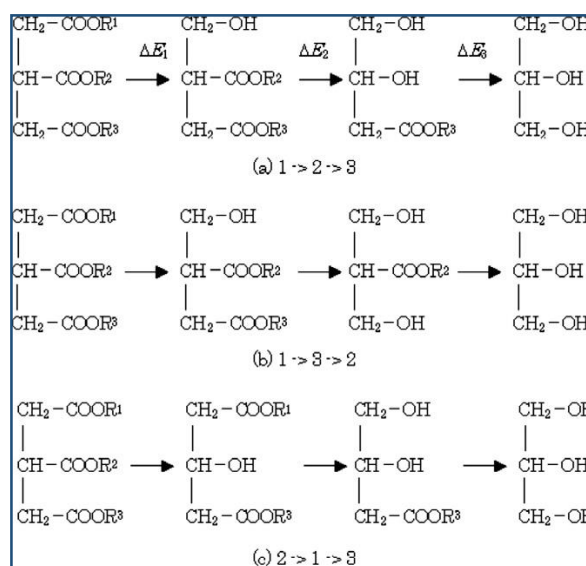


Figura 8. Mecanismos de transesterificación de triglicéridos.

La composición química de los aceites vegetales empleados comúnmente en la transesterificación de triacilgliceroles influye en las propiedades químicas del biodiesel, ya que el mismo, podrá estar constituido predominantemente por un determinado tipo de éster alquílico de ácido graso según el aceite del que provenga. Así por ejemplo, si se emplea aceite de colza en la transesterificación, el cual posee un alto contenido de ácido oleico (18:1) (de hasta un 64,4 % en peso); entonces, los ésteres alquílicos que compongan al biodiesel serán mayoritariamente alquil oleatos²⁶. Sin embargo, es importante mencionar que el biodiesel deber ser entendido como una mezcla compleja no solo de diversos ésteres alquílicos de ácidos grasos; sino también, de lípidos (ácidos grasos libres y fosfolípidos), antioxidantes, agua y otras sustancias, que bien pueden provenir de los aceites y reactivos utilizados en la reacción o que se pueden generar y adicionarse durante

²⁶ C.E. Goering, A.W. Schwa, M.J. Daugherty, E.H. Pryde, A.J. Heakin, Fuel properties of eleven oils. Trans. ASAE 25 (1982) 1472-1483.

el proceso de producción, como el glicerol, metales alcalinos y algunos metales pesados.

En la Tabla 1 se muestra la composición de ácidos grasos de algunos aceites vegetales²⁶.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos de algunos aceites vegetales

Aceite vegetal	Composición de ácidos grasos en % en peso								
	16:0	18:0	20:0	22:0	24:0	18:1	22:1	18:2	18:3
Maíz	11,67	1,85	0,24	0,00	0,00	25,16	0,00	60,60	0,48
Algodón	28,33	0,89	0,00	0,00	0,00	13,27	0,00	57,51	0,00
Crambe	2,07	0,70	2,09	0,80	1,12	18,86	58,51	9,00	6,85
Maní	11,38	2,39	1,32	2,52	,123	48,28	0,00	31,95	0,93
Colza	3,49	0,85	0,00	0,00	0,00	64,40	0,00	22,30	8,23
Soja	11,75	3,15	0,00	0,00	0,00	23,26	0,00	55,53	6,31
Girasol	6,08	3,26	0,00	0,00	0,00	16,93	0,00	73,73	0,00

Considerando que la transesterificación es una reacción inespecífica, ya que en ella pueden interactuar cualquier tipo de ésteres alquílicos tanto de cadena larga como de cadena media y corta; debe entenderse entonces, que en ella participan todos los grupos grasos que constituyen los triglicéridos, así como también los fosfoglicéridos y ácidos grasos libres presentes en la materia prima. Así por ejemplo, en la mezcla de biodiesel obtenida a partir de aceite de colza (Tabla 1) no sólo habrá alquil oleatos sino también alquil palmitatos, estearatos, linoleatos y linolenatos en menor concentración. En las Tablas 2 y 3, se presentan algunos de los ácidos grasos saturados e insaturados de cadena larga que pueden estar presentes en las materias primas empleadas en la producción de biodiesel. Si bien los aceites vegetales se caracterizan por tener un alto contenido de ácidos grasos insaturados, es normal encontrar en ellos algunos saturados aunque sea en menor proporción. En la grasa animal también es común encontrar ácidos grasos insaturados en bajas concentraciones.

Tabla 2. Ejemplos de ácidos grasos saturados.

Nombre común	Nombre IUPAC	Fórmula química	Número lipídico
Ácido propiónico	Ácido propanoico	CH ₃ CH ₂ COOH	C3:0
Ácido butírico	Ácido butanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	C4:0
Ácido valérico	Ácido pentanoico	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	C5:0
Ácido caproico	Ácido hexanoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	C6:0
Ácido enántico	Ácido heptanoico	CH ₃ (CH ₂) ₅ COOH	C7:0
Ácido caprílico	Ácido octanoico	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	C8:0
Ácido pelargónico	Ácido nonanoico	CH ₃ (CH ₂) ₇ COOH	C9:0
Ácido cáprico	Ácido decanoico	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	C10:0
Ácido pentadecílico	Ácido pentadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₃ COOH	C15:0
Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	C20:0
Ácido pentacosílico	Ácido pentacosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₃ COOH	C25:0
Ácido melísico	Ácido triacontanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₈ COOH	C30:0
Ácido laceroico	Ácido dotriacontanoico	CH ₃ (CH ₂) ₃₀ COOH	C32:0

Tabla 3. Ejemplos de ácidos grasos insaturados.

Nombre común	Formula química	NL*
Ácido miristoleico	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	14:1
Ácido palmitoleico	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	16:1
Ácido sapiénico	CH ₃ (CH ₂) ₈ CH=CH(CH ₂) ₄ COOH	16:1
Ácido oleico	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	18:1
Ácido eláidico	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	18:1
Ácido vaccénico	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH	18:1
Ácido linoleico	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	18:2
Ácido linoeláidico	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	18:2
Ácido α-linolénico	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	18:3
Ácido araquidónico	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH ^{NIST}	20:4
Ácido erúcido	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH	22:1

La naturaleza química de los ésteres alquílicos de ácidos grasos que constituye la mezcla de biodiesel, establece las propiedades fisicoquímicas del biocombustible tales como su baja densidad y viscosidad, alta volatilidad y elevado contenido energético. A su vez la composición de ácidos grasos del biodiesel, determina algunas de sus principales ventajas

como su biodegradabilidad y, desventajas como la susceptibilidad a la rancidez oxidativa e hidrolítica.

Algunas de las características ventajosas que presentan los aceites vegetales de los que procede usualmente el biodiesel son transferidas al biocombustible, como son: la portabilidad que les confiere el ser líquidos, el contenido calórico (que es un 80-90% del que posee el diesel derivado del petróleo) y su buena disponibilidad y biodegradabilidad. Por otra parte, las desventajas que presenta el uso directo de aceites vegetales en máquinas diesel en cuanto a su alta viscosidad y baja volatilidad, no son transferidas al biodiesel ya que se logran superar mediante la reacción de transesterificación²⁷.

La rancidez oxidativa²⁸ originada por la reactividad de las cadenas hidrocarbonadas insaturadas de los grupos grasos, consiste en una desventaja importante para la vida útil del biocombustible, aunque dicho conflicto logra resolverse mediante la adición de antioxidantes naturales y/o sintéticos^{29,30}.

La viscosidad es una propiedad inversamente relacionada con la atomización del combustible en la cámara de combustión; así, cuanto más baja sea la viscosidad del biocombustible y más semejante sea a la del diesel convencional, mejor será su atomización. Esto se traduce en la formación de un mayor número de gotas y de tamaño

²⁷ E.H. Pryde, Vegetable oil as diesel fuel: Overview, *JAOCS* 60 (1983) 1557-1558.

²⁸ J. Velasco, C. Dobarganes, G. Márquez-Ruiz, *Oxidative rancidity in foods and food quality. Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*, Elsevier, 2010.

²⁹ L. Silva de Sousa, C.V. Rodarte de Moura, J.E. de Oliveira, E.M. de Moura. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel, *Fuel* 134 (2014) 420-428.

³⁰ A.K. Agarwal, D. Khurana, Long-term storage oxidation stability of Karanja biodiesel with the use of antioxidants, *Fuel Processing Technology* 106 (2013) 447-452.

mucho menor, características que favorecen una mejor y más limpia quema del combustible³¹. Una buena combustión se da por una rápida ignición seguida de un quemado total y uniforme del combustible.

Otra característica importante del biodiesel es su lubricidad la cual en comparación a la del diesel es más alta. Esto se debe a que los compuestos naturales que le confieren sus propiedades lubricantes no se eliminan o modifican durante los procesos de refinamiento a los que se somete el diesel para la remoción de compuestos aromáticos y sulfurados³². El biodiesel, sin embargo, contiene ésteres, que son compuestos oxigenados que ayudan a disminuir la fricción entre los distintos componentes metálicos que rozan dentro del sistema de inyección, creando una película límite entre las superficies de dichos componentes. De esta forma ayuda a prevenir el desgaste del sistema de inyección que depende del combustible para su lubricación³³.

El biodiesel es; además, inmisible con el agua y presenta coloraciones que van desde el marrón hasta un amarillo dorado según la materia prima empleada en su elaboración³⁴. Posee una densidad muy inferior a la del agua (0.88 g/cm^3 aprox.) y un punto de llama (*flash point*) considerablemente más alto que la del diesel, haciéndolo menos inflamable y por ende menos peligroso.

³¹ J. Pullen, K. Saeed, Factors affecting biodiesel engine performance and exhaust emissions – Part I: Review, Energy 72 (2014) 1-16.

³² J.G. Speigh, Chapter 1. Refining Heavy Oil and Extra-heavy Oil. Heavy and Extra-heavy Oil Upgrading Technologies, Primera Edición, Elsevier, 2013.

³³ J.W. Goodrum, D.P. Geller, Influence of fatty acid methyl esters from hydroxylated vegetable oils on diesel fuel lubricity, Bioresource Technology 96 (2005) 851-855.

³⁴ M.J. Moyano, A.J. Meléndez-Martínez, J. Alba, F.J. Heredia, A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space, Food Research International 41 (2008) 505-512.

De acuerdo con las enmiendas del Acta de Aire de Limpio (*Clean Air Act*) de 1990³⁵, el biodiesel reúne todas las condiciones necesarias para ser considerado un combustible limpio, ya que la combustión del mismo no emite monóxido de carbono, compuestos sulfurados u óxidos de azufre y nitrógeno (como los NOx y SOx), ni compuestos aromáticos o material particulado, que contribuyan sustancialmente al efecto invernadero y así al calentamiento global.

El biodiesel además de usarse como combustible neto, suele usarse también mezclado en distintas proporciones con el diesel convencional, en mezclas que pueden contener desde un 5 hasta un 20 % de biodiesel³⁶. Este biocombustible también es usado como aditivo en aquellos combustibles bajos en sulfuros, como el diesel ultra bajo en sulfuros *ULSD* (del inglés *Ultra-Low Sulfur Diesel*), por estar esencialmente libre de tales compuestos³⁷. No obstante, la implementación de este biocombustible en máquinas de combustión interna conlleva ciertas desventajas relacionadas con la estabilidad y durabilidad de ciertos componentes dentro de las mismas, los cuales se encuentran contruidos con materiales basados en cobre, zinc, estaño, plomo y hierro fundido³⁸. Aquellos contruidos de aluminio o acero inoxidable, no se ven afectados³⁹. Las gomas sintéticas usadas frecuentemente en

³⁵ R.W. Kapp Jr. *Clean Air Act (CAA)*, US, Reference Module in Biomedical Sciences from *Encyclopedia of Toxicology*, Tercera Edición, Elsevier, 2014.

³⁶ M. Kousoulidou, L. Ntziachristos, G. Fontaras, G. Martini, P. Dilara, Z. Samaras, Impact of biodiesel application at various blending ratios on passenger cars of different fueling technologies, *Fuel* 98 (2012) 88-94.

³⁷ B.R. Moser, S.F. Vaughn, Evaluation of alkyl esters from *Camelina sativa* oil as biodiesel and as blend components in ultra-low-sulfur diesel fuel, *Bioresource Technology* 101 (2010) 646-653.

³⁸ S. Kaul, R.C. Saxena, A. Kumar, M.S. Negi, A.K. Bhatnagar, H.B. Goyal, A.K. Gupta, Corrosion behavior of biodiesel from seed oils of Indian origin on diesel engine parts, *Fuel Processing Technology* 88 (2007) 303-307.

³⁹ M.A. Fazal, A.S.M.A. Haseeb, H.H. Masjuki, Comparative corrosive characteristics of petroleum diesel and palm biodiesel for automotive materials, *Fuel Processing Technology* 91 (2010) 1308-1315.

los motores de los automóviles convencionales como las *FKM-GBL-S* y *FKM- GF-S*, se muestran bastante resistentes al biocombustible en cualquier condición⁴⁰.

La biodegradabilidad del biocombustible debido a la labilidad de las largas cadenas hidrocarbonadas insaturadas que conforman a los ésteres alquílicos de ácidos grasos constituye también una desventaja⁴¹. Además, es importante subrayar la susceptibilidad que poseen dichos ésteres a sufrir el llamado ranciamiento hidrolítico⁴²; que no es más que el producto de la acción enzimática de esterasas y lipasas presentes en algunos microorganismos que se encuentran en el ambiente⁴¹.

En síntesis, los ésteres alquílicos que conforman al biodiesel son fácilmente degradables ya sea mediante el ranciamiento oxidativo y/o hidrolítico. Se considera que un combustible es biodegradable cuando no menos del 90 % del mismo es degradado en 21 días⁴³ debido a la acción microbiana. Esta propiedad suele evaluarse mediante el método de evolución del CO₂ según la norma 560/6-82-003 de la Agencia de Protección Ambiental *EPA* (del inglés *Environment Protection Agency*), en el cual se lleva a cabo la medición de la evolución del CO₂ hasta la descomposición final de una sustancia (mineralización), en CO₂ y agua. Además, junto con la biodegradabilidad del biodiesel suele evaluarse también la toxicidad

⁴⁰ C. Berlanga-Labari, A. Albistur-Goñi, I. Barado-Pardo, M. Gutierrez-Peinado, J. Fernández-Carrasquilla, Compatibility study of high density polyethylene with bioethanol-gasoline blends, *Materials & Design* 32 (2011) 441-446.

⁴¹ A.U. Soriano et al., Microbiological aspects of biodiesel and biodiesel/diesel blends biodeterioration, *International Biodeterioration & Biodegradation* 99 (2015) 102-114.

⁴² G. Talbot, The stability and shelf life of fats and oils. *Food and beverage stability and shelf life*, Woodhead Publishing series in food science, Technology and Nutrition 210 (2011) 683-715.

⁴³ E. Sendzikiene, V. Makareviciene, P. Janulis, D. Makareviciute, Biodegradability of biodiesel fuel of animal and vegetable origin, *European Journal of Lipid Science and Technology* 5 (2007) 493-497.

por contaminación del mismo en suelos mediante el método de revegetación⁴⁴. El CO₂ liberado durante la combustión del biodiesel proviene fundamentalmente de las cadenas hidrocarbonadas que constituyen a los ésteres alquílicos que lo componen, los cuales a su vez provienen de los triacilglicerol que componen a los aceites vegetales; es por esto que se considera que el biodiesel posee un bajo perfil de emisiones en lo que al dióxido de carbono se refiere⁴⁵.

1.3. Control de calidad del biodiesel

El biodiesel para ser comercializado como combustible para su uso en máquinas automotoras debe cumplir los requerimientos establecidos en las distintas normas establecidas por los diferentes organismos internacionales de estandarización y certificación. Dentro de los principales organismos internacionales de normalización se encuentran la Comisión Europea de Normalización *CEN* (por sus siglas en inglés) y la Sociedad Americana para el Ensayo de Materiales *ASTM* (por sus siglas en inglés). Estos organismos han publicado las normas *EN 14214* (norma europea) y la *ASTM D 6751* (norma americana), en las cuales se establecen los requisitos y métodos de ensayo mediante los cuales se establece la calidad del biocombustible. Estas normas están basadas en una gran variedad de factores que pueden cambiar según la región de acuerdo a la disponibilidad de las materias primas empleadas en la producción del biodiesel, las características del

⁴⁴ X. Zhang, Biodegradability of biodiesel in the aquatic and soil environments, Master's Thesis, Department of Biological and Agricultural Engineering, University of Idaho, Moscow, ID, 1996.

⁴⁵ R. Mohsin, Z.A. Majid, A.H. Shihnan, N.S. Nasri, Z. Sharer, Effect of biodiesel blends on engine performance and exhaust emission, *Energy Conversion and Management* 88 (2014) 821-828.

combustible diesel en cada país, el tipo de motores usualmente utilizados y las regulaciones en cuanto a las emisiones de los mismo ⁴⁶.

El Instituto Argentino de Normalización y Certificación —IRAM— es el organismo encargado de establecer en nuestro país, los requisitos y métodos de ensayo para el biodiesel constituido por ésteres alquílicos de ácidos grasos de origen vegetal, que se comercializa y emplea en el país como combustible para vehículos automotores, equipados con motores diesel, al 100 % de concentración, o como aditivo del gasoil para su uso automotor. La Tabla 4 enumera los parámetros de calidad que deben evaluarse en el biodiesel, así como los métodos de ensayo que deben aplicarse para tal fin de acuerdo a la norma *IRAM 6515-1:2006*.

Tabla 4. Requisitos y métodos de ensayo establecidos en la norma *IRAM 6515-1:2006*

Requisito	Unidad	Límites		Método de ensayo
		Mínimo	Máximo	
Contenido de éster	g/100 g	0,875		EN 14103
Densidad a 15°C	g/mL	3,5	0,900	IRAM-IAPG A 6616 IRAM-IAPG A 6911 ISO 3675 ISO12185
Viscosidad a 40°C	mm ² s ⁻¹	130	5,0	IRAM-IAPG A 6597 IISO 3104 ASTM D 445
Punto de inflamación	°C			ISO 3679 ASTM D 93
Contenido de azufre	mg/Kg		10	Pr EN ISO 20846 Pr EN ISO 20884 ASTM D 5453
Residuo carbonoso (sobre la muestra al 100 %)	g/100 g	47	0,05	ASTM D 4530 ISO 10370
Número de cetanos				ASTM D 613 ISO 5165
Cenizas sulfatadas	g/100 g		0,02	ISO 3987
Contenido de agua por Karl Fischer	g/100 g		0,050	ASTM D 4928

⁴⁶ M. Mittelbach, Analytical aspects and quality criteria for biodiesel derived from vegetable oils, Proceedings of an alternative energy conference: Liquid fuels, lubricants, and additives from biomass, ASAE, St. Joseph, MI, 1994.

