



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE SEMILLAS  
DE FRUTOS DE CHIRIMOYA (*Annona cherimola*) Y SU  
TRANSFORMACIÓN A BIODIESEL**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**YANELY ARACELI DE JESÚS ROMERO**



**MÉXICO, D.F.**

**2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: Profesor: ROCIO POZAS HORCASITAS**

**VOCAL: Profesor: LINO JOEL REYES TREJO**

**SECRETARIO: Profesor: BENITO REYES TREJO**

**1er. SUPLENTE: Profesor: JORGE ARTURO ABURTO ANELL**

**2° SUPLENTE: Profesor: LUCIO ANTONIO REYES CHUMACERO**

### **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

- 1) LABORATORIOS 208 Y 111, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FISICOQUÍMICA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
- 2) LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, ÁREA DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE PREPARATORIA AGRÍCOLA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO.

**ASESOR DEL TEMA: BENITO REYES TREJO**

---

FIRMA

**SUPERVISOR TÉCNICO: LUCIO ANTONIO REYES CHUMACERO**

---

FIRMA

**SUSTENTANTE: YANELY ARACELI DE JESUS ROMERO**

---

FIRMA

Este trabajo de tesis generó las contribuciones científicas siguientes:

1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACION DEL ACEITE DE SEMILLAS DE FRUTOS DE CHIRIMOYA (*ANNONA CHERIMOLA*) Y SU TRANSFORMACION A BIODIESEL presentada en el 2do Congreso Nacional de Investigación en Cambio Climático, llevado a cabo los días 15 al 19 de octubre del 2012, el cual se exhibió en la sede de Ciudad Universitaria.
2. Fue presentado con el título OBTENCIÓN Y CARACTERIZACION DEL ACEITE DE SEMILLAS DE FRUTOS DE CHIRIMOYA (*ANNONA CHERIMOLA*) Y SU TRANSFORMACION A BIODIESEL en el 2° Congreso de Ecología y Medio Ambiente del Colegio de Ciencias y Humanidades los días 21 y 22 de marzo de 2013 en las instalaciones del CCH Vallejo.

# ÍNDICE

Índice de Gráficas .....	vi
Índice de Tablas .....	vii
Índice de Figuras .....	viii
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
<b>3. HIPÓTESIS .....</b>	<b>3</b>
<b>4. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
4.1 Problemática energética mundial .....	4
4.2 Problemática energética en México .....	5
4.2.1 Emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en México .....	7
4.3 Energías renovables .....	8
4.4 Biocombustibles .....	10
4.4.1 Primera generación de biocombustibles .....	10
4.4.2 Segunda generación de biocombustibles .....	11
4.4.3 Tercera generación de biocombustibles .....	11
4.4.4 Cuarta generación de biocombustibles .....	11
4.4.5 Ventajas de los biocombustibles .....	11
4.5 Tipos de biocombustibles .....	12
4.5.1 Bioetanol .....	12
4.5.2 Biometanol .....	13
4.5.3 Biobutanol .....	13

4.5.4 Dimetil éter .....	14
4.5.5 Bioturbosina .....	14
4.5.6 Biohidrógeno .....	15
4.6 Biodiesel.....	16
4.6.1 Definición de biodiesel.....	16
4.6.2 Biocombustibles líquidos tipo diesel .....	16
4.7 Materias primas para la obtención de biodiesel .....	17
4.7.1 Aceites comestibles.....	18
4.7.2 Aceites no comestibles.....	19
4.7.3 Residuos sólidos orgánicos.....	19
4.7.4 Aceites residuales .....	20
4.8 Producción de biocombustibles a partir de aceites y grasas .....	20
4.8.1 Dilución.....	22
4.8.2 Microemulsión .....	22
4.8.3 Pirolisis .....	22
4.9 Reacción de transesterificación.....	23
4.9.1 Transesterificación con catalizadores alcalinos.....	24
4.9.2 Transesterificación con catalizadores ácidos .....	25
4.9.3 Transesterificación con catalizadores enzimáticos.....	26
4.9.4 Transesterificación en condiciones supercríticas y asistida por microondas.....	26
4.9.5 Aprovechamiento de la glicerina.....	27
4.10 Propiedades del biodiesel .....	27
4.10.1 Especificaciones estándar para el biodiesel.....	27
4.10.1.1 Densidad relativa .....	30
4.10.1.2 Viscosidad cinemática .....	30

4.10.1.3 Índice de acidez.....	31
4.10.1.4 Índice de yodo .....	31
4.10.1.5 Entalpía de combustión .....	32
4.10.1.6 Punto de inflamación .....	32
4.10.1.7 Número de cetano .....	32
4.10.1.8 Punto de turbidez .....	33
4.10.1.9 Contenido de azufre .....	33
4.10.1.10 Cenizas sulfatadas .....	33
4.10.1.11 Contenido de agua y sedimentos .....	33
4.10.1.12 Estabilidad de biodiesel y uso de antioxidantes .....	34
4.11 Ventajas del uso de biodiesel .....	36
4.11.1 Impacto ambiental .....	37
4.11.2 Costos de producción.....	38
4.12 La chirimoya ( <i>A. cherimola</i> ) como fuente potencial para la producción de biodiesel .....	38
4.12.1 Generalidades del fruto .....	41
4.12.2 Descripción del fruto y semillas .....	41
4.12.3 Composición proximal del fruto y semillas .....	44
4.12.4 Compuestos bioactivos de la semilla .....	46
<b>5. METODOLOGÍA .....</b>	<b>49</b>
5.1 Material vegetal .....	49
5.2 Selección y limpieza de las semillas .....	49
5.3 Determinación de características físicas de las semillas.....	49
5.4 Extracción del aceite de las semillas.....	49
5.5 Obtención de biodiesel a partir del aceite de <i>A. cherimola</i> .....	52

5.6 Caracterización del aceite y biodiesel obtenidos de <i>A. cherimola</i> .....	54
5.7 Tratamiento del bagazo de las semillas con metanol .....	59
5.8 Partición del extracto metanólico (extracción de acetogeninas) .....	60
5.9 Detección de aminoácidos, péptidos y ciclopéptidos en el extracto metanólico .....	62
5.10 Estudio computacional de la reacción de transesterificación .....	65
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>66</b>
6.1 Caracterización física de la semilla de <i>A. cherimola</i> .....	66
6.2 Obtención de los aceites de la semilla de <i>A. cherimola</i> .....	68
6.3 Propiedades del aceite de <i>A. cherimola</i> .....	70
6.4 Reacción de transesterificación para la producción de biodiesel .....	73
6.5 Propiedades del biodiesel obtenido a partir del aceite de <i>A. cherimola</i> .....	76
6.5.1 Perfil de los ésteres metílicos de ácidos grasos .....	76
6.5.2 Densidad Relativa .....	78
6.5.3 Viscosidad cinemática .....	80
6.5.4 Índice de acidez .....	81
6.5.5 Índice de yodo .....	82
6.5.6 Entalpía de combustión .....	83
6.6 Detección de acetogeninas en el bagazo de <i>A. cherimola</i> .....	85
6.7 Detección de péptidos y ciclopéptidos .....	88



6.7.1 Detección de aminoácidos y péptidos mediante CCD. ....	88
6.7.2 Detección de ciclopéptidos mediante CCD .....	90
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>95</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>97</b>
<b>9. ANEXO.....</b>	<b>107</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Producción mundial de petróleo crudo en el año 2010 .....	4
<b>Gráfica 2.</b> Consumo energético por sector en México durante el año 2011 .....	5
<b>Gráfica 3.</b> Consumo de combustibles por sector en México durante el año 2011 .....	6
<b>Gráfica 4.</b> Participación de las energías renovables en el consumo de energía mundial durante 2010 .....	8
<b>Gráfica 5.</b> Producción de energía primaria en México durante el año 2011. ....	9
<b>Gráfica 6.</b> Tamaño y peso de las semillas de <i>A. cherimola</i> y otras especies de la familia Annonaceae. ....	67
<b>Gráfica 7.</b> Rendimiento del aceite de <i>A. cherimola</i> y otras especies vegetales .....	69
<b>Gráfica 8.</b> Densidad a 20°C del biodiesel obtenido de la semilla de <i>A. cherimola</i> y el aceite de canola comparado con el diesel petroquímico. ....	79
<b>Gráfica 9.</b> Disminución del valor de viscosidad cinemática del aceite de <i>A. cherimola</i> . ....	80
<b>Gráfica 10.</b> Viscosidad a 40°C del biodiesel de <i>A. cherimola</i> y de canola comparado con el diesel petroquímico. ....	81
<b>Gráfica 11.</b> Índice de acidez del biodiesel de <i>A. cherimola</i> y de canola. ....	82
<b>Gráfica 12.</b> Índice de yodo del biodiesel de <i>A. cherimola</i> y canola. ....	83
<b>Gráfica 13.</b> Determinación de $\Delta T$ para el cálculo de $\Delta H$ del biodiesel de <i>A. cherimola</i> (maceración). ....	84
<b>Gráfica 14.</b> Entalpía de combustión del biodiesel de <i>A. cherimola</i> y canola comparado con diesel petroquímico.....	84

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ventajas y desventajas de los métodos de producción de biocombustibles a partir de aceites vegetales y grasas (Leung et al, 2010). .....	21
<b>Tabla 2.</b> Especificaciones para biodiesel ASTM D6751-01 (B100). .....	28
<b>Tabla 3.</b> Especificaciones para biodiesel Norma europea EN 14214 .....	29
<b>Tabla 4.</b> Producción de chirimoya ( <i>A. cherimola</i> ) en el modo riego y temporal durante el año 2011 en México .....	39
<b>Tabla 5.</b> Composición proximal de jugo y semilla de <i>A. cherimola</i> . .....	45
<b>Tabla 6.</b> Contenido de ácidos grasos saturados e insaturados de la chirimoya y otras especies vegetales .....	46
<b>Tabla 7.</b> Caracterización física de las semillas de la chirimoya ( <i>A. cherimola</i> ) ....	66
<b>Tabla 8.</b> Rendimiento del aceite de la almendra y cáscara de la semilla de <i>A. cherimola</i> . .....	68
<b>Tabla 9.</b> Determinación de las propiedades del aceite de la semilla de <i>A. cherimola</i> . .....	70
<b>Tabla 10.</b> Propiedades de algunos tipos de aceite vegetal y diesel petroquímico. ....	72
<b>Tabla 11.</b> Condiciones de transesterificación y rendimiento de biodiesel de <i>A. cherimola</i> . .....	75
<b>Tabla 12.</b> Porcentaje de ésteres metílicos de ácidos grasos contenidos en el biodiesel de <i>A. cherimola</i> . .....	76
<b>Tabla 13.</b> Parámetros de calidad del biodiesel de <i>A. cherimola</i> y de canola. ....	78
<b>Tabla 14.</b> Cuantificación del extracto metanólico de la semilla de <i>A. cherimola</i> . .....	85
<b>Tabla 15.</b> Cuantificación de las particiones de acetogeninas de la semilla de <i>A. cherimola</i> . .....	86

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ecuación general de la reacción de catálisis de Fischer- Tropsch	17
<b>Figura 2.</b> Los triglicéridos constituyen principalmente los aceites.....	18
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de descomposición térmica de los ácidos grasos de los aceites.....	23
<b>Figura 4.</b> Reacción de transesterificación alcalina utilizada en la producción de biodiesel.....	24
<b>Figura 5.</b> Reacción de oxidación de un éster. ....	35
<b>Figura 6.</b> Estructura química de algunos antioxidantes sintéticos. ....	36
<b>Figura 7.</b> Ciclo del biodiesel producido a partir de oleaginosas. ....	37
<b>Figura 8.</b> Distribución potencial de la chirimoya ( <i>A. cherimola</i> ) en México. ....	40
<b>Figura 9.</b> Clasificación taxonómica de la <i>A. cherimola</i> . ....	41
<b>Figura 10.</b> Dimensiones físicas de algunas partes de la planta de <i>A. cherimola</i> . ....	42
<b>Figura 11.</b> Formas botánicas de los frutos de chirimoya de acuerdo a su tipo de cáscara. ....	44
<b>Figura 12.</b> Estructura general de una acetogenina	47
<b>Figura 13.</b> Estructura química del ciclopéptido Querimolaciclopeptídeo E, aislado de las semillas de <i>A. cherimola</i> . ....	47
<b>Figura 14.</b> Metodología general de la extracción del aceite de las semillas de <i>A. cherimola</i> y su conversión a biodiesel. ....	51
<b>Figura 15.</b> Equipo utilizado durante la reacción de transesterificación. ....	52
<b>Figura 16.</b> Metodología para la obtención de biodiesel de <i>A. cherimola</i> . ....	53
<b>Figura 17.</b> Medición de la densidad de aceite de <i>A. cherimola</i> con picnómetro. ....	54

<b>Figura 18.</b> Componentes del calorímetro. ....	58
<b>Figura 19.</b> Bomba calorimétrica con la muestra de aceite de <i>A. cherimola</i> . ....	58
<b>Figura 20.</b> Metodología para la obtención de acetogeninas del extracto metanólico. ....	61
<b>Figura 21.</b> Diagrama de detección de péptidos y ciclopéptidos en el extracto metanólico de <i>A. cherimola</i> y sus particiones correspondientes. ....	62
<b>Figura 22.</b> Revelado de placas por aspersion. ....	63
<b>Figura 23.</b> Diagrama de flujo de la síntesis de la 2,5- piperazina dicetona a partir de la glicina. ....	64
<b>Figura 24.</b> Aspecto de las semillas de <i>A. cherimola</i> . ....	66
<b>Figura 25.</b> Aspecto de la reacción de transesterificación del aceite de <i>A. cherimola</i> (extraído por soxhlet) a un tiempo de 60 min. ....	74
<b>Figura 26.</b> Cromatoplaqa correspondiente a la conversión del aceite extraído por Soxhlet (izquierda) y maceración (derecha) a biodiesel por la reacción de transesterificación, Eluyente: Hex/AcOEt/AcOH (9:1:0.1). ....	75
<b>Figura 27.</b> Porcentajes de ésteres metílicos de los ácidos grasos de <i>A. cherimola</i> . ....	77
<b>Figura 28.</b> Subtipos de acetogeninas presentes en <i>Annona diversifolia</i> Saff y <i>A. cherimola</i> . ....	87
<b>Figura 29.</b> Reacción de la ninhidrina y el grupo amino terminal de péptidos (Wade, 2002). ....	88
<b>Figura 30.</b> Cromatoplaqa del extracto metanólico de la almendra de <i>A. cherimola</i> y sus particiones después de ser revelada con ninhidrina. ....	89
<b>Figura 31.</b> Cromatoplaqa del extracto metanólico de la almendra de <i>A. cherimola</i> y sus particiones después de ser revelada con ninhidrina. ....	90

<b>Figura 32.</b> Compuesto cíclico: 2,5-piperazina dicetona. ....	91
<b>Figura 33.</b> Cromatoplaça del extracto metanólico de la almendra de <i>A. cherimola</i> y sus particiones revelada con o-tolidina. ....	91
<b>Figura 34.</b> Estructuras de los monoglicéridos correspondientes a los ácidos grasos más abundantes en el biodiesel obtenido de la semilla de <i>A. cherimola</i> . ....	92
<b>Figura 35.</b> Esquema de la reacción de transesterificación con metóxido .....	92
<b>Figura 36.</b> Geometrías optimizadas de los puntos estacionarios de la reacción de transesterificación básica con metanol para obtener estereato de metilo: A) monoglicérido del ácido esteárico, B) TS <sub>1</sub> , C) Intermediario tetraédrico, D) TS <sub>2</sub> .....	93
<b>Figura 37.</b> Mapa del potencial electrostático de los puntos estacionarios de la reacción de transesterificación básica con metanol para obtener estereatato de metilo: A) monoglicéridos del ácido esteárico, B) TS <sub>1</sub> , C) Intermediario tetraédrico, D) TS <sub>2</sub> . ....	94
<b>Figura 38.</b> Cromatograma del perfil de esteres metílicos de los ácidos grasos del biodiesel de <i>A. cherimola</i> . ....	108
<b>Figura 39.</b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN <sup>1</sup> H, CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) del extracto de partición de diclorometano extraído de las semillas de <i>A. cherimola</i> . ....	109
<b>Figura 40.</b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN- <sup>1</sup> H, CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) del extracto de partición de acetato de etilo extraído de las semillas de <i>A. cherimola</i> . ....	110

# 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día el panorama energético mundial atraviesa una grave crisis de disponibilidad y abasto de combustibles fósiles a los diferentes sectores productivos, esto al mismo tiempo genera otro problema, el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero. Ante este escenario varios países han desarrollado tecnologías para el aprovechamiento de las fuentes renovables de energía, las cuales permitan enfrentar estas dificultades.

En la actualidad los estudios sobre el uso de la bioenergía bajo la premisa de la sustentabilidad son innumerables; estas investigaciones buscan alternativas generadas a partir de la carencia de los recursos energéticos no renovables en un futuro, también obedecen al aumento de la población mundial y al aprovechamiento de los recursos renovables. Por otro lado, se sabe que la producción sustentable de biocombustibles contribuye a la protección del medio ambiente evitando el cambio climático, ya que las emisiones generadas de CO<sub>2</sub>, así como la de otros gases, son inferiores a las emanaciones producidas por combustibles fósiles.

La biodiversidad de nuestro país representa opciones para el aprovechamiento de cultivos destinados a la obtención de biocombustibles. Por otro lado, en el país se producen al año millones de toneladas de desechos orgánicos procedentes de vegetales y frutas. La dificultad que implica deshacerse de ellos, unida al hecho de que ocupan mucho espacio y a que se generan gases y olores desagradables durante su descomposición, ha llevado a la industria alimentaria a buscar salida a estos residuos. Una opción viable para el aprovechamiento de estos desechos orgánicos, consiste en utilizarlos como materia prima para la producción de energías alternativas (por ejemplo: biogás y biodiesel).



México es uno de los principales países productores de frutos, entre ellos sobresalen los pertenecientes a la familia de las anonáceas, por ejemplo: guanábana, saramuyo, chirimoya y anona, de los cuales se obtienen actualmente un promedio de 20 000 toneladas anuales. En estos frutos la pulpa se encuentra en una mayor proporción, mientras que las semillas representan cerca del 6 % del peso total. Considerando la toxicidad observada en estas semillas, no pueden ser aprovechadas como alimento, lo que genera una gran cantidad de productos de desecho. Sin embargo, dado su alto contenido de aceite, representan una opción sustentable como materia prima para la producción de biodiesel. Por tal razón, la presente investigación tiene como finalidad estudiar el aprovechamiento de las semillas de la chirimoya (*Annona cherimola*) como fuente de aceite, el cual puede ser transformado a biodiesel mediante la reacción de transesterificación en medio alcalino.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Sugerir las semillas de la chirimoya (*Annona cherimola*) de origen nacional, como una fuente alternativa para la producción de biodiesel, aprovechando de manera sustentable éstos residuos orgánicos y contribuyendo con la generación de energía renovable.

### 2.2 Objetivos particulares

- Extraer y caracterizar el aceite de las semillas de *A. cherimola*.
- Transformar el aceite de *A. cherimola* a biodiesel a través de la reacción de transesterificación alcalina.
- Valorar el biodiesel de *A. cherimola* por su densidad, viscosidad, índice de acidez, índice de yodo y entalpía de combustión.
- Detectar compuestos de interés biológico en el bagazo de *A. cherimola* como las acetogeninas y ciclopéptidos.

## 3. HIPÓTESIS

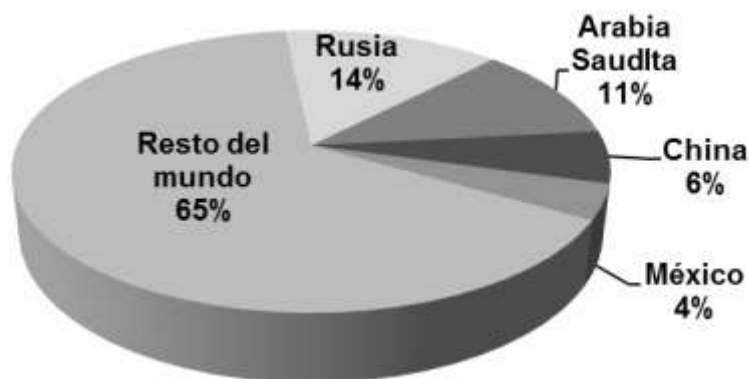
La semilla de *A. cherimola* proveniente de la familia de las anonáceas representará una opción viable como materia prima para la obtención de aceite con las características apropiadas para producir biodiesel de aceptable calidad, de acuerdo a los estándares internacionales.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Problemática energética mundial

El aumento de la población mundial que según datos del UNFPA (Fondo de Población de las Naciones Unidas) en el año 2011 alcanzó los 7 000 millones de habitantes, aunado a la creciente industrialización, ha dado lugar a una fuerte demanda de combustibles derivados del petróleo. Los combustibles fósiles actualmente utilizados ocupan el 80% de la energía primaria consumida en el mundo, de los cuales el 58% es consumido por el sector del transporte. Las fuentes de estos combustibles fósiles se están agotando y su consumo produce el aumento de emisiones de gases contaminantes, lo que lleva a muchos efectos negativos como el cambio climático, retroceso de los glaciares, aumento del nivel del mar y pérdida de biodiversidad (Nigam y Singh, 2011).

Actualmente se tienen datos que indican que las reservas mundiales de petróleo y gas natural disminuyeron en un 1.3% anual en el periodo de 2006 a 2010. Esto significa que si continúa el ritmo de explotación de estos combustibles, las reservas se agotarían en un lapso de 30 años. Nuestro país se ubica en el 7° lugar en la producción mundial de petróleo (ver Gráfica 1), aportando cerca del 4% de la oferta mundial (INEGI, 2012).

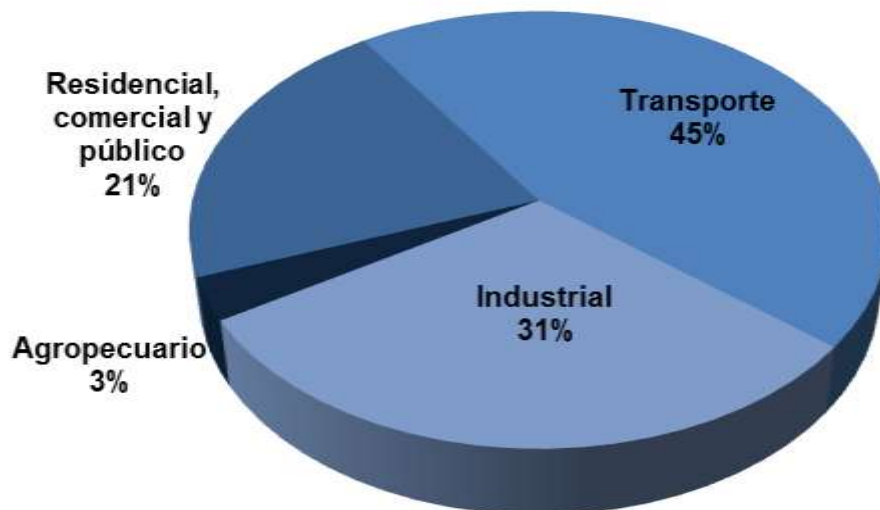


**Gráfica 1.** Producción mundial de petróleo crudo en el año 2010.

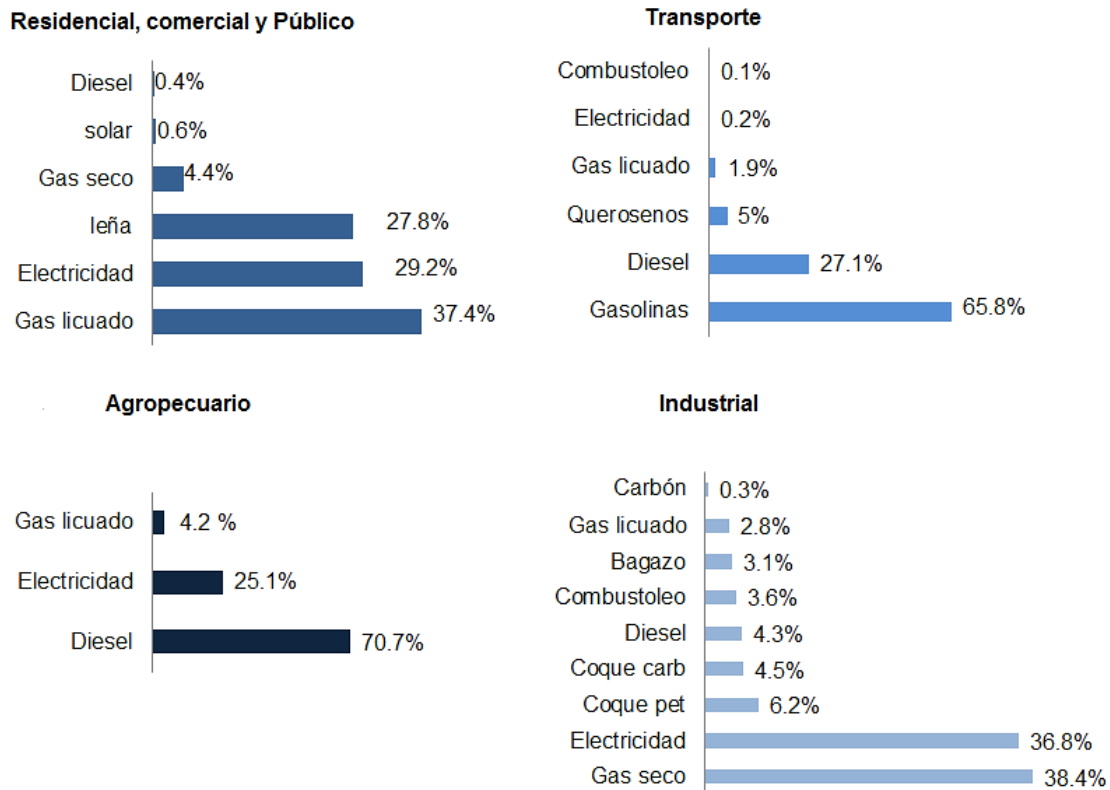


## 4.2 Problemática energética en México

El consumo de energía y la eficiencia energética son una creciente preocupación en México, la generación de electricidad, las industrias y el transporte dependen principalmente de los combustibles fósiles. México cuenta solamente con el 0.7% de las reservas petroleras mundiales probadas, posicionándolo en el 17° lugar a nivel mundial. Según datos de la Secretaría de Energía (SENER) de 2010 a 2011, el consumo nacional de energía incrementó 4.1%. Dicho incremento se debió principalmente al aumento de requerimiento de energía en las actividades de transformación que corresponde a un 8.7%, esto se asocia a un aumento en la generación de electricidad, necesaria para cubrir la incorporación de nuevos usuarios que se conectan al servicio público de energía eléctrica, a su vez el sector que mostró mayor consumo energético fue el de transporte, con un 45% en el año 2011 (Gráfica 2), el cual depende principalmente de productos derivados del petróleo como la gasolina (65.8 %) y el diesel (27.1%) (Ver Gráfica 3). Cabe mencionar, que el diesel tiene participación en todos los sectores, principalmente en el agropecuario, donde su consumo representa el 70.7%.



**Gráfica 2.** Consumo energético por sector en México durante el año 2011.



**Gráfica 3.** Consumo de combustibles por sector en México durante el año 2011.

La paraestatal PEMEX (Petróleos Mexicanos), comercializa los siguientes productos del combustible diesel: Pemex Diesel, Diesel Industrial de Bajo Azufre, Diesel Marino y Diesel Agrícola. Siendo Pemex Diesel el producto destinado al sector transporte, del cual, el servicio automotriz consume el 92%. Este último registra la mayor tasa de crecimiento ya que en 2011 cubrió el 26 % de la demanda de combustible.

A pesar de que el diesel tiene mayor eficiencia en la combustión que la gasolina, lo que genera menor desperdicio de combustible y menores emisiones de CO<sub>2</sub>, Pemex Diesel no cuenta con la calidad suficiente para la mayoría de los motores (sobre todo aquellos que son fabricados en Europa), destacando que el diesel mexicano contiene más azufre a diferencia de los producidos en Alemania, Reino Unido, Canadá y Francia (Taboada y Osnaya, 2009). Debido a esta problemática, en 2009 se determinó por medio de la norma NOM-086 SEMARNAT-SENER



realizar la remoción de azufre en el combustible con la introducción y venta masiva del diesel Ultra Bajo Azufre (UBA), pero esta venta se ha postergado debido a que las estaciones de abasto de este combustible son insuficientes, no sólo en las principales carreteras sino también en las ciudades más importantes del país.

Por otro lado, los precios de las gasolinas y el diesel aumentan cada vez más, durante el periodo 2007-2011, los incrementos en los precios de las gasolinas y el diesel presentaron dos etapas: la del 2007, donde se realizaron ajustes de acuerdo a la inflación observada, la segunda etapa inició a partir de enero del 2008, en la cual se aplicaron cuotas a las ventas de combustible, de acuerdo a las políticas de deslizamiento de los precios internos para igualarlos con los externos (Reyes, 2011).

#### 4.2.1 Emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en México.

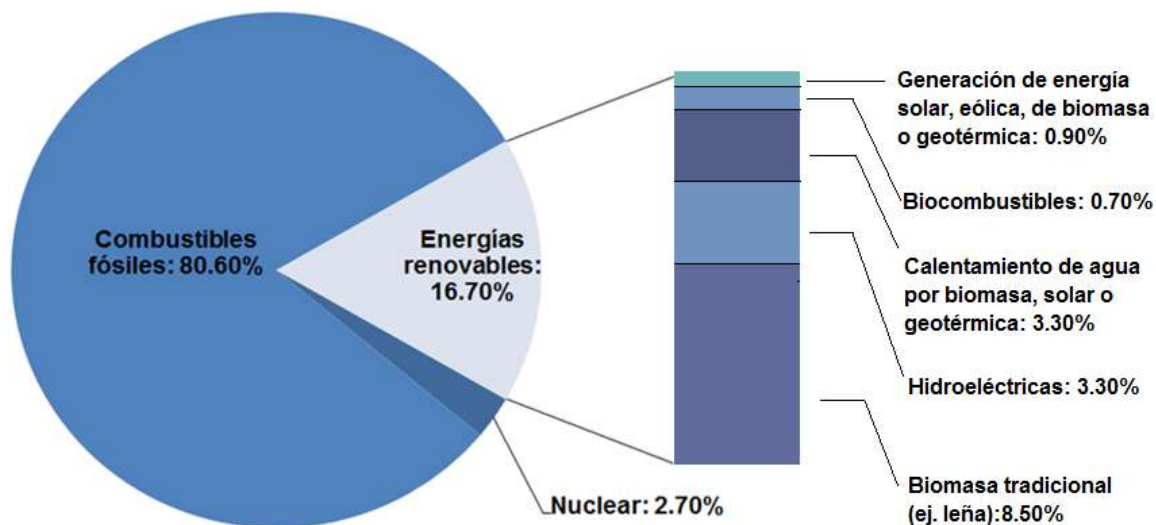
Los gases de efecto invernadero (GEI), son gases que se encuentran presentes en la atmósfera terrestre y que por su acumulación dan lugar al fenómeno denominado efecto invernadero, en el cual, se retiene la energía irradiada de la superficie provocando un aumento de la temperatura. Los GEI que tienen mayor impacto son: dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), clorofluorcarbonos (CFC) y ozono ( $\text{O}_3$ ) (Caballero *et al*, 2007).

Según la SENER, en México, las emisiones totales de GEI del sector energético durante el 2011 alcanzaron 498.51 Tg  $\text{CO}_2$  eq. (Un Tg  $\text{CO}_2$  eq. es igual a un millón de toneladas métricas de  $\text{CO}_2$ ). Del total de las emisiones de GEI, el 86.8% (432.73 Tg  $\text{CO}_2$  eq.) correspondió a las emisiones asociadas al consumo de combustibles. El gas  $\text{CO}_2$  fue la principal emisión del sector energético, con un 83.7% (417.09 Tg  $\text{CO}_2$  eq.) del total. Le siguieron las emisiones de  $\text{CH}_4$  con 13.6% (67.6 Tg  $\text{CO}_2$  eq.) y  $\text{N}_2\text{O}$  con 2.8% (13.77 Tg  $\text{CO}_2$  eq.). En cuanto a los gases emitidos en el sector transporte, el principal fue el  $\text{CO}_2$ , con una participación de 92.4%. El  $\text{N}_2\text{O}$  contribuyó con 7.3% del total y el restante lo aportó el  $\text{CH}_4$ .



