

**FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS PRECIPITADOS  
FORMADOS EN BODIESEL DE PALMA AFRICANA PRODUCIDO EN  
ECODIESEL COLOMBIA S.A.**

**MAGDA LORENA SERRANO BARRERA  
KAROLL YESENIA TIRÍA PEÑA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2013**

**FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS PRECIPITADOS  
FORMADOS EN BODIESEL DE PALMA AFRICANA PRODUCIDO EN  
ECODIESEL COLOMBIA S.A**

**MAGDA LORENA SERRANO BARRERA  
KAROLL YESENIA TIRÍA PEÑA**

**Trabajo final de grado para optar el título de Ingeniero químico**

**Directores**

**Arnold Romero Bohórquez, Químico, Ph.D.  
Viatcheslav Kafarov, Ingeniero químico, Ph.D.**

**Codirector**

**Vladimir Plata, Ingeniero químico**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2013**

**Dedicado a,**

*A Dios, por estar presente en cada paso de mi vida, por permitirme culminar esta etapa de mi vida satisfactoriamente.*

*A mi madre y a mi hermana que son el motivo para alcanzar mis objetivos propuestos. Gracias por brindarme su amor, comprensión y apoyo incondicional durante toda mi formación académica.*

*A mi padre por brindarme su apoyo en esta etapa importante de mi vida.*

*A mi familia por darme la oportunidad de compartir los momentos más importantes de mi vida, en especial mi abuelita.*

*A mis amigos y todas aquellas personas con las que compartí y me brindaron comprensión, amor y confianza.*

**Magda Lorena Serrano Barrera**

**Dedicado a,**

*Este trabajo está dedicado a Dios por guiar cada paso que he dado para lograr este sueño, a mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, creer en mí y llenarme de amor en momentos difíciles, a mi hermano por ser mi ejemplo y motivación constante.*

**Karoll Yesenia Tiría Peña**

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos:

A DIOS por habernos dado la oportunidad de realizar este trabajo de grado satisfactoriamente y haber cumplido con el objetivo propuesto.

A la UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER por ser el centro de enseñanza que inculcó responsabilidad, trabajo y dedicación.

A Ecodiesel Colombia S.A., en particular a los ingenieros Gloria Suárez y Fernando Córdoba, y al Instituto Colombiano del Petróleo (ICP-Ecopetrol), por las muestras suministradas.

De manera especial agradecemos a nuestro codirector VLADIMIR PLATA y a nuestro director ARNOLD RAFAEL ROMERO, por su apoyo y su valioso tiempo dedicado a este trabajo.

Al Dr. VIATCHESLAV KAFAROV por habernos permitido trabajar en su grupo de investigación y por su colaboración durante el desarrollo del trabajo final de grado

A la profesora MARIA PAOLA MARADEI, la profesora NATALIA BEDOYA y al ingeniero GUILLERMO ACERO por su colaboración y contribución significativas.

Todas las personas que de una u otra forma hicieron parte de la realización de este trabajo final de grado

*“Lo importante en la vida no es el triunfo sino la lucha. Lo esencial no es haber vencido, sino haber luchado bien.”*

**(Barón Pierre de Coubertin)**

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN .....	19
2. METODOLOGÍA.....	25
2.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	25
2.2 DETERMINACIÓN DE UN DISOLVENTE PARA SOLUBILIZAR LOS SÓLIDOS EXTRAÍDOS.....	26
2.3 FRACCIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	26
2.3.1 Determinación de solventes para fraccionamiento de las muestras mediante TLC.....	26
2.3.2 Fraccionamiento de las muestras mediante cromatografía en columna.....	27
2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	28
2.4.1 Caracterización por TLC .....	28
2.4.2 Caracterización por FTIR.....	28
2.4.3 Caracterización por TGA .....	28
2.4.4 Caracterización por DSC.....	28
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	29
3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	29
3.2 DETERMINACIÓN DE UN DISOLVENTE PARA SOLUBILIZAR LOS SÓLIDOS EXTRAÍDOS.....	30

3.3	FRACCIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	31
3.4	CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	33
3.4.1	Caracterización de las muestras por TLC.....	33
3.4.2	Caracterización de las muestras por FTIR.....	34
3.4.3	Caracterización de las muestras por TGA.....	37
3.4.4	Caracterización de las muestras por DSC.....	39
	CONCLUSIONES.....	43
	RECOMENDACIONES.....	44
	BIBLIOGRAFÍA.....	45
	ANEXOS.....	49

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Conversión de estéril glucósidos acilados a estéril glucósidos libres....	20
Figura 2. Número de publicaciones relacionadas con el tema de investigación.... registradas en la base de datos Scopus .....	22
Figura 3. Número de publicaciones de interés, según el país de publicación registradas en la base de datos Scopus .....	24
Figura 4. Metodología utilizada durante el desarrollo del trabajo final de grado....	25
Figura 5. Sólidos extraídos Hz1 y Hz2.....	29
Figura 6. Suspensiones formadas al adicionar Hz1 en diferentes solventes.....	30
Figura 7. Prueba TLC anillos concéntricos para HZ1 Y HZ2.....	31
Figura 8. Resultados de la caracterización por TLC .....	33
Figura 9. Espectros superpuestos del estándar de MP y de la fracción F1Hz2.....	34
Figura 10. Espectros superpuestos de las fracciones F1Hz1, F2Hz2 y del estándar de EGL.....	36
Figura 11. Superposición de la derivada de la pérdida de masa con respecto a la temperatura de la muestra F1Hz2 y del estándar de MP.....	38
Figura 12. Derivada de la pérdida de masa con respecto a la temperatura para las muestras F1Hz1, F2Hz2 y el estándar de EGL.....	39
Figura 13. Superposición del análisis DSC de la muestra F1Hz2 y del estándar de MP.....	40
Figura 14. Superposición del análisis DSC de la muestra F1Hz1, F2Hz2 y del estándar de EGL.....	41
Figura 15. Variación de la turbidez con respecto a la concentración de la muestra Hz1.....	53
Figura 16. Superposición de los espectros de la muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1.....	55
Figura 17. Superposición de los espectros de la muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1.....	57

Figura 18. TGA del Estándar de MP.....	58
Figura 19. TGA de la muestra F1Hz2.....	58
Figura 20. TGA del estándar del estándar de EGL.....	59
Figura 21. TGA de la muestra F2Hz2.....	59
Figura 22. TGA del de la muestra F1Hz1.....	60

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Porcentajes de las fracciones extraídas en las muestras Hz1 Y Hz2....	32
Tabla 2. Condiciones a las cuales se realizó el análisis DSC .....	52
Tabla 3. Sistemas eluyentes seleccionados para el fraccionamiento de Hz1 y Hz2.....	54

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Carta de aceptación dada por el comité científico del evento para publicación del artículo.....	49
Anexo B. Preparación de la muestra.....	50
Anexo C. Procedimiento a seguir para el montaje de la columna.....	51
Anexo D. Condiciones a las cuales se realizó el análisis DSC para cada una de las muestras y los estándares.....	52
Anexo E. Curva de turbidez para diferentes concentraciones de las muestra Hz1.....	53
Anexo F. Sistemas eluyentes seleccionados para el fraccionamiento de Hz1 y Hz2.....	54
Anexo G. Superposición de los espectros de muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1.....	55
Anexo H. Informe de resultados prueba de tensoactivos en la muestra Hz1....	56
Anexo I. Superposición de los espectros de la muestra Hz2 y sus fracciones extraídas F1Hz2 y F2Hz2.....	57
Anexo J. Análisis termo gravimétrico TGA .....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS

**DSC:** Calorimetría diferencial de barrido

**EGL:** Estérilglucósidos libres

**EGA:** Estérilglucósidos acilados

**F1Hz1:** Fracción extraída de la muestra HZ1

**F1Hz2:** Primera fracción extraída de la muestra Hz1

**F2Hz2:** Segunda fracción extraída de la muestra Hz2

**FTIR:** Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

**Hz1:** Muestra después de lavar los precipitados almacenados durante 8 mes a 40°C

**Hz2:** Muestra después de lavar los precipitados almacenados durante 1 mes a 20°C

**MP:** Monopalmitina

**TGA:** Análisis termogravimétrico

**TLC:** Cromatografía en capa fina

## RESÚMEN

**TÍTULO:** Fraccionamiento y caracterización de los precipitados formados en biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A\*

**AUTORES:** MAGDA LORENA SERRANO BARRERA,  
KAROLL YESENIA TIRÍA PEÑA\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Biodiesel, precipitados, estéril glucósidos libres, monoglicéridos saturados.

**DESCRIPCIÓN:** El uso de biodiesel se ha visto afectado por la formación excesiva de precipitados inclusive a temperaturas por encima de su punto de nube. Con el fin de prevenir la formación y/o eliminación de dichos precipitados, se han evaluado diferentes técnicas que aunque efectivas pueden no evitar completamente su formación. Este trabajo de grado tuvo como objetivo caracterizar dos muestras de precipitados formados en biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A.: una suministrada por esta misma empresa y tomada del fondo de los tanques de almacenamiento de biodiesel después de 8 meses a 40 °C y la otra suministrada por el Instituto Colombiano del Petróleo, tomada de biodiesel turbio almacenado 1 mes a 20 °C en contenedores plásticos. La metodología se desarrolló en cuatro etapas fundamentales, preparación de las muestras, determinación de un disolvente para solubilizar los precipitados después de lavados, fraccionamiento empleando cromatografía en columna y caracterización mediante Cromatografía en Capa Fina, Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier, Análisis Termogravimétrico y Calorimetría Diferencial de Barrido. Los resultados permitieron concluir que los precipitados presentes en el biodiesel no están formados exclusivamente por estéril glucósidos libres y por tanto las estrategias diseñadas para prevenir la formación de haze mediante la remoción de estos compuestos del biodiesel deberían ser rediseñadas con el fin de incorporar la eliminación de otros componentes minoritarios. Asimismo, que la composición de dichos precipitados no sólo depende de la materia prima y del tipo de procesamiento al que se someta dicha materia prima, sino también de las condiciones a las que se someta el biodiesel después de producido.

---

\*Proyecto de grado

\*\* Facultad de ingenierías físicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Directores: Viatcheslav Kafarov, Ph.D; Arnold Rafael Romero, Ph.D. Codirector: Vladimir Plata, ingeniero químico.

## ABSTRACT

**TITLE:** Fractionation and characterization of the precipitates formed in African palm biodiesel produced in Ecodiesel Colombia S.A.\*

**AUTHORS:** MAGDA LORENA SERRANO BARRERA,  
KAROLL YESENIA TIRÍA PEÑA\*\*

**KEYWORDS:** Biodiesel, precipitates, steryl glycosides, saturated monoglycerides.

**DESCRIPTION:** In the last few years, the formation of precipitates in pure biodiesel has become a concern for its producers. These sediments, referred as haze, can appear after cooling the biodiesel to temperatures even above its cloud point or if biodiesel stands at room temperature for extended periods. Some techniques based on the removal of free steryl glucosides from biodiesel have been developed in order to prevent this phenomenon and/or eliminate those precipitates. Although those techniques have demonstrated to be effective, they could not completely avoid the formation of precipitate. In this regard, the objective of this thesis was to characterize the nature of two samples of precipitates collected from African palm biodiesel. The samples were purified by washing with hexane, fractionated by column chromatography using a gradient of polarity among pure hexane, pure ethyl acetate and pure methanol, and analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Thin Layer Chromatography, Thermal Gravimetric Analysis and Differential Scanning Calorimetry. It was encountered that the biodiesel precipitates did not exclusively consist of free steryl glucosides and therefore the techniques developed in order to prevent the formation of precipitates by removing these compounds from biodiesel should be redesigned to incorporate the elimination of other minor components. Also, it was found that the composition of the precipitates not only depends of the feedstock and the type of processing to which the feedstock is subjected, but also the conditions to which it is exposed after being produced.

---

\*Graduate project.

\*\* Faculty of Physicochemical Engineering, Chemical Engineering School. Directors: Viatcheslav Kafarov, Ph.D; Arnold Rafael Romero, Ph.D. Codirector: Vladimir Plata Chavez, Chemical Engineer.

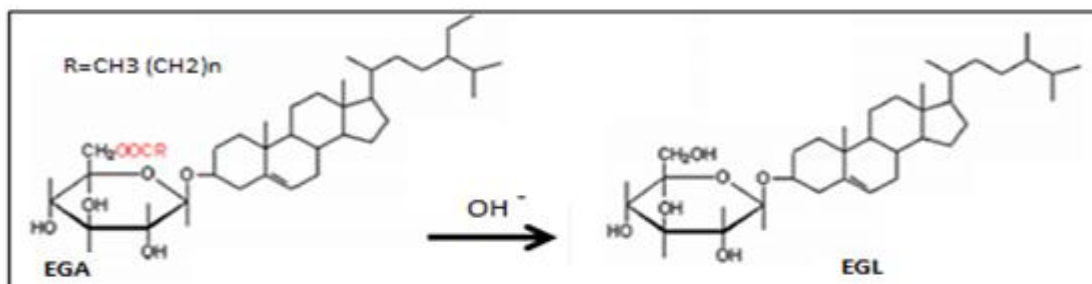
## 1. INTRODUCCIÓN

El interés en la producción de biodiesel ha incrementado considerablemente en los últimos años, lo que se debe principalmente a que presenta mejores propiedades físicoquímicas que el petrodiesel [1], se obtiene a partir de materia prima renovable [2] y según un estudio reportado por la Environmental Protection Agency (EPA) reduce la mayoría de emisiones contaminantes a la atmósfera [3,4]. Sin embargo, su uso se ha visto afectado por la formación excesiva de precipitados inclusive a temperaturas por encima de su punto de nube. Estos precipitados (a menudo nombrados como haze) se depositan en equipos como intercambiadores de calor y centrífugas aguas arriba de la zona de tanques de almacenamiento y en el fondo de éstos, lo que hace necesario su mantenimiento frecuente. De igual manera, estos precipitados pueden taponar los filtros de los motores, ocasionando problemas en el bombeo del combustible y mal funcionamiento del motor [5]. Por tanto, la formación de estos precipitados impide cumplir los estándares de calidad para el biodiesel establecidos por la Norma europea EN14214 y ASTM D6751.

