



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

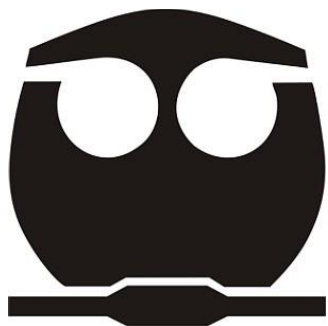
FACULTAD DE QUÍMICA

APROVECHAMIENTO DEL ACEITE DE LAS
SEMILLAS DE LIMÓN MEXICANO
(*Citrus aurantifolia*)
PARA LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE DE BIODIÉSEL

TESIS

QUE PARA OTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA
VÁZQUEZ GUZMÁN PAULA



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX.

2020



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:** Alfonso Sebastián Lira Rocha
VOCAL: **Profesor:** Bertha Julieta Sandoval Guillen
SECRETARIO: **Profesor:** Benito Reyes Trejo
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Luis Ángel Polindara García
2° SUPLENTE: **Profesor:** Lino Joel Reyes Trejo

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA L-208 EN LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO,
EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO

LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, ÁREA DE QUÍMICA, DEPTO. PREPARATORIA
AGRÍCOLA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHAPINGO

ASESOR DEL TEMA:

DR. BENITO REYES TREJO

SUPERVISOR TÉCNICO:

DR. LINO JOEL REYES TREJO

SUSTENTANTE:

PAULA VÁZQUEZ GUZMÁN

Contribuciones científicas

- Presentación en el Foro de Difusión de Investigación Científica de una ponencia titulada “**Transformación del aceite de las semillas de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) para la producción sustentable de biodiésel**” por: Benito Reyes Trejo, Paula Vázquez Guzmán, Holber Zuleta Prada, Diana Guerra Ramírez, Lino Joel Reyes Trejo, celebrado en San Juan del Río, Querétaro los días 5 y 6 de diciembre de 2017.
- Presentación en la Euro Chemistry Conference de una ponencia titulada “**Utilization of waste of Mexican lemon seeds (*Citrus aurantifolia*) for the production of biodiesel**” por: Benito Reyes Trejo, Jovita García Rivera, Holber Zuleta Prada, Diana Guerra Ramírez, Lino Joel Reyes Trejo, Paula Vázquez Guzmán, celebrado en Roma Italia del 11 al 13 de junio de 2018.

CONTENIDO

1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	2
2.1 Problemática Energética en el Mundo y en México.....	3
2.2 Soluciones alternas de energía.....	6
2.3 Biocombustibles.....	8
2.3.1 Biocombustibles de primera generación.....	9
2.3.2 Biocombustibles de segunda generación.....	9
2.3.3 Biocombustibles de tercera generación.....	10
2.3.4 Biocombustibles de cuarta generación.....	11
2.4 Biodiésel.....	12
2.4.1 Definición.....	12
2.4.2 Residuos vegetales como materia prima para producción de biodiésel.....	13
2.5 Aprovechamiento de residuos cítricos para la obtención de biodiésel.....	14
2.6 Métodos de extracción de aceites.....	14
2.7 Reacción de transesterificación.....	16
2.7.1 Catálisis en medio ácido.....	18
2.7.2 Catálisis en medio básico.....	18
2.7.3 Catálisis enzimática.....	18
2.8 Parámetros de calidad en aceite y biodiésel.....	19
2.8.1 Índice de acidez.....	19
2.8.2 Índice de Yodo (método de Wijs).....	20
2.8.3 Viscosidad Dinámica y Cinemática.....	22
2.8.4 Densidad.....	22
2.8.5 Entalpía de combustión.....	22
2.8.6 Características espectroscópicas de aceites y biodiésel.....	23

2.8.7 Cromatografía de Gases para identificación de ésteres metílicos en el biodiésel	24
2.9 Limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i>)	25
2.9.1 Generalidades.....	25
3. Ciclopéptidos	28
4. Objetivos.....	30
5. Hipótesis.....	31
6. Metodología.....	32
6.1 Recolección de materia prima	33
6.1.1 Extracción de semilla, lavado y secado	33
6.1.2 Caracterización física de la semilla	33
6.1.3 Determinación de humedad	33
6.1.4 Índice de flotación	34
6.2 Extracción de aceite de la semilla de limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	35
6.2.1 Extracción por Soxhlet	35
6.2.2 Extracción por maceración.....	35
6.2.3 Caracterización del aceite obtenido por pruebas fisicoquímicas.....	36
6.2.4 Cálculo del Índice de Acidez	37
6.2.6 Determinación del Índice de Yodo	38
6.3 Obtención de biodiésel a través de transesterificación en medio básico.....	39
6.4 Caracterización del Biodiésel	41
6.5 Preparación de mezclas.....	41
6.6 Determinación de Ciclopéptidos en bagazo de semilla de limón mexicano	41
6.6.1 Prueba de Ninhidrina	42
6.6.2 Prueba de Cl_2/O -Tolidina	42
6.7 Detección de Ciclopéptidos en cáscara de limón mexicano.....	42
7. Resultados y discusión.....	44
7.1 Caracterización de semillas.	44
7.2 Índice de flotación en la semilla.....	44

7.3 Determinación de humedad	44
7.4 Extracción del aceite por Soxhlet y maceración	45
7.5. Viscosidad y Densidad en los aceites extraídos.....	46
7.6 Calor de combustión	48
7.7 Índice de acidez obtenido en aceites	49
7.8 Índice de yodo valorado en los aceites	49
7.9 Características del aceite por RMN ¹ H.....	49
7.10 Reacción de transesterificación.....	52
7.11 Viscosidad y Densidad en biodiésel	52
7.12 Índice de acidez determinado en el biodiésel.....	54
7.13 Índice de Yodo obtenido en el biodiésel.....	54
7.14 Identificación del Biodiésel por RMN ¹ H.....	55
7.15 Perfil de ácidos grasos en el Biodiésel de semilla de limón mexicano	57
7.16 Mezclas de Biodiésel de limón mexicano con Diésel petroquímico.....	58
7.17 Viscosidad y Densidad encontradas en las mezclas.....	58
7.18 Entalpía de combustión	61
7.19 Detección de ciclopéptidos en bagazo de semilla y cáscara de limón mexicano (Citrus aurantifolia)	61
Conclusiones	63
Bibliografía.....	64
Anexo	69
Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de limón	69

Índice de figuras

Figura 1. Reacción de transesterificación.....	17
Figura 2. Zonas de un espectro de infrarrojo indicando la posición donde aparecen bandas de absorción de los enlaces presentes en grupos funcionales más importantes	23
Figura 3. Zonas de un espectro de RMN- ¹ H indicando la posición donde aparecen señales de hidrógenos presentes en grupos funcionales más importantes.	24
Figura 4. Características de tres principales especies de limón comercializados en México	26
Figura 5. Principales estados productores de limón en la República Mexicana	27
Figura 6. Producción de limón anualmente en miles de toneladas.....	27
Figura 7. Ejemplos de estructuras moleculares de un péptido y un ciclopéptido.....	29
Figura 8. Esquema de extracción de aceite y su transformación a biodiésel	32
Figura 9. Recepción de materia prima.....	33
Figura 10. Aspecto de las semillas secas.....	33
Figura 11. Caracterización de 30 semillas de limón.....	34
Figura 12. Termobalanza utilizada para determinar la humedad de las semillas de limón.....	34
Figura 13. Arreglo que adoptan las semillas de limón en la flotación	34
Figura 14. Equipo de Soxhlet utilizado en la extracción de aceite de semillas de limón.....	36
Figura 15. Aspecto de la extracción por maceración de las semillas de limón	36
Figura 16. Destilación de hexano en rotavapor.....	36
Figura 17. Aceite obtenido de la semilla	36
Figura 18. Viscosímetro Stabinger empleado para la determinación de la densidad y viscosidad.....	37
Figura 19. Calorímetro Parr 6400 utilizado en la medición de calor de combustión.	37
Figura 20. Aspecto final de la valoración con sol. de Na ₂ S ₂ O ₃ hasta amarillo pálido..	39
Figura 21. Valoración final después de agregar la solución de almidón.....	39
Figura 22. Reacción de Transesterificación.....	40
Figura 23. Placas del seguimiento por cromatografía en capa delgada cada 30 min...	40

Figura 24. Separación del biodiésel y la glicerina.....	40
Figura 25. Lavados del biodiésel	40
Figura 26. Biodiésel de limón mexicano	41
Figura 27. Maceración de bagazo de semilla de limón y su extracto metanólico	41
Figura 28. Cáscara limpia de limón mexicano.....	43
Figura 29. Cáscara de limón en trozos y seca.....	43
Figura 30. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (CDCl_3 , TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de limón mexicano extraído por el método de Soxhlet	50
Figura 31. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (CDCl_3 , TMS, 100 MHz) del aceite de semillas de limón mexicano extraído por método de Soxhlet.....	51
Figura 32. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (CDCl_3 , TMS, 400 MHz) del Biodiésel de limón mexicano	55
Figura 33. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (CDCl_3 , TMS, 100 MHz) del Biodiésel de limón mexicano	56
Figura 34. Cromatoplasmas reveladas con a) Ninhidrina y b) o-tolidina para la identificación de ciclopéptidos en bagazo de semillas y cascaras c y d de limón mexicano	62

Índice de gráficas

Gráfica 1. Rendimiento en los dos tipos de métodos utilizados para extracción de aceite en (<i>Citrus aurantifolia</i>).	46
Gráfica 2. Comparación de la Viscosidad dinámica para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.	47
Gráfica 3. Comparación de la Viscosidad cinemática para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.	47
Gráfica 4. Comparación de la Densidad para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.	48
Gráfica 5. Comparación de la Entalpia de combustión para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.	48
Gráfica 6. Comparación de la Viscosidad dinámica para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.	53
Gráfica 7. Comparación de la Viscosidad cinemática para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.	53
Gráfica 8. Comparación de la Densidad para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.	54
Gráfica 9. Comparación de la Viscosidad dinámica para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.	59
Gráfica 10. Comparación de la Viscosidad cinemática para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.	59
Gráfica 11. Comparación de la Densidad para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.	60
Gráfica 12. Comparación de la Entalpia de combustión para el aceite de semilla de limón mexicano, Biodiésel de limón mexicano y Diésel petroquímico, así como de las mezclas realizadas de estos dos últimos.	61

Índice de tablas

Tabla 1. Ácidos grasos más comunes en aceites vegetales.....	13
Tabla 2. Características físicas de semillas de limón mexicano.....	44
Tabla 3. Rendimiento de aceite en las semillas de diversos cítricos.....	45
Tabla 4. Composición de ácidos grasos (%) en semillas de <i>Citrus aurantifolia</i> comparado con otra fuente natural.....	57

1. Introducción.

El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) pertenece a la familia de las rutáceas donde están ubicados cítricos como la naranja, la mandarina y la toronja ente otros. El primer productor de limas y limones a nivel mundial es India (16%), seguido por México (15%). Los principales estados productores de limón mexicano son Colima, Michoacán, Oaxaca y Guerrero. Cabe señalar que la producción de limón en México (incluye los tipos “mexicano” y “persa”) en 2013 fue de 2,095,881 toneladas, cifra superior en 40 mil toneladas a lo obtenido en 2012. Los limones vietnamitas contienen en promedio de 4 a 6 semillas que aportan el 32% de aceite y de estas toneladas es posible transformarlas en miles de litros de biodiésel amigable con el medio ambiente. En el manejo de los frutos de cítricos, el aprovechamiento se centra principalmente en el jugo, algunas veces en el aceite esencial obtenido de sus cáscaras, pero tanto el bagazo como las semillas constituyen materiales que se desechan, por lo que el aprovechamiento de estos desechos industriales para su transformación a biodiésel, les dan un valor agregado a los subproductos obtenidos de la cadena productiva y de transformación de este cítrico.

El Biodiésel es un combustible producido a partir de recursos renovables como aceites vegetales y grasas animales entre otros. Se emplea en motores de diésel como automóviles, autobuses, equipo de construcción, barcos, generadores de corriente eléctrica y en calefactores de hogares. El “programa de producción sustentable de insumos para la producción de bioenergéticos y desarrollo científico y tecnológico” ha considerado como nuevas fuentes de energía renovable en México, a especies como la higuera, la palma de aceite y la jatropha. Considerando que estos materiales están siendo ampliamente investigados, en el presente trabajo se plantea entonces la búsqueda de otras fuentes alternativas de aceites no comestibles como el obtenido de las semillas de frutos como lo es el limón mexicano, (SAGARPA, 2009-2012) después de valorar el índice de acidez de dicho aceite, se preparará el biocombustible y se analizará la calidad de ambos. A dicho aceite se le determinará previamente su índice de acidez y de resultar inferior o igual al 3% entonces será apto para ser transformado a biodiésel.

2. Marco teórico

La población mundial aumenta rápidamente día a día llegando a 7,324 millones en 2015. Este rápido aumento de la población a su vez incrementa el uso y el agotamiento de los combustibles fósiles, lo que está expandiendo las demandas de energía provocando una crisis energética en todo el mundo, con lo cual se acepta universalmente que, hay una necesidad de buscar energía alternativa, que no sea el combustible fósil actual que ha sostenido a la población durante bastante tiempo; lo que ha llevado a la búsqueda de fuentes alternativas de energía. Los biocombustibles son una solución atractiva para la sustitución de combustibles fósiles por razones diferentes, que serán señaladas a lo largo de este estudio. Existen varias fuentes para la producción de biodiésel; así como también muchos desechos orgánicos para explotar, desde una perspectiva económica y social, el aceite de semilla comestible que puede ser transformado a biocombustible debe ser sustituido por aceite de semilla no comestible, el cual resulta ser de bajo costo y confiable para la producción de biodiésel. En varias partes del mundo los recursos vegetales no comestibles están abriendo caminos para su uso en la producción de biodiésel; lo cual puede dar resultado en la sustitución de la dependencia de los recursos energéticos fósiles, por aquellos recursos obtenidos de aceites de diversas semillas de frutos y plantas y así hacer frente a la devastadora crisis de energía en todo el mundo. (Asif *et al*, 2017). Como resultado, la búsqueda de biocombustibles en formas de biodiésel, biogás y bioetanol parece ser una alternativa para este problema. En este sentido la mayor parte del mundo ha estado a la vanguardia de la investigación de fuentes alternativas de energía.

En la actualidad, el biocombustible, el biogás y el bioetanol se consideran las alternativas más prometedoras en la generación de energía que pueden competir con el combustible fósil; el desarrollo de los biocombustibles se puede dividir en dos procesos principales. Los cultivos potenciales son fuente de desechos o de productos de uso directo y se ha documentado a la caña de azúcar, la remolacha o los rastrojos de maíz, para la obtención de bioetanol; la colza, el girasol, el aceite de palma o el aceite de soja para la producción de biodiésel; que este último también puede obtenerse partir de fuentes microbianas como microalgas, diatomeas y hongos y otras fuentes microbianas. Los proyectos de biocombustibles a gran escala se están generalizando con la doble intención de

proporcionar seguridad energética y exportar biocombustibles para el crecimiento económico; las materias primas se encuentran en abundancia, ya sea como comestibles o no comestibles (Ezeonu y Ezeonu. 2016).

Ya que la energía es uno de los recursos más esenciales para el desarrollo de la humanidad, debido al enorme aumento en el número de vehículos, la demanda y disponibilidad de gasolina es un tanto desequilibrada, y hay una necesidad de equilibrar las demandas energéticas. El sector de transporte está basado en combustibles derivados del petróleo. Se prevé que, en un futuro no muy lejano, los productos petrolíferos no serán suficientes por lo que en costo aumentarán de manera significativa, lo que lo convierte en una gran amenaza para la economía de nuestra nación. El incremento día a día en los precios y la disminución de las fuentes de los combustibles convencionales han llevado a estudios intensivos sobre el uso de combustibles alternativos, especialmente los aceites vegetales. Para mejorar la economía de combustible de los motores, se están llevando a cabo diversas investigaciones y estudios. La preocupación por el rápido agotamiento del petróleo y su impacto ambiental ha desplazado el interés hacia fuentes alternativas de combustibles, en particular los biocombustibles, que son renovables y amigables con el medio ambiente. Por lo tanto, se han obtenido diferentes aceites vegetales, no comestibles y residuos para la producción de biocombustibles. La elección del biocombustible incluye la capacidad de carga, disponibilidad, renovabilidad, mayor eficiencia de combustión, mayor índice de cetano, mayor biodegradabilidad, alto punto de inflamación, lubricidad inherente, menor contenido de azufre y aromáticos. (Reyes-Trejo *et al*, 2014).

2.1 Problemática Energética en el Mundo y en México

Para hacer frente al desafío global planteado por la crisis energética, los países de todo el mundo están prestando atención a una gama de recursos de energía renovable amigable con el medio ambiente, que se espera desempeñen un papel muy importante en la prevención de crisis futuras inminentes de energía. El uso frecuente y severo de la biomasa como recurso de energía renovable podría minimizar la dependencia de los combustibles fósiles, superar la emisión de CO₂ y disminuir el efecto invernadero (Asif *et al*, 2017). Por otro lado, el sistema energético mexicano confronta una severa crisis de producción de petróleo o de fuentes alternativas de energía. Durante más de cuatro

décadas funcionó a base de explotar, transformar y utilizar intensamente hidrocarburos de origen fósil. El suministro de éstos cubría los requerimientos crecientes del mercado interno, generaba excedentes netos de exportación y contribuía a financiar el gasto público, sin embargo, el sistema se tornó gradualmente disfuncional. La oferta nacional petrolera se deterioró gradualmente y en el último lustro se desplomó a niveles sin precedentes. Las fuentes renovables de energía, pese a su dinamismo, no suplen el vacío de la disminuida oferta de hidrocarburos, tampoco lo suplen otras fuentes como la nuclear y el carbón mineral, que permanecen estancadas o en decremento. En contraste, la demanda nacional de energía mantiene la tendencia secular de crecimiento moderado que la ha caracterizado por mucho tiempo, así, la crisis energética afecta a múltiples ámbitos de la economía. Uno es la inusitada dependencia externa de hidrocarburos primarios y transformados. Las importaciones de estos productos ocupan un lugar preponderante en el abasto nacional, además, México se convirtió en el principal destinatario de las exportaciones estadounidenses de gas natural, gasolinas y diésel. La crisis energética afecta severamente las percepciones del erario federal, en especial el pago de la renta petrolera, reflejado por los derechos percibidos por la explotación de los hidrocarburos que fueron de 434 mil millones de pesos en 2017, menos de la mitad de los registrados cinco años antes (a precios corrientes). Registrándose un persistente descenso en la extracción petrolera que explica la caída de dicha explotación; sin embargo, las fluctuaciones del precio del petróleo no alteran en lo fundamental el impacto de esa menor extracción. Otra consecuencia de la crisis es que se acentuó la desigualdad fiscal. Y entonces la reacción hacendaria para compensar la menor percepción de derechos fue modificar el régimen jurídico del Impuesto Especial sobre Productos y Servicios (IEPS) aplicable a gasolinas y el diésel. Una de las razones más importantes de la crisis energética reside en la carencia acumulada de la inversión pública para reponer e integrar la formación de capital de la industria petrolera y restituir las reservas de hidrocarburos.

En síntesis, para abordar y resolver la problemática energética en México, en el corto y mediano plazo, es importante incentivar la utilización racional de las disminuidas reservas petroleras probadas del país en función de los objetivos del desarrollo nacional. En el largo plazo sería altamente riesgoso cimentar una estrategia energética del país solo en

la explotación de los hidrocarburos. Estamos ante la inminencia de construir en los próximos años la transición energética hacia una matriz más diversificada basada en otras fuentes de energía. Entonces, para superar la crisis energética se requiere transitar del sistema actual hacia otro que garantice conciliar objetivos nacionales de seguridad, igualdad y sustentabilidad, en materia de energía. Se requiere para ello reducir el desperdicio y la intensidad energética en la producción y el consumo de la economía (eficiencia energética); diversificar las fuentes de energía con la mayor prioridad a las renovables y al uso racional e integrado de los recursos naturales (transformación productiva); y reorganizar las instituciones del Estado con el propósito de identificar, financiar y ejecutar proyectos prioritarios de inversión pública y privada en las industrias petrolera y eléctrica y en las actividades consumidoras de energía. (Flores, 2019).

Cambio climático

Un paso importante hacia la reducción de emisiones de dióxido de carbono y la conservación de los recursos fósiles es la sustitución de combustibles fósiles por biocombustibles. Los combustibles renovables, producidos de un modo sostenible a partir de recursos naturales, permiten virtualmente un ciclo cerrado de CO₂, ya que las plantas a partir de las cuales el biocombustible es producido incorporan el CO₂ del aire durante su crecimiento, con lo que las emisiones de CO₂ a partir de los biocombustibles quemados en el motor son ampliamente compensados. Por otro lado, la ONU afirma que en África las energías renovables están teniendo una penetración más rápida en los últimos años ya que, el continente ha registrado crecimientos del 5% en los últimos años. Suponen por lo tanto el desarrollo de estas energías alternativas un reto sobre cómo aprovechar su potencialidad en este campo del continente africano (Carozo, 2014).

El consumo global de energía en 2018 aumentó a casi el doble de la tasa promedio de crecimiento desde 2010, impulsado por una economía global robusta y mayores necesidades de calefacción y refrigeración en algunas partes del mundo. La demanda de todos los combustibles aumentó, liderada por el gas natural, incluso cuando la energía solar y eólica registraron un crecimiento de dos dígitos, sin embargo, la mayor demanda de electricidad fue responsable de más de la mitad del crecimiento de las necesidades energéticas y entonces, la eficiencia energética no mejoró, registrándose como resultado

un mayor consumo de energía, donde las emisiones de CO₂ aumentaron por primera vez el 1.7% el año pasado.