Requisito	Unidad	Límites		Método de ensayo
		Mínimo	Máximo	
Impurezas insolubles	mg/Kg	6	24	ISO 12937 EN 12662
Corrosión a la lámina de cobre (3 h a 50°C)			1	IRAM –IAP A 6533 ATM D 130 ISO 2160
Estabilidad a la oxidación a 110°C	horas			EN 14112 ASTM D 2274
Índice de acidez	mg KOH/g		0,5	IRAM 6558 EN 14104 ASTM D 664
Índice de yodo			150	EN 14111
Ésteres alquílicos de ácido linolénico	g/100 g		12	EN 14103
Contenido de alcohol libre	g/100 g		0,20	EN 14110
Contenido de monoglicérido	g/100 g		0,80	EN 14105
Contenido de diglicérido	g/100 g		0,20	EN 14105
Contenido de triglicérido	g/100 g		0,20	EN 14105
Glicerina libre	g/100 g		0,02	EN 14105 EN 14106 ASTM D 6584
Contenido total de glicerina	g/100 g		0,25	EN 14105 ASTM D 6584
Metales alcalinos (Na+K)	mg/Kg		5	EN 14108 EN 14109
Contenido de fósforo	mg/Kg		10	EN 14107
Lubricidad	µm		250	ISO 12156-1

A continuación se mencionan los parámetros de calidad que fueron eje central de esta tesis doctoral y para los cuales se propusieron nuevos métodos alternativos de análisis:

1.3.1. Estabilidad oxidativa del biodiesel

La composición del biodiesel y las condiciones de almacenamiento del mismo son algunos de los factores que suelen afectar al complejo proceso de oxidación del biocombustible. Debido a su composición química, el biodiesel es más susceptible a los procesos de oxidación que el petrodiesel; particularmente, el biodiesel con un alto contenido de ésteres grasos poli-insaturados. El grupo metileno adyacente al doble enlace es especialmente sensible al ataque radicalario, que ocurre en las primeras etapas de la

oxidación. Luego, los hidroperóxidos formados se polimerizan formando sedimentos que pueden causar problemas en los sistemas de inyección. Aunque la oxidación del biodiesel puede retardarse, ésta no puede evitarse y, es por tanto necesario encontrar alternativas para combatir este conflicto.

Como se discutirá más adelante en este trabajo, la determinación de la estabilidad oxidativa, factor directamente relacionado con el tiempo de vida útil del biodiesel, suele determinarse mediante el método *Rancimat*[®]. Este método consiste en la degradación acelerada de los ésteres alquílicos que componen al biodiesel por acción de la temperatura. Los productos volátiles de la oxidación son monitoreados conductimétricamente y el tiempo de inducción es determinado a través del *software* del equipo. Este método se encuentra descrito en la norma *EN 14112*. El tiempo de inducción de la muestra está relacionado con la estabilidad del producto en el almacenamiento.

1.3.2. Contenido de Na, K y P

Durante el proceso de producción o el almacenamiento del biodiesel se introducen distintos metales iónicos, entre ellos metales alcalinos y algunos metales pesados. Dentro de los metales que se pueden encontrar en el biodiesel están el Na y el K, principalmente. Estos están relacionados con la formación de cenizas dentro de los motores. Por su parte, la presencia de calcio y magnesio puede dar lugar a la formación de jabones que impidan el buen funcionamiento de las bombas de inyección⁴⁷. Es por este motivo que el contenido

⁴⁷, EBTP, White Paper on Internationally Compatible Biofuel Standards, Tripartite Task Force, European Biofuel Technology Platform, Brazil, EU & USA, 2007.

de este tipo de contaminantes en el biodiesel se ha limitado, siendo este límite de 5 mg Kg^{-1} para sodio, potasio, calcio y magnesio. Estos límites se encuentran establecidos en las normas *EN 14108*, *14109* y *prEN 14538*. En las mismas también se sugiere la determinación de sodio y potasio mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica y, de calcio y magnesio usando la espectroscopia de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo *ICP OES* (por sus siglas en inglés).

Por su parte, el contenido de fósforo en la mezcla de ésteres alquílicos proviene de los fosfolípidos y sales inorgánicas presentes en las materias primas de las que se produce el biodiesel. Este elemento puede causar serios daños en los convertidores catalíticos usados en el control de emisiones de las máquinas automotoras; por lo tanto, su contenido debe mantenerse en el nivel más bajo posible⁴⁷. Aunque las concentraciones de este elemento que suelen encontrarse en las mayorías de las muestras de biodiesel no suele exceder el límite máximo permitido de 10 mg Kg^{-1} , es necesario mantener controlado este parámetro. El contenido de fósforo suele medirse de acuerdo a la norma *EN 14107* y, la misma sugiere como técnica para su determinación la técnica de *ICP OES*.



CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El propósito de este trabajo de tesis doctoral ha sido desarrollar métodos de análisis simples, rápidos y económicos, que permitan la determinación de parámetros fisicoquímicos para establecer la calidad del biodiesel (*B100*).

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar muestras de biodiesel *B100* a partir de diferentes aceites vegetales mediante una reacción de transesterificación catalizada por base. Estas muestras, libres de aditivos, serán usadas en la realización de todos los estudios presentados en esta tesis.
- Estudiar el proceso de descomposición del biodiesel en función del tiempo mediante técnicas espectrométricas de análisis y metodologías de oxidación asistida como la sonodegradación con el fin de determinar la estabilidad oxidativa del mismo.
- Se determinará la concentración de Na, K, Mg, Ca, P y metales pesados en distintas muestras de biodiesel mediante *ICP OES* y la implementación de un nuevo nebulizador basado en la tecnología *Flow Blurring*[®].



CAPÍTULO 3

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL (*B100*) A ESCALA LABORATORIO Y CONTROL DE CALIDAD

CAPÍTULO 3. OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL (*B100*) Y CONTROL DE CALIDAD

3.3. Resumen

La transesterificación de ácidos grasos usando metanol y un catalizador alcalino ha sido el método comúnmente empleado en la modificación de aceites vegetales para su implementación como biodiesel en motores de combustión interna. Las variables que intervienen en la reacción de transesterificación de ácidos grasos para la obtención del biodiesel son: tipo de materia prima, alcohol, catalizador y concentración del mismo, entre otras. Las propiedades y la calidad del biodiesel, no solo están determinadas por las variables del proceso de producción sino también por el perfil de ésteres alquílicos de ácidos grasos que componen el biocombustible. En este trabajo se planteó optimizar el proceso de producción de biodiesel *B100* (libre de aditivos) mediante una reacción de transesterificación de aceites vegetales catalizada por base y empleando metanol. Se aplicó un diseño factorial completo, de dos factores y dos niveles, para estudiar las variables tipo de catalizador y concentración del mismo. El diseño aplicado permitió establecer como punto óptimo para la producción de biodiesel a partir de aceite de maíz, KOH 0,4 % p/p; y para la obtención a partir de aceites de girasol, soja y uva, NaOH 1 % p/p. Los valores del porcentaje de rendimiento de la reacción de transesterificación para todos los aceites empleados fueron superiores al 91 %. La calidad de las muestras de biodiesel fue evaluada de acuerdo a los requisitos y métodos de ensayo establecidos en la norma argentina *IRAM 6515-1:2006*, encontrándose que los valores medidos para la densidad, viscosidad y acidez,

estuvieron en concordancia con lo establecido en la norma. No obstante, los valores medidos de estabilidad oxidativa en todas las muestras estudiadas no se ajustan a los límites exigidos por la normativa.

3.4. Introducción

Las diferentes variables involucradas en el proceso de transesterificación de aceites vegetales tales como el tipo de materia prima, alcohol y catalizador, concentración del catalizador, velocidad de agitación y, tiempo y temperatura de reacción, han sido objeto de estudio a lo largo de los años ^{48,49,50}. Muchos autores ya han establecido las condiciones óptimas para ciertas variables del proceso considerando un sistema homogéneo catalítico con un álcali como catalizador, dentro de las cuales podemos encontrar: una temperatura de reacción cercana al punto de ebullición del alcohol usado, un exceso de alcohol para promover una buena reacción (relación molar alcohol/aceite 6:1), e hidróxidos o metóxidos de sodio y potasio como catalizadores con una concentración entre 0,2 a 2 % en peso⁵¹. Las propiedades fisicoquímicas que hacen a la calidad del biodiesel están determinadas, entre otras cosas, por el perfil de ésteres alquílicos de ácidos grasos que lo constituyen, los cuales a su vez vienen determinados por la composición de la materia prima empleada en su

⁴⁸ P. Bondioli, The Preparation of fatty acid esters by means of catalytic reactions, Topics. Catalysis 27 (2004) 77–82.

⁴⁹ H.E. Hoydonckx, D.E. De Vos, S.A. Chavan, P.A. Jacobs, Esterification and transesterification of renewable chemicals, Topics Catalysis 27 (2004) 83–96.

⁵⁰ S. Shah, S. Sharma, M.N. Gupta, Enzymatic transesterification for biodiesel production, Indian J. Biochem. Biophys. 40 (2003) 392–399.

⁵¹ J.M. Dias, M.C.M. Alvim-Ferraz, M.F. Almeida, Comparison of the performance of different homogeneous alkali catalysts during transesterification of waste and virgin oils and evaluation of biodiesel quality, Fuel 87 (2008) 3572–3578.

elaboración. Dentro de las propiedades que establecen la calidad del biodiesel encontramos algunas como la densidad, la viscosidad, la acidez, la estabilidad oxidativa, la concentración de Na, K, P y S, entre otras. La determinación de estos y otros parámetros está regulada por organismos internacionales como la Comisión Europea de Normalización *CEN* (por sus siglas en inglés) y la Sociedad Americana para la Prueba de Materiales *ASTM* (por sus siglas en inglés). Así mismo, en la Argentina, el Instituto Argentino de Normalización y Certificación *IRAM* es el organismo encargado de establecer los requisitos y métodos de ensayo para el biodiesel constituido por ésteres alquílicos de ácidos grasos de origen vegetal, que se comercializa y emplea en el país como combustible para vehículos automotores. Con este fin, dicha organización ha establecido la norma *IRAM 6515-1:2006*, la cual se fundamenta en diferentes documentos normativos de otros organismos internacionales.

En este trabajo se pretende optimizar la producción de biodiesel *B100* (libre de aditivos) a partir de aceites de maíz, girasol, soja y uva mediante una reacción de transesterificación usando metanol y un catalizador alcalino. Para tal fin se hará uso del diseño experimental y, además, se evaluarán algunas propiedades fisicoquímicas que establecen la calidad del biocombustible.

3.5. Experimental

3.5.1. Materiales y reactivos

Con el fin de evitar cualquier tipo de contaminación y garantizar la calidad del proceso de producción de las muestras de biodiesel a escala laboratorio, nos aseguramos que todos los materiales usados en la manipulación, preparación y almacenamiento de reactivos estuvieran debidamente limpios mediante el lavado con una solución de ácido nítrico al 10 % (v/v) seguido de varios enjuagues sucesivos con agua ultra-pura.

Durante el proceso de producción y evaluación de la calidad del biodiesel obtenido en el laboratorio, se emplearon los materiales que se especifican a continuación:

- Erlenmeyer de vidrio de 250 mL (*Pyrex*[®]).
- Ampollas de decantación de 250 mL (*Pyrex*[®]).
- Vasos de precipitados de vidrio de 100 y 250 mL (*Pyrex*[®]).
- Buretas de 25 mL.
- Frascos de vidrio color caramelo de 200 mL.
- Tubos de ensayo de 20 mL.

Los reactivos usados en la producción y refinamiento de las muestras de biodiesel en el laboratorio fueron grado pro-análisis y se detallan a continuación:

- Agua ultra pura calidad *Milli-Q* ($18.3 \Omega \text{ cm}^{-1}$).
- Hidróxido de sodio (*Merck*[®]).

- Hidróxido de potasio (*Merck*®).
- Metanol 99 % (*Merck*®).
- Ácido clorhídrico (*Baker*®).
- Sulfato de sodio anhidro (*Merck*®).

Los aceites comerciales de distintas oleaginosas como girasol, maíz, soja y uva, usados en la producción de biodiesel a escala laboratorio, fueron adquiridos en distintos comercios de la ciudad de Bahía Blanca (Buenos Aires, Argentina) y provistos por empresas oleaginosas de la región (aceite de soja).

3.5.2. Equipos

Los equipos usados para la producción de biodiesel en el laboratorio y el estudio de su calidad, fueron los siguientes:

- Agitador magnético con placa de calentamiento *Cole-Parmer* modelo 4803.
- Termómetro de mercurio convencional de -20 a 300 °C.
- Agitador tipo vortex *Velp Scientifica ZX3 Vortex*.
- Densímetro portátil *Anton Paar* modelo *DMA 35N*.
- Vibro-viscómetro *AND* modelo *SV-10 Series*.
- Baño de agua termostatzado *Cole Parmer* modelo *BT-15*.
- Equipo *Rancimat*® *Metrohm* modelo 743.

3.5.3. Procedimiento

3.5.3.1. Producción de biodiesel a escala laboratorio

La producción de muestras de biodiesel *B100* a escala laboratorio, en condiciones óptimas, se llevó a cabo en dos etapas experimentales continuas, la cuales fueron: (i) la reacción de transesterificación propiamente dicha y, (ii) el refinamiento de las muestras de biodiesel producidas.

(i). Transesterificación de aceites vegetales catalizada por base

La reacción de transesterificación se realizó mezclando 100 g de aceite vegetal con una solución de hidróxido de potasio o sodio 0,4 % p/p preparada en metanol. La reacción tuvo lugar en un Erlenmeyer de vidrio de 250 mL durante 60 min, a una temperatura de 50°C y agitando a 600 rpm.

(ii) Refinamiento del biodiesel obtenido mediante transesterificación alcalina

Después de la transesterificación se llevó a cabo el proceso de refinamiento del biodiesel. El producto obtenido a partir de la reacción se transfirió a una ampolla de decantación para dar lugar a la separación de las fases de biodiesel y glicerol. Una vez que el glicerol decantó fue retirado y reservado en un recipiente adecuado para su disposición como residuo. El biodiesel separado del glicerol se transfirió a un vaso de precipitados de 250 mL para facilitar la evaporación del metanol remanente. Dicha evaporación se llevó a cabo agitando y calentando a 60°C durante 30 min. Terminada la evaporación del metanol se procedió a neutralizar los restos de catalizador (KOH/NaOH) usando 100 mL de una

solución de ácido clorhídrico 0,25 M seguido por lavados sucesivos con agua *Mili-Q* hasta que el pH del agua de lavado alcanzara la neutralidad. La solución de ácido clorhídrico y el agua lavado del biodiesel se mantuvieron a 60°C para bajar la viscosidad del biodiesel y así facilitar la remoción de residuos. Después del lavado se evaporaron los restos de agua mediante el calentamiento del biodiesel a 110°C durante 60 min y agitando a 300 rpm. Luego de la evaporación del agua y una vez enfriado el biodiesel, este se transfirió a un Erlenmeyer de 250 mL; y agregando 20 g de sulfato de sodio anhidro se lo conservó en la oscuridad durante 6 h. Pasado este tiempo, el biodiesel fue filtrado por gravedad usando un embudo y papel filtro adecuados; luego se lo almacenó en un frasco de vidrio color ámbar, se lo pesó y reservó en un lugar fresco y oscuro para su posterior análisis.

3.5.3.2. *Control de calidad del biodiesel producido a escala laboratorio*

Los métodos usados para establecer la calidad de las muestras de biodiesel producidas en el laboratorio se realizaron de acuerdo a la norma argentina *IRAM 6515-1:2006*. Los análisis fisicoquímicos realizados a las muestras obtenidas fueron la determinación de: (i) la densidad a 15°C, (ii) viscosidad cinemática a 40°C, (iii) el valor de acidez y, (iv) la estabilidad oxidativa mediante el método *Rancimat*[®].

(i). *Determinación de la densidad a 15°C*

La densidad de las muestras de biodiesel fue medida utilizando un densímetro portátil (Figura 9). Se tomaron 10 mL de cada una de las muestras de biodiesel almacenándolas en tubos de ensayo de 20 mL y manteniéndolas en un baño de agua con

hielo a 15°C. Se procedió a llenar la celda de medición en el interior del densímetro portátil con 2 mL de la muestra de biodiesel a analizar. La muestra se introdujo en el interior de la celda de medición del equipo haciendo uso de la bomba manual (tipo jeringa) con la que viene equipada el densímetro portátil.



Figura 9. Densímetro portátil marca Anton Paar modelo DMA 35N.

(ii). Determinación de la viscosidad cinemática a 40°C

La viscosidad cinemática de las muestras de biodiesel fue medida empleando un vibro-viscosímetro (Figura 10 A). Se tomaron cantidades de 150 mL de cada una de las muestras de biodiesel, almacenándolas en frascos de vidrio color ámbar de 200 mL y manteniéndolas en un baño termostatzado a 40°C. Se procedió a depositar por vertido, 40 mL de la muestra a analizar dentro de la celda de medición del viscosímetro hasta la marca señalada (Figura 10 B). Una vez vertida la muestra dentro de la celda, se procedió a sumergir dentro de la misma el vibro-sensor para después registrar la medida de viscosidad mostrada en la pantalla del equipo.

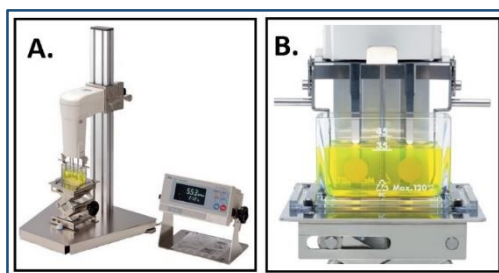


Figura 10. Viscómetro marca **AND** modelo **SV-10 Series**.

(iii). Determinación del valor de acidez

El valor de acidez, expresado como la cantidad en mg de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para neutralizar la cantidad de ácidos grasos libres presentes en 1 g de muestra de biodiesel, fue determinado según el método titrimétrico sugerido para la determinación de ácidos grasos libres en aceites refinados de la AOAC (del inglés *Association of Official Agricultural Chemists*), método oficial No. 940.28.⁵² Se tomaron 50 mL de etanol en un recipiente seco y limpio de 150 mL, y se adicionaron 2 mL de fenolftaleína. Se colocó el recipiente en un baño de agua a una temperatura entre 60-65°C y se adicionó suficiente cantidad de NaOH 0,1 M para desarrollar un color rosado ligero. Se pesaron 56,4 g de la misma muestra de biodiesel en el etanol neutralizado y se tituló con NaOH 0,1 M, calentando ocasionalmente y agitando vigorosamente hasta que el mismo color rosado aparezca en el sobrenadante del recipiente con el etanol y la muestra.

⁵² AOAC International (Association of Official Agricultural Chemists) Official Method 940.28, Fatty Acids (Free) in Crude and Refined Oils, Titration Method, First Action 1940, Final Action, EE.UU., 1999.

(iv). Determinación de la estabilidad oxidativa mediante el método *Rancimat*[®]

La estabilidad oxidativa de las muestras de biodiesel se realizó mediante la aplicación del método *Rancimat*[®], sugerido como método oficial en la norma europea *EN 14112*⁵³, usando un equipo *Rancimat*[®] (Figura 11). El método se llevó a cabo utilizando $3,00 \pm 0,01$ g de muestra de biodiesel, calentándola a 110°C , y usando un flujo de aire de 10 L h^{-1} . El método se basa en la determinación conductimétrica de los productos volátiles de la degradación térmica del biodiesel y del registro automático de los mismos en función del tiempo.



Figura 11. Equipo *Rancimat*[®] marca Metrohm modelo 743.

3.6. Resultados y discusión

La producción de muestras de biodiesel *B100* (libre de aditivos) en el laboratorio en condiciones experimentales óptimas, se llevó a cabo mediante una reacción de transesterificación catalizada por base a partir de aceites de girasol, maíz, soja y uva, empleando metanol e hidróxido de potasio o sodio. Sin embargo, para encontrar las condiciones experimentales óptimas en las que se llevaría a cabo la reacción de

⁵³ EN 14112 – Fat and oil derivatives, Fatty Acid Methyl Esters (FAME), Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test), European Committee for Standards (CEN), Belgium, 2003.

transesterificación, se hizo uso del diseño experimental como técnica estadística para evaluar el efecto de las variables involucradas en dicha reacción sobre el rendimiento de la misma. Para esto, se empleó entonces un diseño factorial completo con dos factores y dos niveles, usando como factor respuesta el porcentaje de rendimiento de la reacción de transesterificación (Tabla 5). Dicho porcentaje se define como la cantidad en gramos de ésteres alquílicos de ácidos grasos producidos a partir de 100 g de aceite.