Actualmente en Colombia funcionan siete plantas de producción de biodiesel que responden a la iniciativa del gobierno de implementar un programa nacional de biocombustibles que genere el desarrollo del sector agrícola, genere empleos permanentes, diversifique la canasta energética nacional y erradique cultivos ilícitos. No obstante, de no solucionarse la problemática anteriormente descrita se pone en riesgo la sostenibilidad de este programa.

La mayoría de estrategias que se han diseñado con el propósito de prevenir la formación de los precipitados y/o removerlos del biodiesel se ha centrado sobre todo en la modificación química y/o eliminación de los estéril glucósidos libres

(EGL), los cuales están presentes en el aceite precursor y pueden formarse a partir de los estéril glucósidos acilados (EGA) (presentes también en el aceite) durante la reacción de transesterificación tal como se aprecia en la Figura 1. Los EGL poseen una baja solubilidad en el biodiesel (56 ppm a 20 °C en biodiesel de palma africana [6]) razón por la cual se ha afirmado que actúan como semillas de nucleación de otros componentes minoritarios del biodiesel [7]. En este sentido, Lee y col. [8] redujeron los niveles de SG de 68 a 20 ppm por filtración a través de tierras diatomeas; Tang y col. [9] evaluaron técnicas como filtración a temperatura ambiente y a 4 °C, tratamiento con adsorbentes comerciales (tierras diatomeas, magnesol, carbón y silicato de magnesio), centrifugación, desgomado con agua y destilación al vacío; sin embargo, éstas técnicas han presentado como desventaja la reducción de la estabilidad oxidativa del biodiesel.



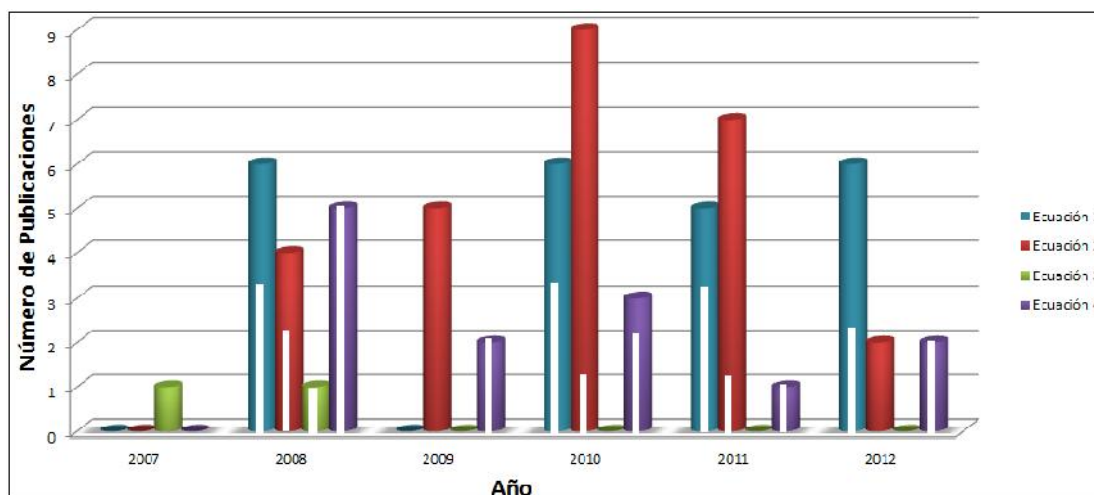
**Figura 1. Conversión de estéril glucósidos acilados a estéril glucósidos libres [5]**

De igual manera, se han patentado métodos para purificar el biodiesel. Sohling y col. [10] hicieron reaccionar biodiesel crudo con una mezcla de esmectita con sílica gel que logra disminuir considerablemente el contenido de EGL en el biodiesel; Borch [11] diseñó un método para reducir el contenido de estéril glucósidos (EG) en aceites vegetales y biodiesel que consistió en mezclar una o más enzimas como glicosidasa y/o  $\alpha$ -glucosidasa y/o amyloglucosidasa con el producto de forma que éstas fueran capaces de hidrolizar el enlace glucosídico de los EG y por tanto romperlo. Mundson y col. [12] utilizaron una o más columnas adsorbentes provistas de un adsorbente en polvo, granulado o extrusionado capaz

de regenerarse después de eliminar el contenido de EG, jabones y otras impurezas presentes en el biodiesel. Brask y col. [13] encontraron que la catálisis enzimática con lipasas capaces de acilar EGL es útil también para purificar el biodiesel. Sin embargo, estas técnicas pueden no evitar la formación de precipitados completamente, debido a que, como se expone más adelante, estudios realizados por otros autores han demostrado que éstos pueden no estar formados exclusivamente por EGL.

Con base en lo anterior se realizó este trabajo final de grado con el objetivo principal de caracterizar los precipitados que se forman en el biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A. (una de las principales plantas productoras de este biocombustible en Colombia), la cual se basó en la hipótesis de que los precipitados que se forman en este biodiesel además de contener EGL están compuestos por otro tipo de componentes.

Como punto de partida, se realizó un estudio cuantitativo empleando la base de datos Scopus; para ello se utilizaron cuatro ecuaciones de búsqueda que identificaron las publicaciones relacionadas con la formación de precipitados en el biodiesel. En la Figura 2 se aprecian los resultados de búsqueda desde el año en que se identificó esta problemática hasta la fecha. La barra blanca indica el número de publicaciones de interés para el desarrollo del trabajo final de grado.



**Figura 2. Número de publicaciones relacionadas con el tema de investigación registradas en la base de datos Scopus.** Período de observación: 2007-2012. **Ecuación 1.** Title-abs-key (biodiesel precipitates) **Ecuación 2.** Title-abs-key (biodiesel sediments) **Ecuación 3.** Title-abs-key (biodiesel haze) **Ecuación 4.** Title-abs-key (biodiesel steryl glucosides)

Se encontraron diferentes estudios cuyo interés principal era el de identificar la naturaleza de los precipitados formados en el biodiesel. Gran parte de las publicaciones de interés se encontraron empleando las palabras clave “biodiesel” y “steryl glucosides” (ecuación 4); esto resultó consistente con el hecho de que la formación de haze ha sido asociada principalmente con la presencia de EGL [14]. La ecuación de búsqueda 2 también fue de gran utilidad. Se encontraron artículos donde además de determinar la presencia de EGL, se identificaron otro tipo de compuestos. Tang y col. [9] reportaron esteroides libres y acilados en precipitados formados en biodiesel de semilla de algodón; McGinnis y Peyton [15] hallaron ácidos carboxílicos, alcoholes, aldehídos y cetonas en precipitados los formados en biodiesel de soya después de 12 semanas de almacenamiento a 43 °C; Lin y col. [16] reportaron presencia de jabones y glicerina en los precipitados formados en biodiesel de canola. En el caso de los estudios realizados para biodiesel de palma africana, se han presentado ciertas discrepancias en los resultados reportados para la composición de los precipitados. Bondioli y col. [17]

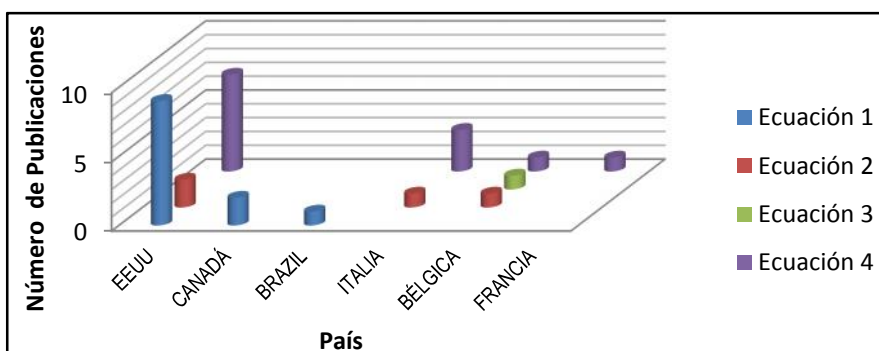
encontraron que estos precipitados correspondían a una mezcla de EGL, mientras que Tang y col. [18] los identificaron como una mezcla de monoglicéridos (MG). Este hecho fue atribuido a que las tecnologías empleadas para la producción del biodiesel no fueron las mismas.

Por otra parte, se encontraron artículos relacionados con la extracción, identificación y cuantificación de los componentes de los precipitados del biodiesel. Bondioli y col. [6] centrifugaron y posteriormente lavaron con hexano sólidos formados en biodiesel de soya, los cuales caracterizaron empleando espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés). Van Hoed y col. [5] purificaron la torta formada sobre filtros de trasiegos de biodiesel de palma africana y de soya mediante lavados sucesivos con hexano, acetona, metil-etil cetona e iso-octano y caracterizaron el sólido así producido utilizando resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés). Lacoste y col. [19] desarrollaron un método para cuantificar EGL y EGA en aceites vegetales y biodiesel; la purificación de los EGL y EGA fue llevada a cabo mediante cromatografía en columna (con sílica gel como fase estacionaria) y elución con solventes de polaridad creciente como éter de petróleo/dietil éter (87:13 vol/vol), dietil éter, cloroformo, acetona y metanol; la caracterización la realizaron por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID, por sus siglas en inglés).

Con base en lo anterior, se planteó una estrategia de fraccionamiento de los precipitados que se forman en el biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A., para su posterior caracterización. Esta estrategia incluyó la remoción inicial del biodiesel mediante centrifugación y lavado con hexano, la búsqueda de un disolvente de las muestras lavadas, su fraccionamiento mediante cromatografía en columna y la caracterización de las fracciones mediante cromatografía de capa fina (TLC, por sus siglas en inglés), FTIR, análisis

termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) y calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés).

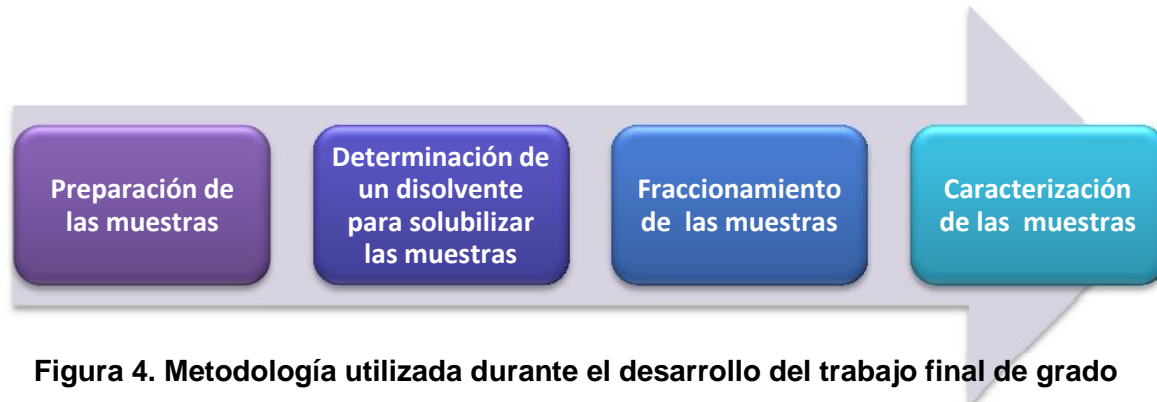
El estudio cuantitativo permitió además resaltar la importancia que tiene los resultados obtenidos en este trabajo final de grado para el país. De acuerdo con la Figura 3 gran parte de las investigaciones se han desarrollado en Estados Unidos lo que se interpreta como consecuencia de los grandes volúmenes de biodiesel que producen. Por el contrario, a pesar de que Colombia se perfila como uno de los países latinoamericanos con mayor proyección como productor de biodiesel, no se han publicado estudios referentes a esta problemática, por lo cual se puede afirmar que este trabajo final de grado es pionera en el país. Los resultados de este trabajo final de grado se consignaron en el artículo "*Fractionation and characterization of insolubles formed in palm biodiesel*", que será presentado en el 11th International Conference on Chemical & Process Engineering, con la posibilidad de ser publicado en la revista Chemical Engineering Transaction, ISSN 1974-9791, emitida por la Asociación Italiana de Ingeniería Química e indexada en Scopus y ISI Web of Knowledge. La carta de aceptación dada por el comité científico del evento se encuentra en el Anexo A.



**Figura 3. Número de publicaciones de interés, según el país de publicación registradas en la base de datos Scopus.** Período de observación: 2007-2012. Fecha de publicación: 12 julio 2012. Las ecuaciones 1, 2, 3 y 4 corresponden a las publicaciones de interés para el desarrollo del trabajo final de grado, representadas mediante barras blancas en la Figura 2

## 2. METODOLOGÍA

Con el fin de fraccionar y caracterizar los precipitados formados en el biodiesel de palma africana se desarrolló la metodología presentada en la Figura 4; las muestras que se analizaron se formaron en biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A., Una se tomó directamente del fondo de los tanques de almacenamiento después de 8 meses a aproximadamente 40 °C y la otra fue suministrada por el Instituto Colombiano del Petróleo y tomada de biodiesel turbio almacenado 1 mes a aproximadamente 20 °C en contenedores plásticos.



**Figura 4. Metodología utilizada durante el desarrollo del trabajo final de grado**

### 2.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras se lavaron empleando 10 ml de hexano por cada gramo de muestra, con el fin de remover el contenido de biodiesel presente en éstas. Inicialmente se agitó la mezcla en un Shaker Heidolph modelo Unimax 2010 a 300rpm durante 1 minuto; seguidamente se centrifugó a 2100 rpm durante 15 minutos a 25 °C, empleando una centrifuga Hettich modelo Universal 320R. Para retirar las trazas de hexano se llevó la muestra a un horno a 80 °C durante 30 minutos y finalmente se buscó homogenizar la muestra macerándola durante 1 hora. En el Anexo B se encuentra el procedimiento detallado para la preparación de la muestra. Este procedimiento fue utilizado por Lin y col. [16] en la preparación de material insoluble formado en biodiesel de canola, para su posterior caracterización.