Las condiciones climáticas del año pasado también fueron responsables de casi una quinta parte del aumento de la demanda mundial de energía, ya que las temperaturas medias de invierno y verano en algunas regiones se acercaron o superaron los registros históricos. Los fríos dispararon la demanda de calefacción y, lo que es más importante, las temperaturas más cálidas del verano aumentaron la demanda de refrigeración. La concentración promedio anual global de CO₂ en la atmósfera aumentó de 2.4 ppm desde 2017 con un promedio de 407.4 ppm en 2018. Este es un aumento importante con respecto a los niveles preindustriales, que osciló entre 180 y 280 ppm. El aumento del uso de energías renovables en 2018 tuvo un mayor impacto en las emisiones de CO₂, evitando 215 millones de toneladas de emisiones, las cuales se debe a la transición a las energías renovables en el sector energético (SENER, 2018).

2.2 Soluciones alternas de energía

Fuentes alternativas de energía.

A continuación, se describen las principales fuentes de energía renovables, sus principales características y los aspectos tecnológicos más relevantes. (Manzini y Macías, 2004).

- ❖ Bioenergía. Energía producida por la combustión de materia orgánica contenida en productos de origen vegetal y animal (incluyendo desechos orgánicos) que puede ser capturada y usada como fuente de energía química almacenada.
- ❖ Energía solar. Es obtenida a través de la captación de radiación solar que se recibe en la superficie terrestre y puede convertirse en calor, electricidad o energía mecánica mediante diferentes tecnologías según su uso. De acuerdo con el tipo de tecnología utilizado se describen como:
 - Fototérmica: Producción de electricidad mediante plantas solares termoeléctricas donde la radiación absorbida calienta un fluido térmico (aceite o sal fundida). Este calor puede ser utilizado para impulsar motores o turbinas de vapor.
 - Fotovoltaica: Estos sistemas convierten la radiación solar en electricidad

- ❖ Energía hidráulica. Energía generada a partir del aprovechamiento de las energías cinética y potencial al embalsar un río, debido a la diferencia de alturas se tiene agua a alta presión que es conducida hacia una turbina hidráulica generando una corriente eléctrica.
- ❖ Energía eólica. Se obtiene a través del calentamiento no uniforme de la atmosfera y superficie terrestre debido a la radiación del sol lo que resulta en una distribución desigual de presión en la atmosfera generando el movimiento de masas de aire (viento), aprovechadas por aeroturbinas y transformada en energía eléctrica.
- ❖ Energía geotérmica. Esta energía proviene de la extracción de calor que se genera en el interior de la Tierra, una vez localizado el reservorio geotérmico, que es un depósito de fluido a temperaturas mayores a los 200°C y a una profundidad no mayor a 3.5 km, se perforan uno o más pozos para extraer el fluido (agua-vapor), el vapor a alta presión se conduce hacia la turbina haciéndola girar y esta a su vez hace girar un generador de electricidad.
- ❖ Energía oceánica. Energía obtenida por el cambio en el nivel del mar generado por las mareas, se manifiesta de dos maneras: como energía mecánica y energía térmica.
 - La energía mecánica se presenta en forma de mareas y olas.
 - La energía térmica utiliza la diferencia de temperaturas que existe en los mares tropicales y subtropicales entre el agua tibia de la superficie y el agua fría de las profundidades.

El agua, la energía solar, el viento y los biocombustibles se consideran las fuentes de energía alternativas más utilizadas. Referente a los combustibles según USDA, la producción total de aceite vegetal fue de 148.76 millones de toneladas métricas en 2011, que aumentó hasta 175.65 millones de toneladas métricas en 2015. De manera similar, se ha producido un aumento en la importación y exportación de estos aceites de 58.01 hasta 67.92 y 60.73-70.91 millones de toneladas métricas respectivamente, en el periodo 2010-2015, mientras que el consumo total aumentó de 145.30 a 173.27 millones de toneladas métricas en este periodo. Los aceites se pueden obtener a partir de fuentes de energía convencionales y no convencionales. Una fuente convencional es la que utiliza las tecnologías ordinarias actuales y las fuentes no convencionales son aquellas que necesitan tecnologías más avanzadas o exclusivas. Para emplear el aceite vegetal, como

alternativo al diésel, este debe satisfacer algunas características. Los criterios de selección de combustibles alternativos son los siguientes: debe ser barato y debe estar disponible en cualquier lugar, debe quemarse y producir menos emisiones de CO₂, debe tener un alto valor calorífico, debe ser fácil y barato de producir, debe necesitar menos modificaciones en los motores de encendido por compresión (CI) y deberá aumentar la vida útil del motor, esperando el requerir menos mantenimiento del motor y se esperaría que fueran más fáciles de manejar y almacenar. De acuerdo con el escenario actual, el costo de los aceites vegetales es mayor en comparación con el diésel, por lo que ha surgido espontáneamente una tecnología que ha estado introduciendo nuevas tecnologías en el campo de la agricultura, así como métodos de extracción de petróleo. Se puede esperar que, en el futuro, el costo del aceite vegetal se reduzca (Vijayakumar *et al*, 2016). Los biocombustibles son una solución atractiva para la sustitución de combustibles fósiles por varias razones, la más significativa es que tienen propiedades y características similares a las de los combustibles para el transporte a base de petróleo y, por lo tanto, pueden utilizarse en los mismos motores (Asif *et al*, 2017).

2.3 Biocombustibles

Los biocombustibles son recursos energéticos procesados por el ser humano a partir de materias producidas recientemente por seres vivos, a las cuales se les denomina “biomasa”. Pueden ser líquidos, sólidos o gaseosos, y su finalidad última es liberar la energía contenida en sus componentes químicos mediante una reacción de combustión. Existen varios tipos de biocombustibles, a los cuales se les clasifica de acuerdo con el insumo o materia prima y a la tecnología empleada para producirlos. Debido a los avances en la tecnología, esta clasificación se realiza por generaciones (Álvarez, 2009). El termino *bio* indica que su origen es biológico, y por ende renovable. Por ejemplo, el biogás es un biocombustible rico en metano obtenido a partir de la digestión anaeróbica de residuos orgánicos, este biogás es capaz de substituir al GLP (gas licuado de petróleo) o gas natural para la generación de energía eléctrica o calefacción, el biodiésel obtenido de la conversión química de aceites vegetales y grasas animales, puede substituir al diésel para su uso en motores diésel, el bioetanol obtenido por fermentación de los azúcares o almidones contenidos en materias primas como la caña de azúcar o el maíz y puede substituir a la gasolina para su uso en motores de ciclo Otto. [El ciclo Otto es

el ciclo termodinámico que se aplica en los motores de combustión interna de encendido provocado por una chispa eléctrica (motores de gasolina, etanol, gases derivados del petróleo u otras sustancias altamente volátiles e inflamables). Inventado por Nicolaus Otto en 1876, se caracteriza porque en una primera aproximación teórica, todo el calor se aporta a volumen constante]. (Alejos y Calvo, 2015).

2.3.1 Biocombustibles de primera generación

Algunos de los insumos (cáscaras, semillas, almendras) son de procedencia agrícola y están conformados por las partes alimenticias de las plantas (frutos), las cuales tienen un alto contenido de almidón, azúcares y aceites. Ejemplos de estas materias son el jugo de la caña de azúcar, granos de maíz, jugo de la remolacha o betabel, aceite de semilla de girasol, aceite de soya, aceite de palma, aceite de ricino, aceite de semilla de algodón, aceite de coco, aceite de cacahuate, entre otros. También se emplean como insumos a las grasas animales, grasas y aceites de desecho provenientes de la cocción y elaboración de alimentos, y desperdicios sólidos orgánicos. Los biocombustibles son producidos empleando tecnología convencional como la fermentación (para azúcares y carbohidratos), transesterificación (para los aceites y grasas), y la digestión anaerobia (para los desperdicios orgánicos). De estos procesos se obtiene etanol, metanol y n-butanol (a partir de azúcares), biodiésel (a partir de los aceites), y biogás (mezcla de metano y anhídrido carbónico, también conocidos como gas natural y dióxido de carbono respectivamente, obtenida a partir de los desperdicios orgánicos). Las ventajas de estos biocombustibles son su facilidad de procesamiento, sus bajas emisiones de gases de efecto invernadero (excepto en el caso del maíz, donde el balance de estas emisiones es casi nulo) y un balance positivo en dichas emisiones, pero tiene como desventaja el desvío de recursos alimenticios hacia la producción de energéticos. (Álvarez, 2009). Su producción genera gran discusión debido a que compiten con los cultivos alimenticios por recursos como: suelo, fertilizantes y agua (Alejos y Calvo, 2015).

2.3.2 Biocombustibles de segunda generación

Los biocombustibles de segunda generación son obtenidos a partir de residuos agrícolas y forestales compuestos principalmente por celulosa. Ejemplos de ellos son el bagazo de la caña de azúcar (llamado Etanol 2G), el rastrojo de maíz (tallos, hojas y olote), paja de

trigo, aserrín, hojas y ramas secas de árboles, etcétera. Los procesos de producción tienen un nivel de complejidad más alto que los de primera generación, y como ejemplos destacan la sacarificación, fermentación y el proceso Fischer-Tropsch. Este último proceso también recibe los nombres de proceso GTL y proceso BTL, cuyas siglas en inglés provienen de “Gas-To-Liquids” y “Biomass-To-Liquids” respectivamente, los cuales consisten en la gasificación del carbón y de la materia lignocelulósica de la biomasa, para después sintetizar algún combustible líquido como el etanol. Mediante los procesos de segunda generación se fabrica etanol, metanol, gas de síntesis (mezcla de anhídrido carbonoso, mejor conocido como monóxido de carbono, e hidrógeno), biodiésel, 2,5-dimetilfurano (DMF), entre otros. La ventaja principal en la producción de estos biocombustibles es la inexistencia de desviaciones de alimentos provenientes de la agricultura hacia el sector energético, pero su desventaja es la poca ganancia en disminución de las emisiones de gases de efecto invernadero durante el procesamiento de los insumos, respecto a los biocombustibles de primera generación (Álvarez, 2009).

2.3.3 Biocombustibles de tercera generación

Los biocombustibles de tercera generación son aquellos que utilizan la ciencia de la genética para mejorar el crecimiento, rendimiento y características de los cultivos energéticos para obtener materia prima de mejor calidad para producir biocombustibles. El cultivo de microalgas, de las cuales puede extraerse aceite para la producción de biodiésel, es un representante de esta tecnología. (Alejos y Calvo, 2015). Los insumos son vegetales no alimenticios de crecimiento rápido y con una alta densidad energética almacenada en sus componentes químicos, por lo que se les denomina “cultivos energéticos”. Entre estos vegetales están los pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido, y las algas verdes y verdeazules. Los procesos de obtención de biocombustibles se encuentran en fase de desarrollo, sin embargo, se ha logrado producir biodiésel y etanol a nivel planta piloto. Las ventajas de estos biocombustibles son el secuestro de anhídrido carbónico (CO_2) para la producción de los insumos y un balance positivo en la emisión de gases de efecto invernadero, pero su desventaja es la utilización de tierras de cultivo de alimentos para sembrar los insumos, con excepción de las algas verdes. (Álvarez, 2009).

2.3.4 Biocombustibles de cuarta generación

Los biocombustibles de cuarta generación son producidos a partir de bacterias genéticamente modificadas, las cuales emplean anhídrido carbónico (CO_2) o alguna otra fuente de carbono para la obtención de los biocombustibles. A diferencia de las generaciones anteriores, en las que también se pueden emplear bacterias y organismos genéticamente modificados como insumo o para realizar alguna parte de los procesos, en la cuarta generación, la bacteria es la que efectúa la totalidad del proceso de producción de los biocombustibles. Actualmente esta generación de biocombustibles se encuentra en fase teórica, sólo se conoce la posible ruta de síntesis del etanol a partir de anhídrido carbónico, sin embargo, depende totalmente de la información genética de una bacteria artificial y puede tener limitaciones termodinámicas importantes. Como es sabido, la humanidad ha hecho uso de la biomasa por varios miles de años. El uso directo de la misma sin procesamiento alguno podría constituir una Generación Cero de los biocombustibles, entre los cuales se pueden mencionar a la leña, la paja de trigo, el rastrojo de otras plantas de cultivo, el estiércol del ganado, y el carbón vegetal. No es sino hasta fines del siglo XIX que se comenzó a procesar la biomasa para producir combustibles derivados de la misma. A finales del siglo XX aparecieron los primeros mercados de estos recursos energéticos y se vislumbra un mayor crecimiento, desarrollo y expansión de estos tendiente a su globalización (Álvarez, 2009).

A los biocombustibles se les atribuye los siguientes beneficios:

1. Su carácter renovable, puesto que se puede disponer de ellos en los volúmenes deseados y de esta manera disminuir la dependencia por combustibles fósiles.
2. Su neutralidad en CO_2 , debido a que las emisiones de CO_2 en su ciclo productivo pueden ser neutralizadas por el CO_2 absorbido durante el crecimiento de los cultivos energéticos mediante fotosíntesis.
3. La reducción de emisiones en su combustión de material particulado y dióxido de azufre, entre otros, que afectan la salud humana y el medio ambiente.

Son estos tres beneficios los que convierten a los biocombustibles en una alternativa energética viable frente a la problemática ambiental y energética. Sin embargo, en los últimos años con el aumento de su producción, ha surgido mucha discusión respecto a

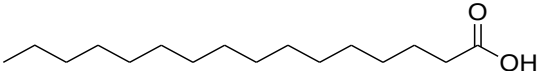
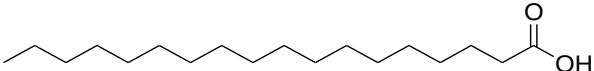
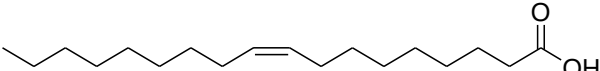
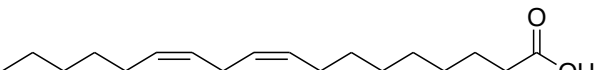
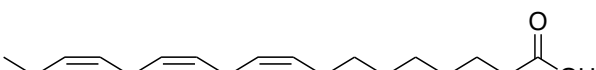
que, si de verdad los biocombustibles representan una solución al problema energético y ambiental, visto que estos cultivos energéticos podrían competir directamente por recursos (fertilizantes químicos, agua y tierra cultivable) con los cultivos dirigidos para el consumo humano, pudiendo causar una distorsión en el precio de los alimentos. (Alejos y Calvo, 2015).

2.4 Biodiésel

2.4.1 Definición

El biodiésel es una mezcla de ésteres alquílicos de ácidos grasos y se obtiene a partir de grasas y aceites, que corresponden estructuralmente a triacilglicerol o triglicéridos, mediante una reacción conocida como transesterificación. Específicamente en dicha reacción se emplean como reactivos un aceite, un alcohol de cadena corta como el metanol y es catalizada en medio básico, ácido o por enzimas, siendo los productos finales glicerina y una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés). Las moléculas de oxígeno que retiene el biodiésel le otorgan propiedades favorables para la combustión, estas cadenas no contienen azufre, cuyos óxidos producidos en la combustión, se consideran contaminantes ambientales potentes. Por otro lado, la glicerina, luego de su purificación, puede ser utilizada como insumo para las industrias farmacéutica, cosmética y en síntesis orgánica (Espinosa *et al*, 2019). El biodiésel emite por combustión aproximadamente un 10% de contenido de oxígeno (en peso), comparado con el diésel petroquímico, el biodiésel emite menores cantidades de gases como monóxido de carbono (CO), hidrocarburos (HC) y partículas (PM) a la atmósfera. (Asif *et al*, 2017). El biodiésel no es tóxico, es biodegradable, aporta una lubricidad inherente y un alto punto de inflamación, además de exhibir una baja estabilidad oxidativa y malas propiedades de flujo en frío, aunada a un problema de menor disponibilidad. (Rashid *et al*, 2013). La composición de ácidos grasos más común presente en los aceites vegetales utilizados para la producción de biodiésel, se muestra en la Tabla 1. Siendo dominantes los ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, saturado e insaturado. Las propiedades físicas del biodiésel (número de octano, el flujo en frío, estabilidad oxidativa), generalmente, son determinados por la relación del contenido de los ácidos grasos (Kargbo, 2010).

Tabla 1. Ácidos grasos más comunes en aceites vegetales

Nombre común	Fórmula molecular	Abreviación	Estructura molecular
Acido palmítico	$C_{16}H_{32}O_2$	16:0	
Acido esteárico	$C_{18}H_{36}O_2$	18:0	
Ácido oleico	$C_{18}H_{34}O_2$	18:1	
Ácido linoleico	$C_{18}H_{32}O_2$	18:2	
Ácido linolénico	$C_{18}H_{30}O_2$	18:3	

2.4.2 Residuos vegetales como materia prima para producción de biodiésel

Los biocombustibles se producen a partir de materia orgánica (incluidas partes de plantas y residuos de cultivos agrícolas, desechos municipales y/o subproductos de la agricultura y la silvicultura). (Rashid *et al*, 2013). Numerosos granos como semillas de colza, maíz y soya se utilizan como materia prima para la producción de biocombustibles, así como también diferentes semillas de cítricos tales como naranja, mandarina y toronja. Según una estimación, los humanos y demás seres vivos utilizan el 48% y el 35%, respectivamente, del total de granos producidos anualmente. Casi el 17% se utiliza para la producción de biocombustibles. (Asif *et al*, 2017). Se centra una gran atención sobre las plantas cítricas como potencial materia prima, estas pertenecen a la familia Rutaceae e incluyen *Citrus reticulata* (mandarina dulce), *Citrus sinensis* (naranja dulce), *Citrus paradisi* (pomelo) y *Citrus limon* (limón), que corresponden a las frutas más populares del mundo, especialmente en países tropicales y subtropicales. Los cítricos son la mejor fuente natural de vitamina C (ácido ascórbico) y ácido fólico, además de ser una excelente fuente de fibra. El propósito principal de los cítricos es producir jugo y sus residuos como

la cáscara, semillas y las pulpas, también son una fuente potencial de aceites, antioxidantes y fibra principalmente (Rashid *et al*, 2013).

2.5 Aprovechamiento de residuos cítricos para la obtención de biodiésel

Las semillas de cítricos usualmente son desechadas y pueden utilizarse para extraer su aceite, que puede contribuir en la reducción del costo de producción de biodiésel en comparación con las fuentes convencionales de aceites vegetales. Las semillas de cítricos tienen un promedio de aproximadamente 30% de aceite (en peso), aunque dicho contenido varía mucho con la variedad de cítricos en particular. A nivel mundial, la producción de cítricos se estima en 105 millones de toneladas métricas (MMT) por año, siendo Brasil el mayor productor (19.2 MMT), seguido de los Estados Unidos. Pakistán, con una producción anual de alrededor de 1.76 MMT de cítricos, se encuentra entre los diez primeros países productores de cítricos del mundo. (Rashid *et al*, 2013).

2.6 Métodos de extracción de aceites

El contenido total de lípidos de un alimento se determina, habitualmente, por medio de los métodos de extracción con disolventes orgánicos. La exactitud de estos métodos depende sumamente de la solubilidad de los lípidos en el disolvente utilizado y de la capacidad de extraer los lípidos de los complejos formados con otras macromoléculas. Para analizar de un modo eficiente los lípidos contenidos en los alimentos, es necesario un conocimiento de la estructura, la química y la presencia de las principales clases de lípidos y sus componentes. Por consiguiente, no existe un método normalizado único para la extracción de todos los tipos de lípidos contenidos en los distintos alimentos. (Nielsen, 2009), pudiendo ser por extracción en Soxhlet, por maceración, por extracción en frío y por extracción empleando temperatura supercrítica.

Método de extracción por Soxhlet

El método de extracción semicontinua con disolventes es el método de Soxhlet, este método de Soxhlet (Método 920.39C de la AOAC) es aplicable para la extracción de lípidos de las semillas de limón mexicano. En este método el disolvente se calienta, se evapora y condensa goteando sobre la muestra, la cual queda sumergida en el disolvente, posteriormente éste es sifonado al matraz de calentamiento para empezar de

nuevo el proceso que es cíclico y se mantiene así durante 6 horas, se trata con sulfato de sodio anhidro eliminando las trazas de agua y se elimina el disolvente por destilación al vacío, y finalmente se pesa para establecer su rendimiento (Iturbe y Sandoval, 2013).

Método de extracción por maceración

El método de maceración consiste en someter la materia orgánica en sumersión junto con un disolvente que lo impregna completamente y esté en contacto total con esta, extrayendo sustancias de baja polaridad, en este caso el aceite, así pues, esta maceración se deja por un periodo de tiempo mayor en comparación con el método Soxhlet antes mencionado.

Método de extracción asistido por ultrasonido.

La ecografía es el método de propagación de una onda de sonido oscilante que emplea una serie de frecuencias de ultrasonido entre 20 kHz y 10 MHz, con longitudes de onda acústicas asociadas en líquidos de aproximadamente 100–0.15 mm. La interacción del sonido a través del líquido causa ondas de escalada y ondas de compresión, que forman un aerosol de disolvente, vapor de soluto y gases previamente disueltos. Este fenómeno hace que las burbujas crezcan y se vuelvan a comprimir debido a los altos niveles de transferencia de masa que surgen de la formación de una microemulsión a través de cavitaciones ultrasónicas. (Vijayakumar *et al*, 2016).

¿Qué es el aceite vegetal?

El aceite vegetal es obtenido a partir de semillas u otras partes de las plantas. Está compuesto de ácidos grasos de diferentes tipos cuya proporción y diferentes características son las que dan las propiedades a la gran variedad de estos productos. Estos aceites tienen en común que su punto de humo es alto, es decir, la temperatura a la que comienza a humear es alta. Al calentarlo por encima de ese punto, alcanza temperatura de inflamabilidad y hace que se queme. (PROFECO, 2019).

Las plantas producen triglicéridos como una forma eficiente de almacenar energía. Por volumen los aceites vegetales contienen más de tres veces la energía del azúcar o el

almidón. La energía es almacenada en los numerosos enlaces carbono-carbono y carbono-hidrógeno de los ácidos grasos.

Longitud de la cadena

Los ácidos grasos de los aceites vegetales varían en longitud de cadena de carbonos entre 14 y 24 átomos de carbono. En general, los aceites que contienen más, y más largas cadenas de ácidos grasos tienen un mayor punto de fusión, son más densos, y contienen más energía por volumen. Por otro lado, el índice de saponificación es un indicador de la longitud media de la cadena. A mayor índice de saponificación, menor longitud media de la cadena.

