

**ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE MONOGLICÉRIDOS
SATURADOS (MONOPALMITINA) Y ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES EN LA
FORMACIÓN DE *HAZE* EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA**

LILIANA CRISTINA MENDOZA FLÓREZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

**ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE MONOGLICÉRIDOS
SATURADOS (MONOPALMITINA) Y ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES EN LA
FORMACIÓN DE *HAZE* EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA**

LILIANA CRISTINA MENDOZA FLÓREZ

Trabajo de Grado para optar por el título de Magister en Ingeniería Química

Director

Ph D. FREDY A. AVELLANEDA VARGAS

Codirectores

Ph D. MARÍA PAOLA MARADEI GARCÍA

Ph D. VLADIMIR PLATA CHÁVEZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

AGRADECIMIENTOS

A Ecodiesel Colombia S.A. y al Grupo Empresarial Oleoflores por proporcionar el biodiésel necesario para realizar esta investigación.

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, COLCIENCIA, por su apoyo económico a través del programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores, y a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión (VIE) por la financiación del proyecto de investigación.

A mis directores, al profesor Fredy Avellaneda Vargas por la oportunidad brindada; a la profesora María Paola Maradei García por ser mi guía no sólo como profesional sino como persona, no hay palabras suficientes para agradecerle todo su apoyo, su compromiso y su paciencia; y al doctor Vladimir Plata Chávez gracias por enseñarme que “la constancia vence lo que la dicha no alcanza” y gracias por toda su colaboración.

A los grupos de investigación de la UIS: CICTA, POLÍMEROS, GIMBA y GIFTEX, y a los laboratorios de Espectroscopía y Microscopía por su colaboración en la realización de este trabajo de investigación.

A mi grupo de investigación, INTERFASE por permitirme desarrollar este trabajo. A las ingenieras Camila Pedraza, Juliana Pedraza y Karen Ortiz por el excelente trabajo realizado y la colaboración prestada en el desarrollo de este trabajo.

A Dios por estar siempre presente en cada paso de mi vida enviando a sus mejores ángeles para cuidarme y gracias a todos esos ángeles a los cuales puedo llamar padres, hermanos, amigos y profes, gracias por su apoyo y compañía incondicional.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	19
1 ESTADO DEL ARTE	22
1.1 PRECIPITADOS PRESENTES EN EL BIODIÉSEL	22
1.1.1 Esteril glucósidos libres (EGL).	22
1.1.2 Monoglicéridos saturados (MGS).	24
1.1.3 Contenido de agua	26
1.2 CONTROL DE CALIDAD DEL BIODIÉSEL.....	27
1.3 SEGUIMIENTO DE LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS.....	29
1.4 CINÉTICA DE FORMACIÓN DE PRECIPITADOS	31
1.4.1 Modelo de Johnson–Mehl–Avrami (JMA):.....	32
1.4.2 Modelo Gompertz:	34
2 OBJETIVOS	36
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	36
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
3 METODOLOGÍA.....	37
3.1 MATERIALES.....	37
3.1.1 Destilación y caracterización del biodiésel de palma:	37
3.2 UNIDAD EXPERIMENTAL	38
3.3 PRUEBAS EXPERIMENTALES.....	39
3.3.1 Determinación de la temperatura de operación de la unidad:	40

3.3.2	Evaluación de la influencia de la presencia de MGS y EGL en la formación y crecimiento de precipitados en el BP	41
3.3.3	Seguimiento de la formación de precipitados mediante turbidimetría.	44
3.4	ANÁLISIS DE PRECIPITADOS FORMADOS DE BP	45
3.4.1	Determinación de contenido de precipitados.....	45
3.4.2	Aislamiento de los precipitados formados	46
3.5	CARACTERIZACIÓN DE LOS PRECIPITADOS FORMADOS.....	46
3.6	ANÁLISIS MATEMÁTICO	47
4	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	49
4.1	Determinación de la temperatura de operación.....	49
4.2	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE MONOGLICÉRIDOS SATURADOS (MONOPALMITINA) Y AGUA EN LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO	57
4.2.1	Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con monopalmitina.....	59
4.2.2	Cinética de formación de los precipitados formados de biodiésel de aceite de palma destilado dopado con monopalmitina.	61
4.2.3	Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con monopalmitina.....	64
4.3	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES Y LA HUMEDAD EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO EN LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO.....	72
4.3.1	Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres	73

4.3.2	Cinética de formación de los precipitados del biodiésel de aceite de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres:	75
4.3.3	Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres	78
4.4	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE MONOGLICÉRIDOS SATURADOS (MONOPALMITINA), ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES Y HUMEDAD EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO SOBRE LOS PRECIPITADOS FORMADOS EN EL BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO	86
4.4.1	Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con monoglicéridos saturados y esteril glucósidos libre	87
4.4.2	Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con monoglicéridos saturados y esteril glucósidos libres	90
5	CONCLUSIONES	99
	BIBLIOGRAFÍA	100
	ANEXOS	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de EGA y EGL. Tomado de Shrick <i>et al.</i> (2012).....	23
Figura 2. Principales monoglicéridos (MG) presentes en el BP: a) Monopalmitina (MGS), b) Monooleína (MG insaturado).....	24
Figura 3. Representación parámetros Gompertz. Tomado de Foubert & Vanrolleghem, 2003.....	34
Figura 4. Unidad experimental para la cuantificación de haze formado en BP.	39
Figura 5. Cantidad de precipitados y tiempo de filtrado del BP incubado a 4°C (Hz1) o 18 °C (Hz2) por 16 h.	49
Figura 6. FTIR de precipitados incubados a 4°C (Hz1) y 18°C (Hz2), patrones de monopalmitina (MP) y esteril glucósidos libres (EGL).....	50
Figura 7. a) DSC patrón MP, b) DSC precipitados incubados a 4°C (Hz1), c) DSC precipitados incubados 18°C (Hz2) y d) DSC patrón EGL.....	53
Figura 8. Imágenes por SEM de precipitados incubados a 4°C (Hz1) y a 18°C (Hz2).....	55
Figura 9. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con MP.	58
Figura 10. Concentración de precipitados en función del tiempo de incubación del BPD dopado con cantidades de monopalmitina (M) de 1500, 2250 y 3000 ppm y agua (H) de 185, 500 y 900 ppm.	59
Figura 11. Velocidades de formación de los precipitados formados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250 y 3000ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).....	63

Figura 12. Caracterización FTIR del patrón de MP y de los precipitados formados en BPD dopado con dos concentraciones de monopalmitina (2250 y 3000 ppm) y diferente contenido de humedad (185, 500 y 900 ppm).....	65
Figura 13. a) DSC patrón MP. b) DSC precipitados de BPD dopado con 2250 ppm de MP y diferentes contenido de humedad, c) DSC precipitados de BPD dopado con 3000 ppm de MP y diferentes contenido de humedad.	66
Figura 14. a) DSC patrón monoestearina, b) DSC precipitados formados por la adición de monoesteriana a una mezcla de biodiésel de soya y canola. Tomado de Chupka <i>et al.</i> (2012).	67
Figura 15. Imágenes SEM de los precipitados formados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250 y 3000 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).....	69
Figura 16. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con EGL.	72
Figura 17. Formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (10, 30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).	74
Figura 18. Velocidad de formación precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).....	77
Figura 19. Espectro FTIR del patrón de esteril glucósidos libres (EGL) y de los precipitados formados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).	79
Figura 20. a) DSC precipitados formados en el BPD dopado con 30 ppm de EGL y diferentes concentraciones de humedad (185, 500 y 900 ppm), b) DSC precipitados formados en el BPD dopado con 50 ppm de EGL y diferentes concentraciones de humedad (185, 500 y 900 ppm) y c) DSC patrón de EGL.	80
Figura 21. Imágenes SEM de los precipitados BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).	84

Figura 22. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con MP y EGL.	86
Figura 23. Seguimiento de la formación de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).....	88
Figura 24. Precipitados formados en el BPD con diferentes contenidos de humedad dopado con MP, EGL, y con la mezcla MP-EGL (M1 y M2 representan la concentración de MP de 1500 y 2250 ppm de MP, respectivamente; E1 y E2 son 10 y 30 ppm de EGL, respetivamente, y H2 y H3 corresponden a 500 y 900 ppm de agua, respectivamente).	89
Figura 25. FTIR de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de monopalmitina (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).....	91
Figura 26. DSC de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm). a) M1E2H2 y M1E2H3, b) M2E1H2 y M2E1H3, c) M2E2H2 y M2E2H3, d) Patrón de MP y e) Patrón EGL. ...	92
Figura 27. SEM de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de monopalmitina (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).....	97

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especificaciones de calidad del biodiésel según ASTM D6751, EN 14214 y NTC 5444.....	28
Tabla 2. Valores para el parámetro n del modelo de Avrami.....	33
Tabla 3. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de monopalmitina (MP) y agua.	42
Tabla 4. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de EGL y agua.	43
Tabla 5. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de MP, EGL y agua.	44
Tabla 6. Caracterización biodiésel de palma destilado (BPD).....	57
Tabla 7. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados dependiendo de la humedad del biodiésel aceite de palma destilado.	58
Tabla 8. Tiempo de inducción experimental y parámetros cinéticos de los modelos de Avrami y Gompertz modificado obtenidos para la formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de MP y agua.	62
Tabla 9. Temperaturas (T , en $^{\circ}\text{C}$) y cambios de entalpía (ΔH , en J/g) de fusión y cristalización de los precipitados del BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250 y 3000 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).....	68
Tabla 10. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados para cada una de las humedades estudiadas.....	72
Tabla 11. Parámetros cinéticos modelos de Avrami y Gompertz modificado para la formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).	75

Tabla 12. Temperatura y entalpía de descomposición de los precipitados dopados con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).....	82
Tabla 13. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados para cada una de las humedades evaluadas.....	87
Tabla 14. Temperaturas y entalpías de fusión y cristalización de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).....	95

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Elección de las condiciones de operación.....	108
Anexo B. Evaluación del potencial de la unidad para el seguimiento por turbidimetría de los precipitados formados en biodiésel de aceite de palma	111
Anexo C. Efecto de la temperatura en la señal de turbidez	115
Anexo D. Protocolo de operación sistema de seguimiento de la formación de precipitados en biodiésel de palma.....	117
Anexo E. Perfil de ácidos grasos presentes en el biodiésel de aceite de palma.	119

LISTA DE ABREVIATURAS

BP: Biodiésel de aceite de palma.

BPD: Biodiésel de aceite de palma destilado.

BPDh: Biodiésel de aceite de palma destilado húmedo.

BPDs: Biodiésel de aceite de palma destilado seco.

DG: Diglicéridos

EG: Esteril glucósidos

EGA: Esteril glucósidos acilados

EGL: Esteril glucósidos libres

EXP.: experimentalmente

MG: Monoglicéridos

MGS: Monoglicéridos saturados

MP: Monopalmitina

TF: Tiempo de filtrado

TG: Triglicéridos

E10H185: BPD dopado con 10 ppm de EGL y 185 ppm de agua.

E10H500: BPD dopado con 10 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

E10H900: BPD dopado con 10 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

E30H185: BPD dopado con 30 ppm de EGL y 185 ppm de agua.

E30H500: BPD dopado con 30 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

E30H900: BPD dopado con 30 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

E50H185: BPD dopado con 50 ppm de EGL y 185 ppm de agua.

E50H500: BPD dopado con 50 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

E50H900: BPD dopado con 50 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

M1500H185: BPD dopado con 1500 ppm de MP y 185 ppm de agua.

M1500H500: BPD dopado con 1500 ppm de MP y 500 ppm de agua.

M1500H900: BPD dopado con 1500 ppm de MP y 900 ppm de agua.

M2250H185: BPD dopado con 2250 ppm de MP y 185 ppm de agua.

M2250H500: BPD dopado con 2250 ppm de MP y 500 ppm de agua.

M2250H900: BPD dopado con 2250 ppm de MP y 900 ppm de agua.

M3000H185: BPD dopado con 3000 ppm de MP y 185 ppm de agua.

M3000H500: BPD dopado con 3000 ppm de MP y 500 ppm de agua.

M3000H900: BPD dopado con 3000 ppm de MP y 900 ppm de agua.

M1E1H2: BPD dopado con 1500 ppm de MP, 10 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

M1E2H2: BPD dopado con 1500 ppm de MP, 30 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

M2E1H2: BPD dopado con 2250 ppm de MP, 10 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

M2E2H2: BPD dopado con 2250 ppm de MP, 30 ppm de EGL y 500 ppm de agua.

M1E1H3: BPD dopado con 1500 ppm de MP, 10 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

M1E2H3: BPD dopado con 1500 ppm de MP, 30 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

M2E1H3: BPD dopado con 2250 ppm de MP, 10 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

M2E2H3: BPD dopado con 2250 ppm de MP, 30 ppm de EGL y 900 ppm de agua.

RESUMEN

TÍTULO: ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL EFECTO DE MONOGLICÉRIDOS SATURADOS (MONOPALMITINA) Y ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES EN LA FORMACIÓN DE HAZE EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA*

AUTOR: LILIANA CRISTINA MENDOZA FLÓREZ**

PALABRAS CLAVE: monoglicéridos saturados, esteril glucósidos libres, humedad, biodiésel de palma, formación y caracterización de precipitados.

DESCRIPCIÓN:

La evaluación del efecto de la concentración de esteril glucósidos libres (EGL) y monoglicéridos saturados (MGS) en la formación de precipitados denominados como *haze* presentes en el biodiésel de palma destilado (BPD) fue realizada en tres etapas. En la primera etapa se evaluó el efecto de la monopalmitina (MP), en la segunda, el efecto de la presencia de EGL y finalmente, se evaluó el efecto combinado de MP y EGL. En los tres casos, se trabajó con diferentes niveles de humedad para evaluar el efecto de agua. Se realizó el seguimiento de la formación de los precipitados por turbidimetría a 20°C y se determinó la cinética de formación de estos precipitados utilizando los modelos de Avrami y Gompertz modificado para determinar los parámetros cinéticos y el perfil de velocidad. Al finalizar el tiempo de incubación del BPD dopado, los precipitados fueron aislados y caracterizados. Se obtuvo que los aumentos en las concentraciones de MP y EGL, superiores a 1500 ppm y 10 ppm, respectivamente, favorecen la formación de precipitados en el BPD. Mientras que la disminución de la humedad favoreció los precipitados formados por MP. El efecto de la humedad para el BPD dopado con EGL no tuvo una tendencia clara, posiblemente por una competencia entre los fenómenos de aglomeración y solubilización de éstos en el BPD. Los análisis por FTIR, DSC, SEM/EDS permitieron determinar las características de los precipitados. Se observó que los precipitados formados por MP eran planos como láminas u hojuelas. Mientras que los formados por EGL eran aglomerados dispersos. Finalmente, se determinó que la presencia de MP no induce la formación de precipitados de otra naturaleza, mientras que los EGL favorecen la formación de precipitados de otros compuestos como esteril glucósidos acilados y sales de ácidos grasos

*Trabajo de grado.

**Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Maestría en Ingeniería Química. Directores PhD. Fredy Avellaneda, codirectores: PhD. María Paola Maradei García. PhD. Vladimir Plata Chávez.

ABSTRACT

TITLE: EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF SATURATED MONOGLYCERIDES (MONOPALMITIN) AND FREE STERYL GLUCOSIDES IN HAZE FORMATION IN OIL PALM BIODIESEL *

AUTHOR: LILIANA CRISTINA MENDOZA FLÓREZ**

KEYWORDS: saturated monoglycerides, free steryl-glucosides, humidity, palm biodiesel, precipitates formation and characterization.

DESCRIPTION:

The evaluation of the effect of the concentration of free steryl-glucosides (FSG) and saturated monoglycerides (SMG) in the formation of precipitate referred to as *haze*, which were present in distilled biodiesel palm (DBP), was conducted in three stages: In the first stage, the effect of monopalmitin (MP) was evaluated; in the second, the effect of the presence of FSG; and, finally, the combined effect of MP and FSG. In all three cases, different moisture levels were used so as to evaluate the effect of water. The formation of precipitates monitoring was carried out using turbidimetry at 20 ° C, and the formation kinetics of these precipitates was established using the Avrami and modified Gompertz models to determine the kinetics parameters and the velocity's profile. At the end of the doped DPB's incubation time, the precipitates were isolated and characterised. It was found that the increase in MP and FSG concentration, which were over 1500 ppm and 10 ppm, respectively, favour the formation of precipitates in the DPB whereas the decrease in humidity favoured the precipitates formed by MP. The humidity's effect on the FSG-doped DPB did not show a clear trend; this was possibly because of a competition between the glucosides' agglomeration and solubilisation phenomena present in the DPB. The analysis by FTIR, DSC, SEM / EDS contributed to the determination of the precipitates characteristics. It was observed that the precipitates formed by MP were flat as layers or flakes, whereas those formed by FSG were scattered agglomerates. Finally, it was determined that the presence of MP does not induce the formation of other typed-precipitates, whereas the FSG favour the formation of other compounds' precipitates such as acylated sterile glucosides and fatty acids salts.

*Thesis.

**Physical chemistry Faculty. Chemical Engineering Department, Master in Chemical Advisors: PhD. Fredy Avellaneda, PhD. María Paola Maradei García. PhD. Vladimir Plata Chávez.

INTRODUCCIÓN

El uso de biodiésel se ha incrementado en los últimos años debido a las políticas internacionales que buscan disminuir la dependencia a los combustibles fósiles. Este biocombustible y sus mezclas con diésel de petróleo pueden ser utilizadas en motores de combustión interna sin ninguna modificación significativa (Tang *et al.*, 2008a). Los principales componentes del biodiésel son los mono - alquil ésteres de ácidos grasos de cada larga (C9–C23) (Kotrba, 2006); estos compuestos son obtenidos mediante el proceso de transesterificación de triglicéridos (TG) presentes en lípidos naturales como aceites y grasas vegetales o animales (Montenegro *et al.*, 2012) que reaccionan con un alcohol de cadena corta (metanol o etanol) en presencia de un catalizador (normalmente NaOH o KOH) a temperatura moderada (40 - 60 °C) (Jain & Sharma, 2011).

A nivel mundial predomina la producción industrial de biodiésel a partir de aceites vegetales. Existen más de 350 plantas oleaginosas identificadas como fuentes potenciales para la producción de biodiésel (Atabani *et al.*, 2012). En Colombia la producción industrial de biodiésel se realiza a partir de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis Jacq*). Actualmente, existen 9 plantas productoras de biodiésel de aceite de palma (BP), las cuales tienen una capacidad anual de 581 kTon y surten el mercado nacional permitiendo que Colombia sea uno de los países con más alto porcentaje de biodiésel en mezclas con diésel en el mundo; actualmente, en la zona occidente del país se distribuye B10 (10 %v/v de BP en la mezcla con diésel) en las estaciones de servicio (Fedepalma, 2014).

Independientemente de la materia prima usada para la producción del biodiésel, es decir de la composición en ácidos grasos del aceite, se ha detectado un material orgánico que durante el almacenamiento prolongado precipita y da una apariencia turbia al biodiésel, estos sólidos se han denominado como *haze* (Fedepalma, 2010). La presencia del *haze* ha ocasionado una disminución en el

consumo de este combustible afectando la proyección económica del biodiésel a nivel mundial. Se ha encontrado que estos precipitados se forman por la presencia de compuestos minoritarios y componentes contaminantes presentes en el biodiésel (Dunn, 2009; Moser, 2009; Wang *et al.*, 2010; Plata *et al.*, 2015a).

Los componentes minoritarios son aquellos compuestos presentes de forma natural en el aceite, entre los cuales se pueden incluir tocofenoles, fosfolípidos, esteril glucósidos (EG), clorofila, vitaminas liposolubles y algunos hidrocarburos (como escualeno, carotenos, entre otros) (Dunn, 2009; Wang *et al.*, 2010). Por otra parte, los componentes contaminantes son compuestos que pueden existir en concentraciones muy bajas debido a la conversión incompleta del aceite o grasa en biodiésel, o por presentarse algunas reacciones secundarias. Los compuestos considerados como contaminantes son agua, ácidos grasos libres, monoglicéridos (MG), diglicéridos (DG), triglicéridos (TG), glicerol, alcohol, sales de sodio o de potasio (jabones) y material insaponificable (Moser, 2009; Dunn, 2009). Específicamente, los MG y EG asumen un papel importante en el proceso de formación de precipitados.

Según lo observado durante la cadena de producción y comercialización, el *haze* puede aparecer a lo largo del proceso de producción y de distribución de este biocombustible, aunque físicamente se puede observar en mayor proporción en los tanques de almacenamiento (Cabrera *et al.*, 2010); su presencia puede causar problemas de operatividad en motores debido a la formación de depósitos y taponamiento de los filtros incluso a temperaturas por encima del punto de nube del biodiésel (Van Hoed *et al.*, 2008). El punto de nube se define como la temperatura a la cual aparece una nubosidad de cristales de ésteres de ácidos grasos durante el enfriamiento a condiciones prescritas (ASTM D6751, 2012).

La Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés *American Society for Testing Material*) ha implementado la norma D7501 en un esfuerzo por establecer el potencial de obstrucción de filtros del biodiésel y la norma ASTM D7321 para determinar la concentración de precipitados mediante

análisis gravimétrico. Sin embargo, la mala reproducibilidad y repetitividad (Dunn, 2009) de estas pruebas ha generado errores en el control de calidad del biodiésel.

Aunque se han desarrollado distintas estrategias para la remoción del *haze*, la problemática se continúa presentando, puesto que para diseñar un proceso eficaz es necesario lograr su cuantificación, determinar los compuestos químicos que favorecen su formación, así como conocer su cinética de formación. Por tanto, es necesario establecer un método alternativo para la determinación del contenido de precipitados del biodiésel, que a su vez permita estimar el potencial de obstrucción del combustible.

Los métodos ópticos como la turbidimetría se caracterizan por no destruir la muestra, ser poco invasivos, fáciles de instalar, además de realizar mediciones rápidas y confiables (Rabesiaka *et al.*, 2011). En este trabajo se utilizó turbidimetría como método experimental para determinar la cinética de formación de los esteril glucósidos libres (EGL) y monoglicéridos saturados (MGS) en el biodiésel de aceite de palma destilado con diferentes contenidos de humedad y acoplar esta información con caracterización química, morfológica y estructural obtenida por técnicas de caracterización, con el fin de determinar la influencia de la presencia de estos compuestos en la formación de *haze* en el BP.

1 ESTADO DEL ARTE

1.1 PRECIPITADOS PRESENTES EN EL BIODIÉSEL

Investigaciones realizadas recientemente han encontrado que los precipitados en el biodiésel se componen principalmente de mezclas de MG, EG y agua. Kotrba (2006) y Lee *et al.* (2007) sostienen que los EGL pueden actuar como núcleos para la formación de los precipitados favoreciendo la precipitación de MG. Adicionalmente, la humedad puede complicar estos problemas debido a las propiedades anfílicas de los EGL y MG (Nyström *et al.*, 2012; Verstringe *et al.*, 2013); la presencia de agua en el biodiésel puede facilitar la formación de complejos EG–MG–agua que aumentan la cantidad de precipitados (Dunn, 2009).

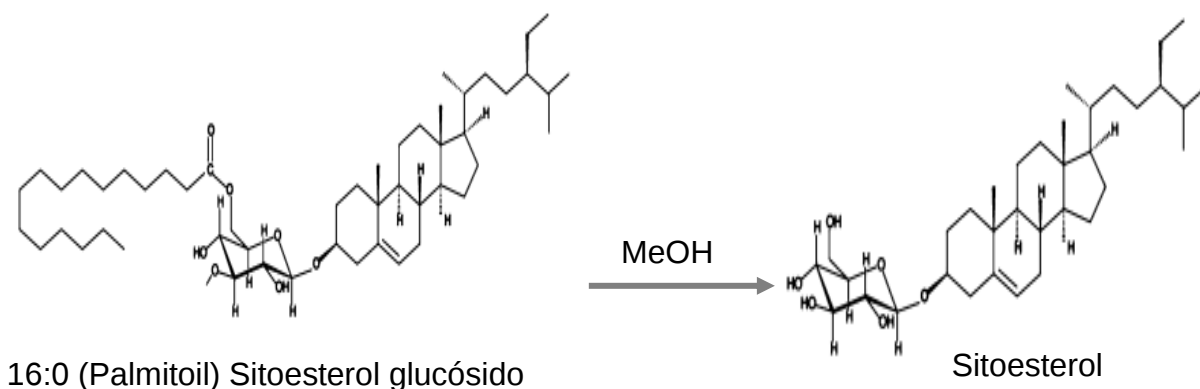
La composición y las concentraciones de MG, EG y agua en el biodiésel dependen de la materia prima usada (Tang *et al.*, 2008a), el pretratamiento, el proceso de producción y refinación del aceite (Tang *et al.*, 2010), la tecnología de producción del biodiésel (Fernandes *et al.*, 2012), el tiempo y las condiciones de almacenamiento del mismo (Plata *et al.*, 2015a).

1.1.1 Esteril glucósidos libres (EGL): Los esteril glucósidos (EG) son glucósidos derivados de un fitosterol y la glucosa, son metabolitos secundarios de las plantas, pueden existir como esteril glucósidos acilados (EGA) o esteril glucósidos libres (EGL). En el aceite crudo de palma se encontró que la relación EGA / EGL fue alrededor de 20:1 (Bondioli *et al.*, 2008).

Los EGA pueden ser hidrolizados en EGL (Figura 1) en la transesterificación con catalizadores alcalinos (Cabrera *et al.*, 2010); por lo tanto, la concentración EGL en biodiésel es normalmente más alta que en los aceites (Lee *et al.*, 2007; Wang

et al., 2010). Durante esta reacción, los TG disminuyen su polaridad cuando se transforman en aquil ésteres (biodiésel), mientras que la polaridad de los EGA aumenta al convertirse en EGL (Bondioli *et al.*, 2008). Esta diferencia de polaridad entre el biodiésel y los EGL, así como los altos puntos de fusión de los EGL (240 °C para el β -Sitoesterol) hace que la solubilidad disminuya y los EGL se precipiten. La presencia de precipitados de EGL pueden promover la precipitación de otros compuestos y la aglomeración de partículas de diferentes tamaños (10 - 15 μ m) incluso a temperatura ambiente y en concentraciones relativamente bajas (35 ppm) (Lee *et al.*, 2007).

Figura 1. Estructura química de EGA y EGL. Tomado de Shrick *et al.* (2012).



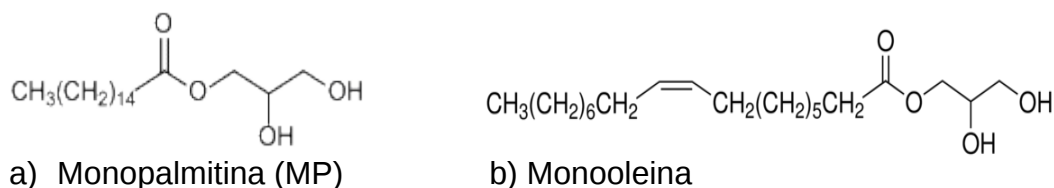
La composición de los EGL presentes en los precipitados del BP fue investigada por Bondioli *et al.* (2008), quienes identificaron y cuantificaron el material insoluble en el BP. En su investigación encontraron una concentración en el BP de aproximadamente 160 mg*kg⁻¹ de una mezcla de diferentes EGL (principalmente, β -sitosterol (60-65%p/p), campesterol (20-25%p/p) y estigmasterol (10%p/p)) y no detectaron la presencia de EGA. Adicionalmente, reportaron que la solubilidad de EGL en BP es de aproximadamente 56 mg*kg⁻¹ después de 7 días a 20°C.

Por otra parte, Na-Ranong & Kitchaiya (2014) identificaron en el BP, los compuestos presentes en un precipitado de aspecto sólido blanco. La caracterización de este sólido blanco recogido a la temperatura de 23 °C (cerca

del punto de nube del BP) y a temperatura ambiente (32 °C) indicó que, independientemente de la temperatura, los compuestos que provocan la formación de precipitados son los EGL. Así mismo, Plata *et al.* (2015a) caracterizaron el *haze* de la parte inferior de un tanque de almacenamiento de BP comercial que estuvo durante 6 meses a una temperatura entre 35 °C y 40 °C. Los resultados mostraron la presencia EGL en los precipitados así como la existencia de jabones de ácidos grasos.

1.1.2 Monoglicéridos saturados (MGS): Los MG comúnmente conocidos como monoacilglicéridos son monoésteres de ácidos grasos, los cuales pueden estar presentes en el biodiésel como resultado de la degradación incompleta de los TG presentes en el aceite. Vereecken *et al.* (2009) investigaron el comportamiento polimórfico de MG. Los autores concluyeron que para monoglicéridos saturados (MGS) con una longitud de cadena de menos de 18 átomos de carbono se pueden encontrar tres formas polimórficas (sub- α , α y β). La transformación entre estas diferentes formas cristalinas en el biodiésel puede producirse por el almacenamiento prolongado o por el calentamiento lento (Chupka *et al.*, 2011).

Figura 2. Principales monoglicéridos (MG) presentes en el BP: a) Monopalmitina (MGS), b) Monooleína (MG insaturado).



El comportamiento de los MG en el biodiésel depende de su grado de insaturación (Figura 2), concentración y de la temperatura a la cual se encuentren. En el caso

particular de los MGS, sus características polares y su poca solubilidad en ésteres metílicos conlleva a que requieran de altas temperaturas para evitar que se cristalicen (Lin *et al.*, 2011). Esto constituye un obstáculo técnico ya que su presencia afecta las propiedades de flujo en frío por la formación de precipitados (Van Gerpen *et al.*, 1996; Dunn, 2012). Van Gerpen *et al.* (1996) encontraron en una muestra denominada como “cremosa pastosa”, formada en un filtro de combustible de un vehículo operado con B20 (20 %v/v biodiésel de soya), que alrededor del 95% de los MG presentes en la muestra correspondía a MGS y concluyeron que los MG insaturados no parecían contribuir en la formación de este precipitado. Estos resultados se corroboran por Tang *et al.* (2008a) quienes reportaron que los precipitados presentes en BP se deben la presencia de MG, siendo la monopalmitina (MP), el compuesto de mayor concentración.

