



Evitar la explotación de la tierra,  
no la del hombre

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

## UNIDAD REGIONAL UNIVERSITARIA DE ZONAS ÁRIDAS PROGRAMA DE POSGRADO EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ARIDAS

### TESIS

#### RENDIMIENTO Y CALIDAD DE ACEITE DE SEMILLA DE *Argemone pleiakantha* Greene PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

#### MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS



DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

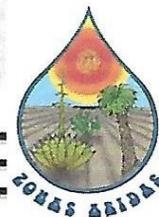
Presenta:

ELENA DEL CARMEN VILLARREAL ORNELAS

Bajo la supervisión de:

DR. RICARDO TREJO CALZADA

Bermejillo, Durango, Mayo de 2017



El presente trabajo de tesis titulado: **RENDIMIENTO Y CALIDAD DE ACEITE DE SEMILLA DE *Argemone pleiacantha Greene* PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL**” fue realizada por la Ingeniero Elena del Carmen Villarreal Ornelas, ha sido revisada y aprobada por el Comité Asesor como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO  
AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS**

**COMITÉ ASESOR:**

**DIRECTOR:**

**Dr. Ricardo Trejo Calzada**

**CO-DIRECTOR:**

**Dr. Ricardo David Valdez Cepeda**

**ASESOR:**

**Dr. Miguel Agustín Velásquez Valle**

**ASESOR:**

**Dr. Ignacio Sánchez Cohen**

**ASESOR:**

**Dr. José Antonio Cueto Wong**

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
DEDICATORIA .....	x
AGRADECIMIENTOS .....	xi
CAPÍTULO I .....	14
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	14
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	16
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	16
<b>TRATAMIENTOS FÍSICOS Y HORMONALES EN SEMILLAS DE <i>Argemone</i></b> <b><i>pleiacantha</i> Greene PARA PROMOVER GERMINACIÓN</b> .....	18
<b>RESUMEN</b> .....	18
<b>ABSTRACT</b> .....	19
<b>PHYSICAL AND HORMONAL TREATMENTS IN SEEDS OF <i>Argemone</i></b> <b><i>pleiacantha</i> Greene TO PROMOTE GERMINATION</b> .....	19
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	26

CONCLUSIONES .....	33
CAPITULO III .....	34
RESUMEN.....	34
EVALUACIÓN DEL ACEITE DE SEMILLAS DE <i>Argemone pleiakantha</i> Greene COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL .....	34
ABSTRACT.....	35
SEED OIL ASSESSMENT OF <i>Argemone pleiakantha</i> Greene AS A PRIMARY MATERIAL FOR BIODIESEL PRODUCTION .....	35
INTRODUCCIÓN .....	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
.....	38
RESULTADOS Y DISCUSION .....	47
CONCLUSIONES .....	55
CAPITULO IV.....	56
RESUMEN.....	56
TRANSESTERIFICACIÓN DE BIODIESEL OBTENIDO A PARTIR DEL ACEITE DE <i>Argemone pleiakantha</i> Greene ASISTIDA POR ULTRASONIDO .....	56
ABSTRACT.....	57

<b>TRANSESTERIFICACION OF BIODIESEL OBTAINED FROM <i>Argemone</i> <i>pleiakantha Greene</i> OIL ASSISTED BY ULTRASOUND .....</b>	<b>57</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>58</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>60</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>64</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>70</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>70</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta y semillas de <i>Argemone pleiacantha</i> Greene.....	22
Figura 2. A) Radícula de <i>A. pleiacantha</i> Greene al emerger de la semilla B) Semillas con radícula en crecimiento en medio de cultivo .....	25
Figura 3. Germinación en semillas de <i>A. pleiacantha</i> Greene sometidas a tres concentraciones de ácido giberélico (AG); 750 mgL <sup>-1</sup> , 1000 mgL <sup>-1</sup> y 1250 mgL <sup>-1</sup> , a temperatura ambiente (29°C).....	26
Figura 4. Germinación en semillas de <i>A. pleiacantha</i> Greene sometidas a tres concentraciones de ácido giberélico (AG); 750 mgL <sup>-1</sup> , 1000 mgL <sup>-1</sup> y 1250 mgL <sup>-1</sup> , a temperatura de -2°C, temperatura ambiente (29°C) y 35 °C. ....	27
Figura 5. Índice de germinación en semillas de <i>A. pleiacantha</i> Greene sometidas a cuatro tratamientos pre germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a temperatura ambiente. Letras iguales son estadísticamente no diferentes(Tukey, p≤0.05). ....	28
Figura 6. Velocidad de germinación que corresponde a las semillas germinadas por día de <i>A. pleiacantha</i> Greene asociada a cuatro tratamientos pre-germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a temperatura ambiente. Letras iguales son estadísticamente no diferentes (Tukey, p≤0.05).....	29

Figura 7. Curvas de porcentaje de germinación de semillas de <i>A. pleiacantha Greene</i> sometidas a cuatro tratamientos pre germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL <sup>-1</sup> ) a temperatura ambiente. ....	31
Figura 8. Diagrama de dispersión de altura de planta y número de frutos en un muestreo aleatorio de 30 plantas de <i>A. pleiacantha Greene</i> en competencia completa. ....	32
Figura 9. Colecta de semilla de Argemone pleiacantha Greene en una población vegetal natural. ....	38
Figura 10. Apariencia del aceite de semillas de <i>A. pleiacantha</i> . ....	48
Figura 11. Rendimiento (%) de biodiesel de aceite de <i>A. pleiacantha</i> en función de REA (6 y 6.5 mol/mol) empleada con el uso de KOH (CC % 0.5 y 0.75) como catalizador. ....	54
Figura 12. Rendimiento (%) de biodiesel de aceite de <i>A. pleiacantha</i> en función de REA (6 y 6.5 mol/mol) empleada con el uso de NaOH (CC % 0.5 y 0.75) como catalizador. ....	54
Figura 13. Superficie de Respuesta estimada para rendimiento de Biodiesel.....	68
Ilustración 14. Superficie de respuesta estimada para consumo energético. ....	68