## **2.2 DETERMINACIÓN DE UN DISOLVENTE PARA SOLUBILIZAR LOS SÓLIDOS EXTRAÍDOS**

Se realizaron diferentes pruebas de solubilidad con el fin de encontrar un disolvente ideal para solubilizar los sólidos y así llevar a cabo su posterior fraccionamiento. En cada caso se intentó disolver 1 mg de muestra en 1 ml de disolvente. Se emplearon solventes puros de grado analítico marca Honeywell y mezclas de solventes. Se probó en primer lugar adicionando las muestras en diclorometano por ser éste un disolvente utilizado ampliamente en la industria [20], luego se intentó solubilizar la muestra en etil acetato por su extensa utilización en TLC [21], posteriormente en una mezcla de tres solventes metanol:acetona:tolueno (1:1:1 vol/vol/vol), la cual es utilizada como fluido de lavado durante el desarrollo de la norma ASTM D7501 en el Instituto Colombiano del Petróleo (ICP-Ecopetrol); finalmente en una mezcla de cloroformo-metanol 85:15 (vol/vol) [14]. Para determinar el grado de solubilidad de las muestras en estos solventes se realizaron pruebas de turbidez utilizando un turbidímetro HACH modelo 2100Q, el cual se calibró con patrones certificados en el rango de 20 a 800 unidades neferométricas (NTU). Este registro se llevo a cabo tres veces para cada una de las mezclas, agitadas previamente.

## **2.3 FRACCIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

### **2.3.1 Determinación de solventes para fraccionamiento de las muestras mediante TLC**

Con el fin el determinar los solventes a utilizar en la cromatografía en columna, se realizaron pruebas preliminares de TLC. Estas pruebas se realizaron empleando placas de aluminio recubiertas con sílica gel (marca MERCK ref. no. 1.05554.000) y solventes puros o mezclas de solventes como fase móvil [22]. Se utilizó vapor de yodo como revelador de las placas. Inicialmente se empleó el método de anillos concéntricos; este método consiste en aplicar la muestra en diferentes puntos de la placa y posteriormente el solvente sobre cada uno de los puntos, extendiéndose

éste por capilaridad hacia afuera del punto de aplicación de la muestra. Si se forman anillos concéntricos, se puede concluir que el solvente es adecuado para el fraccionamiento de la muestra.

Los solventes que se utilizaron en orden ascendente de polaridad fueron: hexano (H), tolueno (T), diclorometano (DM), cloroformo (C), acetona (A), etil acetato (EA) y metanol (M). Para los casos donde se generaron anillos concéntricos, se realizaron pruebas de TLC convencionales. A diferencia de la técnica anterior, en esta técnica se aplica la muestra sobre un extremo de la placa y el eluyente asciende por capilaridad a lo largo de la misma generando una serie de manchas correspondientes a los componentes de la muestra.

### 2.3.2 Fraccionamiento de las muestras mediante cromatografía en columna

Una vez encontrados los solventes apropiados para el fraccionamiento de las muestras, se realizó el montaje en una columna de vidrio de 70 x 3 cm, empacada con 55 g aproximadamente de sílica gel 60 (0,063-0,200 mm, MERCK ref no. 1.07734.1000), previamente activada en un horno a 80 °C durante 4 h. Se adicionaron aproximadamente 2 g de sílica gel a 1 g de muestra disuelta en una solución cloroformo/metanol (85:15 vol/vol); la mezcla así formada se rotoevaporó a 40 °C bajo 700 mbar de vacío hasta retirar el solvente y se depositó el sólido seco en la columna empacada. En el Anexo C se encuentra en forma detallada la secuencia para realizar el montaje de la columna.

Posteriormente, se eluyó la columna con los solventes encontrados en las pruebas de TLC. Los solventes que eluían de la misma se recogieron en tubos de ensayo de 15 ml; simultáneamente se realizó seguimiento del fraccionamiento mediante TLC con el fin de agrupar los tubos en los cuales se recogía una misma fracción. Seguidamente, las fracciones recogidas se rotoevaporaron a 40 °C bajo 400 mbar de vacío en un rotoevaporador marca Büchi modelo Rotavapor R-200. Una vez eliminada la mayor cantidad de solvente posible se determinó la masa de las fracciones recogidas.

## 2.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

Con el fin de identificar la composición de las muestras suministradas, se procedió a la caracterización de las fracciones extraídas, comparando los resultados obtenidos con estándares certificados de monopalmitina (MP) (pureza >99 %) obtenido de Sigma-Aldrich y de una mezcla de EGL (pureza >98 %, sitosteril glucósido, campesterol glucósido y estigmasteril glucósido) obtenido de Matreya.

### 2.4.1 Caracterización por TLC

La caracterización por TLC se realizó aplicando sobre placas de aluminio de 4 x 4 cm las muestras Hz1, Hz2, las fracciones extraídas y los estándares de monopalmitina y EGL previamente disueltos en cloroformo/metanol (85:15 vol/vol). Se emplearon como eluyentes hexano/etil acetato (1:1 vol/vol) y etil acetato/metanol (10:1 vol/vol). Ambas placas se revelaron con vapor de yodo.

### 2.4.2 Caracterización por FTIR

Para la caracterización de las muestras por FTIR se utilizó un espectrómetro Bruker modelo Tensor 27 equipado con un atenuador de reflectancia total dotado de cristal de diamante. Los espectros se obtuvieron en el rango de 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ , empleando un promedio de 16 escáneres y aire como background.

### 2.4.3 Caracterización por TGA

El análisis por TGA de las muestras se llevó a cabo un equipo TA instrument modelo TGA Q2050 con cápsula de platino. Se empleó una velocidad de calentamiento de temperatura de 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta 750  $^{\circ}\text{C}$  y nitrógeno como gas de purga con un flujo de 50 ml/min.

### 2.4.3 Caracterización por DSC

El análisis de las muestras por DSC se llevó a cabo en un equipo TA instrument modelo DSC Q10, equipado con sistema de refrigeración; se utilizó nitrógeno como gas de purga con un flujo de 50 ml/min y una rampa de temperatura de 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Las muestras se sellaron en cápsulas de aluminio Tzero y se usó una cápsula vacía como referencia. En el Anexo D se encuentran las condiciones a las cuales se realizaron estos análisis.

### 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

#### 3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los sólidos extraídos después de remover el biodiesel de las muestras suministradas por Ecodiesel Colombia S.A., y el ICP-Ecopetrol se denominaron Hz1 y Hz2, respectivamente. El rendimiento obtenido en la extracción de la muestra Hz1 fue aproximadamente la mitad del obtenido para la muestra Hz2, siendo éste último inferior al 14 %; esto llevó a realizar varias extracciones con el fin de obtener una cantidad considerable de cada una de las muestras para su posterior fraccionamiento. Como se observa en la Figura 5 los sólidos extraídos presentaron aspectos diferentes: Hz1 presentó un color opaco y textura pastosa, mientras que Hz2 se caracterizó por tener un color blanco brillante y textura suave. Lo anterior sugirió que las muestras tenían composiciones diferentes. Esta conjetura coincidió con lo reportado por Moreau y col [14] quienes al analizar muestras de precipitados tomadas de diferentes puntos a lo largo de la cadena de producción, transporte y almacenamiento de biodiesel de soya, encontraron que su composición variaba según el punto de toma de la muestra, revelando además concentraciones de EGL de hasta 68% en peso del material inicial.

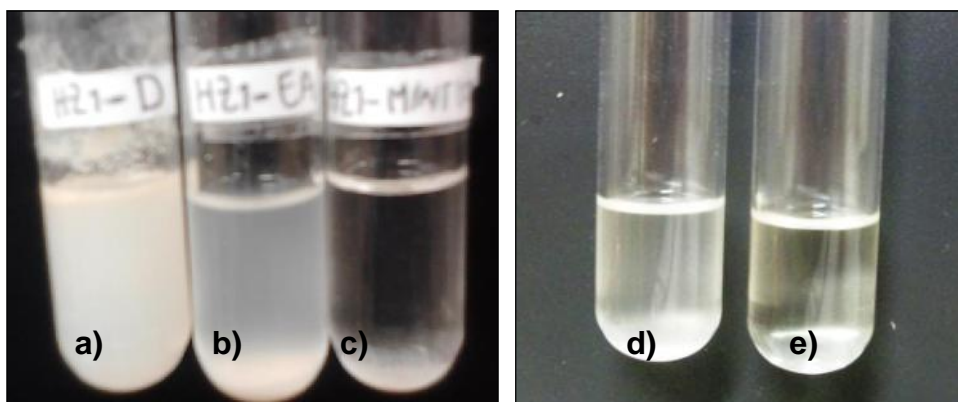


**Figura 5. Sólidos extraídos: Hz1 (derecha) y Hz2 (izquierda)**

### 3.2 DETERMINACIÓN DE UN DISOLVENTE PARA SOLUBILIZAR LOS SÓLIDOS EXTRAÍDOS

Al adicionar Hz1 en diclorometano se formó una suspensión lechosa con presencia de grumos en su superficie (ver Figura 6) cuya turbidez promedio fue mayor a 130 NTU. Posteriormente se trató de solubilizar empleando etil acetato. Se observó una suspensión lechosa con precipitados en el fondo cuya turbidez promedio superó las 100 NTU. Al emplear metanol/acetona/tolueno (1:1:1 vol/vol/vol) como disolvente, gran cantidad de la muestra se depositó en el fondo. Se utilizó finalmente la mezcla de cloroformo/metanol (85:15 vol/vol), con la cual se obtuvo una menor turbidez (inferior a 60 NTU). Con el propósito de disminuir este valor, se prepararon mezclas de menor concentración, lográndose reducir la turbidez promedio hasta aproximadamente 10 NTU para 0,25 mg/ml. La curva de turbidez para las diferentes concentraciones se encuentra en el Anexo E.

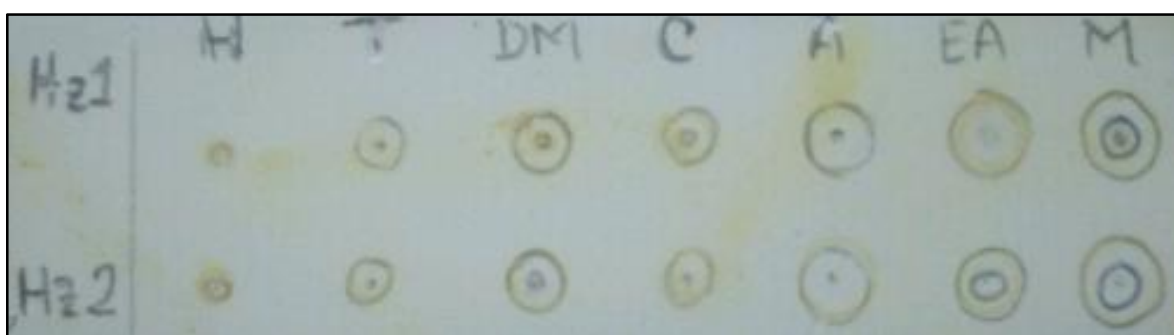
En el caso de Hz2, utilizando el mismo disolvente y la misma concentración que para Hz1, se observó una mezcla translúcida cuya turbidez promedio no superó los 1,4 NTU, con lo cual se seleccionó la mezcla cloroformo/metanol (85:15 vol/vol) como la ideal para la disolución de ambas muestras.



**Figura 6. Suspensiones formadas al adicionar Hz1 a) diclorometano puro, b) etil acetato puro y c) mezcla de metanol/acetona/tolueno. Suspensiones formadas con cloroformo/metanol (85:15 vol/vol) para d) Hz1, e) Hz2**

### 3.3 FRACCIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Estos resultados permitieron establecer que H puro es incapaz de ocasionar un fraccionamiento de las muestras, que con T, DM, C y A puros se produce la separación de una fracción que es arrastrada completamente por el frente de solvente, quedando parte de la muestra en el punto de aplicación, que EA puro ocasiona la separación de dos fracciones de Hz2 y que M puro ocasiona fraccionamiento de ambas muestras. En la Figura 7 se aprecian dichos resultados.



**Figura 7. Prueba TLC anillos concéntricos para Hz1 Y Hz2**

Con el fin de determinar la mezcla de solventes que permitiera una mejor separación de los componentes presentes en las muestras, se eluyó inicialmente una placa sobre la que se aplicó la muestra Hz2 con una mezcla H/EA (10:1 vol/vol). Después de revelar la placa con yodo se observó que la mezcla permaneció en el punto de aplicación, por lo que decidió incrementar la polaridad del eluyente. Los sistemas eluyentes empleados fueron H/EA (5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:10 vol/vol), EA/M (10:1, 5:1, 1:1 vol/vol) y M puro.

El primer resultado favorable para el fraccionamiento de la muestra Hz2 resultó al emplear como eluyente la mezcla H/EA (1:1 vol/vol); se observó que una primera fracción se ubicó a un  $R_f$  cercano a 0,29, además de permanecer parte de la muestra en el punto de aplicación. Cuando se eluyó la placa con la mezcla EA/M (10:1 vol/vol) se reveló una segunda fracción a un  $R_f$  de aproximadamente 0,67 y

la fracción que se separó con la mezcla H/EA (1:1 vol/vol) se ubicó a un  $R_f$  cercano a 0,9; también se observó muestra remanente en el punto de aplicación.

Para la muestra Hz1 se encontró que al eluir la placa con la mezcla H/EA (10:1 vol/vol) la muestra permaneció en el punto de aplicación, lo cual coincidió con los resultados obtenidos para la muestra Hz2. Al utilizar la mezcla H/EA (1:1 vol/ vol), la muestra tampoco se desplazó de su punto de aplicación, razón por la cual se continuó aumentando la polaridad del eluyente empleando una mezcla EA/M (10:1 vol/vol). Con esta mezcla se logró separar una fracción ubicada a un  $R_f$  cercano a 0,67, punto similar al encontrado con la muestra Hz2 después de eluir la placa con el mismo eluyente. Estos resultados mostraron la posibilidad de extraer al menos una fracción de la muestra Hz1, y dos fracciones de la muestra Hz2. Por otra parte, las placas eluídas con EA /M (10:1 vol/vol) sugirieron la presencia de un mismo componente en ambas muestras. En el Anexo F se encuentran los sistemas eluyentes empleados para el fraccionamiento de cada una de las muestras.

De la muestra Hz1 se logró extraer una fracción que se denominó F1Hz1, mientras que de la muestra Hz2 se lograron aislar 2 fracciones que se denominaron F1Hz2 F2Hz2. En la Tabla 1 se encuentran las fracciones extraídas en cada una de las muestras y un porcentaje promedio de cada fracción extraída después de varios fraccionamientos.