Fernandes *et al.* (2012) realizaron el seguimiento de la concentración de MG, DG y TG disueltos en el biodiésel de sebo bovino, encontraron una disminución de la concentración de MG disueltos en el biodiésel y a su vez notaron una formación de sólidos suspendidos. La caracterización de estos sólidos mostró que estaban constituidos principalmente por MP y monoestearnia (ambos compuestos son MGS), solo una concentración baja de MG insaturados fue detectada (inferior al 0,4 %p/p). Esto permitió concluir que hubo una formación de precipitados debido a la presencia de MGS. Igualmente, Plata *et al.* (2015a) evidenciaron la presencia de MG, especialmente MP, en precipitados obtenidos de una muestra de BP comercial almacenada en un contenedor de vidrio durante un mes a 20°C. Así mismo, se observó presencia de EGL y EGA en los precipitados de dicha muestra.

1.1.3 Contenido de agua: La humedad en el biodiésel es una fuente importante de contaminación, evitarla resulta ser una importante recomendación no sólo durante el proceso de producción, donde puede actuar como catalizador en la formación de sales de ácidos grasos de sodio o de potasio (jabones) (Pullen & Saeed, 2015) sino también durante su almacenamiento, puesto que su presencia favorece el crecimiento microbiológico que puede producirse en la interfase agua-combustible o durante su uso final, ya que puede causar la corrosión del motor o de los tanques de almacenamiento (ASTM D6751). Adicionalmente, investigaciones recientes sostienen que la presencia de agua en el biodiésel puede promover la precipitación de material insoluble en el biodiésel ya sea de forma directa, por la interacción con otros compuestos (Chupka et al. 2012; Plata et al., 2015b) o indirectamente, por la formación de sales de ácidos grasos, los cuales se han observado en precipitados de biodiésel (Pfalzgraf et al., 2007; Lin et al., 2011; Plata et al., 2015a).

Chupka *et al.* (2012) investigaron el efecto de la presencia de MGS, agua y EGL en la formación de precipitados en el biodiésel de soya y canola. Los autores observaron una menor cantidad de precipitados en las muestras que contenían mayor humedad y concluyeron que la presencia de altas concentraciones de agua permite reducir la formación de precipitados capaces de obstruir el filtro durante la prueba *Cold Soak Filtration Test* (CSFT, esta norma es usada para realizar el control de calidad del biodiésel) o modificar el tamaño y forma de los cristales de tal manera que no son apreciables a simple vista. Sin embargo, en el caso del BP los resultados parecen contradecir lo antes dicho; Plata *et al.* (2015b), quienes evaluaron el efecto de MG, EGL y la humedad en la masa de precipitados formada en BP destilado, encontraron que a mayor concentración de agua mayor es la concentración de precipitados obtenidos durante la prueba CSFT.

1.2 CONTROL DE CALIDAD DEL BIODIÉSEL

El biodiésel contiene compuestos diferentes a los ésteres de ácidos grasos, los cuales pueden afectar las propiedades fisicoquímicas del biodiésel (Wang *et al.*, 2010). La norma ASTM 6751 y la norma emitida por el comité Europeo de Normalización (CEN) designada como EN 14214, son normas internacionales que controlan la calidad del biodiésel. En Colombia para que el biodiésel pueda ser comercializado debe cumplir con las especificaciones de calidad determinadas en la Norma Técnica Colombiana (NTC) 5444, la cual incluye la mayoría de los requisitos presentes en las normas tanto de la Unión Europea como de los Estados Unidos (Ministerio de Minas y Energía, 2012).

La Tabla 1 muestra las propiedades fisicoquímicas del BP (datos reportados por Fedepalma, 2010; Kim *et al.*, 2012; Plata *et al.*, 2015a) y los valores establecidos por las normas ASTM D6751, EN 14214 y la NTC 5444. Estas normas establecen que el biodiésel debe contener (entre otras especificaciones) una cantidad de MG máxima de 0,8%p/p y un contenido de agua máximo de 500 mg*kg⁻¹. Si bien hasta el momento no se ha establecido una norma para regular la concentración máxima de EG en el biodiésel, en la Norma EN 14214 se ha estipulado una concentración máxima de material insoluble en el biodiésel o contaminación total máxima de 24 mg*kg⁻¹.

La aparición de material precipitado en el biodiésel impulsó la inclusión de normas adicionales de calidad asociadas a su determinación. Es así como desde 2009, la norma ASTM D6751 incluyó la medición del potencial de obstrucción del biodiésel en función del tiempo de filtrado, prueba conocida como la prueba CSFT (norma ASTM D7501). En dicha prueba, el biodiésel es sometido a diferentes cambios de temperatura para forzar la aparición de precipitados. Finalizadas las etapas de incubación, la norma propone una filtración al vacío, en la cual 300 mL de biodiésel deben filtrarse en un tiempo no mayor a 360s para que éste sea

aceptado. La prueba CSFT no permite determinar la cantidad de material precipitado formado, por tanto, es necesario la aplicación adicional de la norma ASTM D7321. La utilización de estas dos normas debería, por tanto, permitir la medición de la calidad del biodiésel asociado a su potencial a formar precipitados.

Tabla 1. Especificaciones de calidad del biodiésel según ASTM D6751, EN 14214 y NTC 5444.

PROPIEDAD	UNIDADES	BP	ASTM D6751	EN 14214	NTC 5444
DENSIDAD A 15°C	kg·m ⁻³	875		860 - 900	860 – 900
NÚMERO CETANO	Cetanos	68	47 mín.	51 mín.	47 mín.
VISCOSIDAD A 40°C	mm ² ·s ⁻¹	4,49	1,9 – 6,0	3,5 – 5,0	1,9 – 6,0
FLASH POINT	°C	159	130 mín.	120 mín.	120 mín.
ESTABILIDAD A LA OXIDACIÓN	Horas	26	3 mín.	6 mín.	6 mín.
ESTABILIDAD TÉRMICA	%Reflect.	99	-	-	70 mín.
PUNTO DE NUBE	°C	16	-3 a 12	-	Reportar
PUNTO DE FLUIDEZ	°C		Reportar		Reportar
DESTILACIÓN 90%	°C		360 máx.	-	360 máx.
CORROSIÓN LÁMINA DE CU	-	1 ^a	1	1	1
CONTENIDO DE CENIZAS	% p/p	< 0,02	0,02 máx.	0,02 máx.	0,02 máx.
RESIDUO DE CARBÓN	% p/p	< 0,1	0,05 máx.	<0,1	0,3 máx.
DIGLICÉRIDOS	% p/p	0,190	-	0,2 máx.	0,2 máx.
TRIGLICÉRIDOS	% p/p	0,086	-	0,2 máx.	0,2 máx.
CONTENIDO DE ALCOHOL	% p/p	<0,2		0,2 máx.	0,2 máx.
CONTENIDO DE ÉSTERES	% p/p	98,5	-	96,5 mín.	96,5 mín.
GLICERINA TOTAL	% p/p	0,127	0,24 máx.	0,25 máx.	0,25 máx.
GLICERINA LIBRE	% p/p	0,010	0,02 máx.	0,02 máx.	0,02 máx.
MONOGLICÉRIDOS	% p/p	0,307	-	0,8 máx.	0,8 máx.
ÍNDICE DE YODO	g yodo*100g ⁻¹	58	-	120 máx.	120 máx.
NÚMERO ÁCIDO	mg KOH*g ⁻¹	0,30 ^a	0,8 máx.	0,5 máx.	0,5 máx.
CONTENIDO DE AGUA	mg*kg ⁻¹	380	500 máx.	0500 máx.	500 máx.
SULFURO	mg*kg ⁻¹	1,1 ^a	10 máx.	10 máx.	
CONTENIDO FÓSFORO	mg*kg ⁻¹	1,26	10 máx.	10 máx.	10 máx.
CONTENIDO DE Na+ K	mg*kg ⁻¹	4,25	5 máx.	5 máx.	5 máx.
CONTENIDO DE Ca + Mg	mg*kg ⁻¹	1,89	5 máx.	5 máx.	5 máx.
CONTAMINANTES TOTALES	mg*kg ⁻¹	101,9	-	24 máx.	24 máx.
POTENCIAL DE OBSTRUCCIÓN	s		360 máx.		

Tomado de Fedepalma (2010), ^aKim *et al.* (2012); ^bPlata *et al.* (2015a).

Sin embargo, los productores de biodiésel ven estas pruebas como defectuosas debido, en el caso de la prueba CSFT, al tiempo que tarda su realización y a que el límite máximo de tiempo se fijó de forma empírica. En el caso de la norma ASTM D7321, la medición de la concentración de sólidos por filtración presenta frecuentemente errores de medición ocasionados, principalmente, por la contaminación y la pérdida de material durante la transferencia y el lavado en las etapas de filtración y secado (Raphael & Rohani, 1996) generando mala reproducibilidad y repetitividad (Dunn, 2009). A estos inconvenientes, se suma que los resultados obtenidos parecen finalmente no reflejar el verdadero potencial del biodiésel a formar precipitados. La razón está asociada a la cinética de formación de precipitados que influyen tanto en el tamaño como en la forma de los precipitados formados; características físico-químicas decisivas en la obstrucción de los poros de la membrana de filtración. Es así como en muchas ocasiones se tienen tiempos de filtrado que sobrepasan los límites de la norma ASTM a pesar de que realmente se formó una pequeña cantidad de precipitados durante la prueba que colmata la membrana e impide el flujo del biodiésel (Chupka *et al.* 2012; Plata *et al.*, 2015b).

1.3 SEGUIMIENTO DE LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS

El análisis turbidimétrico es un método alternativo para realizar la detección, predicción y cuantificación del material suspendido gracias al cambio en las propiedades ópticas del medio. La Organización Internacional para la Normalización (ISO, por sus siglas en inglés) define la turbidez como la reducción de la transparencia de un líquido causada por la presencia de material no disuelto. Las mediciones de turbidez se pueden utilizar en muchos campos analíticos para determinar la concentración másica de partículas en suspensión en una muestra

(Lawler, 2005); se puede detectar la presencia de los cristales en concentraciones de orden de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Crawley *et al.*, 1996).

Un sensor *in situ* de turbidimetría es de gran interés para la caracterización y el control *on-line* de las partículas de un proceso, así como para la obtención de datos sobre los mecanismos cinéticos prevalecientes (Crawley *et al.*, 1996). La precipitación se considera un proceso muy complejo, debido a los diferentes fenómenos que interactúan, los precipitados se forman a través de varios pasos; nucleación, crecimiento de cristales y tiempos de agregación y desintegración; siendo los dos últimos procesos no deseables en el análisis turbidimétrico (Lavilla *et al.*, 2009).

Los detectores situados alrededor del líquido miden la cantidad de luz transmitida y dispersada como un indicador de la turbidez, la cual depende de la longitud de onda del haz de luz y el ángulo en el que el detector está configurado (Pavanelli & Bigi, 2005). Las Unidades Nefelométricas de Formazina (FNU, por sus siglas en inglés) es una de las unidades de medida más utilizada para la turbidez, mide la turbidez usando una fuente de luz cercana al infrarrojo y un detector fijado en 90° del haz de luz (UNE - EN ISO 7027, 2001). La formacina es un material sintético estable con tamaño de partícula uniforme usado como patrón para la calibración (Harner *et al.*, 2010).

La repetitividad de las lecturas de turbidez, la simplicidad de la técnica, y la exposición mínima a errores de las mediciones hace que la turbidimetría sea adecuada para otras aplicaciones potenciales (Pavanelli & Bigi, 2005) como lo sería el seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel y su medición cuantitativa en el tiempo.

1.4 CINÉTICA DE FORMACIÓN DE PRECIPITADOS

La cristalización de grasas implica dos pasos: nucleación y crecimiento de cristales. La nucleación es el proceso durante el cual los primeros embriones estables que han superado el radio crítico se forman en la mezcla (Smith *et al.*, 2011). En esta etapa, el proceso puede ser homogéneo si los núcleos se forman espontáneamente por la interacción directa entre las molécula (Bootello *et al.*, 2011). Generalmente, las reacciones de precipitación se realizan mediante nucleación homogénea (McCabe *et al.*, 1991). La nucleación también puede ser heterogénea cuando el proceso tiene lugar en la superficie de las partículas o en las paredes del recipiente en contacto con la suspensión (Bootello *et al.*, 2011).

Una vez que se forman núcleos, éstos pueden crecer mediante la incorporación de moléculas de la fase líquida en la red cristalina. La velocidad y el patrón de crecimiento de los cristales dependerán de factores tales como el grado de subenfriamiento y la velocidad de difusión de las moléculas de cristalización de la fase líquida (Metin & Hartel, 2005). El crecimiento de cristales se detendrá cuando la concentración de los compuestos minoritarios alcance su constante de solubilidad en la matriz líquida a la temperatura de operación (Bootello *et al.*, 2011).

El estudio cinético de la cristalización describe un comportamiento sigmoideal de la fracción cristalina en función del tiempo (Arshad & Maaroufi, 2015). El modelo utilizado tradicionalmente para describir la cristalización isotérmica de grasas es el de Avrami (Avrami, 1941), sin embargo, el modelo de Gompertz ha demostrado que puede funcionar en este tipo de procesos (Foubert & Vanrolleghem, 2003).

1.4.1 Modelo de Johnson–Mehl–Avrami (JMA): El modelo de Avrami es el método más utilizado para la descripción de la cinética de cristalización. En la década de 1940, varios autores desarrollaron de forma independiente esta formulación cinética que han denominado la ecuación de Johnson-Mehl-Avrami-Kolmogorov (Wright et al., 2000). La teoría de Avrami tiene en cuenta que la cristalización se produce por la nucleación y posterior crecimiento de los cristales, ésta se basa en las siguientes suposiciones: a) condiciones de cristalización isotérmica, b) la nucleación puede ser homogénea o heterogénea de forma aleatoria y dispersa en el líquido, c) la velocidad de crecimiento de la nueva fase depende de la temperatura y es independiente del tiempo, d) existe baja anisotropía de crecimiento de cristales (Málek, 2000; Arshad & Maaroufi, 2015). De esta forma, el modelo puede ser descrito por la Ec. 1.

$$\alpha(t) = 1 - \exp[-k(T) * t^n] \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde $\alpha(t)$ es la fracción cristalina en el tiempo t , $k(T)$ y n son parámetros constantes con respecto al tiempo. $k(T)$ se define como un parámetro cinético que depende principalmente de la temperatura, con un comportamiento tipo Arrhenius; $k(T)$ refleja la tasa de frecuencia de nucleación y la tasa de crecimiento de los cristales y n es el exponente de Avrami.

El valor de n describe el mecanismo de crecimiento, por lo que depende del tipo de nucleación (instantánea o esporádica) y la morfología de los cristales durante la etapa de crecimiento (número de dimensiones en las cuales el cristal crece). La Tabla 2 muestra el valor de n que se espera para diferentes tipos de nucleación y crecimiento. Es importante señalar que este valor no está asociado con el tamaño del cristal (Dibildox-Alvarado & Toro-Vazquez, 1997).

Otro parámetro importante es el tiempo de inducción (t_0), éste puede ser definido como el tiempo transcurrido desde la creación de la sobresaturación en la solución hasta la detección de la nueva fase sólida. Por lo tanto, es una medida de la

capacidad de una solución sobresaturada a permanecer en el estado metaestable (Lenka & Sarkar, 2014).

Tabla 2. Valores para el parámetro n del modelo de Avrami.

N	Nucleación esperada	Tipo de crecimiento de los cristales
0+1=1	Instantánea	Lineal (1 dimensión)
0+2=2		En forma de placa (2 dimensiones)
0+3=3		Poliédrico (3 dimensiones)
1+1=2	Esporádica	Lineal (1 dimensión)
1+2=3		En forma de placa (2 dimensiones)
1+3=4		Poliédrico (3 dimensiones)

Tomado de Dibildox-Alvarado & Toro-Vázquez, 1997

La cristalización de materiales amorfos y otras transformaciones de la fase sólida son ejemplos de procesos descritos por el modelo de Avrami. Varias investigaciones han utilizado este modelo en el estudio de la cristalización de diferentes grasas (Metin & Hartel, 1998; Wright *et al.*, 2000; Mazzanti *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2009) mostrando, de manera general, un muy buen ajuste de los datos experimentales.

Recientemente, Corrêa *et al.*, (2010) emplearon la ecuación de Avrami para estudiar el efecto de la presencia de MG y TG (tripalmitina) en la cristalización del aceite de palma. Los resultados mostraron que el modelo se ajustó satisfactoriamente a los valores experimentales. Adicionalmente, lograron concluir que la adición de MG condujo a la formación de un gran número de núcleos de cristalización sin cambiar el contenido de sólidos finales. Por otra parte, niveles altos de tripalmitina producen cristales con dimensiones más grandes, reduciendo

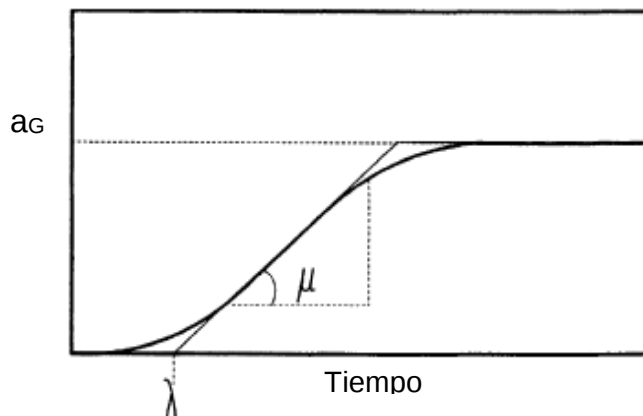
el tiempo de inducción y aumentando el nivel de sólidos en el final del periodo de cristalización.

1.4.2 Modelo Gompertz: La ecuación de Gompertz se utiliza a menudo para describir el crecimiento microbiano. Sin embargo, puede ser usada para describir el proceso de cristalización puesto que se presentan varias analogías con este proceso: el crecimiento bacteriano puede ser comparado con la nucleación y crecimiento de cristales; mientras que el consumo de nutrientes se asemeja a la disminución de la sobresaturación (Kloek et al., 2000; Foubert & Vanrolleghem, 2003). Por tanto, los parámetros del modelo de Gompertz biológicamente significativos pueden ser expresados en términos del proceso cristalización. La reparametrización del modelo de Gompertz es descrita en la Ec. 2.

$$\alpha(t) = a_G * \exp\{-\exp[\mu * (\lambda - t) + 1]\} \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde a_G es el valor máximo para la fracción cristalina $\alpha(t)$, μ es la velocidad de crecimiento y λ es el tiempo de inducción definido como la intersección de la tangente en el punto de inflexión con el eje del tiempo. La representación visual de los parámetros μ y λ se observan en la Figura 3.

Figura 3. Representación parámetros Gompertz. Tomado de Foubert & Vanrolleghem, 2003.



Kloek *et al.* (2000) usaron la ecuación de Gompertz modificada para describir la cinética de cristalización de mezclas de aceite de palma hidrogenado en aceite de girasol. Mientras que, Vanhoutte *et al.* (2002) compararon los modelos de Avrami y Gompertz modificado para explicar el efecto de fosfolípidos y agua en la cristalización isotérmica de la grasa de la leche. En sus resultados encontraron que el modelo de Gompertz modificado se ajustaba mejor a los valores experimentales, siendo el coeficiente de determinación (R^2) de la ecuación de Avrami ligeramente menor que el de Gompertz modificado. Por otra parte, Bootello *et al.* (2011) estudiaron la cinética de cristalización del aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico y esteárico, los datos experimentales obtenidos se ajustaron adecuadamente utilizando los modelos de Gompertz y Avrami. Sin embargo, cabe resaltar que el ajuste del modelo de Gompertz fue mucho mejor en todos los casos; el R^2 fue superior 0,99.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la influencia de la presencia de monoglicéridos saturados y esteril glucósidos libres en la formación y crecimiento de *haze* en el biodiésel de aceite de palma mediante el seguimiento de su concentración en función del tiempo y su caracterización fisicoquímica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el diseño, montaje y puesta en marcha de una unidad a escala laboratorio para la detección y cuantificación de precipitados usando turbidimetría *on-line*.
- Determinar el efecto de la concentración de MGS y EGL en biodiésel de aceite de palma sobre la cantidad de *haze* formado durante períodos de tiempos definidos y temperatura controlada.
- Evaluar la relación entre la composición química y la morfología del *haze* formado en función de la concentración inicial de MGS y EGL en el biodiésel de aceite de palma.

3 METODOLOGÍA

3.1 MATERIALES

El BP comercial utilizados en este estudio fue suministrado por Ecodiesel Colombia S.A. y Oleoflores S.A. Se utilizó un patrón de monopalmitina (MGS de 16 carbonos) con grado de pureza >99% proporcionado por Un-Cheek Prep INC. (Elysian, MN) y un patrón de la mezcla EGL con pureza de >98% provistos por Matreya LLC (Pleasant Gap, PA). Los solventes empleados fueron de grado analítico. Se usó cloroformo, n-heptano, n-hexano y metanol suministrados por MERCK (Alemania) y J.T. Baker (Trinidad y Tobago). Los agentes secantes usados fueron silica gel 60 (0,063 – 0,200mm) y sulfato de sodio, marca MERCK (Alemania).

3.1.1 Destilación y caracterización del biodiésel de palma: La destilación del BP se realizó a una temperatura de 180-200 °C, 86 kPa por debajo de la presión atmosférica, durante 180 min. El BPD se caracterizó mediante la aplicación de la norma ASTM D6584 para la determinación del contenido de MG, y la aplicación de un método desarrollado por el ICP-Ecopetrol (procedimiento ICP CLR-CRO-I-091) para la determinación del contenido de EGL. Adicionalmente, se determinó el contenido de agua usando un titulador volumétrico Hanna Instruments HI 903 Karl-Fisher y se cuantificó la densidad utilizando un picnómetro.

Una parte del BPD fue secado para las pruebas, el BPD seco fue obtenido adicionando inicialmente 10 g de Na₂SO₄ por cada 100 g de BDP. La mezcla obtenida se agitó constantemente durante 24 horas para posteriormente, separar el sulfato mediante decantación y filtración. La segunda etapa de secado consistió en hacer fluir el biodiésel a través de un lecho de sílica gel. El sulfato de sodio y la

sílica gel fueron activadas previamente durante 24 horas a 240°C y 110°C, respectivamente. Finalmente, el biodiésel se rotoevaporó a 40°C, 50 mbar y 80 rpm durante 3 horas. El biodiésel seco se almacenó en un desecador, en botellas ámbar de 500 mL a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. El producto de este proceso fue denominado biodiésel de palma destilado seco (BPDs).

El biodiésel no puede ser humidificado mediante la adición directa del agua. Por lo tanto, otra parte del BPD se mezcló con agua desionizada en un embudo de separación agitando vigorosamente; la mezcla se dejó en reposo durante 3 días. La cantidad de agua que no se mezcló con el biodiésel fue separada y el producto de este proceso se denominó biodiésel de palma destilado húmedo (BPDh). La humedad del BPDh y BPDs se determinó utilizando el analizador Karl-Fisher.

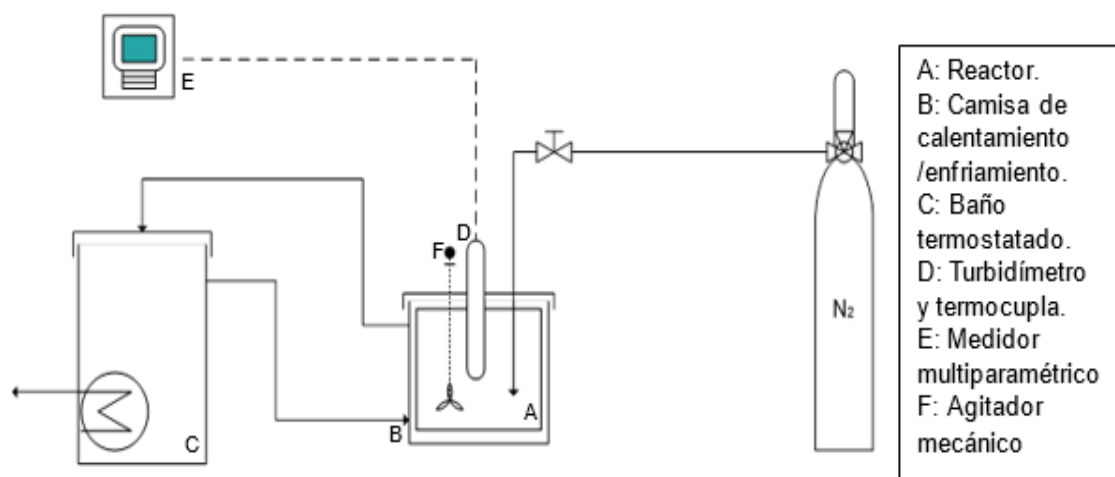
3.2 UNIDAD EXPERIMENTAL

El montaje experimental de la unidad experimental para la cuantificación del *haze* formado en BP se realizó de acuerdo con la Figura 4. El sistema está constituido por un recipiente de vidrio de base redonda de 80 mm diámetro y 140 mm de altura, rodeado de una camisa de calentamiento/enfriamiento de vidrio de 104 mm de diámetro y 170 mm de altura. El control de temperatura se realizó utilizando un baño termostatado marca LAUDA ref. LCK 4907. El recipiente de vidrio cuenta con una tapa de acero inoxidable con tres orificios céntricos circulares; el primero, permite la entrada de nitrógeno para garantizar una atmósfera inerte. El segundo, ubicado en el centro de la tapa, permite la introducción de la sonda de turbidez HANNA Instruments HI 7609829-4 y una termocupla; estos dos sensores acoplados a un medidor multiparamétrico HANNA Instruments HI9829, mediante el cual se registraron y almacenan los datos de temperatura, tiempo y turbidez. El último orificio, permite la inclusión de un agitador mecánico (marca IKA

LABORTECHNIK RW20.n) con pala de hélice de cuatro aspas. El recipiente en vidrio fue aislado lumínicamente con el fin de que la luz externa no interfiera con las medidas de turbidez. En todas las pruebas, se utilizaron 300 mL de muestra los cuales fueron cargados en el recipiente de vidrio para posteriormente realizar el registro de la turbidez, expresada FNU.

Se realizaron pruebas preliminares variando la velocidad de agitación y la altura de la sonda de turbidez en el reactor para determinar las condiciones de operación adecuadas (Ver ANEXO A). Adicionalmente, otras pruebas preliminares se realizaron para evaluar el potencial de la técnica de turbidimetría en el seguimiento de los precipitados del BP (Ver ANEXO B) y determinar el efecto de la temperatura en la señal del turbidímetro (Ver ANEXO C) (Pedraza, 2014; Mendoza *et al.*, 2015).

Figura 4. Unidad experimental para la cuantificación de haze formado en BP.



3.3 PRUEBAS EXPERIMENTALES

Todas las pruebas para evaluar la influencia de la presencia de MGS y EGL en la formación y crecimiento de precipitados en el BP fueron realizadas en la unidad

experimental descrita en la Figura 4 usando como protocolo de trabajo el descrito en el Anexo D, el cual tomó como base la norma ASTM D7501, que mide el CSFT. Cabe aclarar que se realizaron varias pruebas preliminares para validar la metodología aplicada en este estudio, éstas se presentan en los Anexos A, B y C. Una vez la metodología fue validada, se realizaron otras pruebas preliminares, las cuales permitieron determinar la temperatura operación de la unidad.

3.3.1 Determinación de la temperatura de operación de la unidad: Se realizaron varias pruebas con BP comercial siguiendo los protocolos establecidos por las normas ASTM D7501 y ASTM D7321 con el fin de determinar la temperatura de operación que se usaría en las pruebas de formación de precipitados a partir de BPD dopado con MGS y EGL, y caracterizar los precipitados formados en las muestras de BP comercial. En esta sección cada prueba se realizó por triplicado.

Dos temperaturas de incubación del BP fueron seleccionadas para favorecer la formación de precipitados fueron 4 °C y 18 °C. La temperatura de 4 °C fue elegida de acuerdo con la norma ASTM D7501 (prueba CSFT) y se encuentra por debajo del punto de nube del PB. En el caso de la temperatura de 18 °C, ésta fue seleccionada por encontrarse por encima del punto de nube del BP. Una vez las pruebas fueron realizadas, dos de las muestras se filtraron para determinar el tiempo de filtrado (TF) y el contenido de precipitados, y la otra se destinó para aislar y caracterizar los precipitados formados, según protocolo descrito más adelante (ítem 4.4.2). Los precipitados formados a 4 °C se denominaron como Hz1, mientras que, los precipitados formados a 18 °C se denominaron como Hz2.

3.3.2 Evaluación de la influencia de la presencia de MGS y EGL en la formación y crecimiento de precipitados en el BP: La evaluación del efecto de la concentración de los compuestos minoritarios y contaminantes en la formación de precipitados fue realizada en tres etapas utilizando biodiésel de palma destilado (BPD). En la primera etapa se evaluó únicamente el efecto de MGS, mientras que en la segunda, el efecto de la presencia de EGL fue evaluado y finalmente, se evaluó el efecto combinado de la presencia de MGS y EGL. En los tres casos, se trabajó con diferentes niveles de humedad debido a que no fue posible secar completamente el biodiésel, por tanto, adicionalmente se evaluó el efecto de agua en la formación de precipitados. Para ello, cada muestra de BPD fue dopada con cantidades definidas de MGS, EGL y agua hasta obtener las concentraciones deseadas. En esta sección cada prueba se realizó por duplicado.