Las variables estudiadas (factores) mediante la aplicación del diseño factorial completo fueron el tipo de álcali empleado como catalizador (hidróxido de sodio NaOH (-) e hidróxido de potasio KOH (+)), y la concentración de los mismos, 0,4 % (-) (nivel bajo) y 1 % (+) (nivel alto). La concentración del catalizador está expresada en la cantidad de gramos de álcali disueltos en alcohol (metanol) por cada 100 g de aceite. Como materia prima en la reacción de transesterificación usada para la aplicación del diseño factorial completo se empleó aceite de maíz, y se usó metanol por su alta eficiencia de reacción.

Tabla 5. Matriz del diseño factorial completo usada en la optimización de variables involucradas en la producción de biodiesel de aceite de maíz.

Factor		Nivel		Experimento			
Variable	Rotulo	Bajo (-)	Alto (+)	1	2	3	4
C*	A	KOH	NaOH	-	-	+	+
CC** (% p/p)	B	0,4	1	+	-	+	-
Biodiesel conversión (% p/p)				81,2 ± 0,3	95,6 ± 3,4	85,4 ± 1,8	92,0 ± 0,2
*C: Catalizador							
**CC :Concentración del catalizador							

En el estudio realizado para la optimización de las variables: catalizador y concentración del catalizador, los valores de las demás variables involucradas en la transesterificación como el tiempo de reacción, la temperatura de reacción, la velocidad de agitación y la

relación molar metanol-aceite, se mantuvieron constantes según los valores reportados en otros estudios para estas variables (Tabla 6)^{54,55}. Como resultado de la aplicación del diseño factorial completo se obtuvo que los valores óptimos para las variables fueron hidróxido de potasio KOH a una concentración 0,4 % p/p, respectivamente.

Tabla 6. Valores de las variables constantes durante el proceso de producción de biodiesel.

Variabes experimentales	Valor	Variabes experimentales	Valor
Temperatura de reacción	50°C	Relación molar	Metanol/aceite (6:1)
Tiempo de reacción	1 h	Cantidad de aceite vegetal	100 g
Agitación	300 rpm	Cantidad de metanol	20 g

Para evaluar los efectos de los factores y sus interacciones en el diseño de experimentos aplicado en este trabajo, se recurrió a un gráfico de pareto construido con un nivel de confianza del 95 %. El gráfico de los efectos de los factores en función de las variables estudiadas se presenta en la Figura 12.

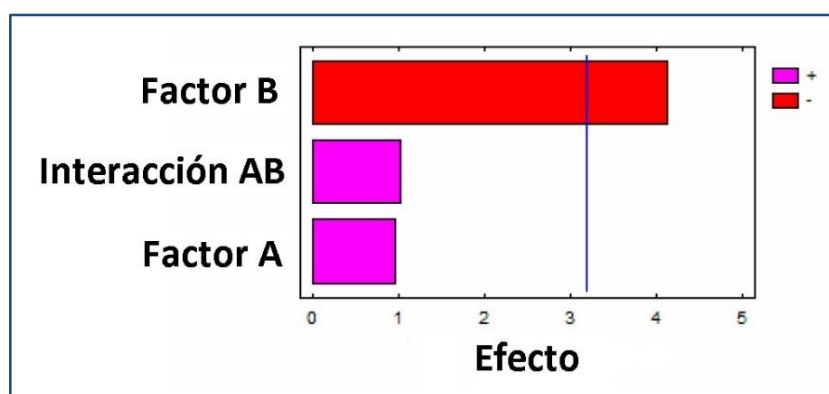


Figura 12. Gráfico de pareto para evaluar los efectos de los factores y sus interacciones en la reacción de transesterificación. (Factor A: catalizador, Factor B: concentración del catalizador).

⁵⁴ C.V. Ferreiro, Dissertação de Mestrado No. 105: Optimização do Processo de Produção de Biodiesel a partir de Óleos de Mamona e Algodão, Universidad Federal de Pernambuco, Centro de Tecnología e Geociências, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Recife, Brasil, 2007. p. 21-29.

⁵⁵ S. M. Hingu, Synthesis of Biodiesel from Waste Cooking Oil Using Sonochemical Reactors, Ultrason. Sonochem. 17 (2010) 827-832.

El gráfico de Pareto en la Figura 12, muestra que la concentración del catalizador empleado en la transesterificación usando metanol tiene un efecto significativo en el rendimiento de dicha reacción. Además, se puede evidenciar que tanto el catalizador usado en la reacción así como la interacción de las variables estudiadas en el diseño, no tienen un efecto significativo en el porcentaje de conversión de triglicéridos a metil ésteres de ácidos grasos. En la Figura 13 se observa que el porcentaje de rendimiento de la reacción de transesterificación de aceite de maíz es el máximo cuando se usa KOH como catalizador a una concentración del 0,4 % p/p. El diseño experimental implementado en la producción de biodiesel a partir de aceite de maíz, fue aplicado a la producción de muestras de biodiesel B100 (libre de aditivos) obtenidas a partir de aceite de girasol, soja y uva. Sin embargo, el mejor rendimiento de la reacción de transesterificación empleando como materia prima estos últimos aceites, se obtuvo cuando se usó 0,4 % p/p de NaOH. Es preciso mencionar, sin embargo, que durante la etapa de refinamiento de las muestras de biodiesel en las que se usó 1 % p/p de NaOH como catalizador, se vio favorecida la saponificación y formación de espuma, situaciones que dificultaban la manipulación del producto durante el proceso.

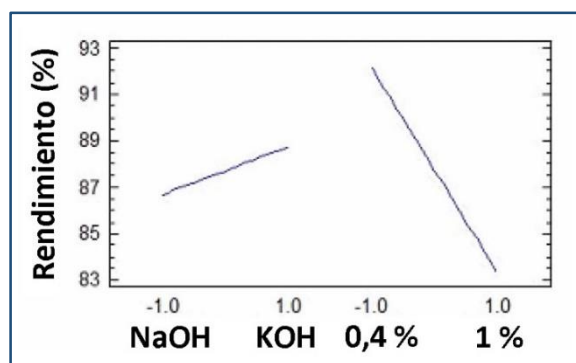


Figura 13. Gráfico para la evaluación del punto óptimo a partir de las variables de proceso estudiadas mediante el diseño factorial completo.

En la Tabla 7 se pueden observar los valores promedio de los resultados obtenidos por triplicado a partir de los análisis fisicoquímicos practicados en las muestras de biodiesel B100 obtenidas a partir de aceites de girasol, soja, uva y maíz. Los valores medidos para las variables densidad y viscosidad cinemática en todas las muestras estudiadas estuvieron dentro del rango de los valores permitidos para estas variables según la norma. En la Tabla 7 se pueden observar también que los valores de acidez medidos en las muestras de biodiesel estudiadas, se encuentran por debajo del límite máximo permitido por la norma argentina IRAM 6415-1:2006.

Tabla 7. Parámetros de calidad evaluados en las muestras de biodiesel B100 de acuerdo a la norma argentina IRAM 6515-1:2006.

Muestra*	Densidad 15 °C (g mL ⁻¹)	Viscosidad cinemática 40 °C (mm ² s ⁻¹)	Estabilidad oxidativa 110 °C (h)	Índice de acidez (mg KOH g ⁻¹)
IRAM 6515-1 Límites	0,875 – 0,900	3,5 – 5,0	Mín. 6	Máx. 0,5
B. girasol	0,908 ±0,009	4,6 ±0,4	0,55 ± 0,11	0,32 ±0,04
B. soja	0,878 ±0,006	4,1 ±0,1	0,60 ± 0,12	0,33 ±0,02
B. uva	0,904 ±0,013	4,3 ±0,4	0,17 ± 0,03	0,45 ±0,04
B. maíz	0,879 ±0,009	3,9 ±0,4	0,35 ± 0,07	0,32 ±0,01

*B: Biodiesel

± %RSD

Los valores de la estabilidad oxidativa medidos en las muestras estudiadas no cumplen con el requisito mínimo de 6 h establecido para tal parámetro en la mencionada norma argentina. Así, la degradación y/o eliminación que pueden sufrir los antioxidantes naturales presentes en los aceites usados en la obtención del biodiesel junto con la ausencia de aditivos como antioxidantes sintéticos, pueden explicar en parte los bajos valores encontrados para la estabilidad oxidativa en las muestras analizadas.

3.7. Conclusión

Se logró la optimización de la producción de biodiesel *B100* a partir de aceites de girasol, maíz, soja y uva mediante una reacción de transesterificación catalizada por base. El estudio de las variables catalizador y concentración del catalizador, usando un diseño factorial completo con dos factores y dos niveles, permitió establecer los valores óptimos para las variables estudiadas. Para la producción de biodiesel a partir de aceite de maíz los valores de las mismas fueron KOH 0,4 %, y para la producción a partir de aceite de girasol, soja y uva, estos fueron NaOH 0,4 %. El proceso optimizado permitió obtener valores del porcentaje de rendimiento de la reacción de transesterificación superiores al 91 %. Las muestras de biodiesel obtenidas mediante el proceso de producción optimizado a través el diseño experimental empleado, fueron analizadas de acuerdo a la norma argentina *IRAM 6515-1:2006*. Los resultados obtenidos a partir del análisis de la densidad, viscosidad cinemática y valor de acidez de las muestras de biodiesel estudiadas, en general, cumplen con los requisitos establecidos en la mencionada norma. No obstante, los valores obtenidos en el análisis de la estabilidad oxidativa evidencian que las muestras de biodiesel sufrieron una pérdida parcial o total del contenido de antioxidantes naturales, haciéndolas más susceptibles a los factores que pueden afectar su estabilidad.



CAPÍTULO 4

MÉTODO DE OXIDACIÓN ACELERADA POR ULTRASONIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL BIODESEL

CAPÍTULO 4. MÉTODO DE OXIDACIÓN ACELERADA POR ULTRASONIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL BIODIESEL



4.1. Resumen

El biodiesel es considerado como una fuente de energía alternativa ya que se produce a partir de grasas animales y aceites vegetales por medio de la transesterificación. Además, está constituido por alquil ésteres de ácidos grasos *FAAE* (por sus siglas en inglés) los cuales determinan sus propiedades combustibles y el tiempo de vida útil del biocombustible durante el almacenamiento. La estabilidad del biodiesel durante el almacenamiento está determinada por un parámetro conocido como estabilidad oxidativa, el cual se evalúa mediante el método *Rancimat*[®] determinando el valor del tiempo de inducción *IT* (por sus siglas en inglés). Este método emplea un sistema de detección conductimétrica e induce la degradación de los *FAAE* calentando la muestra de biodiesel a una temperatura constante. El Comité Europeo de Normalización *ECS* (por sus siglas en inglés) estableció la norma *EN 14214* para la determinación de la estabilidad oxidativa del

biodiesel mediante el método *Rancimat*[®], en un periodo de inducción no inferior a 6 h y calentando a 110°C. En esta investigación se pretendió desarrollar un método alternativo, rápido y simple para la determinación del *IT* mediante la oxidación de los *FAAE* asistida por ultrasonidos. La sonodegradación de las muestras de biodiesel se indujo mediante un homogenizador ultrasónico equipado con una sonda de inmersión a 480 W de potencia y 20 ciclos de trabajo. La espectrometría *UV-Vis* fue usada para monitorear la sonodegradación de los *FAAE*, midiendo la señal de absorbancia a 270 nm cada 2 min. En este trabajo se estudiaron muestras de biodiesel producidas a partir de diferentes materias primas. En todos los casos estudiados, el *IT* fue determinado a través del punto de inflexión de las curvas de absorbancia en función del tiempo. Los valores de *IT* determinados mediante el método propuesto para todas las muestras de biodiesel, estuvieron en concordancia con los valores medidos a través del método de referencia *Rancimat*[®], mostrando una correlación con un $R^2=0.998$.

4.2. Introducción

El biodiesel emerge como un importante combustible alternativo ya que es un combustible natural renovable, no es tóxico, tiene una lubricidad superior, un punto de llama elevado, un número de cetanos más alto que el petrodiesel y un alto contenido de oxígeno. Se ha demostrado que el biodiesel tiene un perfil de emisiones muy bajo, no emite material particulado ni tampoco incrementa los niveles de CO₂ en la atmósfera. El biodiesel se produce a partir de fuentes biológicas renovables tales como aceites vegetales de

distintos tipos de oleaginosas^{56,57}. Además, es altamente biodegradable. Makareviciene and Janulis⁵⁸ demostraron que en comparación con el combustible diesel convencional los ésteres alquílicos provenientes del aceite de colza, los cuales pueden llegar a encontrarse en ambientes acuáticos, son degradados más rápidamente por los microorganismos. Usualmente, el biodiesel se obtiene por medio de la transesterificación de triglicéridos con alcohol y usando un catalizador alcalino para producir ésteres alquílicos de ácidos grasos y glicerol. Además, el proceso de transesterificación es más eficiente cuando se emplea en él un catalizador alcalino⁵⁹.

Las propiedades del biodiesel están fuertemente influenciadas por la estructura y concentración de los ésteres alquílicos de ácidos grasos que lo componen⁶⁰. Sin embargo, cuando se le compara con el petrodiesel, el biodiesel posee una estabilidad oxidativa más baja debido a que posee un contenido de ésteres alquílicos insaturados más alto; especialmente, de ésteres alquílicos de cadena larga poli-insaturados que pueden ser fácilmente oxidados tales como los alquil linoleatos (C18:2) y linolenatos(C18:3)⁶¹. La oxidación del biodiesel es iniciada por un mecanismo radicalario en el cual los radicales libres producen hidroperóxidos y, estos a su vez, generan la formación de ácidos

⁵⁶ A. Bulent Koc, Ultrasonic monitoring of glycerol settling during transesterification of soybean oil, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 19–24.

⁵⁷ E.M. Shahid, Y. Jamal, A review of biodiesel as vehicular fuel, *Renew. Sustain Energ. Rev.* 12 (2008) 2484–2494.

⁵⁸ V. Makareviciene, P. Janulis, Environmental effect of rapeseed oil ethyl ester, *Renew. Energy* 28 (2003) 2395–2403.

⁵⁹ D. Vidya Sagar, S.N. Naik, L.C. Meher, Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review, *Renew. Sustain Energ. Rev.* 10 (2006) 248–268.

⁶⁰ A. Srivastava, R. Prasad, Triglycerides-based diesel fuels, *Renew. Sustain Energ. Rev.* 4 (2000) 111–133.

⁶¹ A. Monyem, H. Van Gerpen, The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions, *Biomass Bioenergy* 20 (2001) 317–325.

carboxílicos, aldehídos y cetonas de cadena corta. En condiciones especiales, también dan lugar a reacciones de polimerización radicalaria formando polímeros insolubles; los cuales dicho ya de paso, pueden causar problemas en el sistema de inyección de los motores de combustión interna. Las reacciones de oxidación afectan las propiedades combustibles del biodiesel, acortando su tiempo de vida útil durante el periodo de almacenamiento, especialmente, si éste es demasiado prolongado. Sin embargo, la degradación temprana del biodiesel puede prevenirse mediante la adición de distintos antioxidantes naturales o sintéticos^{62,63}.

En la última década, la evaluación de la estabilidad oxidativa del biodiesel ha sido especial objeto de estudio. Knothe⁶⁴ ha analizado la composición del biodiesel oxidado mediante la técnica de resonancia magnética nuclear protónica ¹H-NMR (por sus siglas en inglés), evaluando el efecto del contacto del biocombustible con el aire. Dunn^{65,66,67} ha examinado el índice de estabilidad oxidativa *OSI* (por sus siglas en inglés) como parámetro para determinar la estabilidad oxidativa de los metil ésteres de ácidos grasos *FAME* (por sus siglas en inglés) provenientes de cinco fuentes distintas de aceite de soja, las cuales diferían en su tiempo de almacenamiento y el tipo de tratamiento del producto. Además, este

⁶² A.K. Domingos, E.B. Saad, W.W.D. Vechiatto, H.M. Wilhelm, L.P. Ramos, The influence of BHA, BHT and TBHQ on the oxidation stability of soybean oil ethyl esters (biodiesel), *J. Braz. Chem. Soc.* 18 (2007) 416–423.

⁶³ G. Knothe, Some aspects of biodiesel oxidative stability, *Fuel Process. Technol.* 88 (2007) 669–677.

⁶⁴ G. Knothe, Analysis of oxidized biodiesel by 1H-NMR and effect of contact area with air, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108 (2006) 493–500.

⁶⁵ R.O. Dunn, Oxidative stability of soybean oil fatty acid methyl esters by oil stability index (OSI), *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82 (2005) 381–387.

⁶⁶ R.O. Dunn, Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel), *Fuel Process. Technol.* 86 (2005) 1071–1085.

⁶⁷ R.O. Dunn, Oxidative stability of biodiesel by dynamic mode pressurized differential scanning calorimetry (P-DSC), *Trans. ASABE* 49 (2006) 1633–1641.

autor, también ha estudiado el efecto de los antioxidantes sobre la estabilidad oxidativa del metil soyato; y la versatilidad de la calorimetría diferencial de barrido presurizada *P-DSC* (por sus siglas en inglés) con purga positiva de aire en modo dinámico, con el fin de monitorear la reacción de oxidación del biodiesel mediante escaneos calorimétricos no isotérmicos. Polavka et al.⁶⁸ evaluaron la estabilidad de los metil ésteres mediante el análisis térmico diferencial y el método *Rancimat*[®]. Schober y Mittelbach⁶⁹ han evaluado la influencia de los aditivos en el biodiesel sobre el filtro diesel de material particulado *DPF* (por sus siglas en inglés), para determinar la calidad del biocombustible. Liang et al.⁷⁰, estudiaron la eficiencia de varios antioxidantes naturales y sintéticos, en concentraciones entre 250–1000 ppm, con el fin de mejorar la estabilidad oxidativa del biodiesel obtenido a partir de aceites de soja y algodón, grasas de ave y grasa amarilla. Leung et al.⁷¹ evaluaron las características de las reacciones de degradación del biodiesel bajo diferentes condiciones de almacenamiento, temperatura y en diferentes ambientes, evaluándolas en periodos de 52 semanas.

La industria moderna de los biocombustibles requiere del desarrollo de métodos de análisis que sean cada vez más rápidos y simples pero también que sean eficientes en la evaluación de la calidad de sus productos. Como resultado de esta demanda, en 2003, la Comisión Europea para la Estandarización *ECS* (por sus siglas en inglés) estableció la norma *EN 14214*

⁶⁸ J. Polavka, J. Paligová, J. Cvenegroš, P. Šimon, Oxidation of methyl esters studied by differential thermal analysis and *Rancimat*, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82 (2005) 519–524.

⁶⁹ S. Schober, M. Mittelbach, Influence of diesel particulate filter additives on biodiesel quality, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107 (2005) 268–271.

⁷⁰ Y.C. Liang, C.Y. May, C.S. Foon, M.A. Ngan, C.C. Hock, Y. Basiron, The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel, *Fuel* 85 (2006) 867–870.

⁷¹ D.Y.C. Leung, B.C.P. Koo, Y. Guo, Degradation of biodiesel under different storage conditions, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 250–256.

para la determinación de la estabilidad oxidativa del biodiesel, la cual establece un tiempo de inducción mínimo de 6 h evaluado mediante el método *Rancimat*[®] a 110°C. Este método induce la degradación de los *FAME* a través de la oxidación térmica de la muestra de biodiesel a una temperatura constante. Para alcanzar la temperatura de análisis, el equipo *Rancimat*[®], requiere un tiempo mínimo de 60 min. Este consumo de tiempo, y por consiguiente de energía, que requiere dicho instrumento para iniciar la degradación térmica de la muestra, lleva a pensar que se hace necesario implementar métodos alternativos de análisis en los que se empleen fuentes de energía de acción rápida como la energía de los ultrasonidos; esto con el fin de degradar la muestra en un periodo de tiempo más corto.