**Tabla 1. Porcentajes de las fracciones extraídas en las muestras Hz1 Y Hz2.**

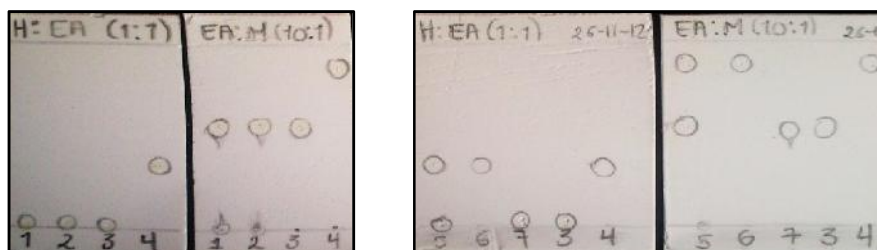
<b>Muestra</b>	<b>Fracciones extraídas</b>	<b>Porcentaje promedio.</b>
Hz1	F1Hz1	73,74%
Hz2	F1Hz2	75,68%
	F2Hz2	12,25%

### 3.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

#### 3.4.1 Caracterización de las muestras por TLC

En primera instancia la muestra Hz1, la fracción F1Hz1, el estándar de EGL y el de MP se aplicaron en dos placas de aluminio. La primera placa se eluyó con H/EA (1:1 vol/vol). Al ser revelada con vapor de yodo, el estándar de MP se ubicó a un  $R_f$  cercano a 0,3 mientras que las demás muestras no se desplazaron de su punto de aplicación. La segunda placa se eluyó con EA/M (10:1 vol/vol); en este caso el estándar de MP se desplazó a un  $R_f$  cercano a 0,9, mientras que el estándar de EGL, Hz1 y F1Hz1 se ubicaron a un  $R_f$  cercano a 0,6. En el punto de aplicación de Hz1 se observó muestra sin eluir.

En otras dos placas se aplicó la muestra Hz2, las fracciones F1Hz2 y F2Hz2 y los estándares de EGL y MP. Al eluir la placa con H/EA (1:1 vol/vol) se encontró que F2Hz2 y el estándar de EGL no se desplazaron del punto de aplicación mientras que Hz2, F1Hz2 y el estándar de MP se ubicaron a un  $R_f$  cercano a 0,3. Al eluir la placa con EA/M (10:1 vol/vol) se observó que el  $R_f$  de Hz2, de F1Hz2 y del estándar de MP se aproximó a 0,9; también se observó la aparición de un nuevo punto para Hz2 a un  $R_f$  cercano a 0,6 además de muestra en el punto de aplicación. F2Hz2 y el estándar de EGL, por su parte, se desplazaron a un  $R_f$  cercano a 0,6. Los resultados se aprecian en la Figura 8.



**Figura 8. Resultados de la caracterización por TLC; 1. Hz1 2. F1Hz1 3. EGL 4. MP 5. Hz2 6. F1Hz2 7. F2Hz2**

Estos resultados corroboraron la conjetura de que las composiciones de Hz1 y Hz2 eran diferentes y sugirieron que Hz1 contenía EGL, mientras que Hz2 estaba compuesta tanto de MG como de EGL.

### 3.4.2 Caracterización de las muestras FTIR

El estándar de MP y la muestra F1Hz2 presentaron un espectro FTIR similar (ver Figura 9). En ambos casos se observó un doblete a un número de onda de 3296  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento del grupo OH, dos picos agudos en 2915 y 2849  $\text{cm}^{-1}$  propios del estiramiento del grupo  $\text{CH}_2$  en ésteres de cadena hidrocarbonada larga; también se registró un pico agudo e intenso a un número de onda de 1730  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento del enlace  $\text{C}=\text{O}$  del grupo carboxilo y un pico agudo e intenso en 720  $\text{cm}^{-1}$  propio de la flexión rocking del grupo  $\text{CH}_2$  en ésteres de cadena hidrocarbonada larga. En la zona denominada “huella dactilar” del espectro (1300-900  $\text{cm}^{-1}$ ), se observó una serie de picos característicos de las flexión fuera del plano del grupo  $\text{CH}_2$  y un pico agudo en 1176  $\text{cm}^{-1}$  característico de la flexión asimétrica del grupo  $\text{O}-\text{C}-\text{C}$ . Estos resultados coincidieron con los reportados por Tang y col. [18] y corroboraron la conjetura de que Hz2 estaba compuesta por MG.

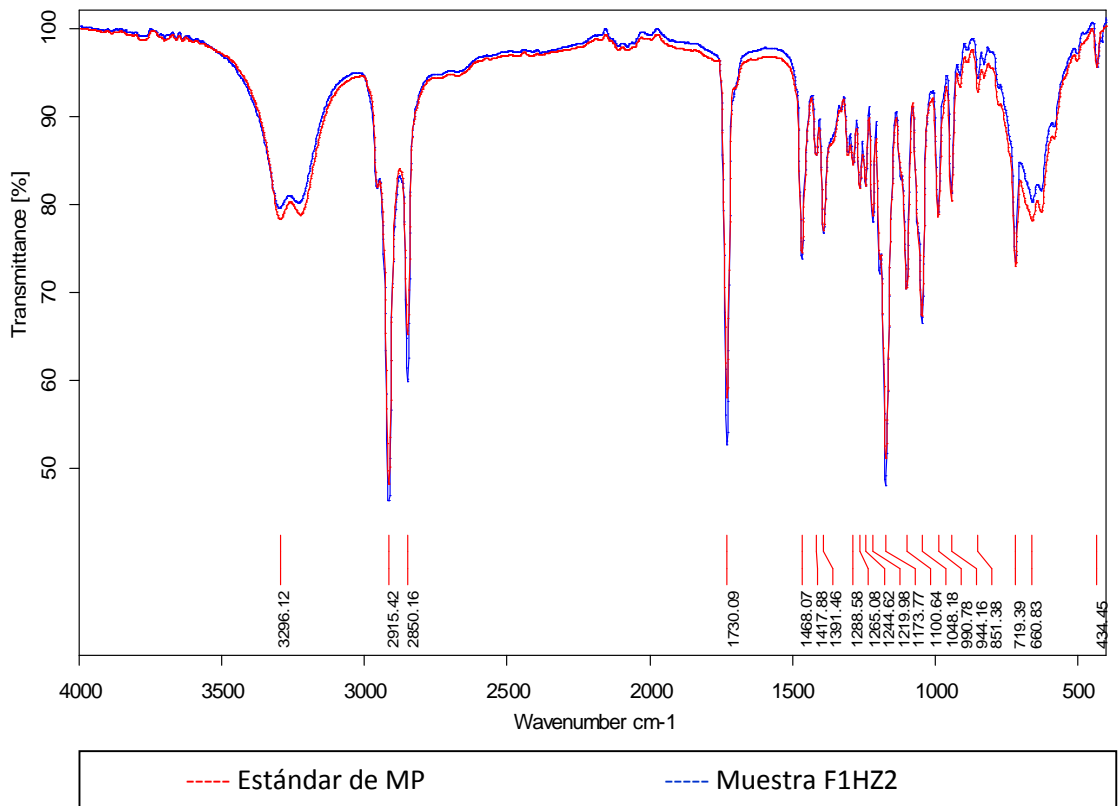
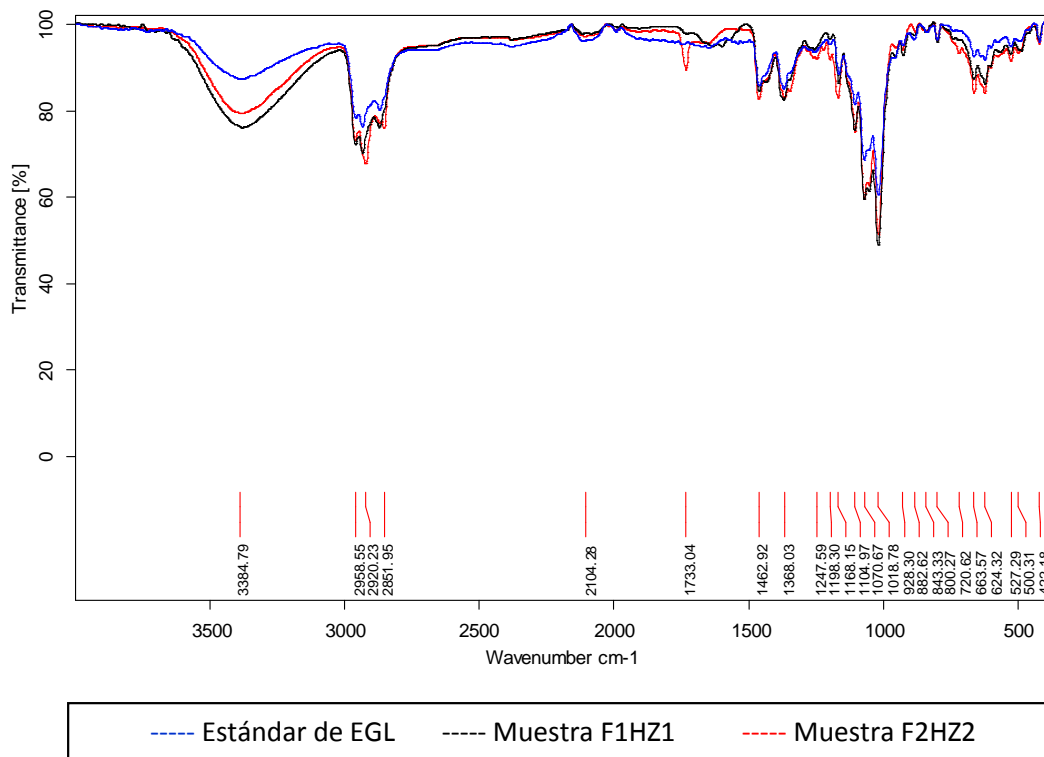


Figura 9. Espectros superpuestos del estándar de MP y de la fracción F1Hz2

Como en el caso anterior, los espectros FTIR de las fracciones F1Hz1 y F2Hz2 y el del estándar de EGL fueron muy similares (ver Figura 10). En los tres espectros se registró un pico ancho en  $3379\text{ cm}^{-1}$  propio del estiramiento del grupo OH, dos picos agudos en  $2920$  y  $2849\text{ cm}^{-1}$  propios del estiramiento asimétrico y simétrico del grupo  $\text{CH}_2$  en ésteres de cadena hidrocarbonada larga, respectivamente; un pico propio de la flexión scissoring del grupo  $\text{CH}_2$  en  $1461\text{ cm}^{-1}$  y otro correspondiente a la flexión simétrica del grupo  $\text{CH}_3$  en  $1370\text{ cm}^{-1}$ . Asimismo, se observaron picos en números de onda de  $1165$ ,  $1106$ ,  $1070$  y  $1018\text{ cm}^{-1}$  atribuibles al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo C–O–C y al estiramiento asimétrico del grupo O–C–C, todos característicos de los EGL. Estos resultados coincidieron con los reportados por Bondioli y col. [17] y corroboraron la conjetura de que Hz1 estaba compuesta por EGL. Al mismo tiempo, evidenciaban que la composición de los precipitados que se forman en el biodiesel no depende exclusivamente de la materia prima ni del tipo de procesamiento (refinación-transesterificación) al que se someta dicha materia prima (como lo argumentaron en su momento Tang y col. [18]), sino también de las condiciones a las que se someta el biodiesel después de producido. Una posible explicación al hecho de que Hz1 no esté compuesta de MG puede ser que a  $40\text{ }^\circ\text{C}$  estos compuestos son solubles en el biodiesel de palma africana mientras que a  $20\text{ }^\circ\text{C}$  no.

En el espectro de F2Hz2 se registró un pico adicional a un número de onda de  $1731\text{ cm}^{-1}$ , lo cual sugirió la presencia de EGA. Estos compuestos demostraron que pueden eluir conjuntamente con los EGL cuando se fraccionan sólidos aislados de muestras de biodiesel de soya y de palma africana utilizando cromatografía en columna [5], y según lo reportado recientemente por Haupt y col. [23] influyen sobre la filtrabilidad del biodiesel y por tanto es de esperarse que estén presentes en el hazo. De la misma manera que en el párrafo anterior, la presencia de EGA en F2Hz2 y su ausencia en F1Hz1 puede obedecer a diferencias en la solubilidad de estos compuestos en el biodiesel de palma africana con la temperatura.



**Figura 10. Espectros superpuestos de las fracciones F1Hz1 y F2Hz2 y del estándar de EGL.**

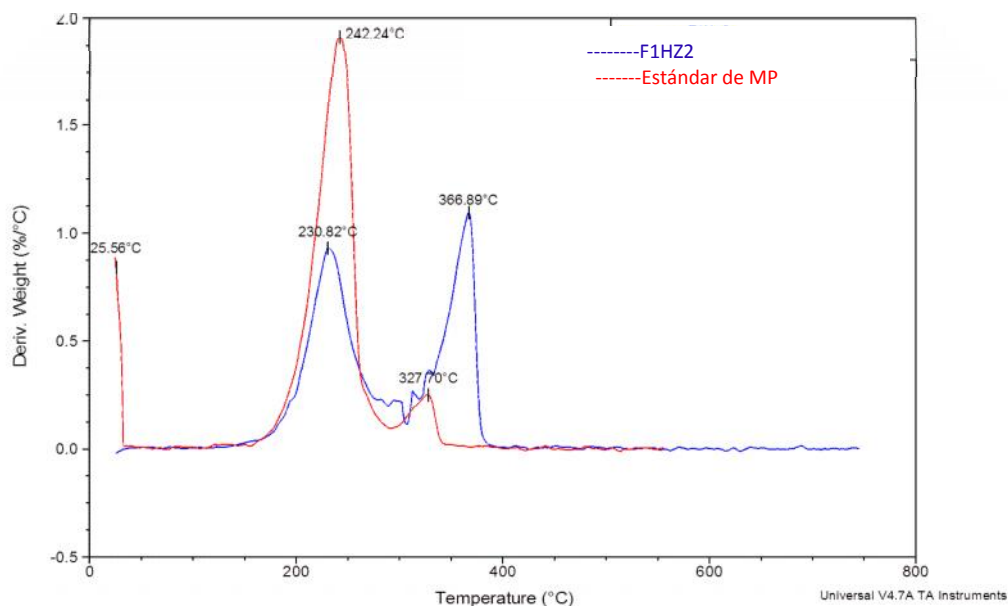
Al superponer el espectro de la muestra Hz1 y el de la fracción F1Hz1 (ver Anexo G), se observó que Hz1 registró dos picos adicionales a un número de onda de  $1726\text{ cm}^{-1}$  y  $1604\text{ cm}^{-1}$ , el primero propio del estiramiento del enlace C=O en el grupo carboxilo y el segundo atribuible al estiramiento scissoring de los dos enlaces C–O presentes en el grupo carboxilato y característico de jabones de ácidos grasos de cadena hidrocarbonada larga. Estos resultados coincidieron con lo reportado por Gasperini y col. [24] quienes en su estudio de clasificación de grasas mediante FTIR encontraron picos en el rango de  $1650\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$  en los espectros jabones de este tipo. Estos resultados plantearon la hipótesis que Hz1 además de contener EGL contenía jabones de ácidos grasos de cadena hidrocarbonada larga. Lo anterior llevó a la realización de una prueba de tensoactivos en el laboratorio de consultas industriales de la Universidad Industrial de Santander, en la que 3 g de esta muestra se adicionaron a 100 ml de agua

destilada. La mezcla formada se dejó en agitación a 300 rpm durante 24 h y posteriormente en reposo durante 3 h. Finalmente se separó el sobrenadante para su análisis, el cual se basó en la norma de determinación de sustancias activas al azul de metileno (SAAM) en aguas naturales, potables, y residuales. En el Anexo H se encuentra el informe de resultados que confirma la presencia de tensoactivos tipo carboxilatos con una concentración de  $4,86 \cdot 10^{-3}$  mg/g de muestra analizada. Por otra parte, al superponer el espectro de la muestra Hz2 y sus respectivas fracciones, no se observaron picos adicionales a los registrados para las fracciones (ver Anexo I).