Dobles enlaces

Los ácidos grasos de los aceites vegetales pueden tener 0, 1, 2, o 3 de estos tipos de enlaces, el número de dobles enlaces carbono-carbono ($C=C$) es llamado grado de insaturación. Un alto grado de insaturación explica por qué el aceite vegetal es líquido a temperatura ambiente y la manteca o la mantequilla son sólidas. Los triglicéridos en la manteca y mantequilla contienen en mayor proporción de ácidos grasos saturados lineales (Ácido palmítico y esteárico), los cuales permiten que se agrupen de un modo más compacto y formen enlaces intermoleculares más fuertes que los formados por los triglicéridos de los aceites vegetales que contienen muchos ácidos grasos insaturados. Entre los aceites vegetales mientras mayor es el grado de insaturación, el aceite es más diluido y es químicamente menos estable. (Carozo. 2014).

2.7 Reacción de transesterificación

La 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 alcoholisis; si el éster reacciona con un ácido carboxílico para sustituir el grupo acilo y el alquilo de dos ésteres diferentes la reacción se conoce como acidólisis, y si ocurre un intercambio entre el grupo acilo y el alquilo de dos ésteres diferentes la reacción se define como interesterificación. (Baudino, 2006). La relación estequiométrica para la reacción de transesterificación es de tres moles de alcohol y un mol de triglicérido (Figura 1), sin embargo, se agrega un exceso de alcohol para facilitar la reacción a la formación de ésteres metílicos, donde la glicerina también se forma como un subproducto en la

reacción, misma que se puede usar en la fabricación de crema de manos, jabón, pastas dentales y lubricantes todos los productos hasta ahora fabricados a partir de productos petroquímicos. Se producen varias otras reacciones secundarias que, si no se controlan, obstaculizan la conversión, el rendimiento del producto y la calidad; como puede ser la saponificación y la neutralización de ácidos grasos libres son reacciones secundarias indeseables. Estas reacciones secundarias consumen el catalizador, y como resultado, el rendimiento del biodiésel disminuye, dificultando la purificación y separación (Ezeonu y Ezeonu, 2016).

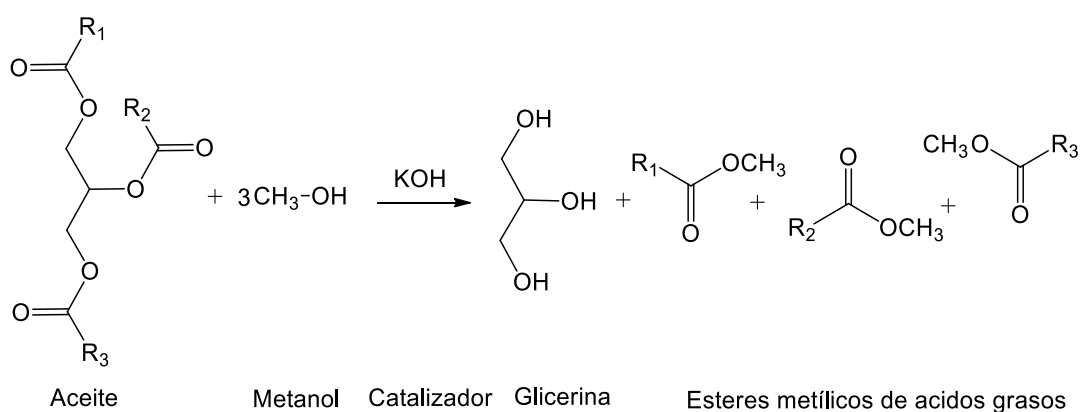


Figura 1. Reacción de transesterificación (Castellar Rodríguez *et al*, 2010).

Catálisis

En 1902 el químico alemán Ostwald dio la primera definición adecuada acerca de un catalizador, y se define como una sustancia que altera la rapidez de una reacción química sin aparecer en el producto final. De acuerdo con esta definición un catalizador puede tanto aumentar como disminuir la rapidez de una reacción química. Sin embargo, en el uso corriente, un catalizador es una sustancia que incrementa la rapidez de reacción; una sustancia que disminuya la velocidad es denominada como un inhibidor. También implica que un catalizador no es consumido durante el curso de la reacción que cataliza, sino que sirve repetidamente para ayudar a las moléculas a reaccionar. Hay otras sustancias que también pueden ser propiamente llamadas catalizadores, pero que son consumidas en las reacciones que catalizan. En bioquímica esto es cierto para muchas coenzimas. Sin embargo, estas coenzimas son a menudo regeneradas a su forma original mediante

una reacción subsiguiente, de modo que en un contexto mayor la coenzima no se altera. (Bender y Brubacher, 1977).

2.7.1 Catálisis en medio ácido

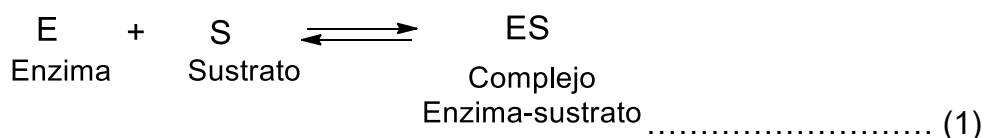
De acuerdo con Bronsted- Lowry un ácido es un donador de protones, esto es, una sustancia que puede *donar* un protón (o un ion hidrógeno, H^+) a otra sustancia. En este método de producción de biodiésel es utilizado un catalizador ácido. La idea es usar los triglicéridos con alcohol y en lugar de una base usar un ácido, el más usado comúnmente es el ácido sulfúrico, y en algunos casos el ácido sulfónico. Este tipo de catalizador da un rendimiento muy alto en los ésteres, pero la reacción es muy lenta y requiere casi siempre más de un día para terminar la reacción estudiada. (Vijayakumar *et al*, 2016).

2.7.2 Catálisis en medio básico

Una base, por otra parte, es un aceptor de protones, esto es una sustancia que puede *aceptar* un protón de otra sustancia. Las reacciones con catálisis básica general son reacciones en que cualquier base, incluyendo los iones hidroxilo, pueden actuar como catalizadores aceptando un protón y en ausencia de catalizadores la reacción tiene lugar a través del mecanismo general. En una reacción de transesterificación en medio básico la catálisis se lleva a cabo utilizando un catalizador básico. Para un catalizador básico, debe usarse hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de potasio (KOH) con metanol o etanol, así como con cualquier tipo de aceites, refinados, crudos o para freír. En este proceso, es mejor producir el alcoxi antes de la reacción para obtener una mejor eficiencia. (Vijayakumar *et al*, 2016).

2.7.3 Catálisis enzimática

En todas las reacciones catalizadas por enzima el primer paso es la unión (no covalente) del sustrato al enzima para formar lo que es llamado el complejo enzima-sustrato. Este complejo se puede disociar para devolver sustrato libre y enzima. Por tanto, esta es una reacción de equilibrio como se muestra en la ecuación 1:

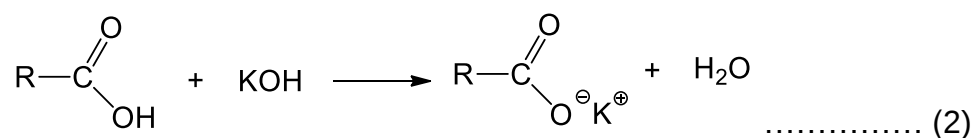


La rapidez con la que sucede una reacción enzimática dependerá de la naturaleza tanto del enzima como del sustrato; sin embargo, en todos los casos en que ha sido medida la velocidad del enlace se ha visto que es muy rápida, de modo que el equilibrio de la ecuación antes descrita se consigue en una fracción muy pequeña de segundo. (Bender y Brubacher, 1977).

2.8 Parámetros de calidad en aceite y biodiésel

2.8.1 Índice de acidez

El índice de acidez titulable es una medida del contenido de los ácidos grasos o libres en una muestra, puede ser reportado con base en la masa molar de un ácido graso, o una mezcla de ácidos grasos. Normalmente, se mide por titulación directa en la disolución con una base y usando un indicador como fenolftaleína (Iturbe y Sandoval, 2013)., la reacción general se muestra en la ecuación 2:



En el análisis de los alimentos hay dos conceptos interrelacionados que se ocupan ambos de la acidez: el pH y la acidez la cual se ocupa de la medida de la concentración total de los ácidos contenidos en un alimento. Dicha cantidad se determina mediante la valoración volumétrica exhaustiva de los ácidos intrínsecos frente a una base previamente valorada. Dichos ácidos son, en su mayor parte, ácidos orgánicos (por ejemplo, cítrico, málico, láctico, tartárico), La acidez valorable de las frutas se utiliza, junto con el contenido en azúcares como un indicador de su grado de maduración. Para determinar la acidez titulable, se valora un volumen (o un peso) conocido de una muestra alimentaria frente a una base valorada, bien sea hasta un punto final señalado por el pH o bien hasta el de la fenolftaleína. El volumen de agente valorante consumido, junto con la normalidad de la base y el volumen (o peso) de la muestra, se utilizan para calcular la acidez valorable, expresada en términos del ácido orgánico predominante.

Cálculo del índice de acidez

En la química general, la concentración de un ácido se presenta, con frecuencia, en términos de la normalidad (los equivalentes por litro) y puede ser calculada haciendo uso de la ecuación 3:

$$N_{\text{valorante}} V_{\text{valorante}} = N_{\text{muestra}} V_{\text{muestra}} \dots \dots \dots (3)$$

donde N es la normalidad y V el volumen (a menudo en mililitros). Sin embargo, los ácidos contenidos en los alimentos se expresan usualmente como un porcentaje sobre el peso total de la muestra, de esta manera, la ecuación (4) se emplea para la acidez valorable

$$\% \text{ de ácido (m/m)} = \frac{N \times V \times \text{peso Eq.}}{W \times 1.000} \times 100 \dots \dots \dots (4)$$

Donde:

N = normalidad del agente valorante, habitualmente NaOH, (en mEq/mL)

V = volumen consumido del agente valorante (en mL)

Peso Eq. = peso equivalente del ácido predominante (en mg/mEq)

W = masa de la muestra (en g)

1.000 = factor de conversión de los mg a g (mg/g)

Por otro lado, la estimación de la concentración de ácidos o bases, también se ha resuelto empleando métodos instrumentales, tales como la cromatografía HPLC y las aproximaciones electroquímicas, que miden dicha concentración de los ácidos y sus bases conjugadas como un único compuesto y, por consiguiente, tienden a dar resultados que son superiores a aquellos determinados por medio de una volumetría (Nielsen, 2009)

2.8.2 Índice de Yodo (método de Wijs)

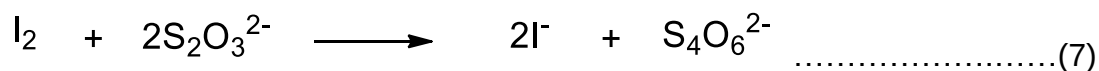
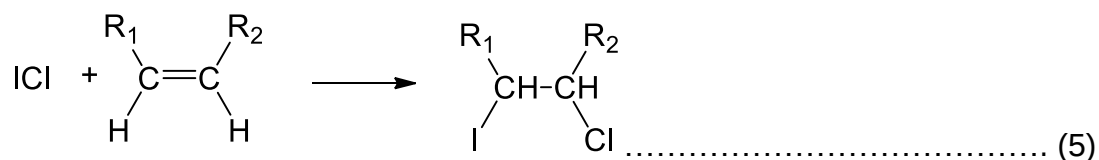
El índice de yodo (o valor, o número de yodo) de los lípidos depende de su grado de insaturación, es decir, una medida del número de enlaces dobles carbono-carbono en proporción a la cantidad de grasas o de aceites. El índice de yodo se define como los gramos de yodo absorbidos por cada 100g de muestra. Cuanto mayor es el número de insaturaciones, tanto más yodo es absorbido; por consiguiente, cuanto más elevado es el índice de yodo, tanto mayor es el grado de insaturación.

Para determinar el índice de yodo se hace uso de lo recomendado en la norma AOCS Cd 1c-85 de la AOCS. (Nielsen, 2009).

Procedimiento.

La grasa disuelta se hace reaccionar con monobromuro o monocloruro de yodo en exceso. La cantidad de agente halogenante que no se adiciona a los dobles enlaces, oxida una disolución de yoduro a yodo, y éste se determina por valoración con una disolución de tiosulfato de sodio. La reacción de adición se lleva a cabo en oscuridad, para evitar que se produzcan reacciones laterales de radicales inducidos por luz (y con ello un gasto aparente de halógeno mayor). Dado que el reactivo halogenante va preparado en acético glacial y es de concentración aproximada y variable, deberá hacerse siempre un ensayo en blanco para calcular su equivalencia en yodo. Se expresa convencionalmente como el peso de yodo absorbido por 100 partes en peso de materia grasa.

En el método de Wijs el agente halogenante es el ICl, preparado de la mezcla de ICl₃ con I₂ en medio de ácido acético. (Iturbe y Sandoval, 2013), las reacciones que se llevan se expresan en las ecuaciones 5, 6 y 7.



El índice de yodo se utiliza para caracterizar los aceites, para seguir el proceso de hidrogenación a lo largo del refinado y como una indicación de la oxidación de los lípidos, puesto que hay una disminución en la insaturación conforme tiene lugar la oxidación (Nielsen, 2009).

2.8.3 Viscosidad Dinámica y Cinemática

La viscosidad es una medida de la fricción interna entre moléculas. En general, la viscosidad de los aceites desciende ligeramente con un incremento de la insaturación; por lo tanto, la viscosidad resulta incrementada ligeramente por la hidrogenación. Los aceites que contienen una gran proporción de ácidos grasos de peso molecular relativamente bajo son ligeramente menos viscosos que los de un grado de insaturación equivalente pero que contienen una proporción más elevada de ácidos grasos de elevado peso molecular. La viscosidad de los aceites altamente polimerizados es mucho más elevada que la de los aceites normales (Lawson, 1994).

Viscosidad Dinámica (η): Es la propiedad de los fluidos que se caracteriza por su resistencia a fluir, debida al rozamiento entre sus moléculas en el SI se mide en Pa/s, pero la unidad más utilizada es el centipois (cps) equivalente a mPa*s.

Viscosidad Cinemática (ν): Es el cociente entre viscosidad Dinámica y densidad. Se denota con las unidades mm²/s.

2.8.4 Densidad

Es una magnitud escalar referida a la cantidad de masa en un determinado volumen de una sustancia. Se simboliza mediante la letra rho (ρ) de acuerdo con lo expresado en la ecuación 8:

$$\rho = \frac{\text{masa}}{v} \dots\dots\dots (8)$$

2.8.5 Entalpia de combustión

Es la energía térmica cuando un combustible se somete a combustión completa con el oxígeno requerido bajo condiciones estándar. Las reacciones que se clasifican como de combustión son aquellas en las que una sustancia, que es denominada combustible reacciona con el oxígeno gaseoso (oxidante), produciendo energía y siempre son exotérmicas. Cuando la reacción es una combustión completa, es decir, cuando libera como productos solamente dióxido de carbono y agua, está en condiciones estándar. Este tipo de reacción se da en compuestos que poseen carbono, hidrogeno y oxígeno, como los hidrocarburos y alcoholes (Bezergianni y Dimitriadis, 2013).

2.8.6 Características espectroscópicas de aceites y biodiésel

Otra manera de caracterizar a los aceites es mediante el empleo de técnicas espectroscópicas empleando espectroscopia infrarroja (IR) y de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

En un espectro de infrarrojo, las moléculas reciben una energía que provocará vibraciones, y entonces se observan bandas que corresponden a frecuencias de excitación donde aquellas de mayor intensidad, indicaran la presencia de los grupos funcionales más importantes, en este sentido las frecuencias observadas de estiramiento y acortamiento de enlace C=C, C-O, N-H, O-H y en especial de grupos carbonilo C=O son dadas por bandas muy intensas en espectros IR, así las frecuencias de las bandas de absorción más importantes, reflejan los ambientes electrónicos de dichos grupos funcionales de una manera predecible (McEvoy, 2014), en la Figura 2 se resaltan las zonas con las vibraciones de los principales grupos funcionales en espectroscopia infrarroja.

O-H	$\text{RC}\equiv\text{C-R}$ 2126	$\text{O}=\text{C}-\text{O-R}$ 1725-1750	R-C-N-R			
N-H	C-H alcano Antes de 3000	$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ 1690	R-C-O-H	R-C-X X= F, Cl, Br		
$\text{RC}\equiv\text{C-H}$ 3315	$\text{O}=\text{C-H}$ 2725	$\text{C}=\text{O} \quad -\text{C}=\text{C}-$ 1650	R-C-O-R 1100-1200			
4000	3000	2000	1700	1600	1000	400
cm ⁻¹						

Figura 2. Zonas de un espectro de infrarrojo indicando la posición donde aparecen bandas de absorción de los enlaces presentes en grupos funcionales más importantes.

La resonancia magnética nuclear (RMN), también consiste en someter una muestra o molécula a una excitación empleando una energía de radiofrecuencia, en un ambiente de un campo magnético intenso y uniforme que en términos de frecuencias podría ser a 60, 100, 300, 500 y 700 MHz, en este sentido, los átomos de hidrógeno al poseer una masa y carga nucleares impares (1 y +1), fácilmente presentan el fenómeno de

resonancia y por su abundancia natural en moléculas orgánicas, posibilitando la obtención de una gráfica o espectro, y según dada la posición de señales en dicho espectro, será posible predecir los tipos de hidrógenos que posee una molécula, mismos que serán diferentes debido a su ambiente magnético provocado por otros átomos cercanos a dichos hidrógenos, donde la propiedad periódica de electronegatividad juega un papel muy importante, por ejemplo la presencia de tres átomos de cloro en el cloroformo (CHCl_3) da lugar a la observación de una señal en 7.2 ppm, en tanto que los hidrógenos del grupo metilo de la acetona ($\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$, se observa una señal en 2.1 ppm (Joseph-Nathan *et al*, 1993)., en la Figura 3 se muestran las zonas donde se indican las posiciones de emisión de energía de hidrógenos en un espectro de RMN de ^1H .

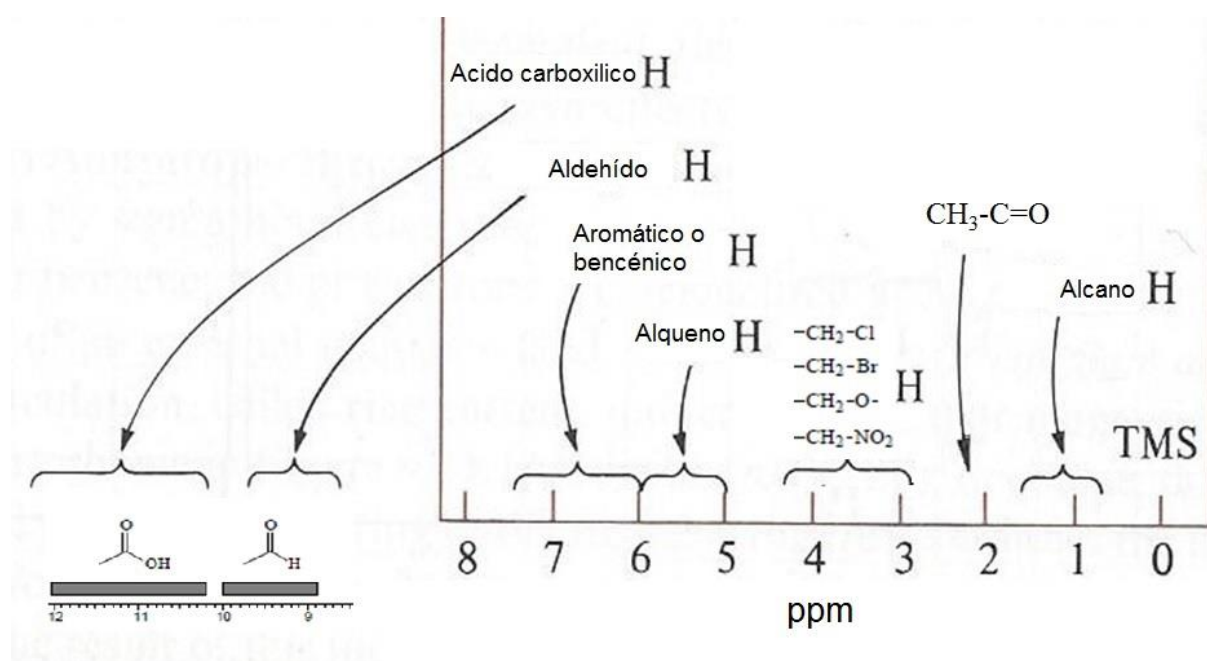


Figura 3. Zonas de un espectro de RMN- ^1H indicando la posición donde aparecen señales de hidrógenos presentes en grupos funcionales más importantes.

2.8.7 Cromatografía de Gases para identificación de ésteres metílicos en el biodiésel

La cromatografía es un método fisicoquímico de separación en el que los componentes a desglosar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye una fase estacionaria de gran desarrollo superficial y la otra es un fluido gaseoso que usualmente es Helio grado cromatográfico, así, mediante el fenómeno de adsorción, las moléculas se van asociando a una columna o fase estacionaria de acuerdo con su polaridad y/o tamaño

molecular. En esta técnica se emplean varios detectores del desarrollo de la cromatografía como el Detector por Ionización de Flama (FID, por sus siglas en inglés), por ultravioleta (UV) y el detector por espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés). Así, los aceites esenciales de plantas se pueden analizar comparando los tiempos de retención de sus componentes con los de una biblioteca integrada al cromatógrafo de gases. Por otro lado, cuando se analizan aceites del tipo de los triglicéridos, es necesario preparar previamente sus ésteres metílicos mediante una reacción de transesterificación, mismos que se inyectan al equipo y por análisis comparado con una referencia de los más importantes ésteres metílicos de ácidos grasos, es posible establecer su identidad y cantidad, en este último método se usa el detector FID (Gras et al, 2018).

2.9 Limón mexicano (*Citrus aurantifolia*)

El limón mexicano, limón verde o lima agria, cuya denominación científica es la de *Citrus aurantifolia*, es originario de Asia (posiblemente del archipiélago de India) desde donde fue transportado a Egipto, Europa y posteriormente a América. (Dussel, 2002).