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos con base en niveles de ácido giberélico (AG), temperatura y luz a que fueron sometidas semillas de <i>A. pleiakantha</i> Greene.....	24
Cuadro 2. Cantidad de material empleado en las pruebas de índice de acidez en aceite de semillas de <i>A. pleiakantha</i> Greene. ....	43
Cuadro 3. Condiciones de transesterificación empleadas en la obtención de Biodiesel de <i>A. pleiakantha</i> Greene. ....	46
Cuadro 4. Contenido de aceite (%) y humedad (%) de semillas de <i>A. pleiakantha</i> Greene (chicalote).....	47
Cuadro 5. Caracterización del aceite fresco de las semillas de <i>A. pleiakantha</i> Greene.	49
Cuadro 6. Resultados de rendimiento promedio de biodiesel para cada tratamiento empleado con diferentes relaciones molares metanol:aceite (REA), diferentes catalizadores (CAT) y diferentes concentraciones de catalizador (CC).....	51
Cuadro 7. Análisis de varianza de un experimento factorial con dos niveles de relación metanol:aceite (REA: 6 y 6.5), dos catalizadores (KOH y NaOH) y dos concentraciones de catalizador (0.5 y 0.75%) y la variable de respuesta rendimiento de biodiesel. ....	53
Cuadro 8. Diseño de experimentos de muestras de aceite de <i>A. pleiakantha</i> para transesterificación por ultrasonido.....	63
Cuadro 9. Composición de ácidos grasos y propiedades físico- químicas del aceite de <i>A. pleiakantha</i> Greene.....	65

Cuadro 10. Resultados de Rendimiento y consumo energético obtenidos por transesterificación de ultrasonido .....	66
Cuadro 11. Resultados del modelo de superficie de respuesta .....	66
Cuadro 12. Propiedades de Biodiesel por transesterificación asistida por ultrasonido .	69

## **DEDICATORIA**

A mis Padres, mi hermana y mi hijo, que son la esencia de mi vida y lo más importante que tengo, porque sé que sin ellos no habría motivos para realizar todo lo que me propongo.

Para usted Dr. Ricardo Trejo, por su apoyo constante, por estar siempre y brindarme de todos sus conocimientos y sobre todo por enseñarme a valorar la investigación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Un arduo trabajo se esconde tras estas líneas, entretejido con momentos de impotencia y con otros que sintonizaron una bonita melodía. Absurdo sería atribuirme en exclusiva la autoría de esta Tesis, que sin el respaldo de una serie de profesionales y el calor de muchos otros, en igual orden de importancia, nunca habría visto la luz.

Un agradecimiento muy especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por todo el gran apoyo brindado para la realización de mis estudios de posgrado.

Un reconocimiento especial merece la inestimable ayuda proporcionada la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA), la Universidad Autónoma Chapingo, el personal de laboratorio de biotecnología y el laboratorio de Planta, suelo y agua y el equipo de Laboratorio de biocombustibles de la Universidad de Córdoba UCO, sin los cuales, la presente Tesis no se hubiera logrado.

Al Dr. Ricardo Trejo. No sólo me brindo el privilegio de disfrutar de su tutela y todos sus conocimientos, de apoyarme en esta investigación y de abrirme las puertas de todo un universo por explorar.

Muchas gracias a mi familia, papá, que sin tu apoyo incondicional, tu esfuerzo diario por ayudarme y sin tu ¡TU TODO LO PUEDES! Nunca hubiera logrado todo esto. Mamá, mi ejemplo a seguir, que nunca te rendiste y estuviste en cada paso que daba, gracias por impulsarme y ser mi inspiración. Yessika, por confiar en mí, y demostrarme que éstas en todo momento a mi lado, que me apoyas y me orientas, muchas gracias. Y por último pero no el menos importante, Santiago, el amor de mi vida, mi motor para seguir adelante y demostrarme que todo lo puedo. Con el apoyo y desvelos de unos, el juego y las risas de otros, y el amor de todos contribuyeron a hacerme el trabajo más llevadero.

Gracias también al apoyo brindado por la Ing. Pamela Manzanares Nieto, que me apoyo hasta el último momento, incondicional en todo momento.

Gracias a todos mis amigos y compañeros de maestría, a los que les debo su apoyo en los momentos difíciles, su entusiasmo y el privilegio de una amistad única.

**RENDIMIENTO Y CALIDAD DE ACEITE DE SEMILLA DE *Argemone pleiacantha* Greene PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL**

**YIELD AND QUALITY OF SEED OIL FROM *Argemone pleiacantha* Greene FOR BIODIESEL PRODUCTION**

<sup>1</sup>Elena del Carmen Villarreal Ornelas  
<sup>2</sup>Ricardo Trejo-Calzada