Por su parte, los ultrasonidos de baja frecuencia, proveen la energía acústica necesaria para originar el fenómeno de cavitación, el cual se genera por pequeños intervalos de tiempo generando grandes cantidades de energía de forma puntual y localizada^{72,73,74}. En la última década, se ha incrementado la aplicación de la energía de ultrasonidos en diversas metodologías analíticas, como la extracción, lixiviación y degradación de analitos orgánicos e inorgánicos, en una amplia variedad de muestras tales como medicamentos y aceites

⁷² T.J. Mason, J.P. Lorimer, *Sonochemistry: Theory, applications and uses of ultra- sound in chemistry*, Ellis Horwood, Chichester, 1989.

⁷³ T.J. Mason (Ed.), *Advances in Sonochemistry*, JAI Press, London, 1993.

⁷⁴ P.R. Gogate, *Adv. Environ. Res.* 62 (2002), 335-354.

comestibles^{75,76,77,78}. Chemat et al., afirman que el calentamiento por efecto de la cavitación puede causar la oxidación de los lípidos a través de la generación de radicales libres creados por sonólisis, fuerzas de cizalla, ondas de choque y microcorrientes⁷⁷. En este sentido, las variables que intervienen en el fenómeno de la cavitación deben tenerse en cuenta en la optimización de la acción de los ultrasonidos para maximizar su efecto según el objetivo que se persiga⁷⁹.

En general, los métodos tradicionales de optimización de variables examinan de forma independiente el efecto de los factores que intervienen en un sistema, imposibilitando así la evaluación de la interacción entre las variables involucradas en un fenómeno y, dificultando la determinación de la significancia estadística de estas interacciones. En este sentido, la quimiometría ofrece una amplia variedad de técnicas estadísticas que permiten el estudio y optimización de las diferentes variables involucradas en los procesos físicos y químicos que se dan durante las diferentes etapas del proceso analítico. La aplicación de estas herramientas quimiométricas en el desarrollo de métodos de análisis permite un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles para la implementación de los mismos tales como tiempo, reactivos, materiales, insumos, energía y trabajo. Dentro de este

⁷⁵ L. Sanchez-Prado, R. Barro, C. Garcia-Jares, M. Llompарт, M. Lores, C. Petrakis, N. Kalogerakis, D. Mantzavinos, E. Psillakis, Sonochemical degradation of triclosan in water and wastewater, *Ultrason. Sonochem.* 15 (2008) 689–694.

⁷⁶ R.J. Emery, M. Papadaki, L.M. Freitas Dos Santos, D. Mantzavinos, Extent of sonochemical degradation and change of toxicity of a pharmaceutical precursor (triphenylphosphine oxide) in water as a function of treatment conditions, *Environ. Int.* 31 (2005) 207–211.

⁷⁷ F. Chemat, I. Grondin, P. Costes, L. Moutoussamy, A. Shum Cheong Sing, J. Smadja, High power ultrasound effects on lipid oxidation of refined sunflower oil, *Ultrason. Sonochem.* 11 (2004) 281–285.

⁷⁸ M.P. Cañizares-Macías, J.A. García-Mesa, M.D. Luque de Castro, Fast ultrasound-assisted method for the determination of the oxidative stability in virgin olive oil, *Anal. Chim. Acta* 502 (2004) 161–166.

⁷⁹ M.D. Luque de Castro, F. Priego-Capote, A. Peralbo-Molina, The role of ultrasounds of analytical derivatizations, *Journal of Chromatography B* 879 (2011) 1189-1195.

conjunto de herramientas quimiométricas encontramos el diseño experimental, una técnica estadística basada en el uso de un conjunto de experimentos en los que se varían de forma aleatoria y simultánea todas las variables (factores) experimentales involucradas en un determinado proceso. Hasta la fecha, se han desarrollado distintos métodos analíticos en los que se emplea el diseño experimental para el estudio de las variables involucradas en la aplicación de la energía de ultrasonidos en diversos procesos^{80,81}.

El objetivo de este estudio fue desarrollar un método alternativo eficiente para evaluar la estabilidad oxidativa del biodiesel. Con este fin, se empleó la acción de la energía de ultrasonidos de baja frecuencia para acelerar la oxidación de los FAAS, en conjunto con la detección por espectrometría UV-VIS para monitorear el proceso de degradación del biocombustible.

4.3. Experimental

Todos los materiales usados en este trabajo, incluyendo aquellos empleados en la manipulación, preparación y almacenamiento de las muestras y soluciones, fueron debidamente descontaminados mediante el lavado con una solución de ácido nítrico al 10% (v/v) seguido de varios enjuagues sucesivos con agua ultra-pura.

⁸⁰ C. Domini, L. Vidal, G. Cravotto, A. Canals, A simultaneous direct microwave/ultrasound-assisted digestion procedure for the determination of total Kjeldahl nitrogen, *Ultrason. Sonochem.* (2009) 564–569.

⁸¹ S.M. Hingu, Synthesis of biodiesel from waste cooking oil using sonochemical reactors, *Ultrason. Sonochem.* 17 (2010) 827–832.

4.3.1. Reactivos

En este trabajo se usaron reactivos grado pro-análisis y agua ultra-pura calidad *Milli-Q* ($18.3 \Omega \text{ cm}^{-1}$). Se prepararon soluciones homogéneas del catalizador; al 0,4 y 1 % p/p diluyendo cantidades apropiadas de hidróxidos de sodio y potasio (*Merck*®) en metanol del 99 % de pureza (*Merck*®). Las soluciones de ácido clorhídrico de concentraciones 0,25 y 0,5 mol L⁻¹ se prepararon diluyendo cantidades adecuadas de ellos en agua ultra-pura. Se utilizó sulfato de sodio anhidro marca (*Merck*®) y etanol del 99,5 % (*Cicarelli*®).

Las muestras comerciales de biodiesel empleadas en el desarrollo de este trabajo fueron adquiridas en dos compañías productoras ubicadas en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Los aceites de girasol, maíz, soja y uva empleados en la producción de las muestras de biodiesel a escala laboratorio se compraron en mercados locales de la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina.

4.3.2. Equipos

El proceso de sonicación se realizó usando un homogenizador ultrasónico (*Cole Parmer*® modelo *4710 Series*) de 20 kHz y 600 W de potencia, equipado con una sonda sumergible de aleación de titanio de 10 mm de diámetro. Se usó vaso cilíndrico de vidrio (*Pyrex*®) de un volumen nominal de 25 mL como sonoreactor. Para homogenizar las soluciones etanólicas de biodiesel se empleó un mezclador tipo vortex *ZX3 Vortex* (*Velp Scientifica*®). Para registrar los espectros de absorbancia se utilizó un espectrómetro *UV-VIS Agilent 8453* en modo estándar (*Agilent Technologies*®) equipado con un arreglo lineal de diodos como detector y una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Para la

determinación del tiempo de inducción de todas las muestras de biodiesel, de acuerdo a la norma europea *EN 14214*, se utilizó un instrumento *Rancimat® Metrohm 743 (Metrohm®)*. Estas mediciones se llevaron a cabo en las instalaciones de la planta piloto de ingeniería química (*PLAQPIQUI*) ubicadas en el centro científico tecnológico de la ciudad de Bahía Blanca (*CCT-UAT-BB*).

Además, la determinación de los productos de degradación del biodiesel se realizó usando un cromatógrafo de gases (*Hewlett-Packard®* modelo *HP6890GC*) acoplado a un espectrómetro de masas equipado con un cuadrupolo (*Hewlett-Packard®* modelo *HP5972A*). El cromatógrafo estaba equipado con una columna capilar de sílice fundido modelo *HP-5MS* de 30 m de longitud; 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μm de espesor. Se empleó como *carrier gas* helio. El espectrómetro de masas fue usado en modo de impacto de electrones a 70 eV. Las muestras fueron inyectadas en modo *splitless* a 280°C. El programa de temperatura empleado fue el siguiente: una temperatura inicial de 150°C por 5 min; calentando a 250°C a un tasa de 4°C min^{-1} y manteniendo la temperatura por 2 min. Los productos de degradación se evaluaron en modo *Scan*.

4.3.3. Procedimiento

10 g de la muestra de biodiesel a analizar, se someten a la acción de los ultrasonidos en condiciones óptimas de sonicación (i.e. 480 W de potencia – 80 % de la potencia total del equipo-, 20 % de los ciclos de trabajo), durante el tiempo necesario hasta alcanzar el punto de máximo cambio en las curvas de absorbancia a 270 nm en función del tiempo para cada una de las muestras analizadas. Durante el periodo de sonicación de la muestra se toman

alícuotas de 25 μL cada 2 min hasta finalizar el periodo de sonicación. Junto con la toma de las alícuotas se hacen simultáneamente las mediciones de temperatura. Posteriormente se preparan diluciones 1:1000 (v/v) de las alícuotas tomadas durante el proceso de sonicación de la muestra. Luego se registran las medidas de absorbancia, a una longitud de onda de 270 nm de cada una de las disoluciones preparadas. Finalmente, a partir de las curvas de absorbancia a 270 nm en función del tiempo se obtiene el tiempo de inducción de la muestra analizada. El tiempo de inducción se alcanza en el punto de inflexión de dichas curvas. El tiempo de inducción indica el punto de máximo cambio en la velocidad de oxidación del biodiesel y está relacionado con el tiempo máximo de almacenamiento o tiempo de vida útil del producto.

En la Figura 14, se esquematizan el sistema y procedimiento usados en el proceso de sonodegradación de las muestras de biodiesel estudiadas en este trabajo para la determinación de la estabilidad oxidativa; en él se pueden observar el homogenizador ultrasónico, la sonda de ultrasonidos, el sonoreactor y el sistema de detección empleados.

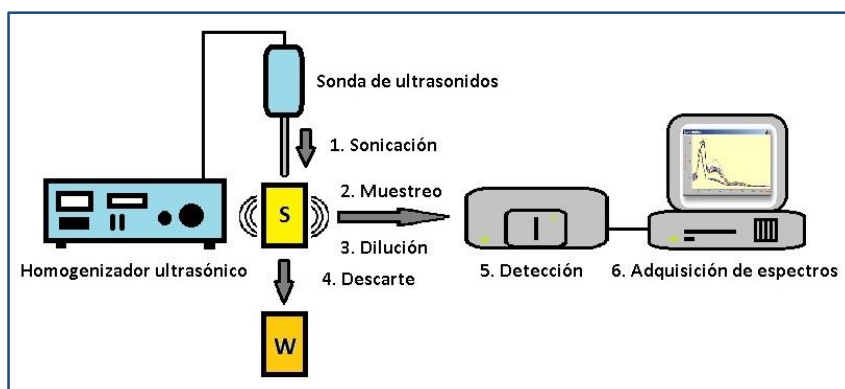


Figura 14 Esquema del sistema y procedimiento empleados en el proceso de sonodegradación de las muestras de biodiesel para la determinación de la estabilidad oxidativa mediante el método propuesto.

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Optimización de las variables experimentales para el estudio de la estabilidad oxidativa

Las variables experimentales involucradas en el proceso de sonicación de las muestras de biodiesel como son: el tiempo de sonicación (t), el porcentaje de ciclos de trabajo (c) y la potencia de sonicación (p), fueron optimizadas con el fin de obtener la mejor respuesta en el proceso de degradación de los metil ésteres de ácidos grasos presentes en las muestras de biodiesel. Como muestra de prueba se eligió una muestra de biodiesel de girasol producida en el laboratorio. La variable respuesta seleccionada fue la señal de absorbancia medida a 270 nm.

El tiempo de sonicación se introdujo en el diseño experimental para determinar los valores óptimos de potencia y ciclos de trabajo. Posteriormente, los valores óptimos de estas variables se mantuvieron constantes mientras que el tiempo de sonicación se varió, durante un periodo considerable de tiempo, con el fin de determinar el tiempo de inducción para cada una de las muestras de biodiesel a analizarse por el método propuesto. Antes de realizar el diseño de experimentos, se realizaron ensayos preliminares en los que se encontró que el tiempo de sonicación, para optimizar las variables potencia y ciclos de trabajo, fue al menos de 8 minutos. Por tanto, hemos incluido en el diseño experimental este valor de tiempo de sonicación; aunque era de esperarse que este valor fuera diferente para cada una de las muestras a ser analizadas.

Para la optimización de variables se empleó un diseño central compuesto circunscrito *DCC*. Los niveles bajo (-1), central (0) y alto (1) de las variables a optimizarse se muestran en la Tabla 1; así como también, los puntos estrella que se encuentran situados en $\pm \alpha$ desde el centro del dominio experimental ubicado en el punto central. El valor de α depende de las propiedades deseadas para el diseño y del número de factores implicados. Con el fin de establecer la capacidad de rotación y ortogonalidad del diseño experimental, se fijó con un valor de $n=9$ y $\alpha=\pm 1,682^{82}$. Así, la matriz general para diseño *DCC* implicó la realización de veintitrés experimentos. La ventaja fundamental de usar este tipo de diseño, fue permitir el estudio simultáneo de los efectos principales y la interacción de los efectos de las tres variables independientes, sobre la variable de respuesta estudiada. Además, se considera apropiado usar diseños experimentales de tres niveles para la exploración de superficies de respuesta de segundo orden y la construcción de modelos polinomiales de segundo orden.

Tabla 8. Diseño experimental usado en la optimización de las variables experimentales de la sonodegradación de biodiesel.

Factor	Dominio experimental					Valor óptimo
	$-\alpha$	-1	0	1	α	
Tiempo de sonicación [min] (t)	1,6	3	5	7	8,4	8,4
Potencia [W] (p)	16	30	50	70	84	80
Ciclos de trabajo [$s \cdot s^{-1}$] (c)	20	35	55	75	90	20

Los veintitrés experimentos fueron realizados en forma aleatoria con el fin de minimizar los efectos de la variabilidad no explicada (debida a factores extraños) sobre la variable

⁸² R.H. Myers and D.C. Montgomery, Response Surface Methodology, Wiley, New York, 2002.

respuesta. El punto central se repitió seis veces para calcular la repetibilidad del método. Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante una prueba ANOVA y los efectos fueron visualizados usando un diagrama de Pareto (Figura 15). La línea vertical que se muestra en el diagrama de Pareto, se corresponde con el límite del 95 % del intervalo de confianza que indica la importancia estadística del factor. Así que si la barra correspondiente a un determinado factor atraviesa esta línea vertical su efecto será estadísticamente significativo.

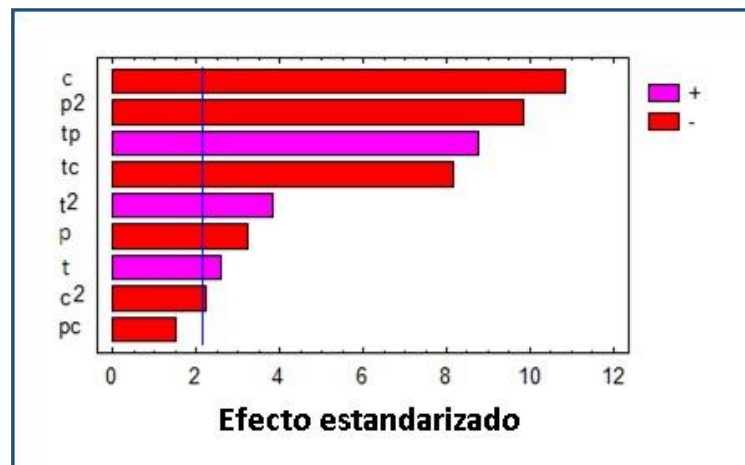


Figura 15. Gráfico de Pareto de los principales efectos estandarizados obtenido a partir del diseño central compuesto. (c: ciclos de trabajo, p: potencia, t: tiempo de sonicación; p^2 , t^2 , c^2 : efectos cuadráticos de las principales variables; tp, tc, pc: interacciones entre las variables).

Como se puede ver en el diagrama de Pareto, las tres variables consideradas fueron significativas con una probabilidad del 95 %. La potencia de trabajo y ciclos de trabajo, mostraron un efecto negativo sobre el proceso de sonodegradación, mientras que el tiempo de sonicación mostró un efecto positivo. Además, la evaluación de los efectos cuadráticos mostrados en la Figura 15, pone de manifiesto que los efectos cuadráticos de la potencia de trabajo (p^2), los ciclos de trabajo (c^2) y el tiempo de sonicación (t^2) fueron

también estadísticamente significativos; además, p^2 y c^2 muestran un efecto negativo y, el tiempo de sonicación (t^2) tiene un efecto positivo durante la sonodegradación. La interacción entre el tiempo de sonicación y la potencia de trabajo (tp) mostró un efecto significativo positivo, mientras que la interacción entre el tiempo de sonicación y los ciclos de trabajo (tc) mostró un efecto significativo negativo. La curvatura exhibida en los gráficos tridimensionales de superficies de respuesta, puede interpretarse como los efectos cuadráticos de las variables independientes. En este sentido, el gráfico mostrado en la Figura 16 es útil en la interpretación de la variación de la señal de absorbancia medida a 270 nm en función del tiempo de sonicación y la potencia de trabajo cuando los ciclos de trabajo se fijan en un valor de 55 s.s^{-1} . En esta figura se puede apreciar que el tiempo de sonicación tiene un efecto positivo sobre la degradación del biodiesel. Las condiciones óptimas para la degradación asistida por ultrasonidos de una muestra de biodiesel de girasol fueron 8 minutos de tiempo de sonicación, 480 W de potencia y 20 ciclos de trabajo (s.s^{-1}).

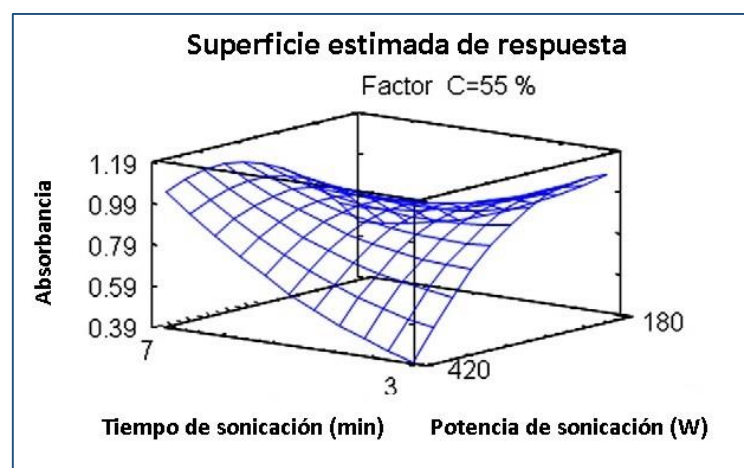


Figura 16. Superficie de respuesta obtenida para el diseño CCD con $p < 0,05$, graficando el tiempo de sonicación vs. la potencia de sonicación. (c: ciclos de trabajo).

4.4.2. Determinación del tiempo de inducción

La determinación del tiempo de inducción de las muestras de biodiesel producidas en el laboratorio a partir de diferentes materias primas, fue realizada en condiciones experimentales óptimas de sonicación; es decir, operando a 20 ciclos de trabajo y 480 W de potencia. Como se puede apreciar en la Figura 17, las bandas de absorbancia a 232 y 270 nm exhiben un comportamiento similar durante el proceso de sonicación, lo cual supone, que el monitoreo del proceso de degradación del biodiesel podría realizarse usando cualquiera de ellas. Sin embargo, el cambio más evidente en el perfil espectral de la muestras se observó a 270 nm. Es por esta razón que se eligió la banda de absorción a 270 nm para hacer la toma de las medidas de absorbancia durante el proceso de sonodegradación que se llevó a cabo por el método propuesto. Además, en dicha figura puede observarse que después de los 12 minutos de sonicación, no hubo un cambio significativo en las medidas de absorbancia a esa longitud de onda.