2.9.1 Generalidades

Dentro de los cítricos, el limón es el segundo en importancia después de la naranja, tanto por su consumo en fresco como por sus diversos usos industriales. El limón mexicano se ubica en el grupo de las frutas ácidas, incluyendo al limón persa o sin semilla y al limón amarillo, italiano o verdadero (*Citrus limon*). Los frutos del limón son de forma redondo-oval de colores que van del verde oscuro brillante al amarillo presentando importantes diferencias, el tamaño del limón mexicano no sobrepasa los 6.5 cm de diámetro y tiene abundantes semillas, además de su jugo ácido y un alto contenido de aceite esencial en la cáscara. El limón es probablemente una de las frutas que mayor uso tiene, incluyendo el culinario, en bebidas, industrial y medicinal. En el SXVIII, su uso se generalizó al demostrarse que es un elemento importante para prevenir el escorbuto, enfermedad que surge ante el déficit de vitamina C y típica de los tripulantes en embarcaciones que navegan largas distancias, por lo que las flotas llevaban consigo una dosis de lima o limón diaria para su personal a bordo. Al igual que los cítricos en general, el limón es bajo en calorías, libre de grasas, una importante fuente de vitamina C, además de contener fibras,

potasio y varios fitoquímicos (Dussel, 2002). El árbol de limón mexicano es muy vigoroso y varia de 2 a 4 metros de altura, con una serie de variedades con y sin espinas y se propaga con base en semillas. Dependiendo del clima, la variedad de las plantas y otros factores, las primeras cosechas se obtienen entre 3 y 6 años después y llegan a la completa reproducción después de 8 a 10 años; su producción se inicia a los tres años y disminuye a los 15. Bajo óptimas condiciones de temperatura y humedad los frutos pueden mantenerse hasta dos semanas sin perder sus principales cualidades. De la fruta fresca se obtiene aceite esencial, jugo y cáscara, además de los otros subproductos. Cáscara fresca (para confitería, farmacia, dentífricos), Cáscara deshidratada (producción de pectina, utilizada en dulces y farmacéutica), Sobrantes (bagazo y semilla) para consumo de ganado.

Citrus aurantifolia es una planta ornamental y frutal de origen asiático. El efecto tranquilizante y narcótico de las flores, los “azahares”, ha sido confirmado en observaciones clínicas, validándose experimentalmente esta aplicación terapéutica tradicional. (Dussel, 2002). La mayor parte de la producción mundial de limones y limas se realiza en el hemisferio norte. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en México se cultivan tres especies de limón. Cada una con sus particularidades como se describen en la Figura 4.

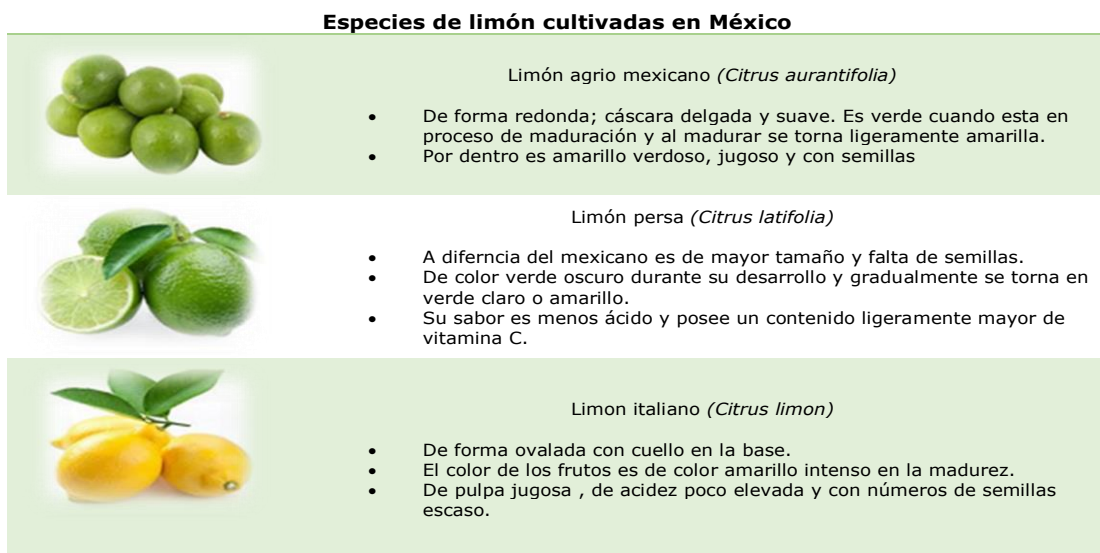


Figura 4. Características de tres principales especies de limón comercializados en México. Fuente. PROFECO, 2019.

En la República Mexicana los principales estados productores son Michoacán, con 28.3% de la producción nacional total, seguido por Veracruz con 26.2% (Figura 5). Si bien en 2009 y 2010, la producción de limón fue menor a las dos mil toneladas, en general el volumen de la producción ha mantenido una tendencia creciente (Figura 6).

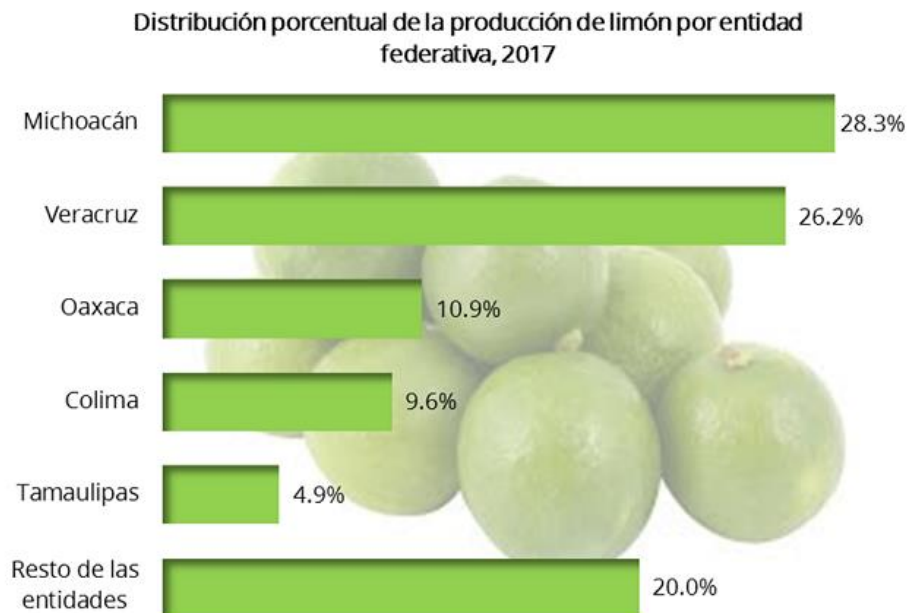


Figura 5. Principales estados productores de limón en la República Mexicana. Fuente. PROFECO, 2019.

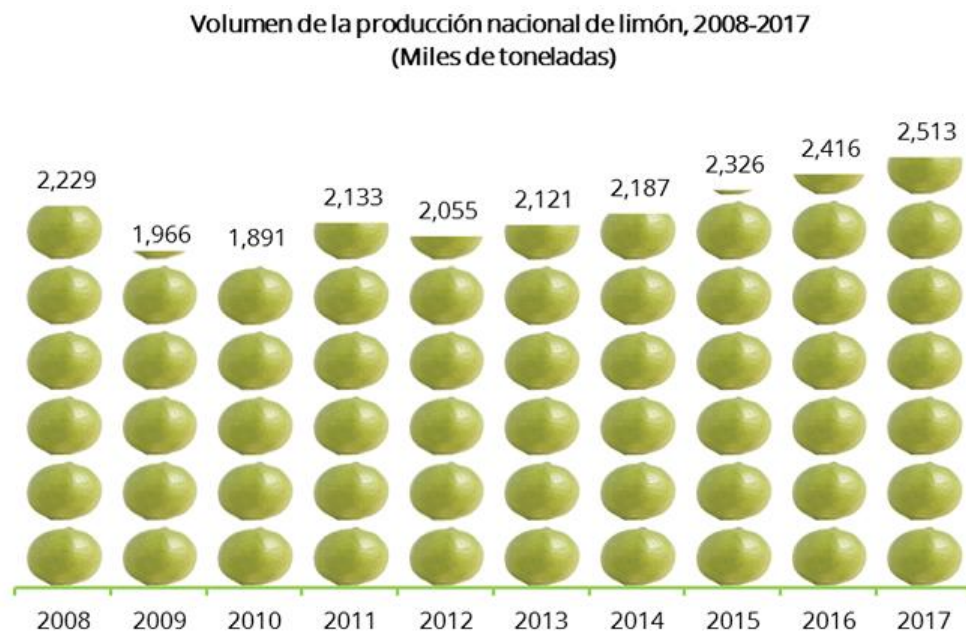


Figura 6. Producción de limón anualmente en miles de toneladas. Fuente. PROFECO, 2019.

Básicamente, toda la información química que existe sobre esta planta es resultado de los estudios realizados en el aceite esencial obtenido de la cáscara del fruto. Este aceite está constituido principalmente por monoterpenos, dos derivados del bornadol, canfeno, carveo, cimeno, cineol, citronelol, dimetil estireno, felandreno, geraniol, limoneno, neral, alfa y beta- pineno, pinocarveol, isopiperitenol, piperitona, sabineno, sabinol, terpineno, terpineol, terpinoleno y verbenol. Además, se han identificado los sesquiterpenos, bergamopteno, beta-bisaboleno, alfa-bisabolol, alfa cadinol, beta-cariofileno, farnesal y farnesol; y las cumarinas, un derivado de la cumarina, la iso-imperatorina, limetina, oxihidrato de pencedanina, felopterina, iso-pimpinellina y geranil-psoralen.

3. Ciclopéptidos

Un tipo singular de péptidos son los llamados ciclopéptidos, los cuales se definen como aquellos compuestos cíclicos conformados por 2 o hasta 18 aminoácidos, ciclados a través de un enlace peptídico del aminoácido inicial y carbonilo terminal, aunque también se puede ciclar a través de otro tipo de enlaces no peptídicos como el enlace disulfuro y enlaces éster. Los ciclopéptidos pueden ser aislados de fuentes vegetales, animales, fúngicas y bacterianas (González, 2019). Se han identificado ciclopéptidos bioactivos de origen natural tales como vancomicina, ciclosporina, daptomicina y bleomicina los cuales son macromoléculas que destacan como fármacos ya que pueden ser utilizados como antibióticos o antifúngicos. Los tipos de péptidos que se pueden obtener atendiendo a los grupos funcionales son muy diversos, de acuerdo con su estructura química los péptidos se clasifican en lineales y cíclicos (ciclopéptidos), como se muestra en la Figura 7. Los péptidos lineales se componen de dos o más aminoácidos unidos a través de enlaces peptídicos y los ciclopéptidos son compuestos cíclicos que consisten principalmente en L-aminoácidos esenciales, aunque también pueden contener D y L- aminoácidos no proteicos. Fisicoquímicamente los ciclopéptidos difieren de los péptidos lineales ya que son más estables debido a su conformación cíclica, son más rígidos y de bajo peso molecular. Presentan ventajas farmacológicas debido a su alta permeabilidad a las membranas celulares por su menor polaridad y con mayor estabilidad metabólica. (Laguna, 2015).

Se ha establecido un método para la identificación de ciclopéptidos el cual consiste de una cromatografía en capa delgada, revelando con Ninhidrina donde se observarán manchas de color rosa si es que hay presencia de péptidos lineales o aminoácidos libres, así mismo otra placa se impregna con vapores de cloro después de eluirse, y posteriormente se asperja con una disolución de o-tolidina donde los grupos amino reaccionaran formando un complejo de coloración morada indicando la presencia de ciclopéptidos (González, 2019).

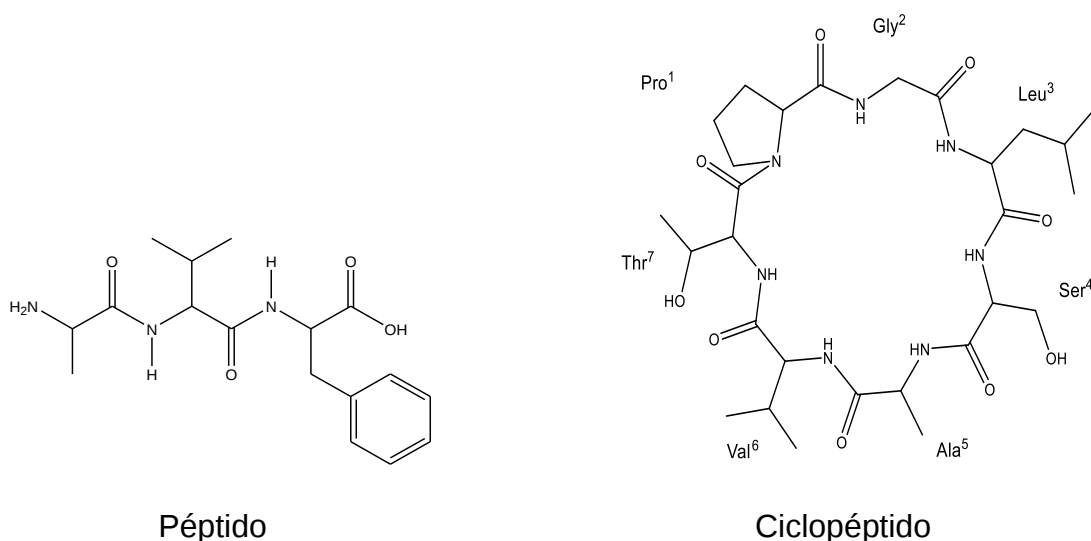


Figura 7. Ejemplos de estructuras moleculares de un péptido (Izquierda) y un ciclopéptido (Derecha)

4. Objetivos

Objetivo general.

Aprovechar el aceite de semillas de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) por medio de su transformación en un biocombustible para proporcionar una alternativa energética amigable con el medio ambiente.

Objetivos particulares

- ✓ Obtener y cuantificar el aceite de semilla de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) por medio de extracciones por maceración y Soxhlet para comparar dos métodos de extracción.
- ✓ Determinar algunos parámetros fisicoquímicos al aceite obtenido como el índice de acidez, su densidad y viscosidad, así como el calor de combustión para compararlos con biodiésel y diésel petroquímico.
- ✓ Transformar el aceite obtenido a biodiésel y compararlo con algunos parámetros fisicoquímicos a este biocombustible como el índice de acidez, su densidad, la viscosidad, y el calor de combustión para evaluar su viabilidad de uso como un combustible alternativo.

5. Hipótesis

El biodiésel obtenido a partir de la semilla de limón mexicano tendrá parámetros fisicoquímicos muy cercanos al diésel petroquímico, lo que constituirá una alternativa sustentable como sustituto total o parcial de energía renovable.

6. Metodología

En la Figura 8, se muestra el diagrama general del estudio del aceite de semillas de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) para su transformación a biodiésel, los pasos de cada etapa serán descritos detalladamente.

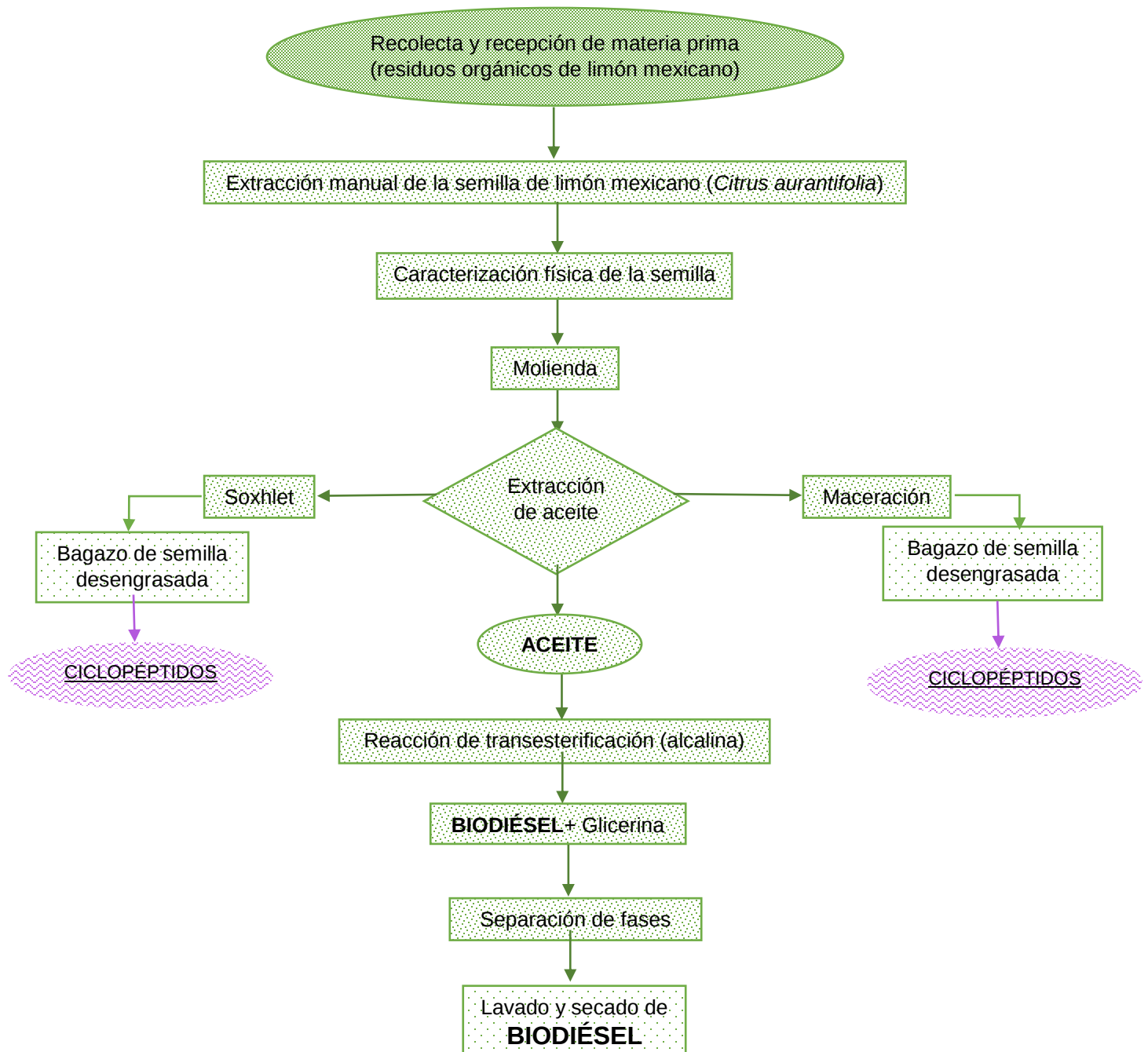


Figura 8. Esquema de extracción de aceite y su transformación a biodiésel

6.1 Recolección de materia prima

Se recolectaron cantidades suficientes de desecho de limones mexicanos (Figura 9) ya exprimidos en diversos establecimientos en la ciudad de México.

6.1.1 Extracción de semilla, lavado y secado

Se separaron manualmente todas las semillas que estuviesen enteras, de las cáscaras de limón, se lavaron con agua hasta eliminar todo el bagazo y jugo por completo, una vez limpias (Figura 10) fueron colocadas en charolas cubiertas con papel estraza para ser secadas, así como también se colocaron estas charolas en un lugar fresco, seco y a la sombra, el secado fue realizado alrededor de 3 a 4 semanas, hasta obtener una cantidad cercana a 1kg de semillas.



Figura 9.Recepción de materia prima



Figura 10.Aspecto de las semillas secas

6.1.2 Caracterización física de la semilla

Se determinaron las características físicas de 30 semillas de limón elegidas al azar (Figura 11), estimando la longitud, ancho y grosor de cada una de ellas haciendo uso de un vernier de marca petrul, y fueron pesadas cada una de ellas en una balanza analítica marca Ohaus.

6.1.3 Determinación de humedad

Para determinar el % de Humedad de las semillas de limón mexicano se empleó método de termobalanza (OHAUS MB 35, Figura 12) utilizando aprox. 5 g de semillas molidas en promedio de tres repeticiones. Las semillas fueron molidas empleando una licuadora comercial, inmediatamente después de ser molidas se les determinó la humedad por el método de termobalanza el cual se basa en evaporar, de manera continua, la humedad

de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se situó a peso constante. (Iturbe y Sandoval, 2013). Ya que los datos obtenidos de la termobalanza son ya proporcionados en % por la balanza utilizada simplemente se realiza un promedio de las tres repeticiones y es el dato que se reporta.

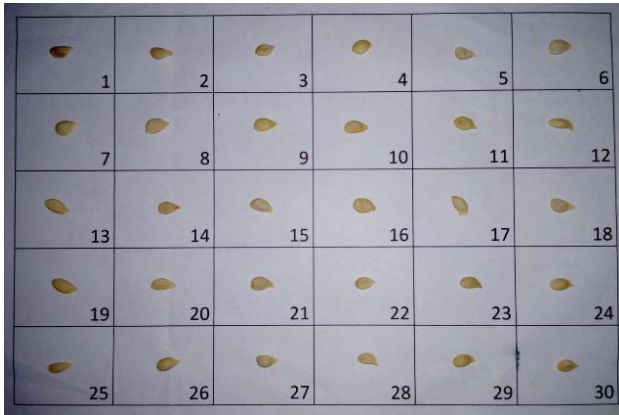


Figura 11.Caracterización de 30 semillas de limón



Figura 12.Termobalanza utilizada para determinar la humedad de las semillas de limón

6.1.4 Índice de flotación

El índice de flotación se basa en el número de granos que flotan en una solución de referencia, ya que depende de la densidad de estos con respecto a la densidad de la solución. Dicho índice fue determinado tomando por duplicado lotes de 100 semillas de limón, como se muestra en la Figura 13, se estimó el volumen que ocuparon dichas semillas y enseguida se agregaron cuatro volúmenes de agua destilada. Se dejó transcurrir un tiempo de exactamente 15 minutos y se determinó el índice de flotación en las semillas de limón.