**RESUMEN**

El incremento en las concentraciones de gases de efecto invernadero, los cambios ambientales y las reservas limitadas de combustibles fósiles han propiciado la búsqueda de alternativas de energía renovable, como el biodiesel. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial *Argemone pleiacantha* Greene para la producción de biodiesel. Cuatro tratamientos se probaron para incrementar la germinación de semillas de *A. pleiacantha*. Mayor índice de germinación y velocidad de germinación ( $p < 0.05$ ) se obtuvieron en el tratamiento de temperatura 25/5 °C con fotoperiodos luz/osc 10/14 e inmersión en ácido giberélico (1000 mgL<sup>-1</sup>). Además, un experimento se estableció con base en un diseño factorial completo 2x2x2 y tres repeticiones para evaluar el efecto de la relación etanol/aceite (6:1 y 6.5:1 mol:mol), tipo de catalizador (KOH y NaOH) y concentración de catalizador (0.5 y 0.75%) sobre el rendimiento de biodiesel. El tratamiento con KOH al 0.05% y una relación molar etanol/aceite de 6.5 produjo un rendimiento de biodiesel significativamente mayor. Enseguida la transesterificación del aceite asistida por ultrasonido para obtener los parámetros óptimos de reacción en función del rendimiento en ésteres metílicos de ácidos grasos fue evaluada. Finalmente, una caracterización del biodiesel obtenido se llevó a cabo. Un análisis de superficie de respuesta se realizó utilizando como factores amplitud de onda (%), ciclos (%) y tiempo (min). El mayor rendimiento de biodiesel se dio en un tiempo de 8 min, a una amplitud de onda de 50 y un ciclo de 100% (99.77%). De acuerdo a la caracterización del biodiesel, todas las propiedades medidas estuvieron dentro de los valores establecidos por las normas europeas. *A. pleiacantha* es una especie con potencial producir biodiesel.

**Palabras clave:** Bioenergía, zonas áridas, energía renovable, transesterificación, ultrasonido.

**ABSTRACT**

Increasing concentrations of greenhouse gases, environmental changes and limited fossil fuel supplies have led to the search for alternative renewable energy sources, such as biodiesel. The aim of this study was to evaluate the potential of *Argemone pleiacantha* Greene for biodiesel production. Several treatments were tested to improve seed germination of *A. pleiacantha*. The highest germination index and germination speed ( $p < 0.05$ ) were obtained with a temperature of 25/5 °C, a 10/14 (light/darkness) photoperiod and immersion in gibberellic acid (1000 mg L<sup>-1</sup>). In addition, an experiment under a 2x2x2 full factorial design with three replications was established to evaluate the effect of ethanol/oil ratio (6 and 6.5 mol mol<sup>-1</sup>), catalyst (KOH and NaOH) and catalyst concentration (0.5 and 0.75%) on the yield of biodiesel. The best combination of KOH (0.5 %) and a molar ethanol/oil ratio of 6.5 produced a significantly greater yield of biodiesel. Then, ultrasonic assisted transesterification reaction was performed to evaluate the optimal reaction parameters as a function of the fatty acids methyl ester yield. Finally, a characterization of the obtained biodiesel was carried out. A response surface analysis was performed using wavelength (%), cycles (%) and time (min) as factors. The highest yield of biodiesel was obtained under the following conditions: 8 minutes, wavelength of 50 and a cycle of 100% (99.77%). According to the characterization of the biodiesel, all measured properties were within the values established by European Standards. *A. pleiacantha* has potential to become a species for biodiesel production.

**Keywords:** Bioenergy, arid lands, renewable energy, transesterification, ultrasound.

<sup>1</sup>Tesista  
<sup>2</sup>Director

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El uso continuo de combustibles derivados del petróleo, en la actualidad es ya ampliamente reconocido como “insostenible”, pues se agotan los suministros y han ocasionado un gran impacto sobre el medio ambiente (Chisti, 2007). El impacto de esta actividad está relacionado principalmente a la producción de gases de efecto invernadero.

El incremento en las concentraciones de gases de efecto invernadero representa un problema para la sociedad (IPCC, 2014; López *et al.*, 2015). Las evidencias indican que los gases como el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) y óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) (Reay, 2007), han contribuido al calentamiento global y la contaminación ambiental.

El Annual Greenhouse Gas Index (AGGI) en 2015 fue de 1.37, lo que significa que el calentamiento global ha aumentado en un 37 % desde 1990. Los valores actuales de los gases de efecto invernadero son: CO<sub>2</sub> 400 ppm; metano 1.84 ppm y N<sub>2</sub>O 329 ppm. Se continua la acumulación de gases de efecto invernadero la temperatura global llegará a un aumento medio de 3° C y por supuesto el cambio en la temperatura global provocará cambios en la frecuencia, cantidad y distribución de la lluvia, incrementos de evaporación y sequía, derretimiento de nieve, hielo marino y capas de hielo (IPCC, 2016).

Una de las alternativas para reducir la emisión de gases de efecto invernadero es la reducción en el consumo de combustibles fósiles. Ello implica, entre otras cosas, identificar especies vegetales que muestren potencial para producir biocombustibles. Estas especies deben reunir características que contribuyan a

la producción de insumos para bioenergéticos sin poner en riesgo la seguridad y soberanía alimentaria del país, como lo establece la Ley de Promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos (DOF, 2008) Una alternativa es producir biocombustibles líquidos, como el biodiesel, que complementen el uso de combustibles fósiles (Reveles-Saucedo *et al*, 2010).

El biodiesel consiste de ésteres metílicos producidos a partir de un aceite vegetal, animal o aceites microbianos, de calidad similar al gasóleo, para su uso como biocombustible (Vega, 2010). Al producirse únicamente a partir de aceites vegetales o grasas animales, se puede considerar que es renovable y biodegradable (Dorado, 2001). Más del 95% de biodiesel producido a partir de materias primas proviene de aceites de semillas, y puede variar considerablemente según la ubicación, el clima y la disponibilidad de las semillas al extraer el aceite (Boulifi *et al.*, 2010). En México, el potencial de producción de biodiesel es de los 50-100 millones de litros al año, por lo que el gobierno federal promueve la elaboración de biocombustibles sin descuidar la seguridad alimentaria y el aprovechamiento eficiente de la materia prima derivada de las actividades agrícolas, forestales y pecuarias (DOF, 2008).