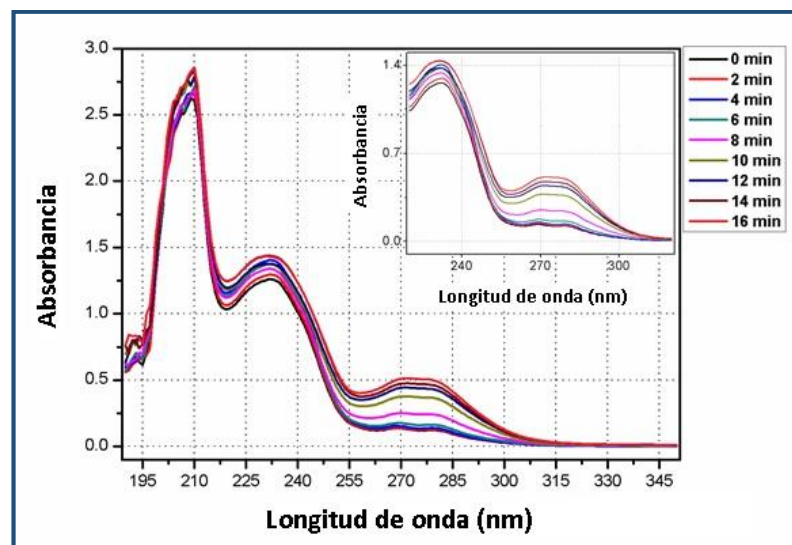


Figura 17. Espectros UV adquiridos cada 2 min durante 16 min en el proceso de sono-oxidación de una muestra de biodiesel obtenida a partir de aceite de girasol.

El aumento gradual y considerable en la señal de absorbancia en la banda de 270 nm puede relacionarse con la aparición y el incremento en la concentración de los productos secundarios generados en la oxidación del biodiesel causada por el efecto de los ultrasonidos. Estos productos secundarios pueden ser ésteres metílicos, ácidos grasos, aldehídos y cetonas de cadena corta. La región espectral de trabajo empleada en el análisis de la estabilidad oxidativa de las muestras de biodiesel estudiadas, comprende el rango de longitudes de onda desde 220-320 nm. La región comprendida entre los 190 y 220 nm no brinda información analítica relevante. Así mismo, la región del espectro visible por encima de los 320 nm tampoco proporciona información relevante ya que no se observan variaciones en las señales de absorbancia a esas longitudes de onda. Es preciso mencionar, que en otras investigaciones, como las desarrolladas por Dantas et al.⁸³ se ha observado el mismo comportamiento espectral en la oxidación térmica de biodiesel (producido a partir de aceite de maíz) inducida a 150°C. En su trabajo, también se evidenció un aumento considerable en las señales de absorbancias a 232 y 272 nm.

Como se observa en la Figura 18, el tiempo de inducción de la muestra de biodiesel, definido como el punto de máximo cambio en la curva de absorbancia a 270 nm, se obtiene a partir del punto de inflexión de la curva sigmoidea en la cual se relaciona la segunda derivada de la curva de absorbancia a 270 nm en función del tiempo. La manera simple y rápida para la determinación el tiempo de inducción del biodiesel es estudiar la variación

⁸³ M.B. Dantas, A.R. Albuquerque, A.K. Barros, M.G. Rodrigues Filho, N.R. Antoniosi Filho, F.S.M. Sinfrônio, R. Rosenhaim, L.E.B. Soledade, I.M.G. Santos, A.G. Souza, Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel, Fuel. 90 (2011) 773–778.

de la señal de absorbancia en función del tiempo a una sola longitud de onda, tal como se sugiere en el método propuesto.

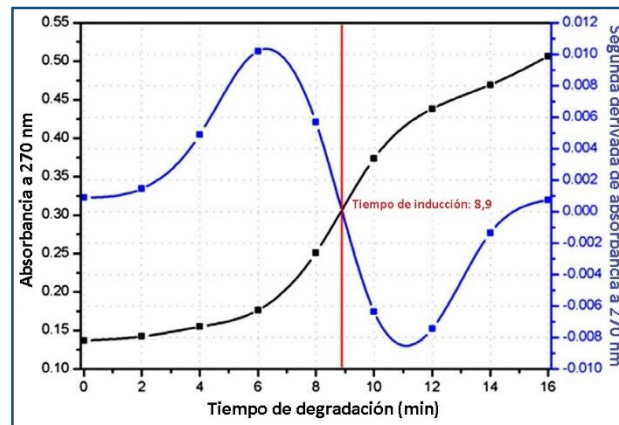


Figura 18. Determinación del punto de inducción mediante la curva de la segunda derivada de la absorbancia a 270 nm.

Otra manera de determinar el tiempo de inducción, es a través de la metodología propuesta por Zawadzki et al.⁸⁴, en la cual se emplea el índice de absorbancia IA como una medida de la forma de la curva de absorbancia y este se define matemáticamente por la ecuación: $IA = 10 E [A_{270nm} - (A_{260nm} + A_{280nm}) / 2]$. Así, para calcular el IA en este trabajo se emplearon las señales de absorbancia a 260, 270 y 280 nm. Como resultado se observó que tanto la curva del IA en función del tiempo así como la curva de absorbancia a 270 nm en función del tiempo, descrita anteriormente, tienen en común una forma sigmoidea que además resulta muy semejante. Por tanto, era de esperarse que los valores de tiempo de inducción estimados a partir de la curva de la segunda derivada del IA en función del

⁸⁴ Zawadzki, D. S. Shrestha, B. He, Biodiesel Blend Level Detection using Ultraviolet Absorption Spectra, American Society of Agricultural and Biological Engineers 50 (2007) 1349-1353.

tiempo, fueran comparables a los obtenidos mediante las curva cinética de absorbancia a una sola longitud de onda; metodología propuesta en esta tesis doctoral.

4.4.3. Degradación de biodiesel inducida por ultrasonidos

Durante los experimentos de sonodegradación del biodiesel realizados en el laboratorio se percibió la aparición de un olor rancio y un cambio gradual del color de la muestra tratada (Figura 19). Los diversos compuestos orgánicos que componen al biodiesel como ésteres alquílicos y ácidos grasos de cadena larga poli-insaturada se ven alterados por el proceso de oxidación debido a los ultrasonidos, dando lugar a diversos productos de degradación como ácidos, aldehídos y cetonas de cadena corta.

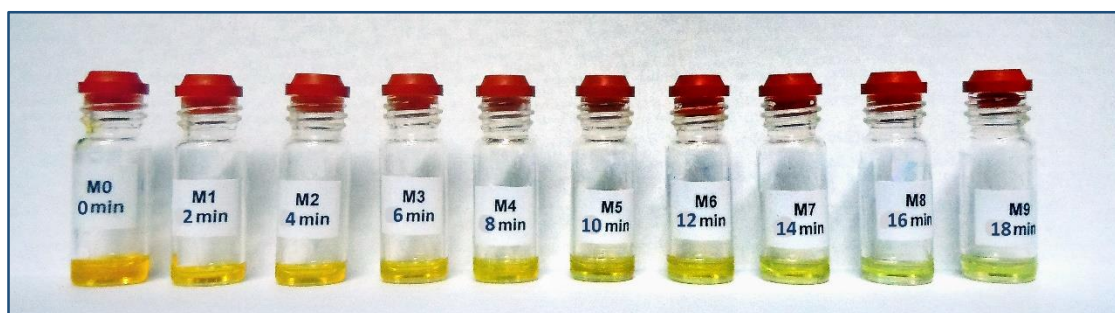


Figura 19. Evolución del cambio de color durante la degradación de una muestra de biodiesel de girasol por acción de los ultrasonidos.

Muchos son los mecanismos que están relacionados con el proceso de oxidación de los ésteres alquílicos y ácidos grasos de cadena larga que poseen dobles enlaces conjugados. Sin embargo, es posible clasificarlos como mecanismos de oxidación primaria y de oxidación secundaria. Los primeros dan lugar a la iniciación, propagación y terminación del mecanismo de oxidación radicalaria. Mediante la cromatografía gaseosa con detección de

espectrometría de masas *GC-MS* (por sus siglas en inglés) fue posible identificar en las muestras de biodiesel del aceite de girasol varios metil ésteres alquílicos de ácidos grasos como el estearato de metilo (C18:0), el oleato de metilo (C18:1), el linoleato de metilo (C18:2 cis 9,12), entre otros. Estudiando las muestras de biodiesel de aceite de girasol en diferentes estadios del proceso de sono-oxidación, se pudo observar que los dobles enlaces que constituían los compuestos originales sufrieron procesos de isomerización tipo cis/trans de las posiciones 9 y 12 a las posiciones 9 y 11, 10 y 13; 8 y 11, 9 y 15; lo cual está en conformidad con lo que se reporta en la literatura⁸⁵. Finalmente, la formación del compuesto 6E,8E-dodecadien-1-ol, corrobora la degradación completa de las muestras por efecto de los ultrasonidos.

4.4.4. Comparación de los resultados obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia *Rancimat*[®]

Los valores de tiempo de inducción obtenidos mediante el método propuesto y los obtenidos a partir del método de referencia *Rancimat*[®] (Tabla 8), fueron contrastados mediante el test estadístico *t-Student* para muestras apareadas con un nivel de confianza del 95%. Se encontró que el valor calculado de *t* fue menor que el valor crítico (*t_c*) para una prueba de dos colas (*t*=1,83; *t_c*=2,36), lo cual muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores del tiempo de inducción para las muestras de biodiesel, obtenidos por ambos métodos con un nivel de significación de $\alpha=0.05$.

⁸⁵ V. Marques Leite dos Santos, J. Angeiras B. da Silva, L. Stragevitch, R. L. Longo, Thermochemistry of biodiesel oxidation reactions: A DFT study, *Fuel* 90 (2011) 811–817.

Tabla 9. Valores de los tiempos de inducción de las distintas muestras de biodiesel obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia *Rancimat*[®].

Muestra	Induction Time (min)	
	Absorbancia a 270 nm	Método <i>Rancimat</i> [®] a 110°C
Biodiesel soja	7 ± 0,4	21 ± 4,2
Biodiesel maíz	10 ± 2,6	36 ± 7,2
Biodiesel uva	5 ± 1,3	10 ± 2
Biodiesel comercial 1	8 ± 1,2	25 ± 5
Biodiesel girasol	9 ± 2,2	33 ± 6,6
Biodiesel comercial 2	11 ± 0,2	43 ± 8,6
Biodiesel comercial 3	60 ± 2,5	349,2 ± 10
Biodiesel comercial 4	96 ± 3,1	523,2 ± 9,4

Los resultados de este estudio muestran que las muestras de biodiesel comerciales 3 y 4, con tiempos de inducción de 349,2 y 523,2 min, respectivamente, podrían tener un alto contenido de ésteres alquílicos de ácidos grasos saturados y/o antioxidantes o bien tener un tiempo menor de almacenamiento. Por su parte, las muestras de biodiesel comercial 1 y 2, con tiempos de inducción de 33 y 43 min, respectivamente, podrían tener un alto contenido de ésteres alquílicos de ácidos grasos poli-insaturados, una baja concentración o ausencia de antioxidantes o bien tener un tiempo de almacenamiento más prolongado.

La Figura 20 muestra la recta de regresión lineal que modela la relación entre los valores de tiempo de inducción de las muestras de biodiesel obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia *Rancimat*[®]. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0,998; indicando una buena correlación entre los valores comparados según el ajuste lineal. La norma *EN 14214* establece un límite mínimo para el tiempo de inducción de una muestra de biodiesel de 6 h (360 minutos), usando el método *Rancimat*[®] a 110°C. Empleando la ecuación de la recta del ajuste lineal establecido entre el método propuesto y el método de referencia (Figura 20), $Y = 3,2823 + 0.1725X$, se pudo establecer que el límite

mínimo para el tiempo de inducción equivalente al establecido en la norma europea es de 65,49 min.

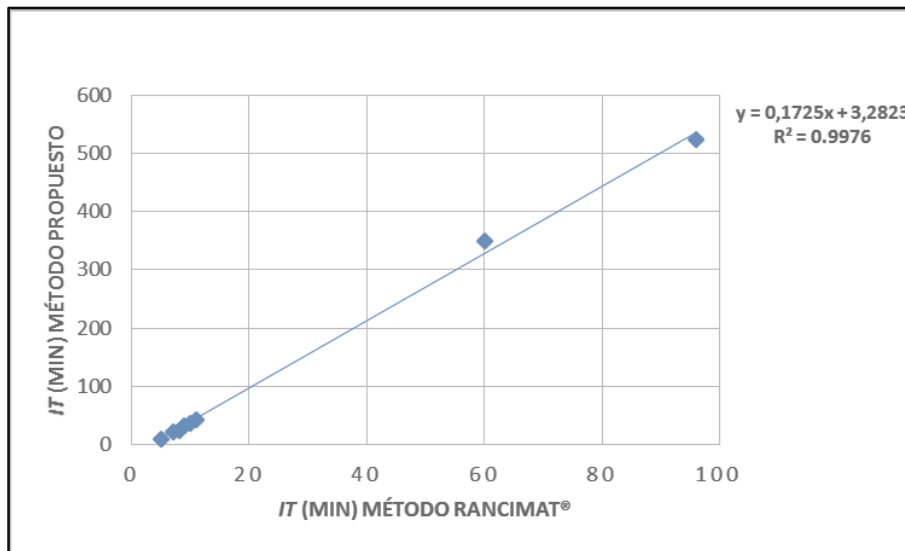


Figura 20. Gráfico de correlación entre los valores de tiempo de inducción obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia *Rancimat*® (IT: Tiempo de inducción).

4.5. Conclusión

La estabilidad oxidativa del biodiesel es un parámetro de calidad que se establece mediante la determinación del tiempo de inducción, el cual está relacionado con el tiempo de vida útil del biocombustible durante su almacenamiento. En este trabajo, se ha desarrollado un método eficiente para la determinación de dicho parámetro de calidad mediante la oxidación acelerada de los *FAME* a través de la acción de la energía de ultrasonidos. El método desarrollado implementa la detección espectrométrica *UV-VIS* para la determinación del tiempo de inducción a través de las medidas de absorbancia a 270 nm tomadas en función del tiempo. Además, se presenta como una alternativa simple, rápida y eficiente, ya que el equipo e instrumental necesarios para su aplicación pueden

encontrarse comúnmente en cualquier laboratorio. Por su parte, los valores del tiempo de inducción de todas las muestras de biodiesel determinados mediante el método propuesto estuvieron en concordancia con los valores medidos mediante el método de referencia *Rancimat*[®]. Finalmente, es importante mencionar que el método propuesto fue útil en la determinación del tiempo de inducción tanto de muestras comerciales de biodiesel como también de aquellas obtenidas a escala laboratorio.

CAPÍTULO 5

ANÁLISIS DE METALES Y FÓSFORO EN
BIODIESEL (*B100*) DE DISTINTO ORIGEN
USANDO UN NEBULIZADOR *FLOW BLURRING*[®]
EN ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA CON
PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO



CAPÍTULO 5. ANÁLISIS DE METALES Y FÓSFORO EN BIODIESEL (B100) DE DISTINTO ORIGEN USANDO UN NEBULIZADOR *FLOW BLURRING*[®] EN ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA CON PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO

Analytica Chimica Acta 827 (2014) 15–21

Contents lists available at ScienceDirect

Analytica Chimica Acta


journal homepage: www.elsevier.com/locate/aca



Analysis of metals and phosphorus in biodiesel B100 from different feedstock using a Flow Blurring[®] multinebulizer in inductively coupled plasma-optical emission spectrometry

Francisco D. Avila Orozco^a, Nikolay Kovachev^b, Miguel Ángel Aguirre Pastor^b, Claudia E. Domini^a, Beatriz S. Fernández Band^a, Antonio Canals Hernández^{b,*}

^a Lab. FIA, Sección Química Analítica, INQUISUR (UNS-CONICET), Universidad Nacional del Sur, Avenida Alem 1253, B8000CPB, Bahía Blanca, Argentina
^b Dpto. Química Analítica, Nutrición y Bromatología e Instituto Universitario de Materiales, Facultad de Ciencias, Universidad de Alicante, Apdo. 99, Alicante, Spain



5.1. Resumen

En este trabajo se propuso el desarrollo de un método simple y rápido para la determinación del contenido de Na, K, Ca, Mg, P y 20 metales pesados en muestras de biodiesel, mediante espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo *ICP OES* (por sus siglas en inglés), usando un multinebulizador *Flow Blurring*[®] prototipo de dos boquillas y la calibración *on-line* por estándar interno. Las muestras estudiadas fueron producidas a partir de distintas materias primas como aceite de girasol, maíz, soja y uva, mediante una reacción de transesterificación catalizada por una base. El análisis de las muestras fue realizado sin necesidad de emplear ningún tipo de

pretratamiento. Los estándares y las muestras fueron introducidos en la cámara de nebulización a través de una de las boquillas del nebulizador, mientras que a través de la segunda boquilla se introdujo una solución acuosa que contenía Itrio como patrón interno. De esta manera fueron compensadas las interferencias espectrales y se previno la formación de depósitos de carbono en la antorcha del *ICP*. Los valores de los coeficientes de correlación (R^2) determinados fueron mayores a 0,99 para todos los analitos estudiados, en el rango de 0,21–14,75 mg kg⁻¹. La precisión a corto y largo plazo fue estimada a través de la desviación estándar relativa. Las mismas fueron aceptables, siendo sus valores inferiores al 10 %. Los límites de cuantificación *LOQ* (por sus singlas en inglés) para los componentes mayoritarios tales como Ca, K, Mg, Na, y P, estuvieron comprendidos en el rango de 4,9 ng g⁻¹ para Mg (279,553 nm) y 531,1 ng g⁻¹ para Na (588,995 nm), y para los otros 20 componentes minoritarios los valores estuvieron en el rango de los 1,1 ng g⁻¹ para Ba (455,403 nm) y 2913,9 ng g⁻¹ para Pb (220,353 nm). Los porcentajes de recuperación para los componentes mayoritarios estuvieron entre un 95 y un 106 %.

5.2. Introducción

Como resultado de la disminución de las reservas mundiales de petróleo y el calentamiento global, el biodiesel ha tomado en los últimos años una importancia creciente como combustible alternativo. Uno de los aspectos más relevantes del biodiesel es el hecho de que se obtiene a partir de materias primas de la biomasa y es por esto que se considera una fuente de energía renovable. Las emisiones originadas por la combustión de este biocombustible están esencialmente libres de compuestos aromáticos, metales pesados

tales como Cd, Co, Cu, Pb, V y Ni, y otros contaminantes como los NO_x y los SO_x que afectan la calidad del aire⁸⁶.

De acuerdo a la norma *ASTM D6751-08*, el biodiesel se define como un combustible compuesto por mono alquil ésteres de ácidos grasos de cadena larga derivados de grasas y aceites vegetales, y es designado como biodiesel *B100*⁸⁷. Usualmente, el biodiesel se obtiene a partir de aceites vegetales por medio de una transesterificación catalizada por bases debido a la alta eficiencia y el bajo costo de este proceso.