### 4.3 Energías renovables

A pesar de que los combustibles fósiles atienden la mayor demanda de energía en el mundo (80.6% en 2010), las energías renovables cada vez juegan un papel más importante en la atención de estos requerimientos. Primeramente, porque estas energías representan recursos sostenibles, lo que indica que no son recursos limitados. Por otra parte, son recursos que minimizan el impacto ambiental, disminuyendo la generación de gases contaminantes y el cambio climático. Las energías renovables contribuyeron con el 16.7% del consumo mundial de energía primaria en 2010, donde la biomasa y los residuos representan poco más del 10% (Gráfica 4). La energía nuclear satisface solo el 2.7% del consumo energético mundial (REN21, 2012).

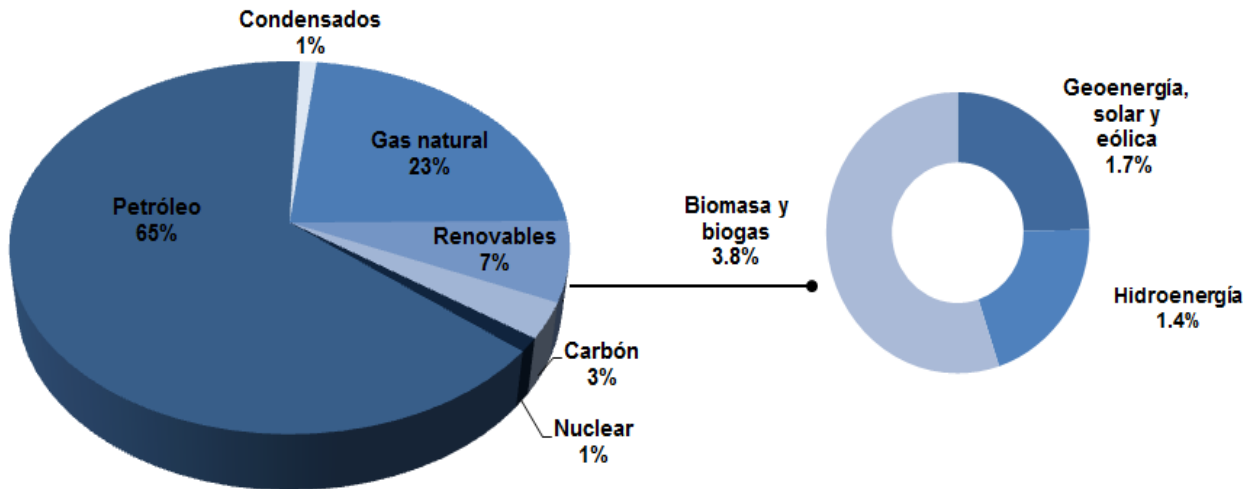


**Gráfica 4.** Participación de las energías renovables en el consumo de energía mundial durante 2010.

Aproximadamente un 77% de toda la energía renovable en el mundo proviene de la biomasa, su mayor consumo se basa principalmente en usos tradicionales para cocción de alimentos y calefacción en los países en desarrollo (leña y carbón vegetal), mientras que el 23% está destinado a la generación de bioenergía, como los biocombustibles líquidos para el sector transporte, la generación eléctrica y la



generación de calor en los procesos industriales (REMBIO, 2011). En México, durante el año 2011, las energías renovables solo aportaron el 7% de la producción de energía, representadas principalmente por la biomasa y biogás (Ver gráfica 5).



**Gráfica 5.** Producción de energía primaria en México durante el año 2011.

Las energías renovables abarcan todas las formas de energía que se renuevan de forma continua. De acuerdo a la fuente de la que provienen se clasifican en:

- a) **Eólica:** Energía del viento transformada en energía mecánica o eléctrica.
- b) **Solar:** Energía proveniente de la radiación del sol.
- c) **Geotérmica:** Energía proveniente del núcleo de la Tierra en forma de calor.
- d) **Hidráulica:** Generación de electricidad a partir de energía producida por agua que fluye y cambia de nivel en forma natural o artificialmente.
- e) **Biomasa:** Son residuos que se obtienen de animales o vegetales, los cuales pueden ser aprovechados para su quema directa (generación de calor) o en su transformación a biocombustibles (líquido, sólido o gaseoso).

La solar es la de mayor potencial en el mundo: 60 terawatts (TW); en cambio, la hidráulica tiene 0.7 TW; la biomasa, 5 TW; la geotérmica, 0.6 TW, y la eólica, de 2 a 4 TW (Gaceta UNAM, 2013).



#### 4.4 Biocombustibles

Las crisis del petróleo de la década de los años setenta, provocó el interés de muchos países en los biocombustibles como alternativa a los combustibles fósiles utilizados en el transporte (Reijnders y Huijbregts, 2009). En los últimos 10 años, las cuestiones relacionadas con la seguridad de suministro de energía, el incremento del precio del petróleo y la mitigación del cambio climático, han provocado un resurgimiento del interés hacia los biocombustibles, con una rápida expansión de la producción y la inversión en el desarrollo de tecnologías avanzadas. La disminución de los costos en la producción de biocombustibles, los hacen más competitivos, pero aún requieren subsidios para competir de manera efectiva con la gasolina y el diesel (Timilsina y Shrestha, 2011). Actualmente, los biocombustibles son uno de los componentes más importantes de las energías renovables, estos provienen principalmente de la biomasa, la cual es procesada utilizando una gran variedad de tecnologías (Abbaszaadeh *et al*, 2012). Los biocombustibles pueden ser líquidos (como bioetanol y biodiesel), sólidos (como la leña) o gaseosos (biogás e hidrógeno) y su finalidad es liberar la energía contenida en sus componentes químicos mediante una reacción de combustión. Estos tipos de biocombustibles también se les clasifica de acuerdo al origen de la materia prima o tecnología empleada para producirlos (Demirbas *et al*, 2011).

##### 4.4.1 Primera generación de biocombustibles

Los biocombustibles de primera generación se producen a partir de cultivos alimentarios, principalmente azúcares, granos y semillas, empleando tecnología convencional como la fermentación, transesterificación y la digestión anaerobia (Cheng *et al*, 2011). De estos procesos se obtienen los biocombustibles como el bioetanol, biometanol y biobutanol (a partir de azúcares), biodiesel (a partir de los aceites), y biogás (mezcla de metano y dióxido de carbono obtenida a partir de los desperdicios orgánicos) (Nigam y Singh, 2011). Por otro lado, el uso de estos insumos han provocado diversas problemáticas en torno a su uso, que primordialmente debe ser destinado a la alimentación (Cheng *et al*, 2011).





#### 4.4.2 Segunda generación de biocombustibles

Estos biocombustibles actualmente representan una excelente alternativa, ya que las materias primas utilizadas son residuos agrícolas y forestales, que no son comestibles y están compuestos principalmente por celulosa. Ejemplos de ellos son el bagazo de la caña de azúcar, el rastrojo de maíz (tallo, hojas y olote), paja de trigo, aserrín, hojas y ramas secas de árboles. Los procesos de producción tienen un nivel de complejidad más alto que los de primera generación, mediante estos se fabrica etanol, metanol, biodiesel, entre otros (Nigam y Singh, 2011).

#### 4.4.3 Tercera generación de biocombustibles

Estos biocombustibles se producen a partir de materia vegetal no alimenticia, cuyo crecimiento es rápido, principalmente estos insumos son pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido, algas verdes y verde azules. Estos insumos se distinguen por tener una alta densidad energética almacenada en sus componentes químicos (Álvarez, 2009).

#### 4.4.4 Cuarta generación de biocombustibles.

Se ha propuesto que estos biocombustibles son los que se producen exclusivamente a partir de bacterias genéticamente modificadas, las cuales emplean CO<sub>2</sub> o alguna otra fuente de carbono (Álvarez, 2009).

#### 4.4.5 Ventajas de los biocombustibles

La producción de biocombustibles a partir de recursos naturales ofrecen la oportunidad de aprovechar fuentes renovables de energía, que están mejor distribuidos geográficamente que los combustibles fósiles (Singh y Singh, 2010). Los biocombustibles ofrecen en un futuro, beneficios relacionados con la seguridad energética, economía y medio ambiente (Nigam y Singh, 2011) tales como:

- Biodegradabilidad
- Sustentabilidad



- Fuente de energía doméstica localmente distribuida
- Generación de empleo y desarrollo rural
- Inversión de equipos y tecnología
- Reducción de la brecha entre oferta y demanda de combustibles fósiles
- Control sobre el monopolio de combustibles fósiles
- Mejor utilización de los residuos
- Reducción de la contaminación local
- Reducción de vertederos
- Reducción de la emisión de Gases de Efecto Invernadero

#### 4.5 Tipos de biocombustibles

A partir de la biomasa se pueden obtener diferentes combustibles empleándose diversas tecnologías de producción (transformaciones biológicas y fisicoquímicas). Los biocombustibles líquidos son de suma importancia porque pueden sustituir a los combustibles fósiles como la gasolina y el diesel, utilizándose en los motores de automóviles y máquinas (García y García, 2006).

##### 4.5.1 Bioetanol

Una de las formas de producción de bioetanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), es por medio de la fermentación de los azúcares contenidos en la materia orgánica. A partir de este, se obtiene alcohol hidratado, que al retirar el 5% del agua que contiene, puede ser utilizado como combustible. Se usa comúnmente como mezcla (E85), compuesta de un 85% de etanol y un 15% de gasolina (García y García, 2006). El uso directo de bioetanol como combustible, es utilizado principalmente en Brasil y actualmente China empieza a distinguirse como uno de los mayores productores y consumidores (Liu *et al*, 2012). Otra alternativa para el uso del bioetanol, es transformarlo en aditivo oxigenante para la gasolina, que mejora el octanaje y reduce las emisiones contaminantes (García y García, 2006). El índice de octano de una gasolina indica si ésta es propensa a tener problemas de “golpeteo” o “cascabeleo” en el motor. Este problema es causado por la autoignición prematura



de la mezcla aire-combustible, lo cual afecta el avance del frente de flama dentro del cilindro del motor. El etanol tiene un calor latente de vaporización mayor al de la gasolina, por lo que favorece que tenga un índice de octano relativamente elevado (Castillo *et al*, 2012).

#### 4.5.2 Biometanol

El biometanol se produce al gasificar la biomasa produciéndose un gas sintético (*syngas*), que es esencialmente  $H_2$  y  $CO$ . La gasificación ocurre a altas temperaturas (de 1073 a 1273 K) de cualquier recurso renovable que contenga carbono como son los residuos de madera y basura. En comparación con la gasolina, el biometanol es un combustible que ofrece una eficiencia térmica superior para el motor, por lo que las emisiones disminuyen. Debido a que cuenta con un alto índice de octano (106), el biometanol es un excelente combustible para motores de alta compresión aunque su mayor uso es como una mezcla con gasolina llamado M85 (85% biometanol y 15 % de gasolina). El poder térmico del biometanol es inferior al de gasolina, con un valor de 19,9 MJ / kg y 44,4 MJ / kg respectivamente (Demirbas *et al*, 2011).

#### 4.5.3 Biobutanol

Es un alcohol que contiene cuatro carbonos ( $C_4H_{10}O$ ) por lo que químicamente contiene más hidrógeno y carbono, esto facilita su mezclado con gasolina y permite un mayor contenido de energía que el etanol. Entre sus propiedades destaca que es menos corrosivo que el bioetanol, ofreciendo facilidad para ser transportado y distribuido a través de los gasoductos existentes y en las estaciones de llenando (Demirbas *et al*, 2011). Es menos volátil que el biometanol y cuando se consume en un motor de combustión interna produce dióxido de carbono y agua. Los cuatro isómeros de butanol que existen son n-butanol ( $CH_3CH_2CH_2CH_2OH$ ), 2-butanol ( $CH_3CH_2CHOHCH_3$ ), iso-butanol ( $(CH_3)_2CH_2CHOH$ ) y ter-butanol ( $(CH_3)_3COH$ ). Por otro lado, el biobutanol tiene un índice de octano similar al de la gasolina y menor que el de etanol, por lo tanto no



puede ser empleado como un mejorador del octanaje. La principal desventaja de biobutanol es su toxicidad (Nigam y Singh, 2011).

#### 4.5.4 Dimetil éter

El dimetil éter ( $\text{CH}_3\text{OCH}_3$ ) se puede producir a partir gas natural, petróleo crudo, aceite residual, carbón y la biomasa mediante un proceso de gasificación (Reijnders y Huijbregts, 2009). Representa una alternativa como combustible por su alto número de cetano, el cual facilita su ignición por compresión, lo que implica un alto nivel de eficiencia en motores diesel. Debido a su contenido de oxígeno mejora la combustión y se puede almacenar en forma líquida de 5 a 10 bares de presión a temperatura ambiente, permitiendo su fácil transporte (Swain *et al*, 2011). Entre las principales ventajas que ofrece se encuentran: combustión en motores diesel con bajo ruido y disminución de las emisiones de CO,  $\text{NO}_x$  e hidrocarburos (Demirbas *et al*, 2011). Los principales problemas del uso del dimetil éter en los motores diesel, están relacionados con viscosidad y lubricidad, por lo que es requerido el uso de aditivos, adaptaciones del motor y modificaciones para evitar la corrosión (Reijnders y Huijbregts, 2009).

#### 4.5.5 Bioturbosina

Este biocombustible denominado también Bio-keroseno parafínico (Bio-KPS), es obtenido a partir de aceites vegetales y grasas animales a través del proceso catalítico de desoxigenación, isomerización y craqueo selectivo de los hidrocarburos presentes. El Bio-KPS es utilizado como combustible de aviones, directamente o en una proporción de hasta el 50%. El aspecto más importante de sustentabilidad de su uso, es la reducción de hasta un 55% de sus emisiones de gases de efecto invernadero (Bauen *et al*, 2009).

En México, desde el 2009, Aeropuertos y Servicios Auxiliares (ASA), órgano descentralizado de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes (SCT), impulsa el desarrollo de los combustibles alternativos de aviación en coordinación con otras instancias del Gobierno Federal y Estatal. Las especies que se utilizan son *Jatropha* (*Jatropha curcas*) e higuera (*Ricinus communis*). La higuera es de



gran potencial ya que esta planta tiene una gran adaptación en todo el territorio mexicano (Sepúlveda, 2012). En agosto de 2011, ASA informó que realizó el primer vuelo transoceánico usando bioturbosina, cuya ruta inició en el Aeropuerto Internacional de la Ciudad de México con destino a Madrid, España. Fue suministrado 26 mil litros de biocombustible que conformó una mezcla de 25% Bio-KPS de *Jatropha curcas* y 75% de turbosina, abasteciendo el tanque central de la aeronave para ser consumido por los dos motores. El vuelo se realizó a un mes de haberse oficializado la norma D7566-11 de la Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés) para combustibles de turbina, la cual permite la utilización de la mezcla de combustibles renovables en una proporción de hasta el 50% con combustible tradicional, lo que da inicio a una nueva era de la aviación mundial.

#### 4.5.6 Biohidrógeno

La demanda de hidrógeno no es exclusiva como fuente de energía, ya que es ampliamente utilizado en la industria química, cerca del 60% de la producción mundial de hidrógeno se usa en la producción de amoníaco, el 23% en la refinación de petróleo y el 9% en la síntesis de metanol. De tal manera, que sólo el 8% de la producción mundial de hidrógeno se destina al uso como energético (Swain *et al*, 2011). Como combustible, se considera limpio y renovable, siendo el agua el único producto resultante, de alto rendimiento energético con un valor aproximado a 122 KJ/g, que es 2.75 veces más alto que los combustibles hidrocarbonados (Bedoya *et al*, 2008). La producción convencional de hidrógeno se caracteriza por los altos costos energéticos del proceso en métodos como la oxidación parcial no catalítica de combustibles, vapor reformante de metano, procesos de membrana, oxidación selectiva de metano, deshidrogenación oxidativa y procesos electroquímicos. Sin embargo, poco a poco ganan terreno los métodos que se basan en la biotecnología usando algas fotosintéticas y microorganismos, la biofotólisis directa, biofotólisis indirecta, reacción de intercambio gaseoso, fermentación oscura y foto-fermentación (Bedoya *et al*, 2008).



## 4.6 Biodiesel

### 4.6.1 Definición de biodiesel

La ASTM (American Society for Testing and Materials) lo define como un combustible líquido compuesto principalmente de ésteres monoalquílicos provenientes de ácidos grasos de cadenas largas de carbono (los cuales pueden contar con uno y hasta tres dobles enlaces por molécula), que es obtenido de aceites vegetales o grasas animales. El biodiesel es un combustible alternativo que se puede utilizar en cualquier motor diesel sin modificaciones y puede ser mezclado en cualquier nivel con el diesel petroquímico. El uso de biodiesel en un motor diesel convencional, reduce las emisiones de hidrocarburos no quemados, CO y azufre (Atadashi *et al*, 2012).

En contraste, el diesel fósil (cadenas de un intervalo de  $C_{10}H_{20}$  a  $C_{15}H_{28}$ ) es un combustible derivado de la destilación a presión atmosférica del petróleo crudo. Este combustible se obtiene de una mezcla compleja de hidrocarburos parafínicos, olefínicos, nafténicos y aromáticos. Es un líquido insoluble en agua y no contiene oxígeno (Singh y Singh, 2010).

### 4.6.2 Biocombustibles líquidos tipo diesel.

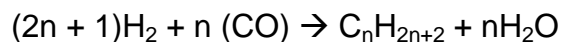
Estos biocombustibles son químicamente diferentes al biodiesel debido a la materia prima y al proceso de obtención.

- Diesel BTL

Es un biocombustible líquido que se produce a partir de la biomasa lignocelulósica por medio de varios procesos termoquímicos, el más conocido es el BTL (Biomass to Liquids), este proceso inicia con la gasificación de biomasa proveniente de cualquier fuente, la cual debe contar con baja cantidad de humedad. Posteriormente se procede a una purificación del gas obtenido, eliminándose de esta forma partículas, alquitranes y trazas de gases contaminantes (Swain *et al*, 2011). El gas obtenido (*syngas*) posee relaciones apropiadas de hidrógeno y monóxido de carbono, por lo que es sometido a una conversión catalítica a altas



presiones y temperaturas, este proceso es llamado Fischer-Tropsch (Damartzis y Zabaniotou, 2011) (ver Figura 1). Los catalizadores más utilizados en este proceso son el hierro y el cobalto, obteniéndose varios tipos de hidrocarburos líquidos y gaseosos, estos últimos pueden ser reciclados en la etapa de calentamiento.



**Figura 1.** Ecuación general de la reacción de catálisis de Fischer- Tropsch.

- Diesel verde (Hidrotratamiento de aceites vegetales)

Este biocombustible se produce a partir de materias primas renovables que contienen triglicéridos y ácidos grasos mediante procesos de saturación catalítica: hidrodeshidrogenación, descarboxilación e hidroisomerización. Como resultado se obtiene un sustituto de diesel libre de azufre y rico en isoparafina. Entre sus propiedades destaca que tiene un índice de cetano muy alto, es estable durante el almacenamiento y puede mezclarse con combustible diesel (Naik *et al*, 2010).

- E-Diesel

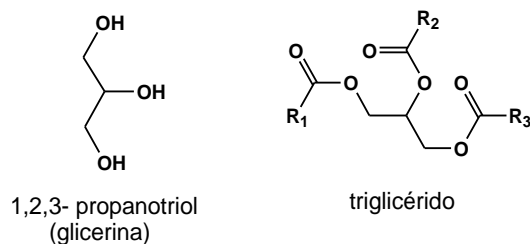
Este combustible está constituido por una mezcla de bioetanol con diesel petroquímico, por lo que se obtiene un producto con características deseables en cuanto a combustión y reducción de contaminantes. Sin embargo, su uso tiene desventajas en cuanto a lubricidad y viscosidad, que afectan su comportamiento de ignición en el motor, es por ello que se recomiendan mezclas menores al 10% de bioetanol o el uso de aditivos (Lapuerta *et al*, 2008).

#### 4.7 Materias primas para la obtención de biodiesel

Los aceites y las grasas constituyen las materias primas esenciales para la obtención de biodiesel. Estos están constituidos principalmente por triglicéridos de cadena larga (ver Figura 2). Los triglicéridos pueden ser simples o mixtos, según



sean iguales o distintos los grupos sustituyentes unidos a la molécula de glicerina (Benjumea et al, 2009).



Donde R1, R2, R3 son cadenas hidrocarbonadas correspondientes a los ácidos grasos de entre 12 y 20 átomos de carbono con una a tres insaturaciones.

**Figura 2.** Los triglicéridos constituyen principalmente los aceites.

En 1900, Rudolf Diesel utilizó aceite de cacahuete para demostrar el funcionamiento de un motor de combustión interna en la Exposición Universal de París. En 1911 declaró "los motores diesel pueden ser alimentados con aceites vegetales lo que ayudaría considerablemente al desarrollo de la agricultura de los países que los utilicen". Un año después Diesel afirmó: " El uso de aceites vegetales como combustible de motor puede parecer insignificante hoy, sin embargo, estos aceites pueden convertirse con el transcurso del tiempo, tan importante como el petróleo y los productos de alquitrán de hulla que hoy empleamos". Si bien, el uso de los aceites vegetales como combustible, se postergó debido a que los derivados del petróleo resultaron más económicos (Agarwal, 2007). Entre las principales desventajas del uso directo de los aceites vegetales como combustible en motores, se encuentra la formación de carbón y gomas, mal funcionamiento de los inyectores, formación de geles en el aceite de lubricación, problemas de lubricación, baja volatilidad y combustión incompleta debido a su alta viscosidad, la cual es hasta 15 veces mayor que la del combustible diesel (Singh y Singh, 2010).

#### 4.7.1 Aceites comestibles

Los aceites comestibles son excelentes materias primas para la producción de biodiesel debido su composición y proporción de ácidos grasos, en la actualidad representan el 95% de los aceites usados para la obtención de biocombustibles





(Borugadda y Goud, 2012). Entre los más utilizados, se encuentra el aceite de colza en Canadá, aceite de girasol en Europa y el aceite de soya en Estados Unidos. Las especies vegetales más utilizadas son: canola, maíz, coco, palma, girasol, cacahuate y algodón (Shahid y Jamal, 2011). Sin embargo, el uso de estos aceites ha provocado una fuerte controversia, en primer lugar, por su naturaleza comestible que los destina primordialmente a la alimentación humana. Iniciándose de esta forma, una competencia entre su uso como alimento y como materia prima para la producción de biocombustibles. Esto incrementa su demanda y por lo tanto, su precio, generando problemas de abasto en países en vías de desarrollo. Por otro lado, para cubrir esta demanda se debe de aumentar las áreas de cultivo, lo que puede resultar negativo para el ambiente ya que se incrementa la deforestación (Balat, 2011).

#### 4.7.2 Aceites no comestibles

Debido a la enorme demanda de aceites comestibles como alimento y su alto costo, los aceites no comestibles actualmente resultan más atractivos para la producción de biodiesel. En todo el mundo existen grandes cantidades de plantas oleaginosas no comestibles que están disponibles en la naturaleza. La producción de biodiesel a partir de diferentes cultivos no comestibles, ha sido ampliamente investigada en los últimos años (Singh y Singh, 2010). Estos cultivos de origen silvestre contienen compuestos tóxicos y ofrecen altos rendimientos de aceite: piñón (*Jatropha curcas*), karanja (*Pongamia pinnata*), semillas de tabaco (*Nicotiana tabacum L.*), mahua (*Madhuca indica*), el neem (*Azadirachta indica*), goma vegetal (*Hevea brasiliensis*), ricino (*Ricinus communis*) y microalgas. Estas especies están disponibles en países en vías de desarrollo y sus precios son más económicos (Banković-Ilić *et al*, 2012).

#### 4.7.3 Residuos sólidos orgánicos

Los aceites y grasas provenientes de residuos sólidos orgánicos industriales también representan una opción viable para la producción de biodiesel. En la industria alimentaria se pueden provechar los residuos orgánicos generados como



las semillas de frutas utilizadas para la elaboración de jugos y néctares (Ocampo *et al*, 2007). En el caso de residuos de la industria cárnica que tienen costos más bajos pero con disponibilidad limitada en el mercado, los mayores depósitos de grasas en animales se encuentran bajo la piel, ocupando espacios entre los músculos y en la cavidad abdominal. La composición química de las grasas provenientes de los animales puede ser muy variada, ya que depende de diversos factores, tales como el sexo, tipo de alimentación y condiciones ambientales en las que se desarrollan. El cebo de res y la manteca de cerdo son ricos en ácidos grasos saturados con una proporción similar a la del aceite de palma (Benjumea *et al*, 2009).

#### 4.7.4 Aceites residuales

Los aceites residuales provienen del proceso de obtención de alimentos fritos, al no utilizarse nuevamente estos residuos, son desechados, representando así un subproducto con alto potencial contaminante. En algunos países, estos aceites representan una opción como materia prima en la producción de biodiesel, tanto que ya cuentan con legislaciones y empresas que implementan su uso (Balat, 2011). No obstante, estos residuos producen mayores costos en la producción de biodiesel por su alto índice de acidez. Además, al ser sometidos estos aceites a altas temperaturas, en su composición final se pueden encontrar compuestos como ácidos grasos libres y glicerol libre generados de la hidrólisis, hidroperóxidos, aldehídos, cetonas, hidrocarburos y alcoholes provenientes de la oxidación, que debido a su naturaleza polar pueden ser retirados con sólidos porosos naturales o sintéticos (Benjumea *et al*, 2009).

#### 4.8 Producción de biocombustibles a partir de aceites y grasas

Existen cuatro métodos para reducir la alta viscosidad de los aceites vegetales para permitir su uso en los motores diesel sin problemas: mezclar con diesel de petróleo, pirólisis, generar microemulsiones y la transesterificación (ver Tabla 1).



Sólo la reacción de transesterificación conduce al producto comúnmente conocido como biodiesel, es decir, ésteres alquílicos de aceites y grasas (Knothe, 2005).

**Tabla 1.** Ventajas y desventajas de los métodos de producción de biocombustibles a partir de aceites vegetales y grasas (Leung *et al*, 2010).

Métodos	Ventajas	Desventajas
Dilución	No se requiere de procesos de transformación	Alta viscosidad, baja volatilidad, cadenas hidrocarbonadas insaturadas de los aceites y formación de depósitos de carbón en los motores
Microemulsión	Mejora patrón de rociado durante la combustión, baja viscosidad del combustible	Baja volatilidad, reactividad de cadenas hidrocarbonadas insaturadas, bajo número de cetano, bajo contenido energético, formación de depósitos de carbón en los motores e inyección irregular (combustión incompleta).
Pirólisis	Químicamente similar al combustible diesel	Energía intensiva y alto costo
Transesterificación	Renovable, alto número de cetano, bajas emisiones y alta eficiencia de combustión en los motores.	Eliminación de subproductos (glicerol y residuos de agua)



#### 4.8.1 Dilución

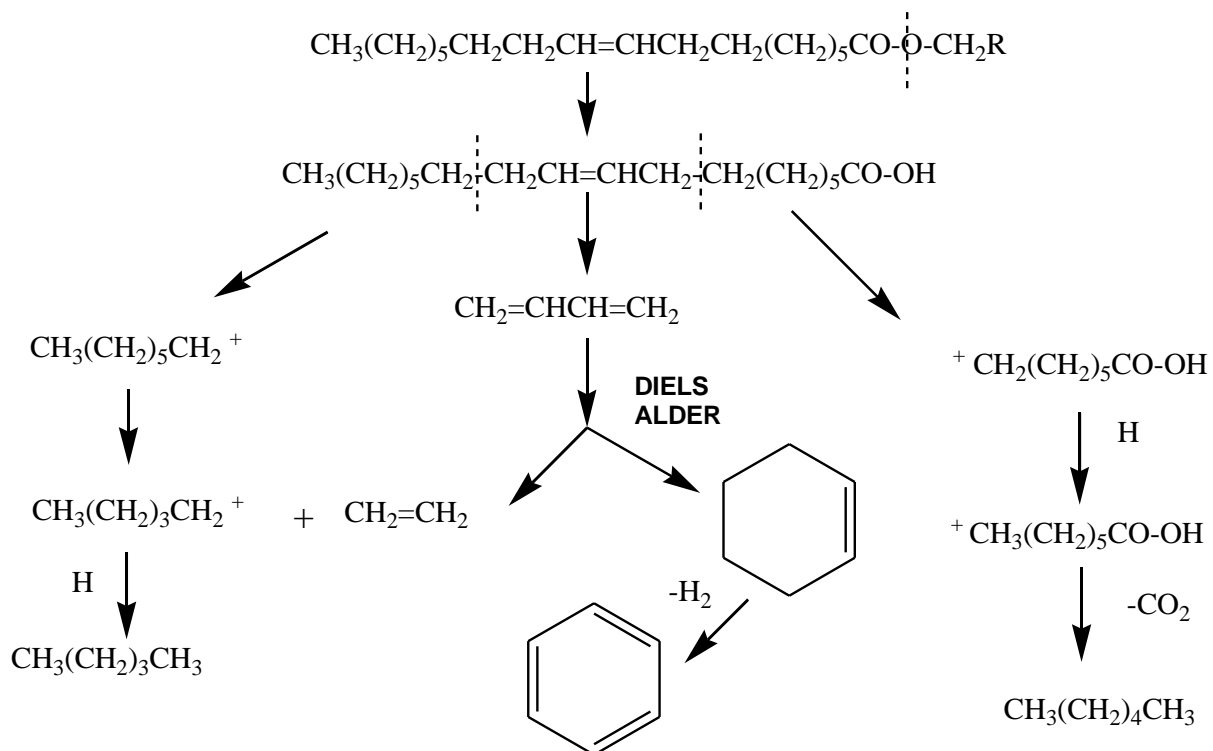
Los aceites vegetales se pueden mezclar directamente con combustible diesel para reducir su viscosidad y así poder usarlos en los motores de combustión por compresión (Knothe, 2005). Sin embargo, el uso directo de aceites vegetales y/o el uso de mezclas de aceites vegetales generalmente se ha considerado como no satisfactorio y poco práctico, debido al contenido de ácidos grasos que promueve la formación de gomas, oxidación y polimerización durante almacenamiento y su combustión, así como la formación de depósitos de carbón y engrosamiento del aceite lubricante. El uso de aceites vegetales en motores diesel requiere modificaciones importantes del motor, incluyendo el cambio de tuberías y material del inyector (Abbaszaadeh *et al*, 2012).

#### 4.8.2 Microemulsión

Un microemulsión se define como una dispersión coloidal de equilibrio de microestructuras isotrópicas con dimensiones generalmente en el intervalo de 1 a 150 nm, formada a partir de dos líquidos inmiscibles (Singh y Singh, 2010). Las microemulsiones son termodinámicamente estables y no requieren de agitación para permanecer en una sola fase, la solución es transparente a temperatura y presión constantes (Knothe, 2005).

#### 4.8.3 Pirolisis

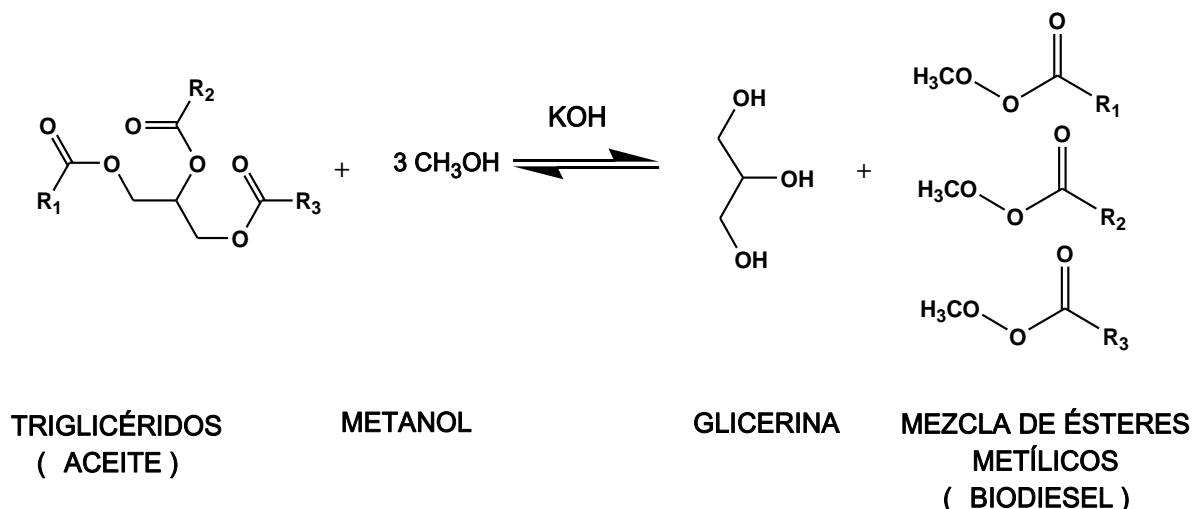
La pirolisis es un método de conversión de una sustancia en otra por medio de calor con la ayuda de un catalizador, en ausencia de aire u oxígeno. El proceso es simple, libre de contaminación y eficaz en comparación con otros procesos de craqueo (Singh y Singh, 2010). Se conocen dos tipos de procesos de pirólisis de los triglicéridos, los catalíticos y no catalíticos, de los cuales se obtienen compuestos similares al diesel petroquímico (Ver Figura 3), (Abbaszaadeh *et al*, 2012).