México es un país muy diverso, donde es posible encontrar especies vegetales endémicas e introducidas que pueden utilizarse en la producción de biocombustibles (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010). La diversidad vegetal de las zonas áridas y semiáridas permite deducir que es factible encontrar especies vegetales adaptadas a las condiciones ambientales de estas regiones y que posean un alto potencial para la producción de biocombustibles y en particular de biodiesel. El 56% del territorio corresponde a zonas muy áridas, áridas y semiáridas que dominan el norte y algunas áreas del centro del país (UNAM, 1990)

En la actualidad varias especies ruderales, arvenses, ornamentales y cultivadas son subutilizadas debido al desconocimiento de los componentes químicos de sus órganos (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010). Los aceites vegetales extraídos de semillas son materias primas prometedoras para la producción de Biodiesel, ya que son de origen renovable y pueden ser producidos a gran escala (Kaul *et al.*, 2010). Una de las especies arvenses es *Argemone pleiacantha* Greene, que produce semillas que pueden utilizarse en la industria de los biocombustibles pues representa una fuente importante de grasas vegetales (40%) y carbohidratos solubles que pueden ser utilizados en la producción de biodiesel (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010). Sin embargo, los estudios que se han realizado hasta la fecha se han limitado a identificar la cantidad de aceite, pero hasta donde se sabe no hay reportes sobre la calidad del éste para la producción de biodiesel y tampoco sobre las características físico-químicas del biodiesel obtenido. Por lo tanto, en este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el potencial de *Argemone pleiacantha* Greene como especie vegetal para la producción de biodiesel.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar pruebas de germinación de semilla de *A. pleiacantha* Greene con tratamientos físicos y hormonales.
- Realizar la caracterización físico- química y determinación de composición de los ácidos grasos en aceite de las semillas de *A. pleiacantha* Greene.
- Obtener biodiesel y evaluar rendimiento a partir del proceso de transesterificación convencional con dos catalizadores (KOH y NaOH).

- Estudiar la reacción de transesterificación del biodiesel asistida por ultrasonido trabajando a distintas frecuencias.
- Encontrar parámetros óptimos de reacción en función del rendimiento en ésteres metílicos (FAME).

## CAPÍTULO II

### TRATAMIENTOS FISICOS Y HORMONALES EN SEMILLAS DE *Argemone pleiacantha* Greene PARA PROMOVER GERMINACIÓN

#### RESUMEN

*Argemone pleiacantha* Greene es conocida como “chicalote” y produce semillas que pueden utilizarse en la industria de los biocombustibles por su relativamente gran contenido de grasas vegetales (40%) y carbohidratos solubles que pueden ser utilizados en la producción de biodiesel. Esta es una especie arvense que muchos agricultores consideran una maleza. Las semillas se pueden colectar en poblaciones silvestres y eventualmente podría cultivarse. Sin embargo, las semillas no germinan uniformemente. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de temperaturas y fotoperiodo variables y aplicación de ácido giberélico sobre el índice de germinación (IG) y velocidad de germinación (M) de las semillas de *A. pleiacantha* por efecto de los tratamientos (T`s); temperatura y luz ambiente e inmersión en agua destilada (T1), temperatura 25°C e inmersión en (AG) 1000 mgL<sup>-1</sup> (T2), temperatura 25/5 °C y horas luz/osc 10/14 e inmersión en ácido giberélico (AG) 1000 mgL<sup>-1</sup> (T3), temperatura 25°C e inmersión en (AG) 1000 mgL<sup>-1</sup> (T2), temperatura ambiente (AG) 1000 mgL<sup>-1</sup> (T4), también se hicieron análisis de correlación y regresión lineal simple para saber si el número de frutos en la planta depende de su altura de ésta. Los mayores IG y M de germinación ( $p < 0.05$ ) fueron inducidos por el tratamiento de temperatura 25/5 °C con fotoperiodos luz/osc 10/14 e inmersión en ácido giberélico (AG) a concentración de 1000 mgL<sup>-1</sup>(T3). El análisis de regresión al considerar tamaño de planta y número de frutos indica que su relación lineal no es significativa ( $R^2 = 0.028$ ).

**Palabras clave:** germinación, ácido giberélico, temperatura, fotoperiodo, chicalote.

---

Tesis de Maestría en Ciencias  
Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma  
Chapingo- URUZA

Autor: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

Director de Tesis: Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

## ABSTRACT

### PHYSICAL AND HORMONAL TREATMENTS IN SEEDS OF *Argemone pleiacantha* Greene TO PROMOTE GERMINATION

*Argemone pleiacantha* Greene is known as southwestern pricklypoppy and produces seeds that can be used in the biofuels industry because of its high content of vegetable fats (40%) and soluble carbohydrates that can be used in biodiesel production. This species is considered as weed by many growers. Its seeds can be collected from wild populations and could be sown. However the seeds do not consistently germinate. The objective of this study was to evaluate the germination index (GI) and germination rate (M) of *A. pleiacantha greene* seeds. Then, the following treatments (T's) were applied, room temperature and light and immersion in 1000 mgL<sup>-1</sup> (T1): temperature 25 ° C immersion in 1000 mg L<sup>-1</sup> (GA) (T2), temperature 25/5 ° C photoperiod 10/14 (ligh/darkness) and immersion in gibberellic acid (GA) 1000 mg L<sup>-1</sup> (T3), room temperature and immersion in 1000 mg L<sup>-1</sup> (GA). As well as a simple linear regression and correlation analysis to know if the number of fruits in the plant depends it's height. The higher IG and M ( $p < 0.05$ ) were obtained in the seeds under the treatment of an oscillation of temperature 25/5 °C with a photoperiod 10/14 and immersion in gibberellic acid (GA) at concentration of 1000 mg L<sup>-1</sup>. The regression analysis suggests that between plant size and fruit number was a no significant relationship ( $R^2 = 0.028$ ).