Figura 13. Arreglo que adoptan las semillas de limón en la flotación

Para calcular el % del Índice de flotación se cuentan las semillas que flotaron al transcurrir el tiempo y se hace un promedio con el dato obtenido de la segunda repetición, ya que los lotes utilizados son de 100 semillas el dato obtenido se reportará en %.

6.2 Extracción de aceite de la semilla de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*)

Ya que el objetivo es la obtención de biodiésel a partir de semillas de limón mexicano, es rigurosa la extracción de aceite de éstas ya que será la materia prima medular para llevar a cabo la conversión a biodiésel, será de suma importancia la elección del método de extracción para poder brindar un buen rendimiento de aceite ni alterar las propiedades de éste y lo caracterice como adecuado de acuerdo a los parámetros de calidad para poder hacer uso de el en la transformación a biodiésel.

6.2.1 Extracción por Soxhlet

Se obtuvo el aceite partiendo de 3 lotes que pesaron en promedio 26.04g de semillas molidas en una licuadora convencional y empacadas en cartuchos de papel filtro y sometidas a extracción por el método de Soxhlet, utilizando como disolvente hexano, y durando 12 h dicha extracción (Figura 14). Una vez terminada la extracción se procedió a recuperar el aceite evaporando el exceso de disolvente en un rotavapor de marca BUCHI Waterbath B-480, hasta obtener un peso constante y por diferencia obtener el rendimiento del aceite extraído. El % de Aceite obtenido se calculó de la siguiente manera, empleando la ecuación 9.

$$\% \text{ Aceite } = \frac{\text{Vaso con aceite a peso constante} - \text{Vaso vacío a peso constante}}{\text{Peso de la semilla utilizada}} \times 100 \dots\dots\dots (9)$$

6.2.2 Extracción por maceración

Se llevó a cabo la extracción por maceración de un lote de 254.02 g de semillas molidas en licuadora comercial, empleando 750ml de hexano como disolvente y dejando macerar por 9 días, (Figura 15) se recuperó por medio de evaporación al vacío usando un rotavapor de la marca BUCHI Waterbath B-480, (Figura 16) y para asegurar la completa evaporación de disolvente se colocó al vacío y agitación durante aproximadamente 24h

más, esto se realizó en ambas extracciones (Soxhlet y maceración en frío). De igual forma que en la extracción por Soxhlet se calcularon los rendimientos de los aceites (Figura 17).

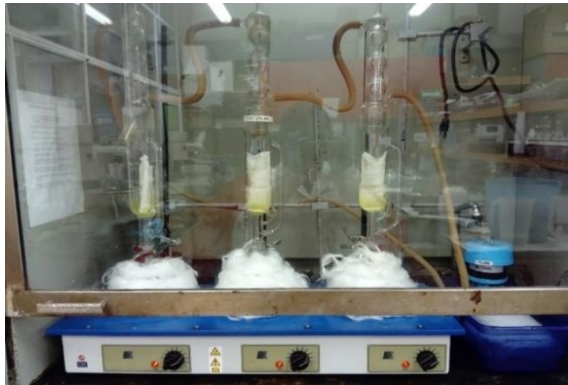


Figura 14. Equipo de Soxhlet utilizado en la extracción de aceite de semilla de limón.

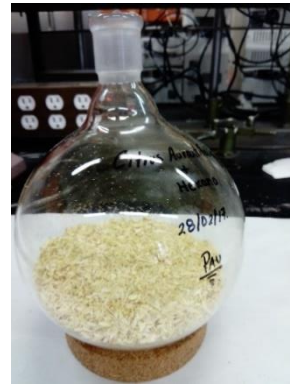


Figura 15. Aspecto de la extracción por maceración de las semillas de limón.

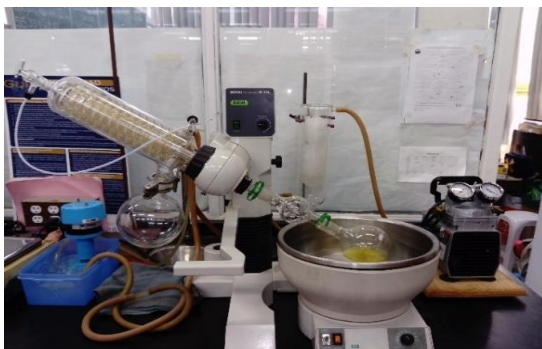


Figura 16. Destilación de hexano en rotavapor.



Figura 17. Aceite obtenido de la semilla

6.2.3 Caracterización del aceite obtenido por pruebas fisicoquímicas

Al aceite obtenido se le determinaron algunas propiedades fisicoquímicas como, densidad y viscosidad (cinemática y dinámica) empleando 4 mL de aceite o biodiésel en un viscosímetro Stabinger modelo SB3000 Anton Paar de fabricación suiza, (Figura 18), asimismo también se calculó el calor de combustión, utilizando muestras de aprox. 0.5 g de muestra, mediante un Calorímetro de marca Parr, (Figura 19). Posteriormente se procedió con la estimación de algunos de los parámetros de calidad en el aceite para saber si este era óptimo para su transformación a biodiésel por medio de una reacción de transesterificación.



Figura 18. Viscosímetro Stabinger empleado para la determinación de la densidad y viscosidad.



Figura 19. Calorímetro Parr 6400 utilizado en la medición de calor de combustión.

6.2.4 Cálculo del Índice de Acidez

Se llevó a cabo inicialmente la preparación de una solución de KOH la cual debía tener una normalidad de 0.0025eq/L, de acuerdo con el protocolo, por lo cual se utilizaron 0.14 g de KOH, disueltos en 1000 mL de disolución, utilizando la ecuación 10.

$$\left(\frac{0.0025N}{1}\right) \left(\frac{0.0025 \text{ eq KOH}}{1000 \text{ mL}}\right) \left(\frac{56 \text{ g KOH}}{1 \text{ eq KOH}}\right) = 0.14 \text{ g KOH} \dots\dots\dots (10)$$

Una vez preparada la solución se normalizó utilizando un patrón primario previamente secado en la estufa, el cual fue el Biftalato de potasio (BFK); se estimó un gasto de 15 mL de KOH aproximadamente para la normalización, para lo cual se realizó el siguiente cálculo para tomar una muestra patrón de BFK, empleando la ecuación 11.

$$15 \text{ mL KOH} \left(\frac{0.0025 \text{ eq KOH}}{1000 \text{ mL KOH}}\right) \left(\frac{1 \text{ eq de BFK}}{1 \text{ eq KOH}}\right) \left(\frac{204.22 \text{ g}}{1 \text{ eq BFK}}\right) = 7.65 \times 10^{-3} \text{ g BFK} \dots\dots\dots (11)$$

Se realizó la normalización, pesando los 7.65×10^{-3} g BFK, añadiendo 75 mL de H₂O destilada y 2 gotas de solución de etanol neutralizado con fenolftaleína como indicador y se tituló con la solución de KOH antes preparada y de acuerdo con el cálculo mostrado en la ecuación 12, se obtuvo un promedio de 0.0026N el cual se utilizará en el cálculo correspondiente de la determinación del Índice de acidez en la muestra.

$$\left(\frac{\text{g de BFK}}{\text{eq de KOH}}\right) \left(\frac{1 \text{ eq BFK}}{204.22 \text{ g}}\right) \left(\frac{1 \text{ eq de KOH}}{1 \text{ eq de BFK}}\right) \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}}\right) = \bar{X} = 0.0026 \text{ N} \dots\dots\dots (12)$$

Finalmente se procedió a calcular el Índice de acidez (IA) para la muestra de aceite de limón, pesando por triplicado cantidades de aceite casi iguales entre un intervalo de 0.13 y 0.14g, posteriormente añadiendo 25 ml EtOH previamente neutralizado, se calentó a baño de vapor de agua hasta ebullición suave (Aprox. a 40 °C y procedió a titularse en caliente con la solución de KOH normalizada a 0.0026N, empleando la ecuación 13.

$$IA = \left(\frac{\text{mlKOH} - \text{ml blanco}}{\text{g aceite}} \right) \left(\frac{0.0026 \text{ meqKOH mol I}_2}{\text{mlKOH}} \right) \left(\frac{56 \text{ mg}}{1 \text{ meq}} \right) = \bar{X} = 3.016 \frac{\text{mg KOH}}{\text{g aceite}} \dots\dots (13)$$

6.2.6 Determinación del Índice de Yodo

Para esta determinación se busca realizar una solución de 0.1N de acuerdo con el protocolo, para lo cual se preparó una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ pesando 25g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 1g de carbonato sódico, los 25 g utilizados fueron calculados empleando la ecuación 14.

$$100 \text{ ml } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \left(\frac{0.1 \text{ eq}}{1000 \text{ ml}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{1 \text{ eq } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \right) \left(\frac{248.194 \text{ g}}{1 \text{ mol } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \right) = 24.8 \text{ g} \sim 25 \text{ g } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \dots (14)$$

Esta solución se normalizó utilizando el patrón primario de KIO_3 previamente seco, se disolvió en 50 mL de agua hervida, se agregaron 2 g de yodato potásico y 1 mL de H_2SO_4 1M y se valoró con la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ antes mencionada hasta incolora, después se añadieron 2 mL de solución de almidón y nuevamente se tituló hasta incolora y se corrigió el volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado con un blanco, posteriormente haciendo los cálculos correspondientes empleando la ecuación 15, se obtuvo un promedio de 0.096N en este caso para esta solución normalizada.

$$\left(\frac{\text{g } \text{KIO}_3}{\text{ml } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \right) \left(\frac{\text{mol } \text{KIO}_3}{\text{g } \text{KIO}_3} \right) \left(\frac{\text{mol I}_2}{\text{mol } \text{KIO}_3} \right) \left(\frac{\text{mol } \text{S}_2\text{O}_3^{2-}}{\text{mol I}_2} \right) \left(\frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \right) = \bar{X} = 0.096 \text{ N} \dots\dots\dots (15)$$

Por último, se titularon las muestras de aceite por triplicado para conocer el Índice de yodo del aceite, por lo que se pesaron de 0.1-0.5 g de muestra a los cuales se les adicionaron 10 mL de diclorometano, 25 mL del reactivo de Wijs y se reposaron los matraces en la oscuridad agitando ocasionalmente, después se agregaron 10 mL de KI al 15%, también se añadieron 100 mL de agua recientemente hervida y fría y se titularon con la solución estandarizada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 0.096N hasta un color amarillo pálido (Figura 20), después se agregó 1 mL de solución indicadora de almidón y se tituló hasta incolora

(Figura 21), se procedió a registrar los volúmenes gastados de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ y posteriormente realizar los cálculos correspondientes para determinar así el Índice de yodo en la muestra, utilizando las ecuaciones 16 y 17.

$$IY = \left(\frac{\text{mlNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 - \text{ml blanco}}{\text{g lípidos}} \right) \left(\frac{0.096 \text{ meqNa}_2\text{S}_2\text{O}_3}{\text{mlNa}_2\text{S}_2\text{O}_3} \right) (12.69) = \bar{X} = 120.4076 \dots\dots\dots (16)$$

O también puede ser calculado mediante la ecuación 17:

$$IY = \left(\frac{(V_2 - V_1)(N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3})(12.69)}{\text{g lípidos}} \right) = \bar{X} = 120.4076 \dots\dots\dots (17)$$

Donde:

V_2 = Blanco

V_1 = Muestra



Figura 20. Aspecto final de la valoración con sol. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ hasta amarillo pálido.



Figura 21. Valoración final después de agregar la solución de almidón.

6.3 Obtención de biodiésel a través de transesterificación en medio básico

El biocombustible se produjo al tratar el aceite obtenido de la maceración en frío, con metanol en KOH a 60°C en una relación molar 12:1 (MeOH/Aceite) durante 2 horas, (Figura 22) y haciendo seguimiento por cromatografía en capa delgada cada 30 min (Figura 23), finalizadas la reacción, se pasó a un embudo de separación y se dejó reposar durante 24 h para tener una separación total y heterogénea de las 2 fases: glicerina y biodiésel (Figura 24), se eliminó la glicerina por decantación y el biodiésel fue lavado con agua destilada a 70°C hasta un pH neutro (Figura 25), después se trató con sulfato de sodio anhidro asegurándose de eliminar el agua (Figura 26).

Su índice de yodo y acidez del biodiésel fueron determinadas con soluciones normalizadas de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.096N y KOH 0.0026N respectivamente, de la misma forma

que se hizo y describió anteriormente para el aceite de semilla de limón mexicano (Ayres, 1970) por métodos volumétricos; y su calor de combustión en un calorímetro isoperibólico marca Parr 6400, su densidad y viscosidad (cinemática y dinámica) se estimaron empleando un viscosímetro Stabinger modelo SB3000 Anton Paar mismos que fueron utilizados para la evaluación del aceite de limón.

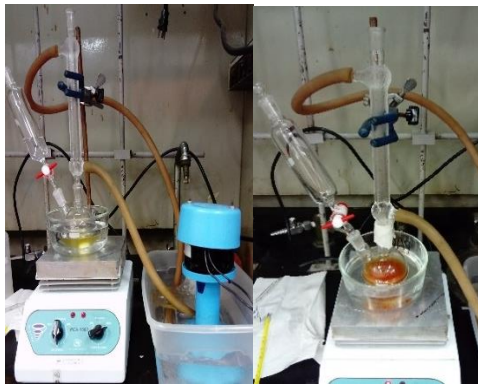


Figura 22.Reacción de Transesterificación

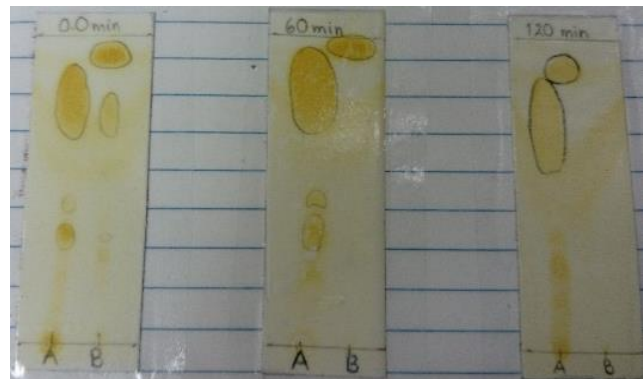


Figura 23.Placas del seguimiento por cromatografía en capa delgada cada 30 min.



Figura 24. Separación del biodiésel y la glicerina



Figura 25. Lavados del biodiésel



Figura 26. Biodiésel de limón mexicano

6.4 Caracterización del Biodiésel

6.5 Preparación de mezclas

Se prepararon mezclas de biodiésel con diésel petroquímico en proporciones 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, y se reevaluaron las propiedades fisicoquímicas y de densidad y viscosidad a temperaturas de 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, y 90 °C de estas mezclas. También se determinó el calor de combustión de las mezclas preparadas.

6.6 Determinación de Ciclopéptidos en bagazo de semilla de limón mexicano

Para esta determinación se colocaron 165.07g de bagazo de semilla de limón utilizada en el proceso de maceración en frío la cual ya está por tanto desengrasada, a ésta se le añadió un volumen de 840 mL de Metanol y se dejó macerar durante nueve días y se filtró cada tres, con la finalidad de evaporar el disolvente y obtener el extracto, se realizó dos veces más este procedimiento completando los 9 días de macerado, se juntaron los tres extractos obtenidos (Figura 27) el cual se dejó por dos semanas más en la campana de vacío para eliminar por completo el disolvente; posteriormente se efectuó la identificación de los Ciclopéptidos utilizando el extracto obtenido.



Figura 27. Maceración de bagazo de semilla de limón y su extracto metanólico

6.6.1 Prueba de Ninhidrina

Para efectuar esta prueba es necesario preparar previamente una solución con 0.1 g de Ninhidrina y disolverla en 15 mL de acetona. Se efectuó la identificación empleando la cromatografía en capa delgada donde se colocaron tres puntos de referencia, un aminoácido, un ciclopéptido y la muestra del extracto metanólico obtenido de la semilla de limón mexicano, después se desarrolló la cromatoplaqueta en una cámara de elución la cual contenía un eluyente formado por Diclorometano/Metanol/Agua en proporción 5:4:1 gota, respectivamente, al mismo tiempo con la cromatoplaqueta correspondiente a la prueba de Cl_2/o -Tolidina, se dejó evaporar el eluyente y se reveló con la solución de Ninhidrina antes mencionada con ayuda de un aspersor y en la campana, y se esperó a que la placa se tornara un color rosado lo cual indicaría que la prueba es positiva, para acelerar la reacción del revelado también se calentó la cromatoplaqueta en la parrilla por unos minutos, esto debe ser muy cuidadosamente ya que de lo contrario se tornara toda de color rosa y no podrá verse claramente el resultado de la prueba.

6.6.2 Prueba de Cl_2/O -Tolidina

Antes de comenzar la prueba se prepara una solución con 0.01 g de o-tolidina la cual se disolvió en 15 mL de H_2O destilada, se agregaron 0.06 g de yoduro de potasio y se agregaron 3 gotas de ácido acético glacial. Y como antes se dijo en la prueba anterior corriéndose al mismo tiempo en el mismo eluyente de la prueba de la Ninhidrina al igual que en esta también se colocaron 2 referencias más aparte de la muestra las cuales fueron también un aminoácido y un ciclopéptido, se dejó evaporar por completo el eluyente, una vez seca se colocó en una cámara de cloro por 12 hr, después se dejó en la campana para dejar evaporar todo el exceso de cloro, finalmente se reveló con ayuda de un aspersor que contenía la solución que se preparó previamente, si esta prueba presentaba un color azul se consideró positiva.

6.7 Detección de Ciclopéptidos en cáscara de limón mexicano

Para esta identificación fue necesario recolectar la materia prima que fueron residuos de cáscara de limón mexicano (Figura 28) A los cuales manualmente se les retiró toda la pulpa dejando solo la cáscara la que se lavó con agua y se cortó en pequeños trozos y se colocó en charolas cubiertas con papel estraza y se dejó secar a la sombra por

aproximadamente 3 semanas, como se muestra en la Figura 29. Una vez seca se molió en una licuadora y se colocó en un matraz la cantidad de 212.27g de cáscara seca y molida a la cual se le agregaron 273 mL de hexano para desengrasar la muestra, y se dejó macerar por 9 días y al igual que en proceso del desengrasado en la semilla de limón mexicano explicado previamente. Este bagazo desengrasado obtenido se dejó secar en un lugar limpio y seco con adecuada ventilación para eliminar por completo cualquier residuo de disolvente que aun pudiera estar presente.



Figura 28.Cáscara limpia de limón mexicano



Figura 29.Cáscara de limón en trozos y seca

Una vez seca se colocó en un matraz bola con metanol dejando macerar por nueve días y al igual que para la identificación de ciclopéptidos realizada en el bagazo de semilla, se repitió el mismo procedimiento y las mismas pruebas de Ninhidrina y Cl_2/O -Tolidina para identificar los posibles ciclopéptidos que se puedan encontrar para la muestra de extracto obtenido a partir de la cáscara de limón mexicano.

7. Resultados y discusión

Las semillas de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) utilizadas en este proyecto, una vez secas presentaron un aspecto de color amaranto, pequeñas y de simetría romboide con un pico afilado en la punta superior y abultado en forma de gota en la parte inferior.

7.1 Caracterización de semillas.

Como se mencionó, 30 semillas secas fueron caracterizadas por sus dimensiones de largo, ancho y grosor, así como por sus pesos individuales, y sus datos se agrupan en la Tabla 2. Dichas características geométricas permitirán establecer el proceso de secado de estas.

Tabla 2. Características físicas de semillas de limón mexicano.

Características físicas	Promedio*
Peso (g)	0.1029±0.0525
Largo (cm)	1.1584±0.1116
Ancho (cm)	0.5523±0.0179
Grosor (cm)	0.3103±0.0173

*La desviación estándar corresponde al promedio de 30 semillas, empleando la prueba *t* de student

7.2 Índice de flotación en la semilla

El índice de flotación de las semillas fue estimado en un valor de 93% lo cual indicó que la semilla es muy suave; siendo así es más fácil que absorba agua sino se tiene un almacenado correcto para su posterior uso, así también la suavidad representa mayor facilidad al molerla y menor daño por calentamiento al molerse evitando tener consecuencias de deterioro en los ácidos grasos obtenidos en el aceite.

7.3 Determinación de humedad

Para determinar el % de Humedad de las semillas de limón mexicano se empleó método de termobalanza (OHAUS MB 35) utilizando 5.0613 g de semillas molidas. Así, el contenido de humedad fue muy semejante al determinado en otras semillas de limón de origen africano (Pramanik, 2003), del 5% en semillas secas y el obtenido es de 4.926%

lo cual implica que no se tendrá problema alguno de contaminación de microorganismos o resultados inapropiados por el exceso de agua en la semilla que influya en alguna de las determinaciones posteriores.

7.4 Extracción del aceite por Soxhlet y maceración

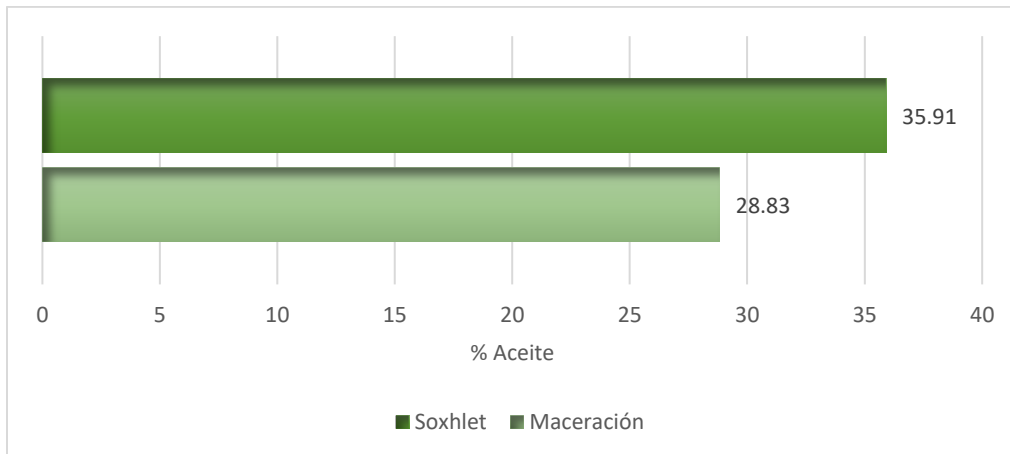
El rendimiento obtenido en promedio de la extracción por Soxhlet fue del 35.9 %. Se asume que el rendimiento es el deseado ya que se encuentra dentro del intervalo reportado, conociendo que el contenido de aceite de semillas de cítricos oscila entre el 24% y el 41% (Pramanik, 2003). En comparación con algunas otras semillas de cítricos reportados en cuanto a rendimientos de aceites extraídos (Ajewole y Adeyeye, 1993) se observa que de éstos el que presenta un mayor contenido de aceite efectivamente es la semilla de limón mexicano como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Rendimiento de aceite en las semillas de diversos cítricos.