### 3.4.3 Caracterización de las muestras por TGA

Se compararon los termogramas obtenidos mediante TGA para las fracciones F1Hz1, F1Hz2 y F2Hz2 con los obtenidos para los estándares de MP y EGL. Como era de esperarse, F1Hz2 presentó un comportamiento térmico similar al del estándar de MP (ver Figura 11). En ambos casos se obtuvo como resultado dos pérdidas de masa significativas. Para el caso del estándar de MP estas pérdidas correspondieron al 82,22 % a 242,24 °C y al 11,79 % a 327,70 °C, mientras que para F1Hz2 dichas pérdidas correspondieron al 52,92 % a 230,82 °C y al 44,23 % a 366,89 °C. De acuerdo con la literatura [25], la primera pérdida de masa que experimentó el estándar de MP puede asociarse con la volatilización que presentan los MG a temperaturas entre 150 y 300 °C, mientras que la segunda pérdida de masa puede atribuirse a la descomposición del complejo formado por las moléculas de MP cuando se someten a altas temperaturas. De manera análoga, las pérdidas de masa que experimentó F1Hz2 pueden asociarse con la volatilización y descomposición de los MG presentes en ella, lo cual coincide con lo reportado por Fernández y col. [26], quienes analizaron por TGA muestras de precipitados formados en biodiesel de sebo y registraron dos pérdidas de masa entre 64-83 %, la primera, y 36-17 %, la segunda.

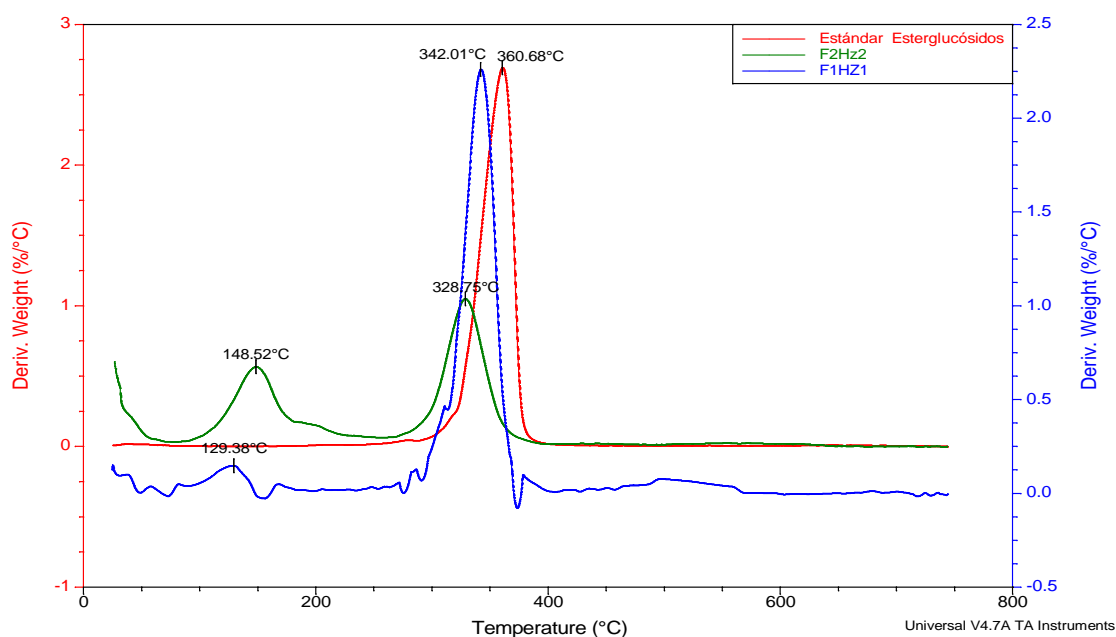
Las discrepancias encontradas al comparar los termogramas se pueden atribuir principalmente a que F1Hz2 puede no sólo estar compuesta de MP sino además de otro tipo de monoglicéridos como monoestearina, presente también en el biodiesel de palma africana.



**Figura 11. Superposición de la derivada de la pérdida de masa con respecto a la temperatura de la muestra F1Hz2 y del estándar de MP**

Por otra parte, el comportamiento térmico de las fracciones F1Hz1 y F2Hz2 se caracterizó por una primera pérdida de masa que puede atribuirse a la volatilización de solvente remanente en las fracciones, dada la temperatura a la cual ocurrió este evento térmico, y una pérdida de masa igual al 85,52 % a 342,01 °C para el caso de F1Hz1 e igual al 59,87 % a 328,75 °C para el caso de F2Hz2, que puede asociarse con la pérdida de masa del 92,33 % que experimentó el estándar de EGL a 360,68 °C (ver Figura 12). Este resultado resultó consistente con lo reportado por Van Gerpen y col. [27] para precipitados formados en biodiesel de canola purificados mediante lavados sucesivamente con tetrahidrofurano y etanol anhidro. Después de establecer mediante NMR y MALDI-TOF que consistían en una mezcla de EGL de alta pureza, encontraron que esta mezcla de EGL sólo presentaba una pérdida de masa del 93,66 % a 308,34 °C.

Esta pérdida de masa fue atribuida a la descomposición térmica que los EGL pueden experimentar a temperaturas mayores que 250 °C. F1Hz1 y F2Hz2 experimentaron una pérdida de masa adicional del 5,50 % a 129,38 y del 27,62 % a 148,52 °C que puede atribuirse a la presencia de EGA en esta fracción. Estos compuestos poseen puntos de fusión (197-200 °C) menores que los de los EGL (250-310 °C) [5] y es posible que experimenten fusión seguida de descomposición térmica de manera análoga a los EGL. Este resultado corrobora lo mencionado en el análisis FTIR sobre la presencia de EGA en esta fracción.

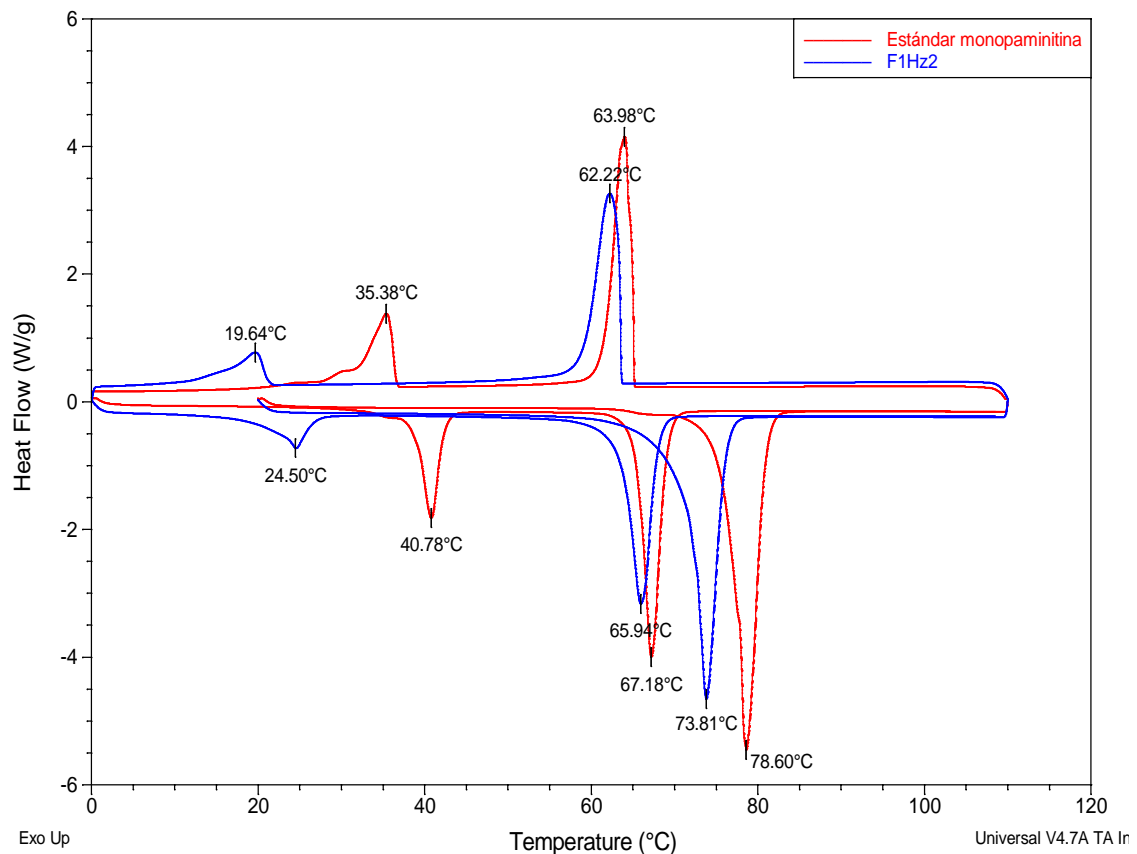


**Figura 12. Derivada de la pérdida de masa con respecto a la temperatura para las muestras F1Hz1, F2Hz2 y el EGL**

#### 3.4.4 Caracterización de las muestras por DSC

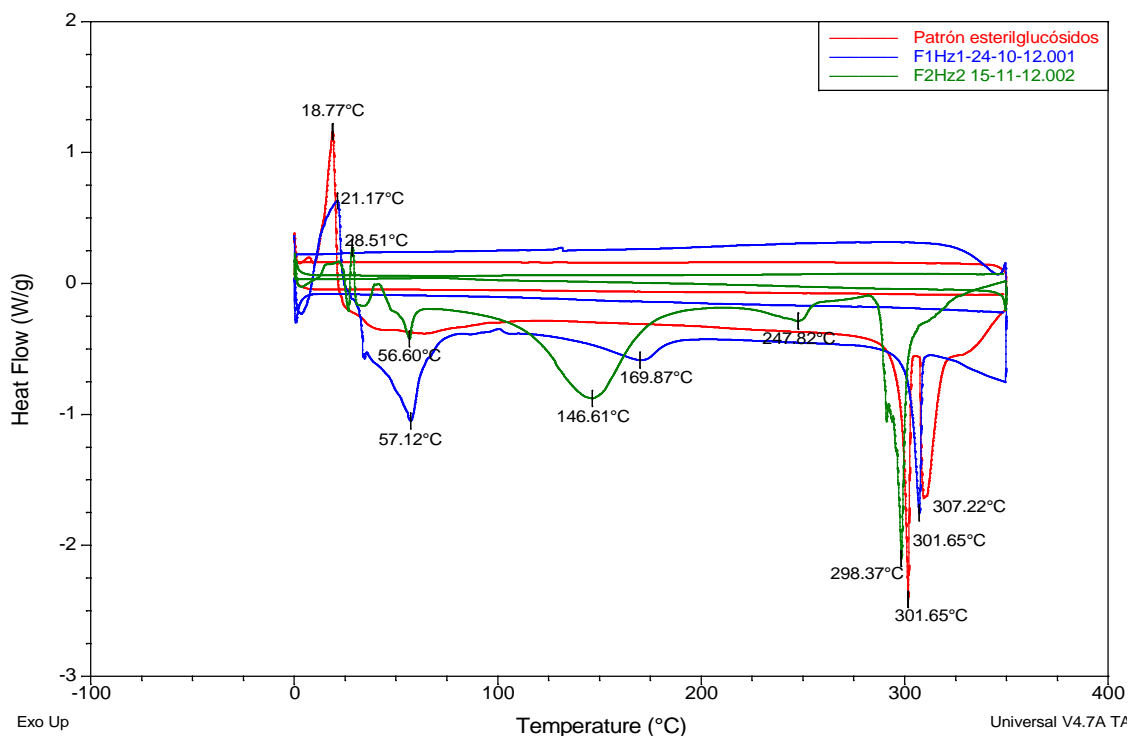
Se compararon los termogramas obtenidos mediante DSC para las fracciones F1Hz1, F2Hz2 y F2Hz2 con los obtenidos para los estándares de MP y EGL. Como era de esperarse, F1Hz2 presentó un comportamiento térmico similar al del estándar de MP (ver Figura 13). En ambos casos durante el primer calentamiento se presentó un pico endotérmico a 73,81°C para muestra F1Hz2 y a 78,6 °C para el estándar de MP. Según lo reportado en la literatura [28] estos picos

corresponden al punto de fusión de la forma de la MP, la cual es la forma cristalina más estable de los MG saturados. Es bien sabido que estos compuestos presentan polimorfismo, y por tanto pueden cristalizar en tres formas cristalinas distintas, denominadas sub-, y , dependiendo de las condiciones de cristalización [29]. Asimismo, durante la etapa de enfriamiento, se registraron dos picos exotérmicos a 62,22 °C y 19,64 °C para la muestra F1Hz2 y a 63,98 °C y 35,38 °C para el estándar de MP. Estos picos corresponden a la cristalización de la forma y la forma sub- de la MP, respectivamente, de acuerdo con lo reportado en la literatura [28]. Finalmente, durante el segundo calentamiento, se registraron dos picos endotérmicos a 24,5 °C y 65,94 °C para F1Hz1 y a 40,78 °C y 67,18 °C para el estándar de MP. Estos picos corresponden a la fusión de la forma sub- y la forma de la MP, respectivamente.