La contaminación del biodiesel con metales como Na, K, Ca y Mg, y compuestos azufrados o fosforados, se puede presentar debido al proceso de producción, los reactivos usados en la transesterificación y/o la composición de la materia prima empleada. Estos contaminantes pueden afectar a los componentes del biodiesel y sus propiedades combustibles^{88,89}. Además, estos contaminantes pueden causar la formación de compuestos indeseables que pueden causar el mal funcionamiento de los motores, y en altas concentraciones pueden representar un peligro para el ambiente.

Diferentes organismos y entes gubernamentales alrededor del mundo regulan la calidad de los biocombustibles mediante la implementación de distintas normas. Por ejemplo, la

⁸⁶ C.G. Young, R.S. Amais, D. Schiavo, E.E. Garcia, J.A. Nóbrega, B.T. Jones, Determination of sulphur in biodiesel microemulsions using the summation of the intensities of multiple emission lines, *Talanta* 84 (2011) 995–999.

⁸⁷ ASTM D6751, Standard specification for biodiesel fuel blend stock (*B100*) for middle distillate fuels, 2011.

⁸⁸ M. Edlund, H. Visser, P.J. Heitland, Analysis of biodiesel by argon–oxygen mixed-gas inductively coupled plasma optical emission spectrometry *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 232–235.

⁸⁹ T. Nogueira, C. Lucio do Lago, Determination of Ca, K, Mg, Na, sulphate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection, *Microchem. J.* 99 (2011) 267–272.

norma europea *EN 14214*⁹⁰, la norma americana *ASTM D 6751*⁹¹, y otras como la norma brasileña *PNAr 07/08*⁹² o la norma argentina *IRAM 6515 1:2006*⁹³, describen los requisitos y métodos de ensayo para el control de calidad del biodiesel *B100*. Estas normas establecen los límites máximos para el contenido de Na, K, Ca y Mg en 5 mg kg^{-1} ; así como también el límite máximo para P en 10 mg kg^{-1} . Por otra parte, el límite máximo establecido para el contenido de S según la norma *EN 14214* es de 10 mg kg^{-1} , y según la norma *ASTM D 6751* es de 500 mg kg^{-1} . Las normas antes mencionadas, sugieren el uso de la espectroscopia de absorción atómica en llama *FAAS* (por sus siglas en inglés) o de la espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo *ICP OES*, para la determinación del contenido de Na, K, Ca, Mg, S y P. Por otra parte, la implementación de las normas europeas *EN 14107*, *14108* y *14109*^{94,95,96} requieren el uso de solventes orgánicos como el xileno para la disolución de las muestras de biodiesel; y recomiendan, la determinación del contenido de P mediante *ICP OES*, y de Na y K por espectroscopia de absorción atómica *AAS* (por sus siglas en inglés). Por su parte, la técnica de *ICP OES* presenta la ventaja de permitir el análisis multielemental y además, de ser una técnica altamente sensible. Sin embargo, esta técnica no está exenta de sufrir interferencias y la estabilidad operativa del plasma se ve

⁹⁰ BSI BS EN 14214, Automotive fuels -fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines – requirements and test methods, 2008.

⁹¹ ASTM D6751, Standard specification for biodiesel fuel blend stock (*B100*) for middle distillate fuels, 2011.

⁹² ANP–Agência Nacional de Petróleo. Gás Natural 423 e Biocombustíveis. Resolução No.7 de 19 de março de 2008, Regulamento Técnico. No. 207, Brasília: Diário Oficial d Uniao, 2008.

⁹³ IRAM 6515-1, Calidad de combustibles — Combustibles líquidos para uso en automotores, Biodiesel. Parte 1 Puro (*B100*), 2001.

⁹⁴ BS EN 14107, Fat and oil derivatives, Fatty acid ethyl esters (FAME), Determination of phosphorus content by inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometry, 2003.

⁹⁵ BS EN 14108, Fat and oil derivatives, Fatty acid ethyl esters (FAME), Fat and oil derivatives, Determination of sodium content by atomic absorption spectrometry, 2003.

⁹⁶ BS EN 14109, Fat and oil derivatives, Fatty acid ethyl esters (FAME), Fat and oil derivatives, Determination of potassium content by atomic absorption spectrometry, 2003.

comprometida cuando se introducen en él muestras orgánicas de forma directa. Así, se pueden evidenciar interferencias espectrales tales como la pérdida de radiación y la superposición y/o poca resolución de las líneas espectrales⁹⁷. Además, pueden presentarse interferencias de tipo no espectral, como las que se dan por las diferencias en la nebulización y transporte de la muestra, y las originadas por la desolvatación de los estándares de calibración y de las muestras. Así mismo, la formación de depósitos de carbono en el tubo inyector de la antorcha del *ICP*, es otro de los problemas bastante comunes cuando se analizan muestras orgánicas complejas. Otros inconvenientes que pueden presentarse en el análisis de muestras de biodiesel mediante *ICP OES* son: por una parte, la inestabilidad del analito en las soluciones preparadas en un medio orgánico y, por otra parte, la necesidad de utilizar estándares organometálicos y solventes orgánicos que requieren condiciones especiales de seguridad durante su uso y almacenamiento.

En los últimos años, varios investigadores se han abocado al desarrollo de nuevos métodos para el análisis elemental inorgánico de muestras de biodiesel. El método propuesto por Dos Santos et al.⁹⁸, para la determinación de Ca, P, Mg, K y Na en biodiesel obtenido a partir de distintas materias primas, mediante *ICP OES* en modo de vista axial, se basó en la preparación de las muestras empleando etanol como disolvente. De Jesús et al.⁹⁹, han desarrollado un método para la determinación de Na y K por *FAAS* en muestras de biodiesel

⁹⁷ G.L. Moore, Introduction to Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, Third edition, Elsevier, South Africa, 1989.

⁹⁸ E.J. Dos Santos, A.B. Herrmann, E.S. Chaves, W.W.D. Vechiatto, A.C. Schoemberger, V.L.A. Frescura, A.J. Curtius, Simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry with internal standardization after multivariate optimization, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 1300-1303.

⁹⁹ A. De Jesus, M.M. Silva, M.G.R. Vale, The use of microemulsion for determination of sodium and potassium in biodiesel by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 74 (2008) 1378-1384.

obtenido a partir de distintas fuentes incluyendo aceites vegetales, mediante el uso de microemulsiones inversas de agua en aceite. Paiva de Oliveira et al.¹⁰⁰, desarrollaron un método para la determinación de Na en biodiesel por espectroscopia de emisión atómica en llama *FAES* (por sus siglas en inglés), utilizando la descomposición seca como metodología de pretratamiento de la muestra. Henrique Lyra et al.¹⁰¹, propusieron un procedimiento para la determinación de Na, K, Ca y Mg en muestras de biodiesel por *FAAS*, usando microemulsiones sin tensioactivos como tratamiento preliminar de la muestra. Lobo et al.¹⁰², lograron el desarrollo de un método para la determinación de Ni y Cd en muestras de biodiesel por espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito *GFAAS* (por sus siglas en inglés), empleando microemulsiones como medio de preparación de la muestra. Amais et al.¹⁰³, llevaron a cabo el desarrollo de un método para la determinación de Ca, Mg y Zn en muestras de biodiesel por *FAAS*, que involucró la microemulsificación de las muestras y el uso del modo de aspiración discreta para la introducción de la muestra en el sistema. De Souza et al.¹⁰⁴, evaluaron el desempeño de dos micronebulizadores, *PFA*® y *MiraMist*®, empleando un método para el análisis elemental inorgánico en aceites lubricantes y aceites combustibles residuales por *ICP OES*,

¹⁰⁰ A.P. De Oliveira, R.D. Villa, K.C. Pinheiro Antunes, A. De Magalhaes, Determination of sodium in biodiesel by flame atomic emission spectrometry using dry decomposition for the sample preparation, *Fuel* 88 (2009) 764-766.

¹⁰¹ F. Henrique Lyra, M.T.W. Dias Carneiro, G.P. Brandao, H.M. Pessoa, E.V. De Castro, Determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel samples by flame atomic absorption spectrometry (F AAS) using microemulsion as sample preparation, *Microchem. J.* 96 (2010) 180-185.

¹⁰² F.A. Lobo, D. Goveia, A.P. Oliveira, L.P.C. Romão, L.F. Fraceto, N.L. Dias Filho, A.H. Rosa, Development of a method to determine Ni and Cd in biodiesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Fuel* 90 (2011) 142-146.

¹⁰³ R.S. Amais, E.E. Garcia, M.R. Monteiro, A.R.A. Nogueira, J.A. Nóbrega, Direct analysis of biodiesel microemulsions using an inductively coupled plasma mass spectrometry, *Microchem. J.* 96 (2010) 146-150.

¹⁰⁴ J.R. De Souza, E.F. Dos Santos, C.B. Duyck, T.D. Saint Pierre, Comparison of parallel flow and concentric micronebulizers for elemental determination in lubricant oil, residual fuel oil and biodiesel by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, *Spectrochim. Acta. Part B* 66 (2011) 356-361.

usando diluciones de las muestras en xileno. Empleando un flujo de oxígeno auxiliar para reducir las interferencias espectrales debidas a las bandas de emisión del carbono, los autores lograron mejorar la relación señal ruido en la determinación de Ag, Al, Ba, Cr, Cu, Fe, Mn, Si, Ti y V. Por su parte, el micronebulizador *PFA*® les permitió obtener mayor sensibilidad, mientras que los límites de detección (*LOD*) obtenidos con ambos micronebulizadores fueron comparables. Sin embargo, todos los métodos antes mencionados suponen algunas desventajas desde el punto de vista analítico y ambiental, tales como el empleo de disolventes orgánicos y la implementación de procedimientos complejos necesarios para el tratamiento previo de las muestras de biodiesel, como el uso de diluciones, emulsiones y procesos de descomposición.

Por otra parte, en los últimos años se ha propuesto el uso de nebulizadores múltiples para la introducción simultánea de diferentes muestras y/o reactivos líquidos en el plasma, lo que permite la aplicación de procedimientos de preparación de la muestra dentro de la cámara de nebulización¹⁰⁵. Por su parte, el prototipo original del micronebulizador múltiple de cuatro boquillas basado en el principio de nebulización *Flow Focussing*®, ha evolucionado en un prototipo avanzado basado en la tecnología de nebulización *Flow Blurring*®, el *FBMN* (del inglés *Flow Blurring*® *Multinebulizer*). Este último dispositivo, ha sido implementado en diversos métodos de preparación *in-chamber* de la muestra, como por ejemplo: la calibración por adición estándar en línea para el análisis de muestras

¹⁰⁵ N. Kovachev, B. Almagro, M.A. Aguirre, M. Hidalgo, A.M. Gañán-Calvo, A. Canals, Development and characterization of a Flow Focusing multi nebulization system for sample introduction in ICP-based spectrometric techniques, *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 1213-1221.

orgánicas empleando estándares de calibración acuosos¹⁰⁶, la corrección de los efectos matriz causados por una alta concentración de sales disueltas¹⁰⁷, y la generación de especies volátiles por derivatización¹⁰⁸.

En este trabajo se presenta un diseño evolucionado del *FBMN*. El nuevo prototipo aquí empleado incorpora dos boquillas de nebulización, en contraste con las tres boquillas que poseía el diseño anterior. Esta modificación en el diseño del nebulizador permite el incremento en la presión del gas de nebulización empleando la misma velocidad de flujo; además, se obtienen mejores características operativas y la producción de aerosoles más finos. Otra ventaja de este nuevo prototipo es que puede ser usado en espectrómetros comerciales sin necesidad de utilizar una bomba peristáltica externa o un gas de nebulización suplementario.

Es por tanto el objetivo de este trabajo, proponer una estrategia alternativa para la determinación por *ICP OES* de elementos traza en el biodiesel obtenido a partir de diferentes materias primas, la cual está basada en la implementación de una nueva versión del *FBMN* en el sistema de introducción de la muestra. Este nuevo *FBMN* permite la nebulización simultánea de las muestras no tratadas de biodiesel y el agua; esto con el fin de disminuir el fondo de emisión debido a las bandas *Swan* y prevenir la acumulación de

¹⁰⁶ M.A. Aguirre, N. Kovachev, B. Almagro, M. Hidalgo, A. Canals, Compensation for matrix effects on ICP-OES by on-line calibration methods using a new multi-nebulizer based on Flow Blurring® technology, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1724-1732.

¹⁰⁷ M.A. Aguirre, N. Kovachev, M. Hidalgo, A. Canals, Analysis of biodiesel and oil samples by on-line calibration using a Flow Blurring® multinebulizer in ICP OES without oxygen addition, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 2012-2110.

¹⁰⁸ C.D. Pereira, M.A. Aguirre, J.A. Nóbrega, M. Hidalgo, A. Canals, Aerosol generation of As and Se hydrides using a new Flow Blurring® 473 multiple nebulizer for sample introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Microchem. J.* 112 (2014) 82-86.

depósitos de carbono en el inyector de la antorcha del ICP. En comparación con otras aplicaciones previamente publicadas de versiones más tempranas del FBMN para el análisis de muestras de biodiesel mediante calibración *in-chamber* por adición estándar, la metodología propuesta en este trabajo es una alternativa simple que permite mantener los beneficios antes mencionados sobre la nebulización simultánea de muestras orgánicas y agua, y a la vez conlleva un mejor aprovechamiento de la muestra.

5.3. Experimental

5.3.1. Reactivos

Todos los reactivos usados en el desarrollo de este trabajo fueron grado pro-análisis, y se especifican a continuación:

- Agua ultra-pura ($18.3 \Omega \text{ cm}^{-1}$).
- Ácido nítrico (*Suprapur*® 65 %) (*Merck*®).
- Estándar monoelemental de Itrio (*Certipur*® 1000 mg L⁻¹) (*Merck*®).
- Solución ácida del estándar interno de Itrio de 1 mg L⁻¹ preparada por dilución a partir de la solución del estándar interno de Itrio de 1000 mg L⁻¹ en un solución de ácido nítrico al 1 %.
- Solución estándar multielemental *Conostan S-21* de 500 µg g⁻¹ de Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V y Zn, mezclados en un blanco oleoso de 75 cSt (*SCP Science*®).

- Solución estándar de potasio *Conostan K* de 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ de K, mezclado en un blanco oleoso de 75 cSt (*SCP Science*®).
- Base oleosa *Conostan Base Oil* de 75 cSt (*SCP Science*®).
- Blanco certificado de la matriz de biodiesel, usado como blanco en la calibración (*Spex CertiPrep*®).
- Material certificado de referencia de biodiesel con 5 elementos (NIST SRM: 1085b), conteniendo 9,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 1\%$) de Ca, Mg y P; y 10,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 1\%$) de K y Na (*Spex CertiPrep*®).
- Soluciones estándar organometálicas preparadas por dilución a partir de los estándares *Conostan S-21* y *Conostan K* en el blanco certificado de la matriz de biodiesel *Spex CertiPrep*, en un rango de concentraciones de 0,2 a 14,7 $\mu\text{g g}^{-1}$.

5.3.2. Muestras

Se emplearon 14 muestras de biodiesel producidas a partir de aceite de girasol, maíz, soja y uva, en el laboratorio *FIA* del *INQUISUR-UNS-CONICET-BB*. Otras muestras de biodiesel fueron compradas a distintas empresas productoras en Argentina.

El proceso de obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales mediante una transesterificación catalizada por base y los métodos aplicados para establecer los parámetros de calidad del biodiesel de acuerdo a la norma argentina *IRAM 6515:1-2006*,

tales como: la densidad, la viscosidad cinemática, el índice de acidez y la estabilidad oxidativa fueron publicados en un trabajo anterior¹⁰⁹.

5.3.3. Instrumental

Se empleó un espectrómetro de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo en modo axial *Agilent 720 ES*. Los parámetros instrumentales de operación se encuentran registrados en la Tabla 10. Las siguientes longitudes de onda fueron seleccionadas para medir las señales de emisión de los analitos: 328,068 nm para Ag; 396,152 nm para Al; 249,772 nm para B; 455,403 nm para Ba; 393,366 nm and 396,847 nm para Ca; 226,502 nm para Cd; 267,716 nm para Cr; 324,754 nm para Cu; 238,204 nm para Fe; 766,491 nm para 769,897 nm para K; 279,553 nm para 280,270 nm para Mg; 257,610 nm para Mn; 202,032 nm para Mo; 588,995 nm y 589,592 nm para Na; 216,555 nm para Ni; 213,618 nm para P; 220,353 nm para Pb; 288,158 nm para Si; 283,998 nm para Sn; 336,122 nm para Ti; 292,401 nm para V y 213,857 nm para Zn. El estándar interno de Itrio fue medido a 360,074 nm. La altura de pico fue usada como criterio para la cuantificación de los analitos. En la homogenización de las soluciones estándar organometálicas y muestras se usó un mezclador tipo vortex *ZX3 Vortex (Velp Scientifica®)*.

¹⁰⁹ F.D. Avila Orozco, A.C. Sousa, C.E. Domini, M.C. Ugulino Araujo, B.S. Fernández Band, An ultrasonic-accelerated oxidation method for determining the oxidative stability of biodiesel, *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (2013) 820–825.

Tabla 10. Parámetros instrumentales para la configuración del equipo de ICP OES.

Parámetro	Valor
Potencia de radiofrecuencia	1,35 KW
Velocidad de flujo del gas del plasma	15 L min ⁻¹
Velocidad de flujo del gas auxiliar	1,5 L min ⁻¹
Velocidad de flujo del gas de nebulización/carrier	0,7 L min ⁻¹
Procesamiento del pico	Altura de pico
Corrección de fondo	2 puntos
Número de réplicas	5
Tiempo de lectura de la réplica	1 s
Velocidad de flujo de la muestra	0,2 mL min ⁻¹
Velocidad de flujo de la solución acuosa de Itrio	0,5 mL min ⁻¹
Tipo de nebulizador	Prototipo de nebulizador <i>Flow Blurring</i> ® de dos boquillas
Cámara de nebulización	Cámara ciclónica de un solo paso de 50 mL

5.3.4. Sistema de introducción de estándares y muestras

El sistema de introducción de estándares y muestras empleado en este trabajo, consiste en el ensamble del nuevo prototipo de nebulizador múltiple de dos boquillas basado en la tecnología *Flow Blurring*® (Figura 21) y una cámara comercial de nebulización ciclónica de un solo paso de 50 mL modelo *Tracy (Glass Expansion Ptr. Ltd.®)*. El *FBMN* prototipo posee dos boquillas de nebulización (o unidades de nebulización tipo *Flow Blurring*®) con dos entradas de líquido separadas y una entrada de gas de nebulización en común; todo esto montado dentro de una estructura cilíndrica de *PTFE* (Figura 21). Los principios hidrodinámicos en los cuales se basa el funcionamiento de las unidades de nebulización

Flow Blurring®, han sido discutidos en trabajos anteriores^{110,111,112,113,114}. Las dimensiones y características físicas del *FBMN* permiten la conexión directa del mismo a diferentes cámaras comerciales de nebulización comúnmente empleadas en instrumentos para *ICP OES*. Las ventajas del prototipo empleado en este trabajo, en comparación a otros multinebulizadores descritos previamente como los de tres y cuatro boquillas^{115,110,111,112,113} son: por una parte, la facilidad de operación, debido a que no es necesario emplear una bomba peristáltica adicional (siendo suficiente la bomba peristáltica del instrumento de *ICP OES*); y por otra parte, el hecho de que permita la división del flujo del gas de nebulización en dos corrientes, lo cual conduce a una mejor nebulización (ya que no se necesita un suministro adicional); y por consiguiente, a un aerosol de mejores características. Para la movilización de los líquidos a través del sistema de introducción se emplearon tubos de bomba para sustancias orgánicas *F-4040-A*, d.i. 0.25 mm, marca *Ismatec*, y para las soluciones acuosas se usaron tubos de bomba *Tygon*® *R-3607*, d.i. 0.51 mm, marca *Ismatec*. En ese estudio también se emplearon dos nebulizadores comerciales:

¹¹⁰ M.A. Aguirre, N. Kovachev, B. Almagro, M. Hidalgo, A. Canals, Compensation for matrix effects on ICP-OES by on-line calibration methods using a new multi-nebulizer based on Flow Blurring1 technology, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1724–1732.