**Key words:** germination, gibberellic acid, temperature, photoperiod, pricklypoppy.

---

Master in Science Thesis

Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo- URUZA

Author: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

Advisor: Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

## INTRODUCCIÓN

La producción de bioenergía en las zonas áridas es muy promisoría. Los requerimientos de energía de una población humana en expansión que vive en las zonas áridas muy probablemente se incrementarán. Así, gran biodiversidad especial en las zonas áridas posibilita que recursos locales desconocidos se conviertan en una alternativa. En virtud de que la mayoría de la gente que vive en las zonas áridas se encuentra en comunidades pequeñas y dispersas, la prioridad que se den a otros recursos localmente adaptados y a métodos tecnológicos para su uso es un aspecto importante (Cardoso *et al.*, 2013). De esa manera, la producción y uso de bioenergía son opciones económicas, tecnológicas y ambientales. Con estos criterios las zonas áridas pueden tener otra forma de rentabilidad para la población rural en estas zonas que habitan.

Muchas plantas de zonas áridas y semiáridas son empleadas como fuente de energía en la forma de biomasa. Sin embargo, algunas especies de zonas áridas y semiáridas tienen potencial para convertirse en fuente de bioenergía (Hoffmann y Lippinsky, 1983; Wagutu *et al.*, 2009). Las adaptaciones estructurales y funcionales que poseen algunas de esas especies les permiten crecer en los ambientes inhóspitos presentes en las zonas áridas. Sin embargo, esas adaptaciones y la inherente escasa disponibilidad de algunos otros recursos clave provocan una productividad reducida. Por lo tanto, se requieren nuevos enfoques en el manejo y uso de los recursos naturales para asegurar productividad y sostenibilidad (Castellanos y Esqueda, 2013).

En la actualidad varias especies ruderales, arvenses, ornamentales y cultivadas son subutilizadas debido al desconocimiento de los componentes químicos de sus órganos (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010). Por ejemplo, los aceites vegetales extraídos de semillas son materias primas prometedoras para la producción de

biodiesel ya que son de origen renovable y pueden ser producidos a gran escala (Kaul *et al.*, 2010).

El género *Argemone* L. (Papaveraceae) que se produce principalmente en zonas cálidas y secas de América con su centro de distribución en el suroeste de Estados Unidos de América (EUA) y el norte de México. El género comprende hierbas anuales y perennes, caulescentes, glaucos, con raíces de tipo transitorias o persistentes. Consiste de 30 especies; todas con tallos, hojas y cápsulas espinosas (Schwarzbach & Kadereit, 1999). Dentro de las especies de la familia *Papaveraceae* y del género *Argemone* se encuentra *A. pleiacantha*, conocida como “chicalote”. Es una especie nativa de América del Norte, ampliamente distribuida desde el sur de EUA Hasta el centro de México (Martínez, 1996). La planta de esta especie es una hierba anual, de entre 0.2-1 metro de altura, con tallos rectos de un color verde-azulado y con espinas amarillas rígidas. Las flores son de color blanco cremoso, ubicadas en los extremos de las ramas y tienen un diámetro de 3-6 cm. Sus semillas son esféricas, con un diámetro de 1,5 a 2,5 mm, y de color marrón oscuro (Cervantes *et al.* 2010).

Además de ser maleza competitiva en la agricultura, las especies de *Argemone* son tóxicas; si sus semillas son consumidas por confusión por ejemplo con las semillas de la mostaza, pueden provocar alguna enfermedad e incluso la muerte (Das y Khanna, 1997). Por otra parte, algunas especies de *Argemone* producen semillas que pueden utilizarse en la industria de los biocombustibles pues representan una fuente importante de grasas vegetales (40%) y carbohidratos solubles que pueden ser materia prima para la producción de biodiesel (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010).

La semilla de *A. pleiacantha* puede colectarse en poblaciones silvestres, pero podría incrementarse su producción si fuese domesticada y cultivada. Sin embargo, estudios sobre la biología de estas especies que provean conocimiento sobre el manejo adecuado de las mismas son escasos. Particularmente, las semillas de algunas especies de Argemone (*A. ochroleuca* y *A. mexicana*) presentan dormancia, refiriéndose a éste término como un período en el ciclo biológico de un organismo en el que el crecimiento, desarrollo y actividad física se suspenden temporalmente (González *et al.* 2009). Entonces de tal manera solamente una parte de las semillas producidas en un año germinarán en un tiempo particular (Karlsson *et al.* 2003). Es probable que *A. pleiacantha* tenga un comportamiento similar pero no hay estudios al respecto.

Con base en lo expuesto, el objetivo principal de este capítulo fue evaluar el índice y velocidad de germinación en semillas de “chicalote” *Argemone pleiacantha* Greene por efecto de cuatro tratamientos con base en combinaciones de temperatura, fotoperiodo y regulador del crecimiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de semilla



Figura 1. Planta y semillas de *Argemone pleiacantha* Greene.