**Figura 13. Superposición de los termogramas obtenidos mediante DSC para la muestra F1Hz2 y del estándar de MP**

El comportamiento térmico de F1Hz1 y F2Hz2 resultó similar como se observa en la Figura 14. En ambos casos durante el primer calentamiento se registró un primer evento térmico endotérmico en 57,12 °C y en 56,60 °C para F1Hz1 y F2Hz2, respectivamente, que ya se había atribuido a la volatilización de solvente remanente en las fracciones, y un segundo evento térmico endotérmico en 169,87 °C y en 146,61°C, el cual ya se había atribuido a la posible fusión acompañada de degradación de EGA presentes en ambas fracciones. Asimismo, se registró un tercer evento térmico endotérmico en 301,65 °C y en 298,37°C para F1Hz1 y F2Hz2, respectivamente, el cual coincide con el presentado por el estándar de EGL entre 301 y 307 °C. Para ambas fracciones y para el estándar de EGL no se evidenciaron eventos térmicos al disminuir su temperatura hasta 0 °C y posteriormente aumentarla hasta 310 °C después del primer calentamiento. Según Van Gerpen y col. [27] esta ausencia evidencia la descomposición térmica que experimentan los EGL al superar los 250 °C.



**Figura 14. Superposición de los termogramas obtenidos mediante DSC para la muestra F1Hz1, F2Hz2 y del estándar de EGL**

Los resultados anteriores, obtenidos del análisis calorimétrico de las fracciones F1Hz1, F1Hz2y F2Hz2, y de los estándares de MP y EGL, confirmaron la conjetura de que HZ1 contenía EGL principalmente, y de que Hz2 estaba compuesta tanto de MG como de EGL principalmente, y plantean la necesidad de rediseñar las estrategias que se están utilizando actualmente con el propósito de prevenir la formación de los precipitados y/o removerlos del biodiesel (centradas sobre todo en la modificación química y/o eliminación de los EGL), de tal forma que incorporen la eliminación de todos o algunos de los otros componentes minoritarios identificados en este estudio, previo estudio de la significancia estadística de estos componentes sobre la formación de precipitados en biodiesel.

## CONCLUSIONES

El fraccionamiento y caracterización de los precipitados formados en biodiesel de palma africana producido en Ecodiesel Colombia S.A., permitió concluir:

Los precipitados formados en el biodiesel de palma almacenado durante 8 meses a 40°C contienen principalmente estéril glucósidos libres, mientras que los precipitados formados en biodiesel turbio almacenado durante 1 mes a 20°C contienen además de estéril glucósidos libres, monoglicéridos saturados en mayor proporción y posiblemente estéril glucósidos acilados y jabones.

La composición de los precipitados que se forman en el biodiesel no depende exclusivamente de la materia prima ni del tipo de procesamiento (refinación-transesterificación) al que se someta dicha materia prima, sino también de las condiciones a las que se someta el biodiesel después de producido.

El haze no está formado exclusivamente por estéril glucósidos libres, y por tanto las estrategias diseñadas para prevenir su formación mediante la remoción de estos compuestos del biodiesel deberían ser rediseñadas con el fin de incorporar la eliminación de otros componentes minoritarios del biodiesel como los monoglicéridos saturados.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda la evaluación estadística de la influencia de la concentración de los componentes minoritarios identificados en este estudio sobre la formación de haze en biodiesel de palma africana, de tal forma que se concentren los esfuerzos en el control de aquellos que resulten perjudicialmente influyentes.

## BIBLIOGRAFÍA

AVELLANEDA, F. "Producción y caracterización de biodiesel de palma y de aceite reciclado mediante un proceso batch y un proceso continuo con un reactor helicoidal". Tarragona, 2010. Tesis doctoral. Universitat Rovira I Virgili, Departamento de ingeniería química. [4]

BONDIOLI, P. CORTESI, N. MARIANI, C. "Identification and quantification of steryl glucosides in biodiesel", *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2008, vol 110, p. 120-126. [6]

BONDIOLI, P. CORTESI, N. MARIANI, C. "Nature of some insoluble materials recovered from biodiesel samples". *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2009, vol 110, p. 120-126. [17]

BORCH J. A method for reducing the amount of steryl glycoside in and oil or fat and/or a biofuel, US Patent Appl. 20110173876; Julio 21, 2011. [11]

BOYD, D. "Efectos morfológicos y funcionales observados en ratones, tras la inhalación de diclorometano". *Toxicología aplicada*. 1972, vol 23, p. 660-679. [20]

BRASK, J. MUNK, P. Enzymatic removal of steryl glycosides in fatty acid alkyl esters, US Patent Appl. 20120009659; Junio 12, 2012. [13]

DUNN R. "Effects of minor constituents on cold flow properties and performance of biodiesel". *Progress in Energy and Combustion Science*. 2009, vol 35, p. 481-489. [7]

Environmental Protection Agency (EPA). "US EPA quantifies emission effects of biodiesel". United States. 2002. Disponible en

< <http://www.dieselnet.com/news/2002/11epa.php>> Fecha de consulta: 10 de agosto, 2012. [3]

FERNANDES, V. DE SOUSA, A. “Caracterização de resíduo sólido formado em biodiesel de sebo bovino”. Química Nova. 2012, vol 35. p. 1901-1906. [26]

FRÖMMING, K. SZEJTLI, J. “ Cyclodextrins in pharmacy, Topics in inclusion science. 1 ed. Dordrecht, The Netherlands”. 1993. vol 42, p. 89-92. [25]

GASPERINI, G. Fusari, E. Della, L. Bondioli, P. “Classification of feeding fats by FTIR spectroscopy”. European Journal of Lipid Science and Technology. 2007, vol 109, p. 673-681. [24]

HAUPT, J. “Steryl Glucoside Content in Vegetable Oils as a Risk for the LACOSTE, F. DEJEAN, F. GRIFFON, H. ROUQUETTE, C. “Quantification of free and esterified steryl glucosides in vegetable oils and biodiesel”. European Journal of Lipid Science and Technology. 2009, vol 111, p. 822-828. [19]

LEE, I. JOHNSON, L. HAMMOND, E. “Use of branched-chain esters to reduce the crystallization temperature of biodiesel”. Journal of the American Oil Chemists Society. 1995, vol 72, p. 1155-1160. [1]

LEE, I. PFALZGRAF, L. POPPE, B. POWERS, E. HAINES, T. The role of sterol glucosides on filter plugging, US Patent Appl. 2011095249; Abril, 2007. [8]

LIN, H. HAAGENSON, D. WIESENBORN, D. PRYOR, S. “Effect of trace contaminants on cold soak filterability of canola biodiesel”. Fuel. 2011, vol 90, p. 1771–1777. [16]

LIN, L. DONG, Y. SUMPUN, C. SARITPORN, V. “Biodiesel production from crude rice bran oil and properties as fuel”. Applied energy. 2009, vol 86, p. 681-688. [2]

MCGINNIS, T. PEYTON, K. “Analytical characterization of sediment formed in soy oil-based B20 biodiesel”, Journal of ASTM International. 2010, vol 7, No.8. [15]

MOREAU, R. SCOTT, K. HAAS, M. "The identification and quantification of steryl glucosides in precipitates from comercial biodiesel" ". Journal of the American Oil Chemists Society. 2009, vol 85, p. 761-770. [14]

MUNDSON, J. COOKE, B. BERTRAN, B. Biodiesel Purification by a continuous regenerable adsorbent process, US Patent Appl. 8097049; Junio 21, 2012. [12]

Production of Biodiesel". Arbeitsgemeinschaft Qualitäts management Biodiesel e.V, 2011. [23]

SHOLING, U. RUF, F. ORTIZ, N. CONDEMARIN, R. BELLO, J. Process for removing steryl glucosides from biodiesel, US Patent Appl. 20110154723; Junio 30, 2011. [10]

STIG, E. Emulsion a Fundamental and practical approach. 1 ed. Editor SJÖBLOM, Johan, Noruega, 1991. p.65. [28]

TABACCO, S. SIDDIQUI, A. "The digital lab techniques manual: Column chromatography". Massachusetts Institute of Technology". (2003). Disponible en <[http://www.youtube.com/watch?v=B\\_QyhG2-VBl](http://www.youtube.com/watch?v=B_QyhG2-VBl)> Fecha de consulta: agosto 12 de 2012. [21]

TANG, H. GUZMAN, R. SALLEY, S. SIMON, K. "Formation of insolubles in palm oil- yellow grease-,and soybean oil-based biodiesel blends after cold soaking at 4°C". Journal of the American Oil Chemists Society. 2008, vol 85, p. 1173-1182. [18]

TANG, H. SALLEY, S. SIMON, K. "Fuel properties and precipitate formation at low temperature in soy-, cottonseed-, and poultry fat-based biodiesel blends". Fuel. 2009, vol 87, p. 3006-3017. [9]

TOUCHSTONE, J. Practice in the layer chromatography. 3a ed. Pennsylvania. Editor Jhon Wiley, INC, New York, 1992. p. 4-12, 14-18. [22]


VAN GERPEN, J. "Measurement and control strategies for sterol glucosides to improve biodiesel quality-year 2".Reporte Final KLK759. N11-01. University of Idaho. 2011. [27]

VAN HOED, V. ZYAYKINA, N. DE GREYT,W. MAES, J. VERHÉ, R. DEMEESTERE, K. "Identification and occurrence of steryl glucosides in palm and soy biodiesel ". Journal of the American Oil Chemists Society. 2008, vol 85, p. 701-709. [5]

VERECKEN, J. Meeussen, W. Foubert, I. Lesaffe, A. "Comparing the crystallization and polymorphic behaviour of saturated and unsaturated monoglycerides". Journal Elsevier. 2009. vol 42. p. 1415-1425. [29]

## ANEXOS

**ANEXO A.** Carta de aceptación dada por el comité científico del evento para publicación del artículo.



# ICheaP-11

11th International Conference on Chemical & Process Engineering 2-5 June 2013 - Milan, Italy

---

**PROMOTED AND ORGANIZED BY**

AIDIC

The Italian Association of  
Chemical Engineering

**VENUE**  
ATAHOTEL EXECUTIVE  
Via Don Luigi Sturzo, 45  
Milan, Italy

**SCIENTIFIC COMMITTEE  
CHAIRMAN**  
Sauro Pierucci  
*(AIDIC, Politecnico di Milano, Italy)*

**ORGANIZING COMMITTEE  
CHAIRMAN**  
Renato Del Rosso  
*(AIDIC, Politecnico di Milano, Italy)*

**CONFERENCE SECRETARIAT**  
AIDIC  
Attn. Raffaella DAMERIO  
Via Giuseppe Colombo, 81/A  
I-20133 Milano, Italy  
Phone: +39-02-70608276  
Fax: +39-02-70639402  
e-mail: [icheap11@aidic.it](mailto:icheap11@aidic.it)

**HOMEPAGE**  
<http://www.aidic.it/icheap11>

Milano, October 31, 2012

To: Vladimir Plata  
E-mail: [Vladimir.Plata@gmail.com](mailto:Vladimir.Plata@gmail.com)

**Re: Abstract Evaluation**

Dear Vladimir Plata,

on behalf of the IChEaP-11 ISC we are pleased to inform you that your abstract:

(Reference # 630) "FRACTIONATION AND CHARACTERIZATION OF INSOLUBLES FORMED IN PALM OIL BIODIESEL"

by: Plata V., Serrano M., Tira K., Kafarov V., Romero A., Castillo E.

has successfully passed the first evaluation step.

The final evaluation for inclusion into program and proceedings will be made on the basis of the final paper.

Also the acceptance of your final paper implies the attendance of at least one of the co-authors of the paper at the conference.

For manuscript preparation and submission please visit:  
<http://www.aidic.it/icheap11> - full manuscript submission

You are invited to upload the full manuscript not later than February 8<sup>th</sup>, 2013.

Information to Authors on full paper acceptance and format of presentation (lecture/poster) will be available on March 15<sup>th</sup> 2013, after review.

All the accepted final papers will be published into Chemical Engineering Transactions (CET) indexed by SCOPUS and ISI Web of Knowledge (Conference Proceedings database).

This means that your paper will be evaluated by at least by two reviewers for its technical content, but also by CET's supervisor for the format of its preparation: as a consequence you are asked to strictly respect all guidelines required by the manuscript preparation: in particular number of pages, format, references and deadlines. Please note that full papers not respecting the prescribed format or late submitted might be automatically excluded from publication.

We do appreciate if you cooperate for increasing CET impact factor by referencing papers appeared in previous CET volumes. We suggest to visit [www.aidic.it/cet](http://www.aidic.it/cet) for the complete view of CET publications.

Finally we would like to remind you the importance of maintaining the schedule, because the organization of the conference is strongly based on the respect of the whole set of deadlines. We thank you in advanced for your collaboration.

With best regards,  
Sauro Pierucci  
(ISC Chairman)

## **ANEXO B.** Preparación de la muestra

1. Agitar el recipiente que contiene la muestra.
2. Adicionar 10 ml de hexano por cada gramo de haza sobre cada uno de los tubos de centrifuga a utilizar. Pesar el contenido de cada tubo.
3. Agitar cada tubo durante 1 minuto empleando un shaker.
4. Centrifugar a 2100 rpm y 40 °C durante 15min.
5. Remover el sobrenadante de cada tubo empleando una pipeta de Mohr (se debe tener cuidado de no retirar precipitados con la mezcla).
6. Repetir dos veces los pasos 2, 3, 4, y 5.
7. Eliminar el solvente presente en la muestra empleando un horno a 80 °C durante 30 min.
8. Macerar la muestra en un mortero durante 1 hora.
9. Almacenar en recipientes sellados.