**Figura 3.** Mecanismo de descomposición térmica de los ácidos grasos de los aceites

#### 4.9 Reacción de transesterificación

La reacción de transesterificación es una reacción orgánica de un éster y un alcohol para producir otro éster por medio del intercambio de un grupo alcoxi. De esta forma, si un éster interacciona con un alcohol para sustituir su grupo alquilo por el del alcohol, se denomina alcoholísis, si el éster reacciona con un ácido carboxílico para sustituir el grupo acilo por el ácido se conoce como acidólisis, y si ocurre un intercambio entre el grupo acilo y el alquilo de dos ésteres diferentes la reacción se conoce como interesterificación o transesterificación (Torossi, 2006). La reacción es reversible y requiere 1 mol de triglicérido y 3 moles de alcohol, sin embargo, se utiliza un exceso de alcohol para aumentar la producción del éster alquílico y permitir separar la glicerina de la fase de biodiesel (Ramos *et al*, 2009).



**Figura 4.** Reacción de transesterificación alcalina utilizada en la producción de biodiesel

En la transesterificación, el alcohol, generalmente metanol, se hace reaccionar con el aceite vegetal en presencia de un catalizador apropiado (ver Figura 4). El fluido se convierte en biodiesel bruto y glicerina cruda, ambos se refinan para su uso posterior (Atadashi *et al*, 2010). El rendimiento en la obtención de biodiesel depende de muchos parámetros, los más importantes son: cantidad y tipo de alcohol, cantidad y tipo de catalizador, temperatura y tiempo de reacción. Los catalizadores utilizados para la reacción de transesterificación, pueden ser ácidos, alcalinos o enzimáticos (Pisarello *et al*, 2010).

#### 4.9.1 Transesterificación con catalizadores alcalinos

Estos catalizadores son los que más se utilizan a nivel industrial, ya que tienen la capacidad de completar la reacción a una alta velocidad requiriendo condiciones moderadas de temperatura y logrando alta eficiencia de conversión (Shamid y Jamal, 2011). Se conocen dos tipos de catalizadores alcalinos: homogéneos y heterogéneos:

- Homogéneos: NaOH, KOH, NaOCH<sub>3</sub>, KOCH<sub>3</sub>, son utilizados por su bajo costo y su alta actividad catalítica (Leung *et al*, 2010).



- Heterogéneos: Se usan comúnmente sólidos alcalino térreos y óxidos como: zeolita,  $\text{KNO}_3$  cargados en  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{KNO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{BaO}$ ,  $\text{SrO}$ ,  $\text{CaO}$  y  $\text{MgO}$  (Shamid y Jamal, 2011).

Para un óptimo desempeño en la reacción de transesterificación, estos catalizadores deben ser anhidros para evitar que se produzcan reacciones secundarias, como la saponificación, que reduce el rendimiento del proceso. También deben utilizarse en aceites con porcentajes menores al 3% de ácidos grasos libres (Ramadhas, 2005). En general, la catálisis inicia cuando se tiene como primera etapa la reacción del álcali con el alcohol, produciendo una especie reactiva (alcóxido  $\text{RO}^-$ ) y el catalizador protonado. Luego, ocurre un ataque nucleofílico del alcóxido al grupo carbonilo del triglicérido generando un intermediario tetraédrico, a partir de este se forma el alquiléster y el correspondiente anión del diglicérido. El catalizador protonado pierde el protón, generando de nuevo la especie activa, la cual al quedar disponible reacciona con una segunda molécula de alcohol. De esta forma se inicia otro ciclo catalítico hasta obtenerse una mezcla de alquilésteres y glicerina (Meher *et al*, 2006).

#### 4.9.2 Transesterificación con catalizadores ácidos

Los catalizadores ácidos se utilizan como una etapa de pretratamiento por el alto contenido de ácidos grasos libres en las materias primas. La reacción, en presencia de estos catalizadores es lenta y requiere exceso de alcohol para una alta eficiencia de conversión de transesterificación (Karmakar *et al*, 2010). Al igual que los catalizadores alcalinos, existen dos tipos:

- Homogéneos: ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico (Abbaszaadeh *et al*, 2012).
- Heterogéneos: ácidos orgánicos, sulfonados,  $\text{SO}_4^{2-}/\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2/\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{ZnO}/\text{I}_2$  (Leung *et al*, 2010).

En la reacción de transesterificación, la catálisis inicia cuando el catalizador ácido protona al grupo carbonilo del triglicérido, activándolo, este grupo activado, sufre un ataque nucleofílico por parte del alcohol, por lo que se forma un intermediario



tetraédrico. Luego, el protón emigra con ayuda del disolvente dando lugar a la escisión del intermediario tetraédrico, quedando un monoalquiléster protonado y una molécula de diglicérido. La transferencia del protón regenera al catalizador ácido y comienza otro ciclo hasta que finalmente resultan tres moléculas de monoalquiléster y una de glicerina (Meher *et al*, 2006).

#### 4.9.3 Transesterificación con catalizadores enzimáticos

Los también llamados biocatalizadores, son lipasas que son altamente específicas, pero las reacciones son lentas requiriendo de 4 a 40 h y temperaturas de 35 a 45 °C. Su uso es adecuado para materias primas con alto contenido de ácidos grasos libres (Karmakar *et al*, 2010). El uso de lipasas inmovilizadas ofrece diversas ventajas como la reducción de costos ya que pueden rehusarse, entre estas se encuentran: *Pseudomonas cepacia* (PS-30), *Thermomyces lanuginosus* (Gran-TL) (Yan *et al*, 2012), lipasa B de *Candida antarctica* y la lipasa de *Rhizomucor mieher* (Leung *et al*, 2010).

#### 4.9.4 Transesterificación en condiciones supercríticas y asistida por microondas

La materia prima se hace reaccionar con metanol supercrítico a altas presiones y bajas temperaturas, sin el uso de catalizadores. El tiempo de reacción disminuye significativamente, de horas a segundos, el rendimiento del biodiesel es alto y la purificación del aceite solo incluye la remoción del metanol, ya que al no usarse catalizadores, el biodiesel obtenido no debe ser neutralizado ni lavado (Shahid y Jamal, 2011). Por otro lado, la reacción de transesterificación (con el uso de catalizadores) puede ser acelerada por medio del uso de microondas, generalmente se usan longitudes de onda de 1mm y 1m con frecuencia de 300 MHz a 300 GHz. Las irradiaciones disminuyen el tiempo de reacción de horas a minutos y de minutos a segundos (Motasemi y Ani, 2012).





#### 4.9.5 Aprovechamiento de la glicerina

En la síntesis del biodiesel, se obtiene menos del 10% de la glicerina, la cual representa un subproducto muy valioso que de ser refinada a grado farmacológico puede llegar a cubrir los costos operativos de una planta productora (García y García, 2006). La glicerina puede ser purificada tras la eliminación de los jabones utilizando un ácido mineral obteniendo ácidos grasos libres y sus sales, luego se remueve el metanol mediante un proceso de destilación flash al vacío u otro tipo de evaporación. Es así, como se obtiene glicerina con una pureza cercana al 85%, que puede ser destinada a refinerías. Para lograr un producto de grado alimenticio cuya pureza es del 99.7%, la glicerina es sometida a un proceso de destilación de alto vacío o intercambio iónico (Aimeretti *et al*, 2008).

#### 4.10 Propiedades del biodiesel

Las propiedades físicas y químicas del biodiesel se determinan por el perfil de los ésteres metílicos de composición, estas características son de suma importancia debido a que los motores diesel requieren de un combustible que sea limpio al quemarlo, además de permanecer estable bajo las distintas condiciones en las que opera (Balat, 2011).

##### 4.10.1 Especificaciones estándar para el biodiesel

Debido a que el biodiesel se puede producir a partir de diferentes fuentes y métodos de conversión, se han establecido especificaciones estándar para evaluar su calidad, la cual debe garantizar el buen funcionamiento y la vida útil de los equipos de inyección de combustible en los motores diesel y la satisfacción de los consumidores. La pureza y la calidad del biodiesel es influenciado por numerosos factores como: calidad de la materia prima, composición de ácidos grasos de los aceites vegetales y grasas animales, proceso de producción (y materiales utilizados en éste) y los parámetros de post-producción (Atadashi *et al*, 2010). En Estados Unidos, la especificación ASTM D6751 (ver Tabla 2) es empleada para biodiesel que es usado como componente de mezcla con diesel (la proporción de biodiesel usado en mezclas se indica como B20 20% de biodiesel,



B50 50% de biodiesel) y no pretende tener una especificación para el B100. En Europa, la norma EN 14214 (ver Tabla 3) es más restrictiva y sólo se aplica a los monoésteres de alquilo elaborados con metanol, es decir ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME por sus siglas en inglés) para motores diesel, en donde su contenido mínimo de éster se especifica en 96,5%.

**Tabla 2.** Especificaciones para biodiesel ASTM D6751-01 (B100).

Propiedad	Método ASTM	Limites	Resultados típicos
Punto de inflamación	D93	130 °C min	173 °C
Agua y sedimento	D2709	0.050% vol. max	< 0.025
Viscosidad cinemática, 40 °C	D445	1.9-6.0 min <sup>2</sup> /sec.	3.9
Cenizas sulfatadas	D874	0.020% masa max	0.01
Azufre	D5453	0.05% masa max	0
Corrosión cobre	D130	No. 3 max	1a
Número de cetano	D613	47 min.	52
Punto de turbidez	D2500	Informe a cliente	-1 °C
Residuo de carbono (100% muestra)	D4530	0.050% mass max	< 0.001
Índice de acidez	D664	0.80 mg KOH/gm max	0.14
Glicerina libre	D6584	0.020% masa max	0.02
Glicerina total	D6584	0.240% masa max	0.02
Contenido de fosforo	D4951	0.001% masa max	< 0.000
Destilación Temp., atmosférica equiv. temp., 90% recuperado	D1160	360 °C max	353 °C
Gravedad Especifica	D287	No Requerido	0.86
Fuerza dialéctrica, KV	D877	No Requerido	47
Color		No Requerido	Agua limpia

**Tabla 3.** Especificaciones para biodiesel Norma europea EN 14214.

Propiedad	Unidades	Límite inferior	Límite superior	Método de prueba
Contenido de éster	% (m/m)	96,5	-	EN 14103
Densidad a 15°C	kg/m <sup>3</sup>	860	900	EN ISO 3675 / EN ISO 12185.
Viscosidad a 40°C	mm <sup>2</sup> /s	3,5	5,0	EN ISO 3104
Punto de Inflamación	°C	> 101	-	ISO 3679
Contenido de azufre	mg/kg	-	10	-
Alquitrán remanente ( 10% remanente destilación)	% (m/m)	-	0,3	EN ISO 10370
Número de cetano	-	51,0	-	EN ISO 5165
Contenido de cenizas sulfatadas	% (m/m)	-	0,02	ISO 3987
Contenido de agua	mg/kg	-	500	EN ISO 12937
Contaminación total	mg/kg	-	24	EN 12662
Corrosión banda de cobre (3 h, 50 °C)	Clasificación	Clase 1	Clase 1	EN ISO 2160
Estabilidad térmica	-	-	-	-
Estabilidad a la oxidación, 110°C	Horas	6	-	EN 14112
Índice de acidez	mg KOH/g	-	0,5	EN 14104
Índice de yodo	-	-	120	EN 14111
Metiléster de ácido linoleico	% (m/m)	-	12	EN 14103
Poliinsaturaciones (>= 4 Doble enlaces) Metiléster	% (m/m)	-	1	-
Contenido Metanol	% (m/m)	-	0,2	EN 14110
Contenido Monoglicéridos	% (m/m)	-	0,8	EN 14105
Contenido de Diglicéridos	% (m/m)	-	0,2	EN 14105
Contenido de Triglicéridos	% (m/m)	-	0,2	EN 14105
Glicerina libre	% (m/m)	-	0,02	EN 14105 / EN 14106
Glicerina total	% (m/m)	-	0,25	EN 14105
Metales alcalinos (Na+K)	mg/kg	-	5	EN 14108 / EN 14109
Contenido de fósforo	mg/kg	-	10	EN 14107



#### 4.10.1.1 Densidad relativa

La densidad indica indirectamente la naturaleza química de composición del biodiesel, ya que la densidad de los ésteres metílicos se incrementa a medida que disminuye la longitud de cadena de carbonos y cuando aumenta el número de enlaces dobles en la molécula. La presencia del grupo hidroxilo en la molécula también contribuye a incrementar el valor de esta propiedad. Diversas investigaciones indican que el valor de la densidad para la mayoría de los ésteres metílicos se encuentran dentro del intervalo de 860-900 kg/ m<sup>3</sup> y está ligada a la composición química del aceite (ácidos grasos) y su pureza. (Benjumea et al, 2009). Esta propiedad influye en la facilidad de inyectar el combustible en el motor, por lo que si el biodiesel posee una elevada densidad la inyección será ineficiente (Ramírez-Verduzco *et al*, 2012).

#### 4.10.1.2 Viscosidad cinemática

La viscosidad es una medida de la fricción interna o resistencia de una sustancia a fluir. A medida que la temperatura de la sustancia se incrementa, su viscosidad disminuye y es por lo tanto capaz de fluir más fácilmente (Hoekman *et al*, 2012). Químicamente se sabe que esta propiedad incrementa significativamente con la presencia de grupos OH en la estructura de los alquíésteres. Los alquíésteres de igual cadena de ácido graso obtenidos con alcoholes ramificados presentan viscosidades cinemáticas similares a los alcanzados con alcoholes lineales de igual número de átomos de carbono de molécula. Para los isómeros del ácido oleico es más significativo el efecto de la configuración del enlace doble que su posición de cadena. Los isómeros *trans* presentan viscosidades mayores que los *cis* y ligeramente menores que la de los alquíésteres saturados de igual número de átomos de carbono por molécula (Benjumea *et al*, 2009). Esta propiedad afecta a la operación del equipo de inyección de combustible, especialmente a bajas temperaturas. La alta viscosidad conduce a una menor vaporización del combustible y de un funcionamiento menos adecuado de los inyectores. Los ésteres metílicos de ácidos grasos de aceites de semillas y grasas se han encontrado adecuados para uso como combustible en el motor diesel porque la



transesterificación proporciona una viscosidad al biodiesel próxima a la que presenta el diesel petroquímico (Ramírez-Verduzco *et al*, 2012).

#### 4.10.1.3 Índice de acidez

Es una medida de los ácidos grasos libres contenidos en el biodiesel, se expresa en mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de biocombustible. Esta propiedad se ve influenciada por el tipo de materia prima utilizada y el grado de envejecimiento de la misma, aunque también la acidez puede ser generada durante el proceso de producción. Por lo tanto, el valor del índice de acidez es un parámetro que indica el grado de envejecimiento del combustible durante su almacenamiento, ya que éste valor aumenta gradualmente debido a la degradación de sus componentes. Una acidez mayor provoca problemas en los motores como la corrosión y la formación de depósitos (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.4 Índice de yodo

El índice de yodo se determina midiendo la cantidad de  $I_2$  que reacciona al adicionarse a enlaces dobles carbono-carbono, por lo tanto está directamente relacionado con la insaturación de los ésteres metílicos provenientes de los ácidos grasos de la materia prima para la producción del biodiesel (Hoekman *et al*, 2012). Los combustibles con mayor índice de yodo tienden a polimerizar y formar depósitos en los inyectores, los anillos y las ranuras del pistón, debido a que los ésteres insaturados introducidos en el aceite del motor pueden formar compuestos de alto peso molecular que afectan negativamente a la calidad de lubricación, lo que provoca daños en el motor (Atadashi *et al*, 2010). Sin embargo, los resultados de pruebas de diferentes motores indican que las reacciones de polimerización aparecen en una medida significativa sólo en ésteres de ácidos grasos que contienen tres o más dobles enlaces. Los estándares de calidad internacional del biodiesel han sugerido el limitando contenido de ésteres metílicos de ácidos grasos como el linolénico y los poliinsaturados, estableciendo límites del valor del índice de yodo ya que su grado total de insaturación se expresa por éste (Ferrari *et al*, 2011).



#### 4.10.1.5 Entalpía de combustión

El valor del contenido energético se determina por la combustión completa de una muestra de biodiesel en una bomba calorimétrica que opera bajo ciertas condiciones. Debido a su alto contenido de oxígeno, el biodiesel tiene menor contenido de energía que el diesel proveniente del petróleo, pero éste mejora y facilita el proceso de combustión y disminuye su potencial de oxidación (Atadashi *et al*, 2010).

#### 4.10.1.6 Punto de inflamación

Esta propiedad es una medida de la inflamabilidad del combustible y por lo tanto un criterio de seguridad importante en transporte y almacenamiento. El valor del punto de inflamación del diesel petroquímico corresponde a la mitad del valor del punto de inflamación del biodiesel, lo que hace a este último un combustible seguro (Hoekman *et al*, 2012). El valor del punto de inflamación de biodiesel puro es considerablemente superior a los límites establecidos, pero estos disminuyen rápidamente al aumentar la cantidad de alcohol residual. Debido a que estos dos aspectos están correlacionados, el punto de inflamación se puede utilizar como un indicador de la presencia de metanol en el biodiesel (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.7 Número de cetano

El número de cetano es uno de los parámetros más importantes para caracterizar un combustible que se emplea en un motor diesel. Con éste, se mide qué tan propensa es un combustible de llegar a su punto de autoignición al ser suministrado al motor (Castillo *et al*, 2012). El alto valor del número de cetano está asociado con el arranque rápido del motor y la combustión suave. Un valor bajo de número de cetano provoca un deterioro en éste comportamiento y causa mayores emisiones de escape de gases de hidrocarburos y partículas. El valor del número de cetano aumenta conforme es de mayor la longitud de los ácidos grasos y grupos éster, mientras que está inversamente relacionada con el número de doble enlaces. En general, el biodiesel tiene un mayor número de cetano que el diesel



fósil, en Europa la Norma EN 14214 establece un valor de 51 como límite inferior (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.8 Punto de turbidez

Esta es la medida más utilizada para determinar el funcionamiento del biodiesel a bajas temperaturas, indicando la temperatura en la se forman los primeros cristales sólidos cuando el combustible se enfría. La formación de cristales causa problemas en filtros y en el tanque de almacenamiento ya que se acumulan en la parte inferior. El punto de turbidez del biodiesel suele ser más alto que el del diesel convencional (Biodiesel Handling and Use Guide, 2009).

#### 4.10.1.9 Contenido de azufre

Los combustibles con alto contenido de azufre se han asociado con efectos negativos sobre la salud humana y el medio ambiente, los motores operados con combustibles con alto azufre producen más dióxido de azufre y partículas (Biodiesel Handling and Use Guide, 2009). Por otra parte, los combustibles ricos en azufre causan desgaste del motor y reducen la eficiencia y la vida útil de los sistemas catalíticos. El biodiesel es prácticamente libre de azufre (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.10 Cenizas sulfatadas

El contenido de cenizas describe la cantidad de contaminantes inorgánicos tales como sólidos abrasivos, residuos del catalizador y la concentración de jabones metálicos solubles en el combustible. Estos compuestos se oxidan durante el proceso de combustión formando cenizas lo que provoca depósitos en el motor y taponamiento del filtro (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.11 Contenido de agua y sedimentos

Las normas brasileñas y estadounidenses combinan el contenido de agua y sedimento en un solo parámetro, mientras que la norma europea indica el agua como un parámetro independiente. El contenido de agua en el biodiesel se

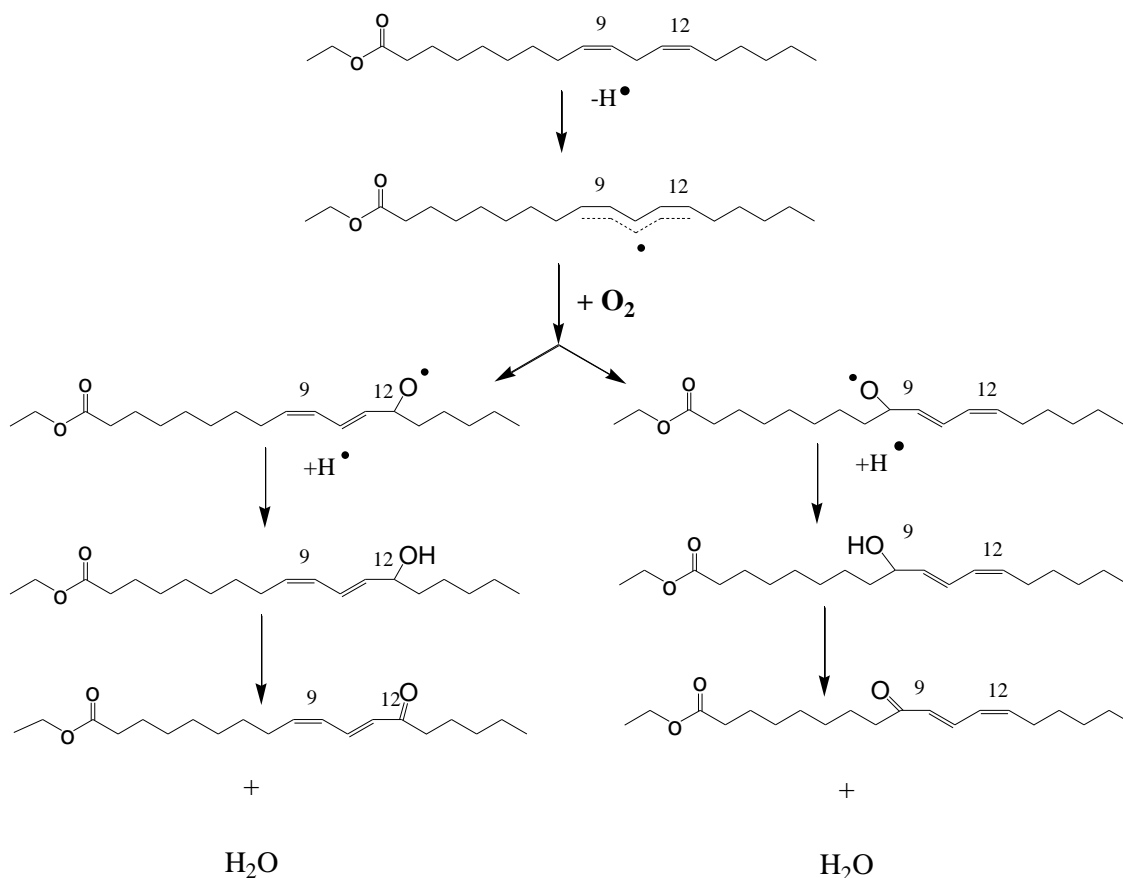


relaciona con la etapa de lavado final durante el proceso de producción por lo que tiene que ser reducido por secado. Sin embargo, incluso los contenidos de agua muy bajos obtenidos directamente después de la producción no garantizan que los combustibles de biodiesel cumplan con las especificaciones durante la combustión, debido a que el biodiesel es higroscópico, puede absorber agua en una concentración de hasta 1000 ppm durante el almacenamiento. Una vez que el límite de solubilidad se supera (a aproximadamente 1500 ppm de agua en los combustibles que contienen 0.2% de metanol), el agua se separa en el interior del tanque de almacenamiento y se acumula en la parte inferior. El agua libre promueve el crecimiento biológico debido a que forma acumulaciones de lodo, puede causar obstrucción de los filtros y las líneas de combustible. Además, un alto contenido de agua también es asociado con reacciones de hidrólisis y la corrosión de cromo y zinc de los componentes de los sistemas del motor (Ferrari *et al*, 2011).

#### 4.10.1.12 Estabilidad de biodiesel y uso de antioxidantes

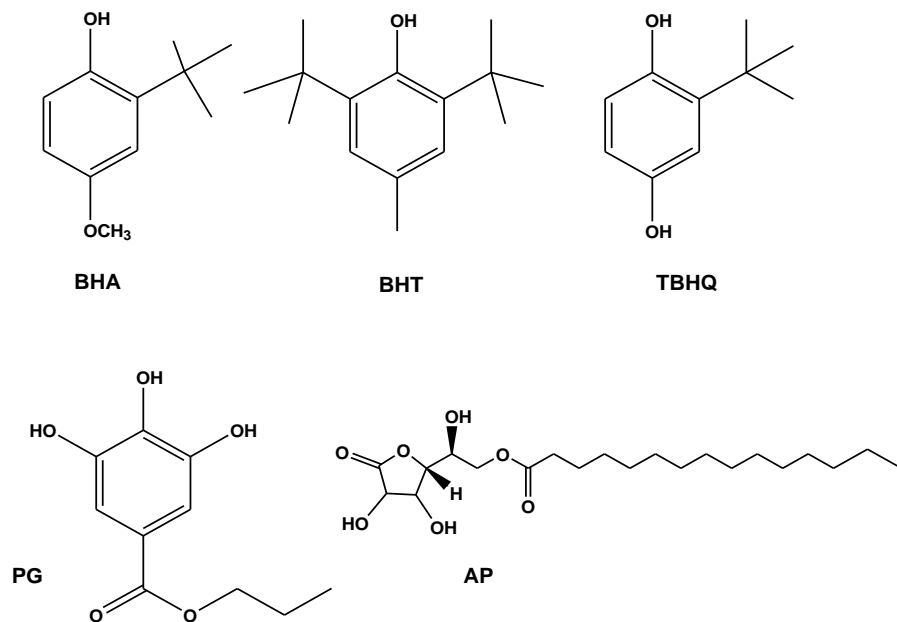
Una de las limitaciones relacionadas con el uso de biodiesel como combustible es su pobre estabilidad a la oxidación, debido a que en su estructura química presenta dobles enlaces, que en presencia de factores como aire, luz y calor producen diversos compuestos. En la Figura 5 se muestra el mecanismo de oxidación, donde los dobles enlaces de los ésteres son susceptibles al ataque de radicales libres. Es importante mencionar que los ésteres provenientes de los ácidos grasos linoleico y linolénico, por la posición de sus dobles enlaces son más susceptibles a estas reacciones (Dos Santos *et al*, 2011).





**Figura 5.** Reacción de oxidación de un éster.

Los antioxidantes naturales como los tocoferoles, esteroides y tocotrienoles pueden encontrarse en proporciones mínimas en la composición de los aceites, pero debido al proceso de producción de biodiesel gran cantidad de ellos se pierde, por lo que es necesario el uso de antioxidantes sintéticos. Entre los más utilizados se encuentran los de origen fenólico: butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terbutilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo (PG) y pirogalol (PA) (ver Figura 6). Estos compuestos retardan las reacciones de oxidación que afectan propiedades como índice de acidez, índice de yodo y viscosidad. Sin embargo, es importante mencionar que las condiciones en las que se almacena el biodiesel, afecta la acción estabilizante de estos (Karavalakis *et al*, 2011)



**Figura 6.** Estructura química de algunos antioxidantes sintéticos.

#### 4.11 Ventajas del uso de biodiesel

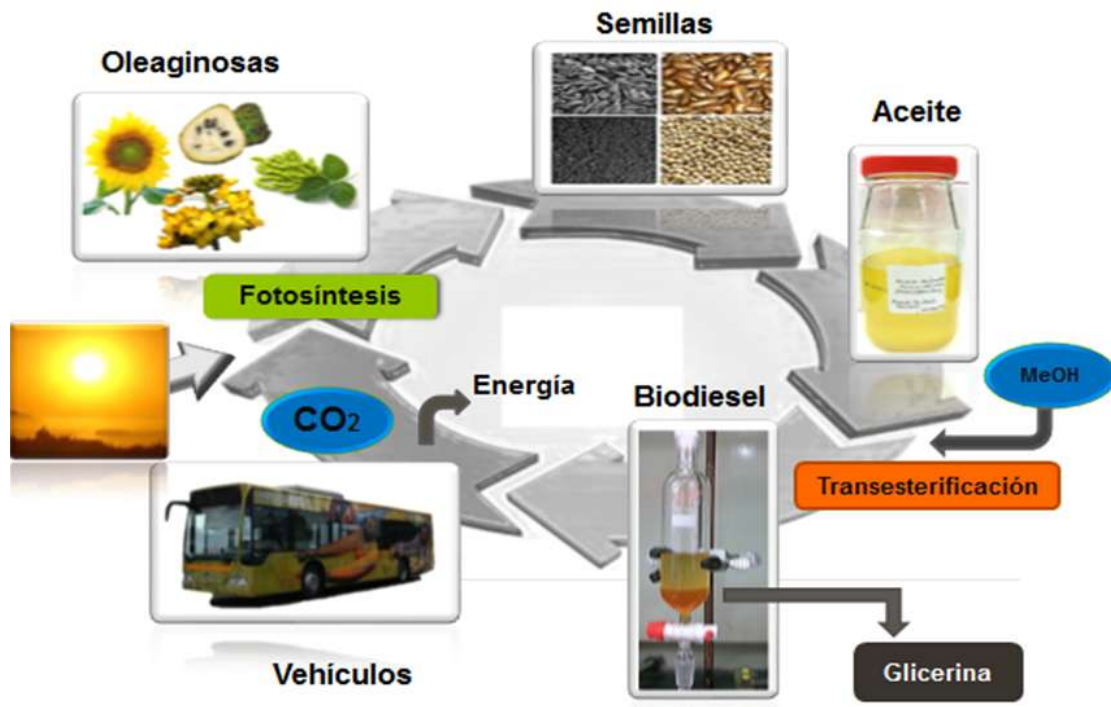
Las principales ventajas de usar el biodiesel es que es un combustible biodegradable y sustentable que contribuye con la generación de la energía a partir de fuentes renovables (Hoekman *et al*, 2012). Se puede utilizar sin modificar los motores existentes produciendo menos emisiones de gases nocivos tales como óxido de azufre y debido a que las propiedades del biodiesel son similares al combustible diesel derivado del petróleo, se pueden mezclar ambos en cualquier proporción (Biodiesel Handling and Use Guide, 2009). Las ventajas con respecto al diesel petroquímico se enlistan a continuación:

- Disponibilidad, el biodiesel se obtiene a partir de fuentes renovables
- Sus emisiones de CO<sub>2</sub> son aprovechado por las plantas
- Biodegradable y sostenible
- Seguridad de almacenamiento, altas características de combustión y bajo contenido de azufre y aromáticos.



#### 4.11.1 Impacto ambiental

El biodiesel reduce en un 78% las emisiones netas de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) sobre una base de un ciclo de vida (Figura 7) en comparación con el combustible diesel convencional (Atadashi *et al*, 2010) El biodiesel al producirse a partir de cosechas de los campos sigue un ciclo que se inicia cuando una oleaginosa está en crecimiento, la cual toma  $\text{CO}_2$  del aire para desarrollar tallos, raíces, hojas y semillas. Después de que el aceite es extraído de sus semillas, se convierte en biodiesel. Cuando el biodiesel se quema, las emisiones de  $\text{CO}_2$  y otros gases se liberan para regresar a la atmósfera. Este ciclo no se suma a la concentración neta de  $\text{CO}_2$  en el aire debido a que las plantas volverán a utilizar el  $\text{CO}_2$  mientras crece. Cuando los combustibles fósiles tales como el carbón o el combustible diesel se queman, el 100% del  $\text{CO}_2$  liberado se suma a los niveles de concentración de  $\text{CO}_2$  en el aire (Biodiesel Handling and Use Guide, 2009).



**Figura 7.** Ciclo del biodiesel producido a partir de oleaginosas.



#### 4.11.2 Costos de producción

Los costos del biodiesel se basan principalmente en el costo de la materia prima y el método de producción. La producción de biodiesel a partir de aceite de palma tiene un costo de alrededor de 0.70 dólares por litro, mientras que el biodiesel producido a partir de aceite de colza puede costar hasta 1.00 dólar por litro. El costo de producción de biodiesel en China, principalmente de aceite residual, oscila entre 0.21 a 0.42 dólares (Timilsina y Shrestha, 2011). La Agencia Internacional de Energía prevé una disminución de los costos de producción de biodiesel de más del 30% en los Estados Unidos y la Unión Europea entre 2005 y 2030, junto con una disminución de los costos de materia prima, ya que pueden encontrarse nuevas alternativas para su producción.