Las semillas fueron colectadas en el mes de mayo del 2015 en el ejido San Isidro ubicado en carretera Bermejillo-Mapimí con coordenadas 25° 51'23.5" N y 103°45'56.7". Un muestreo aleatorio de 30 plantas en competencia completa fue realizado. En ellas se midieron altura, número de flores y número de frutos. La colecta consistió en cortar la planta completa para posteriormente cortar las capsulas. La mayoría de las capsulas fueron dehiscentes de tal manera que fue posible distinguir y extraer fácilmente las semillas. En el laboratorio de suelo-agua- planta de la UACH- URUZA, las semillas fueron extraídas de las capsulas y almacenadas en bolsas de plástico herméticas en las condiciones normales del laboratorio.

### **Desinfección y siembra de las semillas**

Las semillas que se utilizaron fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 70% durante 15 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en condiciones asépticas. Después, las semillas se trataron con etanol al 70% durante 10 minutos y posteriormente con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 15 minutos en agitación constante. Por último, las semillas se lavaron con agua destilada y se dejaron en la cámara de flujo laminar.

Antes de instalar este experimento final, algunos trabajos se realizaron, esto con el fin de definir las mejores condiciones de AG y temperatura y para inducir índice y velocidad de germinación mayores. En el primer trabajo solo se midió el índice de germinación con base a la adición de 3 concentraciones de AG: 750 mg L<sup>-1</sup>, 1000 mg L<sup>-1</sup> y 1250 mg L<sup>-1</sup> a temperatura ambiente. En el segundo trabajo se utilizaron las mismas concentraciones de AG, a diferentes temperaturas; -2 °C, 35°C y temperatura ambiente.

En el experimento final, los tratamientos a que se sometieron las semillas de *Argemone pleiakantha* se detallan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos con base en niveles de ácido giberélico (AG), temperatura y luz a que fueron sometidas semillas de *A. pleiakantha* Greene.

TRATAMIENTO	AG (mg L <sup>-1</sup> )	TEMP	LUZ
1	0	Ambiente	ambiente
2	1000	25	oscuridad
3	1000	25/5	10 luz/14 osc
4	1000	ambiente	Ambiente

La siembra se realizó en condiciones asépticas, en una cámara de flujo laminar. Las semillas fueron depositadas en cajas Petri con 20 ml de medio de cultivo agar- agar. Las cajas Petri fueron etiquetadas, se selladas con parafilm y colocadas en las condiciones que se muestran en el cuadro 1 para cada tratamiento establecido. En el caso de los tratamientos con AG, éste se preparó junto con el agar-agar.

### Diseño del experimento

El experimento fue establecido con base en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental consistió en una caja Petri con 30 semillas. Las unidades experimentales se mantuvieron en las condiciones ya mencionadas para determinar el índice de germinación (IG), definido como la medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad germinativa, y la velocidad de germinación (M), definida como la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación. Esas variables se calcularon de acuerdo con González- Zertuche y Orozco- Segovia (1996) mediante las ecuaciones:

$$IG = \frac{\sum(n_i \cdot t_i)}{N} \quad M = \sum \frac{(n_i)}{t}$$

Ec. (1)

Donde  $IG$ = índice de germinación;  $n_i$ = número de semillas germinadas en el día  $i$ ;  $t_i$ = número de días después de la siembra;  $N$ = total de semillas sembradas;  $t$ = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

El índice y velocidad de germinación fueron sometidos a análisis de varianza. El registro se realizó cada 24 horas. El conteo de semillas germinadas se hizo a las 09:00 horas y se consideró que una semilla había germinado cuando la radícula salía de la testa y comenzaba a crecer (Figura 2). Además, un análisis regresión se llevó a cabo al considerar los datos obtenidos de altura de planta y número de frutos.

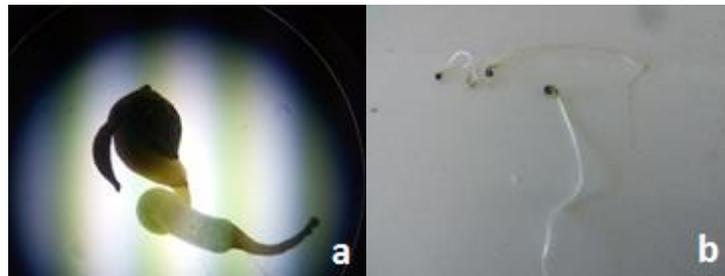


Figura 2. A) Radícula de *A. pleiakantha Greene* al emerger de la semilla B) Semillas con radícula en crecimiento en medio de cultivo

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Índice y velocidad de germinación

En la figura 3, que corresponde al primer experimento realizado, se puede observar que a la concentración de 1250 mgL<sup>-1</sup> se asocia a mayor germinación de semillas.

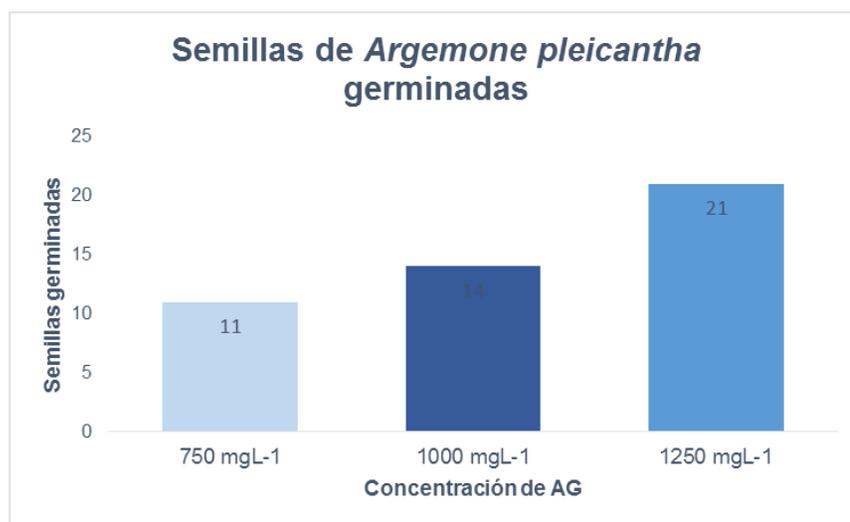


Figura 3. Germinación en semillas de *A. pleiakantha* Greene sometidas a tres concentraciones de ácido giberélico (AG); 750 mgL<sup>-1</sup>, 1000 mgL<sup>-1</sup> y 1250 mgL<sup>-1</sup>, a temperatura ambiente (29°C).