Preparación de muestras de BPD dopados con MGS: El BPDh se mezcló con dos cantidades específicas de BPDs para obtener muestras de 300 mL BPD con diferentes contenidos de humedad. La humedad de las mezclas fue determinada utilizando el analizador Karl Fischer.

Para evaluar el efecto de los MGS sobre la formación de precipitados, se seleccionó la monopalmitina (MP) como molécula modelo debido a que ésta es el principal MGS presente en el BP de acuerdo con el perfil de ácidos grasos del BP comercial (Ver ANEXO E). Las concentraciones de MP usadas para dopar el BPDs se escogieron teniendo en cuenta la norma EN 14214, la cual establece un contenido máximo de 8000 ppm de MG y las investigaciones realizadas por Chupka *et al.* (2011) y Plata *et al.* (2015b), quienes reportaron que las concentraciones normales de MG en el biodiésel oscila entre 1000 y 3000 ppm. Con el fin de solubilizar completamente la MP en el BPD, la mezcla resultante se calentó en un baño a 65 °C durante una hora con agitación constante y en atmósfera de N₂. La Tabla 3 presenta el nombre de las muestras preparadas en función de MP y agua adicionadas al BPD.

Tabla 3. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de monopalmitina (MP) y agua.

Nombre	Concentración [ppm]	
	MP	Agua
M1500H185	1500	Mínima (BPDs)
M2250H185	2250	
M3000H185	3000	
M1500H500	1500	500
M2250H500	2250	
M3000H500	3000	
M1500H900	1500	900
M2250H900	2250	
M3000H900	3000	

Preparación de muestras de BPD dopados con EGL: Para la preparación de las muestras con diferentes cantidades de EGL se utilizó una solución stock obtenida de la disolución del patrón de EGL en una mezcla de cloroformo/metanol (85/15 v/v) de acuerdo con el protocolo establecido por Moreau *et al.* (2008). Esto debido a la insolubilidad de los EGL en el biodiésel necesitando, por tanto, el uso de un medio de transporte que facilite su dispersión homogénea en el BPD. Una vez la solución stock fue preparada, se agregaron volúmenes específicos de ésta al BPDs para lograr muestras a concentraciones definidas de EGL. Posteriormente, el BPD dopado se rotoevaporó (70 mbar de presión y 65 °C durante 2 h) para eliminar la mezcla de cloroformo/metanol del BPD (Plata *et al.*, 2015b). Después de retirar la mezcla de cloroformo/metanol, el BPDs dopado se mezcló con BPDh hasta alcanzar un volumen de 300 mL. La humedad de las mezclas fue

determinada utilizando el analizador Karl Fischer. La Tabla 4 presenta el nombre y número de muestras preparadas en función de EGL y agua en BPD.

Tabla 4. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de EGL y agua.

Nombre	Concentración [ppm]	
	EGL	Agua
E10H185	10	Mínima (BPDs)
E30H185	30	
E50H185	50	
E10H500	10	500
E30H500	30	
E50H500	50	
E10H900	10	900
E30H900	30	
E50H900	50	

Preparación de muestras de BPD dopados con EGL y MP: Para evaluar el efecto combinado de la presencia de MGS, EGL y agua sobre la formación de precipitados en el BP se prepararon mezclas de BPDh y BPDs con diferentes cantidades de MP y EGL. Una cantidad definida BPDh fue dopado con MP, mientras que una cantidad de BPDs fue dopado con la solución stock de EGL, en ambos casos, se realizó el protocolo de solubilización descrito anteriormente. El BPDs y el BPDh se mezclaron para alcanzar un volumen total de 300 mL con el contenido de humedad deseado para cada experimento. La humedad de las mezclas fue determinada utilizando el analizador Karl Fischer. La Tabla 5 presenta el nombre y número de muestras preparadas en función de MP, EGL y agua en BPD.

Tabla 5. Nombre de muestras preparadas en función de concentraciones de MP, EGL y agua.

Nombre	Concentración [ppm]		
	MP	EGL	agua
M1E1H2	1500	10	500
M1E2H2	1500	30	
M2E1H2	2250	10	
M2E2H2	2250	30	
M1E1H3	1500	10	900
M1E2H3	1500	30	
M2E1H3	2250	10	
M2E2H3	2250	30	

3.3.3 Seguimiento de la formación de precipitados mediante turbidimetría:

En general, para cada una de las concentraciones definidas se prepararon dos muestras. Ambas muestras se cargaron en la unidad experimental para realizar el seguimiento de la formación de los precipitados. Como variable de respuesta se registró la turbidez medida en FNU cada 2 min durante 16 h. Al finalizar este tiempo de incubación del BPD, una de las muestras se utilizó para determinar la concentración de precipitados de acuerdo con el procedimiento que se explica a continuación (ítem 4.4.1), y la otra se destinó para aislar y caracterizar los precipitados que se habían formado de acuerdo con el protocolo que se indica posteriormente (ítem 4.4.2).

Utilizando los datos de la concentración de precipitados y la turbidez final de cada una de las muestras dopadas se construyeron unas curvas de calibración que permitieron relacionar la concentración de precipitados de una muestra con su turbidez. Estas curvas de calibración se usaron para convertir los datos de la

turbidez registrada cada 2 min en valores de la concentración de precipitados y construir el perfil de concentración de los precipitados con respecto al tiempo de incubación del BPD dopado con las diferentes cantidades de compuestos minoritarios y contaminantes.

3.4 ANÁLISIS DE PRECIPITADOS FORMADOS DE BP

3.4.1 Determinación de contenido de precipitados: El contenido de precipitados se determinó de acuerdo con la norma ASTM D7321. El biodiésel fue filtrado a través de una membrana de microfibra de vidrio de 0,7 μm de diámetro de poro (Whatman GF / F, de 47 mm de diámetro, Piscataway, NJ) con presión de vacío de 70 a 80 kPa. La filtración se realizó hasta que todo el biodiésel pasó a través del filtro. Después de la filtración, las botellas que contenían el biodiésel, el embudo y la membrana se lavaron con n-heptano, este lavado se filtró igualmente a través de la membrana. Posteriormente, la membrana de microfibra de vidrio se secó en un horno a 110 °C durante 30 min para eliminar el solvente y se pesó. La masa de precipitados se calculó a partir del incremento de la masa en la membrana. En el caso de las muestras de BP comercial se registró también el tiempo de filtrado.

3.4.2 Aislamiento de los precipitados formados: Las muestras de biodiésel que no se filtraron fueron centrifugadas a una velocidad de 3100 rpm y 15 °C durante 5 min. El biodiésel sobrenadante se desechó, y los precipitados sedimentados en el fondo de los tubos de centrifuga fueron lavados con 10 mL de n-hexano, y centrifugados a 25 °C y 3100 rpm durante 5 min, desechando el sobrenadante. Para eliminar cualquier exceso de biodiésel, los precipitados se lavaron y centrifugaron dos veces más. Finalizado este proceso, los precipitados se aislaron y secaron en un horno a 55 °C durante 30 minutos para eliminar el exceso de n-hexano. La caracterización de los precipitados aislados se realizó mediante DSC, FTIR y SEM/ EDS.

3.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS PRECIPITADOS FORMADOS

Se realizó la caracterización de las muestras por FTIR con el fin de determinar los grupos funcionales presentes en los precipitados y así obtener la composición química de éstos. Se utilizó un espectrómetro Bruker Tensor 27 equipado con un atenuador de reflectancia total (ATR) con cristal de diamante. Todos los espectros se obtuvieron en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} utilizando un promedio de 32 barridos, con una resolución espectral de 4 cm^{-1} .

El análisis DSC se realizó para verificar la composición química de los precipitados y determinar las fases de los compuestos o posibles polimorfismos. En este caso se utilizó un equipo TA DSC Q10 equipado con un sistema de refrigeración, como gas de purga se utilizó nitrógeno a un flujo de 50 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Cada muestra (~ 1 mg) se selló en portamuestras de aluminio Tzero, y un portamuestra vacío se utilizó como referencia. Las muestras se equilibraron a 20 °C durante 1 min, posteriormente, se calentaron a 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ a 110 °C. Después de permanecer a esta temperatura durante 1 min, las muestras se enfriaron hasta -10°C a la misma

velocidad, a continuación, la temperatura se mantuvo a -10 °C durante 1 min y luego se calentó hasta 350 °C a la misma velocidad.

Finalmente, los análisis SEM/EDS se realizó para determinar la morfología de los precipitados, es decir, conocer su tamaño y forma, y determinar la composición elemental. Para esta prueba se usó un equipo FEG Quanta 650 con 10 kV y magnificación de hasta 5000X.

3.6 ANÁLISIS MATEMÁTICO

La formación de los precipitados a través del tiempo fue modelada siguiendo la teoría de Avrami (Ec. 1) y el modelo de Gompertz modificado (Ec. 2). Los valores de los parámetros de Avrami k y n se obtuvieron al linealizar la Ec 1. La regresión lineal se realizó utilizando el *software* OriginPro 8.0 (OriginLab Corp., Northampton, EEUU). La velocidad de formación, dx/dt , se obtuvo derivando la Ec. 2 con respecto al tiempo a temperatura constante (Ec. 3).

$$\frac{d\alpha}{dt} = \mu * a_G * \exp\{-\exp[\mu * (\lambda - t) + 1]\} * \exp[\mu * (\lambda - t) + 1] \quad \text{Ec. (3)}$$

Otro parámetro importante que relaciona directamente las constantes de Avrami descritas anteriormente, es el tiempo medio ($t_{1/2}$) de cristalización (Ec. 4) y se define como el tiempo necesario para alcanzar el 50% de la fracción cristalina (Ramón *et al.*, 2011). Adicionalmente, se reportó el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación del BPD dopado hasta la detección del inicio del incremento de la concentración de precipitados, este tiempo fue denominado tiempo inducción experimental (t_0).

$$t_{1/2} = \left(\frac{\ln 2}{K}\right)^{1/n} \quad \text{Ec. (4)}$$

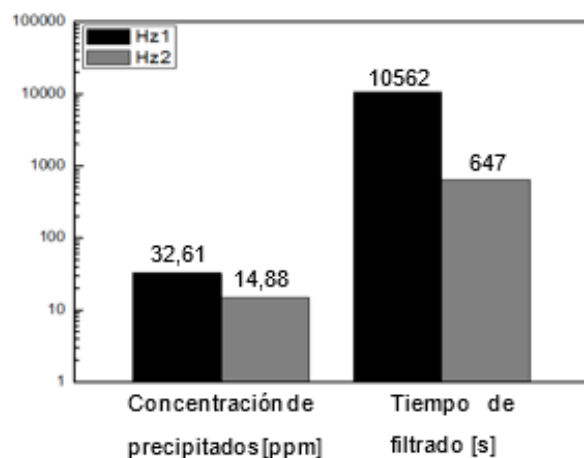
La estimación de los parámetros de la ecuación de Gompertz modificado (Ec. 2) se realizó por regresión no lineal usando el *software* OriginPro 8.0 (OriginLab Corp., Northampton, EEUU).

4 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Determinación de la temperatura de operación

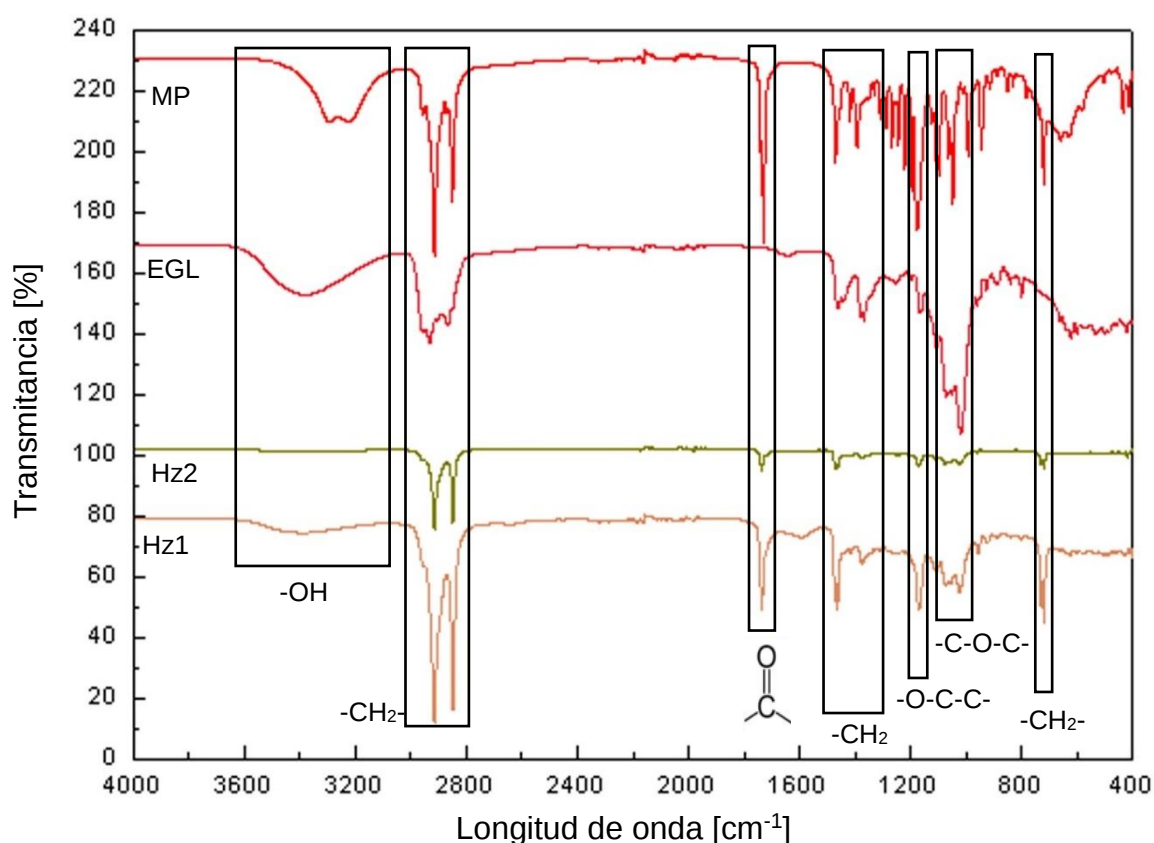
Un objetivo preliminar de este estudio consistió en evaluar el efecto de la temperatura sobre la naturaleza de los precipitados formados en BP con el fin de determinar la temperatura de operación de la unidad experimental para el seguimiento de la formación de los precipitados. Se trabajaron dos condiciones; por encima y por debajo del punto de nube del BP. Como se muestra en la Figura 5, la cantidad de precipitados en el BP que se incubó a 4 °C fue mayor que la cantidad que se incubó a 18 °C, confirmando un efecto de la temperatura sobre la formación de *haze* del biodiésel. Así mismo, se observó que el tiempo de filtrado (TF) del BP incubado a 4 °C también fue superior. En este caso, el aumento en el TF puede ser atribuido al aumento en el contenido de precipitados. Estos resultados fueron consistentes con el resultado obtenidos por Tang *et al.* (2008b) quienes encontraron que el contenido de precipitado y TF de biodiésel a partir de varias materias primas aumentaron notablemente con la disminución de la temperatura.

Figura 5. Cantidad de precipitados y tiempo de filtrado del BP incubado a 4°C (Hz1) o 18 °C (Hz2) por 16 h.



Análisis por FTIR: En la Figura 6 se muestran los espectros FTIR de los precipitados aislados (muestras Hz1 y Hz2). Se observa que las dos muestras presentan grupos funcionales iguales asociados a compuestos de tipo EGL, por ejemplo el enlace -OH (3384 cm^{-1}), los picos atribuidos a estiramientos asimétricos y simétricos del grupo C-O-C (1262 y 1018 cm^{-1}) y los asimétricos de O-C-C (1168 cm^{-1}) propios del enlace glucósido característico de EGL (Tang *et al.*, 2008b).

Figura 6. FTIR de precipitados incubados a 4°C (Hz1) y 18°C (Hz2), patrones de monopalmitina (MP) y esteril glucósidos libres (EGL).



Adicionalmente, se observan los picos fuertes debido a estiramientos -CH₂ asimétricos y simétricos (2915 y 2850 cm^{-1}), vibraciones de la absorción de CH₂ (1466 cm^{-1}), estiramiento -C=O (1730 cm^{-1}), y flexión del -CH₂ (719 cm^{-1}) característicos de monoglicéridos (MP en la Figura 6), indicando la presencia de éstos en ambos precipitados. Esto fue consistente con lo reportado por Plata *et al.*

(2015a) quienes determinaron que los compuestos presentes en los precipitados de BP comercial eran principalmente EGL y MGS, especialmente monopalmitina (MP). Por otra parte, se observa que los picos mencionados anteriormente son más intensos en el espectro de la muestra Hz1; comportamiento que puede atribuirse a que dicha muestra contiene una mayor cantidad de EGL y MG debido probablemente a una temperatura de incubación más baja (4°C) que ocasionó la disminución de la solubilidad de EGL y MGS en el BP.

De acuerdo con los resultados, la composición química del *haze* formado a 4 y 18°C es la misma y está constituido principalmente por EGL y MG. Sin embargo, la cantidad de estos compuestos es diferente y depende de la temperatura de incubación; se encontró una mayor cantidad de *haze* cuando dicha temperatura está por debajo del punto de nube.

Análisis por DSC: En la Figura 7a se observa el termograma del patrón de MP, en el cual se pueden distinguir diferentes eventos endotérmicos y exotérmicos que corresponden a la fusión, cristalización y transformaciones polimórficas de las distintas fases en que puede existir la MP. Como se mencionó anteriormente, los MG pueden existir en varios polimorfos denominados sub- α , α , β , los cuales tienen diferentes propiedades físicas; siendo la forma β el polimorfo más estable y con mayor punto de fusión (Vereecken *et al.*, 2009). En el biodiésel, la MP precipita inicialmente en uno de los polimorfos de bajo punto de fusión y se transforma en la forma β con el tiempo durante el almacenamiento (Chupka *et al.*, 2011).

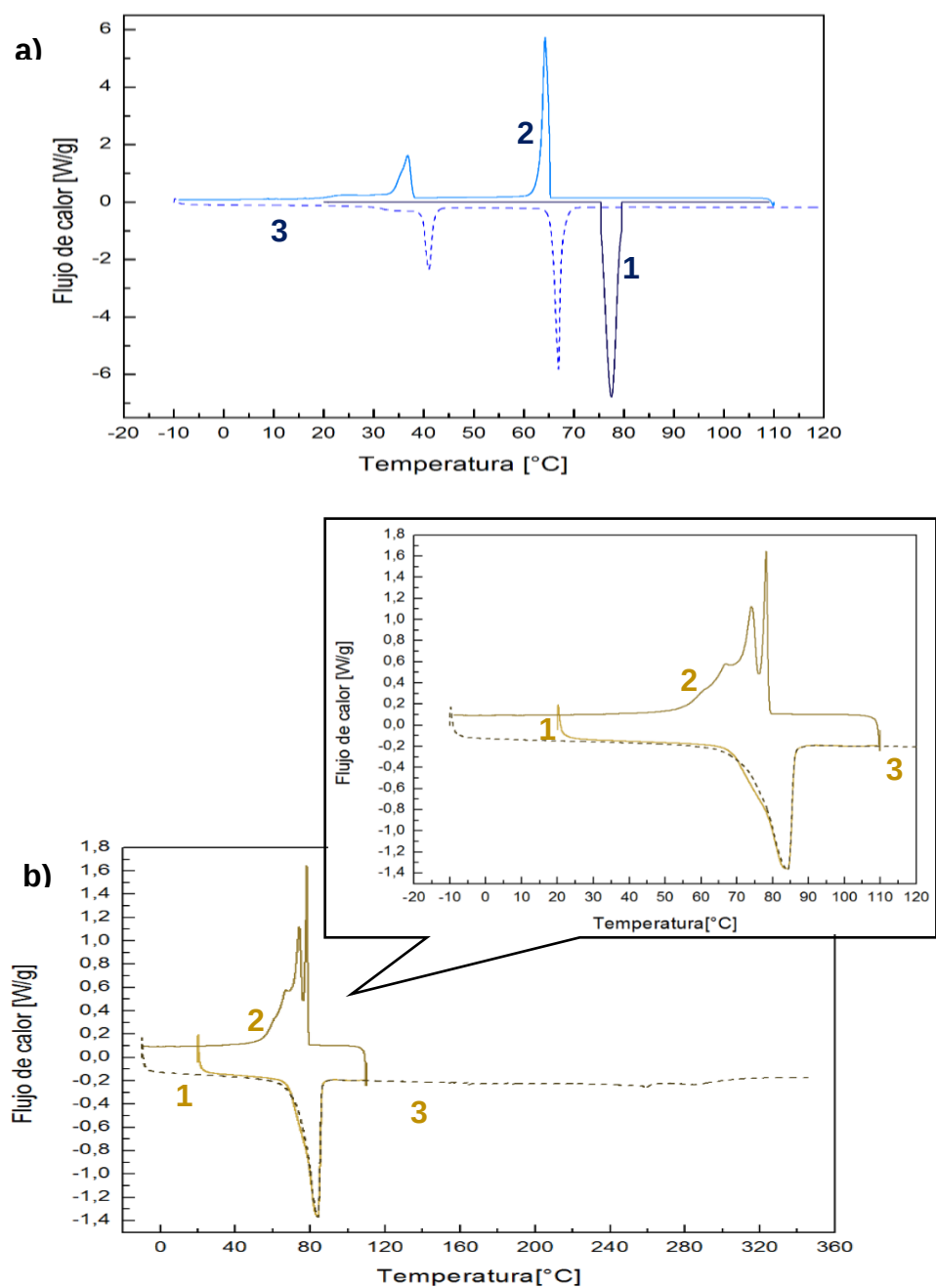
Después de fundida, la forma β no se forma de nuevo al enfriarse; en su lugar, se forma la forma α . Cuando la forma α es enfriada suficientemente, por acción de la disminución de la temperatura se somete a una transición polimórfica a la forma sub- α (Vereecken *et al.*, 2009). Esto es consistente con los picos observados en el patrón de MP, en la Figura 7a se observa la fusión de la fase β a 77,50 °C; posteriormente, durante la etapa de enfriamiento se observan dos picos exotérmicos a 64,24 y 36,81°C debido a la cristalización de las fases α y sub- α , respectivamente. Finalmente, esta misma transición se observó durante el

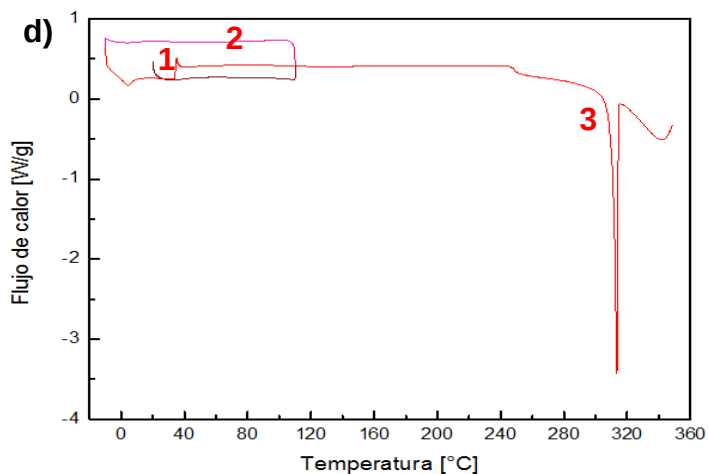
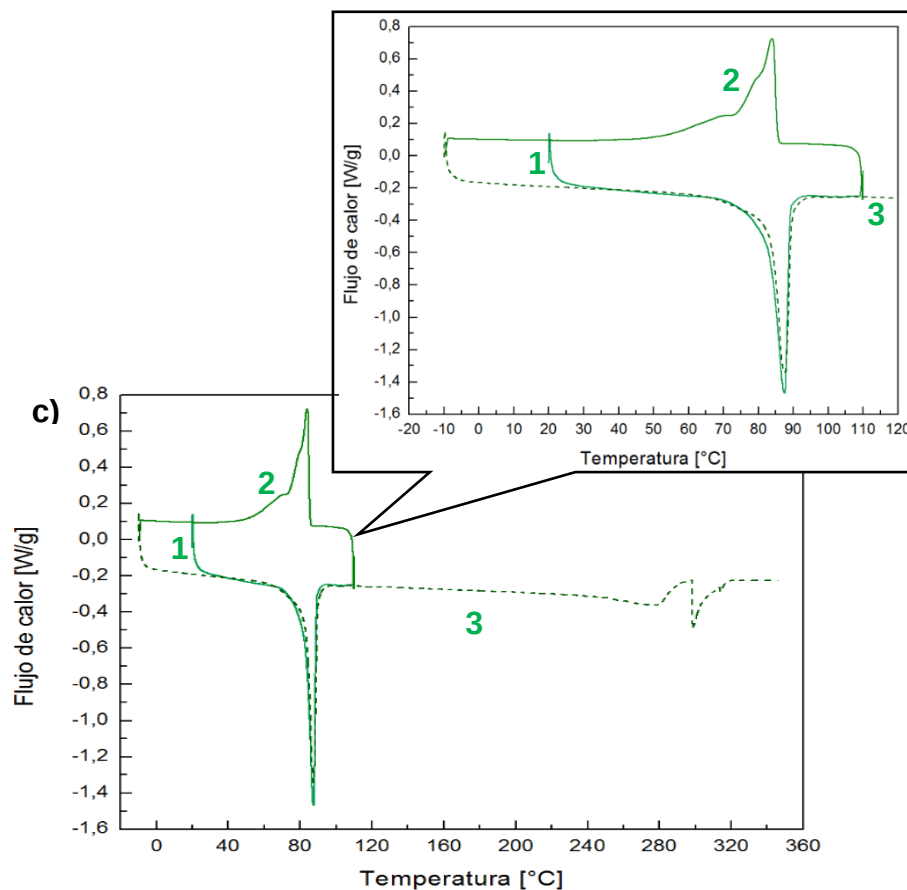
recalentamiento, es decir, dos picos endotérmicos a 40,98 y 66,93°C, lo que indica que las fases fundidas fueron sub- α y α , respectivamente.

Estas temperaturas descritas anteriormente no se observaron en los termogramas de los precipitados que se aislaron del BP comercial. Sin embargo, las curvas de DSC de los precipitados mostraron tendencias similares para las muestras incubadas a temperaturas de 4 y 18°C (Figura 7b y 7c). En general, se observa un amplio pico endotérmico durante la etapa de calentamiento (a una temperatura cercana a 85°C), seguido por una serie de picos exotérmicos durante la etapa de enfriamiento (a una temperatura aproximada de 80°C), un amplio pico endotérmico durante la etapa de recalentamiento, a la misma temperatura del pico observado durante la etapa de calentamiento y un último pico endotérmico a una temperatura de aproximadamente 300°C. Este último siendo más evidente en la muestra Hz2. Este último evento endotérmico muestra la presencia de EGL, los cuales sufren una descomposición térmica aproximadamente a 300°C (Plata *et al.*, 2015a), como lo muestra la Figura 7d.

Lo anterior evidencia que la presencia de EGL y otros componentes minoritarios y contaminantes afectan el comportamiento polimórfico de los precipitados, ocasionando que en los precipitados se formen unas fases distintas a cualquiera de las fases conocidas (sub- α , α y β) con una mayor temperatura de fusión y posiblemente con una menor solubilidad en el biodiésel. Esta menor solubilidad promovería una mayor formación de precipitados de los que se formarían si únicamente estuvieran presentes los MG (Chupka *et al.*, 2012).

Figura 7. a) DSC patrón MP, b) DSC precipitados incubados a 4°C (Hz1), c) DSC precipitados incubados 18°C (Hz2) y d) DSC patrón EGL. En cada figura 1 es la línea de calentamiento de 20 a 110 °C, 2 el enfriamiento de 110 a -10 °C y 3 el segundo calentamiento de -10 a 350 °C.



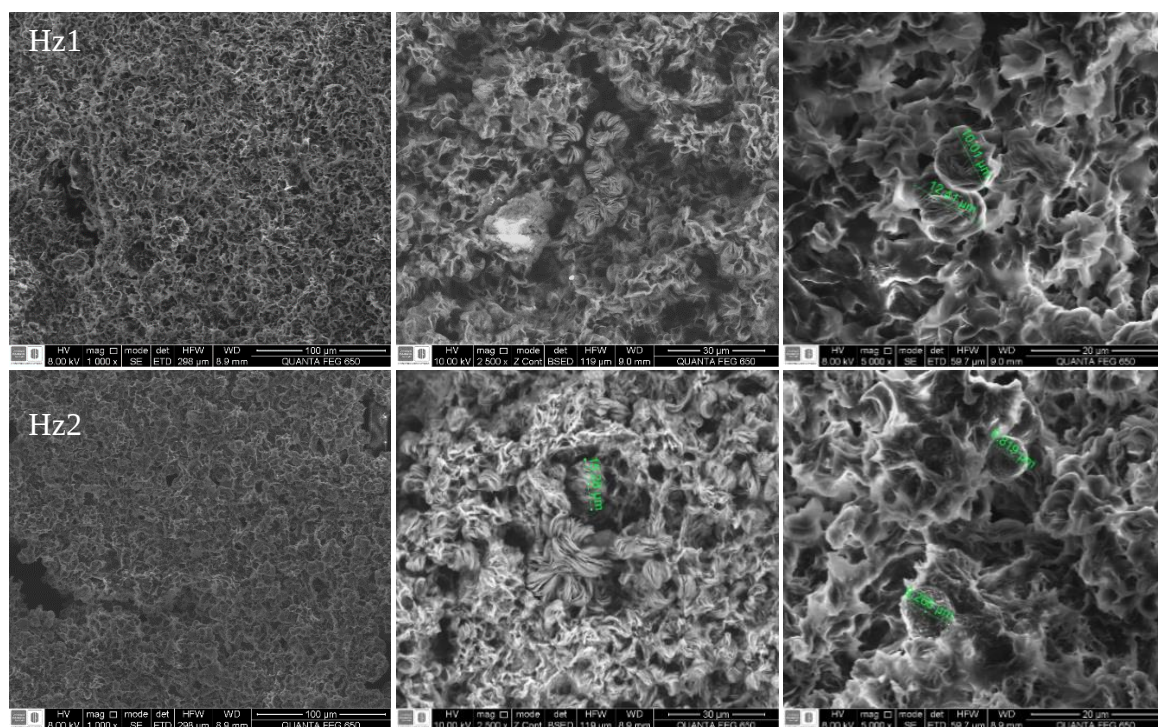


Estos resultados sumados al análisis obtenido por FTIR, permiten asegurar que la temperatura de incubación de los precipitados no tiene influencia en su composición; es decir, que éstos están conformados por MG y EGL en cualquiera de los dos casos (4 o 18°C de temperatura de incubación). Adicionalmente, según

los resultados del análisis DSC, tampoco existe una influencia en el comportamiento térmico que se da durante la formación de *haze*. El efecto de la temperatura de incubación parece limitarse a la obtención de una menor o mayor cantidad de éstos.