### **ANEXO C.** Procedimiento a seguir para el montaje de la columna

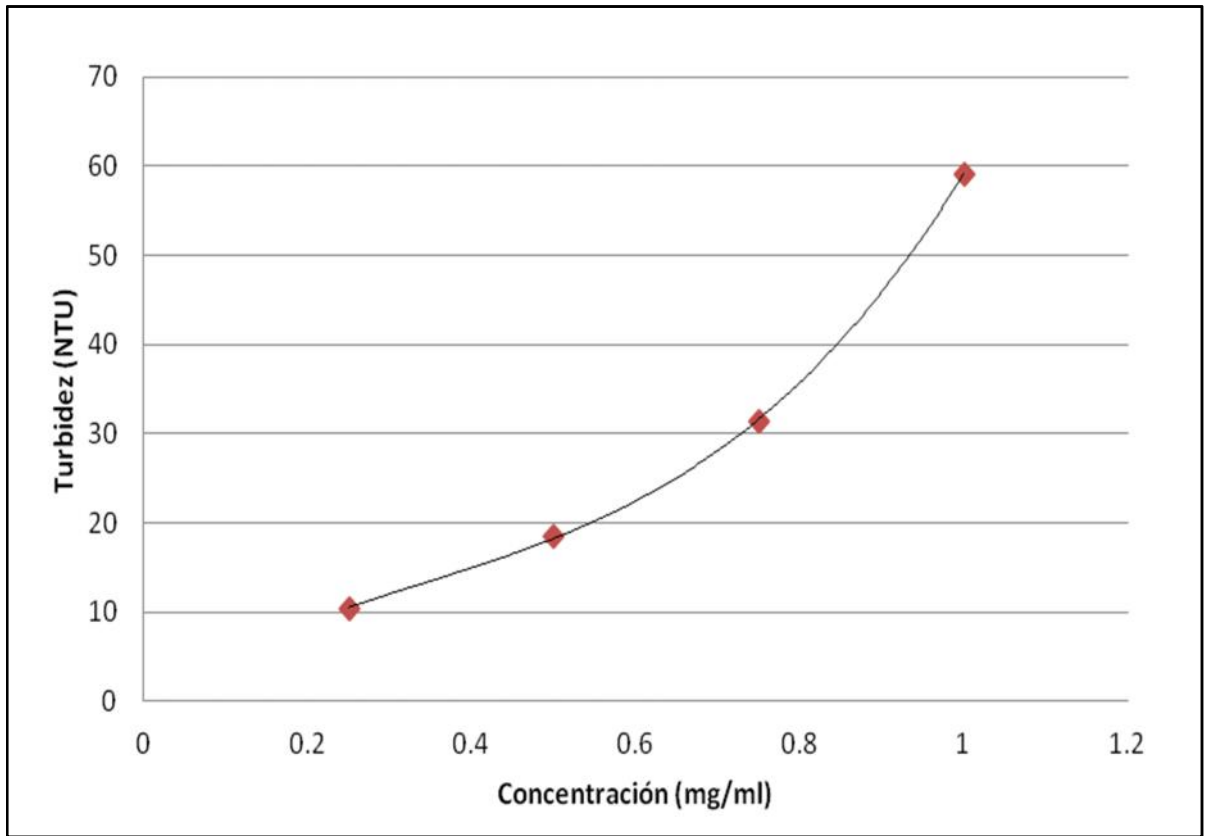
1. Fijar algodón sobre la parte inferior de la columna con el fin de retener la fase estacionaria.
2. Sujetar la columna de vidrio sobre un soporte universal de forma que quede completamente vertical.
3. Realizar el empaquetamiento de la columna empleando sílica previamente activada en un horno a 70 °C durante 5 horas. Este empaquetamiento se realiza hasta la altura deseada.
4. Traspasar la sílica a un Erlenmeyer y disolver con hexano.
5. Agregar la mezcla anterior a la columna teniendo la precaución de cerrar la llave de ésta.
6. Adicionar a la columna hexano con el fin de remover la sílica impregnada en las paredes. Para ello se recoge el hexano que eluye de la columna para lavar nuevamente.
7. Adicionar 2g de sílica a la muestra previamente diluída y rotoevaporar hasta retirar completamente el solvente.
8. Una vez retirado el solvente, introducir la muestra a la columna para iniciar el fraccionamiento.

**ANEXO D.** Condiciones a las cuales se realizó el análisis DSC para cada una de las muestras y los estándares.

**Tabla 2. Condiciones a las cuales se realizó el análisis DSC**

Muestra	Condiciones
F1Hz2  Estándar MP	a) Equilibrio a 20 °C b) Condiciones isotérmicas durante 1min c) Velocidad de calentamiento:5 °C/min hasta 110 °C d) Condiciones isotérmicas durante 10 min e) Velocidad de enfriamiento: 5 °C/min hasta 0 °C f) Condiciones isotérmicas durante 1min g) Velocidad de calentamiento: 5 °C/min hasta 110 °C
Hz F1Hz1 Hz2 F2Hz2 Estándar EGL	a) Equilibrio a 0.00 °C b) Condiciones isotérmicas durante 1min c) Velocidad de calentamiento: 5°C/min hasta 350 °C d) Condiciones isotérmicas durante 1 min e) Velocidad de enfriamiento: 5 °C/min hasta 0 °C f) Condiciones isotérmicas durante 1min g) Velocidad de calentamiento:5 °C/min hasta 350 °C

**ANEXO E.** Curva de turbidez para diferentes concentraciones de las muestra Hz1



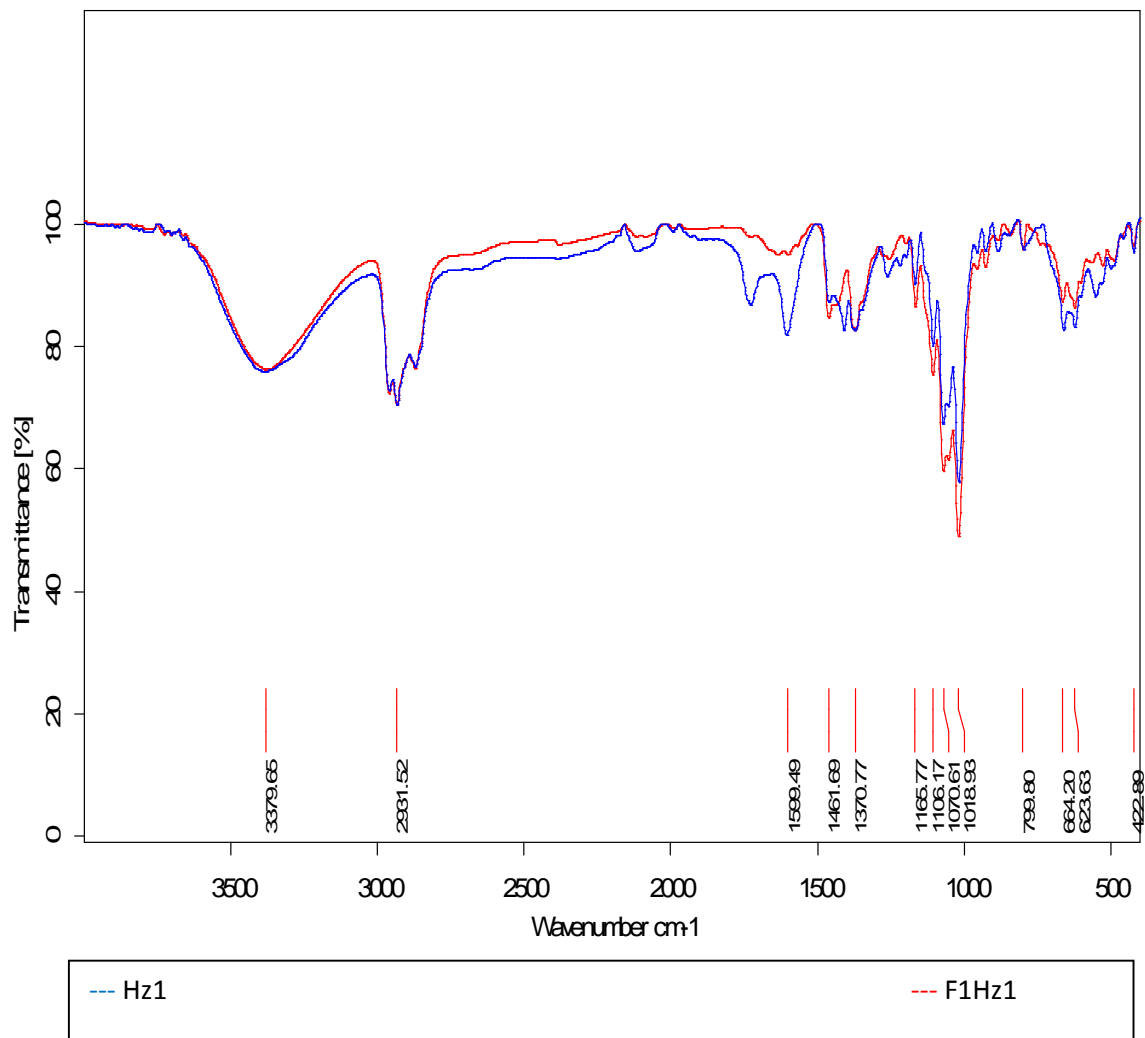
**Figura 15.** Variación de la turbidez con respecto a la concentración de la muestra Hz1

**ANEXO F.** Sistemas eluyentes seleccionados para el fraccionamiento de Hz1 y Hz2.

**Tabla 3.** Sistemas eluyentes seleccionados para el fraccionamiento de Hz1 y

<b>Muestra</b>	<b>Sistemas eluyentes (vol/vol)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Sistemas eluyentes (vol/vol)</b>
<b>Hz1</b>	Hexano/etil acetato (1:10)	<b>Hz2</b>	Hexano/etil acetato (5:1)
			Hexano/etil acetato (2:1)
	Etil acetato puro		Hexano/etil acetato (1:1)
			Hexano/etil acetato (1:2)
	Etil acetato/metanol (10:1)		Hexano/etil acetato (1:10)
			Etil acetato puro
	Etil acetato/metanol (5:1)		Etil acetato/metanol (10:)
			Etil acetato/metanol (5:1)
	Etil acetato/metanol (1:1 )		Etil acetato/metanol (1:1 )
	Metanol puro		

**ANEXO G.** Superposición de los espectros de la muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1.



**Figura 16.** Superposición de los espectros de la muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1

## ANEXO H. Informe de resultados prueba de tensoactivos en la muestra Hz1

	<b>LABORATORIO QUÍMICO DE CONSULTAS INDUSTRIALES</b>	<b>Código:</b> F-PA-02	
	<b>POST-ANALITICO</b>	<b>Versión:</b> 05	
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	<b>Fecha:</b> 2012/01/16	
		<b>Página</b> 1 de 1	

\*Acreditación por el IDEAM según la Resolución No. 1659 de 2011, en los parámetros pH, DBO<sub>5</sub>, DQO, SST, fenoles, SAAM, grasas y aceites en aguas, metales totales y disueltos en aguas, metales totales en suelos y toma de muestras puntuales y continuas\*

\*Autorización del Ministerio de la Protección Social, mediante la resolución 5534 de 2010, para la realización de análisis físicos, químicos y microbiológicos al agua para consumo humano\*

<b>Informe de resultados No.</b>	12-645	<b>Fecha de emisión:</b>	Diciembre 11 de 2012
<b>Cliente:</b>	ARNOLD ROMERO		
<b>Dirección del cliente:</b>	Universidad Industrial de Santander		
<b>Solicitud de servicio No.</b>	12-648	<b>No. de muestras:</b>	01
<b>Fecha de recepción de las muestras:</b>	Noviembre 29 de 2012		
<b>Muestras recibidas por:</b>	Johanna Riveros		
<b>Fecha de análisis:</b>	Diciembre 03 de 2012		

### 1. ANALISIS FISICOQUIMICO

<b>Codificación de la Muestra:</b>	12-648-01	<b>Tipo de muestra:</b>	Puntual
<b>Identificación de la muestra:</b>	Precipitado Hz1 de Biodiesel		
<b>Matriz de la muestra:</b>	Materia Prima		
<b>Muestreo realizado por:</b>	El Cliente		
<b>Lugar y punto de muestreo:</b>	Universidad Industrial de Santander / Laboratorio		
<b>Fecha del muestreo:</b>	Noviembre 29 de 2012		

PARAMETRO	RESULTADO	METODO
Tensoactivos (mg/L)	0,146	Espectrofotométrico

**Observaciones:** Ninguna

**Nota 1:** Estos resultados son válidos únicamente para las muestras analizadas y reportadas por el laboratorio.

**Nota 2:** En caso de ser copia del resultado original se realizará la siguiente aclaración: Copia del resultado original.

**Estimado cliente:** Para nosotros es muy importante conocer sus inquietudes, sugerencias, felicitaciones, quejas y/o reclamos en los servicios prestados por el laboratorio, con el propósito de mejorar nuestros servicios. Le agradecemos que se comuniqué con el laboratorio, donde un miembro del personal amablemente recibirá su solicitud y pronto estaremos en comunicación con usted para aclarar y/o resolver su requerimiento.