¹¹¹ M.A. Aguirre, N. Kovachev, M. Hidalgo, A. Canals, Analysis of biodiesel and oil samples by on-line calibration using a Flow Blurring1 multinebulizer in ICP OES without oxygen addition, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27 (2012) 2012–2110.

¹¹² C.D. Pereira, M.A. Aguirre, J.A. Nóbrega, M. Hidalgo, A. Canals, Aerosol generation of As and Se hydrides using a new Flow Blurring1 multiple nebulizer for sample introduction in inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Microchemical Journal* 112 (2014) 82–86.

¹¹³ F.D. Avila Orozco, A.C. Sousa, C.E. Domini, M.C. Ugulino Araujo, B.S. Fernández Band, An ultrasonic-accelerated oxidation method for determining the oxidative stability of biodiesel, *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (2013) 820–825.

¹¹⁴ J. Rosell-Llompart, A.M. Gañán-Calvo, Turbulence in pneumatic flow focusing and flow blurring regimes, *Physical Review E: Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics* 77 (2008) 036321/1–03632110.

¹¹⁵ N. Kovachev, B. Almagro, M.A. Aguirre, M. Hidalgo, A.M. Gañán-Calvo, A. Canals, Development and characterization of a flow focusing multi nebulization system for sample introduction in ICP-based spectrometric techniques, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 24 (2009) 1213–1221.

un nebulizador de inyección directa *Vulkan*® marca *Glass Expansion*, y un nebulizador *MicroMist*® (*Glass Expansion Ptr. Ltd.*®).

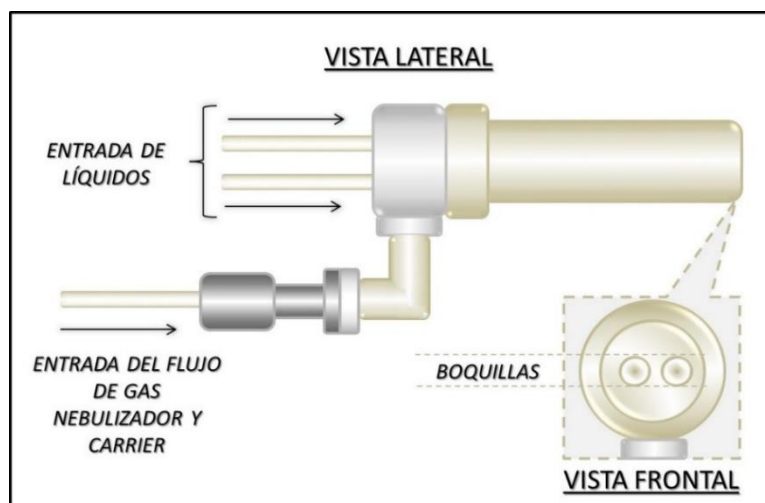


Figura 21. Vistas frontal y lateral del FBMN de dos boquillas.

5.3.5. Procedimiento

Se empleó un método de calibración estándar con adición *on-line* de un estándar interno de Itrio, con el fin de compensar las distintas interferencias en el análisis de las muestras de biodiesel estudiadas. En el conjunto de soluciones de calibración, se emplearon siete soluciones estándar organometálicas multielemento de concentraciones 0,21; 0,54; 1,01; 2,96; 5,76; 12,46 y 14,75 mg Kg⁻¹. El proceso de calibración consistió en la introducción continua de una solución acuosa del estándar interno de Itrio de concentración 1 mg L⁻¹ dentro de la cámara de nebulización, a través de una de las boquillas del nebulizador, mientras que a través de la otra boquilla de nebulización, fueron introducidas consecutivamente cada una de las soluciones estándar. Inmediatamente

después de la calibración se introdujeron en el sistema las muestras de biodiesel a ser analizadas de la misma forma en que se procesaron las soluciones testigo.

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Muestras de biodiesel B100

En este trabajo se analizó un conjunto de catorce muestras de biodiesel B100, dentro del cual se incluyen dos muestras comerciales del biocombustible y doce muestras libres de aditivos (Tabla 11) producidas a escala laboratorio, las cuales fueron obtenidas a partir de diferentes aceites vegetales mediante una reacción de transesterificación usando hidróxido de sodio como catalizador. Los porcentajes de rendimiento de la reacción de transesterificación de los distintos aceites empleados, entendiéndose el rendimiento como el porcentaje de conversión de triglicéridos en ésteres alquílicos de ácidos grasos, estuvieron en un rango del 91 al 96 %. La calidad de las muestras de biodiesel B100 estudiadas en este trabajo se evaluó de acuerdo a los requisitos y métodos de ensayo establecidos en la norma argentina IRAM 6515:1-2006⁹³. En La Tabla 5 se muestran los valores medidos de ciertos parámetros fisicoquímicos que hacen a la calidad del biodiesel, tales como: la densidad, la viscosidad cinemática, el índice de acidez y la estabilidad oxidativa, los cuales fueron evaluados tanto en las muestras de biodiesel B100 producidas a escala laboratorio como en las muestras comerciales. A excepción de los valores de viscosidad cinemática y estabilidad oxidativa que presentaron las muestras S1 y S3, los cuales fueron superiores al límite máximo permitido; en general, se puede apreciar que los

resultados de los demás parámetros de calidad evaluados, se ajustan a los límites establecidos en la norma argentina mencionada con anterioridad⁹³.

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos de calidad de las diferentes muestras de biodiesel.

Muestra	Densidad 15 °C (g mL ⁻¹)	Viscosidad cinemática 40 °C (mm ² s ⁻¹)	Estabilidad oxidativa 110 °C (h)	Índice de acidez (mg KOH g ⁻¹)
Limites	0,875 - 0.900	3,5 - 5.0	Mín. 6	Máx. 0.5
S1—Girasol	0,918	13,1	0,4	0,4
S2—Maíz	0,872	4,2	0,6	0,3
S3—Uva	0,917	12,9	0,4	0,4
S4—Soja	0,870	3,6	2,2	0,3
S5—Compañía 1	0,876	4,7	0,5	0,3
S6—Compañía 2	0,869	3,6	2,0	0,6
S7—Girasol	0,899	4,9	0,4	0,4
S8—Maíz	0,885	3,9	0,6	0,3
S9—Uva	0,891	4,7	0,4	0,4
S10—Soja	0,889	4,4	2,2	0,3
S11—Girasol	0,908	4,6	0,6	0,3
S12—Maíz	0,878	4,1	0,6	0,3
S13—Uva	0,904	4,3	0,2	0,4
S14—Soja	0,879	3,9	0,4	0,3

*IRAM 6515-1

5.4.2. Sistema de introducción de la muestra

Con el fin de seleccionar el sistema de introducción de la muestra más adecuado para la determinación de sodio, potasio, metales pesados, y fósforo en muestras de biodiesel B100 mediante ICP OES; en este trabajo se consideraron tres sistemas diferentes de nebulización. El primer sistema de introducción evaluado, consistía en un nebulizador de inyección directa tipo *Vulkan*® y, el segundo, estaba conformado por un nebulizador microconcéntrico tipo *MicroMist*® acoplado a una cámara de nebulización ciclónica comercial de 50 mL. La implementación de estos dos sistemas de introducción de la muestra en el método propuesto no fue posible debido al surgimiento de ciertos

inconvenientes que suelen presentarse típicamente cuando se introducen muestras orgánicas en el *ICP* tales como la baja estabilidad del plasma, la formación de depósitos de carbono en el tubo inyector de la antorcha del *ICP* y la presencia de interferencias espectrales. Por lo tanto, se propuso la implementación de un tercer sistema de introducción de la muestra que consistía en el empleo de un nuevo prototipo de nebulizador múltiple de dos boquillas basado en la tecnología *Flow Blurring*®, el cual estaba también acoplado a una cámara comercial de nebulización ciclónica de 50 mL. Las ventajas de los sistemas de introducción de la muestra basados en el uso de nebulizadores tipo *FBMN*, han sido ya descritas en publicaciones anteriores^{106,107,108,109}.

En este trabajo se utilizó una nueva versión del nebulizador múltiple *FBMN* de tres boquillas, con el fin de desarrollar un método simple, rápido y robusto para la determinación de metales en muestras orgánicas complejas como el biodiesel sin necesidad de aplicar ningún tratamiento a la muestra previo al análisis. Este método alternativo presenta la ventaja de introducir soluciones orgánicas y acuosas de forma simultánea, lo que permite un aumento de la estabilidad del plasma, la eliminación de interferencias espectrales causadas por las bandas *Swan* y evita la formación de depósitos de carbono en la antorcha del *ICP*.

5.4.3. Cifras de mérito

El desempeño del sistema de introducción de la muestra propuesto en este trabajo, el cual se basa en la implementación de un *FBMN* de dos boquillas y que se usó en el análisis

elemental inorgánico de muestras de biodiesel *B100* mediante *ICP OES*, se evaluó estudiando diferentes cifras de mérito analíticas, tales como: (i) la linealidad, (ii) la precisión, (iii) los límites de detección, cuantificación y el rango lineal.

(i). *Linealidad*

La estimación de la curva de mejor ajuste lineal usando el método de mínimos cuadrados, se aplicó al conjunto de resultados experimentales obtenidos en este trabajo con el fin de evaluar la relación entre las señales de emisión medidas para cada uno de los analitos y las concentraciones de los mismos en las soluciones estándar. La Tabla 12 muestra los valores obtenidos para la pendiente, la ordenada al origen y el coeficiente de determinación (R^2) para cada uno de los analitos estudiados, utilizando un conjunto de soluciones estándar en un rango de concentraciones de 0,21 – 14,75 mg kg⁻¹. Los valores del coeficiente de determinación obtenidos para cada una de las curvas de calibración de los analitos estudiados fueron superiores a 0,998; y los valores de la ordenada al origen estuvieron cercanos a cero exceptuando los valores obtenidos en las curvas de calibración para Ca 393,366 nm y Ca 396,897 nm, los cuales fueron 1,7 y 2,4 cps (ng g⁻¹)⁻¹, respectivamente. Estos resultados indican una linealidad razonable y confirman el hecho de que las curvas de calibración relacionan de forma matemática los valores de la señal analítica medida con la concentración de los analitos en las muestras de biodiesel *B100* estudiadas.

(ii). *Precisión*

En este trabajo se evaluó la precisión a corto- (durante el análisis) y a largo plazo (después de 1 hora) por medio del porcentaje de la desviación estándar relativa *RSD* de un conjunto de mediciones de la señal de emisión adquiridas de forma consecutiva en un período de tiempo específico. Para evaluar así la precisión, se introdujo entonces una solución estándar organometálica multielemental de concentración 1 mg kg^{-1} en el espectrómetro basado en *ICP*. El análisis de esta solución se realizó en intervalos de 8 min durante el análisis de las muestras y cada 2 horas después de finalizado el análisis de las mismas. Los valores de *RSD* que se muestran en la Tabla 12, oscilaron entre un 0,8 % para Cu (324,754 nm) y Fe (238,204 nm) y 5,5 % para P (213,618 nm) en la estimación de la precisión a corto plazo. En la determinación de la precisión a largo plazo los valores de *RSD* rondaron entre un 2,6 % para Pb (220.353 nm) y 8,8 % para P (249,772 nm).

Los valores ponderados de la *RSD* para el método propuesto fueron de 1,9 % y 4,1 % para las precisiones a corto y largo plazo, respectivamente, a una concentración de 1 mg kg^{-1} , los cuales son más que aceptables en este tipo de análisis. Los valores de *RSD* obtenidos para la estimación de las precisiones a corto y largo plazo en la determinación de fósforo, a la misma concentración, son considerablemente más altos que los valores medios de *RSD* del conjunto de medidas, lo que muestra que el método propuesto proporciona resultados lo suficientemente precisos en el análisis de fósforo en biodiesel.

Los valores promedio de *RSD* de todo el conjunto de medidas, estuvieron cercanos a un 3 % de *RSD*, lo cual se considera aceptable cuando se analizan matrices orgánicas complejas

que presentan bajas concentraciones de analito y, que además, pueden ocasionar la formación de depósitos de carbono en la antorcha del *ICP* afectando el desempeño del sistema y la precisión del método.

(iii). *Límites de detección, cuantificación y el rango lineal*

La Tabla 6 muestra los valores calculados de los límites de detección (*LOD*) y de cuantificación (*LOQ*) para los distintos elementos estudiados en este trabajo. El *LOD*, se calculó como el producto de tres veces la desviación estándar de un conjunto de 5 mediciones de un blanco certificado de biodiesel; y el *LOQ*, se calculó en base a 10 veces la desviación estándar de 5 mediciones del mismo blanco. Los valores obtenidos para el límite de cuantificación de los principales contaminantes del biodiesel, tales como Ca, K, Mg, Na, y P; oscilaron entre 4,9 ng g⁻¹ para Mg (279,553 nm) y 326,2 ng g⁻¹ para Na (589,592 nm). Es importante destacar que los valores de *LOQ* fueron muy inferiores al límite máximo permitido para estos contaminantes en biodiesel, el cual es de 5000 ng g⁻¹ que es el límite máximo permisible para aquellos contaminantes en biodiesel, según lo establecido en la norma argentina *IRAM 6515-1:2006*⁹³, la norma europea *EN 14214*⁹⁰ y la norma americana *ASTM D 6751*⁸⁷. Los valores de *LOQ* obtenidos para los veinte contaminantes minoritarios analizados estuvieron en un rango entre 1,1 ng g⁻¹ para Ba (455,403 nm) y 2913,9 ng g⁻¹ para Pb (220,353 nm).

El intervalo lineal de un método analítico, estimado por inspección visual, se define como el intervalo que existe entre el valor de concentración más bajo en el que se pueden hacer mediciones cuantitativas del analito en cuestión *LOQ* (por sus siglas en inglés) y el valor de

la concentración en el cual la curva de calibración pierde su linealidad, mismo que se denomina como límite de linealidad *LOL* (por sus siglas en inglés). Como se puede ver en la Tabla 12, los rangos lineales estimados para los diferentes analitos estudiados mediante el método propuesto, tuvieron al menos una diferencia de dos órdenes de magnitud entre el *LOQ* y el *LOL*. El rango lineal más amplio fue el estimado para el caso del Ba, y el más acotado fue para el Pb. Se puede decir entonces, que el método propuesto es limitado en la determinación de concentraciones muy bajas de Pb. Esto se debe en gran medida a la baja sensibilidad de las líneas de emisión de este elemento cuando se analiza por *ICP OES*, situación que se presenta especialmente por las bajas tasas de captación de la muestra que son necesarias para la introducción de matrices orgánicas.

Tabla 12. Parámetros analíticos asociados con la validación del método propuesto.

Línea de emisión	LOD (ng g ⁻¹)	LOQ (ng g ⁻¹)	Corto-plazo RSD %	Largo-plazo RSD %	Rango lineal (ng g ⁻¹)	Pendiente (cps (ng g ⁻¹) ⁻¹) ^a	Ordenada al origen (cps) ^a	R ²
Ag 328,068 nm	3,6	10,9	2,2	3,1	10,9 – 14750,0	0,0812 ± 0,0009	-0,012 ± 0,006	0,9994
Al 396,152 nm	26,9	81,4	3,0	5,0	81,4 – 14750,0	0,068 ± 0,001	0,023 ± 0,004	0,9996
B 249,772 nm	10,3	31,1	1,2	3,1	31,1 – 14750,0	0,0453 ± 0,0004	0,002 ± 0,004	0,9996
Ba 455,403 nm	0,4	1,1	0,9	3,5	1,1 – 14750,0	4,5 ± 0,1	0,7 ± 0,4	0,9994
Ca 393,366 nm	10,6	32,0	0,9	3,7	32,0 – 12460,0	5,2 ± 0,1	1,7 ± 0,5	0,9987
Ca 396,847 nm	19,2	58,2	1,0	3,6	58,2 – 12460,0	8,7 ± 0,1	2,4 ± 0,6	0,9993
Cd 226,502 nm	12,7	38,5	1,3	4,8	38,5 – 14750,0	0,056 ± 0,001	0,004 ± 0,004	0,9995
Cr 267,716 nm	8,6	26,1	1,5	4,2	26,1 – 14750,0	0,058 ± 0,001	0,005 ± 0,004	0,9996
Cu 324,754 nm	2,9	8,9	0,8	3,1	8,9 – 14750,0	0,1127 ± 0,0003	0,001 ± 0,002	0,9999
Fe 238,204 nm	42,0	127,2	0,8	3,0	127,2 – 14750,0	0,0514 ± 0,0004	0,006 ± 0,003	0,9997
K 766,491 nm	16,3	49,5	1,2	3,2	49,5 – 14750,0	0,1092 ± 0,0004	-0,006 ± 0,003	0,9999
K 769,897 nm	25,2	76,3	1,2	4,7	76,3 – 14750,0	0,0711 ± 0,0003	0,014 ± 0,002	0,9999
Mg 279,553 nm	1,6	4,9	3,3	5,1	4,9 – 12460,0	1,18 ± 0,01	0,11 ± 0,05	0,999
Mg 280,270 nm	1,7	5,1	1,4	4,0	5,1 – 12460,0	0,291 ± 0,001	0,015 ± 0,005	0,9999
Mn 257,610 nm	2,4	7,3	1,3	3,8	7,3 – 14750,0	0,297 ± 0,002	0,021 ± 0,017	0,9997
Mo 202,032 nm	58,4	176,9	1,4	3,4	176,9 – 14750,0	0,0129 ± 0,0001	0,0006 ± 0,0004	0,9999
Na 589,592 nm	107,6	326,2	0,9	3,4	326,2 – 14750,0	0,276 ± 0,004	0,167 ± 0,031	0,9992
Ni 216,555 nm	90,4	274,1	2,3	3,4	274,1 – 14750,0	0,0086 ± 0,0001	0,0008 ± 0,0003	0,9999
P 213,618 nm	70,8	214,5	5,5	8,8	214,5 – 14750,0	0,00191 ± 0,00001	0,0004 ± 0,0001	0,9999
Pb 220,353 nm	961,6	2913,9	4,1	2,6	2913,9 – 14750,0	0,00170 ± 0,00001	0,0023 ± 0,0001	0,9998
Si 288,158 nm	81,6	247,3	1,7	5,4	247,3 – 14750,0	0,0116 ± 0,0001	0,033 ± 0,001	0,9995
Sn 283,998 nm	83,0	251,6	2,5	4,0	251,6 – 14750,0	0,00520 ± 0,00004	0,0026 ± 0,0003	0,9997
Ti 336,122 nm	1,5	4,6	2,4	5,1	4,6 – 14750,0	0,245 ± 0,002	0,024 ± 0,015	0,9997
V 292,401 nm	10,7	32,4	1,7	4,2	32,4 – 14750,0	0,0515 ± 0,0003	0,004 ± 0,002	0,9998
Zn 213,857 nm	12,4	37,6	1,2	3,9	37,6 – 14750,0	0,0352 ± 0,0004	0,002 ± 0,003	0,9994

^a ± % RSD

5.4.4. Análisis de materiales de referencia certificados

La veracidad del método propuesto se evaluó mediante el análisis de un material de referencia certificado *CRM* (por sus siglas en inglés) de biodiesel multielemental que contiene Ca, Mg, P, K y Na. La Tabla 13 muestra los resultados obtenidos en el análisis de este material. El *CRM* no fue sometido a ningún tipo de tratamiento previo al análisis por *ICP OES*. Los valores de recuperación oscilaron entre 95 y 106 %, lo que significa que las interferencias por efecto de la matriz no son significativas. La prueba *t-Student* fue empleada para evaluar la hipótesis nula planteada, la cual establece que el método propuesto no está sujeto a errores sistemáticos. Los resultados en la Tabla 13, muestran los valores calculados para el $|t|$ con $n=5$ para todos y cada uno de los analitos presentes en el material de referencia certificado. Estos valores fueron siempre más bajos que los valores críticos para el *t-estadístico* reportado en tablas en la literatura, como $t=2$ al 95 % de nivel de confianza y $n-1=4$, siendo $n-1$ los grados de libertad. Por lo tanto la hipótesis nula no se rechaza y se corrobora que no hay evidencia estadística de errores sistemáticos en un nivel de significación de $\alpha=0,05$.