Análisis por SEM/EDS: Los análisis SEM permiten confirmar igualmente estos resultados; los precipitados formados a 4 °C son físicamente iguales a los formados a 18 °C (Figura 8). De acuerdo al análisis SEM, la estructura de los precipitados formados consiste en estructuras esféricas incorporadas a una red de estructuras en forma de hojuelas a su vez rodeadas de estructuras amorfas.

Figura 8. Imágenes por SEM de precipitados incubados a 4°C (Hz1) y a 18°C (Hz2).



Los análisis de EDS mostraron que estos precipitados estaban formados principalmente por carbono y oxígeno. Adicionalmente, se encontró sodio en las estructuras esféricas, indicando la posible presencia de sales de ácidos grasos en los precipitados. Se ha demostrado que la presencia de estas sales pueden contribuir a la formación de precipitado, debido a su baja solubilidad en biodiésel y

la posibilidad de interactuar con especies de glicerina y glicéridos para generar un coloide (Lin *et al.*, 2011).

La composición elemental promedio de las estructuras amorfas (95%p/p de C, 5%p/p de O) fue similar a la de la β -sitosterol glucósido (92%p/p de C, 8%p/p de O). Mientras que la composición elemental de las estructuras en forma de hojuelas (80%p/p de C, 20%p/p de O) fue similar a la de la MP (83%p/p de C, 17%p/p de O). Se encontraron redes de estructuras complejas que poseen diferente composición química y morfología formadas por la interacción de EGL, MGS y sales de ácidos grasos. La comparación entre las dos muestras obtenidas a temperaturas de incubación diferentes, muestra que no existe una influencia significativa de dicha temperatura en las estructuras formadas y constituyentes de los precipitados.

En resumen, el contenido de precipitado y TF de BP incubado a 4 °C registraron los mayores valores comparados con los registrados para el BP incubado a 18 °C, lo que confirma que la temperatura tiene un efecto sobre la cantidad de precipitados formados en el biodiésel. Sin embargo, los análisis de caracterización (SEM/EDS, DSC, FTIR) realizados a los precipitados aislados revelaron que la temperatura de formación de los precipitados no afecta significativamente la naturaleza del *haze*, puesto que, no se encontraron diferencias en la morfología, composición química y perfil térmico entre precipitados formados por encima y por debajo del punto de nube del BP. Teniendo en cuenta los resultados anteriores se puede inferir que es posible realizar un seguimiento de la formación del *haze* de BP por encima de la temperatura de 4°C establecida en la norma ASTM D7501 sin que se afecte la naturaleza de dichos precipitados.

4.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE MONOGLICÉRIDOS SATURADOS (MONOPALMITINA) Y AGUA EN LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO

De acuerdo con la caracterización descrita en ítem 4.1.1 (ver Tabla 6), se puede observar que el BPD cumplió con las especificaciones establecidas por la norma EN 14214 para los parámetros evaluados; además, las bajas concentraciones de MG, EGL y agua obtenidas en éste permitieron garantizar un biodiésel adecuado para doparlo con los patrones seleccionados con el fin de realizar las pruebas descritas en los ítems 4.3.2 y 4.3.3. Sin embargo, cabe aclarar que éste presentó una ligera nubosidad o turbidez después de agitación evidenciando que, aunque la destilación al vacío es el método más efectivo para remover los componentes contaminantes y minoritarios del biodiésel, el proceso no logra una eliminación total de estos compuestos (Tang *et al.*, 2010) como se constata en la Tabla 6.

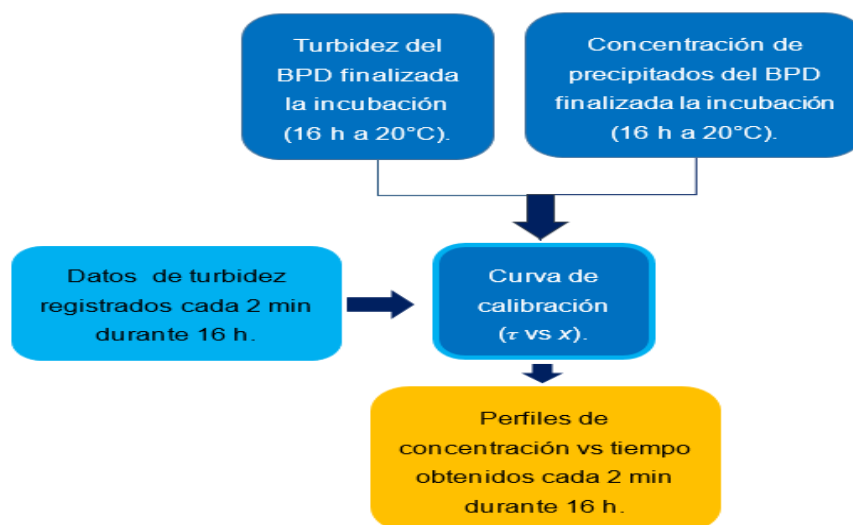
Tabla 6. Caracterización biodiésel de palma destilado (BPD).

PARÁMETRO	UNIDAD	BP	DPDs	DPDh	Norma EN 14214
Densidad	kg*m ⁻³	879	865		860-900
Contenido MG	ppm	4500	223		8000 máx.
Contenido EGL	mg*L ⁻¹	-	< 1,9		-
Contenido H ₂ O	ppm	300	185	1124	500 máx

Como se observa en la Figura 9, los datos de turbidez final del BPD dopado, expresados en FNU, y los valores de la concentración de precipitados, expresados en ppm, se utilizaron para construir diferentes curvas de calibración que relacionaran estas dos variables, las cuales fueron descritas mediante modelos de primer orden por regresión lineal (Tabla 7). Posteriormente, estas curvas se usaron para convertir los datos de turbidez registrados cada 2 min durante las 16 h

de incubación en valores de concentración de precipitados formados durante este periodo, obteniéndose así los perfiles de concentración versus tiempo.

Figura 9. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con MP.



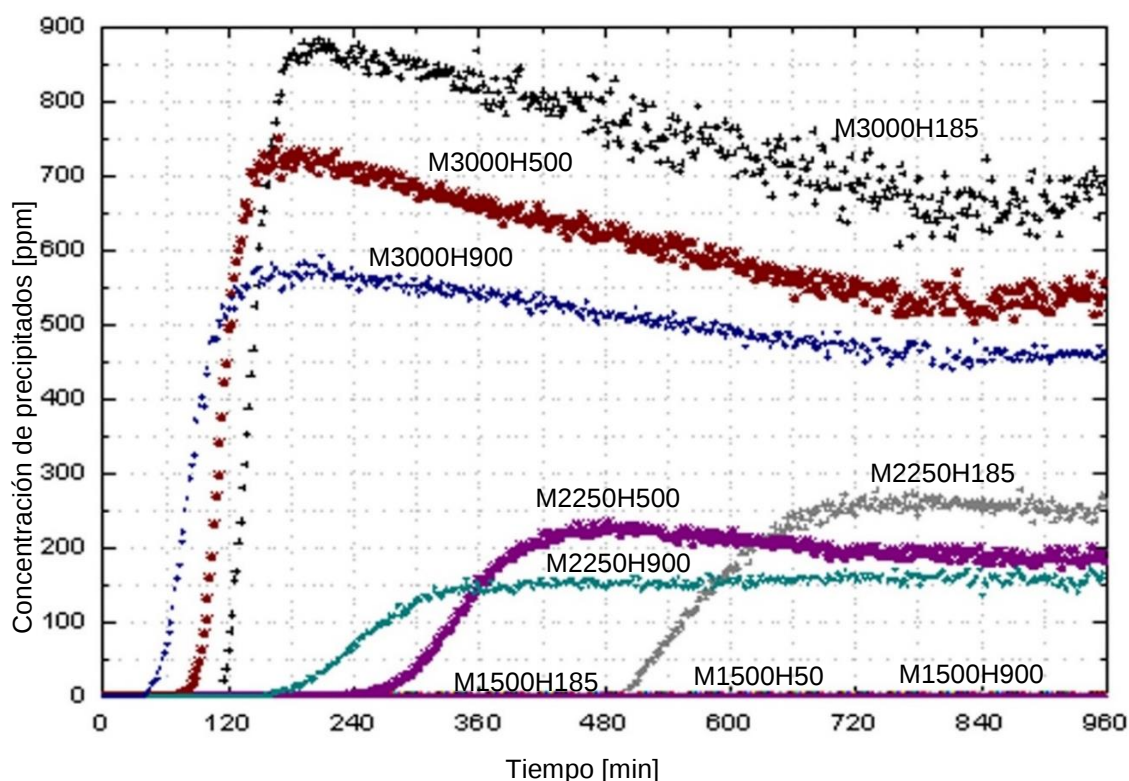
De acuerdo con la Tabla 7, se puede indicar que la turbidez depende directamente de la humedad que contenga el BPD, lo cual tiene su razón del hecho que la humedad tiene una influencia sobre el índice de refracción del medio (Edlén, 1966). Igualmente, se sabe que el índice de refracción del medio de suspensión influye en la relación directa existente entre la turbidez y la concentración de sólidos suspendidos (Lawler, 2005).

Tabla 7. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados dependiendo de la humedad del biodiésel aceite de palma destilado.

Humedad BPD [ppm]	Modelo	R ²
H1 = 185	$\tau_{[FNU]} = 0,077 * X_{[ppm]} + 6,469$	0,939
H2 = 500	$\tau_{[FNU]} = 0,100 * X_{[ppm]} - 2,382$	0,990
H3 = 950	$\tau_{[FNU]} = 0,130 * X_{[ppm]} + 0,491$	0,998

4.2.1 Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con monopalmitina: La variación de la concentración promedio de precipitados con respecto al tiempo de incubación del BPD dopado con las diferentes concentraciones MP-agua estudiadas en este trabajo se muestra en la Figura 10. Los datos mostraron una desviación promedio de 8,5 ppm. Para la concentración de MP de 1500 ppm (M1500) no hubo un aumento significativo de la señal de turbidez indicando que el BPD no se sobresaturó y por tanto, no hubo formación de precipitados en las concentraciones de agua evaluadas. Por el contrario, en las muestras dopadas con concentraciones de 2250 ppm (M2250) y 3000 ppm (M3000) de MP se observó un aumento de formación de precipitados.

Figura 10. Concentración de precipitados en función del tiempo de incubación del BPD dopado con cantidades de monopalmitina (M) de 1500, 2250 y 3000 ppm y agua (H) de 185, 500 y 900 ppm.



Los resultados evidencian la existencia de un umbral a una concentración superior a 1500 ppm de MP, en el cual la presencia de MGS tiene un efecto significativo en la formación de precipitados y que, pasado este umbral, el aumento en la concentración de MGS favorece la formación de precipitados. Resultados similares fueron encontrados por Lin *et al.* (2011) quienes obtuvieron un aumento de aproximadamente 3,15g en la cantidad de *haze* en el biodiésel de aceite de canola cuando aumentaron la concentración de MGS de 0,04 a 0,46 %p/p.

La formación de precipitados en las muestras dopadas con MP a valores iguales o por encima de 2250 ppm mostraron un comportamiento similar en el tiempo. De acuerdo con los resultados, la formación de precipitados no se produce inmediatamente después de iniciada la prueba sino después de pasado un tiempo; conocido en los procesos de cristalización como tiempo de inducción (t_0). De acuerdo con los resultados de la Figura 10 y los reportados por Corrêa *et al.* (2010) para aceite de palma, el aumento en la concentración de MP y en la humedad producen una disminución de dicho tiempo.

Pasada la etapa de inducción, la formación de precipitados se produce muy rápidamente hasta alcanzar un máximo que se mantiene relativamente constante hasta el final de la prueba. En el caso particular de las pruebas realizadas con las muestras dopadas con 3000 ppm de MP, se observó una disminución gradual de la concentración de precipitados después de alcanzar el máximo de concentración de precipitados. Este comportamiento fue asociado a la dificultad de mantenerlos suspendidos durante todo el tiempo de prueba y a la generación de sedimentaciones parciales en algunas zonas en el fondo del reactor, lo cual fue verificado visualmente.

Por otro lado, los resultados de la Figura 10 muestran que un aumento de la humedad del BPD disminuye la masa de precipitados formados. Resultados similares fueron igualmente observados por Chupka *et al.* (2012) para muestras de mezcla de biodiésel de soya y canola. Sin embargo, se debe señalar que Chupka *et al.* (2012) únicamente realizaron una apreciación visual y que en su

investigación no se determinó el contenido de precipitados. Los investigadores atribuyen esta disminución en la cantidad de precipitados observados a la formación de una nueva fase de los MGS denominada “fase α -gel”, la cual podría tener una mayor solubilidad en el biodiésel.

4.2.2 Cinética de formación de los precipitados formados de biodiésel de aceite de palma destilado dopado con monopalmitina: La evolución de la nucleación, transformación y crecimiento de los MGS en biodiésel es compleja, se basa en un proceso cinético y varía dependiendo de las impurezas y compuestos en contacto con los precipitados. Este proceso puede ser explicado mediante dos modelos complementarios presentados anteriormente (ítem 2.4). La Tabla 8 presenta los parámetros cinéticos calculados para cada una de las pruebas realizadas de formación de precipitados en BPD usando el modelo de Avrami (Ec. 1) y el modelo de Gompertz (Ec. 2). Igualmente, la Tabla 8 presenta los coeficientes de determinación (R^2) y del tiempo medio ($t_{1/2}$) para cada ajuste realizado. Se observa que los dos modelos cinéticos usados representan satisfactoriamente los perfiles de formación y crecimiento de precipitados de todas las pruebas realizadas encontrándose un mejor ajuste para el modelo de Gompertz modificado.

De acuerdo con los modelos, una alta concentración de MP en el BPD genera una mayor velocidad de formación y crecimiento de precipitados, lo que se observa por valores altos de los parámetros k y μ . Así mismo, los valores de a_G (concentración máxima de precipitados), los cuales resultan ser mayores a menor cantidad de agua en el BPD, permiten concluir que la disminución de la humedad favorece el aumento de la concentración de los precipitados.

Por otro lado, la nucleación parece ser heterogénea (Metin y Hartel, 1998) ya que los valores de n (el cual define el tipo de nucleación y crecimiento de los precipitados) obtenidos para todas las pruebas realizadas en este estudio se

encuentran fuera del rango establecido por Avrami (n debe estar entre 1 y 4, ver Tabla 2). De acuerdo con Metin & Hartel, 1998 los valores superiores a 4 indican que los precipitados son amorfos. Adicionalmente, un valor de n no entero se relacionan con la formación de precipitados con diferentes morfologías y diferentes tipos de nucleación (esporádica e instantánea) (Ribeiro *et al.*, 2009).

El tiempo medio ($t_{1/2}$) es una función combinada que depende de los parámetros k y n . Se observa una disminución del $t_{1/2}$ conforme aumenta la concentración de agua y de MP, por lo que se puede inferir que si bien la disminución en la humedad del biodiésel favorece la concentración final de los precipitados formados, ésta no logra acelerar su formación, es decir, en el BPD con poca humedad (185 ppm) se forma lentamente una mayor cantidad de precipitados, este comportamiento se apreciar mejor en la Figura 10. Resultados similares fueron reportados por Wright *et al.* (2000) quienes encontraron que la aceleración de la cristalización, debido a la presencia de compuestos minoritarios, no afecta necesariamente la cantidad final de sólidos en un proceso isotérmico de cristalización de la grasa de la leche.

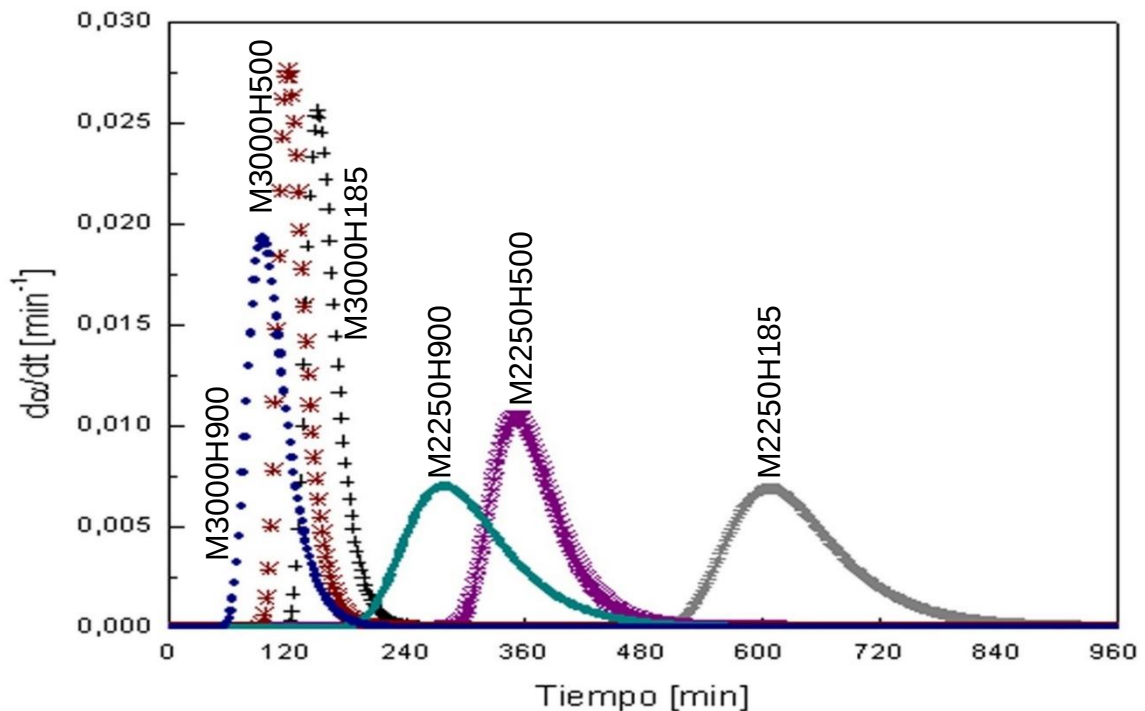
Tabla 8. Tiempo de inducción experimental y parámetros cinéticos de los modelos de Avrami y Gompertz modificado obtenidos para la formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de MP y agua.

Nombre	MODELO AVRAMI				Exp. t_0 [min]	MODELO GOMPERTZ MOD.			
	k [min ⁻¹]	n	$t_{1/2}$ [min]	R^2		λ [min]	μ [min ⁻¹]	a_G [ppm]	R^2
M2250H185	5,83E-23	7,99	580,19	0,961	500	552,80	0,019	257,843	0,997
M2250H500	4,04E-23	8,70	359,48	0,963	234	319,90	0,033	202,850	0,983
M2250H900	1,24E-14	5,67	265,25	0,970	150	230,68	0,021	155,397	0,994
M3000H185	8,60E-19	8,29	144,45	0,981	114	135,63	0,071	863,710	0,999
M3000H500	1,49E-19	8,98	119,86	0,956	72	107,27	0,079	710,867	0,998
M3000H900	7,24E-09	4,09	89,51	0,962	34	75,98	0,055	564,229	0,998

El parámetro λ , determinado por el modelo de Gompertz modificado, corresponde al tiempo de inducción de la cristalización. El valor calculado fue superior al obtenido experimentalmente (t_0) en todos los casos, sin embargo, esto no influyó en el ajuste del modelo.

Para determinar las velocidades de formación se utilizó el modelo de Gompertz de acuerdo con la Ec. (4) debido a que este modelo presentó el mejor ajuste. La Figura 11 corrobora que el aumento en la humedad disminuye el tiempo de inducción y acelera la formación de precipitados.

Figura 11. Velocidades de formación de los precipitados formados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250 y 3000ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).



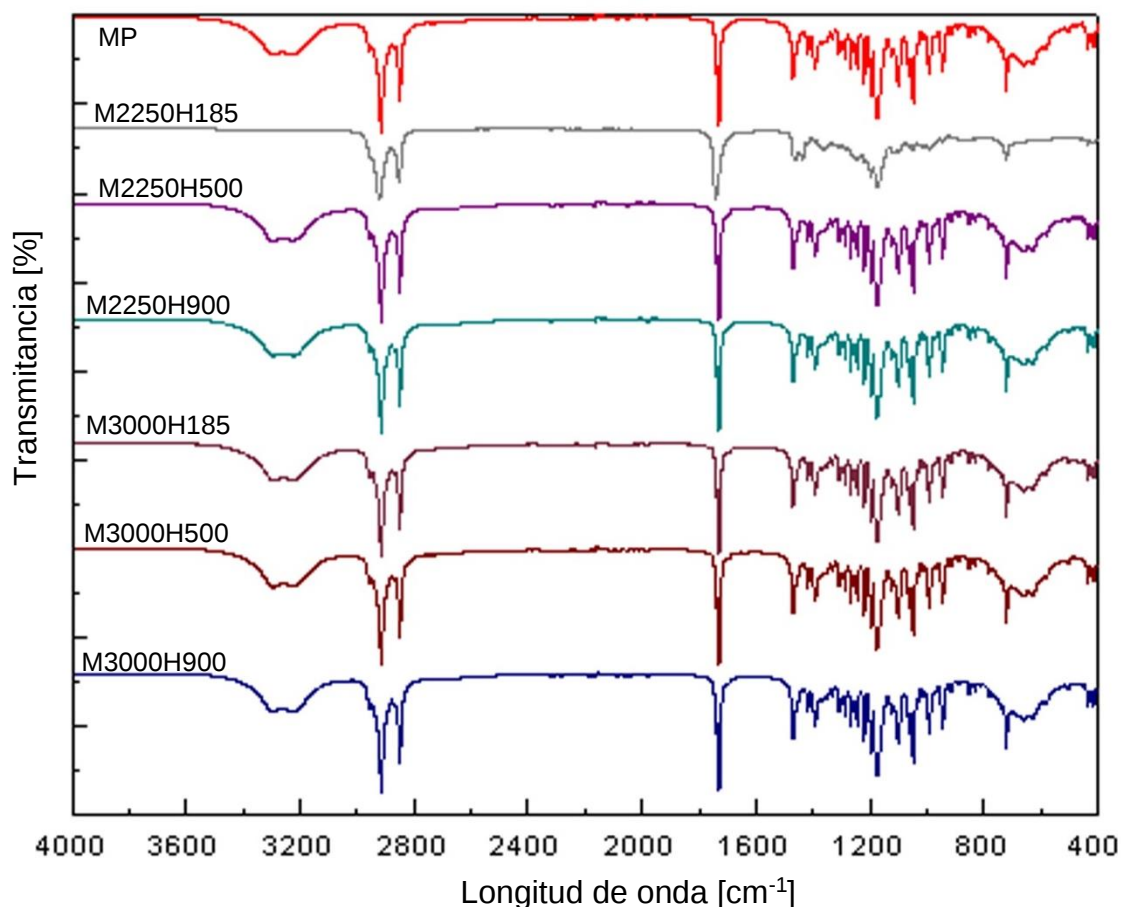
Después de que todas las muestras alcanzaron su velocidad máxima se observó una desaceleración gradual y posterior finalización de la formación de

precipitados, este comportamiento es producido por la disminución de la sobresaturación (menor concentración de MP disuelta en el BPD después de un determinado tiempo); limitaciones propias de un sistema batch. Como se observa, las máximas velocidades se dan en menores tiempos para M3000, contrariamente, a bajas concentraciones de MP la formación de precipitados es más lenta y los núcleos tardan más en formarse. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Foubert *et al.* (2004) quienes encontraron que la adición de concentraciones más altas de monoestearina (MGS) en la leche aceleró el proceso de cristalización, lo que disminuyó el tiempo de inducción.

4.2.3 Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con monopalmitina

Análisis por FTIR: Los resultados para el patrón de MP y las muestras de los precipitados obtenidos del BPD dopado con diferentes concentraciones de MP y agua se muestran en la Figura 12. Al comparar los espectros de los precipitados formados en BPD y el patrón de MP se observa una similitud en las frecuencias de vibración sugiriendo que los precipitados están formados mayoritariamente por MP. Por otro lado, en el caso particular de los precipitados formados a partir de 2250 ppm de MP y 185 ppm de agua (M2250H185) se observa una ausencia de la banda en $3200\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$ y de algunas otras a una longitud inferior a 1200 cm^{-1} observadas en el patrón de MP. Una comparación con la literatura indica que el espectro de dicha muestra se asemeja al observado por Tang *et al.* (2008a) para PB, esto significa que hubo una contaminación con biodiésel por un lavado insuficiente con solvente durante el proceso de aislamiento de los precipitados formados (ver ítem 4.4.2). A pesar de esta interferencia, se resalta que el *haze* formados por la presencia de MP no induce la formación de precipitados de otra naturaleza.

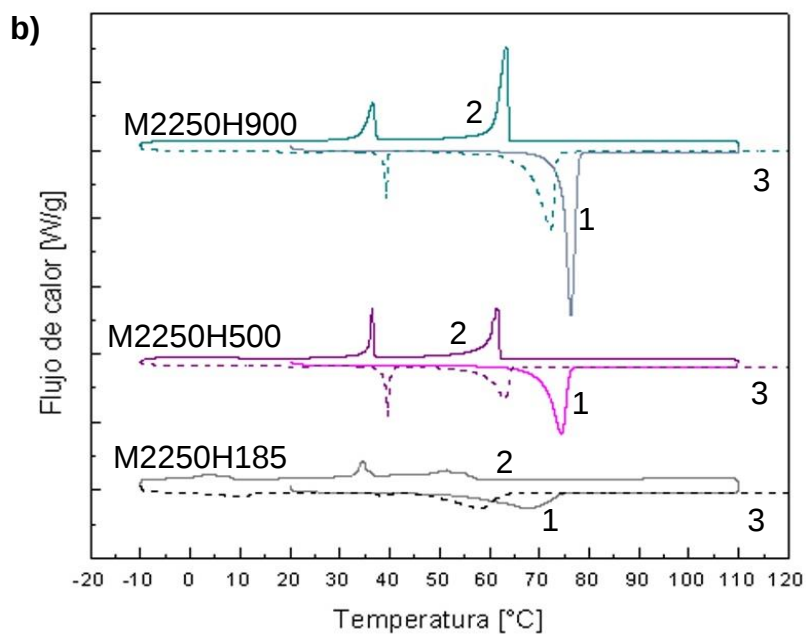
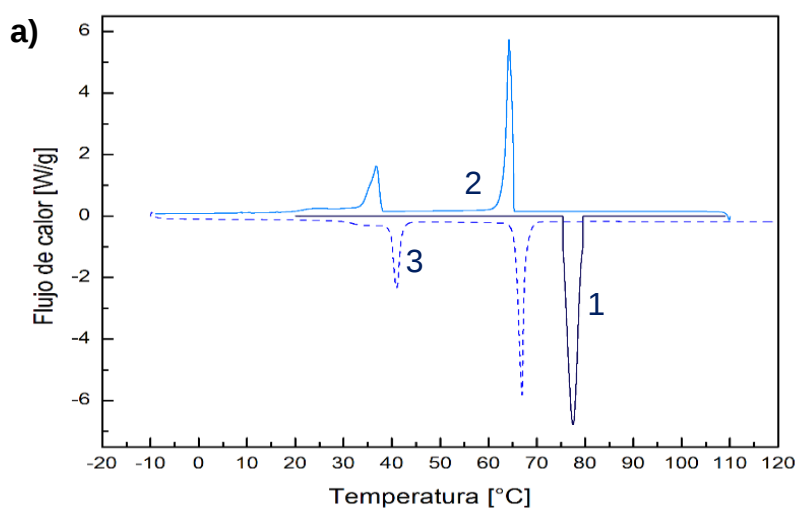
Figura 12. Caracterización FTIR del patrón de MP y de los precipitados formados en BPD dopado con dos concentraciones de monopalmitina (2250 y 3000 ppm) y diferente contenido de humedad (185, 500 y 900 ppm).



Análisis por DSC: La Figura 13 muestra los resultados obtenidos de la caracterización de los precipitados mediante DSC. En general, el comportamiento térmico de las muestras es básicamente el mismo que se observa en el patrón de MP (Figura 13a). Adicionalmente, en la Tabla 8 se presentan las temperaturas y entalpías de fusión y cristalización de los eventos térmicos de las muestras. Por otra parte, se confirma la presencia de BP en la muestra denominada M2250H185, puesto que en el perfil térmico de esta muestra se observa una interacción entre el BP y los precipitados formados. Resultados similares fueron obtenidos por Chupka *et al.* (2012), quienes reportaron que la presencia de biodiésel afectó el perfil

térmico de la monoestearina debido a la interacción de este MGS con el biodiésel como se observa en la Figura 14.