Revisó y aprobó:

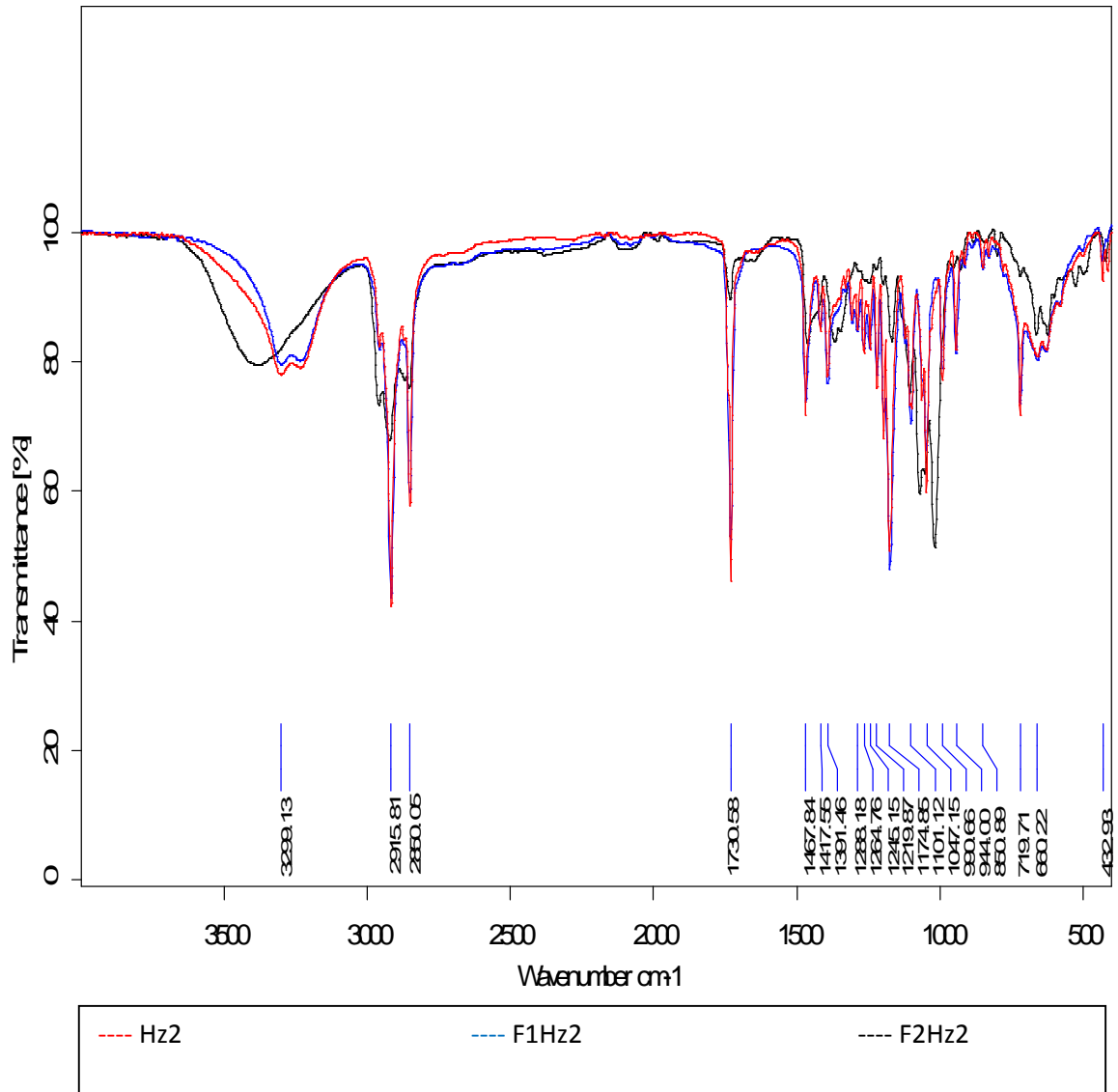
**Luz Yolanda Vargas Fiallo**  
Directora del Laboratorio  
Química. Msc Química UIS  
MP PQ 1144

Elaboró: Johanna Riveros

---

Ciudad Universitaria Carrera 27 Calle 9 – Edificio Camilo Torres/ Laboratorio 222  
 Conmutador: (7) 6344000 Ext. 2465. Telefax: (7) 6349009  
 Página web: <http://ciencias.uis.edu.co/lqci/> E-mail: [labquimco@gmail.com](mailto:labquimco@gmail.com);  
[laboratorioquimicodeconsultas@uis.edu.co](mailto:laboratorioquimicodeconsultas@uis.edu.co)  
 Bucaramanga - Colombia

**ANEXO I.** Superposición de los espectros de la muestra Hz2 y sus fracciones extraídas F1Hz2 y F2Hz2



**Figura 17.** Superposición de los espectros de la muestra Hz1 y su fracción extraída F1Hz1

## ANEXO J. Análisis termogravimétrico TGA

Sample: Estándar Monoglicéridos  
Size: 2.8440 mg

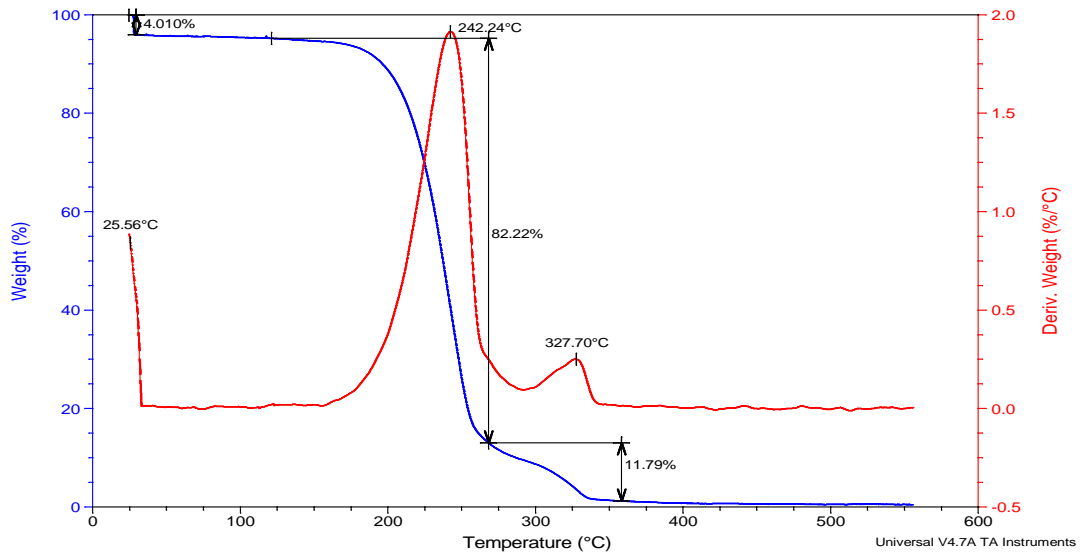


Figura 18. TGA del Estándar de MP

Sample: F1Hz2  
Size: 3.5870 mg

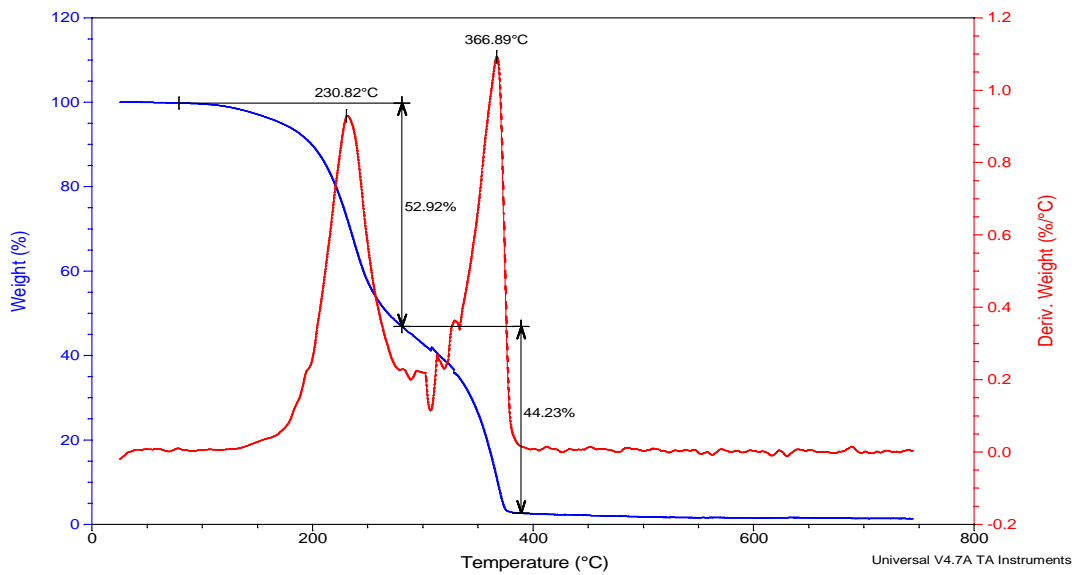


Figura 19. TGA de la muestra F1Hz2

Sample: Estándar Esterilglucósidos  
Size: 3.4830 mg

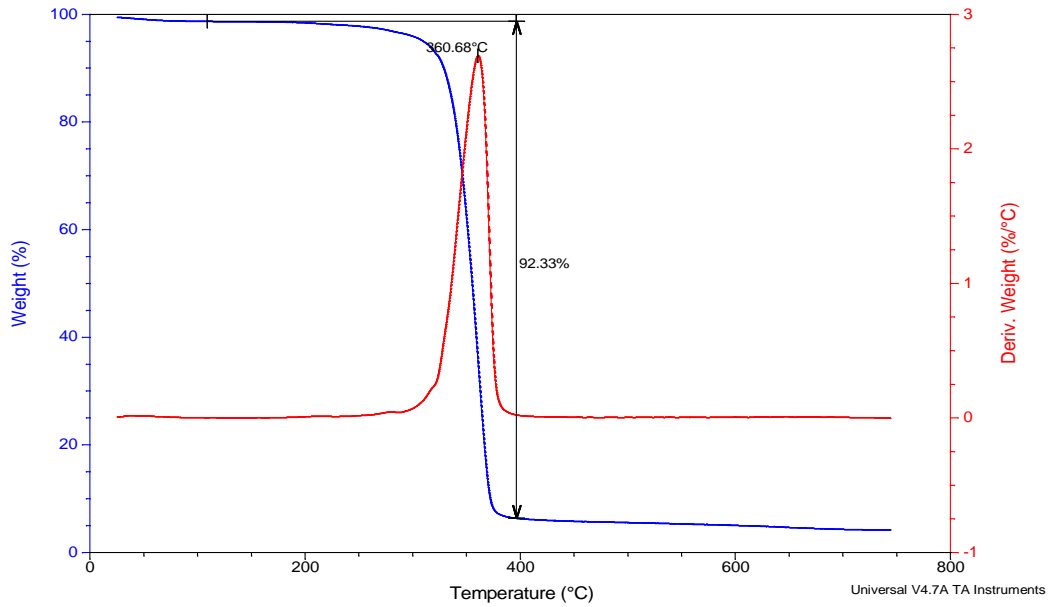


Figura 20. TGA del estándar de EGL

Sample: F2Hz2  
Size: 3.5110 mg

TGA

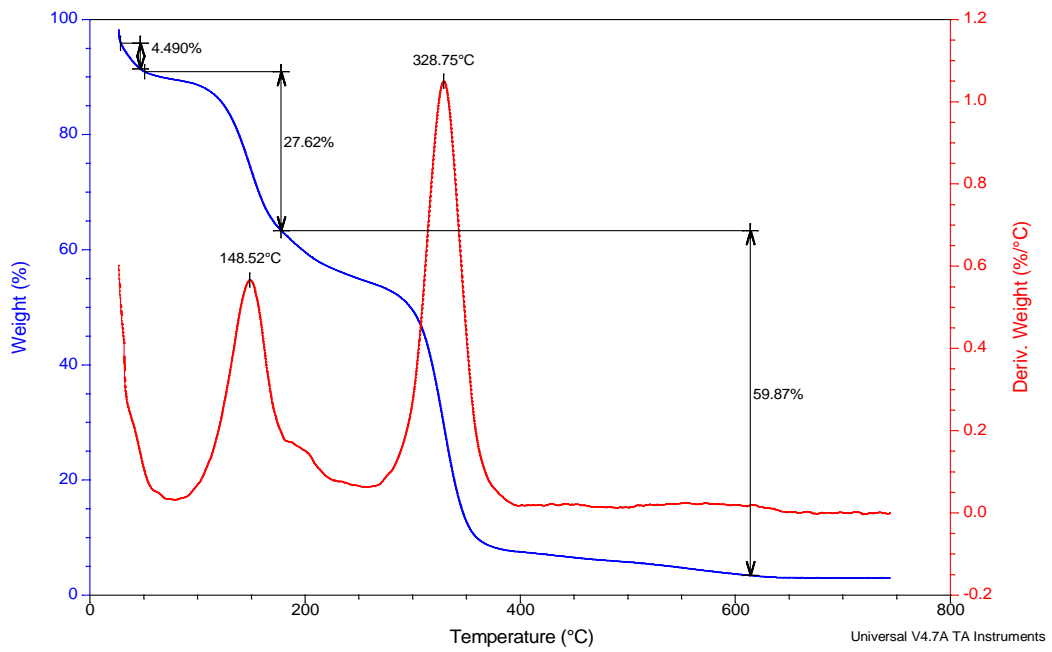


Figura 21. TGA de la muestra F2Hz2

Sample: F1Hz1  
Size: 2.9700 mg

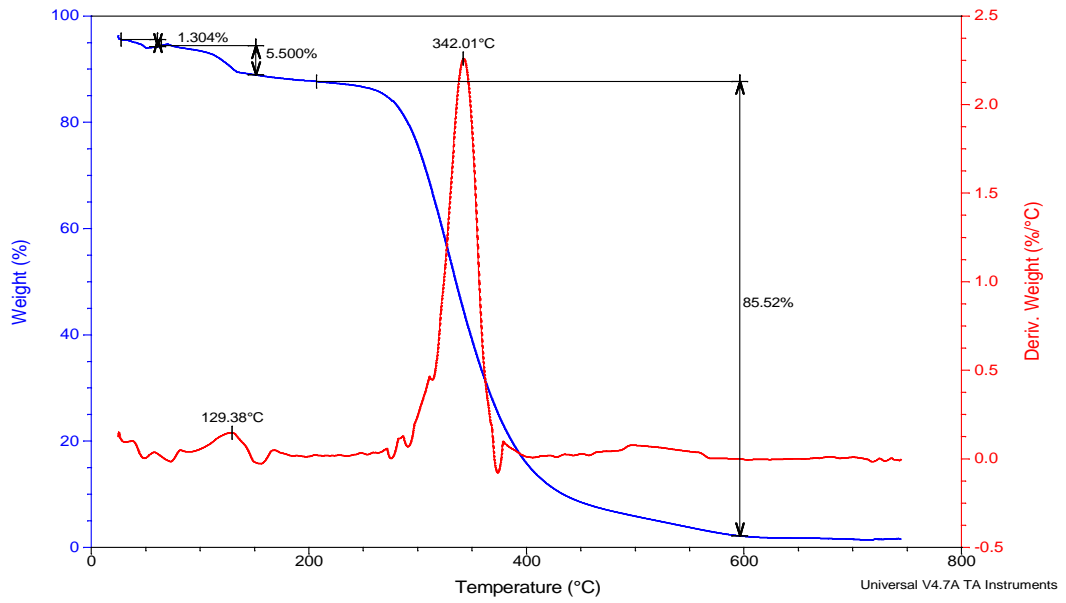


Figura 22. TGA del de la muestra F1Hz1