#### **4.12 La chirimoya (*A. cherimola*) como fuente potencial para la producción de biodiesel**

Según datos de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México se ubica entre los cinco primeros países llamados *megadiversos*, que albergan entre 60 y 70% de la diversidad biológica conocida del planeta. La diversidad conjunta de especies del territorio mexicano representa aproximadamente 12% del total mundial; es decir, 12 de cada 100 especies conocidas en el mundo se encuentran en México. Las ventajas de esta gran diversidad para nuestra nación, residen en una mayor gama de opciones del manejo de la riqueza de sus recursos vivos, ejemplo de esto es la agricultura. En este sentido, nuestro país representa el tercero con más extensiones de áreas de cultivo en Latinoamérica, siendo uno de los principales productores de vegetales y frutas, (Valdez *et al*, 2010). Dentro de la producción de frutas, el cultivo de las anonáceas ha tomado importancia económica, por lo que actualmente se producen cerca de 20 000 toneladas anuales siendo las especies más importantes: guanábana, saramuyo, chirimoya y anona (SINEREFI, 2012).

La chirimoya es originaria de los valles altos del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia, sin embargo, se cultiva en casi toda Sudamérica incluyendo México. El



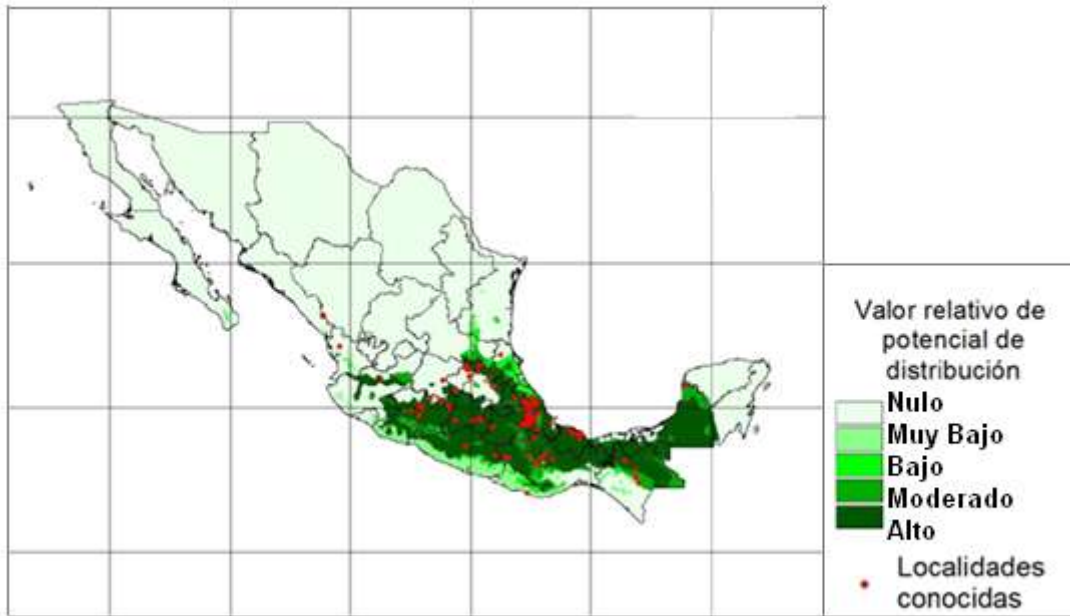
interés comercial en México de la chirimoya ha mejorado, ya que en el año 2011 hubo un aumento en su producción en comparación con el año 2010 (Tabla 4) aunque esta es menor a comparación de la guanábana, que es la anonácea que más se produce en nuestro país. Durante el periodo 2000–2010 la producción de guanábana (*A. muricata*) registró un rendimiento promedio por hectárea de 8.24 Ton con una tasa de crecimiento media anual de 7.15%. El saramuyo (*A. squamosa*), segunda anonácea en importancia, registró un rendimiento promedio por hectárea de 8.5 Ton, la chirimoya (*A. cherimola*) de 5.8 Ton y la anona de 3.54 Ton, con una tasa de crecimiento media anual de -0.78%, 6.68% y -2.71% respectivamente (SINAREFI, 2012).

**Tabla 4.** Producción de chirimoya (*A. cherimola*) en el modo riego y temporal durante el año 2011 en México.

Ubicación	Superficie Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Precio Medio Rural (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
<b>HIDALGO</b>	1.00	1.00	3.50	3.50	2,800.00	9.80
<b>MICHOACAN</b>	43.00	43.00	212.00	4.93	5,283.49	1,120.10
<b>MORELOS</b>	68.00	46.00	393.70	8.56	3,629.28	1,428.85
<b>Total</b>	112.00	90.00	609.20	6.77	4,200.18	2,558.75

Fuente: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SIAP

El cultivo de la chirimoya se encuentra ampliamente distribuido en las regiones subtropicales de nuestro país (CONAFOR, 2011). Se cultiva principalmente en las entidades de Morelos, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Chiapas, Puebla, Hidalgo, San Luis Potosí, Oaxaca, Veracruz, Campeche y Estado de México (Figura 8) (SINAREFI, 2011).



**Figura 8.** Distribución potencial de la chirimoya (*A. cherimola*) en México.

Por otro lado, la chirimoya es una fruta que se consume en fresco y aunque en nuestro país no se aprovecha aún en la industria de alimentos, existen propuestas de su uso para la elaboración de productos. Esta especie, es climatérica porque produce altos niveles de etileno, lo que la hace un fruto muy sensible a daños, esto genera que parte de la producción se pierda (Rivas, 2010). Sin embargo, los residuos generados de su consumo y de la producción dañada, pueden ser aprovechados para la producción de bioenergía, evitando así la contaminación ambiental. Principalmente se pueden aprovechar las semillas para extraer su aceite, ya que representan alrededor del 25% del peso de los residuos. Las semillas de otras especies de anonas (*A. squamosa* y *A. muricata*) han sido reconocidas como materias primas adecuadas para la obtención de biodiesel (Branco *et al*, 2010).



#### 4.12.1 Generalidades del fruto

La familia *Annonaceae* comprende cerca de 2300 especies agrupadas en 130 géneros, se constituye por árboles, arbustos y lianas, se encuentran distribuidas en regiones tropicales de América, Asia y Madagascar (Restrepo y Vinasco, 2010). De ésta familia solo tres géneros producen frutos comestibles: *Asimina*, *Rollinia* y *Annona*. La chirimoya es una de las especies más conocidas de las anonáceas y su nombre deriva del quechua, lengua nativa de los Andes peruanos, esta palabra es traducida como semilla fría (“chiri” significa frío y “moya” semilla). Esta anona fue descrita anteriormente como *Annona chirimoya* o *Annona cherimolia*, en la actualidad se denomina *Annona cherimola* (Castro, 2007).

**Reino:** *Plantae*  
**Filo:** *Magnoliophyta*  
**Clase:** *Magnoliopsida*  
**Sub Clase:** *Magnoliidae*  
**Orden:** *Magnoliales*  
**Familia:** *Annonaceae*  
**Género:** *Annona*  
**Especie:** *Cherimola*



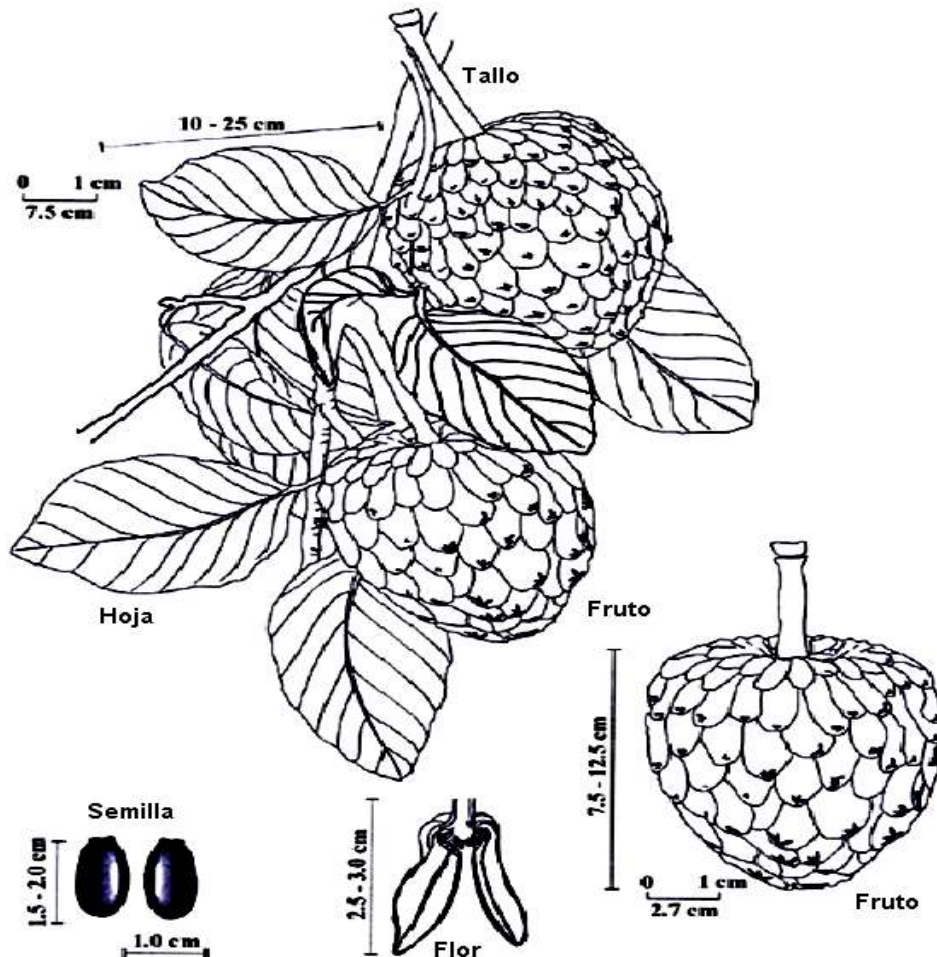
**Figura 9.** Clasificación taxonómica de la *A. cherimola*.

#### 4.12.2 Descripción del fruto y semillas

El fruto es normalmente en forma de corazón, oval y cónico. Este llega a medir de 7.5 a 12.5 cm de longitud y alcanzan un peso de 200 a 700 g (ver Figura 10). La chirimoya es un fruto climatérico produciendo altos niveles de etileno (100-300  $\mu\text{L}/\text{Kg}\cdot\text{h}$ ) durante la maduración a 20°C (Rivas, 2010). La superficie del fruto es suave en algunas variedades, en otros, se cubre con pequeñas protuberancias cónicas en los carpelos. La cáscara de fruta es delicada y fina, y es de color



amarillo verdoso cuando madura. La carne blanca, subácida tiene un sabor fragante y delicado. Las semillas son de color negro o marrón, aplanado y elíptico, el fruto tiene de 21 a 41 semillas / fruto que son de 1.5 a 2.0 cm de largo y aproximadamente 1.0 cm de ancho (Pinto *et al*, 2005).



**Figura 10.** Dimensiones físicas de algunas partes de la planta de *A. cherimola*.

El arbusto o árbol alcanza de 3 hasta 10 m de altura por lo regular 7.5 m de altura, la caída de las hojas inicia a principios de diciembre y termina en marzo aunque algunos ejemplares no presentan una defoliación total. Florece de mediados de febrero a finales de mayo. De abril a septiembre es la etapa de crecimiento del

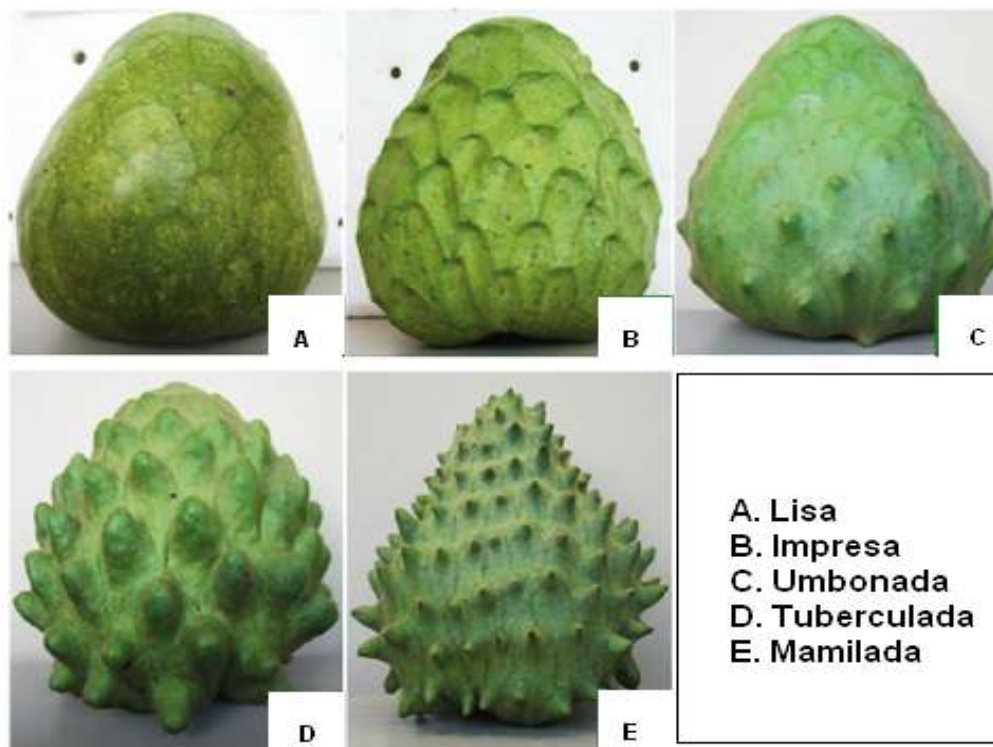




fruto alcanzando su madurez de septiembre a enero (SINAREFI, 2012). En algunas variedades se da el caso en que el óvulo no es fertilizado, por consiguiente el carpelo correspondiente no se desarrolla y en la superficie del fruto se manifiesta una malformación (Pinto *et al*, 2005).

La chirimoya puede tener cinco formas botánicas diferentes, por la forma del fruto y la textura de la cáscara, constituida por carpelos y segmentos externos llamados areolas. Andrés y Andrés, (2011) describen la clasificación de los frutos de acuerdo al relieve formado en la cáscara por la placa o areola (ver Figura 11):

- Forma impresa o *dedo impreso*. El fruto tiene forma conoide o subglobosa, y tiene superficie lisa cubierta con areolas en forma de U parecidas a dedos pintados en cera. El fruto contiene pulpa jugosa y dulce y contiene muchas semillas.
- Forma laevis o *lisa*. Es la forma botánica más finas por dar muy buena presentación a los frutos a nivel comercial, debido a esto la gran mayoría de las variedades son de esta forma.
- Forma tuberculata o *tuberculada*. Esta es la forma más común. El fruto tiene forma de corazón y tiene protuberancias como tubérculos cerca de cada areola.
- Forma mamillata o *mamilada*. Esta forma es llamada “chirimoya de tetillas” en algunos países de América del Sur. Se dice que es común en los montes Nilgiri en el sur de la India, y uno de los mejores tipos cultivados en la isla de Madeira. Forma umbonata o *umbonada*. También llamada “chirimoya de púas” y “anona picuda” en Latinoamérica. Tiene una cáscara gruesa y un sabor más ácido que los otros tipos y con mayor número de semillas. El fruto es oblongo- cónico, con la base algo umbilicada y la superficie repleta de protuberancias, cada una de las cuales corresponde a un carpelo.



**Figura 11.** Formas botánicas de los frutos de chirimoya de acuerdo a su tipo de cáscara.

#### 4.12.3 Composición proximal del fruto y semillas

La composición química de la chirimoya depende de las condiciones climáticas y de crecimiento, Ammo *et al* (2008) indicaron que contiene una gran cantidad de agua y carbohidratos en la pulpa (ver Tabla 5). También registraron que la cantidad de proteínas en el jugo es alta en comparación con otras especies. Este fruto es considerado como una fuente de fibra, especialmente de pectina soluble y celulosa. Entre los minerales que contiene en mayor cantidad son el potasio, sodio y magnesio. Las vitaminas que aporta son: vitamina C, vitamina B1, B2, B3 y vitamina A.



**Tabla 5.** Composición proximal de jugo y semilla de *A. cherimola*.

<b>Componente</b>	<b>Semilla</b>	<b>Jugo</b>
<b>Humedad (%)</b>	9.67 ± 0.23	75.66 ± 0.68
<b>Fibra Cruda (%)</b>	32.46 ± 0.85	7.53 ± 0.59
<b>Grasa Cruda (%)</b>	29.39 ± 0.18	1.56 ± 0.09
<b>Cenizas (%)</b>	0.81 ± 0.18	0.25 ± 0.05
<b>Proteína cruda (%)</b>	17.36 ± 1.73	4.48 ± 0.91
<b>Carbohidratos</b>	10.32 ± 0.43	10.52 ± 0.69
<b>Contenido energético (Kcal)</b>	375.23 ± 0.68	74.04 ± 0.51
<b>Materia seca (%)</b>	90.33 ± 0.20	24.34 ± 0.48
<b>Proteína concentrada (%)</b>	24.62 ± 0.00	12.62 ± 0.20

La cáscara, las semillas y la fibra representan 20.4, 6.5 y 0.6% del peso total de la fruta, del cual la semillas representan un residuo muy importante para su aprovechamiento, debido a su contenido de fibra y grasa cruda con 32.46 % y 29.39 % respectivamente (Rivas, 2010). Restrepo y Vinasco (2010) determinaron que las semillas de *A. cherimola* poseen un contenido de aceite (22%) similar a las semillas de algodón (23%) y la soya (18%) y más alto que el maíz (5%). Además, los análisis fisicoquímicos de los extractos lipídicos, que incluyen la cromatografía de gases, revelan la presencia de ácidos grasos como el oleico, linoleico y linolénico (ver Tabla 6).

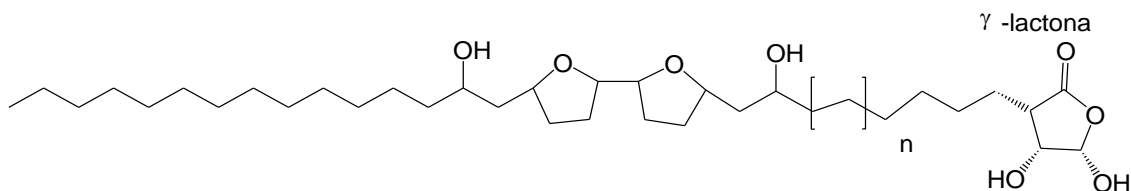


**Tabla 6.** Contenido de ácidos grasos saturados e insaturados de la chirimoya y otras especies vegetales.

Fruto o semilla	Ácidos grasos insaturados (%)	Oleico (%)	Linoleico (%)	Linoléico (%)	Ácidos grasos saturados (%)	Palmítico (%)	Esteárico (%)
Guanábana	67.1	35.1	30.5	1.5	33.7	29.5	4.2
Chirimoya	75.9	50.2	24.2	1.5	22.9	14.8	8.1
Maíz	86.1	26.6	58.7	1.8	13.9	11.5	2.2
Soya	84.6	26.7	51.4	6.5	15.4	11.3	4.1
Oliva	88.0	67.0-81.0	3.5-14.5	0.3-1.2	12.0	-	-
Girasol	90.0	30.0	60.0	4.0	10.0	-	-
Palma	49.8	39.0	10.5	0.1-0.3	50.2	-	-

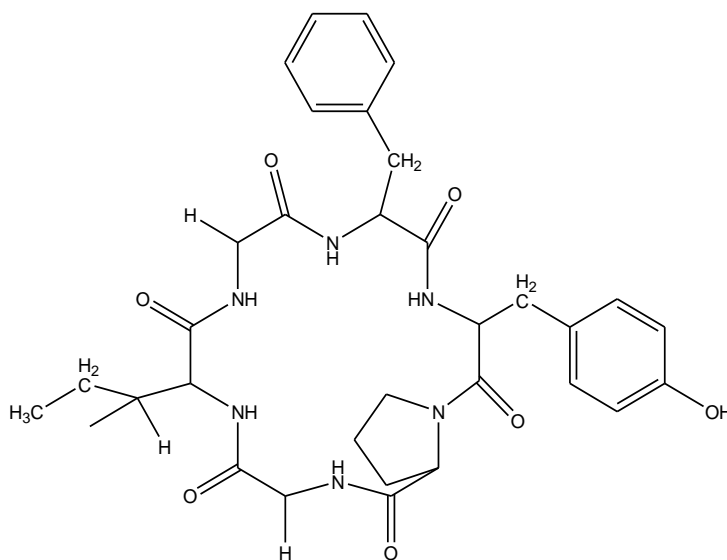
#### 4.12.4 Compuestos bioactivos de la semilla de *A. cherimola*

Los compuestos de interés, por su comprobada actividad biológica presentes en especies de la familia Annonaceae, son un grupo de metabolitos secundarios bioactivos conocidos como acetogeninas (Florez y Mesa, 2007). Estas compuestos poseen un grupo  $\gamma$ -lactónico  $\alpha,\beta$ -insaturado o saturado y uno, dos, o tres anillos tetrahidrofuranicos sobre una larga cadena alquílica (ver Figura 12); las cuales presentan diferentes bioactividades como antitumoral inmunosupresiva, pesticida, antiprotozoal y antimicrobiana, Usualmente las posiciones  $\alpha$  a los anillos son hidroxiladas. Son compuestos de 35 o 37 carbonos de origen policétido, con una cadena alifática que se presenta, según el caso, hidroxilada, cetonzada y/o acetoxilada (Alali *et al*, 1999).



**Figura 12.** Estructura general de una acetogenina.

De las especies de las Annonaceae, se han investigado numerosas acetogeninas aisladas e identificadas tales como la *Uvaracina*, la primera que fue aislada de la planta de *Uvaria accuminata* en 1982, estos compuestos pueden inhibir selectivamente el crecimiento de las células cancerígenas y también inhibir el crecimiento de células resistentes. Las acetogeninas son potentes inhibidores de la NADH ubiquinona oxidoreductasa, que es una enzima esencial en el Complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial (Zeng *et al*, 2004). Por otro lado, diversas investigaciones fitoquímicas de la familia de las anonáceas, han encontrado en sus semillas otros compuestos como los péptidos, los cuales son consideradas como las macromoléculas más prometedoras en la búsqueda de nuevos fármacos, especialmente los de naturaleza cíclica (Figura 13) (Pichhi *et al*, 2009).



**Figura 13.** Estructura química del ciclopéptido Querimolaciclopeptídeo E, aislado de las semillas de *A. cherimola*.



Restrepo y Vinasco, (2010) indicaron las investigaciones más importantes realizadas sobre compuestos bioactivos de la *A. cherimola* y otras especies durante los últimos veinte años entre las que destacan:

- 1) Dos nuevas acetogeninas adyacentes bis-tetrahidrofuránicas, citotóxicas, denominadas molvizarin y motrilin, han sido aisladas del extracto metanólico de las semillas de *A. cherimola* (Cortés *et al*, 1991).
- 2) Dos nuevas acetogeninas no adyacentes bis-tetrahidrofuránicas, cherimolin-2 y almunequin, han sido aisladas del extracto metanólico bioactivo de las semillas de *A. cherimola* (Cortés *et al*, 1993).
- 3) El extracto de la *A. muricata* fue el de mayor potencia citotóxica antitumoral entre los extractos de varias Anonáceas estudiadas; este efecto fue medido en el carcinoma de ovario humano SKVO3, el de faringe humano Fadu, el de útero humano HeLa, el de laringe humano y en el cultivo primario de fibroblasto humano (Amaro *et al*, 1998).
- 4) El extracto metanólico de *A. cherimolia* mostró alta actividad antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans* (Navarro *et al*, 2003).
- 5) Un heptapéptido cíclico (cherimolacyclopeptide D), se aisló y se purificó por HPLC con tres péptidos cíclicos conocidos, cherimolacyclopeptides A, B y C (Wele *et al*, 2005).
- 6) El ciclopéptido denominado cherimolacyclopeptide G, fue aislado de las semillas de *A. cherimola* (Wele *et al*, 2006).

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1 Material vegetal**

Las semillas de *Annona cherimola* (2920.4 g) fueron colectadas en el estado de Michoacán entre diciembre de 2011 y enero de 2012 y donadas por la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C, Ignacio Zaragoza Núm.5, Coatepec Harinas, Estado de México, C.P. 51700, MÉXICO.

### **5.2 Selección y limpieza de las semillas**

La selección consistió en retirar aquellas semillas que presentaban un daño físico, posteriormente se lavaron con agua para retirar residuos de pulpa y suciedad. Una vez limpias se colocaron sobre papel adsorbente y se dejaron secar a la sombra durante tres días.

### **5.3 Determinación de características físicas de las semillas**

Se tomó una muestra de 30 semillas de chirimoya, cada una se pesó en una balanza analítica, se midió su longitud, ancho y grosor empleando un Vernier. Luego se separó físicamente la cáscara de la almendra con la ayuda de unas pinzas, la almendra de cada semilla se pesó en una balanza analítica y se midió su longitud, ancho y grosor con un Vernier. Con los datos obtenidos de cada dimensión se calculó la media, desviación estándar y coeficiente de varianza.

### **5.4 Extracción del aceite de las semillas**

Al resto de las semillas se les quitó la cáscara con unas pinzas, obteniéndose tanto la almendra y cáscara por separado. Se guardó una cantidad de almendra y otra de cáscara para su uso posterior, el resto se molió en una licuadora. La extracción del aceite se realizó mediante dos métodos: Soxhlet y maceración, como se muestra en la Figura 14.



- Método de Soxhlet

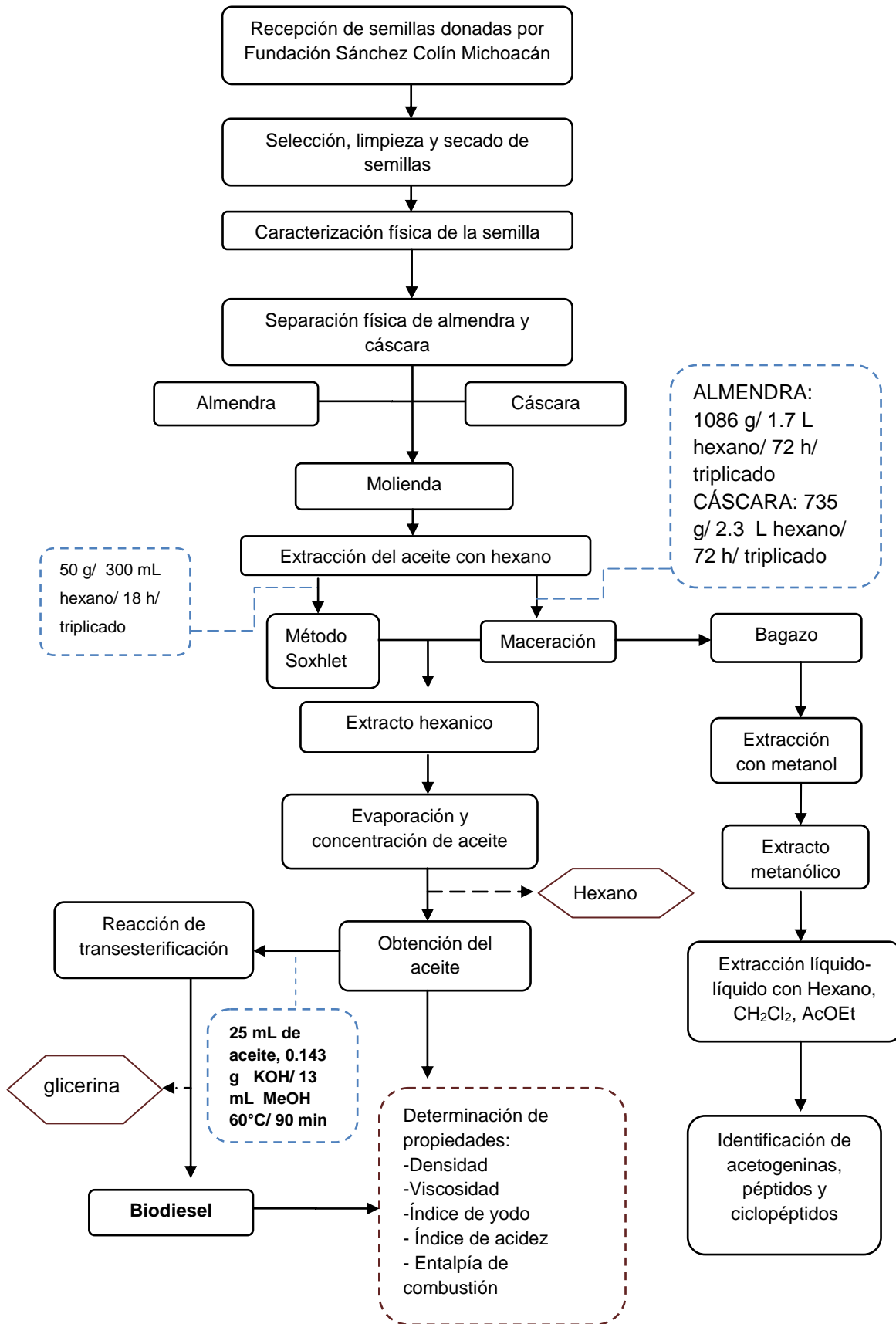
Para la extracción del aceite tanto de la almendra como de la cáscara, se tomó una muestra molida de 50 g, la cual se colocó en un cartucho de papel filtro y se introdujo en la cámara de Soxhlet. La extracción se realizó durante 18 h utilizándose como disolvente 300 mL de hexano. El extracto hexánico se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró. Finalmente se evaporó el disolvente empleándose un evaporador rotatorio, el volumen del aceite obtenido se midió en una probeta y se pesó en una balanza analítica para calcular el rendimiento. Esta extracción se realizó por triplicado tanto para la almendra como para la cáscara.

- Método de extracción por maceración

Para la extracción del aceite de la almendra se utilizó 1086 g de muestra molida, la cual se colocó en un recipiente de vidrio de una capacidad de 5 L, posteriormente se adicionó 1.5 L de hexano y se dejó reposar por 3 días. Pasado el tiempo de reposo, se decantó el extracto hexánico del bagazo y se filtró para evaporar el disolvente en el evaporador rotatorio. Se efectuaron tres extracciones más, utilizándose 700 mL de hexano en cada una. Se juntó las fracciones de aceite correspondiente a las cuatro extracciones, se midió el volumen en una probeta y se pesó para obtener el rendimiento.

Para la extracción del aceite de la cáscara se utilizó 735.51 g de muestra molida, y se efectuaron tres extracciones con 2.3 L de hexano.





**Figura 14.** Metodología general de la extracción del aceite de las semillas de *A. cherimola* y su conversión a biodiesel.



### 5.5 Obtención de biodiesel a partir del aceite de *A. cherimola*

Para la obtención del biodiesel, la reacción de transesterificación se realizó con el aceite extraído de la almendra de *A. cherimola* por los métodos de Soxhlet y maceración, de acuerdo a lo mostrado en la Figura 16. En un matraz de dos bocas de 50 mL y de fondo plano se colocó una cantidad aproximada de 0.143 g (0.0025 mol) de hidróxido de potasio y 13 mL (0.3217 mol) de metanol anhidro, se calentó con agitación para disolver y posteriormente se adicionó 25 mL (0.0230 mol) de aceite. Para llevar a cabo la reacción de transesterificación, se colocó un exceso de metanol siguiendo una relación molar 1:12 con respecto a la molécula de triglicérido, esto para favorecer la formación de los productos (Sharma *et al*, 2008). Esta mezcla se calentó a una temperatura constante de 60°C con agitación y con refrigerante durante 60 min (Figura 15). Para observar el producto formado durante el desarrollo de la reacción, se siguió por monitoreos cada 30 min por cromatografía en capa delgada por medio de placas (TLC Silica Gel 60 F<sub>254</sub>), tomándose como referencia una muestra de aceite y como eluyente una mezcla de Hexano/AcOEt/AcOH (9:1:0.1), revelándose la placa en una cámara de yodo.