Figura 13. a) DSC patrón MP. b) DSC precipitados de BPD dopado con 2250 ppm de MP y diferentes contenido de humedad, c) DSC precipitados de BPD dopado con 3000 ppm de MP y diferentes contenido de humedad. En cada figura, 1 denota la línea de calentamiento de 20 a 110 °C, 2 el enfriamiento de 110 a -10 °C y 3 el segundo calentamiento de -10 a 120 °C.



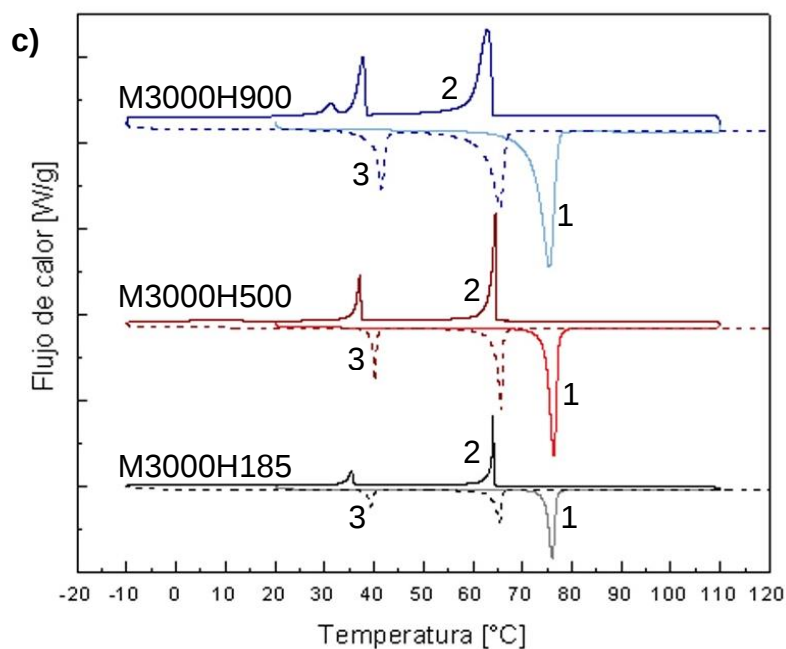
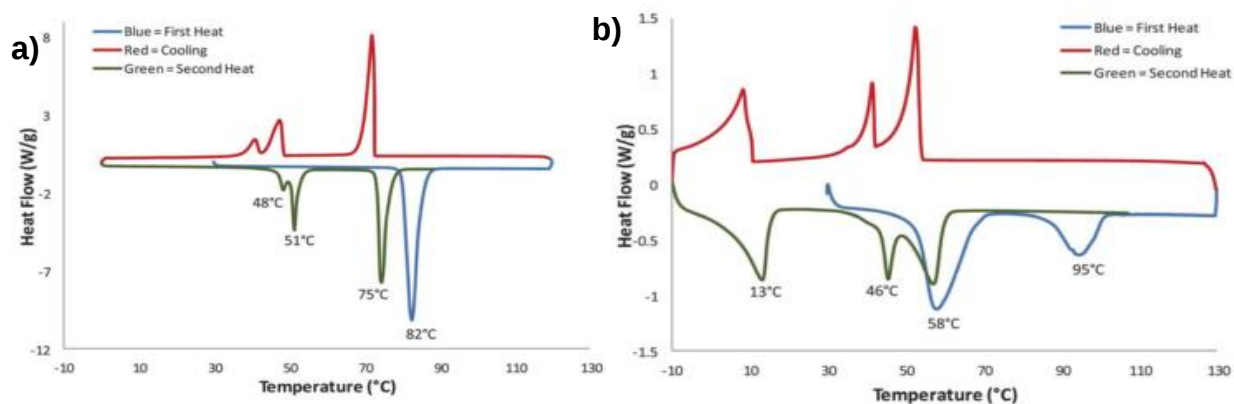


Figura 14. a) DSC patrón monoestearina, b) DSC precipitados formados por la adición de monoesteriana a una mezcla de biodiésel de soya y canola. Tomado de Chupka *et al.* (2012).



Para las otras muestras se observaron aproximadamente las mismas temperaturas de fusión y cristalización, como se observa en Tabla 9. Dicha tabla no presenta los datos para la muestra de precipitados M2250H185 por contener BP como ya se explicó anteriormente. Para las otras muestras, se presentaron los

mismos eventos térmicos. Durante el calentamiento se presentó un primer evento endotérmico cercano a los 75°C, el cual puede corresponder a la fusión de la fase β . Posteriormente, durante el enfriamiento se observan dos picos exotérmicos asociados a la cristalización de la fase α ($T = 63\text{ }^{\circ}\text{C}$ aprox.) y la fase sub- α ($T = 36\text{ }^{\circ}\text{C}$ aprox.). Finalmente, en el segundo calentamiento se produjo la fusión de las dos fases polimórficas formadas ($T_{\text{sub-}\alpha} = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ aprox. y $T_{\alpha} = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ aprox.). Un pico adicional a $31\text{ }^{\circ}\text{C}$ es observado durante el enfriamiento de la muestra denominada M3000H900. De acuerdo con Chupka *et al.* (2012), este evento se relaciona a la combinación agua-MP que forma una nueva fase denominada fase hidratada α -gel.

Tabla 9. Temperaturas (T , en $^{\circ}\text{C}$) y cambios de entalpía (ΔH , en J/g) de fusión y cristalización de los precipitados del BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250 y 3000 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).

	Calentamiento		Enfriamiento				Recalentamiento			
	T [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH [J/g]	T [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH [J/g]	T [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH [J/g]	T [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH [J/g]	T [$^{\circ}\text{C}$]	ΔH [J/g]
M2250 H500	74,41	242,36	36,52	49,65	61,36	124,47	39,58	49,65	63,09	122,85
M2250 H900	76,25	176,99	36,59	34,02	63,34	95,02	39,30	16,14	70,23	153,32
M3000 H185	76,02	85,36	35,45	15,14	64,08	45,03	39,29	15,34	65,43	42,02
M3000 H500	76,32	200,64	37,15	37,23	64,54	102,67	40,12	40,08	65,77	101,99
M3000 H900	75,46	102,62	37,76	18,69	62,89	53,56	41,42	26,45	65,45	55,92

Con respecto a los cambios de entalpías de fusión y cristalización presentadas en la Tabla 9, se observa que a una concentración constante de MP, un aumento de la cantidad de agua en el biodiésel desde 500 a 900 ppm produce una disminución

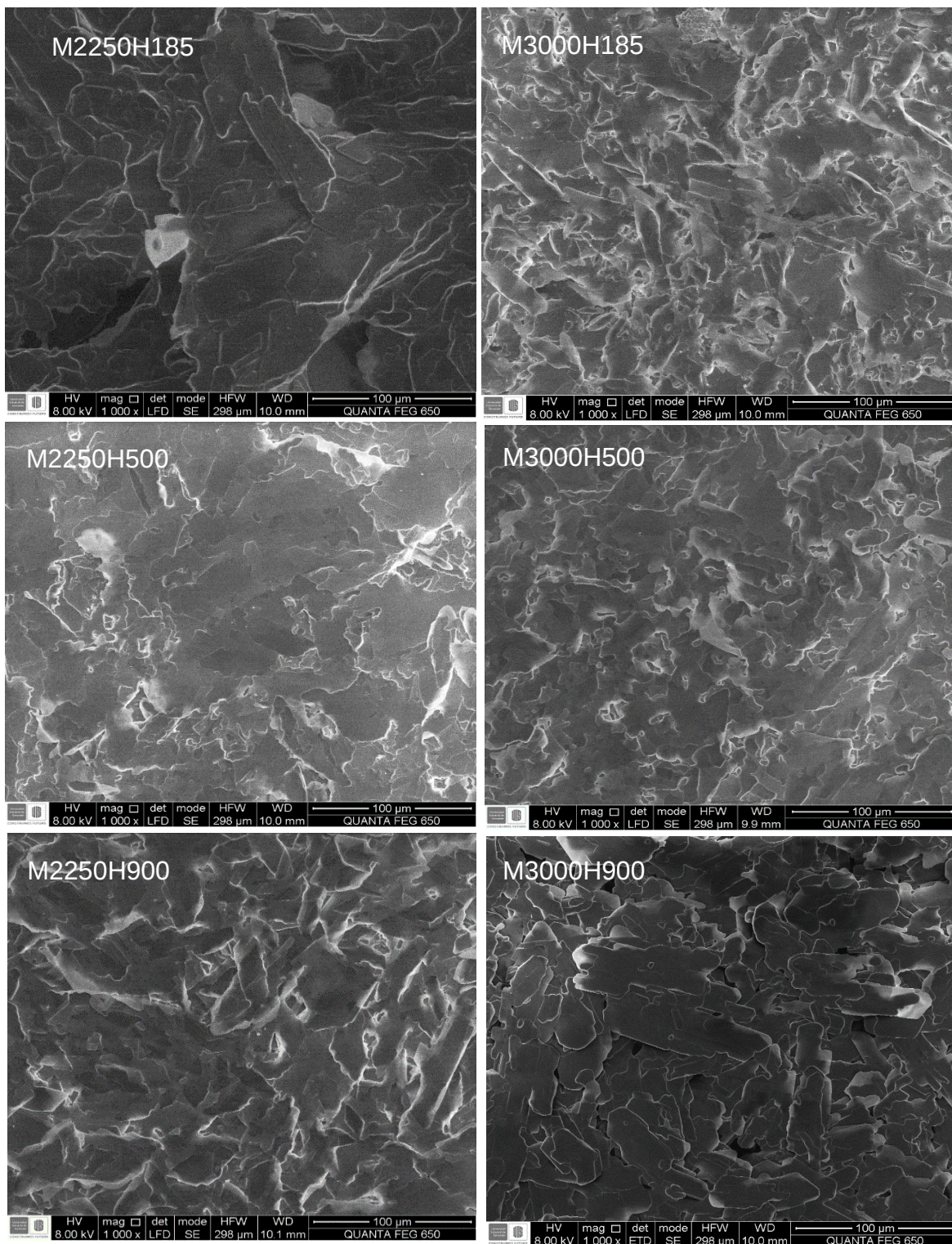
del cambio en la entalpía asociado a la fusión o cristalización. Sin embargo, el caso contrario se observa para aumento de la concentración de agua desde 185 a 500 ppm a concentración de MP de 3000ppm. Por otro lado, se observa que manteniendo la concentración de agua constante y aumentando de la concentración de MP, la variación de la entalpía asociada a fenómenos de fusión y cristalización disminuye. Estas diferencias en la variación de la entalpía de fusión y cristalización son asociadas a diferencias morfológicas de los precipitados formados (Côrrea *et al.*, 2010); en otras palabras, combinaciones diferentes de MP y agua generan morfologías diferentes en el *haze*.

Análisis por SEM/EDS: Visualmente los precipitados formados tienen un aspecto de pequeños cristales de parafina, similares a los observados por Tang *et al.* (2008a) para el BP. Una caracterización mucho más profunda de los precipitados realizada por SEM muestra que estos precipitados son planos, tipo láminas u hojuelas como se presenta en la Figura 15.

Al comparar el tamaño promedio de las hojuelas obtenidas se puede observar que el aumento en la concentración MP a concentración de agua constante pareciera disminuir el tamaño promedio de las hojuelas formadas, siendo más evidente esta disminución cuando la humedad en el BPD es menor o igual a 500 ppm; posiblemente el aumento en la concentración de MP promueve la formación de una mayor cantidad de pequeños núcleos, haciendo que una mayor cantidad de núcleos disminuya el tamaño promedio de las hojuelas. De igual forma, Côrrea *et al.*, (2010) reportaron un incremento en el número de núcleos cristalinos debido al aumento en la concentración de MP en el aceite de palma.

La composición elemental de los precipitados obtenidos, determinada mediante EDS, mostró que los precipitados están formados por carbono en un porcentaje aproximado de 77,33 – 83,06 %p/p y de oxígeno, entre 16,67 - 22,67 %p/p, en concordancia con lo obtenido por FTIR sobre la naturaleza de los precipitados, lo cuales están conformados por MP (83 %p/p de C, 17 %p/p de O, aproximadamente).

Figura 15. Imágenes SEM de los precipitados formados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (2250, 3000 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).



En resumen, la presencia de MP en el BPD en concentraciones superiores a 1500 ppm favorece la formación de precipitados cuando el BPD es incubado a 20°C. Esta formación de precipitados no se produce inmediatamente, sino después de un tiempo de inducción, el cual disminuye con el aumento de la concentración de MP y agua en el BPD. Sin embargo, un aumento en la humedad del BPD disminuye la masa de precipitados formados. Por otra parte, la caracterización de los precipitados formados mostró que la presencia de MP en el BPD no induce la formación de precipitados de otra naturaleza.

Adicionalmente, las diferentes combinaciones de MP y agua generaron diferentes morfologías en estos precipitados, de acuerdo con las imágenes obtenidas por SEM se observaron estructuras planas como hojuelas o láminas de diferentes tamaños; al comparar el tamaño promedio de las hojuelas obtenidas se puede observar que el aumento en la concentración MP a concentración de agua constante pareciera disminuir el tamaño promedio de las hojuelas formadas, siendo más evidente esta disminución cuando la humedad en el BPD es menor o igual a 500 ppm; posiblemente el aumento en la concentración de MP promueve la formación de una mayor cantidad de pequeños núcleos. Estas diferencias morfológicas ocasionaron que diferencias en la variación de las entalpías de fusión y cristalización de los precipitados. Además, la interacción entre las moléculas de MP y agua formaron, en la muestra denominada como M3000H900, una fase polimórfica diferente a la observada en el patrón de MP, la cual se observó en el termograma obtenido mediante DSC.

Finalmente, la utilización de los modelos de Avrami y Gompertz modificado permitió conocer los parámetros cinéticos importantes para determinar el perfil de la velocidad de formación de los precipitados. Sin embargo, el mejor ajuste fue para el modelo de Gompertz modificado.

4.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES Y LA HUMEDAD EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO EN LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO

Como se observa en la Figura 16, los datos de turbidez final del BPD dopado, expresados en FNU, y los valores de la concentración de precipitados, expresados en ppm, se utilizaron para construir diferentes curvas de calibración (a cada una de las humedades evaluadas) que relacionaron estas dos variables, y fueron descritas mediante modelos de primer orden por regresión lineal (Tabla 10). Posteriormente, estas curvas se usaron para convertir los datos de turbidez registrados cada 2 min durante las 16 h de incubación en valores de concentración de precipitados formados durante este periodo, obteniéndose así los perfiles de concentración versus tiempo.

Figura 16. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con EGL.

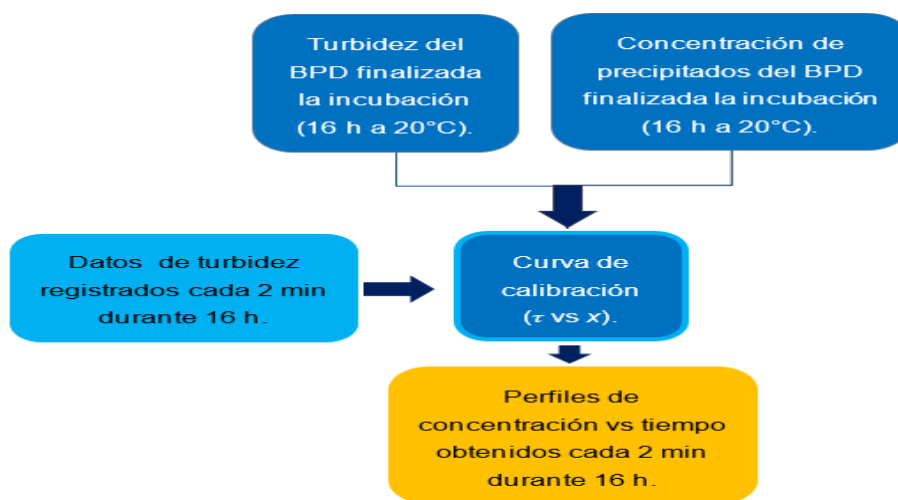


Tabla 10. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados para cada una de las humedades estudiadas.

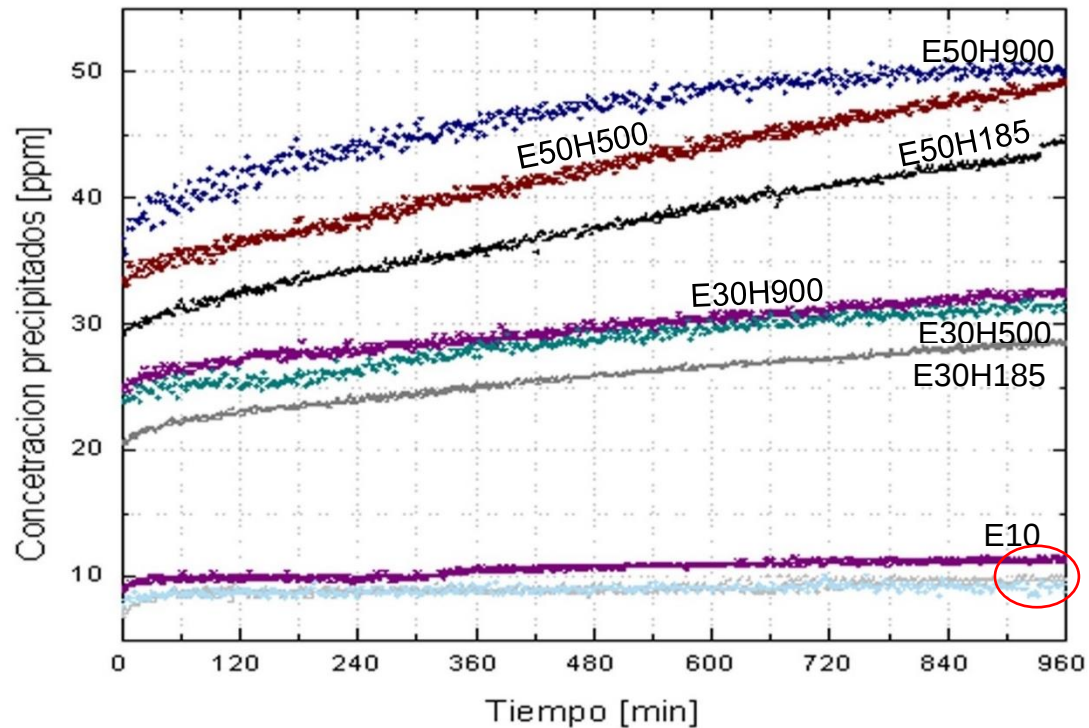
Humedad BPD [ppm]	Modelo	R ²
H1 = 185	$\tau_{[FNU]} = 0,311 * X_{[ppm]} + 2,159$	0,979
H2 = 500	$\tau_{[FNU]} = 0,263 * X_{[ppm]} + 5,065$	0,991
H3 = 950	$\tau_{[FNU]} = 0,281 * X_{[ppm]} + 6,166$	0,983

4.3.1 Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres:

En la Figura 17 se muestra la variación de la concentración de precipitados con respecto al tiempo para todas las combinaciones de EGL y agua estudiadas. Los datos mostraron una desviación promedio entre 2,8 y 6,2 ppm. En primera instancia, se puede observar que todas las muestras iniciaron con una concentración mayor a cero debido a la baja solubilidad que tiene los EGL en el BP, por lo tanto, su formación fue inmediata después de retirar el solvente que los contenía, es decir, al inicio de la prueba ya se encontraban núcleos formados. Por tal razón, el BPD dopado con EGL no presentó tiempo de inducción, de este modo, el fenómeno registrado por el turbidímetro fue netamente de crecimiento y no de nucleación.

Por otro lado, al finalizar el tiempo de la prueba se observó que la turbidez no logró estabilizarse como ocurrió con las muestras dopadas con MP manifestando una cinética de crecimiento más lenta que la observada para los MGS. Este comportamiento concuerda con las caracterizaciones realizada a los precipitados de BP comercial, en las cuales se han encontrado mayores niveles EGL después de días (Bondioli *et al.*, 2008) e incluso meses (Plata *et al.*, 2015a) de almacenamiento.

Figura 17. Formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (10, 30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).



De acuerdo con los resultados obtenidos (Figura 17), las muestras de BPD dopadas con 10 ppm de EGL (E10H185, E10H500, E10H900) no mostraron un cambio significativo de la señal de turbidez, sólo a partir de concentraciones iguales o mayores de 30ppm es que se comienza a observar que el incremento de la concentración de EGL favorece la formación de precipitados. Con respecto a la humedad, el aumento del contenido de agua en el BPD favorece el aumento en la concentración de precipitados; aunque este incremento no fue apreciable para las pruebas E30H500 y E30H900 (BPD con 30 ppm de EGL y humedad de 500 y 900 ppm, respectivamente). Resultados similares fueron obtenidos por Plata *et al.* (2015b), quienes no encontraron una influencia significativa de la humedad en el contenido de precipitado para el BPD dopado con 30 ppm de EGL.

A partir de las observaciones anteriores, los resultados sugieren que existen dos umbrales: el primero entre 10 y 30 ppm, en el cual la presencia de EGL tiene un

efecto en la formación de precipitados y el segundo entre 30 y 50 ppm, en el cual el contenido de humedad tiene un efecto sobre la formación de *haze*.

4.3.2 Cinética de formación de los precipitados del biodiésel de aceite de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres: El seguimiento del crecimiento de los núcleos formados por la presencia de EGL se logró realizar mediante el registro de la turbidez del BPD dopado y se determinaron los parámetros cinéticos para los modelos de Avrami y Gompertz modificado (Ver Tabla 11). El modelo de Gompertz modificado se ajustó mejor a los valores obtenidos experimentalmente; la diferencia entre los coeficientes de determinación de los dos modelos fue hasta de un 7,7%. Los valores negativos de λ indican que no existió tiempo de inducción. Como se mencionó anteriormente, la poca solubilidad de los EGL en el BPD impidió que se observara la etapa de nucleación en estas pruebas. Adicionalmente, los valores de n no pertenecen al rango establecido por Avrami; en este caso, todos los valores fueron menores que 1 evidenciando la forma amorfa de los precipitados.

Tabla 11. Parámetros cinéticos modelos de Avrami y Gompertz modificado para la formación de precipitados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).

Prueba	MODELO AVRAMI				MODELO GOMPERTZ MODIFICADO			
	k [min ⁻¹]	n	t _{1/2} [min]	R ²	λ [min]	μ [min ⁻¹]	a _G [ppm]	R ²
E30H185	5,24E-03	0,860	293,12	0,959	-685,70	1,42E-03	31,348	0,992
E30H500	7,58E-03	0,815	225,05	0,903	-1043,41	8,99E-04	38,216	0,977
E30H900	2,50E-03	0,976	318,07	0,896	-763,26	1,24E-03	35,546	0,973
E50H185	2,70E-03	0,947	350,12	0,949	-451,20	7,88E-04	60,871	0,995
E50H500	2,01E-03	0,998	341,66	0,932	-475,85	7,89E-04	67,661	0,994
E50H900	1,34E-02	0,770	167,44	0,935	-429,03	2,77E-03	51,361	0,975

De acuerdo con los resultados obtenidos para los parámetros k y μ no se observó una tendencia general del efecto de EGL y la humedad del BPD en la velocidad de formación de los precipitados. La variación en el comportamiento puede ser atribuida a una posible competencia entre los fenómenos de aglomeración y solubilización de EGL en el biodiésel húmedo como lo han reportado Farahani *et al.* (2011) y Nyström *et al.* (2012). Farahani *et al.* (2011) mencionan que la parte hidrofílica de los EGL puede formar puentes de hidrógeno con el agua y favorecer la aglomeración de éstos en el biodiésel. Sin embargo, para humedades menores e iguales a 500 ppm, se observó una disminución de la velocidad de formación cuando aumenta la concentración de EGL a concentraciones de agua constantes en el biodiésel. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Nystrom *et al.* (2012), quienes afirman que la humedad favorece la disolución de los EGL en un medio oleaginoso, por lo que la formación de precipitados en el biodiésel disminuiría.

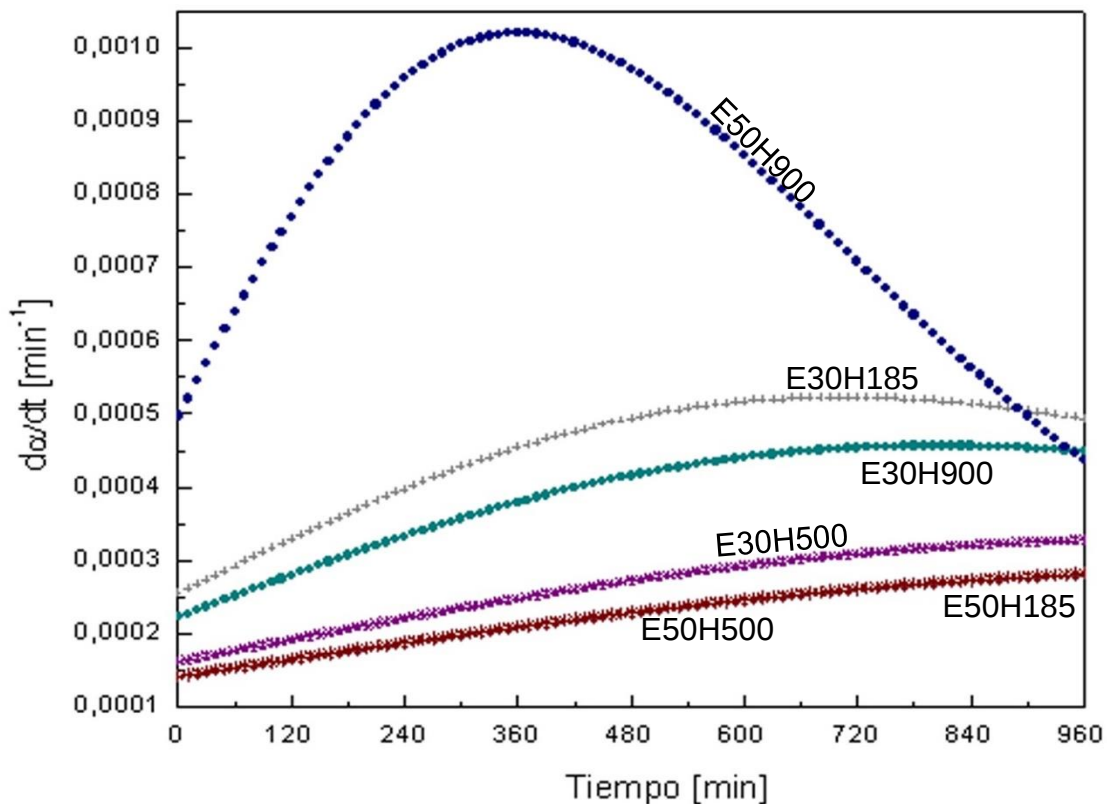
Por la forma como está definido el modelo de Gompertz, el parámetro a_0 representa la concentración en la cual el sistema llega al equilibrio (Figura 3); después de este valor no se presenta más formación de precipitados. Como se observa en la Figura 17, ninguna de las pruebas alcanzó la estabilidad por lo cual el modelo extrapola los valores por fuera del valor estudiado (ver Tabla 12).

La Figura 18 muestra el perfil de la velocidad de formación de los EGL descrito por el modelo de Gompertz modificado (Ec. 4). Como se mencionó anteriormente, la poca solubilidad de los EGL en el BPD ocasionó que los precipitados se formaran con prontitud antes de iniciar las pruebas. La velocidad de la prueba E50H185 (BPD dopado con 50 ppm de EGL y 185 ppm de humedad) fue la misma que la registrada para la prueba E50H500 BPD dopado con 50 ppm de EGL y 500 ppm de humedad); ambas registraron el perfil de velocidad más bajo en comparación con las demás pruebas. Posiblemente, la velocidad de formación fue baja debido al nivel bajo de sobresaturación del BPD; de acuerdo con la teoría de formación de

precipitados, el nivel de sobresaturación es directamente proporcional a la velocidad de formación de los precipitados (Vega *et al.*, 2003).

A pesar de que la velocidad de formación fue muy baja para la mayoría de los casos, la velocidad de la prueba E50H900 (BPD con 50 ppm de EGL y 900 ppm de agua) mostró un perfil diferente a las demás. En esta prueba la velocidad aumentó gradualmente hasta alcanzar su punto máximo y posteriormente desacelera lentamente la formación de los precipitados. En este caso se observa como el incremento en la humedad en el BPD logró aumentar la velocidad de formación de los precipitados en comparación con las pruebas cuyo contenido de humedad en el BPD era más bajo (E50H185 y E50H500).

Figura 18. Velocidad de formación precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).



El efecto en la velocidad de formación no fue el mismo para todas las concentraciones de EGL y agua evaluadas. Al aumentar la concentración de EGL cuando la humedad del BPD fue igual o inferior a 500 ppm, se observó una disminución de la velocidad de formación, mientras que la velocidad aumentó considerablemente al aumentar la concentración de EGL en el BPD con humedad de 900 ppm. Este comportamiento también se asoció a la estructura anfifílica de los EGL (*Nyström et al.*, 2012) y a la competencia entre los fenómenos de aglomeración y solubilización de los EGL en el biodiésel.