Tabla 13. Resultados del análisis del material de referencia certificado de biodiesel conteniendo 5 elementos por el método propuesto

Línea de emisión	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a	Valor hallado ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^b	Recuperación (%)	Valores calculados $ t $
Ca 393,366 nm	9,9 ± 0,1	9,9 ± 0,2	100	0,39
Ca 396,847 nm	9,9 ± 0,1	9,9 ± 0,2	100	0,08
K 766,491 nm	10,0 ± 0,1	9,5 ± 0,2	95	2,52
K 769,897 nm	10,0 ± 0,1	9,5 ± 0,2	95	2,49
Mg 279,553 nm	9,9 ± 0,1	9,7 ± 0,3	98	0,88
Mg 280,270 nm	9,9 ± 0,1	9,6 ± 0,2	97	1,43
Na 589,592 nm	10,0 ± 0,1	9,7 ± 0,2	97	2,68
P 213,618 nm	9,9 ± 0,1	10,1 ± 0,3	102	1,41

^a ± 1% Incertidumbre, ^b ± % RSD, ^c Valor crítico *t-estadístico* $t=2,78$ ($n-1=4$, $\alpha=0,05$)

5.4.5. Análisis de muestras reales

Todas las muestras de biodiesel producidas a escala laboratorio y aquellas adquiridas en compañías nacionales que fueron analizadas en este trabajo, se introdujeron directamente en el plasma del espectrómetro sin recurrir a ningún tipo de pretratamiento de la muestra. Las Tabla 14 y 15, muestran los resultados obtenidos a partir del análisis de un conjunto de diferentes muestras de biodiesel producidas a partir de diversas materias primas vegetales. Los nombres de las muestras analizadas, rotuladas como *S#* en las Tablas 14 y 15, se mostraron previamente en la Tabla 11. En general, los valores de concentración para la mayoría de los analitos en casi todas las muestras de biodiesel estudiadas, estuvieron por debajo de los valores de *LOQ* estimados; a excepción de las muestras *S5*, *S13* y *S14*. La exactitud del método propuesto en la determinación de los elementos contaminantes minoritarios en las diferentes muestras de biodiesel, metales pesados fundamentalmente, no pudo ser validada ya que no se disponía de un *CRM* para tal efecto. Sin embargo, en relación a la buena exactitud obtenida en el análisis de los elementos mayoritarios presentes en el *CMR*, se puede considerar que los resultados obtenidos en el análisis de los elementos minoritarios presentes en las diferentes muestras de biodiesel tienen gran importancia desde el punto de vista del análisis cualitativo.

Era de esperarse que los elementos mayoritarios como Na, K, Ca y Mg; y los minoritarios como como Ag, Al, Cu, Cd, Si, Sn, Zn, entre otros; se encontraran en concentraciones muy bajas o debajo del *LOQ* en el análisis de muestras de biodiesel producido a partir de aceites vegetales refinados.

Tabla 14. Resultados obtenidos en el análisis elemental de muestras de biodiesel por ICP OES usando el método propuesto.

Línea de emisión	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a							
	CRM	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Ag 328,068 nm	0,159 ± 0,004	0,190 ± 0,005	0,155 ± 0,001	0,153 ± 0,002	0,158 ± 0,001	0,157 ± 0,002	0,166 ± 0,003	0,159 ± 0,002
Al 396,152 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
B 249,772 nm	0,475 ± 0,004	0,36 ± 0,01	0,204 ± 0,006	0,26 ± 0,03	0,147 ± 0,005	0,153 ± 0,006	0,119 ± 0,008	0,100 ± 0,006
Ba 455,403 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ca 393,366 nm	9,9 ± 0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,6 ± 0,1	<LOQ	<LOQ
Ca 396,847 nm	9,9 ± 0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,0 ± 0,2	<LOQ	<LOQ
Cd 226,502 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Cr 267,716 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Cu 324,754 nm	0,043 ± 0,001	0,028 ± 0,003	0,021 ± 0,002	0,022 ± 0,004	0,022 ± 0,002	0,084 ± 0,003	0,081 ± 0,004	0,030 ± 0,002
Fe 238,204 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,041 ± 0,005	0,36 ± 0,01	<LOQ
K 766,491 nm	9,5 ± 0,2	<LOQ	1,96 ± 0,03	>LOL	<LOQ	0,66 ± 0,2	<LOQ	0,064 ± 0,003
K 769,897 nm	9,5 ± 0,2	<LOQ	1,98 ± 0,04	>LOL	<LOQ	0,7 ± 0,3	<LOQ	0,13 ± 0,01
Mg 279,553 nm	9,7 ± 0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,13 ± 0,09	<LOQ	<LOQ
Mg 280,270 nm	9,6 ± 0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,98 ± 0,08	<LOQ	<LOQ
Mn 257,610 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Mo 202,032 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,020 ± 0,006	<LOQ	<LOQ
Na 589,592 nm	9,7 ± 0,2	0,9 ± 0,1	<LOQ	1,9 ± 0,6	<LOQ	10,1 ± 0,3	<LOQ	<LOQ
Ni 216,555 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
P 213,618 nm	10,1 ± 0,3	<LOQ	0,09 ± 0,04	<LOQ	0,1 ± 0,1	5,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Pb 220,353 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,23 ± 0,32	<LOQ	<LOQ	0,1 ± 0,4
Si 288,158 nm	0,4 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,6 ± 0,1	0,12 ± 0,05	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Sn 283,998 nm	<LOQ	0,09 ± 0,02	<LOQ	<LOQ	0,11 ± 0,05	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ti 336,122 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
V 292,401 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Zn 213,857 nm	0,11 ± 0,01	<LOQ	0,095 ± 0,003	<LOQ	0,07 ± 0,01	0,72 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,022 ± 0,005

^a ± % RSD

Tabla 15. Resultados obtenidos en el análisis elemental de muestras de biodiesel por ICP OES usando el método propuesto.

Línea de emisión	Concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a						
	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14
Ag 328,068 nm	0,154 ± 0,004	0,164 ± 0,004	0,158 ± 0,002	0,152 ± 0,003	0,156 ± 0,003	0,16 ± 0,01	0,155 ± 0,005
Al 396,152 nm	<LOQ	0,04 ± 0,01	0,034 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,28 ± 0,02
B 249,772 nm	0,01 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,143 ± 0,005	0,155 ± 0,005
Ba 455,403 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ca 393,366 nm	<LOQ	0,1 ± 0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02 ± 0,01	0,43 ± 0,02
Ca 396,847 nm	<LOQ	0,12 ± 0,05	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,06 ± 0,01	0,47 ± 0,01
Cd 226,502 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02 ± 0,01	0,040 ± 0,004
Cr 267,716 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Cu 324,754 nm	0,026 ± 0,002	0,225 ± 0,004	0,050 ± 0,004	0,055 ± 0,003	0,082 ± 0,004	0,33 ± 0,01	0,149 ± 0,004
Fe 238,204 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
K 766,491 nm	0,36 ± 0,01	1,10 ± 0,03	1,7 ± 0,1	0,069 ± 0,003	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01
K 769,897 nm	0,42 ± 0,03	1,26 ± 0,03	1,8 ± 0,1	0,22 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,44 ± 0,02	0,46 ± 0,02
Mg 279,553 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12 ± 0,01
Mg 280,270 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,152 ± 0,004
Mn 257,610 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Mo 202,032 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,008 ± 0,03	0,05 ± 0,05	0,06 ± 0,02	0,20 ± 0,02
Na 589,592 nm	<LOQ	1,2 ± 0,1	1,02 ± 0,13	<LOQ	<LOQ	0,68 ± 0,05	<LOQ
Ni 216,555 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,1 ± 0,1	<LOQ
P 213,618 nm	0,1 ± 0,1	<LOQ	0,08 ± 0,05	<LOQ	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,7 ± 0,2
Pb 220,353 nm	<LOQ	<LOQ	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,4	1,6 ± 0,6	1,8 ± 0,2	3,0 ± 0,8
Si 288,158 nm	0,7 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,4 ± 0,2	3,8 ± 0,2	4,6 ± 0,2
Sn 283,998 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ti 336,122 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
V 292,401 nm	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Zn 213,857 nm	0,02 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,053 ± 0,003	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,178 ± 0,02	0,23 ± 0,03

^a ± % RSD

Sin embargo, es necesario mencionar que no es inusual encontrar tales elementos en este tipo de matrices orgánicas, ya que los mismos pueden provenir de los reactivos y materiales usados en el proceso de producción y almacenamiento del biocombustible. La presencia de fósforo en muestras de biodiesel producido a partir de aceites vegetales es totalmente entendible, ya que en dichas materias primas se encuentran presentes sustancias como los fosfolípidos. La norma argentina *IRAM 6515:1-2006*⁹³, la norma europea *EN 14214*⁹⁰, y el norma americana *ASTM D 6751*⁹¹, establecen un límite máximo de $5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ para Na y K, y de $10 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ para fósforo en biodiesel; no obstante, estas normas no establecen límites máximos para elementos como Ca y Mg, y otros como los metales pesados. La Tabla 14 muestra que la concentración de Na encontrada en la muestra S5 no se ajusta al límite máximo permitido por la normativa internacional para este elemento. La elevada concentración de sodio encontrada en la muestra S5, sugiere que la remoción del catalizador durante el refinamiento del biodiesel no fue eficiente.

5.5. Conclusión

El uso del nuevo prototipo de nebulizador *FBMN* de dos boquillas ha probado ser una herramienta útil en el análisis de metales alcalinos, fósforo y metales pesados en muestras de biodiesel obtenidas a partir de diversas materias primas, mediante *ICP OES* usando el método de calibración *on-line* con estándar interno. La implementación de este dispositivo ha permitido la introducción simultánea de una solución acuosa del estándar interno, soluciones estándar y muestras orgánicas, como una estrategia eficiente para evitar la formación de depósitos de carbono y reducir las interferencias espectrales. Se ha logrado

prevenir la consecuente pérdida de precisión y sensibilidad debida a la obstrucción del inyector. Los valores de precisión a corto- y largo plazo estuvieron en el rango de 0,8 y 8,8 % de *RSD*, lo que es usualmente aceptable. La prueba estadística *t-Student* permitió establecer que el método propuesto no presenta evidencias de errores sistemáticos en el análisis de los contaminantes mayoritarios del biodiesel como son Na, K, Ca, Mg y P. Esta prueba también permitió verificar que las diferencias entre los valores de concentraciones experimentales y reales para los componentes mayoritarios no son estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95 %. El nuevo prototipo de nebulizador presentado en este trabajo, ha permitido la introducción directa de estándares orgánicos y muestras de biodiesel sin usar ningún tipo de pretratamiento, lo que hace al método propuesto una alternativa simple, rápida y relativamente barata para el análisis elemental del biodiesel.



CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

- Se logró la optimización de la producción de biodiesel *B100* a partir de aceites de girasol, maíz, soja y uva mediante una reacción de transesterificación catalizada por base. El estudio de las variables catalizador y concentración del catalizador, usando un diseño factorial completo con dos factores y dos niveles, permitió establecer los valores óptimos para las variables estudiadas. Las muestras de biodiesel obtenidas mediante el proceso de obtención optimizado a través el diseño experimental empleado, fueron analizadas de acuerdo a la norma argentina *IRAM 6515-1:2006*. Los resultados obtenidos a partir del análisis de la densidad, viscosidad cinemática y valor de acidez en las muestras de biodiesel estudiadas, cumplen parcialmente con los requisitos establecidos en la mencionada norma.
- Se desarrolló un método eficiente para la determinación de la estabilidad oxidativa del biodiesel *B100* mediante la oxidación acelerada de los *FAME* a través de la acción de la energía de ultrasonidos. El método desarrollado implementa la detección espectrométrica *UV-VIS* para la determinación del tiempo de inducción a través de las medidas de absorbancia a 270 nm tomadas en función del tiempo. Por su parte, los valores del tiempo de inducción de todas las muestras de biodiesel determinados mediante el método propuesto, estuvieron en concordancia con los valores medidos mediante el método de referencia *Rancimat*[®].

- El uso del nuevo prototipo de nebulizador *FBMN* de dos boquillas, ha probado ser una herramienta útil en el análisis de metales alcalinos, fósforo y metales pesados en muestras de biodiesel obtenidas a partir de diversa materias primas, mediante *ICP OES* usando el método de calibración on-line por estándar interno. La implementación de este dispositivo ha permitido la introducción simultánea de una solución acuosa del estándar interno, soluciones estándar y muestras orgánicas, como una estrategia eficiente para evitar la formación de depósitos de carbono y reducir las interferencias espectrales. La prueba estadística de *t-Student* permitió establecer que el método propuesto no presenta evidencias de errores sistemáticos en el análisis de los contaminantes mayoritarios del biodiesel como son Na, K, Ca, Mg y P. El nuevo prototipo de nebulizador presentado en este trabajo ha permitido la introducción directa de estándares orgánicos y muestras de biodiesel sin usar ningún tipo de pretratamiento.



APÉNDICE A

PRODUCTIVIDAD: PRESENTACIONES Y ARTÍCULOS

APÉNDICE A. PRODUCTIVIDAD: PRESENTACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS Y ARTÍCULOS

Congresos nacionales

Sistema de Análisis Flow-Batch con Detección Webcam para la Determinación de Glicerol Total en Biodiesel Mediante una Reacción Enzimática

Francisco D. Ávila Orozco, Marcos Grünhut, Marcelo Pistonesi, Claudia E. Domini, Beatriz S. Fernández Band

VII Congreso Argentino de Química Analítica. Del 01 al 04 de Octubre de 2013, Mendoza, Mendoza, Argentina

Modalidad: Poster

Biodiesel: Estudios Analíticos y Desarrollo de Métodos de Análisis para el Control de la Calidad

Francisco D. Ávila Orozco, Claudia E. Domini, Beatriz S. Fernández Band

Jornadas de Postgrado del Departamento de Química de la Universidad Nacional del Sur. Del 07 al 08 de Marzo de 2013, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

Modalidad: Oral

Determinação da Estabilidade Oxidativa de Biodiesel Utilizando um Sistema Flow-Batch com Detecção WebCam (Imagens Digitais) e Conduítmétrica

Francisco D. Avila Orozco, Renato N. Andrade, Stéfani I.E. Andrade, Marcelo F. Pistonesi, Claudia E. Domini, Mário César U. de Araújo, Beatriz S.F. Band

VII Congreso Argentino de Química Analítica. Del 01 al 04 de Octubre de 2013, Mendoza, Mendoza, Argentina

Modalidad: Poster

Importancia del Nebulizador Utilizado en la Determinación de Metales y Fósforo en Biodiesel mediante Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP OES)

Francisco D. Ávila Orozco, Claudia E. Domini, Beatriz S. Fernández Band, Miguel Ángel Aguirre Pastor, Nikolay Kovachev, Antonio Canals

VI Congreso Argentino de Química Analítica. Del 26 al 29 de Septiembre de 2011, Santa Fe, Santa Fe, Argentina

Modalidad: Poster

Biodiesel: Estudios Analíticos y Desarrollo de Métodos de Análisis para el Control de la Calidad

Francisco D. Ávila Orozco, Claudia E. Domini, Beatriz S. Fernández Band

Jornadas de Postgrado del Departamento de Química de la Universidad Nacional del Sur. Del 24 de Febrero al 4 de Marzo de 2011, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

Modalidad: Oral

Estudios de Degradación del Biodiesel Empleando Ultrasonidos

Francisco D. Ávila Orozco, Claudia E. Domini, Antonio C. Sousa, Mário César U. Araújo, Beatriz S. Fernández Band

V Congreso Argentino de Química Analítica. Del 2 al 6 de Noviembre de 2009, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

Modalidad: Poster

Congresos internacionales

Determinación de plaguicidas organoclorados y organofosforados en frutos tropicales por cromatografía de gases con detección de microcaptura de electrones GC-MECD

J.A. Gutiérrez, F.D. Avila Orozco, L.M. León, M.I. Pinzón F., A. Londoño O. y A. García R.

XV Congreso Latinoamericano de Cromatografía y Técnicas Afines (COLACRO) y 7º Congreso Colombiano de Cromatografía (COCOCRO). Del 29 de Septiembre al 3 de Octubre de 2014, Cartagena de Indias, Bolívar, Colombia

Modalidad: Poster

Accelerated Oxidation Methods for Determining the Oxidative Stability of Biodiesel

Francisco D. Avila Orozco Antonio C. Sousa, Claudia E. Domini, Mario Cesar Ugulino Araujo, Beatriz S. Fernández Band

World Congress on Petrochemistry and Chemical Engineering, OMICS. Del 18 de Noviembre al 20 de Noviembre de 2013, San Antonio, TX, USA.

Modalidad: Resumen

Green Synthesis of Biodiesel from Grape Seed Oil using a Carbonbased Solid Catalyst

Francisco David Ávila Orozco, Claudia E. Domini, Beatriz Fernández Band.

The 10th Annual ACS Summer School on Green Chemistry and Sustainable Energy. Del 25 de Junio al 2 Julio de 2012, Golden, CO, USA

Modalidad: Poster

Estudos de Fotodegradação de Biodiesel Empregando Radiação UV e um Sistema Espectrofotométrico UV-VIS en Fluxo

Antonio C. Sousa, Claudia E. Domini, Francisco D. Ávila Orozco, Beatriz S. Fernández Band, Mário César U. Araújo (PQ).

15º Encontro Nacional de Química Analítica y 3er Congreso Iberoamericano de Química Analítica. Del 18 al 23 de Octubre de 2009, Salvador, Bahía, Brasil.

Modalidad: Poster

Publicaciones en revistas de divulgación científica con referato

Analysis of metals and phosphorus in biodiesel B100 from different feedstock using a Flow Blurring® multinebulizer in Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry

Francisco D. Avila Orozco, Nikolay Kovachev, Miguel A. Aguirre, Claudia E. Domini, Beatriz S. Fernández Band, Antonio Canals Hernández

Analytica Chimica Acta, Volume 827, April 2014, 15-21

Impact factor (2012): 4.387

5-Year Impact Factor: 4.344

An Ultrasonic-accelerated Oxidation Method for Determining the Oxidative Stability of Biodiesel*

Francisco D. Avila Orozco Antonio C. Sousa, Claudia E. Domini, Mario Cesar Ugulino Araujo, Beatriz S. Fernández Band

Ultrasonics Sonochemistry, Volume 20, Issue 3, November 2012, 820-825

Impact factor (2012): 3.516

5-Year Impact Factor: 3.708

**Este trabajo fue especialmente seleccionado para ser presentado en forma oral en el World Congress on Petrochemistry and Chemical Engineering, OMICS. Del 18 de Noviembre al 20 de Noviembre de 2013, San Antonio, TX, USA*