Cítrico	% Aceite
<i>Citrus aurantifolia</i>	41.1 ± 0.22
<i>Citrus aurantifolia experimental</i>	35.91 ± 0.99
<i>Citrus sinensis</i>	34.8 ± 0.41
<i>Citrus paradisi</i>	29.9 ± 0.29
<i>Citrus reticulata</i>	24.3 ± 0.24

Con respecto a la extracción por el método de macerado en frío el rendimiento que fue de 28.83%, el cual se asume como un dato aceptable de acuerdo con la literatura donde se reporta un rendimiento de 32.1% (Matthaus y Özcan, 2012). Aunque comparando con el método de Soxhlet se podría afirmar que ambos extraen una cantidad de aceite similar y se puede utilizar cualquiera de los dos, y en rendimientos sería mucho mejor el obtenido por Soxhlet (35.91 %) ya que el rendimiento resulta mayor como se muestra en la Gráfica 1., sin embargo, el método de maceración tiene algunas ventajas como el no calentar la muestra evitando deterioro en el aceite teniendo así mejores características, también el uso de un equipo como el de Soxhlet resulta tener un mayor costo comparado con el método de maceración en frío el cual es simplemente un matraz más el disolvente, el cual es mucho más sencillo de conseguir lo cual hace que se reduzca el costo en toda la metodología llevada a cabo para cumplir el objetivo, así también es relevante mencionar que el uso de disolvente es mucho menor comparado con el utilizado en el método de

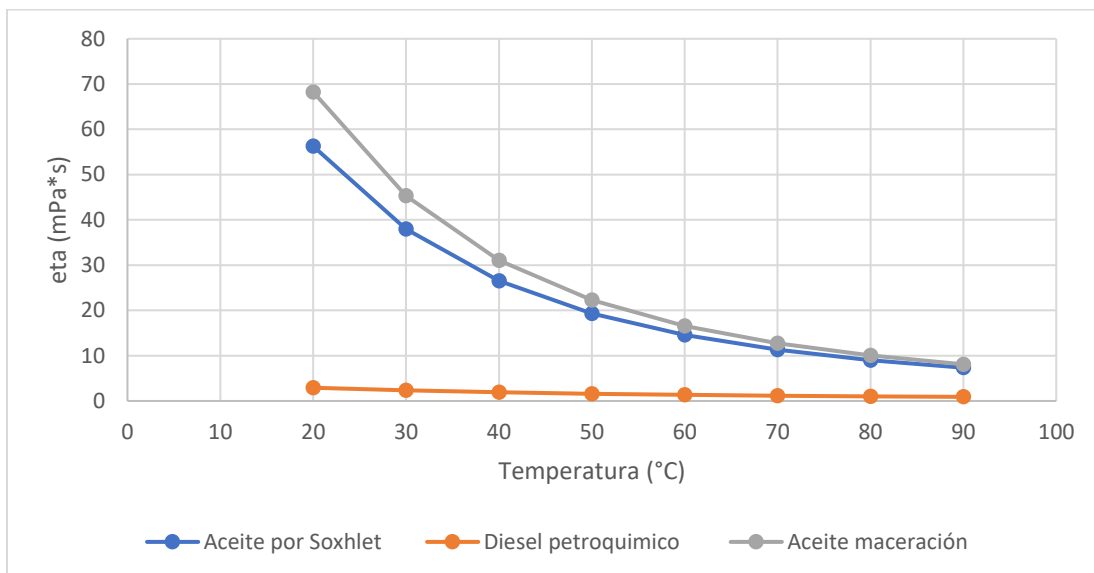
Soxhlet y el cual al ser recuperado puede ser reutilizado generando así menor cantidad de residuos durante el proceso; por estas razones y los parámetros de calidad que se mencionan a continuación se tomó la decisión de utilizar el aceite extraído por maceración en frío para llevar a cabo la transformación a biodiésel.



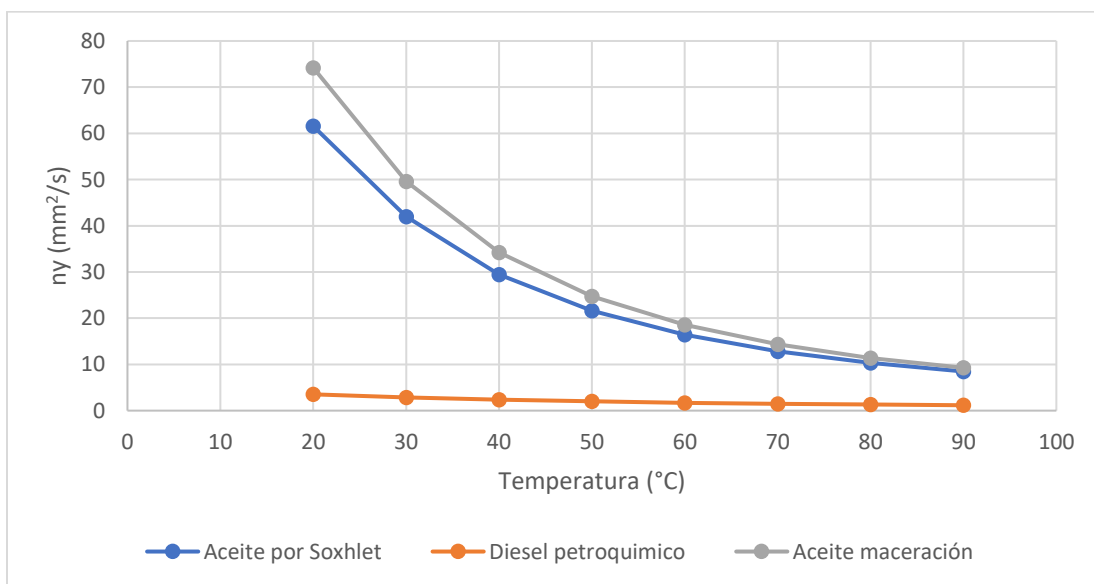
Gráfica 1. Rendimiento en los dos tipos de métodos utilizados para extracción de aceite en (*Citrus aurantifolia*).

7.5. Viscosidad y Densidad en los aceites extraídos

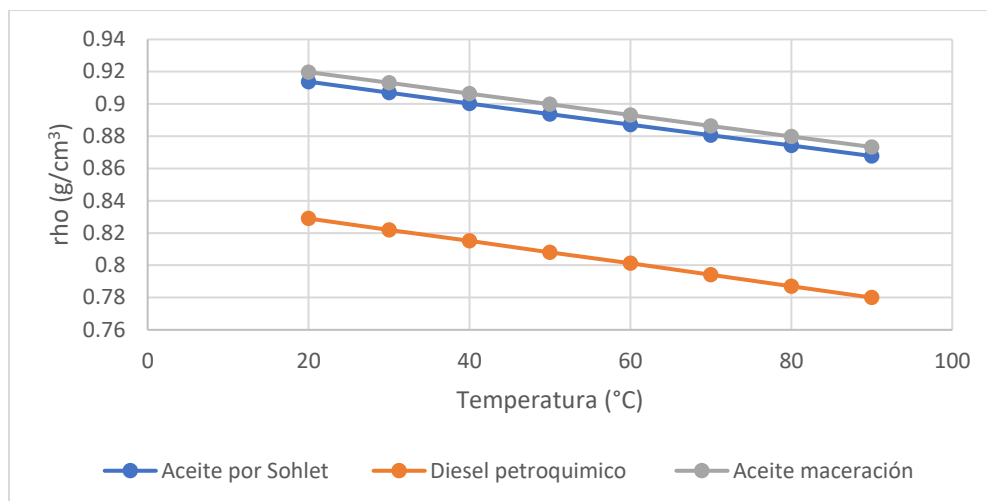
Las viscosidades dinámicas y cinemáticas de los aceites son realmente similares entre sí, pero en comparación con el diésel petroquímico se observa que los aceites disminuyeron exponencialmente con el aumento de la temperatura, lo que significa que el aceite es sensible al cambio de temperatura, sin embargo, no se aprecian cambios de este parámetro en el diésel petroquímico. En cuanto a la densidad también disminuye conforme aumenta la temperatura, así como lo hace el diésel (Pramanik, 2003) lo cual se observa en las Gráficas 2,3 y 4, aún se debe realizar la transformación a biodiésel y las mezclas de este con el diésel petroquímico para poder comparar de manera significativa.



Gráfica 2. Comparación de la Viscosidad dinámica para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.



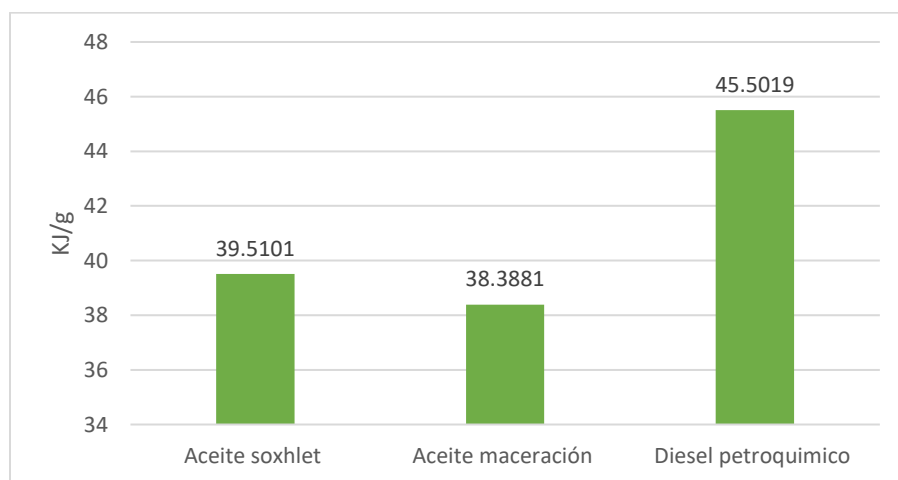
Gráfica 3. Comparación de la Viscosidad cinemática para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.



Gráfica 4. Comparación de la Densidad para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.

7.6 Calor de combustión

Se obtuvo un calor de combustión de 45.5019 kJ/g para el diésel petroquímico, el cual es mayor que el de los aceites como se observa en la Gráfica 5, y con lo que respecta a la Norma EN 14214 que indica un valor mínimo de 35 KJ/g ambos aceites presentan un dato mayor de 39.51 y 38.38 para el aceite obtenido por Soxhlet y el de maceración, lo cual es muy bueno ya que al ser altos se espera que al realizar la transformación el biodiésel del aceite y hacer las mezclas de biodiésel con el diésel petroquímico estos valores se asemejen aún más al del diésel petroquímico.



Gráfica 5. Comparación de la Entalpía de combustión para el aceite de semilla de limón mexicano y Diésel petroquímico.

7.7 Índice de acidez obtenido en aceites

El índice de acidez determinado por la titulación de aceite de limón empleando KOH 0.026 N (Ayres, 1970) resultó ser de 1.67% para el aceite obtenido por maceración y 2.26% para el obtenido por método de Soxhlet, mismos que son bajos y es deseable ya que se necesita un porcentaje menor al 3% para poder transesterificarse y obtener biocombustible (Ajewole y Adeyeye, 1993). Estos resultados ayudan a confirmar que el aceite que debe utilizarse para la transesterificación es el obtenido por maceración ya que tiene un valor mucho menor de Índice de acidez que el obtenido por Soxhlet, lo cual lo hace ser el indicado.

7.8 Índice de yodo valorado en los aceites

El índice de yodo determinado al aceite obtenido de las semillas de limón resultó ser 120.4 ± 0.5 g I₂/g muestra para el aceite obtenido por método de Soxhlet y para el de maceración se obtuvo un valor de 97 ± 9.9 g I₂/g valor que está de acuerdo con lo establecido en la norma ASTM (NMX-F-017-SCFI-2011). Para el índice de yodo el dato reportado es de 100 ± 1.3 lo cual indica que el resultado obtenido es mucho mayor para el aceite de Soxhlet que el esperado indicando un mayor contenido lípidos con mayor insaturación.

7.9 Características del aceite por RMN¹H

Las características del aceite de semillas de limón obtenido por Soxhlet, fue corroborada por medio de sus espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C mostrados en las Figuras 30 y 31, respectivamente. En su espectro de RMN de ¹H se observan hidrógenos de alqueno alrededor de 5.3 ppm de la cadena de ácidos grasos de los aceites, así como una serie de señales de 3 a 4 ppm indicativas de la presencia de hidrógenos base del glicerol que esterifica a los ácidos grasos. En tanto su espectro de RMN de ¹³C corrobora la presencia de ésteres de ácidos grasos por la presencia de señales entre 170 y 180 ppm.

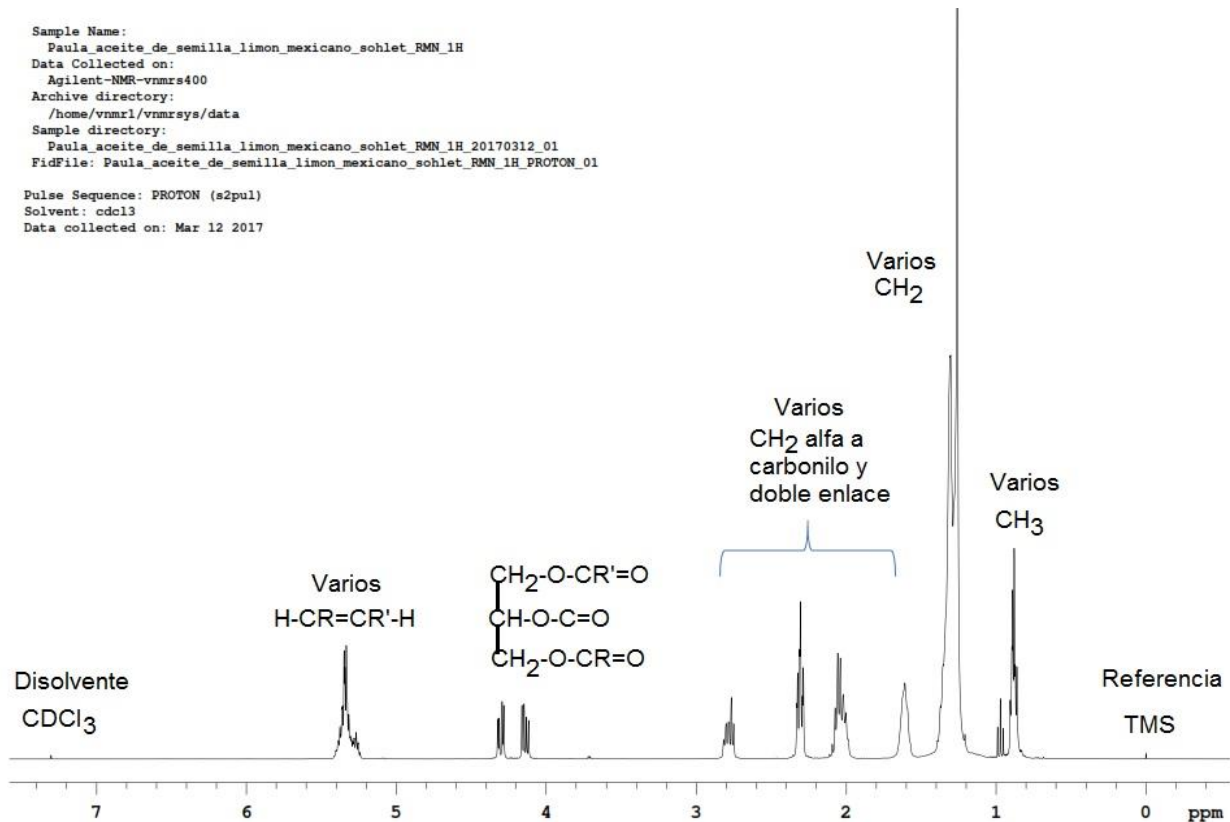


Figura 30. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (CDCl_3 , TMS, 400 MHz) del aceite de semillas de limón mexicano extraído por el método de Soxhlet

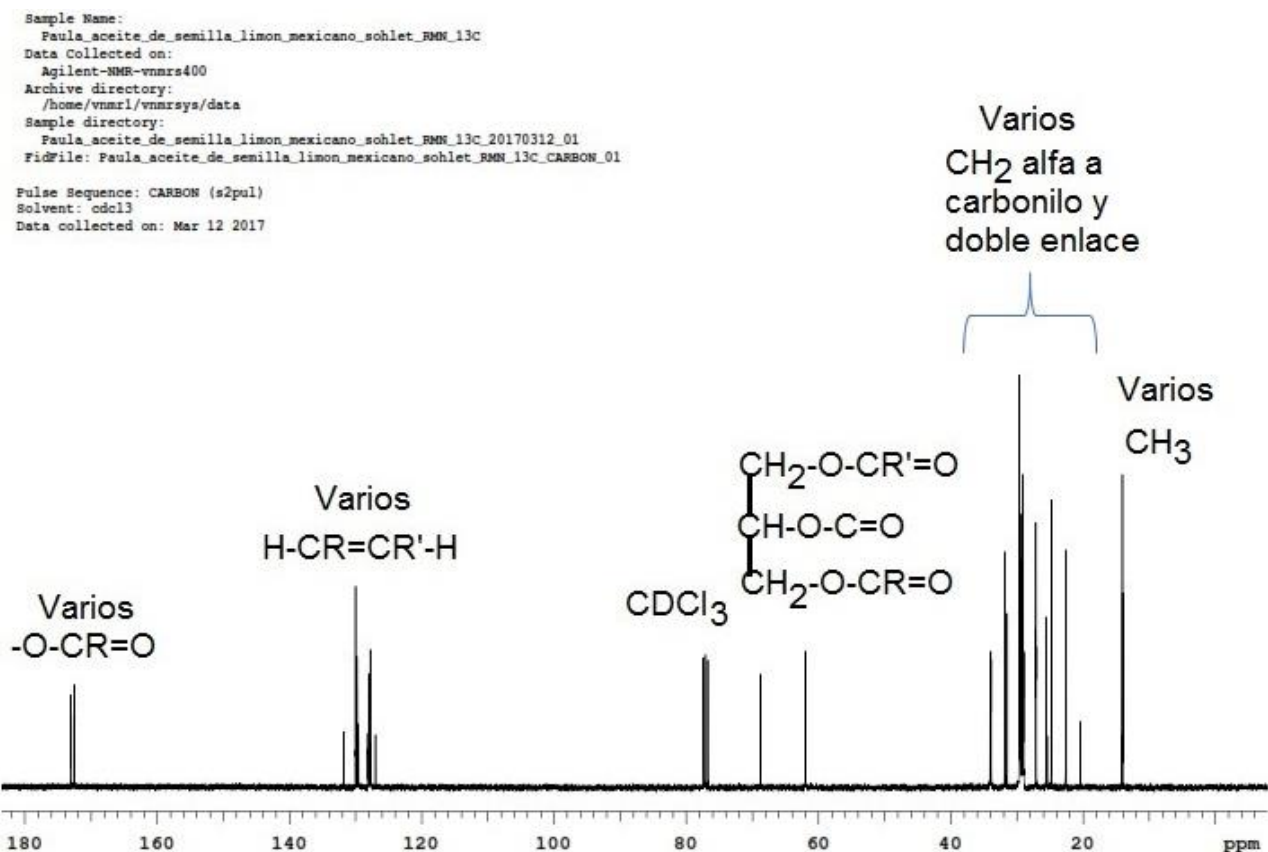


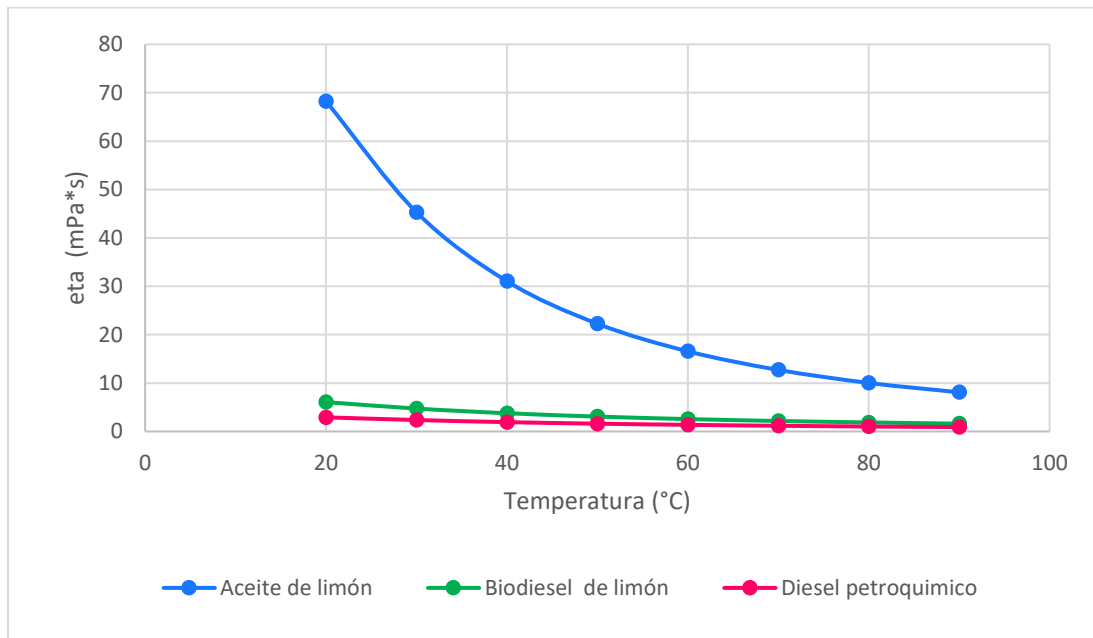
Figura 31. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (CDCl_3 , TMS, 100 MHz) del aceite de semillas de limón mexicano extraído por método de Soxhlet

7.10 Reacción de transesterificación

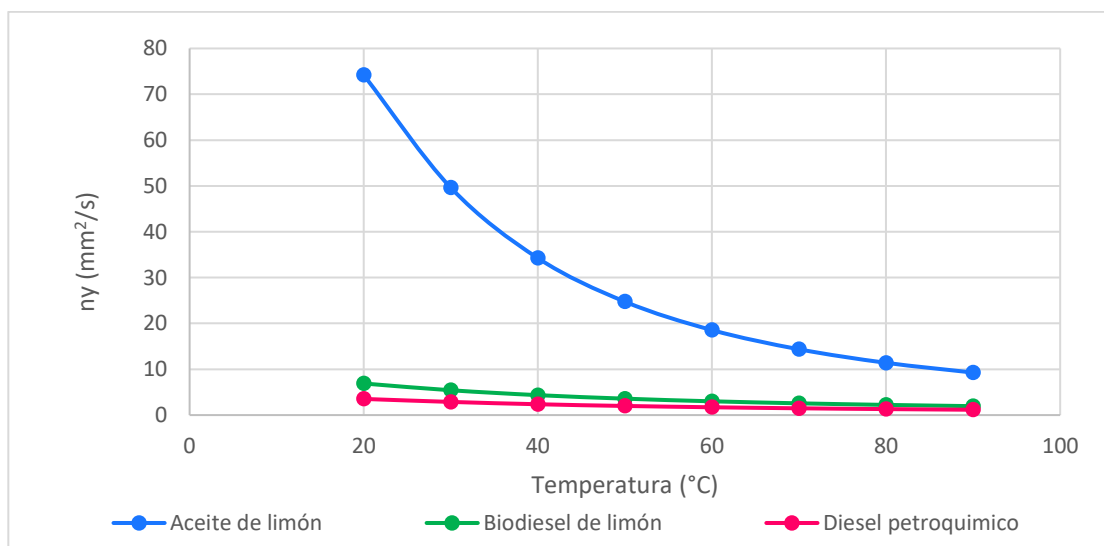
Para la transformación de aceite a biodiésel se utilizó el aceite extraído por método de maceración debido a sus mejores parámetros de calidad como su índice de Acidez el cual es más bajo en comparación del obtenido por Soxhlet y se esperan mejores características y mayor calidad de biodiésel. El rendimiento del biodiésel obtenido fue de 78.19%, de ésteres metílicos; una vez identificado el biodiésel se procedió con la estimación de las pruebas de Viscosidad, Densidad, Índice de Acidez, Índice de Yodo, calor de combustión y la realización de las mezclas con diésel petroquímico.