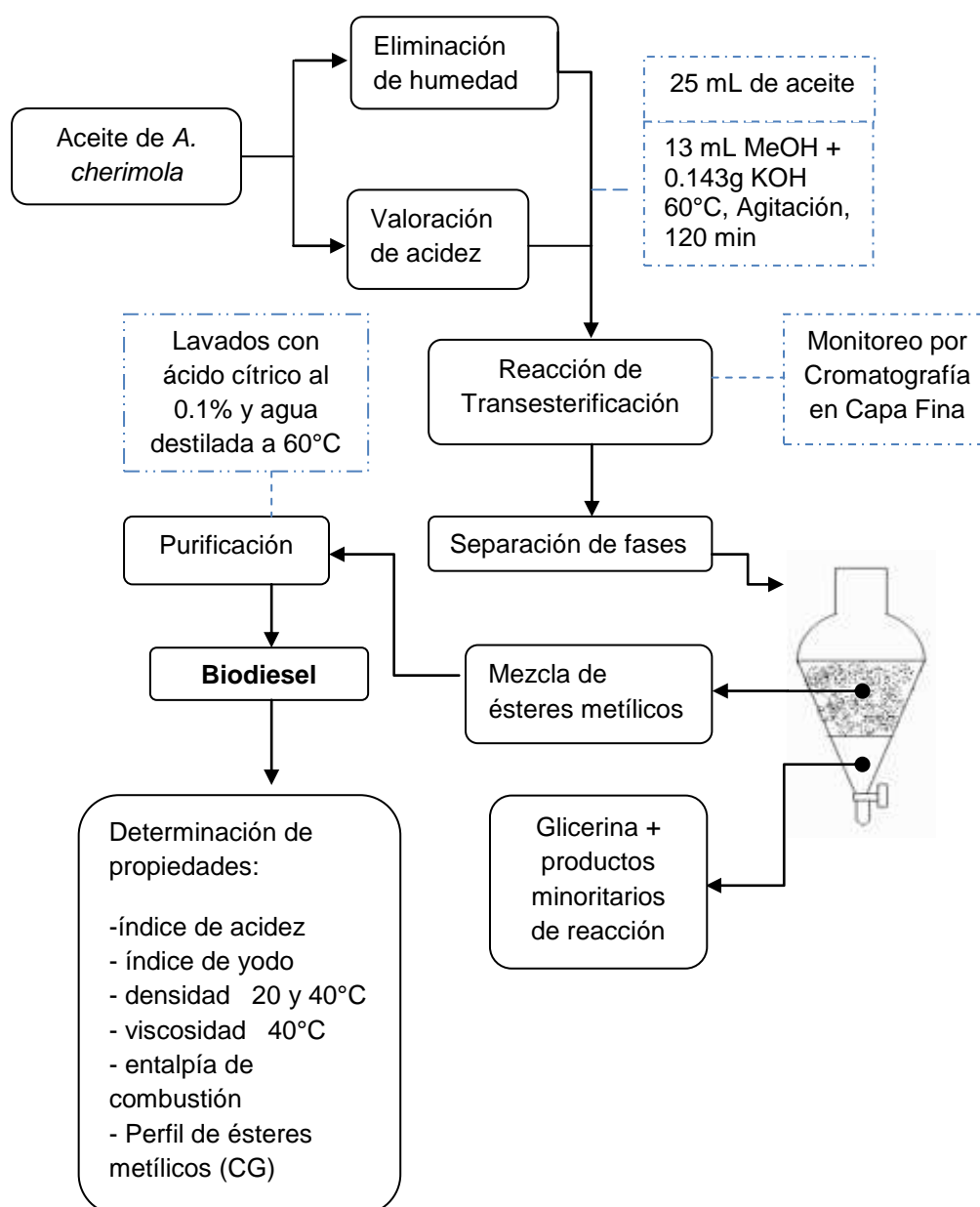


**Figura 15.** Equipo utilizado durante la reacción de transesterificación.

Al término de la reacción se dejó enfriar la mezcla, luego se vació en un embudo de separación y se dejó reposar toda la noche. Para separar los dos productos de la reacción, primero se separó la parte inferior (glicerina cruda) y la parte superior (biodiesel crudo) se lavó con dos porciones de 10 mL de ácido



cítrico al 0.1% y posteriormente con dos porciones de 20 mL de agua a 60°C. Finalmente el biodiesel se secó con sulfato de sodio anhidro y se midió su volumen para obtener rendimiento. Para la conversión del aceite extraído por Soxhlet se utilizó un volumen de 20 mL y un tiempo de reacción de 120 min siguiéndose los pasos ya descritos. Con fines de comparación, también se obtuvo biodiesel a partir de aceite de canola (Maravilla ®) siguiéndose los pasos ya descritos.



**Figura 16.** Metodología para la obtención de biodiesel de *A. cherimola*.



### 5.6 Caracterización del aceite y biodiesel obtenidos de *A. cherimola*

Al aceite y biodiesel obtenidos se le estimaron las siguientes determinaciones:

- Densidad relativa

Al aceite de la almendra se le determinó la densidad relativa empleando el método oficial MGA 0251, descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Este método consistió en determinar la relación entre el peso de la muestra y el peso del mismo volumen de agua destilada a una temperatura de 20° C, como lo indica la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{D}{C}$$

Donde D es la peso de la muestra de aceite (g) y C el peso del mismo volumen de agua (g) a 20° C.

El procedimiento consistió en pesar agua destilada en un picnómetro de 10 mL a 20° C (Figura 17), luego se secó el picnómetro con etanol y éter, posteriormente se colocó el aceite en éste y se pesó a la misma temperatura. Esta determinación se realizó por triplicado, calculándose la media y la desviación estándar.



**Figura 17.** Medición de la densidad de aceite de *A. cherimola* con picnómetro.



- Índice de acidez

A 1 g de muestra se le adicionó 10 mL de etanol agregándose tres gotas de fenolftaleína como indicador, se calentó hasta llegar a 50° C y una vez alcanzada esta temperatura se tituló con una solución valorada de hidróxido de potasio 0.00839 N y usándose agitación vigorosa hasta alcanzar una coloración rosa pálido que fuera estable por lo menos 30 segundos. Se registró el volumen utilizado de la solución valorada de KOH 0.00839 y se estimó el cálculo para obtener el valor de índice de acidez usándose la siguiente ecuación:

$$\text{índice de acidez} = \frac{(mL\ KOH)(Normalidad\ KOH)(52.102\ mg\ KOH)}{g\ muestra}$$

Donde el índice de acidez se expresa en mg KOH/ g de muestra.

Esta determinación se realizó por triplicado para las muestras de aceite y biodiesel, una vez calculado el valor de índice de acidez, se calculó la media y desviación estándar. Para el aceite obtenido de la cáscara por Soxhlet se utilizó 0.1 g de muestra y solución de KOH 0.00839 N.

- Índice de yodo

En un matraz de yodo de 250 mL se pesó 0.1 g de muestra, luego se cubrió con papel aluminio asegurándose de que no hubiera ningún paso de luz, luego se adicionó 10 mL de diclorometano y 10 mL de reactivo de Wijs, el matraz se tapó y se dejó reposar 30 min en la oscuridad. Pasado el tiempo de reposo, se adicionó 10 mL yoduro de potasio al 10% y 100 mL de agua destilada previamente hervida, posteriormente se tituló con una solución de tiosulfato de sodio valorada 0.1014 N hasta alcanzar una coloración de color amarillo paja para agregar 1 mL de solución de almidón como indicador y continuar la titulación hasta que la solución fuera incolora, finalmente se registró el volumen de tiosulfato de sodio 0.1014 N utilizado. Para determinar el valor de índice de yodo, también se realizó la titulación de 10 mL de reactivo de Wijs (sin adicionar muestra) con los pasos ya



descritos, obteniéndose el volumen de tiosulfato de sodio 0.1014 N gastado como blanco. La ecuación utilizada para calcular el valor del índice de yodo es la siguiente:

$$\text{índice de yodo} = \frac{(V_2 - V_1)(127 \text{ g } I_2)(N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_4)(100)}{\text{Peso de muestra (g)}}$$

Donde  $V_2$  es el volumen de tiosulfato de sodio gastado por el blanco,  $V_1$  el volumen de tiosulfato de sodio gastado en la titulación de la muestra. Esta determinación se hizo por triplicado para las muestras de aceite y biodiesel, una vez calculado el valor de índice de yodo, se calculó la media y desviación estándar.

- Determinación de viscosidad cinemática

La medición se realizó con un viscosímetro de rotación SVM Stabinger 3000 de la empresa Anton Paar, la cual está basada en una medición de torque y de revolución a través de un imán en rotación. Se utilizó una muestra no mayor a 3 mL, que fue inyectada y transportada a una celda de medición, la cual está equipada con un tubo en rotación con régimen constante. En la muestra, quedó flotando el rotor de medición (con el imán integrado), que por su baja densidad se centró por la fuerza centrífuga. El rotor al flotar libremente con la ausencia de fricción, permitió que la cantidad de muestra inyectada tuviera un cambio rápido de temperatura (*Peltier*). Al poco tiempo de iniciar la medición, el rotor alcanzó un régimen estable, que es determinado por el equilibrio entre el efecto de frenado de la corriente inducida y las fuerzas propulsoras de cizallamiento de la prueba. En el viscosímetro automáticamente, con el régimen del rotor se calculó la viscosidad dinámica y luego al hacerse una relación con la medición de la densidad, se estimó el valor de la viscosidad cinemática.



- Entalpía de combustión

Se determinó con una bomba calorimétrica marca Parr, modelo 1108 con termómetro digital marca Erco-Hart modelo 850. Se pesó aproximadamente 1 g de muestra en la cápsula y se montó en el porta muestra, se colocó el alambre de ignición de manera que solo tuviera contacto con la muestra evitando tocar las paredes de la capsula (ver Figuras 18 y 19) posteriormente se adicionó al vaso de la bomba calorimétrica 1 mL de agua destilada, se cerró y se alimentó con 30 atm de oxígeno. Se pesó 2 kg de agua destilada y fueron colocados en el recipiente destinado a ello y se colocó en la camisa adiabática del calorímetro. Antes de introducir la bomba calorimétrica en la camisa adiabática se determinó la diferencia entre la temperatura del agua contenida y la temperatura ambiente la cual no debería rebasar más de 1.5 °C para no tener variaciones que afectaran la medición de temperatura. Una vez realizado esto se introdujo la bomba calorimétrica y se conectaron los cables de cátodo y ánodo, luego se procedió a cerrar la camisa adiabática registrándose la temperatura cada 30 segundos durante 2 minutos, posteriormente se inició la agitación para homogenizar la temperatura de sistema, se registró la temperatura cada 30 segundos durante cinco minutos hasta que la temperatura fuera estable, en este punto se inició la ignición y se registró el aumento de la temperatura cada 20 segundos hasta su punto máximo, posteriormente se registró durante cinco minutos cada 30 segundos la disminución de la temperatura. Los datos registrados fueron utilizados para realizar una gráfica de temperatura vs tiempo y localizar en ésta la temperatura estable antes de la ignición y el punto más alto de temperatura registrado después de la ignición. Estos datos fueron utilizados para calcular la entalpía de combustión usándose la siguiente ecuación:

$$\Delta H = \frac{K(T_2 - T_1) - e}{g \text{ muestra}}$$

Donde  $\Delta H$  es la entalpía de combustión (cal /g muestra),  $K = 2\,475.1350$  (cal/°C),  $e =$  factor de corrección (cal). Luego  $\Delta H$  se expresó en KJ/ g muestra, usándose el factor de conversión 1 caloría = 4.184 Joules.

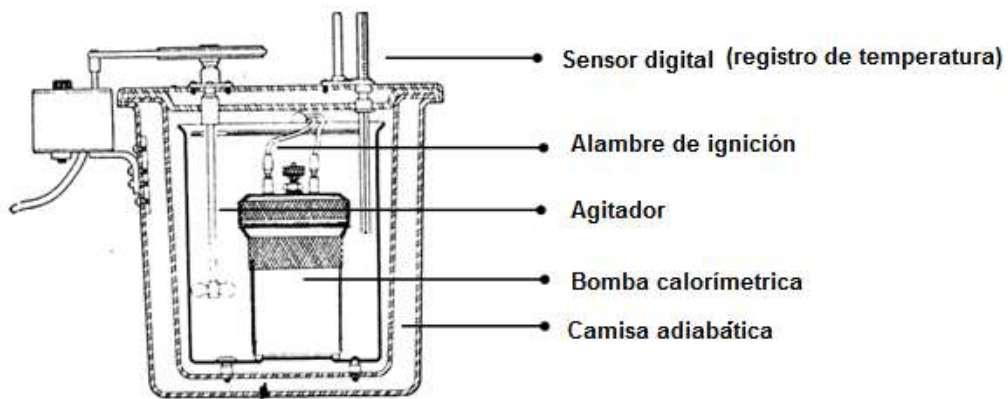


Figura 18. Componentes del calorímetro.

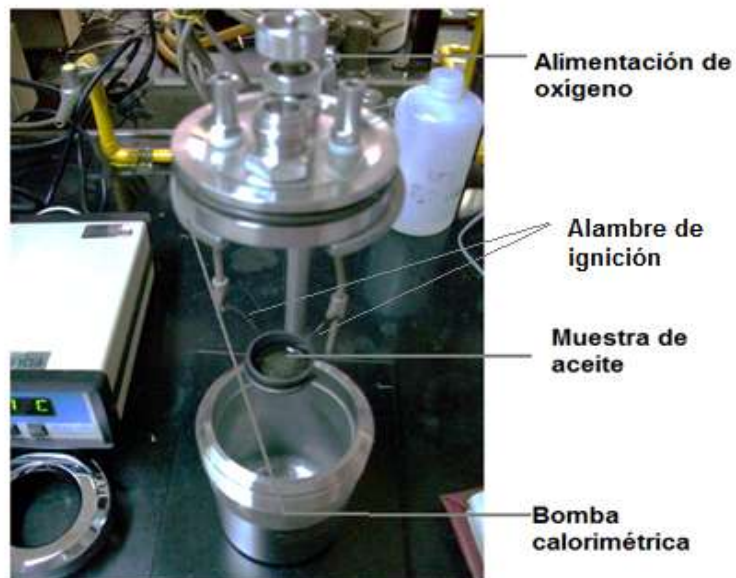


Figura 19. Bomba calorimétrica con la muestra de aceite de *A. cherimola*.





- Determinación del perfil de ésteres metílicos de los ácidos grasos del biodiesel.

Se realizó esta determinación en el Laboratorio de cromatografía del Instituto de Química de la UNAM, usándose un equipo Agilent 6890 y una columna FAME (30m x 0.25 mm con 0.25 mm de espesor de película), con una programación de temperatura de horno inicial de 180°C 15 min, 10°C/min hasta temperatura final de 230°C y flujo hidrógeno con caudal de 1.8 mL/min modo Split y presión de 40 psi, temperatura detector de 275°C e inyector 250°C. Como referencia se usó una muestra estandarizada de ésteres metílicos (ESTERES FAME2). Una vez corridas las muestras, se determinó en el cromatograma de gases, el tiempo de retención para la identificación de los picos correspondientes a cada éster metílico y su porcentaje de área.

### **5.7 Tratamiento del bagazo de las semillas con metanol**

Después de la extracción del aceite por el método de maceración, el bagazo se pesó, una porción se guardó para su uso posterior y el resto se sometió a maceración con metanol.

- Tratamiento del bagazo de la almendra

Se pesó 493 g de bagazo de la almendra la cual se colocó en un recipiente de vidrio de una capacidad de 5 L, posteriormente se adicionó un volumen de 1.35 L de metanol y se dejó reposar por 3 días para la primera extracción. Pasado el tiempo de reposo, se decantó el extracto metanólico del bagazo y se filtró para evaporar el disolvente en el evaporador rotatorio. Se efectuaron dos extracciones más utilizándose 975 mL y 930 mL de metanol respectivamente. Finalmente se juntaron las tres porciones del extracto metanólico de la almendra, se midió el volumen en una probeta y se pesó para obtener el rendimiento.



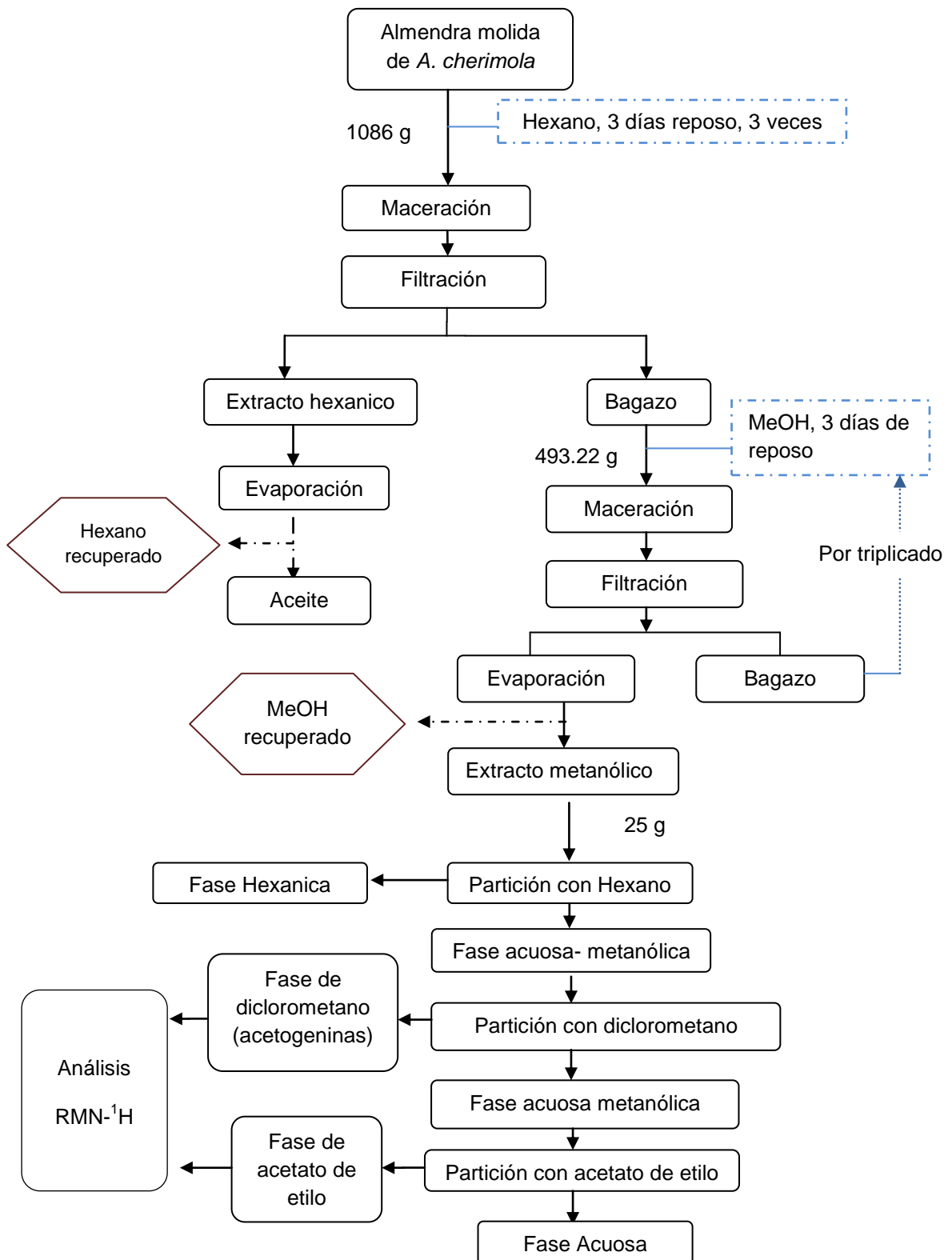
- Tratamiento del bagazo de la cáscara

Se tomó 700 g de bagazo de cáscara se realizó 3 extracciones con de 1.7 L. Se juntaron las tres porciones del extracto metanólico de la cáscara, se midió el volumen en una probeta y se pesó para obtener el rendimiento.

### **5.8 Partición del extracto metanólico (extracción de acetogeninas)**

Se tomó una porción de extracto metanólico (5 g de extracto cáscara y 25 g de extracto almendra) para realizar una extracción líquido- líquido y purificar de esta forma las acetogeninas. El extracto se colocó en un embudo de separación de capacidad suficiente, se agregó 100 mL de agua y 50 mL de hexano para obtener la partición hexanica (se hizo por triplicado). A la fase metanólica-acuosa se le agregó 50 mL de diclorometano para obtener la partición correspondiente (x3). Finalmente a la fase metanólica-acuosa resultante se le agregó acetato de etilo para obtener la última partición (x3), luego cada una de estas fases se evaporaron y concentraron en el evaporador rotatorio, se pesaron y se calculó su rendimiento (ver Figura 20).

Para la identificación de las acetogeninas, se tomó una muestra de 0.0050g de las particiones correspondientes a la fase de diclorometano y acetato de etilo para realizar un análisis de resonancia magnética nuclear (RMN  $^{-1}$  H), éste se llevó a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, UNAM, usándose un espectrómetro Varian modelo Unity Inova 300 Autosuitable con frecuencia de 300 MHz y empleándose tetrametilsano (TMS) como referencia interna y como solvente  $\text{CDCl}_3$  deuterado.

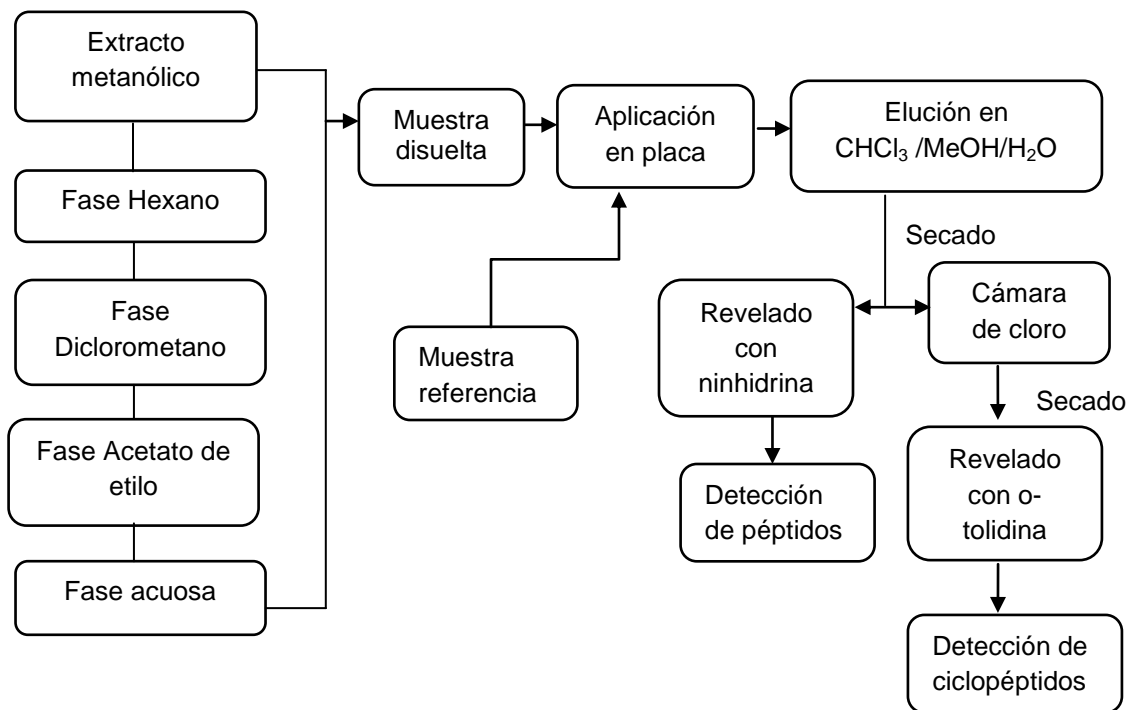


**Figura 20.** Metodología para la obtención de acetogeninas en el extracto metanólico.



### 5.9 Detección de aminoácidos, péptidos y ciclopéptidos en el extracto metanólico

A partir del extracto metanólico y de las particiones obtenidas de éste (fase hexano, fase de diclorometano, fase acetato de etilo y fase acuosa) se realizó la identificación de péptidos y ciclopéptidos. La técnica para la detección de péptidos que se utilizó fue cromatografía en capa delgada, se comparó la muestra de extracto con referencias de aminoácidos y un ciclopéptido para confirmar la posible presencia de compuestos de este tipo. Se realizó la prueba de Ninhidrina para detectar la presencia de aminoácidos o péptidos y la prueba de  $\text{Cl}_2/\text{o}$ -tolidina para la detección de ciclopéptidos (Figura 21).



**Figura 21.** Diagrama de detección de péptidos y ciclopéptidos en el extracto metanólico de *A. cherimola* y sus particiones correspondientes.



- Preparación de reveladores y eluyente para la detección de péptidos y ciclopéptidos.

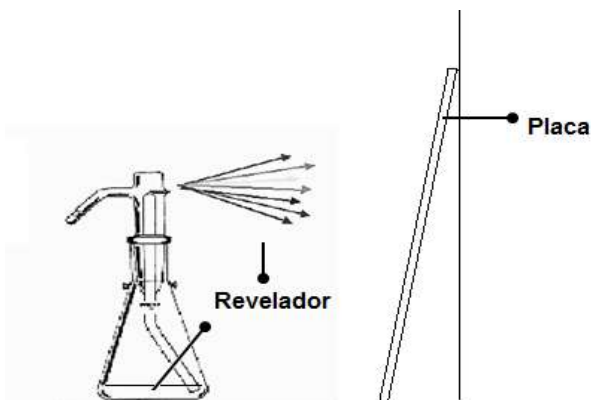
Solución de Ninhidrina: Se pesó 0.0868 g de ninhidrina y se disolvió en 15 mL de n-butanol y 0.45 mL de ácido acético.

Solución de o-tolidina: Se pesó 0.04 g de o-tolidina y se disolvió en 7.5 mL de ácido acético glacial y 125 mL de agua, se agregó finalmente 0.25 g de yoduro de potasio.

Eluyente: Solución de  $\text{CHCl}_3$ / MeOH/  $\text{H}_2\text{O}$  (5:4:1).

- Detección de aminoácidos y péptidos por Cromatografía de Capa Delgada (CCD).

En una placa se aplicó una muestra del extracto metanólico de la almendra de *A. cherimola* y de sus particiones correspondientes, como referencia se aplicaron aminoácidos como la glicina, valina, aspartame, isoleucina, fenilalanina y metionina. Una vez secas las placas, se eluyeron en una cámara con la solución de  $\text{CHCl}_3$  /MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (5:4:1). Para la detección de los péptidos se procedió a revelar las placas con la solución de ninhidrina por medio de aspersion (Figura 22), posteriormente se calentaron en una parrilla hasta que apareciera una coloración rojiza-purpura que indica la reacción de la ninhidrina con las cadenas terminales de péptidos y aminoácidos libres.

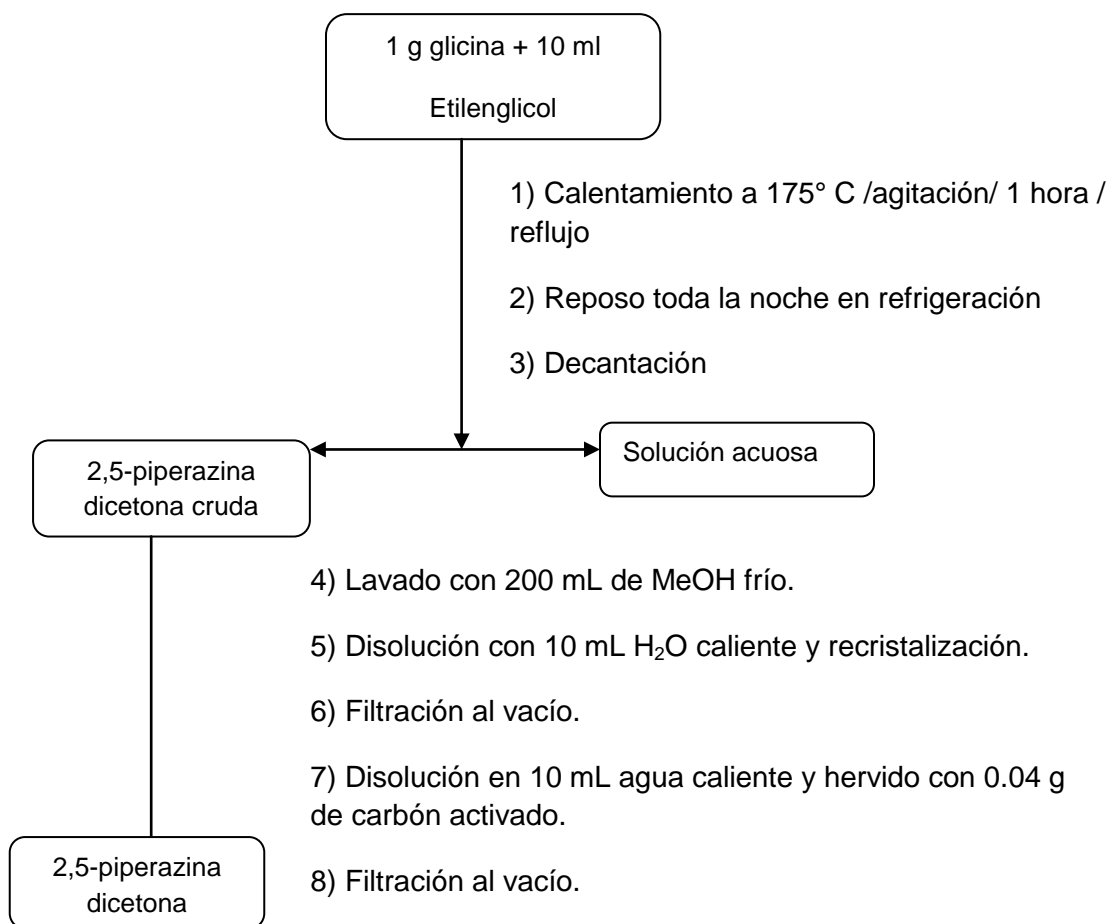


**Figura 22.** Revelado de placas por aspersion.



- Detección de ciclopéptidos por Cromatografía de Capa Delgada (CCD).

Para realizar la detección de ciclopéptidos se sintetizó el ciclopéptido 2,5-piperazina dicetona a partir de la glicina (Furniss *et al*, 1989). En la Figura 23 se muestra el diagrama de flujo para su síntesis:



**Figura 23.** Diagrama de flujo de la síntesis de la 2,5- piperazina dicetona a partir de la glicina.



Para confirmar la síntesis del ciclopéptido, se hizo la prueba de ninhidrina aplicándose una muestra del compuesto en una placa cromatográfica y como referencia una muestra de un aminoácido. Esta prueba es negativa para ciclopéptidos, ya que al no tener un aminoácido terminal, la ninhidrina no reacciona y por lo tanto no hay presencia de coloración.

Para la detección de ciclopéptidos se aplicó en una placa la muestra de extracto metanólico y sus particiones correspondientes, como referencia el ciclopéptido sintetizado (2,5- piperazina dicetona) y una muestra de un aminoácido. La placa fue eluida con la solución de  $\text{CHCl}_3$  /MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ , una vez seca se puso en una cámara de cloro por 5 min. Luego se procedió a reposar la placa aproximadamente por 5 horas para retirar el  $\text{Cl}_2$  en exceso, para confirmar esto se aplicó una pequeña cantidad de revelador (solución de o-tolidina) con la punta de una espátula en alguna parte, por lo que antes de proceder a revelar toda la placa esta no debía presentar coloración azul en exceso. Una vez confirmado que el  $\text{Cl}_2$  no estuviera en exceso, se procedió a revelar la placa con la solución de o-tolidina por aspersion y se dejó evaporar sin calentar. Finalmente para confirmar la presencia de ciclopéptidos en cada muestra se observó una coloración azul en las marcas eluidas.

#### **5.10 Estudio computacional de la reacción de transesterificación**

Se estudió la reacción de transesterificación básica de triglicéridos. Los cálculos se llevaron a cabo con el programa de modelado molecular PcSpartan 08 (Wavefunction, Inc.), implementado en un Servidor Opteron Dual Core.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Caracterización física de la semilla de *A. cherimola*

Las semillas de la chirimoya (*A. cherimola*) poseen una coloración de café oscuro brillante a negro, forma ovoide, alargada y aplastada, constituida de cáscara y almendra (Ver Figura 24), cuyas dimensiones se muestran en la Tabla 7. El peso promedio de la almendra es de  $0.30 \pm 0.05$  g, representando así el 60.90% del total de la semilla.