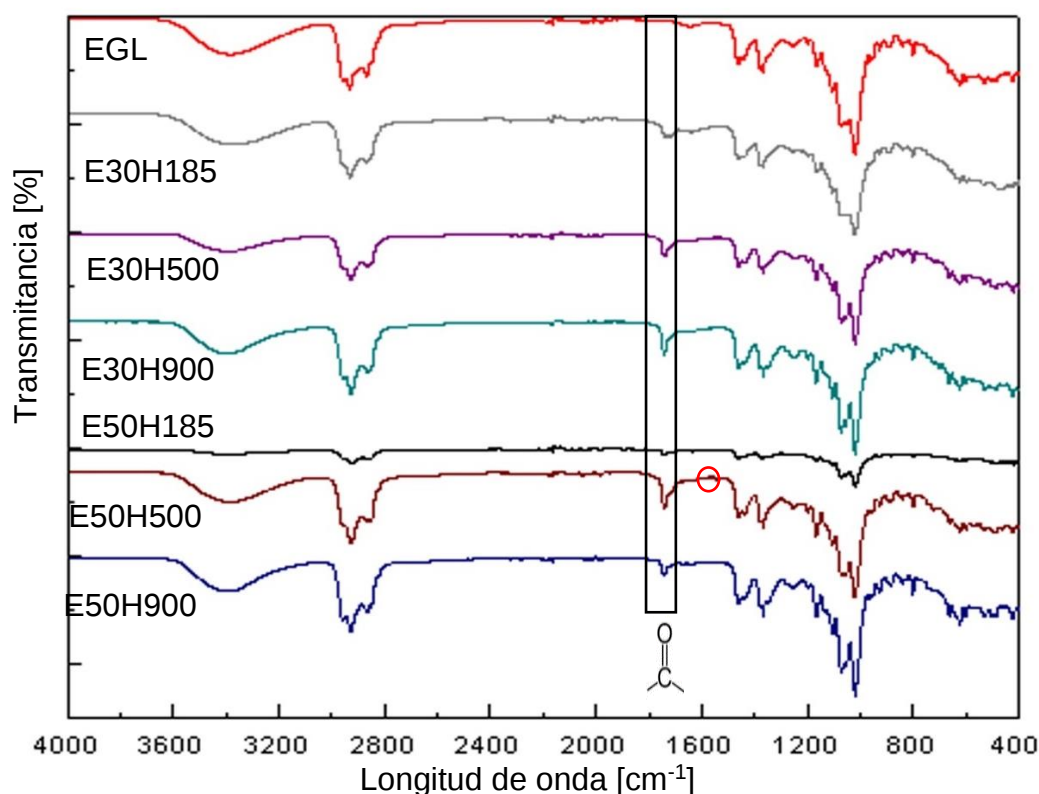
4.3.3 Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con esteril glucósidos libres

Análisis por FTIR: Los espectros FTIR para cada una de las muestras se muestra en la Figura 19. Se presentan bandas de absorción iguales a las observadas en el patrón de EGL. Este comportamiento sugiere que los precipitados estaban formados principalmente por la presencia de la EGL. Adicionalmente, en la prueba denominada como E50H500 (BPD dopado 50 ppm de EGL y 500 ppm de agua) se presentó un pico a 1540 cm^{-1} sugiriendo la presencia de sales de ácidos grasos en la muestra. De acuerdo con Mirghani *et al.* (2002) y Castro De Sales *et al.* (2008) la presencia de sales de ácidos grasos (R-COONa) producen una vibración característica en el espectro debido al estiramiento axial en una frecuencia alrededor de 1550 cm^{-1} .

Un segundo pico presente en todas las muestras se observó a 1740 cm^{-1} . Plata *et al.* (2005a) compararon el espectro obtenido en la caracterización de una muestra de *haze* presente en BP comercial con el espectro de un patrón de EGA y concluyeron que dicho pico se puede atribuir a la vibración producida por estiramiento del enlace C=O existente en la cadena del ácido graso esterificado. De esta manera se confirma la acción de los EGL como semillas de nucleación

que vienen a favorecer la formación de precipitados de otros compuestos (Kotrba, 2006; Lee *et al.*, 2007) como EGA y sales de ácidos grasos.

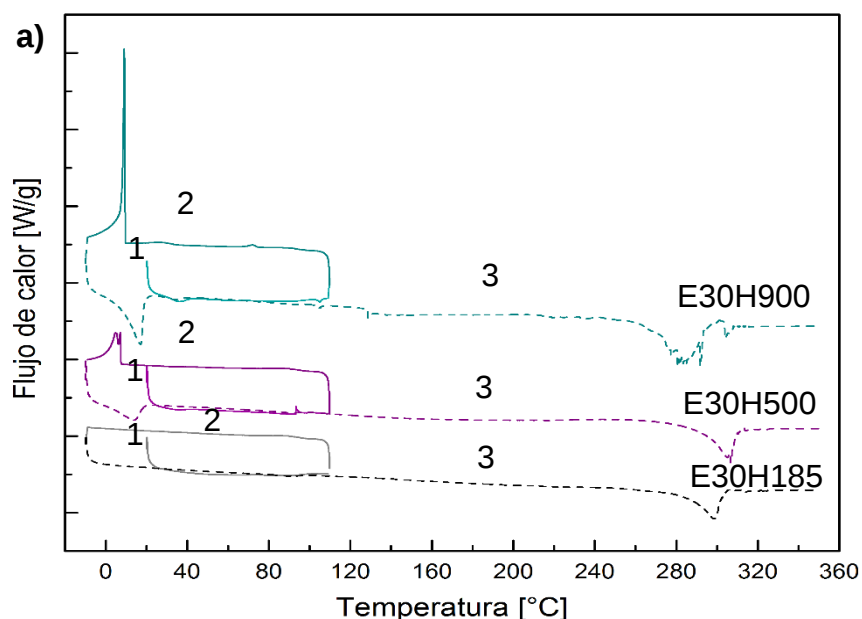
Figura 19. Espectro FTIR del patrón de esteril glucósidos libres (EGL) y de los precipitados formados en el BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).

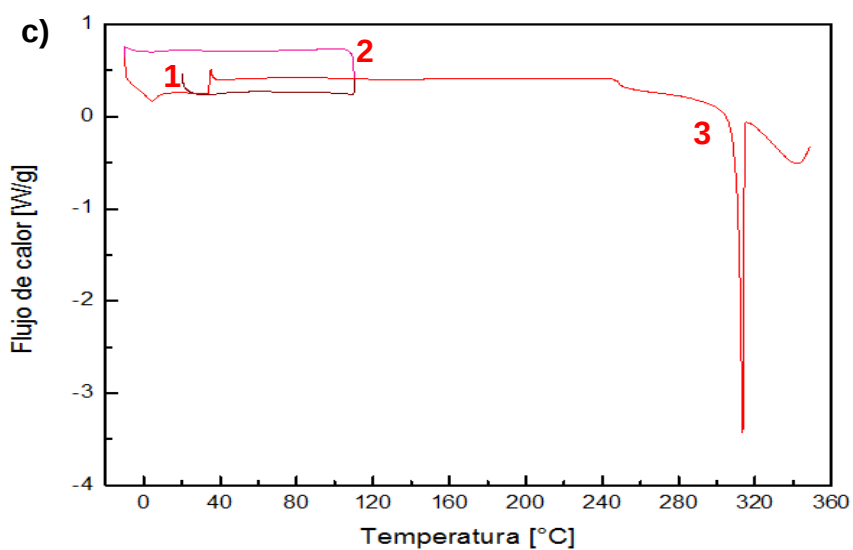
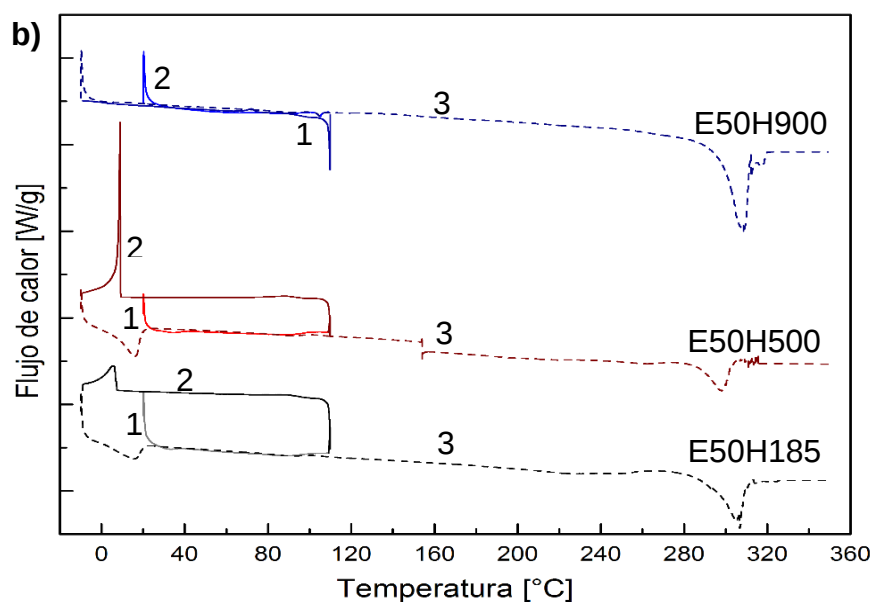


Análisis DSC: El comportamiento térmico de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL y agua se presentan en la Figura 20b. Adicionalmente, en la Tabla 12 se muestran las temperaturas y entalpías asociadas a la degradación de los EGL. En este caso, los termogramas de los precipitados se asemejan al patrón de EGL (Figura 20c), se observó un amplio pico endotérmico alrededor de 300°C producto de una reacción de descomposición (Plata *et al.*, 2015a).

Además, en la mayoría de las pruebas se presentaron dos picos adicionales, un pico exotérmico en la etapa de enfriamiento y un pico endotérmico durante el recalentamiento se observaron alrededor de 8 y 16 °C, respectivamente. Posiblemente debido a la cristalización de metil ésteres presentes en los precipitados. De acuerdo con Giraldo *et al.* (2013), la temperatura de cristalización de los metil ésteres del BP es de 6,14°C; este valor es menor a los registrados en los termogramas, sin embargo, como se mencionó anteriormente, la presencia de impurezas puede afectar las temperaturas de cristalización y fusión (Vereecken *et al.*, 2009).

Figura 20. a) DSC precipitados formados en el BPD dopado con 30 ppm de EGL y diferentes concentraciones de humedad (185, 500 y 900 ppm), b) DSC precipitados formados en el BPD dopado con 50 ppm de EGL y diferentes concentraciones de humedad (185, 500 y 900 ppm) y c) DSC patrón de EGL. En cada gráfica 1 es la línea de calentamiento de 20 a 110 °C, 2 el enfriamiento de 110 a -10 °C y 3 el segundo calentamiento de -10 a 350 °C.





En la Tabla 12 se observa una disminución del cambio de entalpía de degradación cuando la concentración de EGL en el biodiésel aumenta. Las diferencia en las temperaturas de degradación entre las muestras puede ser provocada por la presencia de impurezas (Romain *et al.*, 2013). Mientras que la diferencia en los valores de ΔH puede ser atribuida a distintas interacciones moleculares entre las

moléculas de agua y las moléculas de los EGL. Posiblemente, las diferentes concentraciones de EGL y agua en cada una de las muestras, y la presencia de impurezas ocasionan que el tamaño, forma y simetría de las moléculas de los precipitados varíen. Esta variación en la morfología hace que las interacciones moleculares también varíen y por tanto, se obtengan diferentes valores para la entalpía de degradación (Himawan *et al.*, 2006).

Tabla 12. Temperatura y entalpía de descomposición de los precipitados dopados con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).

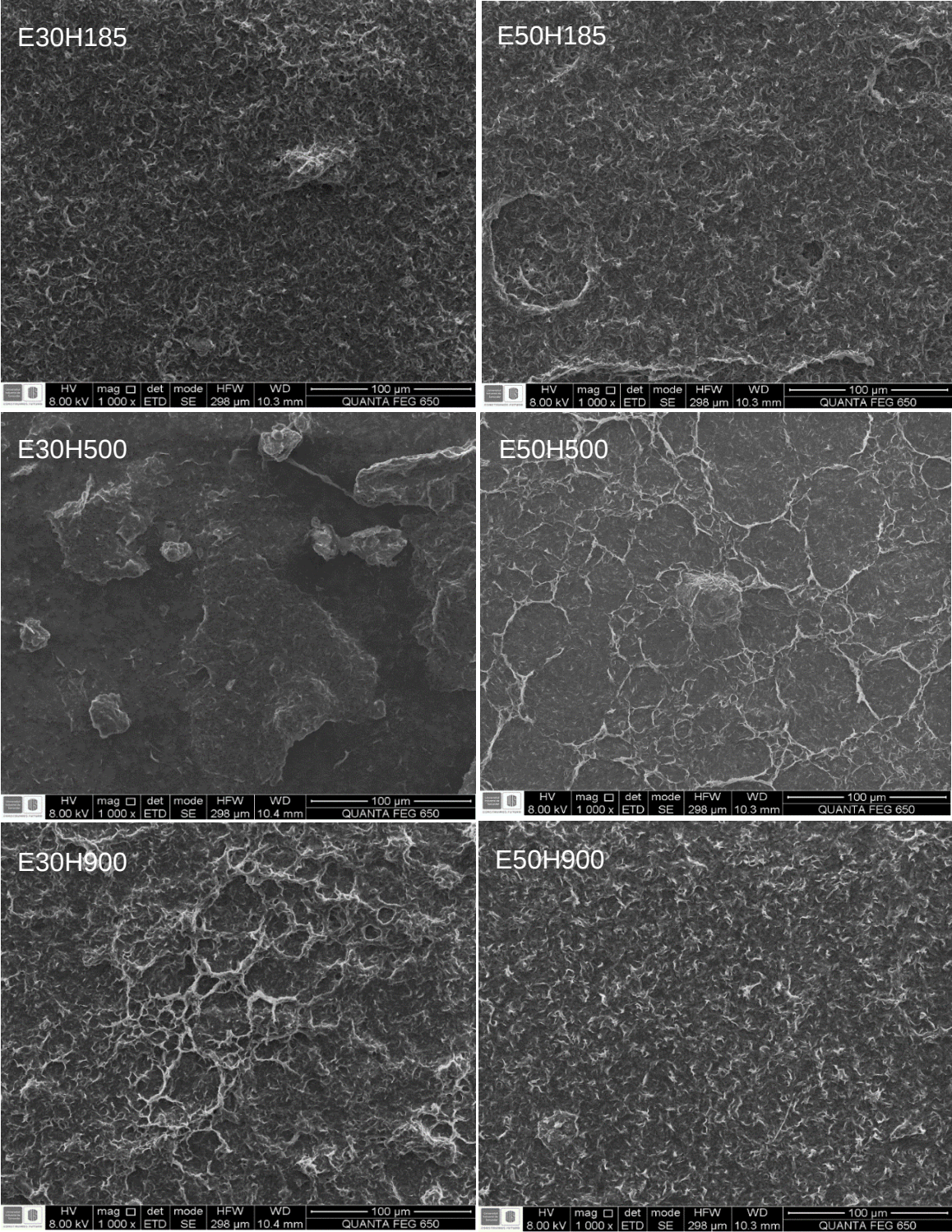
Muestra	Temperatura [°C]	Variación de Entalpía [J/g]
E30H185	298,38	30,35
E30H500	306,59	33,15
E30H900	291,75	58,04
E50H185	303,61	29,08
E50H500	298,05	17,84
E50H900	308,75	34,68

Análisis SEM/EDS: Visualmente, la apariencia de los precipitados fue como de un sólido pastoso; una observación similar hizo Van Gerpen *et al.* (1996), quienes denominaron a los precipitados de biodiésel B20 (20 %v/v biodiésel de soya) como una muestra “cremosa pastosa”. La Figura 21 muestra las imágenes de los precipitados obtenidas por SEM. En todas ellas se observó un material amorfo que cubría toda la superficie, el cual parecía formar aglomerados dispersos; algunos de los cuales eran esféricos.

En la caracterización por EDS en distintos puntos de la superficie, se encontró dos diferentes composiciones elementales de forma aleatoria. En primer lugar, una relación C:O de 90:10 %p/p en la mayoría de la superficie de todos los

precipitados; esta composición fue asociada a la presencia de EGL. En segundo lugar, la presencia de sodio con una relación C:O:Na de 85:13:2 %p/p. Este resultado confirma la presencia de sales de ácidos grasos en los precipitados.

Figura 21. Imágenes SEM de los precipitados BPD dopado con diferentes concentraciones de EGL (30 y 50 ppm) y agua (185, 500 y 900 ppm).



En resumen, la baja solubilidad que tienen los EGL en el BP no permitió observar la etapa de nucleación de los precipitados, puesto que todas las muestras iniciaron con una cantidad de precipitados que se formaron inmediatamente después de retirar del BPD el solvente que contenía a los EGL, por tanto, no se presentó un tiempo de inducción. Por otro parte, al finalizar el tiempo de la prueba se observó que la turbidez no logró estabilizarse como ocurrió con las muestras dopadas con MP manifestando una cinética de crecimiento más lenta que la observada para los MGS. Así mismo, de acuerdo con los perfiles de concentración de los precipitados se determinaron dos umbrales en los cuales la presencia de EGL y agua tienen un efecto sobre la formación de haze. El primero entre 10 y 30 ppm para EGL y el segundo entre 30 y 50 ppm para el agua.

De acuerdo con la caracterización de estos precipitados formados después de las 16 h de incubación del BPD dopado con EGL se confirmó la acción de los EGL como semillas de nucleación que favorecen la formación de precipitados de otros compuestos como EGA y sales de ácidos grasos. Así mismo, se pudo observar que la presencia de estas impurezas y las diferentes interacciones entre las moléculas que forman los precipitados afectaron su morfología y sus perfiles térmicos. Con respecto a su morfología se observaron aglomerados amorfos, mientras que respecto al perfil térmico, se observó una disminución del cambio de entalpía de degradación cuando la concentración de EGL en el biodiésel aumenta.

El modelo de Gompertz modificado se ajustó mejor a los valores obtenidos experimentalmente para determinar la cinética de formación de los precipitados. Adicionalmente, de acuerdo con los valores encontrados para los parámetros cinéticos determinados mediante la utilización de los modelos de Avrami y de Gompertz modificado no se observó una tendencia general del efecto de EGL y la humedad del BPD en la velocidad de formación de los precipitados. Se observó una disminución de la velocidad de formación, al aumentar la concentración de EGL cuando la humedad del BPD fue igual o inferior a 500 ppm, mientras que la

velocidad aumentó considerablemente al aumentar la concentración de EGL en el BPD con humedad de 900 ppm. La variación en el comportamiento fue atribuida a una posible competencia entre los fenómenos de aglomeración y solubilización de EGL en el biodiésel húmedo.

4.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE MONOGLICÉRIDOS SATURADOS (MONOPALMITINA), ESTERIL GLUCÓSIDOS LIBRES Y HUMEDAD EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO SOBRE LOS PRECIPITADOS FORMADOS EN EL BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA DESTILADO

Como se observa en la Figura 22, los datos de turbidez final del BPD dopado, expresados en FNU, y los valores de la concentración de precipitados, expresados en ppm, se utilizaron para construir diferentes curvas de calibración que relacionaran estas dos variables, y fueron descritas mediante modelos de primer orden por regresión lineal (Tabla 13). Posteriormente, estas curvas se usaron para convertir los datos de turbidez registrados cada 2 min durante las 16 h de incubación en valores de concentración de precipitados formados durante este periodo, obteniéndose así los perfiles de concentración versus tiempo.

Figura 22. Diagrama del proceso de obtención de los perfiles de concentración de los precipitados formados en el BPD dopado con MP y EGL.

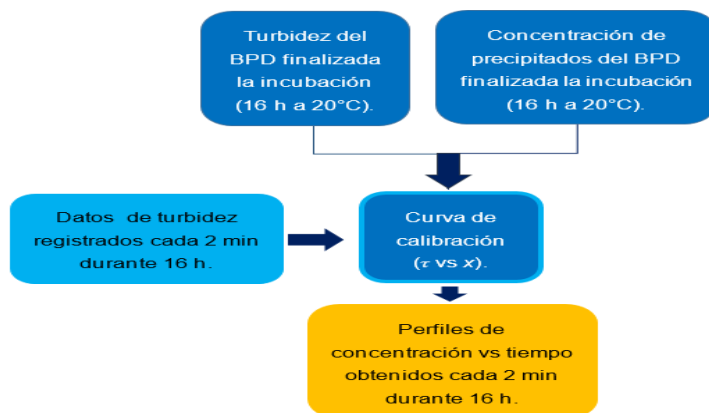


Tabla 13. Modelo de turbidez en función de la concentración de precipitados para cada una de las humedades evaluadas.

Humedad BPD [ppm]	Modelo	R ²
H2 = 500	$\tau_{[FNU]} = 0,336 * X_{[ppm]} + 4,073$	0,942
H3 = 950	$\tau_{[FNU]} = 0,328 * X_{[ppm]} + 2,740$	0,943

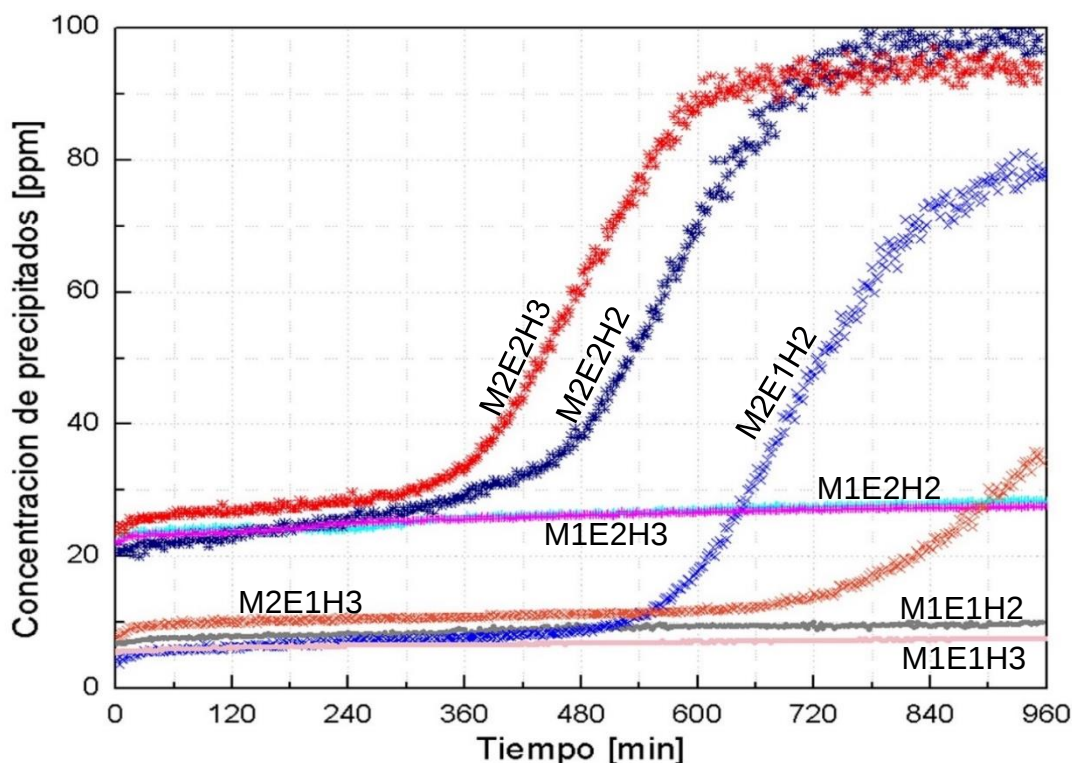
4.4.1 Seguimiento de la formación de precipitados en el biodiésel de palma destilado dopado con monoglicéridos saturados y esteril glucósidos libre:

La variación de la concentración de precipitados con respecto al tiempo de incubación del BPD dopado con las combinaciones de MP-EGL-agua estudiadas en este trabajo se muestra en la Figura 23. Los datos mostraron una desviación promedio entre 0,1 y 9,5 ppm. Como se puede observar, todas las muestras iniciaron con una concentración diferente de cero debido a la presencia de EGL en el BPD, por tanto, en esta etapa no existió un tiempo de inducción. Adicionalmente, para las pruebas denominadas como M1E1H2 y M1E1H3 (BPD dopado con 1500ppm de MP, 10 ppm de EGL y distintas concentraciones de agua) se puede observar que el aumento en el contenido de humedad no produjo una variación en la concentración de precipitados.

De acuerdo con la información mostrada en la Figura 23 es posible comparar la concentración final de precipitados de las pruebas M2E1H2 y M2E2H2 con M2E1H3 y M2E2H3; se puede apreciar que el aumento en el contenido de humedad disminuyó la concentración de precipitados, siendo mayor la diferencia entre concentración máxima de precipitados de las pruebas M2E1H2 y M2E1H3. Finalmente, en la Figura 23 se puede observar que el aumento en la concentración de MP y EGL aumenta la concentración de precipitados. Los resultados obtenidos en esta etapa fueron similares a los reportados por Plata et

al. (2015b), quienes encontraron que el aumento de EGL aumentó la concentración de precipitados en el BPD.

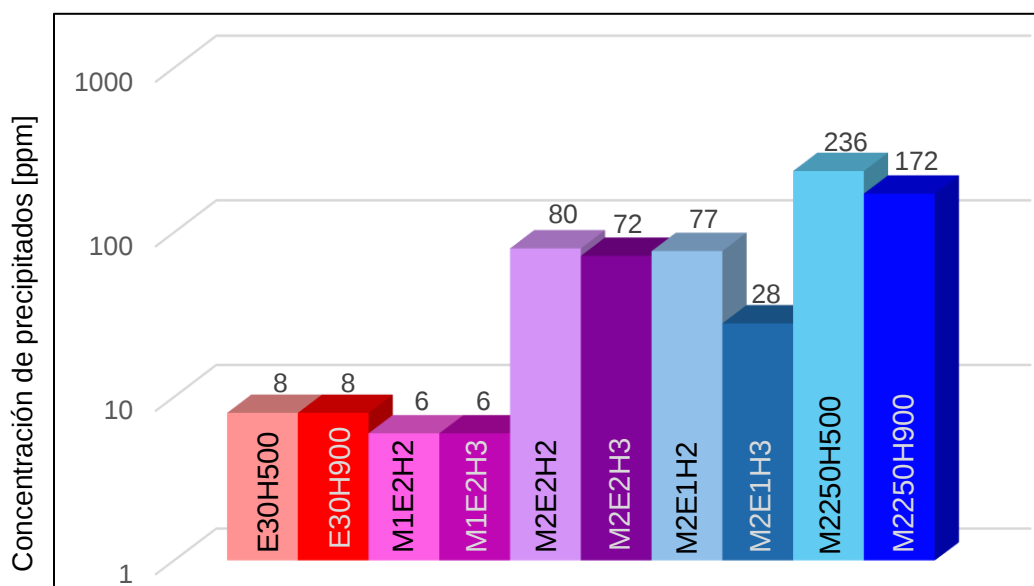
Figura 23. Seguimiento de la formación de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).



En la Figura 23 se observan dos etapas de formación de precipitados en las pruebas dopadas con 2250 ppm de MP (M2E1H2, M2E2H2, M2E1H3 y M2E2H3). Una primera etapa en la cual la formación de precipitados ocurrió posiblemente por (1) la aglomeración de los EGL y la MP disueltos en el BPD, los cuales se unieron a los núcleos formados de EGL antes del inicio de la prueba y (2) la formación de núcleos de MP, y una segunda etapa en la cual la rapidez de formación de precipitados fue mayor debido posiblemente a que los núcleos de MP formados en la primera etapa superaron su radio crítico y crecieron hasta ser detectados por el turbidímetro. Esto coincide con lo reportado por Foubert *et al.*

(2006), quienes señalaron que la cristalización de grasas es un proceso complejo y podía ocurrir en dos etapas debido a la formación de diferentes formas polimórficas o debido a la cristalización de diferentes fracciones.

Figura 24. Precipitados formados en el BPD con diferentes contenidos de humedad dopado con MP, EGL, y con la mezcla MP-EGL (M1 y M2 representan la concentración de MP de 1500 y 2250 ppm de MP, respectivamente; E1 y E2 son 10 y 30 ppm de EGL, respetivamente, y H2 y H3 corresponden a 500 y 900 ppm de agua, respectivamente).



Los resultados mostrados en la Figura 24 permitieron comparar la concentración final de precipitados formados cuando se evaluó el efecto separado de la presencia de MGS y EGL en el BPD y cuando se evaluó el efecto combinado MGS-EGL. Se observa que la mayor concentración de precipitados se produce cuando el BPD contiene únicamente MP y que la menor concentración se produce cuando el BPD contiene únicamente EGL. Si ambos componentes están presentes en el BPD, se forma una cantidad de precipitados menor que en el primer caso pero mayor que en el segundo, indicando que la interacción de estos componentes afecta la formación de precipitados. Este comportamiento es

independiente del contenido de humedad. Sin embargo, los valores obtenidos a menor concentración de humedad son, en todos los casos, mayores que los obtenidos a mayor concentración de humedad indicando que la presencia de humedad reduce la formación de precipitados.