7.11 Viscosidad y Densidad en biodiésel

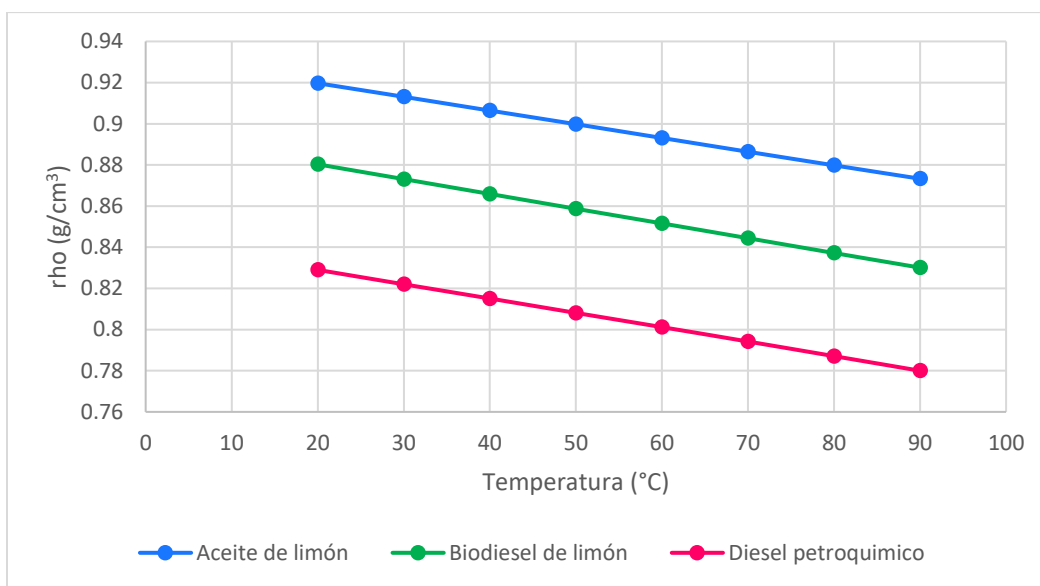
Las viscosidades dinámicas y cinemáticas del Biodiésel disminuyeron exponencial y considerablemente en comparación con el aceite obtenido anteriormente ya que se observa un decremento de aproximadamente 10 veces menos, lo que significa que es necesaria la transesterificación para poder obtener más cercanos al del diésel petroquímico. La Norma En 14214 establece que la viscosidad cinemática en el biodiésel se debe encontrar en un intervalo de 3.5-5.0 mm²/s a una temperatura de 40°C y el biodiésel se encuentra a esa temperatura con un valor de 4.35 cumpliendo así el valor referenciado en la norma. En cuanto a la densidad también disminuye conforme aumenta la temperatura, asemejando más sus características al diésel lo que se esperaba como se aprecia en las Gráficas 6, 7 y 8.



Gráfica 6. Comparación de la Viscosidad dinámica para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.



Gráfica 7. Comparación de la Viscosidad cinemática para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.



Gráfica 8. Comparación de la Densidad para el aceite de semilla de limón mexicano, Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano.

7.12 Índice de acidez determinado en el biodiésel

Este fue determinado por una titulación empleando una solución de KOH 0.0026 N, la cual arrojó un valor de 0.98 mg de KOH/g para el Biodiésel de limón mexicano. Lo cual resulta inaceptable ya que la Norma Europea EN 14214 establece que el límite máximo es de 0.5 mgKOH/g. Debido a que los demás parámetros analizados resultan ser adecuados y están dentro de los valores reportados en la literatura se asume que el dato obtenido resulta ser muy alto debido a que la determinación no se llevó a cabo de inmediato ya que se realizó días después de la obtención del biodiésel y la acidez es un parámetro del grado de envejecimiento ya que su valor aumenta gradualmente debido la degradación del biodiésel durante su almacenamiento, lo cual influyó de manera importante en la muestra.

7.13 Índice de Yodo obtenido en el biodiésel

Este se determinó con una valoración utilizando una solución de tiosulfato de sodio de concentración 0.096 N, la cual indicó un valor de 95.92 el cual se acepta ya que el reportado en la Norma Europea EN 14214 es de 120 máximo.

7.14 Identificación del Biodiésel por RMN¹H

La característica del biodiésel obtenido del aceite de las semillas de limón fue identificada por medio de sus espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C como se aprecia en las Figuras 32 y 33, respectivamente. En su espectro de RMN de ¹H se observa una señal simple intensa cercana a 3.65 ppm indicativa de grupo metoxilo (CH₃-O-) y diagnóstica de ésteres metílicos de ácidos grasos o FAME (Fatty Acid Methyl Ester). En tanto en su espectro de RMN de ¹³C corrobora la presencia de dichos ésteres metílicos por la señal a 51 ppm también del grupo metoxilo (CH₃-O-), indicando así que la reacción de transesterificación fue completa.

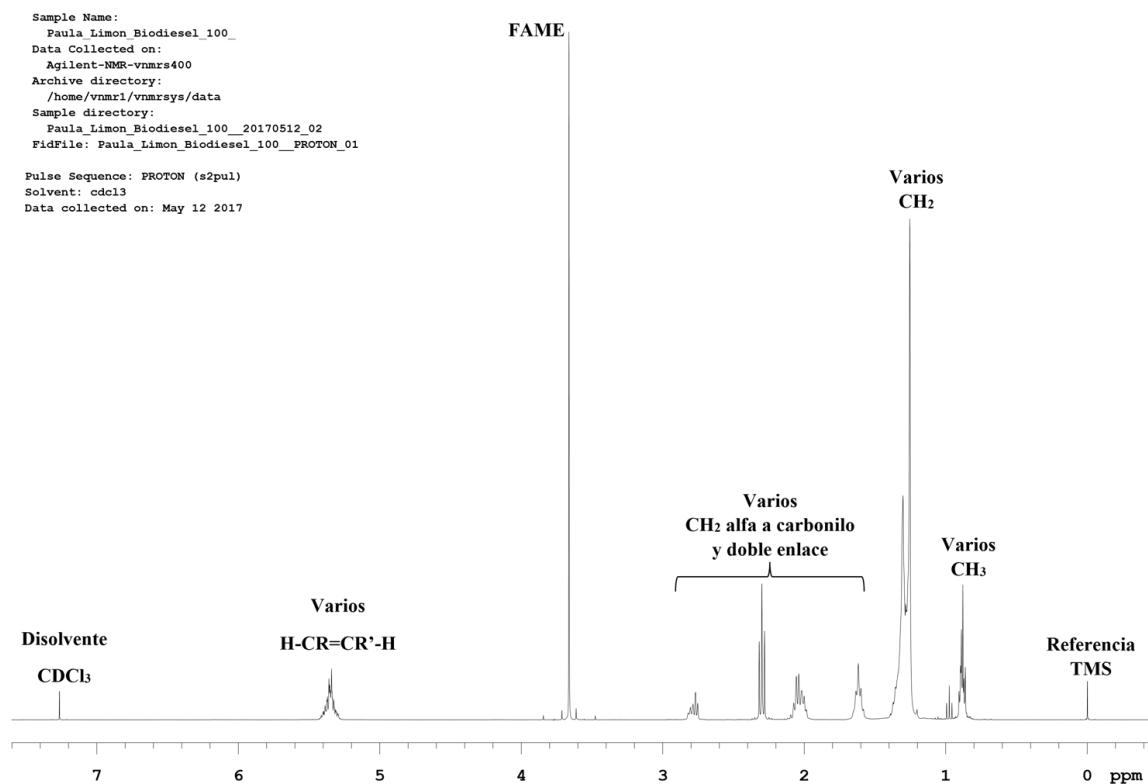


Figura 32. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H (CDCl₃, TMS, 400 MHz) del Biodiésel de limón mexicano

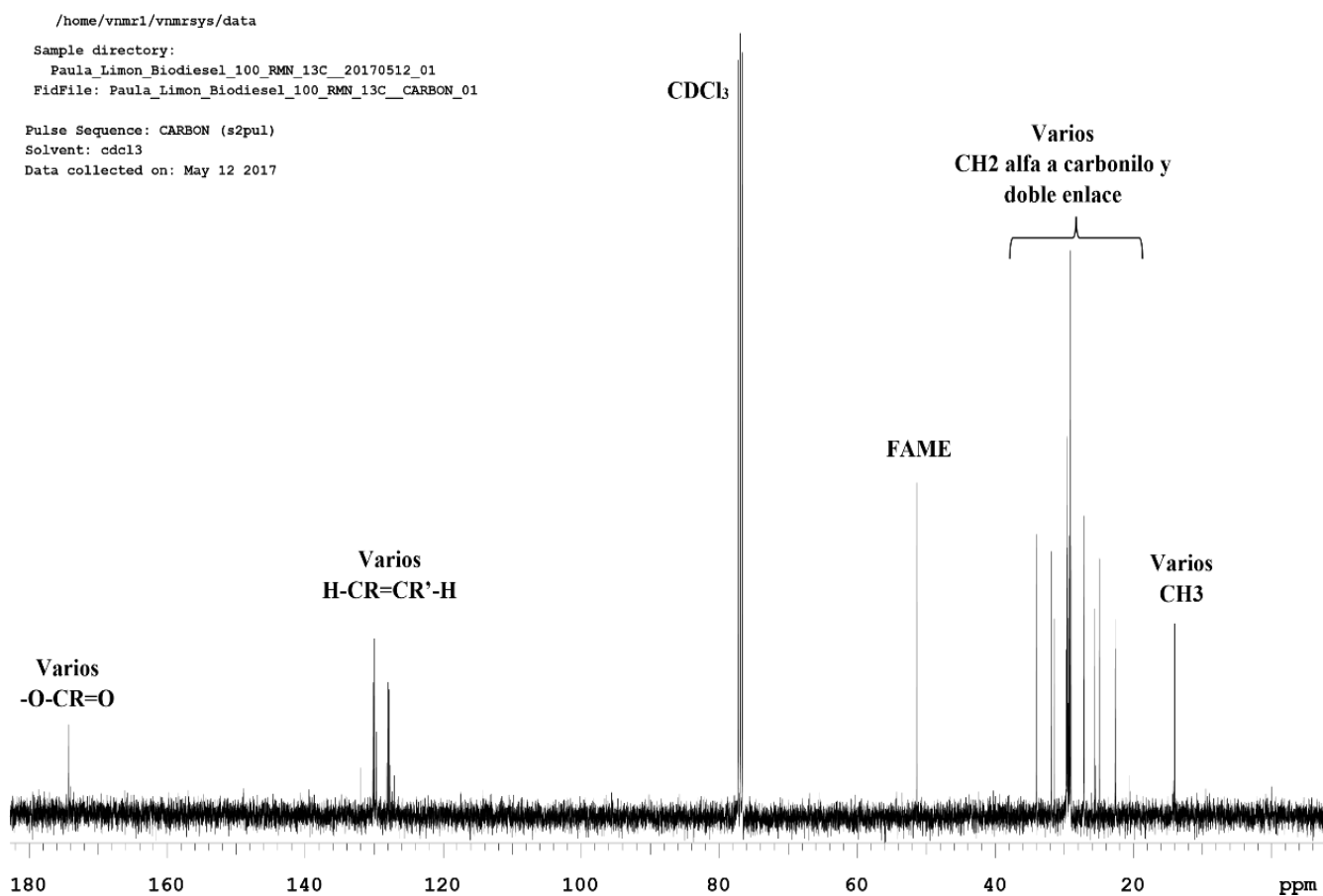


Figura 33. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³C (CDCl₃, TMS, 100 MHz) del Biodiésel de limón mexicano

7.15 Perfil de ácidos grasos en el Biodiésel de semilla de limón mexicano

La composición de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases en un cromatógrafo Agilent 6890, equipado con un detector de ionización de flama y una columna AT-FAME (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm). La temperatura inicial del horno fue de 170 °C (1 min), rampa 10 °C/min, temperatura final 240 °C. Temperatura del inyector y detector 260°C. Se utilizó helio como gas acarreador, a una velocidad de flujo de 1.8 mL min⁻¹. Una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos se utilizó como estándar y los tiempos de retención se utilizaron para la detección de picos de las muestras, Los ácidos grasos fueron estimados como porcentaje del área total de los picos de ésteres metílicos, mismos que se muestran en la Tabla 4. (Ver el cromatograma de gases en el anexo). En dicha tabla se aprecia que el aceite de semillas de limón contiene una mayor cantidad de ácidos grasos saturados (Palmítico y esteárico) comparado con semillas de *Jatropha curcas* (Akbar *et al*, 2009), indicando un pobre desempeño en climas fríos, ya que el biodiésel que se obtenga mostrara depósitos sólidos a bajas temperaturas.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos (%) en semillas de *Citrus aurantifolia* comparado con otra fuente natural.

Ácido graso	Fórmula molecular	Estructura	Porcentaje	
			<i>Citrus aurantifolia</i>	<i>Jatropha curcas</i> ^a
Palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	C16:0	42.80	14.2
Esteárico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	C18:0	27.70	7.0
Palmitoleico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	C16:1	0.77	0.7
Oleico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C18:1	2.03	44.7
Linoleico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C18:2	-	32.8
Linolénico	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C18:3	1.05	0.2
Desconocidos			25.65	
Saturados	-	-	70.50	21.6
Monoinsaturados	-	-	2.80	45.4
Polinsaturados	-	-	1.05	33.0

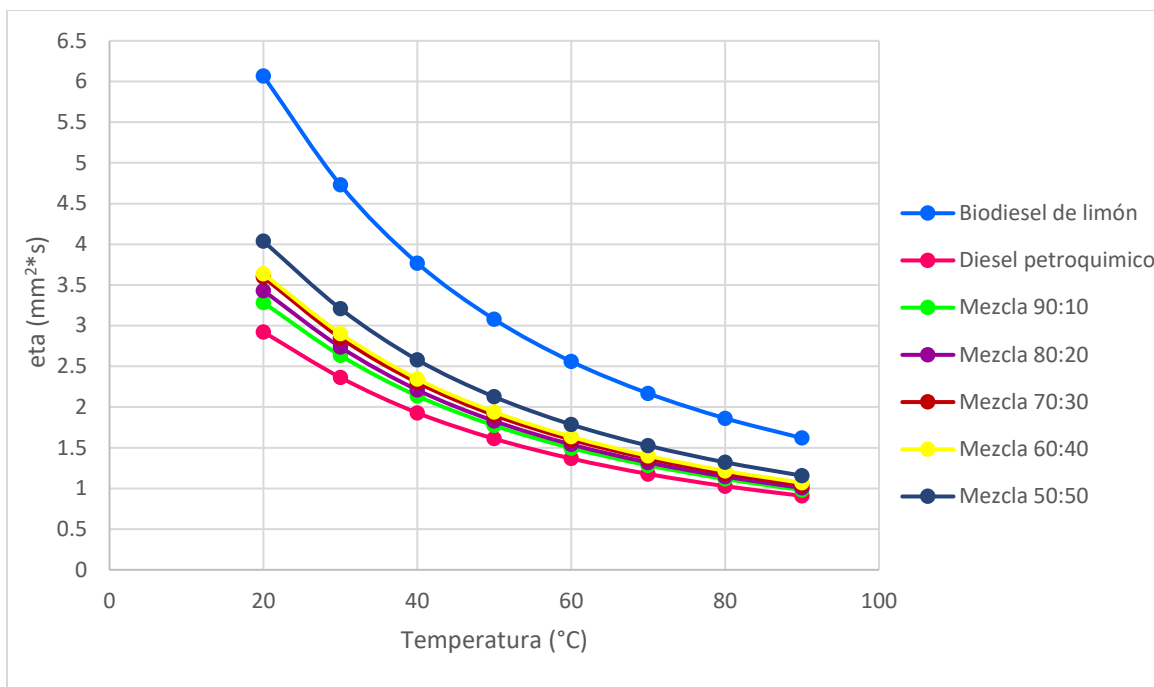
^aAkbar *et al.*, (2009)

7.16 Mezclas de Biodiésel de limón mexicano con Diésel petroquímico.

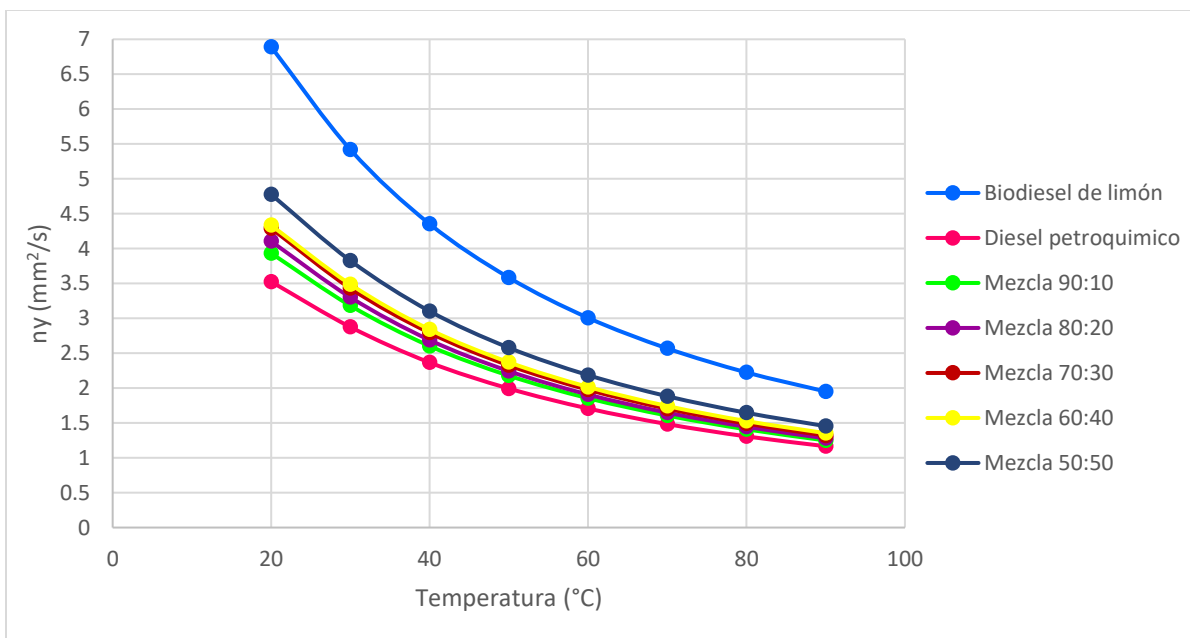
Se procedió en la preparación de las mezclas de diésel petroquímico en las proporciones propuestas: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50, estimándose las propiedades fisicoquímicas de viscosidad, densidad y calor de combustión.

7.17 Viscosidad y Densidad encontradas en las mezclas

Se puede identificar en las Gráficas 9 y 10 que tanto para la viscosidad dinámica como para la cinemática, el Biodiésel resultó tener valores más elevados y el Diésel petroquímico a bajas temperaturas, los valores más pequeños con respecto al aumento de la temperatura, siendo estas dos líneas la referencia para las mezclas obtenidas para las cuales el comportamiento es proporcional, respecto al mayor contenido de Diésel petroquímico en la mezcla esta tendrá una tendencia más similar a las características del diésel petroquímico; considerando los estándares que señalan las Normas Europea (EN 590, viscosidad de 1.5-4.0 mm²/s) y Americana (ASTM D7467, viscosidad de 1.9-4.1 mm²/s) ambas para una temperatura de 40°C, se corrobora que ninguna de las mezclas obtenidas sobrepasan el intervalo establecido en estas normas, ya que están en un rango de 2.37-3.10 de viscosidad cinemática a los 40 °C. Al final los resultados mostraron que los valores de viscosidad y densidad aumentaron con la creciente concentración de biodiésel en las mezclas de combustible. (Santos *et al* 2011).