**Tabla 7.** Caracterización física de las semillas de la chirimoya (*A. cherimola*).

Característica	Semilla*	Almendra*
<b>Largo (cm)</b>	$1.87 \pm 0.13$	$1.39 \pm 0.13$
<b>Ancho (cm)</b>	$1.05 \pm 0.06$	$0.70 \pm 0.04$
<b>Grosor (cm)</b>	$0.66 \pm 0.06$	$0.57 \pm 0.06$
<b>Peso (g)</b>	$0.50 \pm 0.07$	$0.30 \pm 0.05$

\*Promedio de 30 semillas

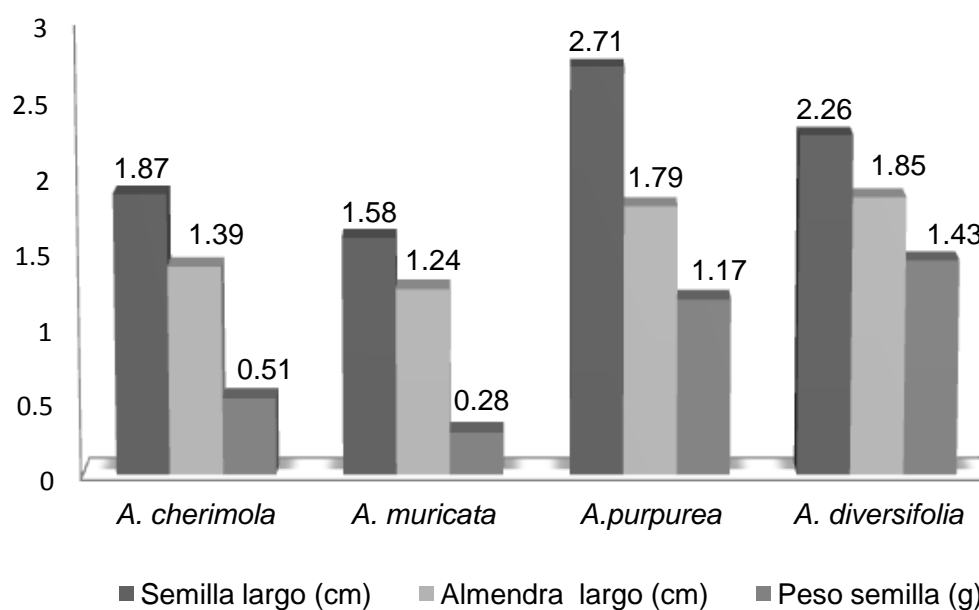


**Figura 24.** Aspecto de las semillas de *A. cherimola*.





Al comparar los datos obtenidos del tamaño de las semillas de *A. cherimola* con otras tres especies de la familia Annonaceae: *A. muricata*, *A. purpurea* y *A. diversifolia*, la *chirimoya* es una de las especies con semillas más pequeñas y con menor peso (ver Gráfica 6).



**Gráfica 6.** Tamaño y peso de las semillas de *A. cherimola* y otras especies de la familia Annonaceae.

Por otro lado, diversos estudios muestran que algunas especies de las anonáceas como la *chirimoya*, contienen una cantidad considerable de semillas (Egydio y Dos Santos, 2011). Las semillas (de 21 a 45 en cada fruto) de *A. cherimola* representan hasta el 6.5 % del peso total (Pinto *et al*, 2005), estas constituyen un residuo muy valioso para ser aprovechado.



## 6.2 Obtención de los aceites de la semilla de *A. cherimola*

El rendimiento del aceite de la chirimoya se ve afectado por el método y temperatura de extracción empleados. Ammo *et al* (2008) registraron un rendimiento promedio de 29.39% de grasa cruda para especies de chirimoya provenientes de Nigeria, Restrepo y Vinasco (2010) registraron un 22 % para especies de Colombia. Branco *et al* (2010) obtuvieron un rendimiento del 22.4% (a temperatura de ebullición del hexano) y 25.1% de aceite (a temperatura ambiente) en especies de Portugal.

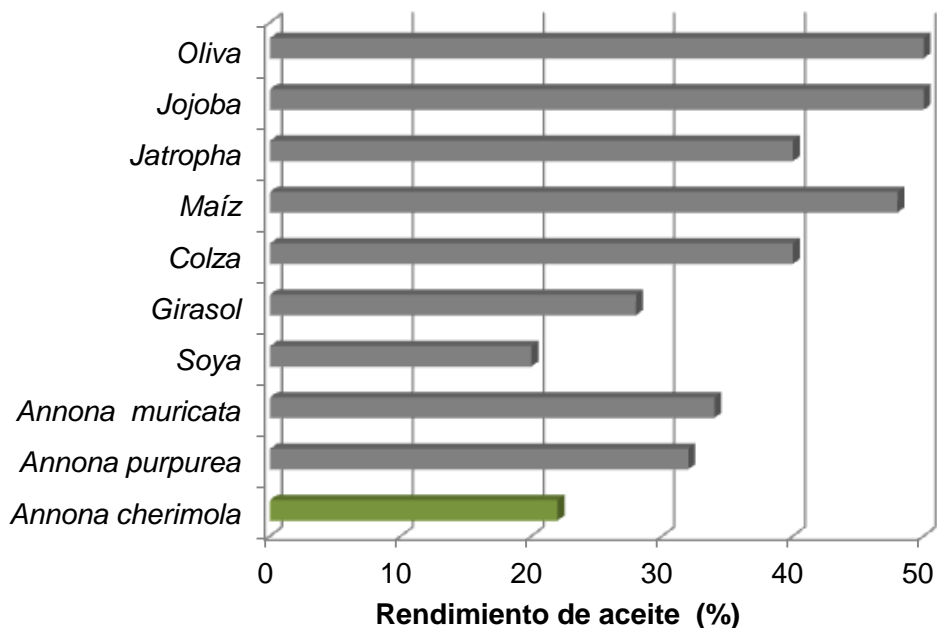
El rendimiento de aceite que se obtuvo de las semillas *A. cherimola* fue de  $28.9341 \pm 2.5621$  % y 22.8889% por los métodos de Soxhlet y maceración respectivamente. Estas diferencias se deben a la influencia de las condiciones de extracción (ver Tabla 8). La temperatura y el tiempo influyeron en el rendimiento de la extracción de los aceites, ya que se observó que la extracción por el método de Soxhlet tuvo mayor rendimiento debido al uso de mayor temperatura, a diferencia de la extracción por maceración que se realizó por más tiempo pero a temperatura ambiente. También se registró que la cáscara de la semilla posee una mínima cantidad de aceite, aproximadamente un 0.6%.

**Tabla 8.** Rendimiento del aceite de la almendra y cáscara de la semilla de *A. cherimola*.

Aceite	Rendimiento Método Soxhlet (%)	Temperatura / Tiempo	Rendimiento Maceración (%)	Temperatura / Tiempo
<b>Almendra</b>	$28.9341 \pm 2.5621$	Temp. ebullición hexano /18 h	22.8889	Temp. Ambiente/ 72 h
<b>Cáscara</b>	$0.6541 \pm 0.0567$	Temp. ebullición hexano /18 h	0.6152	Temp. Ambiente/ 72 h



La semilla de la chirimoya representa una fuente importante de aceite si es comparada con los rendimientos de otras especies vegetales, sobre todo con aquellas que actualmente se usan para la producción de biodiesel (ver Gráfica 7). Por ejemplo, el rendimiento del aceite de la chirimoya es similar al de la semilla de soya (es la especie más utilizada en los Estados Unidos) cuyo rendimiento de aceite es de 15-20%, al de girasol que contiene cerca del 30% (Karmakar et al, 2010) y al de *Jatropha curcas* especie cuyo aceite no es comestible y que alcanza rendimientos de más del 30% (Balat, 2011). En estudios análogos de otras especies de las anonáceas realizados en la Facultad de Química, UNAM, se encontraron rendimientos de aceite similares a los obtenidos.



**Gráfica 7.** Rendimiento del aceite de *A. cherimola* y otras especies vegetales.



### 6.3 Propiedades del aceite de *A. cherimola*

Para que el aceite de las semillas de la chirimoya represente una fuente alternativa para la producción de biodiesel en México debe cumplir con ciertas características. Una de las principales a considerar, es que este aceite no es comestible, ya que contiene compuestos como las acetogeninas (Restrepo y Vinasco, 2010). El biodiesel debe poseer ciertas características para un funcionamiento óptimo en los motores, por lo que la materia prima para su elaboración es primordial, el aceite vegetal brinda las propiedades que se verán reflejadas en el biocombustible para su adecuado desempeño (Singh y Singh, 2010). Por esto, fue necesario hacer una evaluación fisicoquímica de las propiedades del aceite de *A. cherimola*, que permitió conocer su potencial como fuente alternativa. En la Tabla 9 se muestran las características de los aceites de la almendra y cáscara obtenidos por los métodos de extracción de Soxhlet y maceración.

**Tabla 9.** Determinación de las propiedades del aceite de la semilla de *A. cherimola*.

Determinación	Aceite obtenido de la semilla de <i>A. cherimola</i>			
	Almendra		Cáscara	
	Soxhlet	Maceración	Soxhlet	Maceración
Densidad Relativa 20°C	0.9165 ± 0.0015	0.9127 ± 0.0006	---	---
Viscosidad 40° C	36.606	28.652	---	---
Índice de acidez (mg KOH/g aceite)	0.6346 ± 0.0413	0.9395 ± 0.0251	5.3763 ± 0.9618	8.0091
Índice de yodo (g I/ 100 g aceite)	100.5832 ± 0.9690	100.4845 ± 1.046	---	95.8505
Entalpía de combustión (KJ/ g aceite)	39.4050 ± 0.0540	39.9927 ± 0.6697	---	---



Las principales diferencias entre el aceite de la almendra y cáscara es su rendimiento, índice de acidez e índice de yodo. La almendra de la chirimoya contiene la mayor cantidad de aceite, el cual posee un valor de índice de acidez bajo en comparación al índice de acidez de la cáscara. Esto indica que hay mayor cantidad de grupos ácidos en el aceite de la cáscara. Con respecto a las diferencias entre los valores de índice de yodo (que es una medición indirecta de las insaturaciones de los ácidos grasos presentes), se estimó para el aceite de la almendra un valor de  $100.5832 \pm 0.9690$  g I<sub>2</sub> /100 g muestra, mientras que el aceite de la cáscara presentó un valor de  $95.8505$  g I<sub>2</sub> / 100 g de aceite. Si se considera que los valores altos de índice de yodo relacionan mayor cantidad de insaturaciones, el aceite de la cáscara que presenta un valor más bajo, contiene una menor cantidad de éstas (Hoekman *et al*, 2012). Ammo *et al*, (2008) informaron un índice de acidez de  $11.04 \pm 1.00$  (mg KOH/g) y un valor de índice de yodo de  $145.07 \pm 4.21$  para especies provenientes de Nigeria, lo que indica que el aceite extraído de estas muestras tiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados que están sujetos a sufrir mayor degradación. En otro estudio, realizado por Restrepo y Vinasco, (2010) para especies de Colombia, se encontró un valor de acidez de  $5.7 \pm 0.2$  (mg NaOH/g) y  $84.7$  para índice de yodo, en este caso también existe alta proporción de ácidos grasos libres y un valor más bajo de Índice de yodo. La comparación de estos datos con los obtenidos en esta investigación, empleando especies de México, afirma que las propiedades varían de acuerdo al origen de los frutos.

Al comparar los datos del aceite de la chirimoya obtenidos por el método de Maceración con los presentados en la Tabla 10, la densidad del aceite es  $0.9127 \pm 0.0006$  g / mL por lo que es mayor a la del diesel pero similar a la de otras especies. La viscosidad cinemática del aceite de la chirimoya es de  $28.652$  mm<sup>2</sup>/s a 40°C por lo que es menor que los aceites de otras especies como la canola ( $34.72$  mm<sup>2</sup>/s) y el girasol ( $35.84$  mm<sup>2</sup>/s) pero similar al de la soya ( $28.87$  mm<sup>2</sup>/s) y mucho más alta que la del diesel petroquímico ( $3.06$  mm<sup>2</sup>/s).



**Tabla 10.** Propiedades de algunos tipos de aceite vegetal y diesel petroquímico.

Aceites Vegetales	Densidad (g/mL)	Viscosidad cinemática 40°C (mm <sup>2</sup> /s)	Entalpía de combustión (KJ/g)
Chirimoya	0.9127 ± 0.0006	28.652	39.9927 ± 0.6697
Maíz	0.9095	30.75	39.5
Jatropha	0.940	33.90	38.65
Canola	0.9115	34.72	39.7
Girasol	0.9161	35.84	39.6
Soya	0.9138	28.87	39.6
Palma	0.9180	44.79	-
Diesel petroquímico	0.8550	3.06	43.8

Por otro lado, diversos autores consideran que los aceites vegetales ofrecen diversas ventajas como materia prima para la producción de biodiesel, por ejemplo el punto de inflamación que es alto con respecto al diesel, lo que los hace seguros para su almacenaje y su transportación (Benjumea *et al*, 2009).

La entalpía de combustión es otro parámetro importante, el cual indica la energía contenida en un gramo de aceite durante su combustión para producir CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. De esta forma, puede definirse la eficiencia durante la combustión en el motor (Ramírez-Verduzco *et al*, 2012). Para los aceites extraídos de la almendra de la chirimoya por los métodos de Soxhlet y Maceración se encontraron valores de 39.4050 ± 0.0548 KJ/g y 39.9927 ± 0.6697 KJ/g respectivamente, que comparados con los aceites de soya (39.6 KJ/g), girasol (39.6 KJ/g) y maíz (39.5 KJ/g), son similares, pero menores que el diesel petroquímico que presenta un valor de 43.8 KJ/g (ver Tablas 9 y 10).



#### 6.4 Reacción de transesterificación para la producción de biodiesel

Este método puede llevarse a cabo en presencia de diferentes catalizadores y medios de reacción. En esta investigación la reacción de transesterificación se realizó empleando catálisis alcalina, utilizando hidróxido de potasio y metanol, con los cuales se pueden obtener excelentes rendimientos (Leung *et al*, 2010). Para favorecer la formación de los productos en esta reacción, se utilizó un exceso de metanol con respecto a la molécula de triglicérido con una relación molar 1:12 (Sharma *et al*, 2008). Al comparar las propiedades del aceite de *A. cherimola* y del diesel petroquímico, resalta la gran diferencia entre los valores de viscosidad cinemática, lo cual indica que el aceite presenta desventajas para su uso directo como biocombustible ya que su alto valor de viscosidad causaría problemas en el motor (Leung *et al*, 2010). Es por ello, que para disminuir la viscosidad del aceite para ser similar al del diesel petroquímico, tuvo que ser sometido a la reacción de transesterificación. Para llevar a cabo la reacción de transesterificación por catálisis alcalina, una de las propiedades más importantes del aceite a considerar fue el índice de acidez del aceite ya que valores mayores a 3.0% provocan que la reacción no se lleve a cabo adecuadamente, debido a la presencia de ácidos grasos libres (Atadashi *et al*, 2012). Dado que el aceite de *A. cherimola* extraído por los métodos de Soxhlet y maceración poseían un índice de acidez menor a 1.0 mg de KOH/g, la reacción de transesterificación se pudo llevar a cabo en medio alcalino usando como catalizador hidróxido de potasio. Esta reacción se realizó a una temperatura de 60°C para ambos aceites y se realizó un monitoreo cada 30 min mediante cromatografía en capa delgada para confirmar la formación de los ésteres metílicos. Durante la reacción se formaron dos fases inmiscibles como resultado de una baja solubilidad de los triglicéridos en el metanol (Moser, 2009). Con la agitación durante la reacción, los triglicéridos fueron rápidamente convertidos en ésteres metílicos y glicerina, esta última debido a su mayor densidad se fue colocando en la parte inferior del matraz (Figura 25).



**Figura 25.** Aspecto de la reacción de transesterificación del aceite de *A. cherimola* (extraído por Soxhlet) a un tiempo de 60 min.

En la Tabla 11 se muestran las condiciones de la reacción de transesterificación, indicándose que se requirió de un tiempo de reacción de 90 min para la conversión del aceite obtenido por Soxhlet a biodiesel y 60 min para el aceite de maceración de acuerdo al monitoreo realizado mediante cromatografía en capa delgada (ver Figura 26).

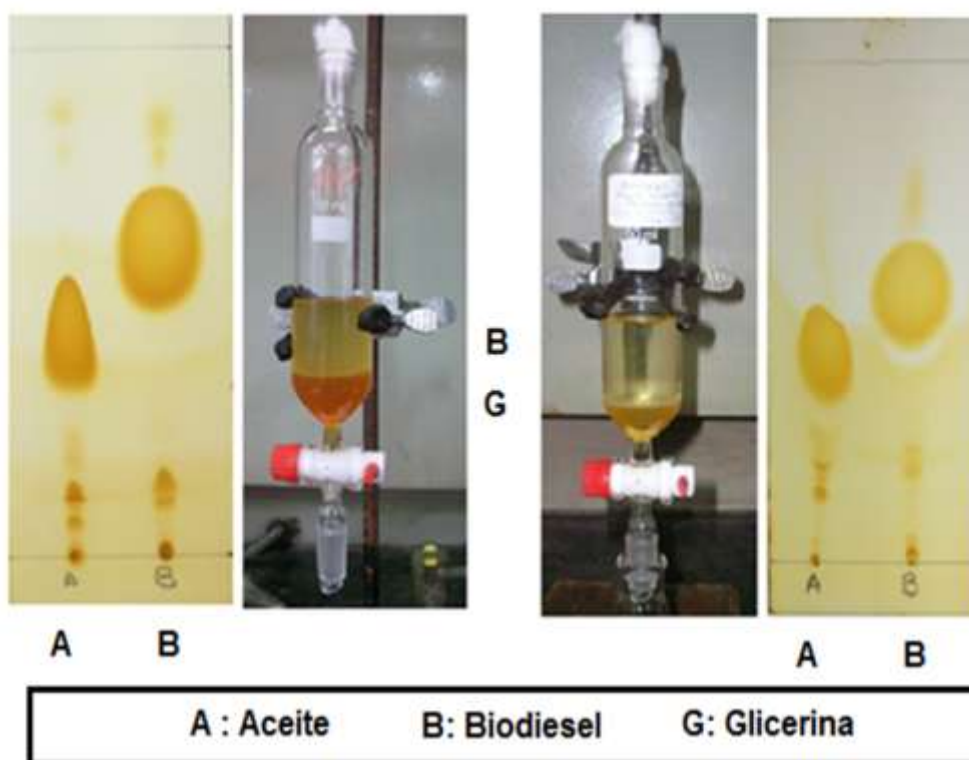
Se obtuvo mayor rendimiento de biodiesel a partir del aceite de Soxhlet (84%) con un tiempo de reacción mayor al del aceite de maceración, el cual completó su conversión en un tiempo de 60 min, obteniéndose un rendimiento de biodiesel de 82.5%, estas diferencias se atribuyen principalmente al índice de acidez de cada aceite, ya que el extraído por Soxhlet presentó un valor de  $0.6346 \pm 0.0413$  mg KOH/g y el de maceración un valor de  $0.9395 \pm 0.0251$  mg KOH/g, por lo que este último puede contener una mayor cantidad de ácidos grasos libres, que afectan su conversión a ésteres metílicos.





**Tabla 11.** Condiciones de transesterificación y rendimiento de biodiesel de *A. cherimola*.

Condiciones de reacción	Aceite extraído por Soxhlet	Aceite extraído por Maceración
Temperatura reacción	60°C	60°C
Tiempo de reacción	90 min	60 min
Rendimiento biodiesel	84%	82.5%



**Figura 26.** Cromatoplas correspondientes a la conversión del aceite extraído por Soxhlet (izquierda) y maceración (derecha) a biodiesel mediante la reacción de transesterificación, Eluyente: Hex/AcOEt/AcOH (9:1:0.1).



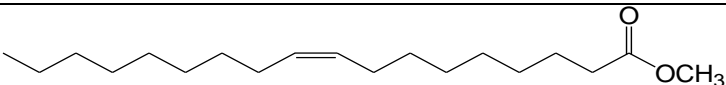
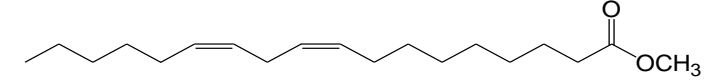
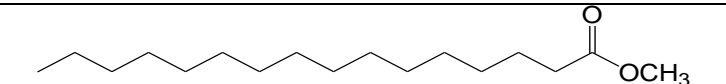
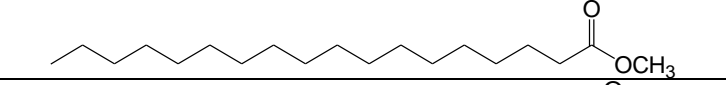
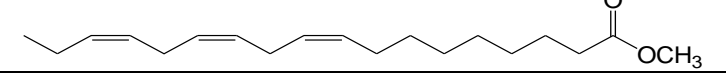
### 6.5 Propiedades del biodiesel obtenido a partir del aceite de *A. cherimola*

Para considerar al biodiesel de *A. cherimola* como un biocombustible alternativo se determinaron algunas de sus propiedades principales para ser comparadas con las del diesel petroquímico, de otras fuentes y con los estándares de calidad internacionales. La calidad del biodiesel indica su comportamiento en los motores de compresión-ignición y ésta depende principalmente de la materia prima (composición de ácidos grasos) y métodos de producción (Hoekman *et al*, 2012).

#### 6.5.1 Perfil de los ésteres metílicos de ácidos grasos

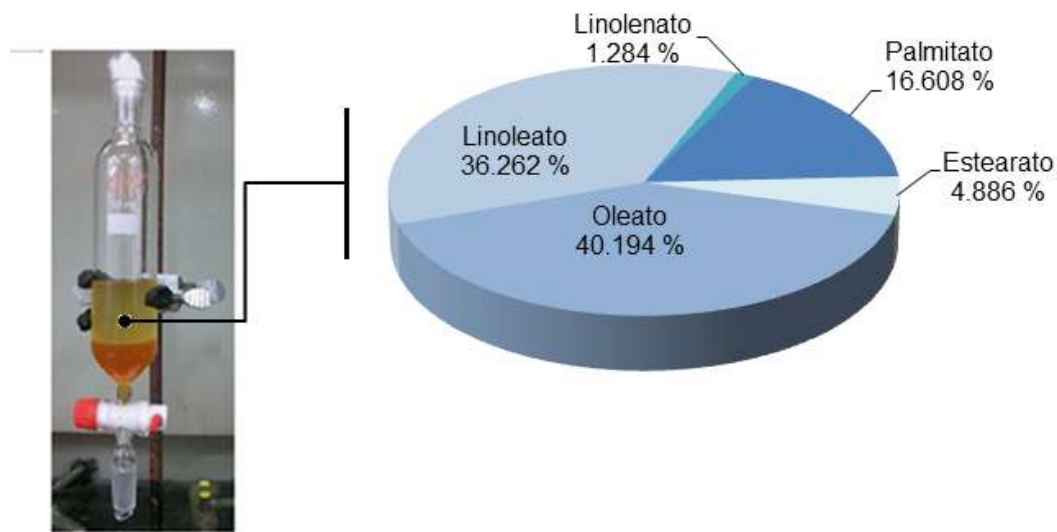
Para describir la relación entre la composición química y la propiedades del biodiesel obtenido, primeramente se empezará por el análisis de los ésteres metílicos correspondientes a los ácidos grasos encontrados en el biodiesel de *A. cherimola*. A continuación, se muestran los porcentajes de ésteres metílicos de ácidos grasos determinado por el análisis de cromatografía de gases (ver cromatograma anexo, Figura 38).

**Tabla 12.** Porcentaje de ésteres metílicos de ácidos grasos contenidos en el biodiesel de *A. cherimola*.

Éster metílico	Estructura	%
Oleato		40.194
Linoleato		36.262
Palmitato		16.608
Estearato		4.886
Linolenato		1.284



Con estos resultados, se encuentra que el perfil de ácidos grasos contenidos en el biodiesel de *A. cherimola* corresponden en su mayoría a ácidos grasos insaturados con un 77.74% y un 21.494 % provenientes de los saturados. El ácido oleico es el que se encuentra en mayor proporción con 40.194% y el ácido linolenico con una proporción menor (1.284%).



**Figura 27.** Porcentajes de ésteres metílicos de los ácidos grasos de *A. cherimola* mexicana.

Branco *et al* en 2010, informaron que para las especies de chirimoya de la Isla Madeira (Portugal), el aceite para la producción de biodiesel contenía un porcentaje alto de ácidos grasos insaturados que corresponden al ácido oleico con un 38.58%, ácido linoleico con 35.97% y ácido linolénico con 1.31%. Entre los ácidos grasos saturados que registraron se encuentran ácido palmítico con 19.99 % y ácido esteárico con 4.16%. Al comparar estos datos con los que se obtuvieron, se puede observar la similitud de los porcentajes, principalmente los del ácido oleico y linoleico que se encuentran en mayor proporción (Figura 27). Con respecto a otras especies vegetales, se observa que el perfil de ésteres metílicos de ácidos grasos insaturados de *A. cherimola* es similar al de soya que contiene un 78.79%, pero menor al de canola con 86.70% y el de girasol que contiene un 90.66% (Branco *et al*, 2010). Esta proporción de ácidos



grasos insaturados determinan las características físicas y químicas del biodiesel (Balat, 2011), por lo que se espera tengan propiedades similares al de estas especies, las cuales son las más utilizadas actualmente.

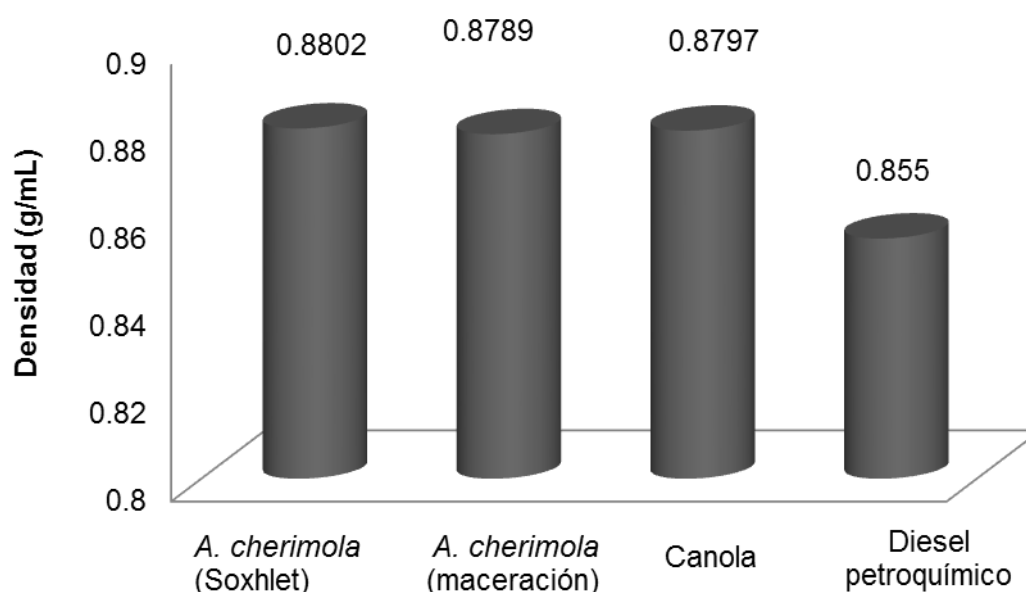
Para determinar las propiedades de biodiesel se realizaron métodos para conocer su densidad, viscosidad cinemática, índice de acidez, índice de yodo, y calor de combustión, después se comparó con una muestra de biodiesel obtenido del aceite comecial de canola (Maravilla®) especie que es utilizada en algunos países europeos para la producción de biodiesel. En la Tabla 13, se muestran los resultados de las parámetros de calidad del biodiesel obtenido a partir de los aceites de Soxhlet y maceración de la almendra de *A. cherimola*, así como los datos registrados del biodiesel de canola.

**Tabla 13.** Parámetros de calidad del biodiesel de *A. cherimola* y de canola.

Parámetros	BIODIESEL		
	Aceite		
	Soxhlet	Maceración	Canola (Maravilla®)
Densidad Relativa 20°C	0.8802 ± 0.0002	0.8789 ± 0.0005	0.8797
Viscosidad 40°C (mm <sup>2</sup> /s)	4.4252	3.7354	4.5511
Índice de acidez (mg KOH/g biodiesel)	0.4640 ± 0.0011	0.4765 ± 0.0244	0.2708 ± 0.0016
Índice de yodo (g I/ 100 g biodiesel)	100.5219 ± 0.0914	100.5098 ± 0.0688	114.3255
Entalpía de combustión (KJ/ g biodiesel)	40.0719 ± 0.1471	39.8909 ± 0.0507	40.1012 ± 0.0543

### 6.5.2 Densidad Relativa

La densidad relativa del biodiesel obtenido del aceite (Soxhlet y maceración) de *A. cherimola* y el de canola, se determinó con un picnómetro a una temperatura de 20°C, en la Gráfica 8 se muestra la comparación de los resultados de densidad relativa.



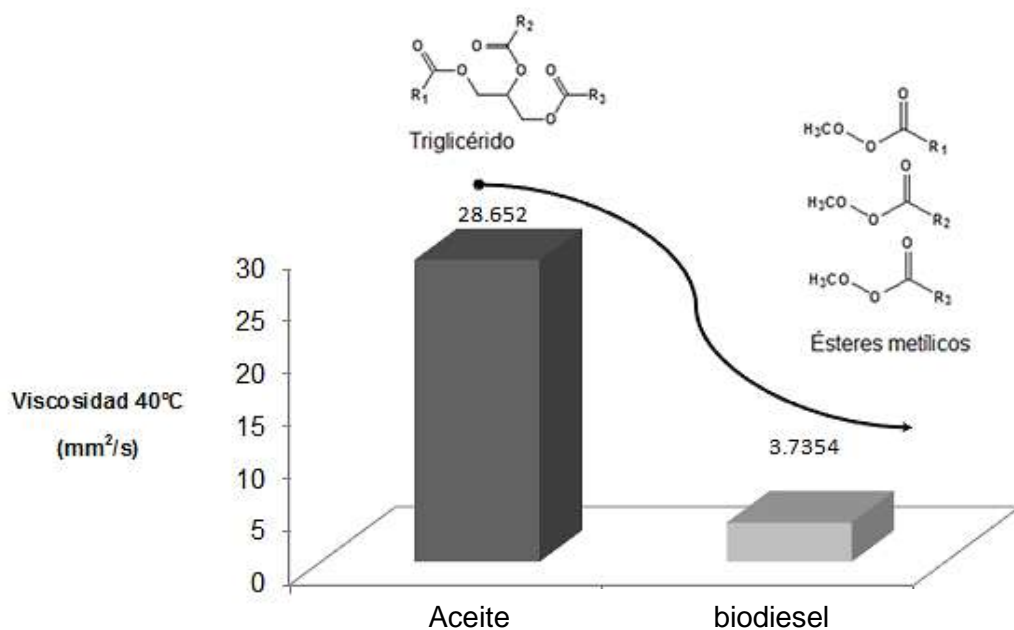
**Grafica 8.** Densidad a 20°C del biodiesel obtenido de la semilla de *A. cherimola* y el aceite de canola comparado con el diesel petroquímico.

La densidad del biodiesel de *A. cherimola* del aceite extraído por el método de Soxhlet ( $0.8802 \pm 0.0002$ ) es ligeramente diferente a la obtenida por maceración ( $0.8789 \pm 0.0005$ ), esta variación se atribuye al método de extracción del aceite donde en Soxhlet se utilizó calor, generando posiblemente diferencias en el perfil de los ésteres metílicos. Con respecto al biodiesel de canola, la densidad del biodiesel de *A. cherimola* es similar ya que ambos contienen alto grado de insaturaciones. La densidad es fuertemente afectada por el grado de insaturación, una mayor insaturación conduce a una mayor densidad. Por lo tanto, la densidad el biodiesel es mayor al diesel petroquímico cuya composición se basa de en cadenas hidrocarbonadas sin insaturaciones (Hoekman *et al*, 2012). De acuerdo a los estándares internacionales como la Norma Europea EN14214, los valores de la densidad del biodiesel de chirimoya son similares a los de los límites establecidos ( $860-900 \text{ Kg/m}^3$  a 15°C).