En el segundo experimento, la mayor germinación de semillas corresponde a cuando fueron sometidas a la adición de AG y temperatura. En la Figura 3 se muestra, que a una temperatura ambiente (29°C) se obtuvo una mayor germinación en las tres distintas concentraciones de AG. La conclusión es que a 1000 mgL<sup>-1</sup> y 1250 mgL<sup>-1</sup> no hubo tanta diferencia en la germinación, por lo que se optó por usar la concentración de 1000 mgL<sup>-1</sup> en el experimento final. Esta cantidad es la media de las otras dos concentraciones y, además indujo buenos resultados.

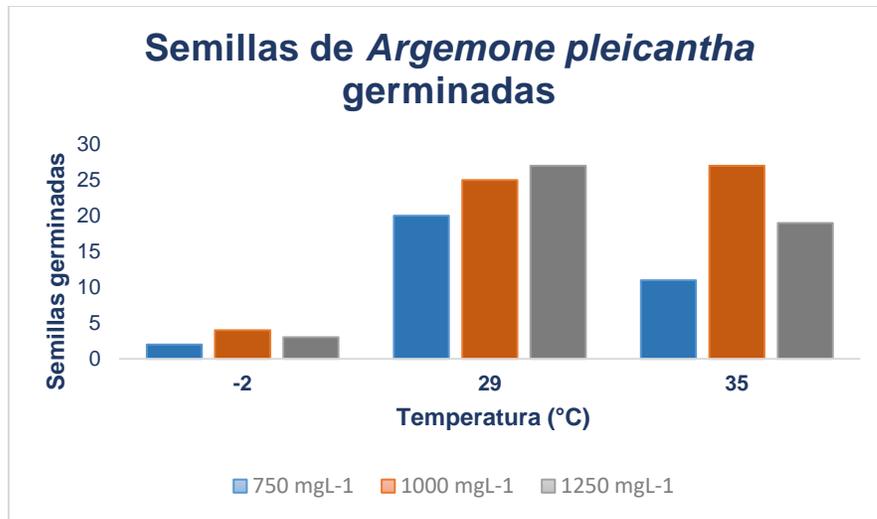


Figura 4. Germinación en semillas de *A. pleiantha* Greene sometidas a tres concentraciones de ácido giberélico (AG); 750 mgL<sup>-1</sup>, 1000 mgL<sup>-1</sup> y 1250 mgL<sup>-1</sup>, a temperatura de -2°C, temperatura ambiente (29°C) y 35 °C.

Con base en los datos del índice de germinación de semillas se realizó un análisis de varianza (Figura 5). El resultado del índice de germinación indicó que hubo diferencias significativas entre tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). El mayor índice de germinación corresponde al T3 (con una media de 25.88). Para los tratamientos 4 y 2, el índice de germinación fue similar estadísticamente (18.89 y 19.40 respectivamente). El tratamiento 1 que funcionó como testigo fue el que produjo el menor índice de germinación (11.08).

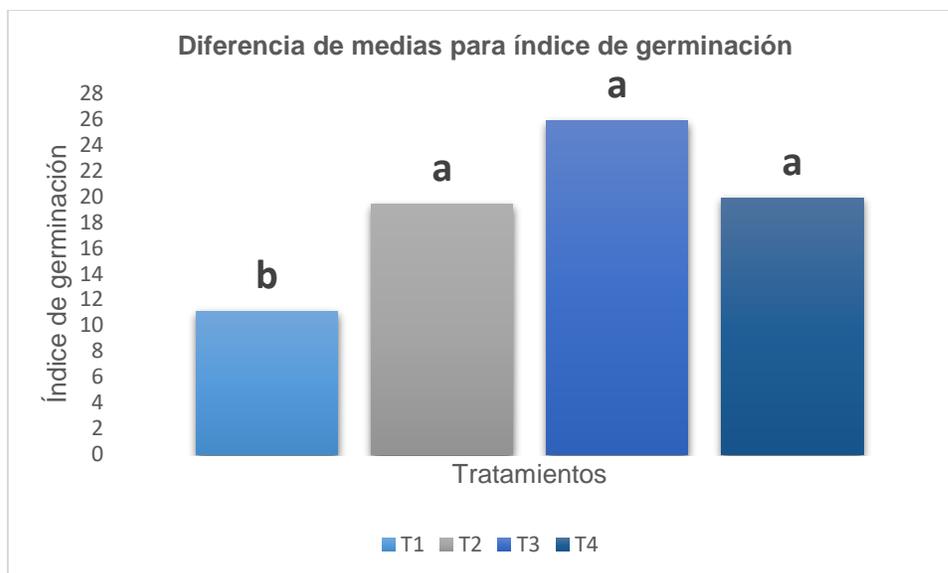


Figura 5. Índice de germinación en semillas de *A. pleiacantha Greene* sometidas a cuatro tratamientos pre germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a temperatura ambiente. Letras iguales son estadísticamente no diferentes (Tukey, p≤0.05).