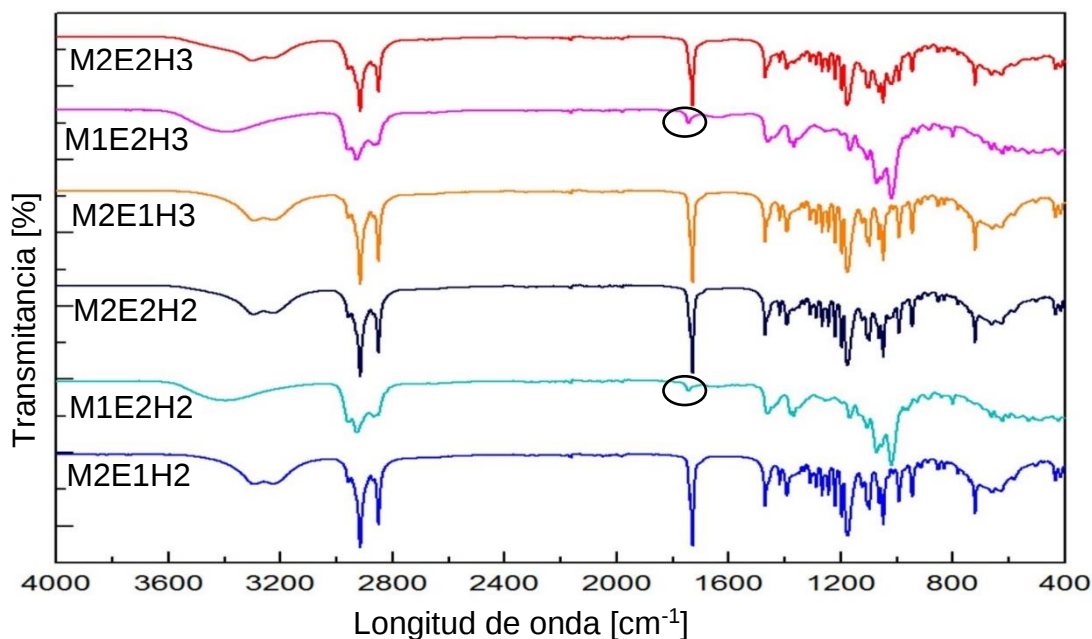
En la literatura no se encontraron trabajos que permitan explicar lo anterior. Sin embargo, este comportamiento puede asociarse a las energías de enlace que se forman entre los componentes del *haze* y que se ven modificadas dependiendo de la presencia o ausencia de cada componente. Un estudio más detallado de la estructura y dinámica de las moléculas (enlaces moleculares y fuerzas intermoleculares) de los precipitados formados a partir de cada uno de estos compuestos podría aclarar este fenómeno. Sin embargo, debe tenerse presente que la formación del *haze* en el biodiésel de palma depende de una gran cantidad de compuestos minoritarios resultando de mayor utilidad industrial estudiar el comportamiento en conjunto de los componentes y orientar dichos estudios a establecer la causa de su aparición y proponer alternativas de solución a esta problemática.

4.4.2 Caracterización de los precipitados formados en el biodiésel de palma destilado dopado con monoglicéridos saturados y esteril glucósidos libres

Análisis FTIR: Los espectros de los precipitados se muestran en la Figura 25. En general, se observó que las muestras M1E2H2 y M1E2H3 presentaron bandas iguales a las observadas en el patrón de EGL. Este comportamiento sugiere que los precipitados estaban formados principalmente por EGL. La presencia de MG no parece evidente aun cuando se observa la banda en 1740 cm^{-1} atribuible a la vibración producida por estiramiento del enlace C=O , debido a la ausencia de otras bandas características de estos compuestos. Esta banda también puede ser atribuida a la presencia de EGA. Por tanto, en este caso los precipitados estaban

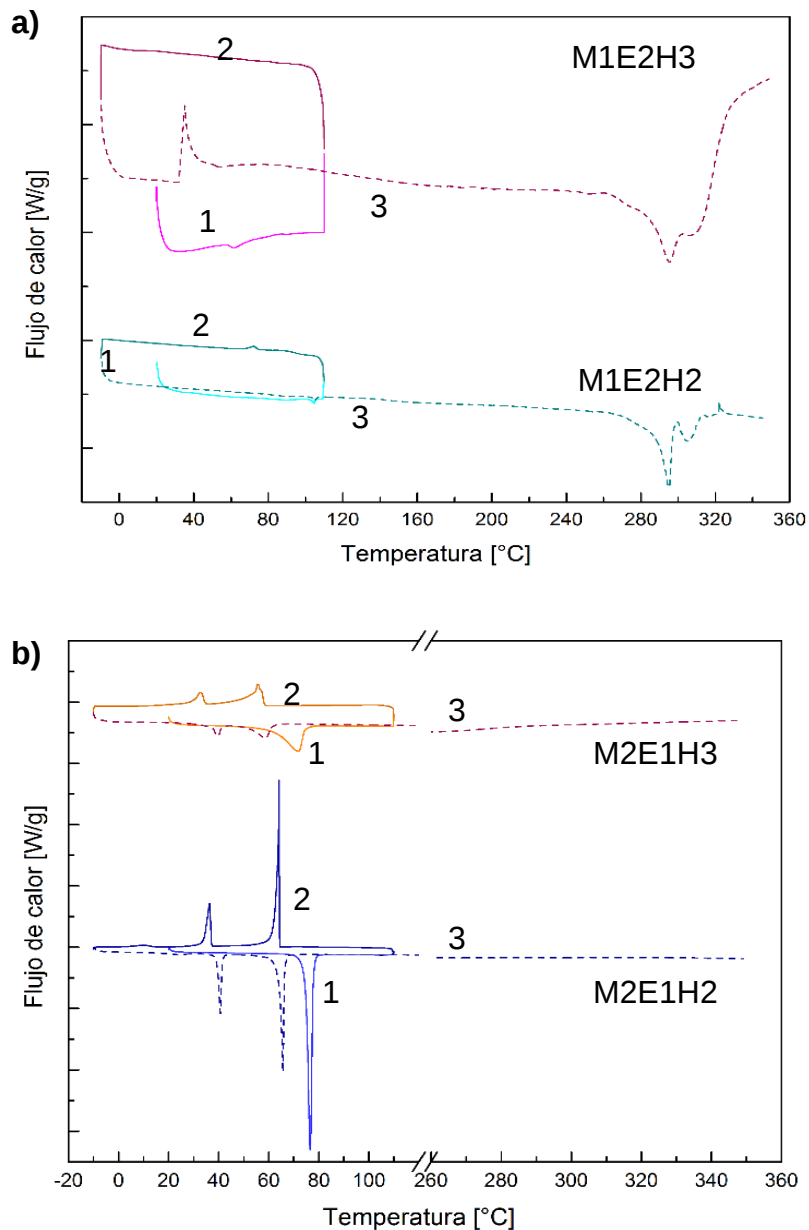
formados adicionalmente por EGA. En el caso de las muestras M2E1H2, M2E2H2, M2E1H3 y M2E2H3 se observó una similitud con las bandas de absorción características de la MP indicando que los precipitados estaban formados principalmente por MP.

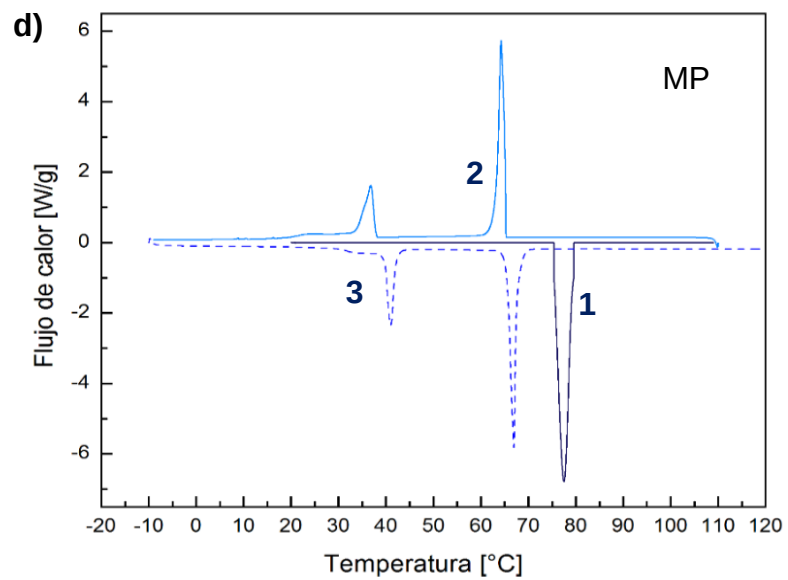
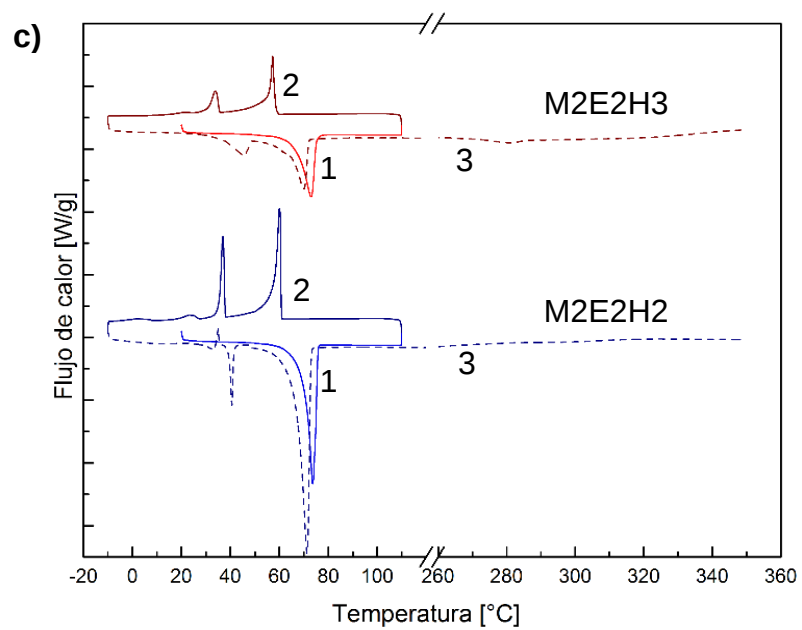
Figura 25. FTIR de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de monopalmitina (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).

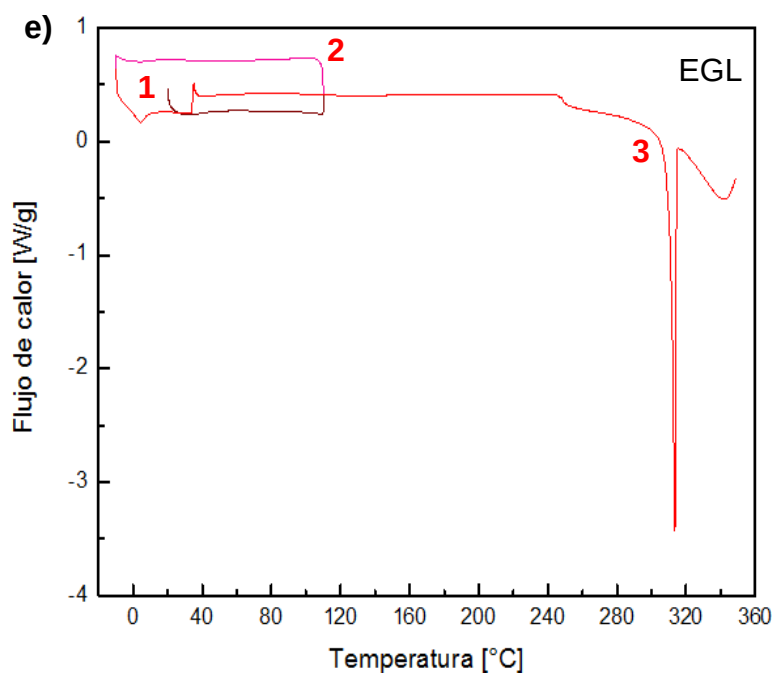


Análisis DSC: En la Figura 26 se pueden observar los perfiles térmicos de los precipitados dopados con MGS y EGL. Adicionalmente, en la Tabla 14 se presentan las temperaturas y entalpías de fusión y cristalización de los eventos térmicos de las muestras M2E1H2, M2E2H2, M2E1H3 y M2E2H3. En cuanto a las pruebas M1E2H2 y M1E2H3 (Figura 26a) presentaron el mismo perfil térmico que el patrón de EGL (Figura 26e). Mientras que, en las muestras M2E1H2, M2E2H2, M2E1H3 y M2E2H3 (Figura 26b y 26c) el perfil fue similar al obtenido con el patrón de MP (Figura 26d).

Figura 26. DSC de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm). a) M1E2H2 y M1E2H3, b) M2E1H2 y M2E1H3, c) M2E2H2 y M2E2H3, d) Patrón de MP y e) Patrón EGL. En cada gráfica 1 es la línea de calentamiento de 20 a 110 °C, 2 el enfriamiento de 110 a -10 °C y 3 el segundo calentamiento de -10 a 350 °C.







De acuerdo con los valores reportados en la Tabla 14, se observaron aproximadamente los mismos eventos térmicos para las muestras M2E1H2, M2E2H2, M2E1H3 y M2E2H3. Durante el calentamiento se presentó un primer evento endotérmico cuya temperatura de fusión varió entre 71,86 y 76,55 °C. Durante el enfriamiento se observaron dos picos exotérmicos producidos por la cristalización de dos diferentes fases polimórficas, el primero a una temperatura de cristalización que varió entre 55,54 y 64,16 °C y posteriormente, una transición polimórfica a una temperatura que varió entre 32,42 y 36,94 °C. Finalmente, en el segundo calentamiento se produjo la fusión de las dos fases polimórficas formadas, la primera a una temperatura que varió entre 39,83 y 45,71 °C, y la segunda entre 66 y 71 °C.

Tabla 14. Temperaturas y entalpías de fusión y cristalización de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de MP (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).

Nombre	Calentamiento		Enfriamiento		Recalentamiento					
	T	ΔH	T	ΔH	T	ΔH	T	ΔH	T	ΔH
	[°C]	[J/g]	[°C]	[J/g]	[°C]	[J/g]	[°C]	[J/g]	[°C]	[J/g]
M2E1H2	76,55	175,46	36,29	33,29	64,16	89,28	40,66	33,97	65,73	90,05
M2E2H2	73,60	125,45	36,94	26,37	60,03	70,29	40,66	33,67	70,34	188,91
M2E1H3	71,86	26,11	32,42	4,69	55,54	13,88	39,83	4,15	60,79	9,72
M2E2H3	73,15	72,01	33,69	12,95	57,32	30,09	45,71	3,28	69,24	62,00

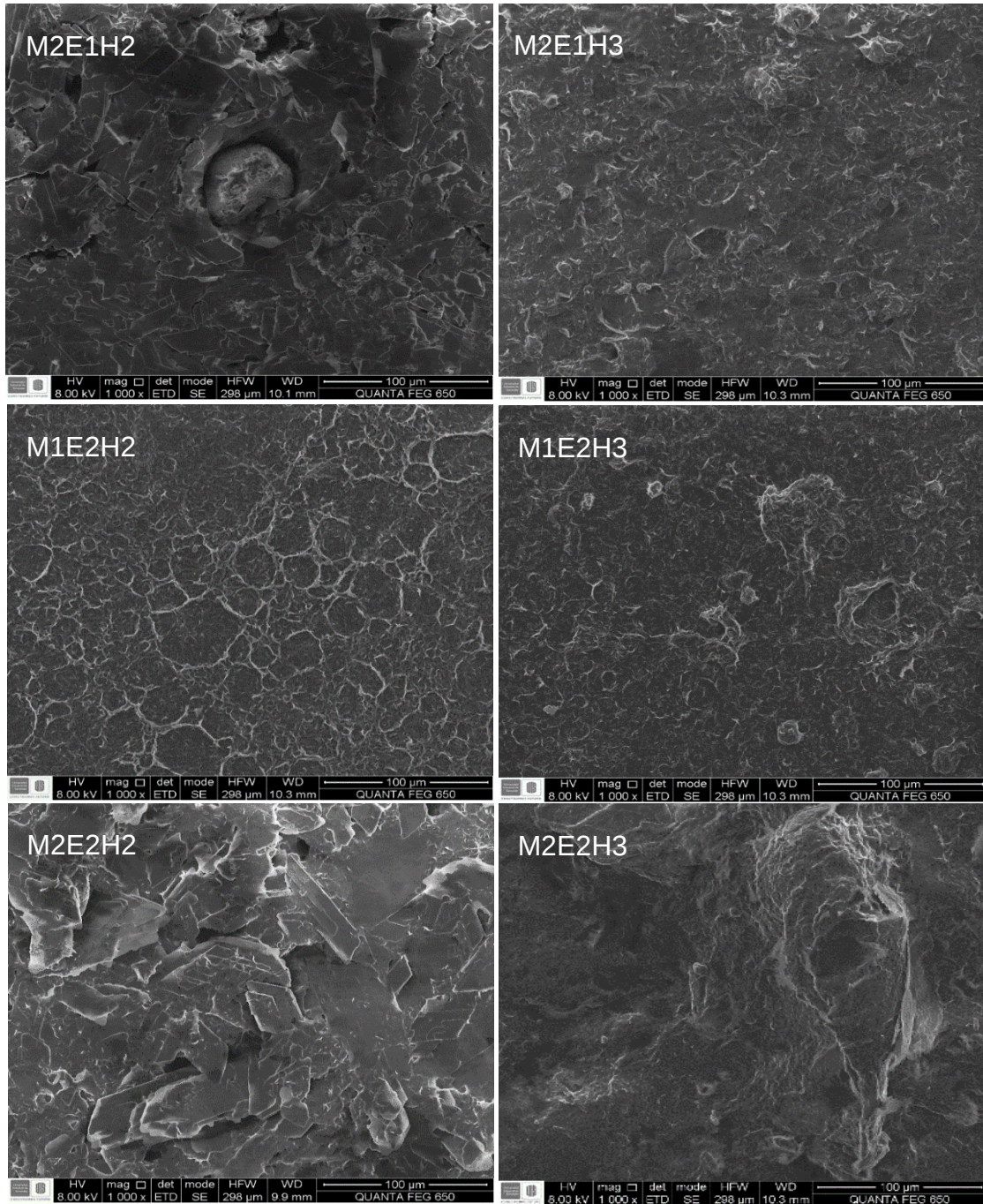
Adicionalmente, en la Tabla 14 se observa que existe un efecto de la variación de la concentración de MP, EGL y agua en las temperaturas y entalpías de los eventos térmicos observados. Sin embargo, este efecto no es el mismo al variar la concentración de estos compuestos, es decir, las temperaturas y entalpías de los eventos térmicos observados algunas veces aumenta, otras disminuye (aunque no en la misma proporción) y en otras permanece constante al aumentar la concentración de EGL y humedad.

Por tanto, se confirma lo mencionado anteriormente, la presencia de impurezas puede afectar las temperaturas de cristalización y fusión (Vereecken *et al.*, 2009) mientras que la diferencia en las entalpías de fusión y cristalización pueda ser ocasionada por las diferentes interacciones intermoleculares (Himawan *et al.*, 2006) que pueden existir entre las moléculas de MP, EGL y agua. Estas interacciones afectan la morfología de los precipitados (Himawan *et al.*, 2006) y causan la variación en las entalpías de fusión y cristalización (Himawan *et al.*, 2006; Côrrea *et al.*, 2010). No obstante, no es posible identificar una tendencia y dar una explicación más detallada.

Análisis SEM/EDS: En las imágenes obtenidas por SEM (Ver Figura 27) se observó que los precipitados formados en las pruebas con la más alta concentración de MG estudiada y más baja cantidad de agua (M2E1H2 y M2E2H2) tienen una morfología como hojuelas o láminas similares a la observada cuando los precipitados estaban formados por MP (Ver Figura 14). Comparando dichas muestras con sus homologas en concentración de MG y EG pero con una alta concentración de agua (M2E1H3 y M2E2H3), se observa que la adición de una mayor cantidad de agua ocasiona un cambio morfológico de los precipitados, los cuales se presentan en forma de aglomerados dispersos semejantes a los observados en los precipitados formados a partir de EGL (Figura 20). Es posible que la presencia de una mayor cantidad de agua favoreció la formación de complejos EG–MG–agua; en los precipitados observados en las muestras M1E2H2 y M1E2H3 también se observaron aglomerados dispersos similares a los obtenidos de EGL.

Con respecto al análisis EDS, todas las muestras obtuvieron distintas composiciones en diferentes puntos de la superficie analizados aleatoriamente. Para las muestras M1E2H2 y M1E2H3 la relación C:O fue de 89:11 %p/p, confirmando la presencia mayoritaria de EGL. Mientras que, para M2E1H2 y M2E1H3, la relación fue 84 %p/p de C y 16 %p/p de O, composición similar a la de la MP. Adicionalmente, en las 4 muestras anteriores se encontró una segunda composición en la cual se evidenció la presencia de sales de ácidos grasos en los precipitados debido a la relación encontrada de C:O:Na (85:13:2 %p/p, respectivamente). En las muestras M2E2H2, la mayor composición de los precipitados fue de C:O con una composición 84:6 %p/p. Por otra parte, la mayor relación encontrada en la muestra M2E2H3 fue 92% p/p de C y 8% p/p de O, es decir, puede que el aumento en la humedad favorece la solubilización de la MP en el biodiésel lo que hace que la concentración de precipitados sea menor y que éstos tengan una apariencia sea similar a los precipitados formados únicamente por EGL.

Figura 27. SEM de los precipitados de BPD dopado con diferentes concentraciones de monopalmitina (M1= 1500 ppm y M2= 2250 ppm), EGL (E1= 10 ppm y E2= 30 ppm) y agua (H2= 500 ppm y H3= 900 ppm).



En resumen, todas las muestras iniciaron con una concentración diferente de cero debido a la presencia de EGL en el BPD, por tanto, en esta etapa no existió un tiempo de inducción, y el aumento en el contenido de humedad del BPD disminuyó la concentración de precipitados formados, mientras que, el aumento en la concentración de MP y EGL aumenta la concentración de precipitados.

De acuerdo con la caracterización de los precipitados se evidenció la presencia de EGA y sales de ácidos grasos. Adicionalmente, se encontraron características similares a las observadas cuando los precipitados estaban dopados únicamente con MP o con EGL. Los precipitados de las muestras M2E1H2 y M2E2H2 tuvieron una forma como hojuelas similares a la observada cuando los precipitados estaban formados por MP, mientras que, la adición de una mayor cantidad de agua al BPD ocasiona que los precipitados se vean como aglomerados dispersos, semejantes a los observados en los precipitados formados a partir de EGL. Posiblemente el aumento en la humedad favorece la solubilización de la MP en el BPD. Adicionalmente, la diferencia en la morfología ocasionó una variación en el perfil térmico, los precipitados formados a partir de una menor concentración de MP en el BPD presentaron un perfil térmico similar al observado en el patrón de EGL mientras que las otras muestras presentaron similitud con el patrón de MP.

5 CONCLUSIONES

El diseño de la unidad piloto de turbidimetría permitió realizar el seguimiento de la formación de precipitados en función de las concentraciones de MGS, EGL y agua adicionadas al BPD. Los aumentos en las concentraciones de MGS y EGL, superiores a 1500 ppm y 10 ppm, respectivamente, favorecieron la formación de precipitados en el BPD cuando éste se almacena a una temperatura de 20°C durante 16 horas. Por otra parte, el efecto de la humedad en los precipitados formados por EGL no fue siempre el mismo, posiblemente por la estructura anfifílica de los EGL, la cual produjo una competencia entre los fenómenos de aglomeración y solubilización de éstos en el BP.

Con respecto a la caracterización fisicoquímica del *haze* formado se observaron precipitados amorfos dispersos. Sin embargo, no fue posible establecer una relación entre el tamaño de los precipitados y la concentración de compuestos minoritarios y contaminantes (MP, EGL y agua) presentes en el BPD. Adicionalmente, se determinó que la presencia de MP no induce la formación de precipitados de otra naturaleza, mientras que la presencia de EGL favorece la formación de precipitados de otros compuestos como EGA y sales de ácidos grasos.

BIBLIOGRAFÍA

ASTM D6751, 2012. Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate fuels. *American Society for Testing Material*.

ASTM D7321, 2011. Standard Test Method for Particulate Contamination of Biodiesel B100 Blend Stock Biodiesel Esters and Biodiesel Blends by laboratory filtration. *American Society for Testing Material*.

ASTM D7501, 2012. Standard Test Method for Determination of Fuel Filter Blocking Potential of Biodiesel (B100) Blend Stock by Cold Soak Filtration Test (CSFT). *American Society for Testing Material*.

Arshad, M.A. & Maaroufi, A., 2015. Relationship between Johnson–Mehl–Avrami and Šesták–Berggren models in the kinetics of crystallization in amorphous materials. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 413, pp.53-58.

Atabani, a. E. et al., 2012. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), pp.2070-2093.

Avrami, M., 1941. Granulation, Phase Change, and Microstructure Kinetics of Phase Change. III. *The Journal of Chemical Physics*, 9(2), p.177.

Bondioli, P., Cortesi, N. & Mariani, C., 2008. Identification and quantification of steryl glucosides in biodiesel. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(2), pp.120-126.

Bootello, M.A. et al., 2011. Dry fractionation and crystallization kinetics of high-oleic high-stearic sunflower oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(10), pp.1511-1519.

Cabrera, R. et al., 2010. Identificación, cuantificación y determinación de la variabilidad en el tiempo de los componentes insolubles del biodiesel de soja que se comercializa en Argentina. *A&G* 81, 4(XX), pp.612-617. Available at:

<http://www.asaga.org.ar/ag/081/>.

Castro De Sales, A.L. et al., 2008. Síntese, caracterização e análise térmica dos sais de lítio, sódio e potássio do ácido palmítico e do seu éster etílico. *Química Nova*, 31(7), pp.1722-1726.

Chupka, G.M. et al., 2011. Effect of Saturated Monoglyceride Polymorphism on Low-Temperature Performance of Biodiesel. *Energy & Fuels*, 25(1), pp.398-405.

Chupka, G.M., Fouts, L. & McCormick, R.L., 2012. Effect of low-level impurities on low-temperature performance properties of biodiesel. *Energy & Environmental Science*, 5(9), p.8734.

Corrêa Basso, R. et al., 2010. Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. *Food Chemistry*, 122(4), pp.1185-1192.

Crawley, G.M., Gruy, F. & Cournil, M., 1996. In-line study of cristal fragmentation in a stirred reactor. *Chemical Engineering Science*, 51(96), pp.4537 - 4550.

Dibildox-Alvarado, E. & Toro-Vazquez, J.F., 1997. Isothermal crystallization of tripalmitin in sesame oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(2), pp.69-76.

Dunn, R.O., 2009. Effects of minor constituents on cold flow properties and performance of biodiesel. *Progress in Energy and Combustion Science*, 35(6), pp.481-489.

Dunn, R.O., 2012. Effects of monoacylglycerols on the cold flow properties of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(8), pp.1509-1520.

Edlén, B., 1966. The Refractive Index of Air. *Metrologia*, 2(2), pp.71-80.

Farahani, M., Pagé, D.J.Y.S. & Turingia, M.P., 2011. Sedimentation in biodiesel and Ultra Low Sulfur Diesel Fuel blends. *Fuel*, 90(3), pp.951-957.

Fedepalma, 2010. Manejo de biodiesel y sus mezclas. Cuéllar Sánchez, Mónica. Available at: <http://www.fedebiocombustibles.com/files/Caracteristicas> del

Biodiésel y sus mezclas V1.pdf.

Fernandes Júnior, V.J., De Sousa Araujo, A. & Pivesso, R., 2012. Caracteriza  o de resíduo sólido formado em biodiesel de sebo bovino. *Quimica Nova*, 35(10), pp.1901-1906.

Foubert, I. et al., 2006. Modelling two-step isothermal fat crystallization. *Journal of Food Engineering*, 75(4), pp.551-559.

Foubert, I. & Vanrolleghem, P.A., 2003. Modelling of the crystallization kinetics of fats. *Food science & technology*, 14, pp.79-92.

Van Gerpen, J.H. et al., 1996. *Determining the Influence of Contaminants on Biodiesel Properties*. Iowa State University.

Giraldo, S.Y., Rios, L.A. & Suárez, N., 2013. Comparison of glycerol ketals, glycerol acetates and branched alcohol-derived fatty esters as cold-flow improvers for palm biodiesel. *Fuel*, 108(x), pp.709-714.

Harner, R. et al., 2010. Stable turbidity calibration standards. , 2(12).

Van Hoed, V. et al., 2008. Identification and occurrence of steryl glucosides in palm and soy biodiesel. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(8), pp.701-709.

Jain, S. & Sharma, M.P., 2011. Thermal stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), pp.438-448.

Kim, J. et al., 2012. Cold performance of various biodiesel fuel blends at low temperature. *International Journal of Automotive Technology*, 13(2), pp.293-300.

Kloek, W., Walstra, P. & van Vliet, T., 2000. Crystallization kinetics of fully hydrogenated palm oil in sunflower oil mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(4), pp.389-398.

Kotrba, R., 2006. Bound by Determination. *Biodiesel Magazine*. Available at: <http://www.biodieselmagazine.com/articles/1179/bound-by-determination>.

- Lavilla, I. et al., 2009. Microvolume turbidimetry for rapid and sensitive determination of the acid labile sulfide fraction in waters after headspace single-drop microextraction with in situ generation of volatile hydrogen sulfide. *Analytica Chimica Acta*, 647(1), pp.112-116.
- Lawler, D.M., 2005. Spectrophotometry: Turbidimetry and Nephelometry. En Elsevier, ed. *Encyclopedia of Analytical Science*. pp. 343-351.
- Lee, I. et al., 2007. Evaluación del ciclo de vida de la cadena de producción de biocombustibles en Colombia. *Biodiesel Magazine*. Available at: <http://www.biodieselmagazine.com/articles/1566/the-role-of-sterol-glucosides-on-filter-plugging/>.
- Lenka, M. & Sarkar, D., 2014. Determination of metastable zone width, induction period and primary nucleation kinetics for cooling crystallization of l-asparaginenohydrate. *Journal of Crystal Growth*, 408, pp.85-90.
- Lin, H. et al., 2011. Effect of trace contaminants on cold soak filterability of canola biodiesel. *Fuel*, 90(5), pp.1771-1777.
- Málek, J., 2000. Kinetic analysis of crystallization processes in amorphous materials. *Thermochimica Acta*, 355(1-2), pp.239-253.
- Mazzanti, G. et al., 2004. Effect of Minor Components and Temperature Profiles on Polymorphism in Milk Fat. *Crystal Growth and Design*, 4, pp.1303 - 1309.
- McCabe, W.L., Smith, J.C. & Harriott, P., 1991. Cristalización. En McGrawHill, ed. *Operaciones unitarias en Ingeniería Química*. pp. 925 - 927.
- Mendoza, L. et al., 2015. Determination of the Fuel Filter Plugging Potential of Palm Oil Biodiesel by an Alternative Method. *Chemical Engineering Transactions*, 43, pp.643-648.
- Mesa-Dishington, J., 2014. Experiencia del gremio palmero colombiano en el desarrollo del biodiésel de palma Contenido. Available at:

http://web.fedepalma.org/media/Presentacion_JMD_Costa_Rica_Biodiesel_opt2.pdf.