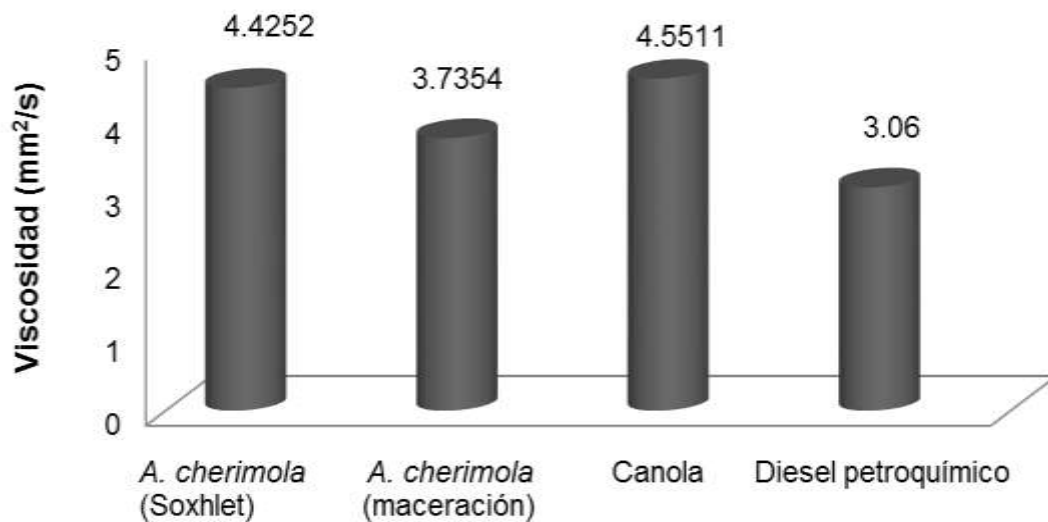
### 6.5.3 Viscosidad cinemática

La viscosidad cinemática es la medida de un líquido que opone resistencia a fluir debido a la resistencia interna. La principal razón por la que se realiza la reacción de transesterificación, es para la conversión de los triglicéridos a ésteres metílicos con el fin de reducir la viscosidad (Hoekman *et al*, 2012). Por medio de la reacción de transesterificación, la alta viscosidad del aceite de *A. cherimola* fue disminuida a un valor casi nueve veces menor (Gráfica 9).



**Gráfica 9.** Disminución del valor de viscosidad cinemática del aceite de *A. cherimola*.

Los valores obtenidos de viscosidad cinemática para el biodiesel de *A. cherimola* y canola son similares, ambos son mayores al del diesel petroquímico (Gráfica 9). Sin embargo, sus valores indican que funcionarían adecuadamente en los motores de combustión interna de acuerdo a los límites establecidos en los estándares internacionales. La especificación de viscosidad cinemática establecida por la ASTM D6751 es de 1.9-6.0 mm<sup>2</sup>/s, la cual se satisface para el biodiesel de *A. cherimola* y para la especificación de la EN 14214 que es más restrictiva con límites de 3.5-5.0 mm<sup>2</sup>/s tampoco lo excluye.



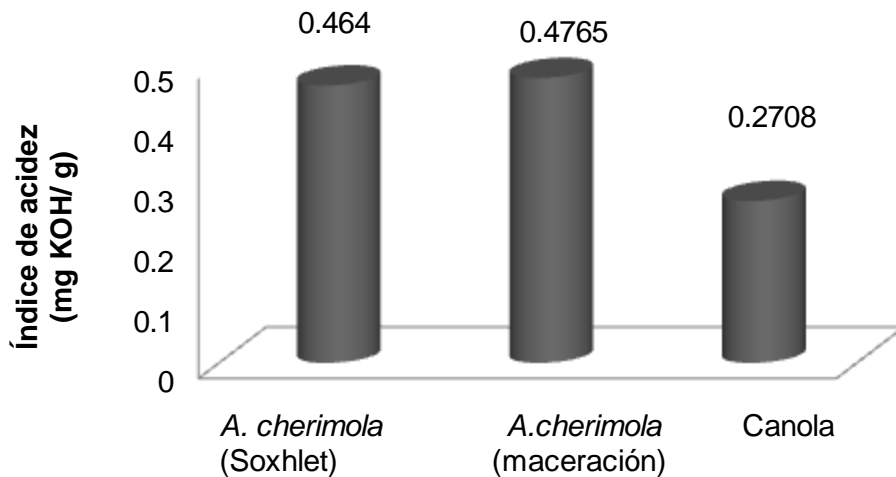
**Gráfica 10.** Viscosidad a 40°C del biodiesel de *A. cherimola* y de canola comparado con el diesel petroquímico.

Se ha investigado que los valores bajos de viscosidad inhiben la nebulización del combustible en la cámara de ignición, valores altos afectan la lubricación, provocando el deterioro del motor. Por lo tanto, los valores de viscosidad del biodiesel deben mantenerse dentro las especificaciones estándar de las normas internacionales (Atadashi *et al*, 2010).

#### 6.5.4 Índice de acidez

Esta propiedad está relacionada con el valor de neutralización, es una medida de la cantidad de ácidos grasos libres, contenidos en la muestra del biocombustible y se expresa en mg de KOH necesarios para neutralizar 1 g de biodiesel (Atabani *et al*, 2012).

En la Gráfica 11 se muestran los valores obtenidos de índice de acidez para el biodiesel de *A. cherimola* y el de canola, este último con un valor menor, sin embargo, de acuerdo a las especificaciones de la Norma europea EN 14214, los valores del biodiesel de *A. cherimola* no superan el límite superior establecido que es de 5.0 mg de KOH/g de biodiesel.



**Gráfica 11.** Índice de acidez del biodiesel de *A. cherimola* y de canola.

La acidez, por otra parte puede ser generada durante el proceso de producción y también representa un parámetro del grado de envejecimiento del combustible durante el almacenamiento, ya que su valor se aumenta gradualmente debido a la degradación de biodiesel. La alta acidez del biocombustible influye en la corrosión y la formación de depósitos en el motor por lo que su valor se limita en las especificaciones de biodiesel estándar (Hoekman *et al*, 2012).

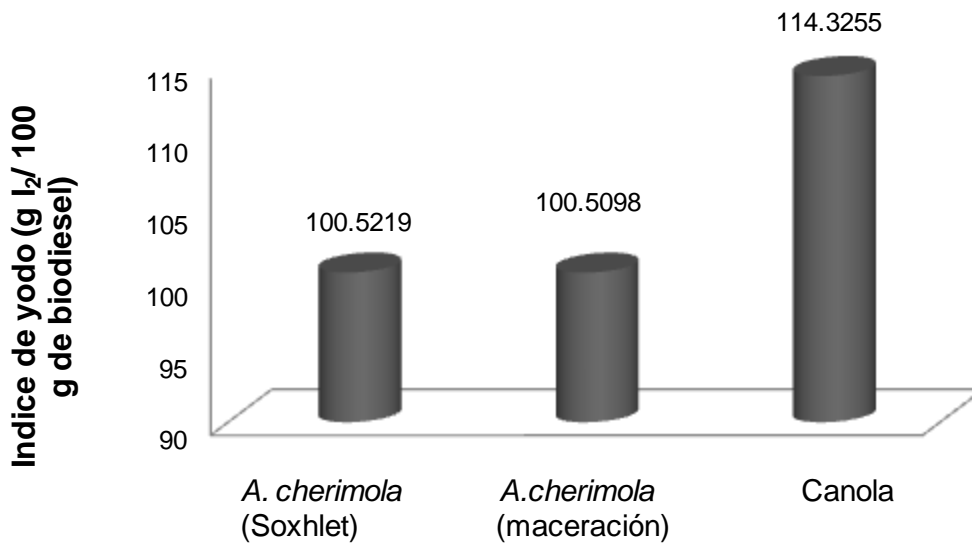
#### 6.5.5 Índice de yodo

El índice de yodo es determinado por la medida del  $I_2$  que reacciona en la adición carbono/carbono de dobles enlaces por lo que relaciona indirectamente la insaturación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos insaturados (Atadashi *et al*, 2010). La estabilidad del biodiesel se ve afectada por la cantidad de dobles enlaces, por lo que sí existe una gran cantidad de insaturaciones, la degradación de éste será más rápida. En la Norma EN 14214 el límite recomendado de índice de yodo debe ser menor a  $120 \text{ g } I_2/100\text{g}$ , por lo que si excede este valor, se recomienda el uso de aditivos como los antioxidantes sintéticos de origen fenólico o de origen natural que contienen carotenoides y tocoferoles (Hoekman *et al*, 2012). En este sentido, el biodiesel de *A. cherimola* y canola no exceden los límites establecidos de la EN 14214 pero los valores relacionan indirectamente su alto contenido de enlaces dobles





indicando su perfil predominante de ésteres metílicos insaturados (ver Gráfica 12).



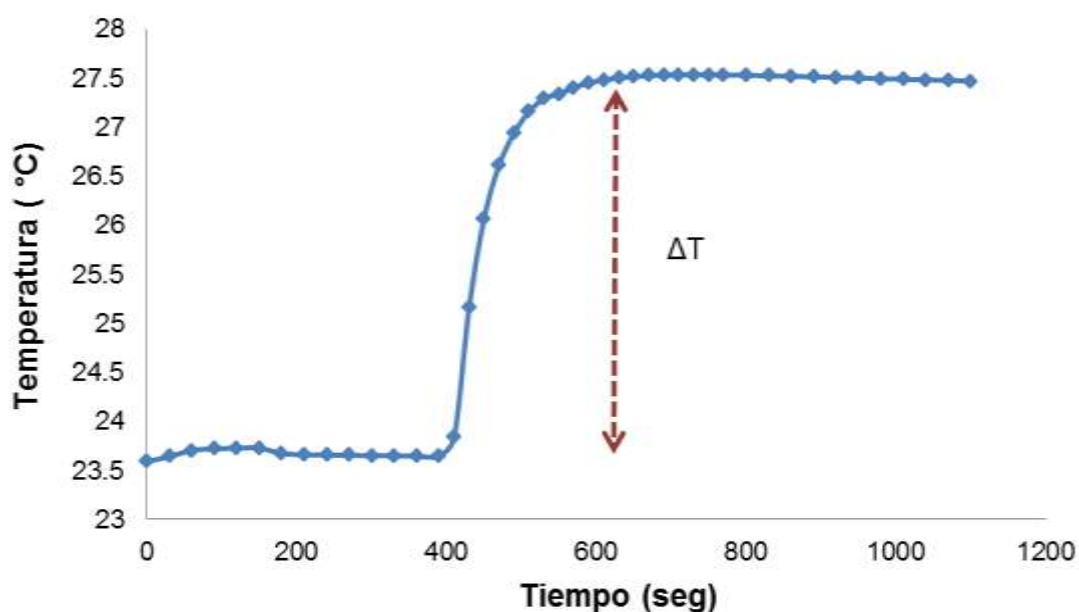
**Gráfica 12.** Índice de yodo del biodiesel de *A. cherimola* y canola.

#### 6.5.6 Entalpía de combustión

La entalpía de combustión es una propiedad muy importante, ya que representa el calor generado de un gramo de muestra por acción de su combustión, a una presión y temperatura controlada obteniendo principalmente como productos CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Fassinou *et al*, 2011). Para su determinación se utilizó una bomba calorimétrica en la que se midió el aumento de la temperatura del agua producida por el calor generado de la combustión de la muestra, se obtuvo el registro de la temperatura, de esta forma se realizó una gráfica de temperatura vs tiempo (Gráfica 13) para obtener el valor de  $\Delta T$  ( $T_2 - T_1$ ) donde  $T_2$  es la temperatura más alta registrada y  $T_1$  la temperatura estabilizada de la bomba calorimétrica, una vez obtenidos estos datos así como el valor de  $e$  que representa el factor de corrección (en calorías) del tramo del alambre de ignición que no tuvo combustión, se realizó el cálculo de acuerdo a la siguiente ecuación:

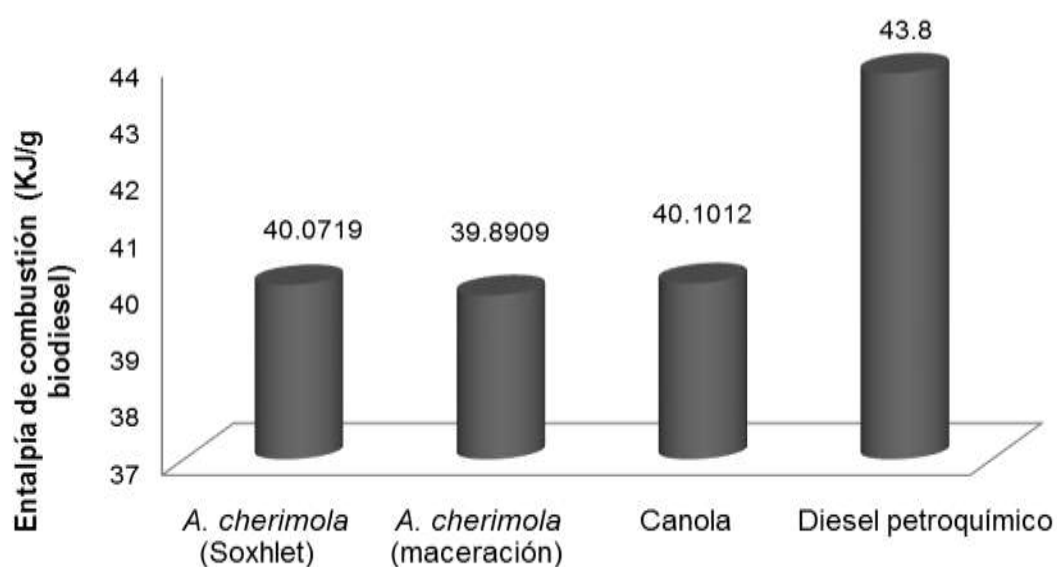
$$\Delta H = \frac{K(T_2 - T_1) - e}{g \text{ muestra}}$$

Donde  $\Delta H$  es la entalpía de combustión (cal / g muestra),  $K = 2\,475.1350$  (cal/°C),  $e =$  factor de corrección (cal)



**Gráfica 13.** Determinación de  $\Delta T$  para el cálculo de  $\Delta H$  del biodiesel de *A. cherimola* (maceración).

Una vez calculado  $\Delta H$  se realizó la conversión de unidades de calorías a Joules (1 caloría = 4.184 Joules), se calculó el promedio de tres determinaciones para cada muestra de biodiesel y se informó ese valor, en la Gráfica 14 se muestran los resultados comparados con la entalpía de combustión del diesel petroquímico.



**Gráfica 14.** Entalpía de combustión del biodiesel de *A. cherimola* y canola comparado con diesel petroquímico.



Los valores de entalpía de combustión del biodiesel de algunas especies son relativamente altos, varían desde 39 hasta 41 KJ / g y son ligeramente inferiores cuando se comparan con los valores de la gasolina (46 KJ / g) y diesel petroquímico (43.8 KJ /g) (Demirbas, 2008). Para el caso del biodiesel de *A. cherimola* con valor de  $40.0719 \pm 0.1471$  (aceite obtenido por Soxhlet) y  $39.8909 \pm 0.0507$  (aceite obtenido por maceración), la entalpía de combustión es similar al biodiesel de canola y se muestra que es un valor poco inferior al de diesel petroquímico (Gráfica 13). Estos valores indican que el biodiesel tendrá una adecuada eficiencia en el motor, debido al contenido de oxígeno. Esta característica también se ve relacionada con el número de cetano, que es una medida de la calidad de la ignición, por lo que si hay contenido de oxígeno esta se ve favorecida (Caballero *et al*, 2012).

### 6.6 Detección de acetogeninas en el bagazo de *A. cherimola*

La posible presencia de compuestos tóxicos en los extractos de la semilla es alta, ya que se sabe que la familia de las anonáceas contienen una serie de compuestos llamados acetogeninas, los cuales tienen actividad antiparasitaria, insecticida, antimicrobiana, antifúngica y antitumoral. Este tipo de compuestos colocan al aceite de las semillas de las anonas como no comestible, pero si son aislados pueden aprovecharse de acuerdo a sus propiedades (Schlie-Guzmán *et al*, 2009). Para extraer estos compuestos presentes en la semilla de *A. cherimola*, se utilizó el bagazo, residuo de la extracción del aceite de la almendra y cáscara, cuya cantidad es alta ya que representó el 73.11% y 95.11% respectivamente. En esta investigación, se realizó la extracción de las acetogeninas a partir del bagazo desengrasado de la almendra y la cáscara, por el método de maceración utilizando como disolvente metanol. Los porcentajes de los extractos obtenidos son los siguientes:

**Tabla 14.** Cuantificación del extracto metanólico de la semilla de *A. cherimola*.

	<b>Muestra de bagazo (g)</b>	<b>Extracto metanólico obtenido (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Almendra	494.0	45.33	9.18
Cáscara	400.0	9.74	2.44



Del extracto metanólico se tomaron dos muestras, una de 25g (almendra) y otra de 5g (cáscara), seguido de una separación líquido-líquido con diferentes disolventes los cuales fueron agregados a la fase acuosa-metanólica de acuerdo a su polaridad iniciando con el menos polar en el siguiente orden: hexano, diclorometano y acetato de etilo. Se colectó cada fracción soluble, se evaporó el disolvente y se concentró para obtener los siguientes rendimientos:

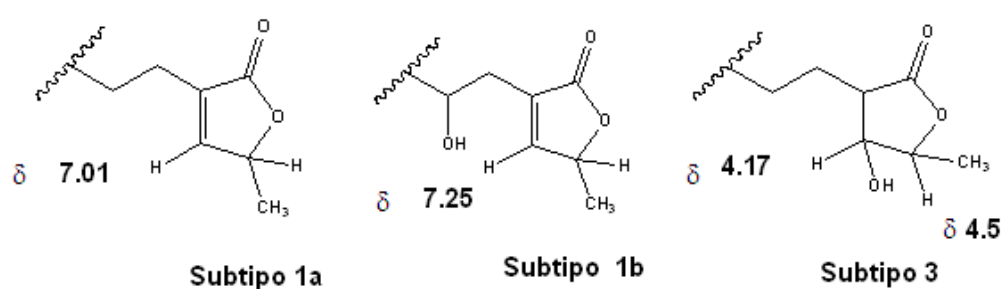
**Tabla 15.** Cuantificación de las particiones de acetogeninas de la semilla de *A. cherimola*.

Partición	Bagazo de almendra	Bagazo cáscara
Hexano	15.90 %	4.32 %
Diclorometano	45.63%	7.80 %
Acetato de etilo	2.06%	8.43 %

La mayor concentración de acetogeninas de acuerdo a las particiones, se encuentra en el extracto metanólico obtenido de la almendra y del cual el mayor porcentaje extraído corresponde a la partición de diclorometano con un 45.63%. Para el caso del extracto metanólico de la cáscara, la mayor concentración se encuentra en la fase de acetato de etilo, pero a comparación de la almendra se encuentra en menor cantidad (8.43%). La partición de hexano obtuvo un porcentaje considerable para ambos casos, 15.90 % para la almendra y 4.32 % para la cáscara. Es importante mencionar que en los rendimientos obtenidos también se debe considerar la presencia de otros compuestos como flavonoides, alcaloides, resinas, taninos, saponinas y aceites esenciales, que pueden ser arrastrados de acuerdo a su polaridad (Florez y Mesa, 2010). Por lo tanto, para confirmar la presencia de las acetogeninas en el extracto metanólico de la almendra de *A. cherimola* se realizó un análisis de resonancia magnética nuclear (RMN <sup>-1</sup> H) a las particiones de diclorometano y acetato de etilo, el cual se llevo a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, y los espectros correspondientes se analizaron con datos de la literatura.



En los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de la fase de diclorometano y de acetato de etilo extraído de la almendra (ver Anexo, Figuras 39 y 40), de donde se obtuvo una mayor cantidad de extracto de esta polaridad, puede distinguirse señales claras a  $\delta$  7.3 ppm,  $\delta$  7.0 ppm,  $\delta$  4.2 ppm,  $\delta$  1.4 ppm y  $\delta$  0.9 ppm aproximadamente las cuales corresponden a hidrógenos de la  $\gamma$ - lactona, al ser comparado con los espectros de estudios registrados en la literatura. Peralta (1998), clasificó a las acetogeninas de *Annona diversifolia* Saff, de acuerdo a la configuración de la  $\gamma$ -lactona y la posición de hidrógenos. Los desplazamientos químicos característicos se presentan en la Figura 28, que corresponden a los subtipos 1a, 1b y 3. Al comparar estos desplazamientos químicos con los obtenidos en el espectro de las particiones de *A. cherimola*, se observa que estos subtipos de acetogeninas están presentes, por lo que en las particiones de diclorometano y acetato de etilo del extracto metanólico, existe la presencia de una mezcla de acetogeninas. De la misma forma, se identificó a los componentes de la estructura de las acetogeninas como: los sustituyentes hidroxilo (que presentan señales típicas a  $\delta$  3.5), las señales de los anillos THF ( $\delta$  3.8 – 3.9), las cadenas alquílicas ( $\delta$  1.3-2.0), los metilos terminales de la cadena en  $\delta$  0.9 y el metilo sustituido en posición  $\gamma$  al anillo de la lactona ( $\delta$  1.38).



**Figura 28.** Subtipos de acetogeninas presentes en *Annona diversifolia* Saff y *A. cherimola*.

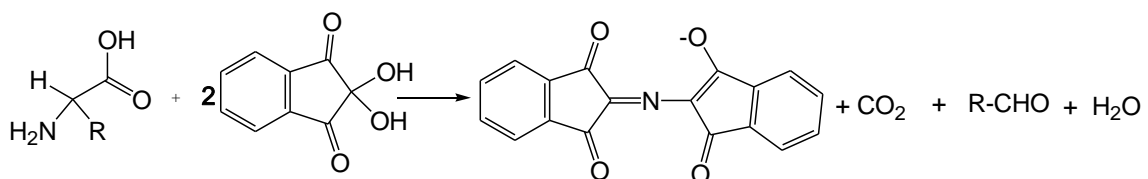


## 6.7 Detección de péptidos y ciclopéptidos

Con el objetivo de aprovechar al máximo los residuos que se generan a partir de la extracción del aceite, se realizó un estudio breve en el que se detectó péptidos y ciclopéptidos, que de acuerdo diversos estudios, son potenciales para su posible uso para la industria farmacéutica (Picchi *et al*, 2009). Los ciclopéptidos muestran una amplia gama de actividades, tales como antibiótico, antihelmíntico, antineoplásico, fitotóxico, insecticidas y sirven como agente citostáticos o agentes antiviral (Insanu *et al*, 2012).

### 6.7.1 Detección de aminoácidos y péptidos mediante CCD.

Para determinar la presencia de péptidos y aminoácidos en el extracto metanólico de *A. cherimola*, se llevó a cabo la técnica de Cromatografía en Capa Delgada (CCD), un procedimiento rápido y sencillo para separar mezclas de sustancias. De esta forma, se colocó una muestra de referencia y al ser comparada con la muestra del extracto, permitió concluir la presencia de péptidos y aminoácidos. El revelador utilizado fue una solución de ninhidrina, la cual reaccionó con los aminoácidos terminales de los péptidos (Figura 29). La ninhidrina descarboxila y desamina al aminoácido debido a su fuerte poder oxidante, luego la molécula de ninhidrina reducida formada, reacciona con una molécula de ninhidrina no reducida y con el amoniaco resultante de la desaminación para formar un compuesto complejo que presenta una coloración púrpura-rojiza (Mac Faddin, 2000).



**Figura 29.** Reacción de la ninhidrina y el grupo amino terminal de péptidos (Wade, 2004).



En la Figura 30 se muestra la cromatoplaqueta donde se observó manchas en color púrpura-rojiza, indicando la presencia de péptidos, ya que la ninhidrina reaccionó con el grupo amina del aminoácido terminal de éstos (Wade, 2004). Por lo tanto, en la partición de hexano y en la fase acuosa del extracto metanólico, se confirmó la presencia de aminoácidos libres o aminoácidos terminales que pertenecen a péptidos, mientras que las particiones de diclorometano y acetato de etilo no se confirmó su presencia ya que no se presentó color.



Eluyente: CHCl<sub>3</sub>/ MeOH/ H<sub>2</sub>O (5:4:1)

EM: Extracto metanólico

PH: Partición de Hexano

PD: Partición de diclorometano

PAE: Partición de acetato de etilo

FA: Fase acuosa

Gly: Glicina

CP: Ciclopéptido

**Figura 30.** Cromatoplaqueta del extracto metanólico de la almendra de *A. cherimola* y sus particiones después de ser revelada con ninhidrina.

Por otro lado, en las marcas del extracto metanólico, de la partición de hexano y de la fase acuosa, se observó una mancha a la misma distancia que la de la L-glicina, que se confirmó la presencia de este aminoácido en los extractos. También se observó, en las mismas marcas, manchas de coloración amarilla correspondiente a otro tipo de compuestos que tienen diferente polaridad. Con respecto a la marca de la muestra del clicopéptido que sirvió de referencia (2,5-piperazina dicetona), no presentó coloración, debido a que en su estructura no existe la presencia de aminas terminales que puedan reaccionar con la ninhidrina.



EM val asp met gly phe ile

EM: Extracto metanólico

Val: valina

Asp: aspartame

Met: metionina

Phe: fenilalanina

Ile: isoleucina

**Figura 31.** Cromatoplaqa del extracto metanólico de la almendra de *A. cherimola* y aminoácidos de referencia.

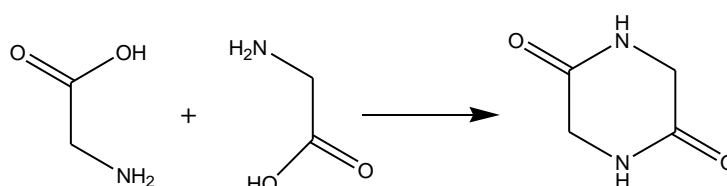
Por otro lado, se realizó una placa para la confirmación de algunos aminoácidos en el extracto metanólico (Figura 31), de acuerdo a los Rf de las manchas, los aminoácidos presentes son glicina y valina de acuerdo a las referencias.

#### 6.7.2 Detección de ciclopéptidos mediante CCD.

Para la detección de ciclopéptidos en el extracto metanólico, se utilizó como revelador una solución de o-tolidina. Antes de ser reveladas las cromatoplaacas, se eluyeron con una mezcla de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (5:4:1) y se dejaron reposar en una cámara de cloro por 15 minutos, finalmente se dejó evaporar totalmente el cloro en exceso para evitar un falso positivo al ser revelada con la solución de o-tolidina (Allen, 1981).

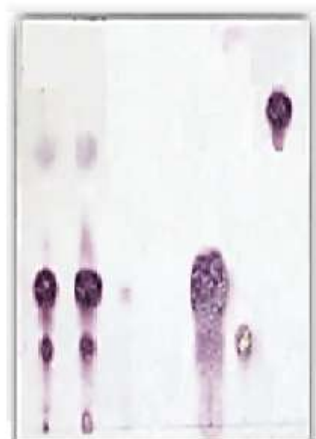
Para comprobar la presencia de ciclopéptidos, se tomó como referencia el compuesto cíclico 2,5-piperazina dicetona, cuya síntesis se hizo a partir de la glicina (Furniss *et al*, 1989). Para evidenciar que el compuesto fue sintetizado, se hizo una cromatoplaqa con la aplicación de una muestra de éste y como referencia un aminoácido, luego se reveló con la solución de ninhidrina. La prueba fue negativa para el ciclopéptido, debido a que la ninhidrina no reaccionó con éste porque su estructura contiene aminas secundarias (Figura 32) que no pueden dar paso a la formación de la estructura que da la coloración púrpura (MacFaddin, 2000).





**Figura 32.** Compuesto cíclico: 2,5-piperazina dicetona.

Los grupos amino de los ciclopéptidos, en presencia de cloro forman cloroaminas que al reaccionar con la solución de o-tolidina, dan la formación de una coloración azul (Greig y Leaback, 1960). De esta forma, la presencia de ciclopéptidos, fue detectada al observarse coloración azul de acuerdo a la referencia (CP), por lo que se confirmó que en el extracto metanólico hay presencia de dichos compuestos y las fases que los contienen son la hexánica y la acuosa.



EM PH PD PAE FA Gly CP

Eluyente:  $\text{CHCl}_3$ / MeOH/  $\text{H}_2\text{O}$  (5:4:1)

EM: Extracto metanólico

PH: Partición de Hexano

PD: Partición de diclorometano

PAE: Partición de acetato de etilo

FA: Fase acuosa

Gly: Glicina

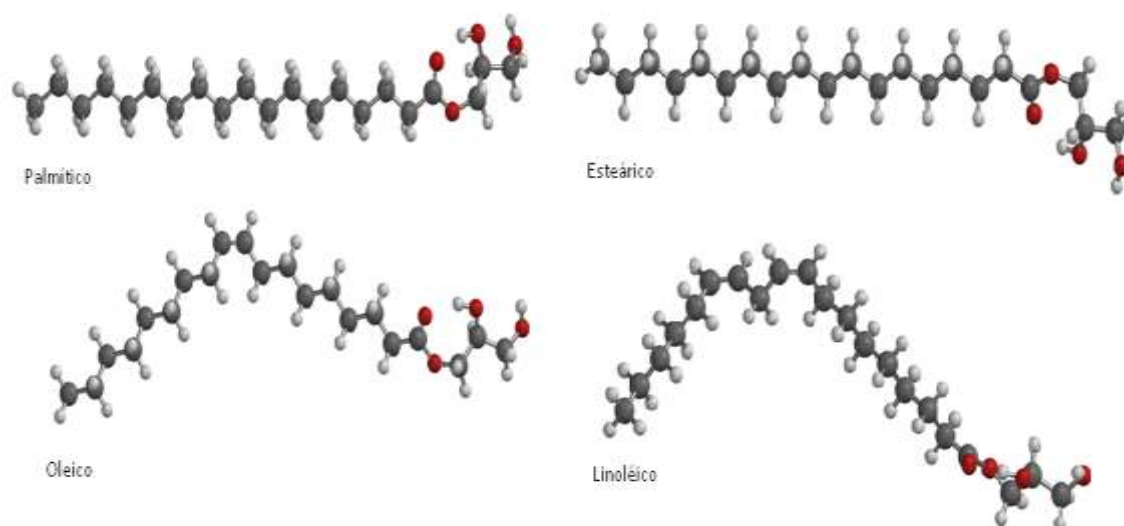
CP: Ciclopéptido

**Figura 33.** Cromatoplaqueta del extracto metanólico de la almendra de *A. cherimola* y sus particiones revelada con o-tolidina.



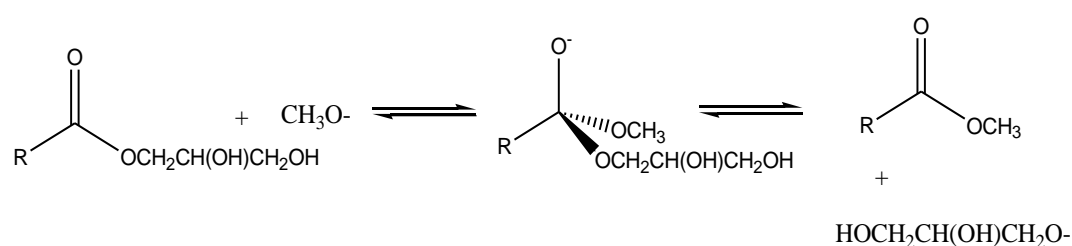
### 6.7 Estudio computacional de la transesterificación en medio básico.

Se estudió el mecanismo de la reacción de transesterificación en medio básico empleando como modelo los monoglicéridos de los principales ácidos grasos (palmítico, esteárico, oleico y linoleico, (Figura 34) presentes en el biodiesel obtenido de la semilla de *Annona cherimola*, usando el método Semi-empírico PM3 (Kong *et al*, 2000).



**Figura 34.** Estructuras de los monoglicéridos correspondientes a los ácidos grasos más abundantes en el biodiesel obtenido de la semilla de *A. cherimola*.

En la Figura 35, se presenta la reacción entre el anión metóxido y varios (monoglicéridos).