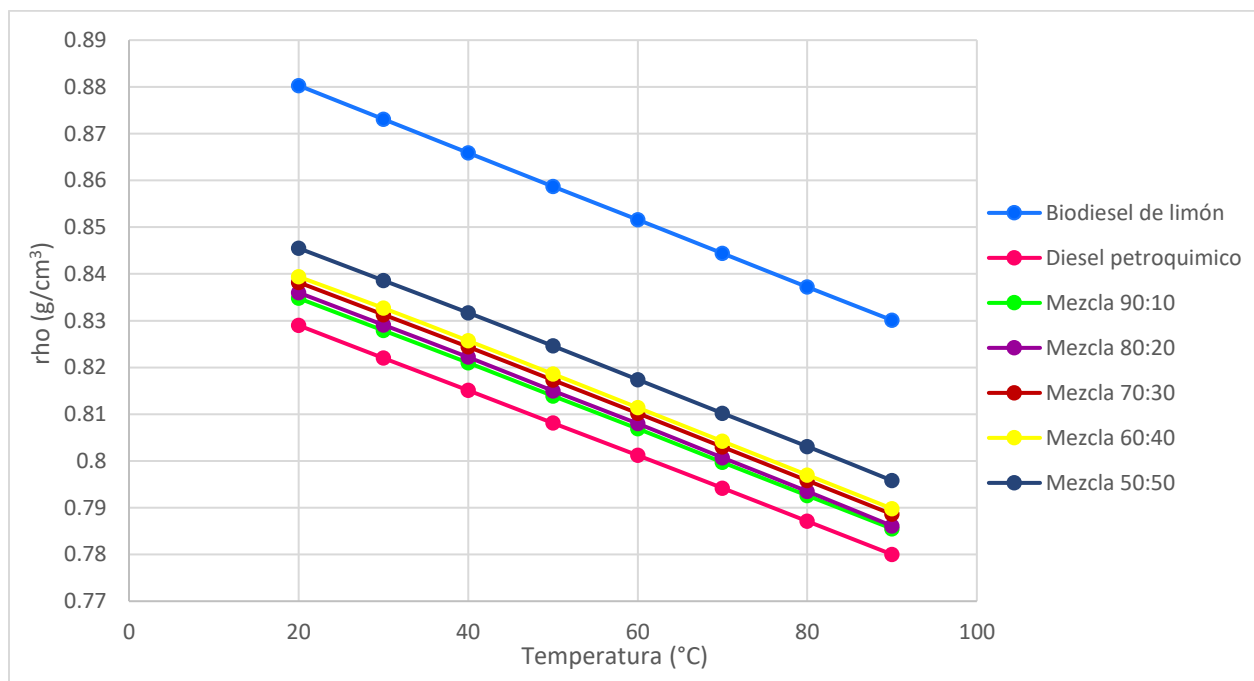


Gráfica 9. Comparación de la Viscosidad dinámica para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.



Gráfica 10. Comparación de la Viscosidad cinemática para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.

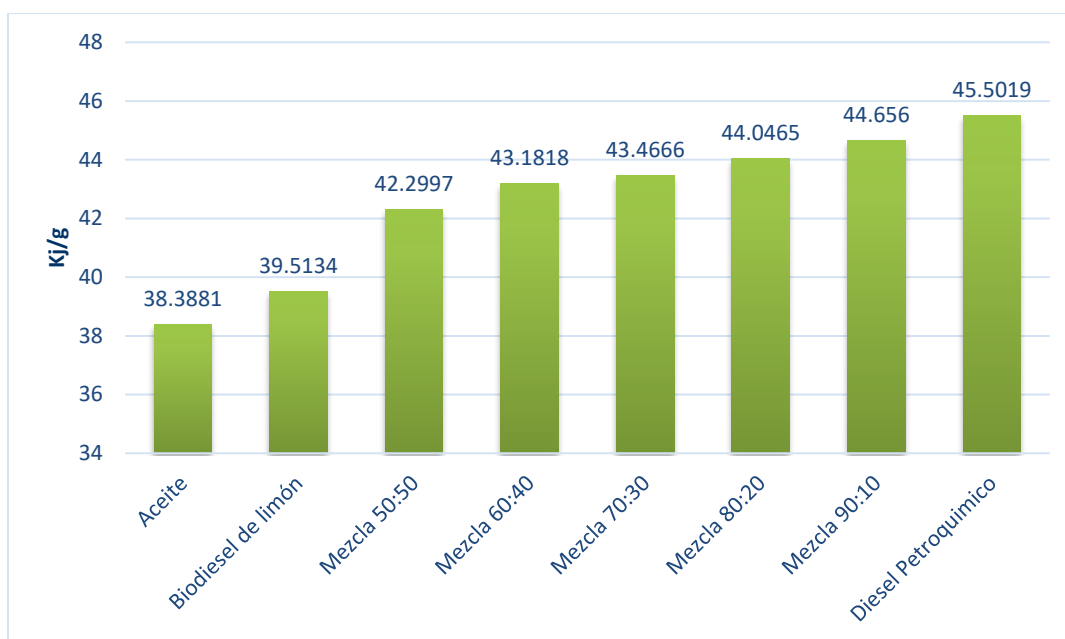
Para la Densidad es muy similar ya que en la Gráfica 11 se observa la misma tendencia, entre mayor es la proporción de diésel petroquímico en la mezcla mayor es la similitud al diésel petroquímico puro como se espera. La densidad de los combustibles mezclados es sensible al cambio de temperatura, el aumento de la densidad inducida por la temperatura del combustible disminuye en los combustibles puros y mezclados. El aumento de las temperaturas causó un movimiento molecular más activo debido al incremento de la energía cinética y la velocidad de movimiento, por lo tanto, el peso molecular por unidad de volumen disminuyó, y la densidad disminuyó. (Park *et al*, 2012).



Gráfica 11. Comparación de la Densidad para las mezclas de Diésel petroquímico y Biodiésel de limón mexicano en proporciones: 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 y 50:50 respectivamente.

7.18 Entalpia de combustión

La Norma EN 14214 indica que un biodiésel debe tener un mínimo de calor de combustión de 35KJ/g y para el Biodiésel de limón se obtuvo un valor de 39.51KJ/g. Es clara la diferencia entre la entalpia del biodiésel obtenido comparando con el del diésel petroquímico y aún es más marcada la diferencia entre aceite y diésel como se ve en la Gráfica 12 el aumento de poder térmico que se observa en relación con el aumento de diésel petroquímico en las mezclas, las cuales en cada proporción mayor de diésel se asemejan más a este en su forma pura, indicando que tendrán una eficiencia adecuada en el motor.



Gráfica 12. Comparación de la Entalpia de combustión para el aceite de semilla de limón mexicano, Biodiésel de limón mexicano y Diésel petroquímico, así como de las mezclas realizadas de estos dos últimos.

7.19 Detección de ciclopéptidos en bagazo de semilla y cáscara de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*)

La prueba cromatografica del extracto metanolico del bagazo de semilla de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) resultó positiva tanto para péptidos lineales como ciclopéptidos, ya que en la primera cromatoplaca revelada con Ninhidrina (Figura 34a) se observó una coloración rosa tanto para el aminoácido (A.A.) como para la muestra (Mtra.)

que es el extracto metanolico, y no se observó dicha coloración en el ciclopéptido de referencia (C). La segunda cromatoplaca revelada con el reactivo o-tolidina aportó una coloración morada tanto para el extracto metanólico (Mtra.) como para el ciclopéptido de referencia, (Figura 34b). Así mismo, se preparó el extracto metanólico de la cáscara de limón residual, y se aplicaron las pruebas cromatográficas anteriores con la finalidad de detectar péptidos y ciclopéptidos, como se muestra en las Figura 34c y 34d. Los resultados anteriores son muy importantes porque justifican el aprovechamiento integral de las semillas y cáscaras de limón, en primer lugar para la obtencion de aceite y su transformacion a biodiésel y en segundo lugar el siguiente residuo denominado bagazo de semillas y cáscaras, contiene ciclopéptidos que pueden ser aprovechados para su uso como farmacos potenciales en el tratamiento de enfermedades, sin embargo al no ser el objetivo de este trabajo, queda como un posible proyecto para desarrollarse posteriormente.

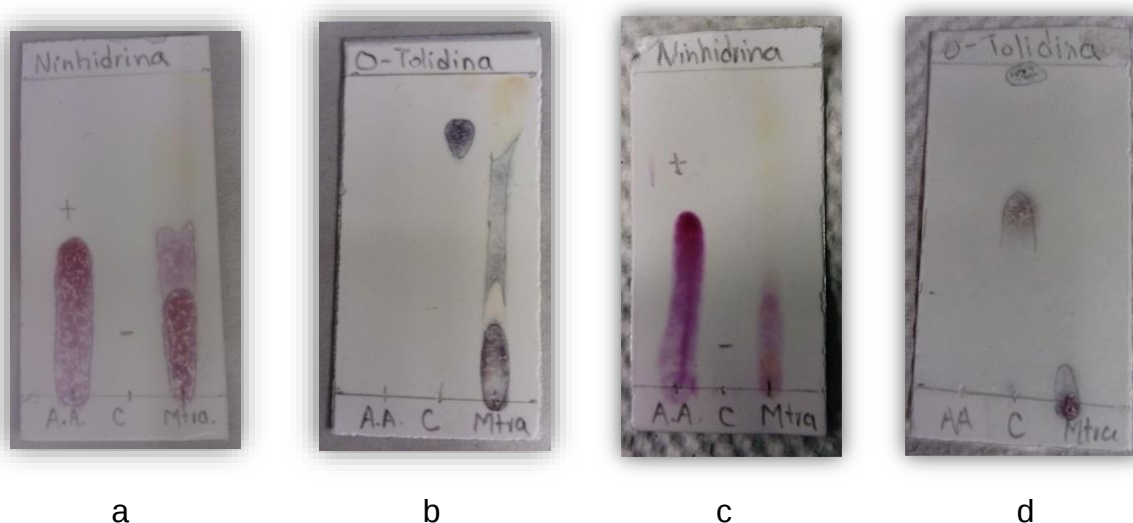


Figura 34. Cromatoplacas reveladas con a) Ninhidrina y b) o-tolidina para la identificación de ciclopéptidos en bagazo de semillas y cascarras c y d de limón mexicano

Conclusiones

-Se colectaron semillas de limón en diferentes establecimientos de la ciudad de México para la extracción de aceite al cual se le determinaron propiedades fisicoquímicas como acidez la cual fue menor al 3% la que fue el punto de partida para su transformación a Biodiésel.

-El aceite obtenido tuvo un rendimiento del 35.91% lo que lo hace sustentable y viable para su transformación a biodiésel.

- Aunque no existen normas para la comparación en el calor de combustión del biodiésel 39.5 KJ/Kg este es cercano al diésel petroquímico que es 45.5 KJ/Kg.

-El biodiésel obtenido tiene características de viscosidad para la fluidez en los motores y un bajo punto de inflamabilidad ya que la mezcla 80/20 en su calor de combustión estuvo muy cercana a la del diésel petroquímico, se asume que puede ser utilizada en motores de combustión interna.

-La desventaja que presenta el biodiésel con respecto a su viscosidad en lugares fríos dificultaría el suministro a través de los ductos hacia el motor por lo que siempre se recomiendan usar las mezclas.

Bibliografía

- Ajewole, K., & Adeyeye, A. (1993). Characterisation of Nigerian citrus seed oils. *Food Chemistry*, 47(1), 77-78.
- Akbar, E., Yaakob, Z., Kamarudin, S.K., Ismail, M. and Salimon, J. (2009). Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from Malaysia and its potential as biodiésel feedstock. *Eur J Sci Res* 29: 396–403.
- Alejos, C., & Calvo, E. (2015). Biocombustibles de primera generación. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 18(2), 19-30.
- Álvarez, C. (2009). Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Economía informa*, 359, 63-89.
- Asif, S., Ahmad, M., Zafar, M., & Ali, N. (2017). Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-edible seed oils for use as biodiésel in Pakistan. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 687-702.
- ASTM (2013). Standard Specification for Diesel Fuel Oil, Biodiésel Blend (B6 to B20) Designation: D7467 – 13
- Ayres Gilbert, H. (1970). Análisis químico cuantitativo. *Haría*, 7a. Ed. Madrid, España, 430-443.
- Baudino, F. D. T. (2006). Reacciones en contexto: la transesterificación en la producción de biodiésel a partir de aceite de fritura usado. In *Anales de la Real Sociedad Española de Química* (No. 3, pp. 43-49). Real Sociedad Española de Química.

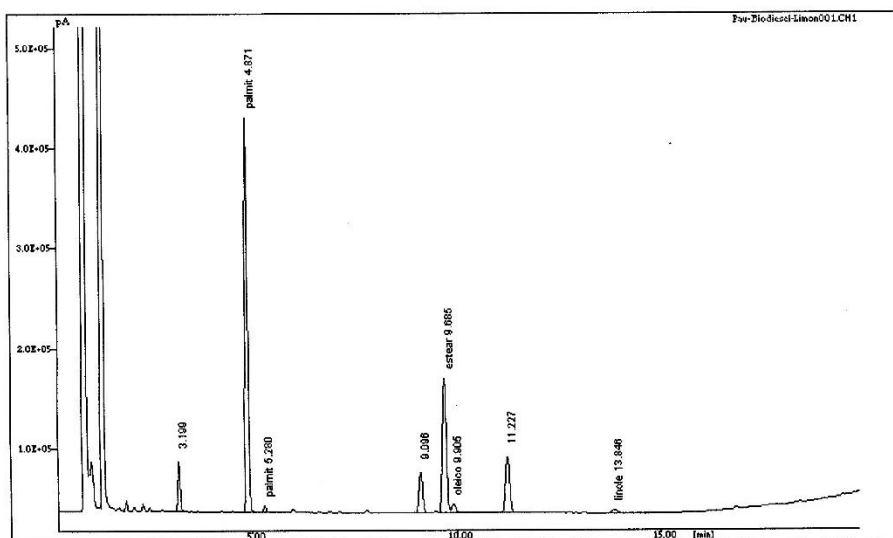
- Bender, M. L., Brubacher, L. J. (1977). *Catálisis y acción enzimática*. Barcelona. Editorial Reverté. Pp 1.49
- Bezergianni, S., Dimitriadis, A. (2013). Comparison between different types of renewable diesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 21, 110-116.
- Carozo A. J. (2014)., Análisis sobre el destino de Aceite de Orujo a la elaboración de combustibles Imposibilidades técnicas, económicas y fiscales. Madrid España. Agrícola Española.
- Castellar Rodríguez, M. R. L., Obón De Castro, J. M., Alacid Cárceles, M. (2010). Enseñando tecnologías: biodiésel a partir de aceites usados.
- Dussel Peters, E. (2002). Territorio y competitividad en la agroindustria en México: condiciones y propuestas de política para los clusters del limón mexicano en Colima y la piña en Veracruz. México. Palza y Valdés Editores.
- EN 14214:2003 (E). Automotive Fuels - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) For Diesel Engines – Requeriments and Test Methods
- EN 590:2009 (E). Automotive fuels - Diesel - Requirements and test methods
- Espinosa W., Goddard MG., Gutiérrez C., Bonfil C., (2019). Los Biocombustibles. ¿cómo ves? Revista de Divulgación de la Ciencia de la UNAM. [en línea]. Recuperado el 07 mayo de 2019 de: <http://www.comoves.unam.mx/assets/revista/123/los-biocombustibles.pdf>
- Ezeonu, C. S., Ezeonu, N. C. (2016). Alternative sources of petrochemicals from readily available biomass and agro-products in africa: a review. *Journal of Petrochemical and Environmental Biotechnology*, 7(1), 301-305.

- Flores, R. C. T. (2019). Política energética: problemas y posibles soluciones Energy policy: problems and solutions. *EconomíaUNAM*, 16(46), 109-117.
- González M. (2019) Aislamiento y caracterización estructural de ciclopéptidos obtenidos del bagazo de las semillas de *Annona purpurea* Moc. & Sessé ex Dunal. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México .
- Gras, R., Luonga,,J., Haddad, P.R., Shellie, R.A. (2018). Gas chromatography with simultaneous detection: Ultraviolet spectroscopy, flame ionization, and mass spectrometry *Journal of Chromatography A*, 1563 171–179.
- Iturbe F. A., Sandoval J. (2013), Análisis de alimentos Fundamentos y técnicas, México, Distrito Federal. Editorial de la Facultad de Química, 34-68.
- Joseph-Nathan, P., Torres, D. E., Santillán, R. L. (1993). Elementos de resonancia magnética nuclear de hidrógeno. (2ª ed.) México. Grupo Editorial Iberoamérica.
- Kargbo D. M. (2010).” Biodiésel Production from Municipal Sewage Sludges”. *Energy Fuels*, (24), pp. 2791–2794.
- Laguna T. (2015). Utilización de semillas del fruto de chirimoya (*Annona Cherimola*) en la obtención de ciclopéptidos. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lawson, H. (1994). Aceites y grasas alimentarios: Tecnología, utilización y nutrición. Zaragoza España. Editorial Acribia.
- Manzini, F., Macías, P. (2004). Nuevas Energías Renovables: Una alternativa energética sustentable. *Centro de investigación en energía/Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, Tech. Rep.*

- Matthauss, B., Özcan, M. M. (2012). Chemical evaluation of citrus seeds, an agroindustrial waste, as a new potential source of vegetable oils. *grasas y aceites*, 63(3), 313-320.
- McEvoy, J.P. (2014) Characterizing Carbonyls with Infrared Spectroscopy. An Introductory Chemistry Experiment in a Molecular Bioscience Program *J. Chem. Educ.* 91, 726–729
- Nielsen, S. S. (2009). Análisis de los Alimentos. 3era Edición. *Zaragoza, España*. Editorial Acribia.
- NMX-F-017-SCFI-2011. Alimentos-aceites y grasas-determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases en columna empacada. Método de prueba (CANCELA A LA NMX-F-017-SCFI-2005).
- Park, S. H., Choi, K. B., Kim, M. Y., Lee, C. S. (2012). Experimental investigation and prediction of density and viscosity of GTL, GTL–biodiésel, and GTL–diesel blends as a function of temperature. *Energy Fuels*, 27(1), 56-65
- Pramanik, K. (2003). Properties and use of Jatropha curcas oil and diesel fuel blends in compression ignition engine. *Renewable energy*, 28(2), 239-248.
- PROFECO (2019). Limón mexicano. “Si del cielo te caen limones...” [en línea]. Recuperado el 25 de Junio de 2019 de: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/limon-mexicano-si-del-cielo-te-caen-limones>
- PROFECO (2019). Todo sobre los aceites comestibles. Revista del consumidor. Núm. 511. P.7.

- Rashid, U., Ibrahim, M., Yasin, S., Yunus, R., Taufiq-Yap, Y. H., & Knothe, G. (2013). Biodiésel from *Citrus reticulata* (mandarin orange) seed oil, a potential non-food feedstock. *Industrial crops and products*, 45, 355-359.
- Reyes-Trejo, B., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Cuevas-Sánchez, J. A., Reyes, L., Reyes-Chumacero, A., Rodríguez-Salazar, J. A. (2014). *Annona diversifolia* seed oil as a promising non-edible feedstock for biodiésel production. *Industrial Crops and Products*, 52, 400-404.
- SAGARPA, M. (2009-2012). Programa de Producción Sustentable de Insumos para Bioenergéticos y de Desarrollo Científico y Tecnológico. [en línea]. Recuperado el 12 de Enero de 2019 de: <https://www.inforural.com.mx/programa-de-produccion-sustentable-de-insumos-para-bioenergeticos-y-de-desarrollo-cientifico-y-tecnologico-2009-2012/>
- Santos, R. O., Compri, I. G., Morandim-Giannetti, A. A., Torres, R. B. (2011). Optimization of the transesterification reaction in biodiésel production and determination of density and viscosity of biodiésel/diesel blends at several temperatures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 56(5), 2030-2038.
- SENER (2018, 25 de marzo). México redujo sus emisiones de bióxido de carbono durante 2017: Agencia Internacional de Energía [en línea]. Recuperado el 17 de abril de 2019 de: www.gob.mx/sener/prensa/mexico-redujo-sus-emisiones-de-bioxido-de-carbono-durante-2017-agencia-internacional-de-energia?idiom=es
- Vijayakumar, C., Ramesh, M., Murugesan, A., Panneerselvam, N., Subramaniam, D., Bharathiraja, M. (2016). Biodiesel from plant seed oils as an alternate fuel for compression ignition engines—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 24711-24730.

Anexo



Archivo : C:\HP3398A\datos\Pau-Biodiesel-Limon001.CH1

Operador : ERÉNDIRA GARCÍA

Información : Columna AT-FAME 30 m x 0.25 mm x 0.25 um espesor de película

Temperatura Inyector 250 °C Temperatura FID 250 °C

Horno: 180 °C [15 min] 10 °C/min hasta 230 °C [3 min]

Flujo: 1.8 mL/min H2 Split 100

Fecha de inyección : 29-May-2017 4:06:26

Tiempo de adquisición : 23.00 [mins]

Volumen de inyección = 1.0000

Método de Control : ESTERES FAME2

Método de análisis : FAME

Modo de Cálculo : % Área

#	Nombre	Tr [min]	Área [pA*s]	%Área	Código
1		3.199	105882	4.343	BB
2	palmitico	4.871	1043721	42.811	BV
3	palmitoleico	5.280	18646	0.765	PB
4		9.096	198337	8.135	BV
5	estearico	9.685	674890	27.682	VV
6	oleico	9.905	49495	2.030	VB
7		11.227	321314	13.179	BB
8	linolenico	13.846	25699	1.054	BB



Cromatograma del perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de limón