Metin, S. & Hartel, R.W., 2005. Crystallization of fats and oils. En F. Shahidi, ed. *Bailey's industrial oil and fat products*. Wiley-Interscience, pp. 44 - 76.

Ministerio de Minas y Energía, 2012. Estudio para la estructuración de un programa de aseguramiento de calidad (QA/QC) de los biocombustibles en Colombia. Available at: http://www.minminas.gov.co/minminas/downloads/UserFiles/File/hidrocarburos/ACUERDOGOBIERNO-INDUSTRIA/5_Presentacion Actividad 1.pdf.

Mirghani, M.E.S. et al., 2002. FTIR Spectroscopic Determination of Soap in Refined Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(2), pp.111-116.

Montenegro Mier, M.A., Sierra Vargas, F.E. & Guerrero Fajardo, C.A., 2012. Producción y caracterización de biodiésel a partir de aceite de pollo Production and characterization of biodiesel from chicken fat. *Informador Técnico*, 76, pp.62-71.

Moreau, R. a., Scott, K.M. & Haas, M.J., 2008. The identification and quantification of steryl glucosides in precipitates from commercial biodiesel. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(8), pp.761-770.

Moser, B.R., 2009. Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 45(3), pp.229-266.

Na-Ranong, D. & Kitchaiya, P., 2014. Precipitation above cloud point in palm oil based biodiesel during production and storage. *Fuel*, 122, pp.287-293.

Nyström, L., Schär, A. & Lampi, A.M., 2012. Steryl glycosides and acylated steryl glycosides in plant foods reflect unique sterol patterns. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(6), pp.656-669.

Pavanelli, D. & Bigi, A., 2005. Indirect methods to estimate suspended sediment concentration: Reliability and relationship of turbidity and settleable solids. *Biosystems Engineering*, 90(1), pp.75-83.

Pfalzgraf, L. et al., 2007. Effect of minor components in soy biodiesel on cloud point and filterability. *INFORM - International News on Fats, Oils and Related Materials*, 18(SUPPL. 4), pp.17-21.

Plata, V., Gauthier-Maradei, P., et al., 2015. Characterization of insoluble material isolated from Colombian palm oil biodiesel. *Biomass and Bioenergy*, 74, pp.6-14.

Plata, V., Ortíz, C., et al., 2015. Influence of minor components on precipitate formation and filterability of palm oil biodiesel. *Fuel*, 144, pp.130-136.

Pullen, J. & Saeed, K., 2015. Investigation of the factors affecting the progress of base-catalyzed transesterification of rapeseed oil to biodiesel FAME. *Fuel Processing Technology*, 130(C), pp.127-135.

Rabesiaka, M. et al., 2011. An automatic method for the determination of saturation curve and metastable zone width of lysine monohydrochloride. *Journal of Crystal Growth*, 332(1), pp.75-80.

Ramón Valencia, B., Ramón Valencia, J. & Sarauá Oiz, J.R., 2011. Influencia de refuerzos de tipo carbonoso en la cinética de cristalización de la polietertercetona. *El hombre y la Máquina*, 37, pp.59-65.

Raphael, M. & Rohani, S., 1996. On-line estimation of solids concentrations and mean particle size using a turbidimetry method. *Powder Technology*, 89(2), pp.157-163.

Ribeiro, A.P.B. et al., 2009. Thermal behavior, microstructure, polymorphism, and crystallization properties of zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil. *Food Biophysics*, 4(2), pp.106-118.

Romain, V. et al., 2013. Thermal properties of monoglycerides from Nephelium

Lappaceum L. oil, as a natural source of saturated and monounsaturated fatty acids. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 52(39), pp.14089-14098.

Smith, K.W. et al., 2011. Crystallization of fats: Influence of minor components and additives. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(8), pp.1085-1101.

Tang, H. et al., 2010. Comparing process efficiency in reducing steryl glucosides in biodiesel. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(3), pp.337-345.

Tang, H., De Guzman, R.C., et al., 2008. Formation of insolubles in palm oil-, yellow grease-, and soybean oil-based biodiesel blends after cold soaking at 4 °C. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(12), pp.1173-1182.

Tang, H., Salley, S.O. & Simon Ng, K.Y., 2008. Fuel properties and precipitate formation at low temperature in soy-, cottonseed-, and poultry fat-based biodiesel blends. *Fuel*, 87(13-14), pp.3006-3017.

UNE - EN ISO, 7027, 2001. Norma Española.

Vanhoutte, B. et al., 2002. Effect of phospholipids on isothermal crystallisation and fractionation of milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(11), pp.738-744.

Vega, E., Verde, R. & Pérez, M. del C., 2003. *La teoría y la práctica en el laboratorio de Química Analítica I* Primera. U. A. Metropolitana, ed., México D.F.

Vereecken, J. et al., 2009. Comparing the crystallization and polymorphic behaviour of saturated and unsaturated monoglycerides. *Food Research International*, 42(10), pp.1415-1425.

Verstringe, S. et al., 2013. Influence of monopalmitin on the isothermal crystallization mechanism of palm oil. *Food Research International*, 51(1), pp.344-353.

Wang, H. et al., 2010. Analysis of sterol glycosides in biodiesel and biodiesel precipitates. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(2), pp.215-221.

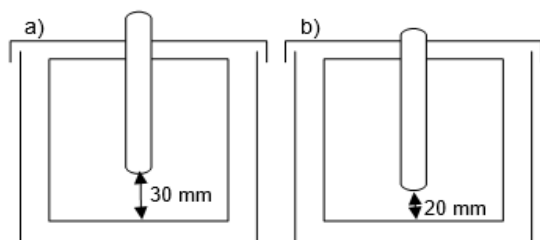
Wright, A.J. et al., 2000. The Effect of Minor Components on Milk Fat Crystallization. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(5), pp.463-475.

ANEXOS

ANEXO A. ELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN

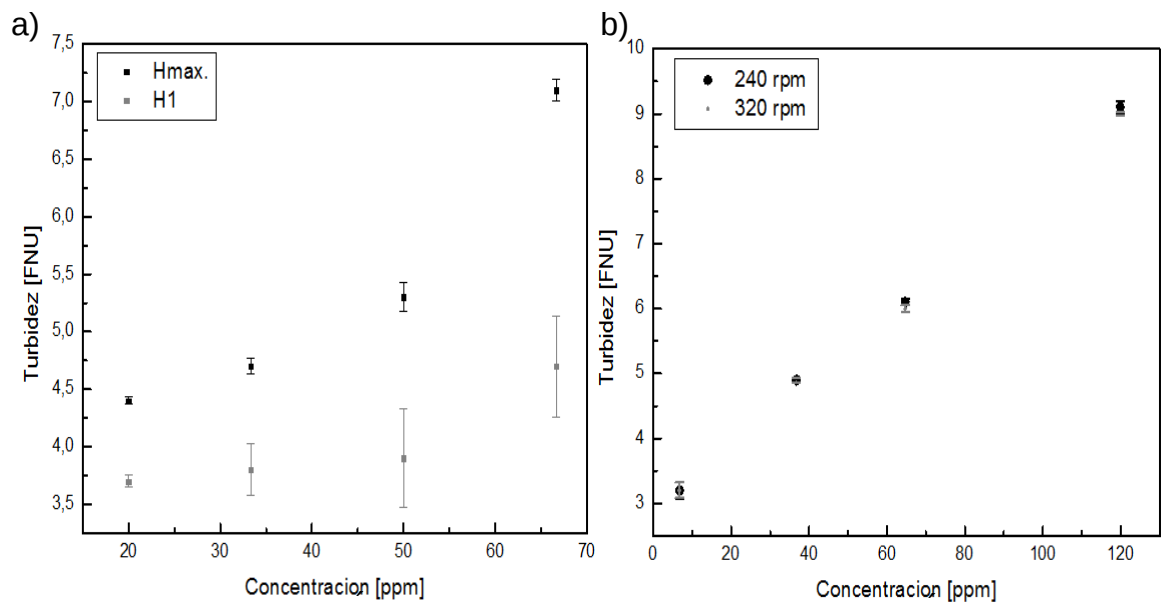
El BP comercial utilizados en este estudio fue suministrado por Ecodiesel Colombia S.A. Se realizaron pruebas preliminares variando la altura de la sonda de turbidez y velocidad de agitación en el reactor para determinar las condiciones de operación adecuadas. Para determinar la ubicación de la sonda se establecieron dos alturas (Figura A1), se registró la turbidez cuando la sonda se ubicó a la altura denominado como la altura máxima ($H_{\text{máx}}$), puesto que corresponde al nivel más alto necesario para que la sonda estuviera completamente sumergido, a 30 mm del fondo del reactor y cuando la sonda se encontraba a 20 mm del fondo del reactor (H_1). Posteriormente, para determinar la velocidad de agitación se registró la turbidez cuando la velocidad de agitación fue de 240 y 320 rpm. Se prepararon muestras 300 mL de BP con diferentes relaciones volumétricas de BP_{turbio} y $BP_{\text{no-turbio}}$, para obtener el $BP_{\text{no-turbio}}$, una parte del BP se filtró a través de una membrana de 0,7 μm de diámetro de poro (Whatman GF/F, de 47 mm de diámetro) bajo 80 kPa de vacío, mientras que la parte de BP no filtrado se denominó como $BP_{\text{no-turbio}}$. Adicionalmente, las mezclas se analizaron de acuerdo con la norma ASTM D7321, con algunas modificaciones. Finalmente, la relación entre turbidez y masa de precipitados fue determinada.

Figura A1. Altura de la sonda: a) $H_{\text{máx}}$: sonda ubicada en la altura máxima (30mm del fondo), b) H_1 : sonda a 20 mm del fondo.



Respecto a la evaluación de la altura de la sonda la Figura A2a presenta el valor de turbidez versus la concentración de material particulado en agua, para las dos alturas estudiadas se puede observar un aumento de la señal de turbidez con el aumento de la concentración del material particulado. Sin embargo, para cada una de las concentraciones evaluadas se registró un mayor valor de turbidez cuando la sonda fue ubicada en la altura denominada como H_{máx}. Adicionalmente, la diferencia entre la señal registrada a H_{máx} y H1 aumentó de forma proporcional con el aumento de la concentración de material particulado, es decir, a la altura máxima se observó una mayor sensibilidad para detectar la concentración de los sólidos en la suspensión. Por otra parte, en la altura H_{máx} se observó una desviación estándar de 14,1% durante el registro de la turbidez. Mientras que, para H1 se observó una significativa variación de la desviación de la señal de turbidez (desviación estándar de 47%). Por tanto, se determinó que la sonda estuviera ubicada a 30 mm del fondo del reactor para todas las pruebas.

Figura A2. Variación de la turbidez en función de la concentración de material particulado para: a) las alturas de la sonda y b) las velocidades de agitación.



Para evitar la sedimentación de los sólidos en el sistema y garantizar una mezcla homogénea se eligió la velocidad de agitación en mezclas de BP comercial. Los resultados de los ensayos con agitación mecánica a la velocidad de 240 y 320 rpm se muestran en la Figura A2b. La variación de la velocidad de agitación de las diferentes mezclas de BP no afectó significativamente la turbidez registrada. Por tal razón, se puede asegurar que la velocidad de 240 rpm puede ser seleccionada para realizar el seguimiento de la formación de *haze* puesto que no se observa sedimentación de los precipitados presente en el biodiésel. Adicionalmente, es necesario señalar que pruebas realizadas con una mayor velocidad ocasionaron la formación de vórtice y burbujas, los cuales causan grandes fluctuaciones en la señal del turbidímetro.

ANEXO B. EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE LA UNIDAD PARA EL SEGUIMIENTO POR TURBIDIMETRÍA DE LOS PRECIPITADOS FORMADOS EN BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA

El *haze* recuperado de los tanques de almacenamiento fue suministrado por Ecodiesel Colombia S.A y el BP comercial utilizados en este estudio fue suministrado por Ecodiesel Colombia S.A. y Oleoflores S.A.

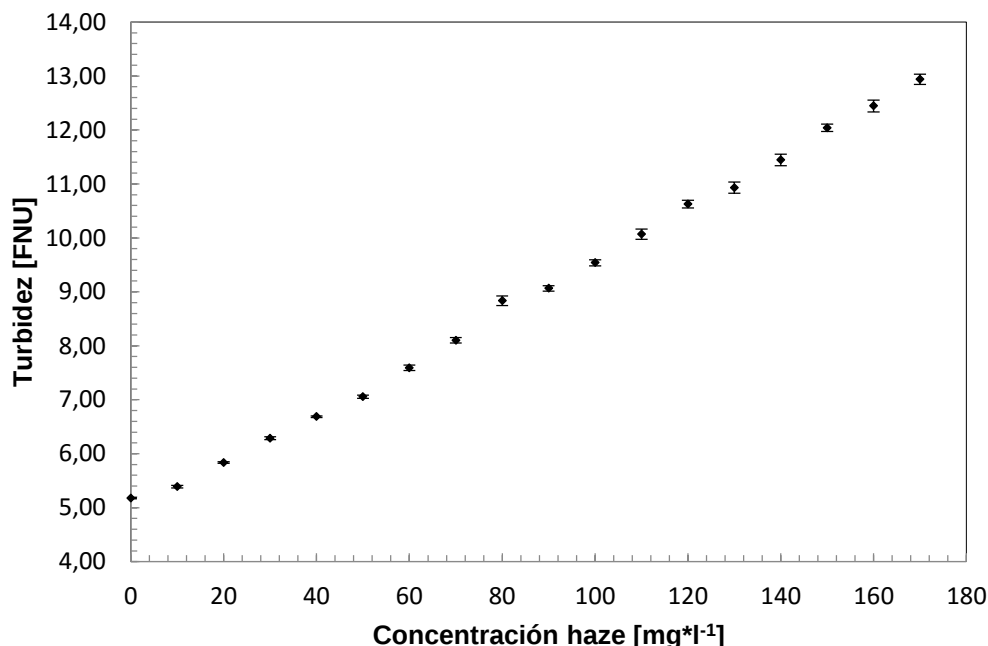
Para validar el funcionamiento de la unidad a escala laboratorio para la detección y cuantificación de *haze* usando turbidimetría *on-line* se registró y analizó la turbidez de tres diferentes tipos de pruebas: 1) biodiésel de palma destilado (BPD) dopado con cantidades conocidas de precipitados aislados de un tanque de almacenamiento de Ecodiesel Colombia S.A. 2) mezclas de biodiésel comercial (BP_{turbio} y BP_{no-turbio}), 3) BP comercial obtenido de dos lotes diferentes de la empresa Oleoflores S.A.

En el primer lugar, el BPD se dopó con cantidades conocidas de Hz3 con el fin de evaluar la sensibilidad de la sonda de turbidimetría para detectar los precipitados de BP, en la Figura B1 se presenta la variación de la turbidez expresada en FNU versus la concentración de *haze* en el biodiésel expresada en mg*L⁻¹. La turbidez del BPD dopados con Hz3 mostró una desviación estándar promedio de $\pm 0,1$ FNU indicando una buena reproducibilidad. Se observa que las muestras dopadas con concentraciones mayores a 110mg*L⁻¹ presentaron una mayor desviación de los datos posiblemente provocada por la sedimentación ocasional de pequeñas cantidades de Hz1 que vuelven a suspenderse en el biodiésel por la acción de la agitación. Sin embargo, estas fluctuaciones no fueron mayores de $\pm 0,3$ FNU.

Como se observa en la Figura B1, la turbidez del BPD dopado aumentó de forma lineal al aumentar la concentración de Hz3, lo que indica, que la variabilidad de la turbidez con respecto a la concentración de Hz3 puede ser descrita por un modelo de primer orden. La Ecuación B1 representa el modelo obtenido mediante un

análisis de regresión lineal, donde T representa la turbidez en FNU y X indica la concentración de H_z3 en mg*L⁻¹. El coeficiente de determinación obtenido por este ajuste fue de $R^2 = 0,998$, lo que indica más del 99% de confianza del modelo.

Figura B1. Relación entre la turbidez registrada y la concentración de H_z1 en BAP destilado.



$$T_{[FNU]} = 0,047 * (X_{[mg*l^{-1}]}) + 4,898 \quad \text{Ec. (B1)}$$

La segunda parte consistió en la validación del modelo planteado en la Ecuación (B1) utilizando dos lotes BP comercial. Los valores predichos por el modelo y los valores experimentales detectados por el turbidímetro se muestran en la Tabla B1. Se observa que la concentración de *haze* predicha es siempre inferior al obtenido experimentalmente. El lote 1 registró la mayor concentración de precipitados y a su vez, presentó la mayor desviación entre el valor experimental y el calculado. Una posible explicación para este resultado puede ser la subestimación de la concentración de material particulado obtenida por turbidimetría.

Esta subestimación puede ser causada por problemas de sedimentación dentro de la unidad desarrollada en este estudio, los cuales son evidentes cuando la concentración de material particulado es mayor y conllevan a un cálculo de concentración en el biodiésel inferior al realmente existente. Se puede suponer que parte del material particulado permanece en el fondo del reactor y por lo tanto no es detectado por el turbidímetro. Adicionalmente, se debe tener en cuenta que la naturaleza de los precipitados formados en los dos lotes de biodiésel es diferente de Hz3. Como se mencionó anteriormente, Moreau *et al.*, 2008 señalan que la naturaleza del *haze* puede ser distinta y está determinada en función del lugar donde se originaron los precipitados, el proceso de refinación del aceite y el proceso de producción del biodiésel (Tang *et al.*, 2008). Por tanto, para obtener un modelo capaz de predecir la variación de la turbidez con respecto la concentración de biodiésel de aceite de palma turbio fue necesario preparar mezclas de biodiésel (turbio y no turbio), registrar la turbidez de cada mezcla y determinar el contenido de precipitados.

Tabla B1. Validación del modelo obtenido para calcular la concentración de haze en biodiésel de palma (BP).

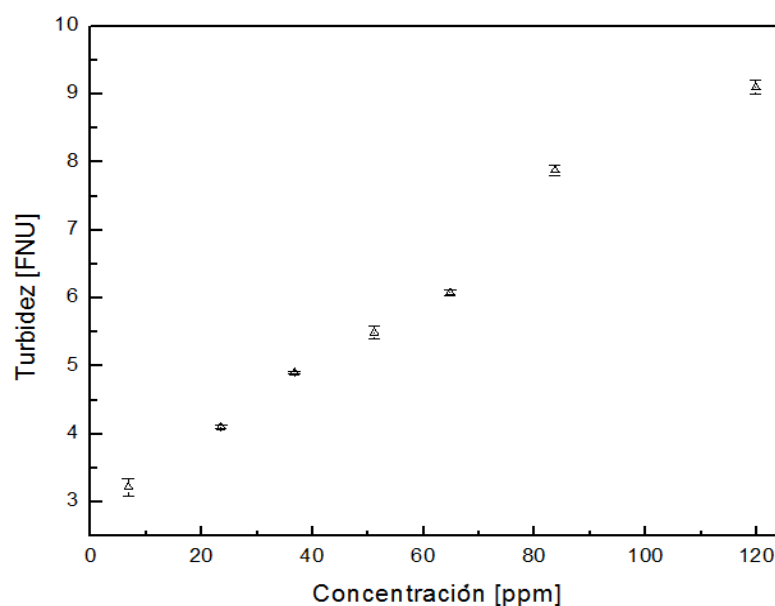
BP commercial	Concentración obtenida experimentalmente [mg*L⁻¹]	Concentración predicha por el modelo [mg*L⁻¹]	Desviación [%]
Lote 1	157,7	136,2	Como13,5
Lote 2	104,3	93,7	10,1

Finalmente, para evaluar la aplicación de la turbidimetría como metodología alternativa para determinar la concentración de *haze* formado de forma natural en el BP se realizó otra curva usando BP turbio. Las relaciones volumétricas evaluadas fueron 0/100, 15 / 85, 30/70, 45/55, 60/40, 75/25, 100/0 ($V_{BP \text{ turbio}} / V_{BP \text{ no-turbio}}$) y se determinó la relación entre turbidez y masa de precipitados. La Figura

B2 muestra la turbidez registrada en función de la concentración de precipitados presentes en cada una de las mezclas de BP_{turbio} y BP_{no-turbio}, los datos se ajustaron al modelo descrito en la Ecuación (B2) mediante regresión lineal, en donde τ es la turbidez registrada en FNU y X es la concentración de *haze* expresada en ppm. Un alto coeficiente de correlación $R^2=0,984$ indicó que la turbidez del biodiésel podía ser explicada por el modelo con una confiabilidad de más del 98%, por tanto, el modelo puede ser utilizado para la detección del contenido de *haze* en BP turbio con alta precisión. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el modelo se obtuvo para un lote en particular y como se indicó anteriormente, la naturaleza de los precipitados de biodiésel puede variar. Por tanto, puede ser necesario ajustar parámetros del modelo para diferentes lotes.

$$\tau_{[FNU]} = 0,05 * (X_{[ppm]}) + 2,87 \quad \text{Ec. (B2)}$$

Figura B2. Turbidez registrada vs la concentración de precipitados de las mezclas de BP turbio.



ANEXO C. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA SEÑAL DE TURBIDEZ

Para determinar la influencia de la temperatura sobre la señal se realizaron experimentos a diferentes temperaturas. Específicamente, se registró la turbidez del BPD dopado con 3 concentraciones de silica gel (0, 50 y 100 ppm) a 20, 30 y 40°C. Sílica gel fue elegida como material particulado inerte para eliminar la posibilidad de que el *haze* se disolviera en el biodiésel a altas temperaturas. Los datos fueron analizados por ANOVA seguido de la prueba de mínima diferencia significativa (LSD) para comparaciones múltiples utilizando el software Statgraphics Centurion (versión de prueba gratuita, Tecnologías StatPoint, Inc., Warrenton, VA). Un valor de p menor de 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

Tabla C. Turbidez del BPD con diferentes concentraciones de silica gel. Los valores que tienen diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de rangos múltiples de menor diferencia significativa (valor de $p < 0,05$).

CONCENTRACIÓN DE SILICA GEL [ppm]	TEMPERATURA [°C]					
	20		30		40	
	Turbidez [FNU]					
0	5,0	a	5,0	a	5,1	a
50	5,6	b	5,5	b	5,8	b
100	6,6	c	6,8	c	6,7	c

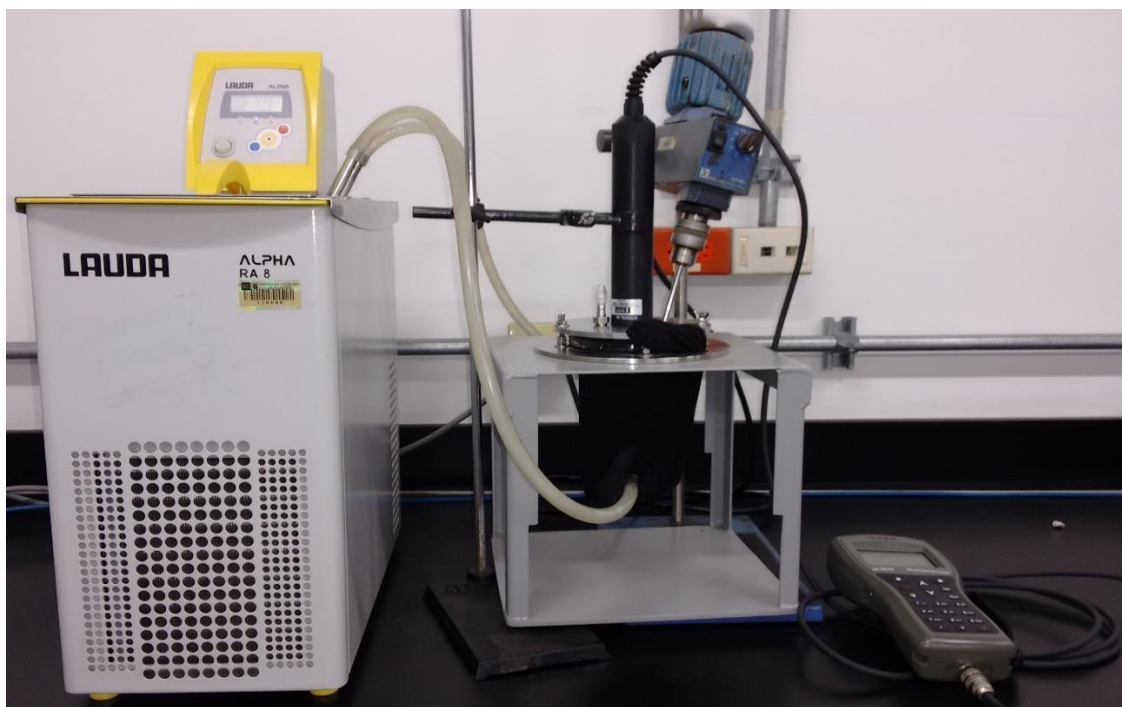
En la Tabla C se presentan los datos del promedio de turbidez a diferentes temperaturas para tres concentraciones de material particulado inerte, se puede observar el aumento de la turbidez al aumentar la concentración de material particulado. Adicionalmente, la señal del turbidímetro tuvo una pequeña variación (0,1 - 0,3 FNU) con el cambio de la temperatura. Para verificar la existencia de una posible influencia de la temperatura sobre la señal de turbidez se realizó un análisis de varianza (ANOVA) comparativo entre grupos. El resultado obtenido

demostró que el cambio en la turbidez no fue estadísticamente significativo (valor $p > 0,05$). Por tanto, la medida de turbidez no se ve afectada por cambios de temperatura entre 20 y 40 °C, esto permite considerar el uso de la unidad piloto de turbidimetría en sistemas de evaluación de la formación de *haze* no isotérmicos.

Los resultados obtenidos para el montaje y puesta en marcha de la unidad piloto de turbidimetría demostraron el uso de esta técnica como un método alternativo para determinar el contenido de precipitados en BP en condiciones no isotérmicas sin que el cambio de temperatura afecte la naturaleza de los precipitados ni la señal de turbidez. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la relación entre la turbidez y la concentración de *haze* depende de la naturaleza de los precipitados, la cual depende a su vez de la composición del biodiésel, el proceso de producción de éste y las condiciones de almacenamiento. Por tanto, es necesario ajustar los parámetros del modelo dependiendo del lote de BP.

ANEXO D. PROTOCOLO DE OPERACIÓN SISTEMA DE SEGUIMIENTO DE LA FORMACIÓN DE PRECIPITADOS EN BIODIÉSEL DE PALMA

Figura D. Unidad experimental para la cuantificación de haze formado en BP.



1. Registrar el peso de 300 mL de biodiésel (no olvidar si es necesario calibrar la balanza) y depositarlo en el reactor de vidrio.
2. Ubicar la pala del agitador dentro de la tapa del reactor.
3. Situar y fijar el agitador y la sonda de turbidez cada uno a su respectivo soporte a la altura determinada, de tal forma que no interfieran entre sí.
4. Ajustar los tornillos de la tapa del reactor.
5. Conectar las mangueras del baño a la chaqueta de vidrio del reactor (usar sujetadores para evitar que la manguera se desconecte).
6. Conectar la sonda de turbidez al medidor multiparamétrico (no olvidar calibrar previamente la sonda).
7. Prender el medidor, crear el archivo en el cual se va a guardar el registro de la prueba.

8. Conectar y prender el baño termostatado y fijar la temperatura de operación (eliminar las burbujas formadas por circulación del líquido caloportador).
9. Conectar y prender el agitador en la velocidad establecida (comprobar que el agitador no choque con la sonda, ni que la velocidad seleccionada cause burbujas que puedan afectar el registro de la turbidez).
10. Si la prueba lo requiere abrir la válvula de entrada de Nitrógeno y verificar q las burbujas no afecten la señal del turbidímetro
11. Forrar la chaqueta del reactor con una tela negra para evitar interferencias del medio.
12. Verificar que la temperatura registrada por la termocupla del medidor sea la temperatura de trabajo e iniciar el registro de la turbidez.

Finalizado el tiempo de incubación:

1. Parar el registro de la turbidez y apagar el medidor multiparamétrico.
2. Cerrar la válvula de entrada del nitrógeno (si fue usado).
3. Apagar y desconectar el agitador y el baño termostatado.
4. Soltar los sujetadores de las mangueras, desconectar las mangueras del baño y desocupar el líquido caloportador que haya quedado dentro de la chaqueta del reactor.
5. Soltar la pala del agitador, los tornillos y quitar la tapa del reactor.
6. Soltar la sonda del medidor multiparamétrico y retirarla del soporte.
7. Desocupar el reactor.
8. Lavar, secar y ordenar el reactor, la sonda de turbidez y la pala de agitación hasta su próximo uso.
9. Usar el cable adaptador para extraer los datos del medidor al computador (antes de conectar el medidor al pc se deben quitar las baterías del medidor para evitar que se dañen).
10. Si es necesario después de extraer los datos poner a cargar el medidor multiparamétrico por 4 horas.

ANEXO E. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN EL BIODIÉSEL DE ACEITE DE PALMA

Nombre		%p/p
Ácido láurico	C12:0	0,3
Ácido mirístico	C14:0	1,0
Ácido palmítico	C16:0	44,8
Ácido palmitoleico	C16:1	0,2
Ácido esteárico	C18:0	4,3
Ácido oleico	C18:1	39,9
Ácido linoleico	C18:2	8,7
Ácido linolénico	C18:3	0,2
Ácido araquídico	C20:0	0,4
Ácido behénico	C22:0	0,1
Ácido lignocérico	C24:0	0,1
Total ácidos grasos saturados		51
Total ácidos grasos insaturados		49

Fuente: Plata *et al.*, 2015a.