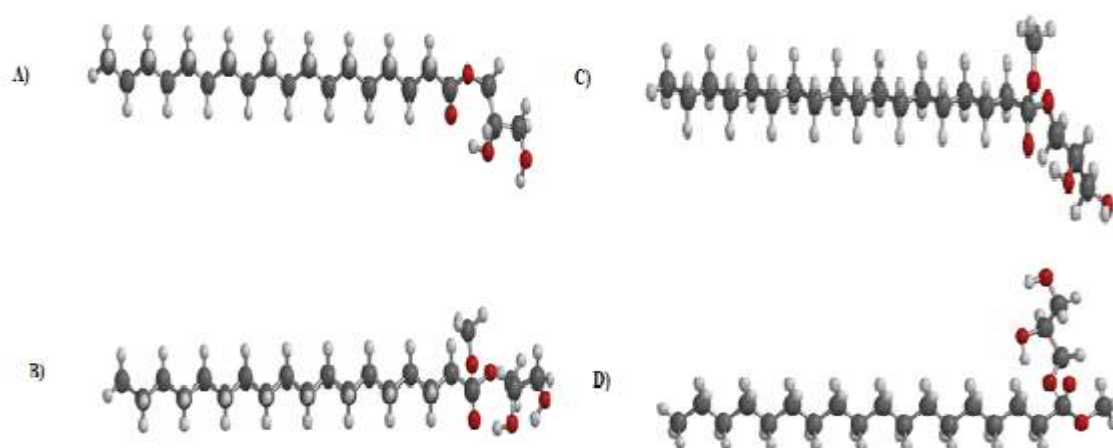


R= -CH<sub>3</sub>, -C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>, -C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>, -C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>, -C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>

**Figura 35.** Esquema de la reacción de transesterificación con metóxido.

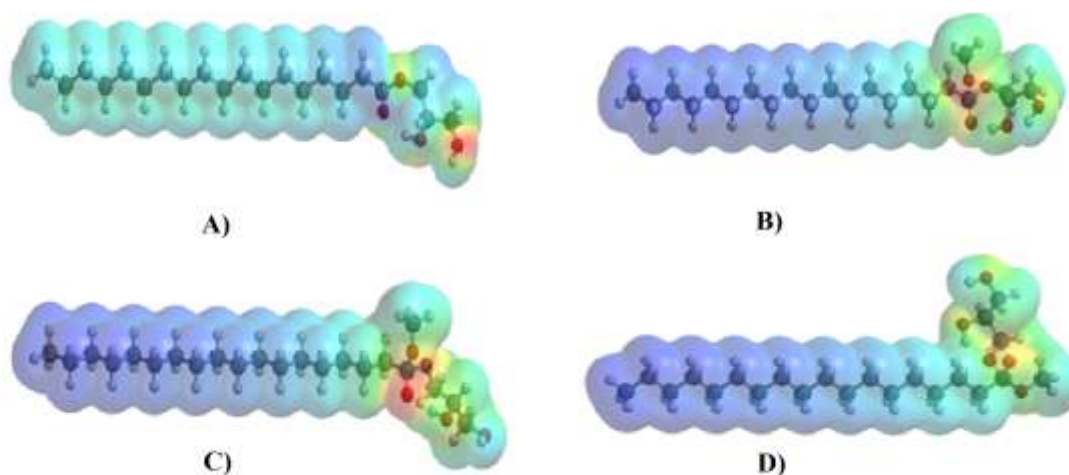


Se optimizaron las geometrías de los puntos estacionarios en la superficie de energía potencial de esta reacción: reactivos, estado de transición de la adición del metóxido ( $TS_1$ ) para formar el intermediario tetraédrico y el correspondiente a su descomposición ( $TS_2$ ). La Figura 36 muestra las geometrías optimizadas del estado de transición de la adición del nucleófilo sobre el monoglicérido del ácido esteárico.



**Figura 36.** Geometrías optimizadas de los puntos estacionarios de la reacción de transesterificación básica con metanol para obtener estereato de metilo: A) monoglicérido del ácido esteárico, B)  $TS_1$ , C) Intermediario tetraédrico, D)  $TS_2$

Como se observa en la Figura 35, la reacción de transesterificación involucra grandes cambios en la distribución electrónica de los átomos, tanto en el proceso de adición para formar el intermediario tetraédrico, como en la descomposición de este último. En la Figura 37 se presentan los mapas de potencial electrostático de los principales estados estacionarios de la reacción del monoglicérido del ácido esteárico con el ión metóxido. Las zonas rojas corresponden a una alta densidad electrónica, mientras que las azules indican deficiencia electrónica. En el caso de la estructura de  $TS_1$ , la zona de alta densidad electrónica recae en el oxígeno del metóxido, y en menor proporción, en el oxígeno del carbonilo del éster, mientras que en el intermediario tetraédrico, la mayor densidad electrónica recae sobre el oxígeno correspondiente al fragmento del éster. Lo anterior indica la forma en que los electrones se mueven durante el proceso de la transesterificación.



**Figura 37.** Mapa del potencial electrostático de los puntos estacionarios de la reacción de transesterificación básica con metanol para obtener estereatoato de metilo: A) monoglicéridos del ácido esteárico, B)  $TS_1$ , C) Intermediario tetraédrico, D)  $TS_2$ .

Es necesario señalar que, si bien los cálculos semi-empíricos efectuados en esta primera etapa del estudio teórico pudieron aclarar aspectos importantes del mecanismo de la transesterificación de los monoglicéridos, en la última etapa de este trabajo falta por estudiar la reacción de transesterificación en los triglicéridos correspondientes, empleando métodos de mayor nivel, como el que emplea la Teoría de los Funcionales de la Densidad (Becke, 1992).

## 7. CONCLUSIONES

A pesar de que nuestro país cuenta con reservas de petróleo, no lo exenta de buscar nuevas alternativas de energía, ya que éstas son finitas. Por otro lado, se busca enfrentar las problemáticas de desabasto, aumento de precio y contaminación que tienen los combustibles derivados del petróleo. Los biocombustibles, como el biodiesel, representan opciones factibles para la sustitución de los combustibles fósiles ofreciendo diversas ventajas entre las que destacan, la disminución de emisiones de GEI, aprovechamiento de la biomasa y obtención de energía sustentable. Es por ello, que la investigación de nuevas fuentes para la producción de biodiesel es importante, ya que al existir mayor diversidad de materias primas, se podrán aprovechar de manera sustentable los recursos. La chirimoya es una especie que tiene un gran potencial, ya que su producción ha aumentado y su cultivo abarca muchos estados del país. El aceite de las semillas de chirimoya (*A. cherimola*) representa una fuente alternativa ya que a partir de su caracterización, se logró confirmar que posee propiedades adecuadas para la producción de biodiesel. Dado su bajo valor de índice de acidez, la producción de biodiesel puede llevarse a cabo por la reacción de transesterificación con catálisis alcalina, que es un método convencional, por ser barato y rápido.

El rendimiento del biodiesel del aceite de *A. cherimola* obtenido por este método fue de 84%, lo que indica que la mayor parte del aceite se puede aprovechar para su conversión, generando como subproducto la glicerina, que puede ser utilizada en diferentes sectores de la industria química como la farmacéutica y la alimenticia. Con la caracterización del biodiesel obtenido, se confirmó que sus características son apropiadas para su uso en motores de ignición-compresión. Propiedades como la densidad, viscosidad cinemática, índice de yodo e índice de acidez, son similares a especies que son utilizadas actualmente para la producción de biodiesel como la canola, por lo que tienen valores permitidos en los estándares internacionales.



Por lo tanto, las semillas de la chirimoya son una alternativa muy prometedora ya que al ser residuos, no representan competencia a la demanda alimenticia como la semilla de girasol o la canola, especies utilizadas para la producción de biodiesel en Estados Unidos y Europa. Por otro lado, no representan parte de un cultivo energético, el cual necesita espacio para su siembra lo que ocasionan en algunos casos, impactos al ambiente como la deforestación.

Finalmente, para cumplir el aprovechamiento total de la semilla de *A. cherimola*, los residuos generados de la extracción del aceite como el bagazo, también puede ser utilizados para la extracción de compuestos bioactivos como las acetogeninas y los ciclopéptidos, los cuales se ha confirmado su presencia.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Abbaszaadeh, A.; Ghobadian, B.; Omidkhah, M.; Najafi, G. (2012) Current biodiesel production technologies: A comparative review. *Energy Conversion and Management*, 63: 138–148.

Aeropuertos y Servicios Auxiliares (ASA). Bioturbosina en Internet: <http://biocombustibles.asa.gob.mx/> [En línea] (Revisado el 5 de marzo de 2013)

Agarwal, A. (2007) Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science*, 33: 233–271.

Aimaretti, N.; Intilángelo, L.; Clementz, A.; Ansaldi, J.; Yori J. (2008) Aprovechamiento de la glicerina obtenida durante la producción de biodiesel. *Universidad del Centro Educativo Latinoamericano Rosario*, 11 ( 20):140-143.

Alali, F.Q.; Liu, X.; McLaughlin, J.L. (1999) Annonaceous acetogenins. *J. Natural Products*, 62: 504-50.

Allen, G. (1981) Sequencing of proteins and peptides. *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, v.9: 151.

Álvarez, C. (2009) Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Economía Informa*, 359: 63-67.

Amaro, M.I.; Orfila, L.; Colman, T. (1998) Cytotoxic effects in vitro of the extracts of plants from Annonaceous in tumoral and normal cell-Poster *Toxicology Letters*, 95 (supplement 1): 153.

Ammo, I.A.; Emenike, A.E.; Akpambang, V.O.E. (2008) Compositional Evaluation of *Annona cherimoya* (Custard Apple) Fruit. *Trends in Applied Sciences Research*, 3 (2):216-219.



Andrés A. J. y Andrés, H.L., (2011) *Biología, diversidad, conservación y uso sostenible de los recursos genéticos de Annonaceae en México*. Universidad Autónoma Chapingo: 26-29.

Atabani, A.E.; Silitonga, A.S.; Badruddin, I.A.; Mahlia, T.M.I.; Masjuki, H.H.; Mekhilef, S. (2012) A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 2070– 2093.

Atadashi, I. M.; Aroua, M. K.; Abdul. A. (2010) High quality biodiesel and its diesel engine application: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 2005-2007.

Atadashi, I. M.; Aroua, M. K.; Abdul A.; Sulaiman, N.M.N. (2012) Production of biodiesel using high free fatty acid feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 3275– 3285.

Balat, M. (2011) Potential alternatives to edible oils for biodiesel production. A Review of current work. *Energy Conversion and Management*, 52:1479–1483.

Banković-Ilić, I. B.; Stamenković, O. S.; Veljković, V. B. (2012) Biodiesel production from non-edible plant oils. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 3621– 3647.

Bauen, A.; Howes, J.; Bertuccioli, L.; Chudziak, C. (2009) Review of the potential for biofuels in aviation. Final Report. *Biofuels in aviation*. E4tech: 33-50.

Bedoya, A.; Castrillón J.; Ramirez J.; Vásquez, J.; Zabala, A. (2008) Producción biológica de hidrógeno: una aproximación al estado del arte. *Dyna*, 75. 154:137-157.

Becke, A.D. (1992). Density functional thermochemistry. I. The effect of the exchangeonly gradient correction. *J Chem Phys* (96), pp. 2155–60.

Benjumea, P.; Agudelo, J.; Ríos, L. (2009). *Biodiesel: Producción, calidad y caracterización*. Universidad de Antioquia y grupo Eficiente de La Energía, Colección Ciencia y Tecnología. Medellín: 3-8.





Biodiesel Handling and Use Guide. (2009) National Renewable Energy Laboratory. Innovation for Our Energy Future. <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/pdfs/43672.pdf> [En línea] (Último acceso al 23 de enero de 2013).

Borugadda, V. y Goud V. (2012) Biodiesel production from renewable feedstocks: Status and opportunities. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 4763–4770.

Branco, P. C.; Rosa, M. F.; Castilho, P. C.; Ferreira, J. (2010) Characterization of *Annona cherimola* Mill. Seed Oil from Madeira Island: a Possible Biodiesel Feedstock. *J Am Oil Chem Soc*, 87:429–436.

Castillo, P.; Mendoza, A.; Caballero, P. (2012) Análisis de las propiedades fisicoquímicas de gasolina y diesel mexicanos reformulados con Etanol. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, XIII (3): 293-306

Castro, R. (2007). Cultivo de la anona (*Annona cherimola*, Mill). San José, C.R.: 10-15.

Cheng, C.; Lo, Y.; Lee, K.; Lee, D.; Lin, C.; Chang, J. (2011) Biohydrogen production from lignocellulosic feedstock. *Bioresource Technology*, 102: 8514–8515

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) disponible en internet: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/885Annona%20cherimola.pdf> [En línea] (Último acceso 15 de diciembre de 2012).

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) [http://www.conabio.gob.mx/2ep/images/3/37/capital\\_natural\\_2EP.pdf](http://www.conabio.gob.mx/2ep/images/3/37/capital_natural_2EP.pdf) [En línea] (Último acceso al 23 de enero de 2013).

Cortés, D.; Myint, S. H.; Hocquemiller, R. (1991) Molvizarin and motrilin: Two novel cytotoxic bis-tetrahydro-furanic  $\gamma$ -lactone acetogenins from *Annona cherimolia*, *Tetrahedron*, 47 (38): 8195-8202.



Cortés, D.; Myint, S. H.; Dupont, B.; Davoust, I. (1993) Bioactive acetogenins from seeds of *Annona cherimolia*, *Phytochemistry*, 32(6): 1475-1482.

Damartzis, T. y Zabaniotou A. (2011) Thermochemical conversion of biomass to second generation biofuels through integrated process design. A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15: 366–378.

Demirbas A. (2008) *Biodiesel: a realistic fuel alternative for diesel engines*. London Springer: 125-129.

Demirbas, M.F.; Balat, M.; Balat, H. (2011). *Biowastes to biofuels*. *Energy Conversion and Management* (52), pp. 1815–1828.

Dos Santos, V. M. L.; Da Silva J. A. B.; Stragevitch, L.; Longo, R. L. (2011) Thermochemistry of biodiesel oxidation reactions: A DFT study. *Fuel*, 90: 811–817.

Egydio, M. P. A. y Dos Santos D. Y. (2011) *Underutilized Annona Species from the Brazilian Cerrado and Amazon Rainforest: A Study on Fatty Acids Profile and Yield of Seed Oils*. by The New York Botanical Garden Press, Bronx, NY 10458-5126 U.S.A. *Economic Botany*, 65(3): 329–333.

Fassinou, W. F.; Van de Steene, L.; Toure, S.; Martin, E. (2011) What correlation is appropriate to evaluate biodiesels and vegetable oils higher heating value (HHV)? *Fuel*, 90: 3398.

Feras, Q.; Liu, X.; McLaughlin, L. (1999) *Annonaceous Acetogenins*. *Recent Progress. J. Nat. Prod.*, 62: 504-510.

Ferrari, R. A.; Turtelli, P. A. L. M.; Park K. J. (2011). *Biodiesel Production and Quality, Biofuel's Engineering Process Technology*, Dr. Marco Aurelio Dos Santos Bernardes, InTech, disponible en: <http://www.intechopen.com/books/biofuel-s-engineering-processtechnology/biodiesel-production-and-quality> [En línea] (Último acceso al 16 de enero de 2013).

Florez, A. y Mesa, S. (2007) *Tesis: Monografía sobre pruebas de actividad biológica con dos organismos modelos en acetogeninas de anonáceas con actividad biopesticida*. Universidad Tecnológica, Facultad de Tecnologías.



Furniss, B. S.; Hannford, J. A.; Smith, W. P. G.; Tatchell, A. R. (1989) Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. Fifth Edition, Longman Scientific & Technical: 1179-1180.

Gaceta UNAM. Órgano Informativo de la Universidad Nacional Autónoma de México. 25 de Febrero de 2013. Núm 4, 493: 7.

García, C. y García, L. (2006) Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol. Informe de Vigilancia Tecnológica. CEIM: 32-91.

Greig, C. G. y Leaback, D. H. (1960) Use of Chlorine in the Detection of Compounds on Paper Chromatograms. Nature, 188: 310.

Hoekman, S.K.; Brocha, A.; Robbinsa, C.; Cenicerosa, E.; Natarajanb, M. (2012) Review of biodiesel composition, properties and specifications. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16: 143– 169.

Insanu, M.; Anggadiredja, J.; Kayser O. (2012) Curcacycline A and B – new pharmacological insights to an old drug. International Journal of Applied Research in Natural Products, 5 (2): 26-27.

International Energy Agency (IEA) en internet: <http://www.iea.org/stats/index.asp> [En línea] (Revisado el 5 de febrero de 2013)

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). Sistema de Cuentas Nacionales de México: Cuentas económicas y ecológicas de México, 2006-2010 / Instituto Nacional de Estadística y Geografía.-- México: INEGI, 2012.

Karavalakis, G.; D. Hilari, Givalou, L.; Karonis, D.; Stournas, S. (2011) Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants. Energy 36: 369-374.



Karmakar, A.; Karmakar, S.; Mukherjee, S. (2010) Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 101: 7201–7210.

Knothe, G. (2005). The history of vegetable oil-based fuels. En: Gerhard Knothe, Jon Van Gerpen y Jürgen Krahl. *The biodiesel Handbook*. Champaign (Illinois): AOCS: 4-16.

Kong, J.; White, C.A.; Krylov, A. I.; Sherrill, D.; Adamson, R.D.; Furlani, T.R.; Lee, M.S.; *et al.* (2000). Q-Chem 2.0: A High Performance Ab Initio Electronic Structure Program Package. *J Comput Chem*, 21:1532–1548.

Lapuerta, M.; Armas, O., Herreros, J. (2008). Emissions from a diesel–bioethanol blend in an automotive diesel engine. *Fuel*, 87: 25.

Leung, D.Y.C.; Wu X.; Leung, M.K.H. (2010) A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy* 87: 1083–1095.

Liu, B.; Wanga, F.; Yunzea, W.; Juna, B.; Maoliangb, B.; Gaoa, J. (2012). Life cycle implication of the potential commercialization of stover-based E85 in China. *Energy Police*, 43: 371.

Mac Faddin, F (2000) *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Tercera Edición, Ed. Médica Panamericana. E.U.A: 185-187.

Meher, L.C.; Vidya, S. D.; Naik, S.N. (2006) Technical aspects of biodiesel production by transesterification. A review *Renew. Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10: 251–255.

Moser, B. R. (2009) Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In Vitro Cell.Dev.Biol. Plant*, 45:229–238.

Motasemi, F.; Ani, F.N. (2012) A review on microwave-assisted production of biodiesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16: 4724.

Naik, S.N.; Goud, Vaibhav V.; Rout, Prasant K.; Dalai, Ajay K. (2010) Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 590.



Navarro G.V.; González, A.; Fuentes, M.; Aviles, M.; Rios, Y. ; Zepeda, G. Rojas, M.G. (2003) Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants *Journal of Ethnopharmacology*, 87 (1): 85-88.

Nigam, P. S.; Singh. A. (2011) Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science* 37: 52-68.

Ocampo, S.; Betancur, J.; Ortiz, A.; Ocampo, C. (2007). Estudio cromatográfico comparativo de los ácidos grasos presentes en semilla de *Annona cherimolioides* y *Annona muricata* L. *Vector* 2: 103 – 112.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) [http://coin.fao.org/cms/world/mexico/InformacionSobreElPais/agricultura\\_y\\_des\\_rural.html](http://coin.fao.org/cms/world/mexico/InformacionSobreElPais/agricultura_y_des_rural.html) [En línea] (Ultimo acceso al 16 de enero de 2013).

Peralta, M. J. (1998). Tesis: Estudio fitoquímico biodirigido de la actividad citotóxica de *Annona diversifolia* Saff. (Ilama). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza: 90-95.

Picchi, D.; Altei, W.; Saito, M.; Bolzani, V.; Cilli, E. (2009) Peptídeos cíclicos de biomassa vegetal: características, diversidade, biossíntese e atividades biológicas. *Quim. Nova* 3 (5): 1262-1267.

Pinto, .A.; Cordeiro, M.; de Andrade, S.; Ferreira, F., Filgueiras, R.; Kinpara, D.I. (2005) *Annona* Species, International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, UK.

Pisarello, M.; Dalla, C.; Mendow, G.; Querini, C. (2010) Esterification with ethanol to produce biodiesel from high acidity raw materials: Kinetic studies and analysis of secondary reactions. *Fuel Processing Technology*, 91, 9: 1005-1008.

Ramadhas, A.; Jayaraj, S.; Muraleedharan, C. (2005) Biodiesel production from high FFA rubber seed oil. *Fuel*, 84: 335.



Ramírez- Verduzco, L.F; Rodriguez- Rodriguez, J.E; Jaramillo- Jacob; A. (2012) Predicting cetane number, kinematic viscosity, density and higher heating value of biodiesel from its fatty acid methyl ester composition. *Fuel*, 91: 102-104.

Ramos, M.; Fernández, C.; Casas, A.; Rodríguez, L.; Pérez, A. (2009) Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties *Bioresource Technology*, 100: 261–268.

Reijnders, L. y Huijbregts, M. (2009) *Biofuels for Road Transport. A Seed to Wheel Perspective*. *Transport Biofuels: Their Characteristics, Production and Costs*: 7-22

REN 21: Renewables 2012 Global Status Report en internet: [http://www.map.ren21.net/GSR/GSR2012\\_low.pdf](http://www.map.ren21.net/GSR/GSR2012_low.pdf) [En línea] (Último acceso el 10 de enero de 2013).

Red Mexicana de Bioenergía, A.C. (REMBIO). La bioenergía en México. Situación actual y perspectivas. <http://www.rembio.org.mx/2011/Documentos/Cuadernos/CT4.pdf> [En línea] (Revisado el 10 de enero de 2013).

Restrepo, J. y Vinasco, L. (2010) Evaluación fisicoquímica de la fracción lipídica de las semillas de guanábana (*Annona muricata*) y la chirimoya (*Annona cherimolia*). *Revista de ciencias* 14: 117-122.

Reyes, T. (2011) Análisis de los precios y de los subsidios a las gasolineras y el Diesel en México, 2007-2011. Cámara de Diputados. Dirección de Servicios de Investigación y Análisis: 32-36.

Rivas, C. (2010) Tesis: Microencapsulación y estabilización enzimática del jugo de chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Instituto Politécnico Nacional.

Schlie-Guzmán, M. A.; González-Esquinca, A.R.; Lunacazáres, L.M. (2009) Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares



neoplásicas. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica, 8 (4): 245-257.

Sepúlveda G. I. (2012) Bioturbosina. Producción de cultivos energéticos para la aviación comercial. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3 (3): 584.

Secretaría de Energía (SENER). Balance Nacional de Energía 2011. Subsecretaría de Planeación Energética y Desarrollo Tecnológico Dirección General de Planeación Energética. México, 2012.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=351](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351) [En línea] (Actualizado al 20 de diciembre de 2012).

Shahid, E.M. y Jamal Y. (2011) Production of biodiesel: A technical review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15: 4733-4734.

Sharma, Y.C.; Shingh, B.; Upadhay, S.N. (2008) Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. Fuel, 87: 2355.

Singh S.P. y Singh, D. (2010). Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14: 200–216.

Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (SINAREFI): [http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_anonaceas.html](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_anonaceas.html) [En línea] (Ultimo acceso al 25 de enero de 2013).

<http://www.sinarefi.org.mx/Colecta%20y%20conservacion%20de%20semilla%20de%20Chirimoya%20en%20Mexico.pdf> [En línea] (Ultimo acceso al 8 de enero de 2013).

[http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_anonaceas.html#cajaUsos](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_anonaceas.html#cajaUsos) [En línea] (Ultimo acceso al 8 de enero de 2013).

Swain, P. K.; Das, L.M.; Naik, S.N. (2011) Biomass to liquid: A prospective challenge to research and development in 21<sup>st</sup> century. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15: 4922– 4928.



Taboada, E.; Osnaya, S. (2009) El diesel para autotransporte en México. Situación actual y prospectiva. Cotidiano, 57: 65-74.

Timilsina, G. y Shrestha, A. (2011) How much hope should we have for biofuels? Energy, 36: 2055-2069.

Torossi, B. F. D. (2006). Reacciones en contexto: la transesterificación en la producción de biodiesel a partir del aceite de fritura usado. Real Sociedad Española de Química. Anales de Química 102 (3): 43-45.

United Nations Population Fund (UNFPA) <http://www.unfpa.org/public/> [En línea] (Ultimo acceso al 8 de enero de 2013).

Valdez, V.I.; Acevedo, B.J.A.; Cuitláhuac, H.S. (2010). Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico. Renewable and Sustainable Energy Reviews (14): 2147-2153.

Wade, L.G. (2004) Química Orgánica. 5ta Edición. Pearson Educación, S. A. Madrid: 1131.

Wele, A.; Ndoye, I.; Zhang, Y.; Brouard, J.P.; Bodo B. (2005) Cherimolacyclopeptide D, a novel cycloheptapeptide from the seeds of *Annona cherimolla*. Phytochemistry, 66: 693.

Wele, A.; Zhang, Y.; Dubost, L.; Pousset, J. L.; Bodo, B. (2006) Cyclic Peptides from the Seeds of *Annona glauca* and *A. cherimolla*. Chem. Pharm. Bull., 54 (5): 690.

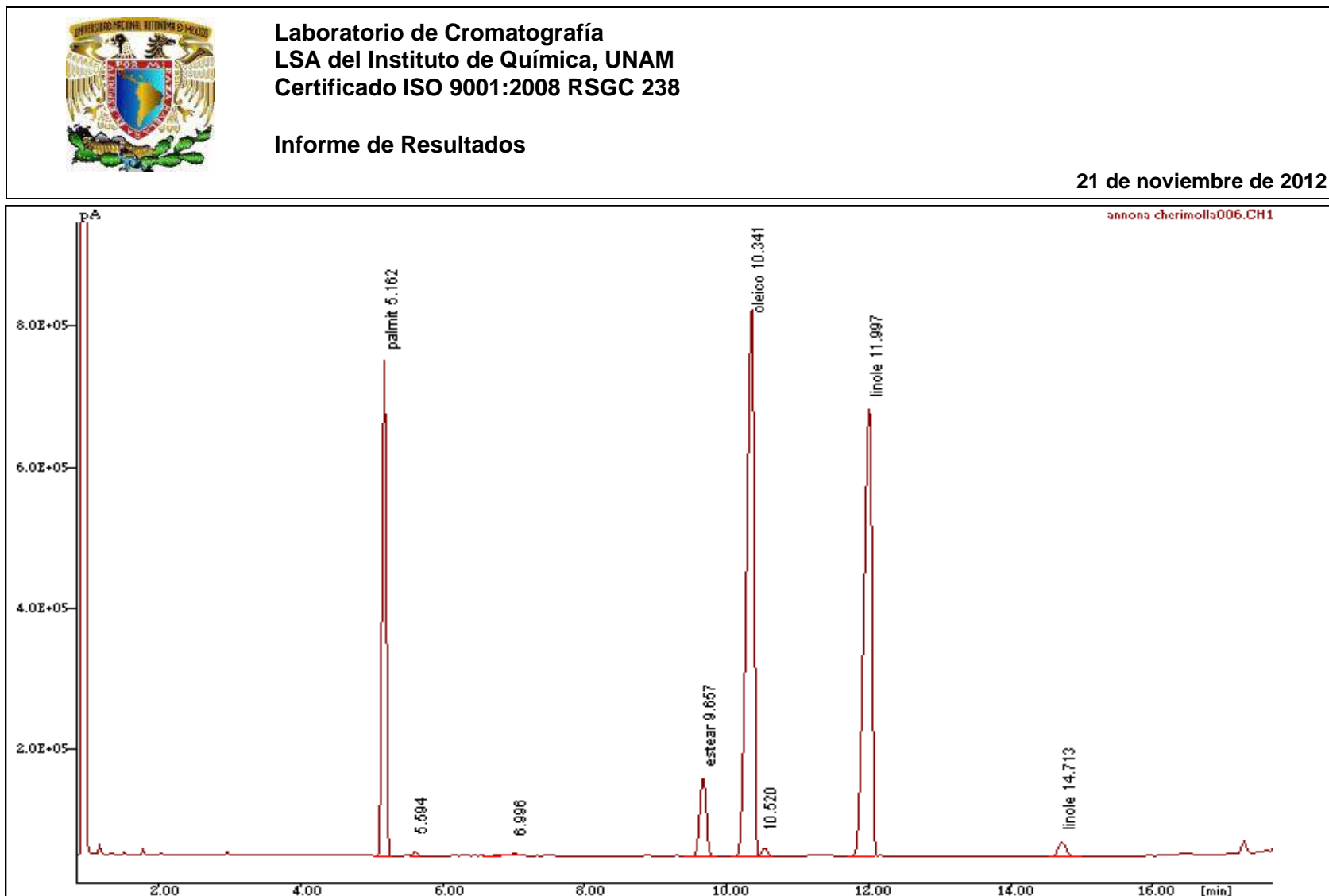
Yan, J.; Li, A.; Xu, Y.; Ngo, T.; Phua, P.; Li, Z. (2012) Efficient production of biodiesel from waste grease: One-pot esterification and transesterification with tandem lipases. Bioresource Technology, 123: 333.

Zeng, L.; Ye, Q.; Oberlies, N. H.; Shi, G.; Gu, Z.; He, K.; Mclaughlin, J. L. (2004). Recent Advances in Annonaceous Acetogenins. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy: 2-6.

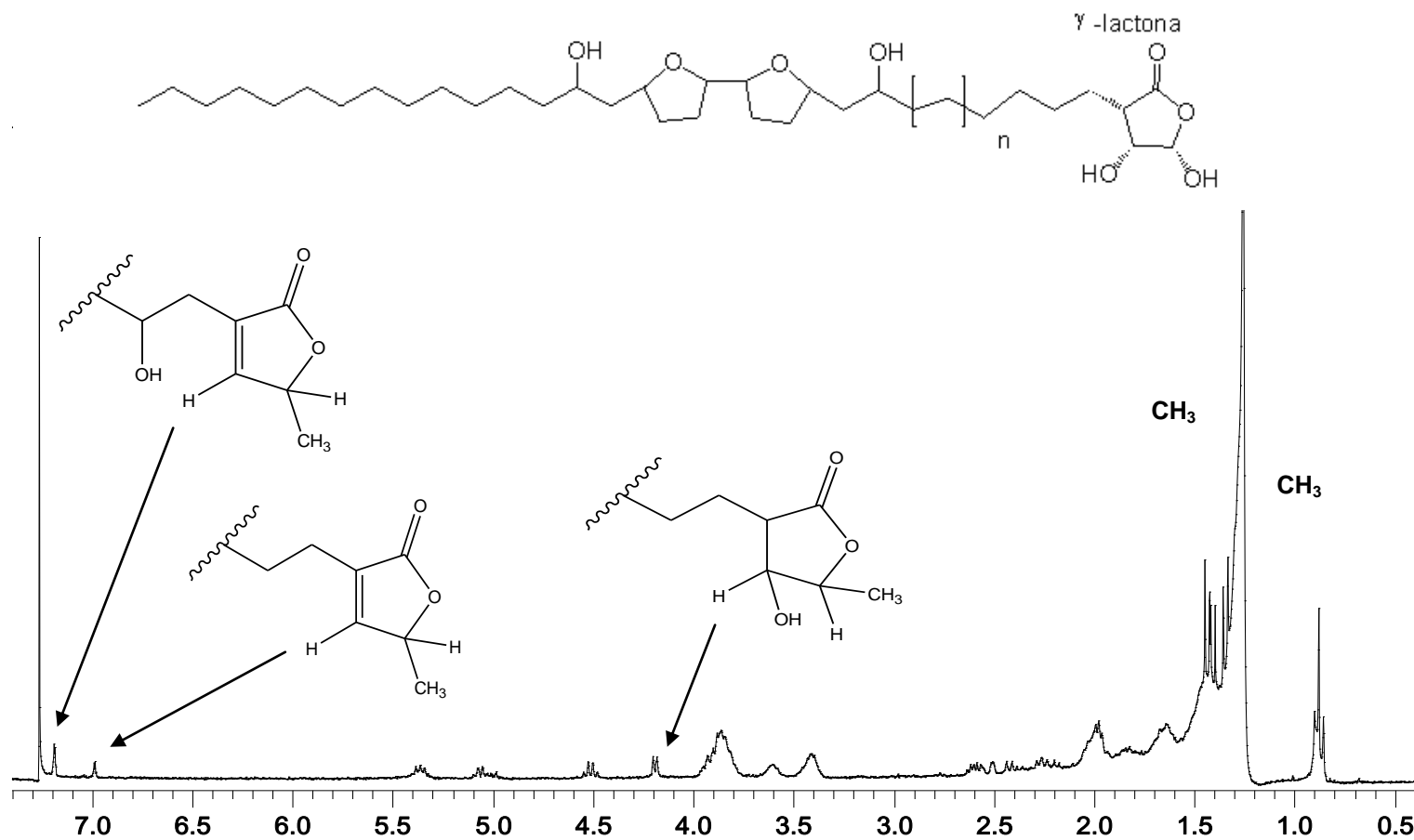


## **9. ANEXO**

**Figura 38.** Cromatograma del perfil de ésteres metílicos de los ácidos grasos del biodiésel de *A. cherimola*.



**Figura 39.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN  $^1\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) del extracto de partición de diclorometano extraído de las semillas de *A. cherimola*.



**Figura 40.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN- 1H, CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) del extracto de partición de acetato de etilo extraído de las semillas de *A. cherimola*.