El índice de germinación tan pequeño asociado al tratamiento 1 probablemente obedece a que no se le adicionó AG para ayudar a su pre germinación. Esta apreciación se basa en el hecho de que las giberelinas cumplen un papel fisiológico importante en el desarrollo de las semillas, el desarrollo de la floración, el crecimiento del tubo polínico y la elongación de brotes y tallos (Ikeda *et al.*, 2001). Petruzzelly *et al.*, (2003) asocian la acumulación de  $\beta$ -1,3-gluconasa con el AG, pues reblandece la testa durante la germinación. Los efectos fisiológicos de las giberelinas tanto endógenas como exógenas en el rompimiento de la latencia de semillas han sido reconocidos en diversas especies de plantas; la aplicación de giberelinas, por ejemplo, comúnmente reemplaza la necesidad de estímulo ambiental específico como es la temperatura o la luz dando como resultado incrementos en los porcentajes de germinación y disminución de tiempo de germinación (García-Martínez & Gil, 2002).

Los resultados de este trabajo coinciden con los encontrados por Karlsson *et al.* (2003) quienes trabajaron con *A. ochroleuca* y *A. mexicana* y encontraron que las máximas tasas de germinación ocurrieron por efecto de los tratamientos que involucraron AG a concentraciones de 1000 mg L<sup>-1</sup>.

La máxima velocidad de germinación se obtuvo en las semillas que fueron tratadas con una temperatura de 25/5 °C e inmersión en AG 1000 mg L<sup>-1</sup> (T3). Las diferencias entre los tratamientos fueron estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ), aunque el único tratamiento que se distinguió de los demás fue el tratamiento antes mencionado (Figura 6). Karlsson *et al.* (2003) encontraron que las semillas de *A. ochroleuca* y *A. mexicana* tuvieron una mejor germinación cuando fueron sometidas a una combinación de temperaturas mínimas. En éste estudio, el tratamiento con una combinación de temperaturas diurnas y nocturnas de 25/5 °C favoreció las velocidades de germinación, pues sus efecto corresponden a los valores mayores.

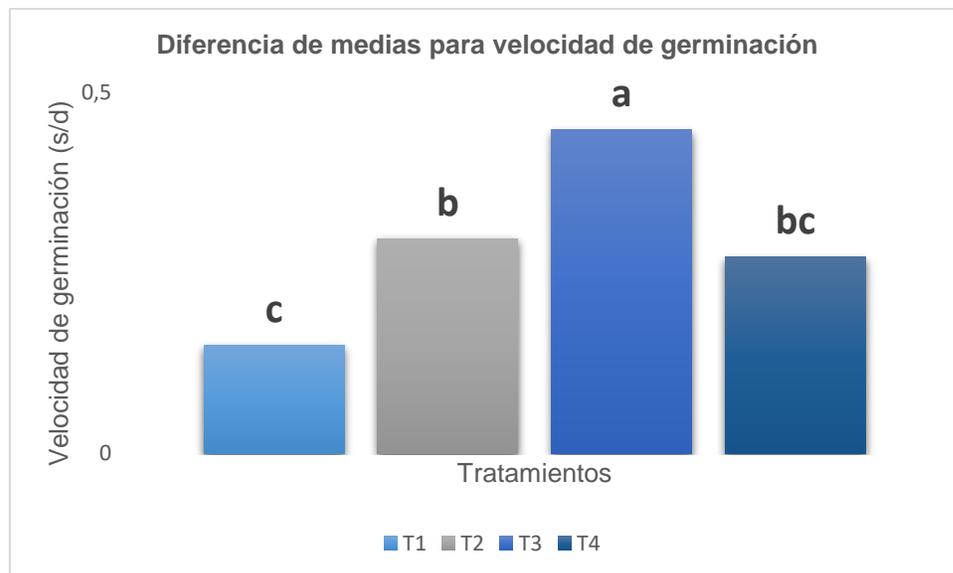


Figura 6. Velocidad de germinación que corresponde a las semillas germinadas por día de *A. pleiakantha* Greene asociada a cuatro tratamientos pre-germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000

mgL<sup>-1</sup>) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a temperatura ambiente. Letras iguales son estadísticamente no diferentes (Tukey, p≤0.05).

### **Rapidez y uniformidad de germinación**

En el presente trabajo los tratamientos que indijeron mayor rapidez y uniformidad de germinación fueron, en orden decreciente, el tratamiento 3 (T3) de inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14), el tratamiento 2 (T2) de inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25°C, el tratamiento 4 (T4) de inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a temperatura ambiente y, por último, el testigo (T1). Las variables días acumulados e índice de germinación se ajustaron por tratamiento, a modelos de regresión tipo cuadrático (Figura 7).

En general, las semillas de *A. pleicanatha* Greene alcanzaron el 50% de germinación después de 30 días de aplicados los tratamientos. Las semillas inmersas en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) fueron las que mostraron mayor rapidez de germinación: a los 11 días habían ya germinado las primeras semillas (Figura 7). Lo anterior demuestra que las semillas requieren de temperatura óptima a la cual germinan mejor y con mayor rapidez. Hernández (1990) determinó que las semillas requieren luz para germinar y que la respuesta está controlada por el fitocromo. La iluminación parece promover el aumento de la concentración de sustancias promotoras de la germinación (Arteca, 1996). La adición de AG promovió una mayor y más rápida germinación de las semillas. Cabe aclarar que a las semillas que no se les dio tratamiento con AG mostraron menor uniformidad ya que su germinación inició hasta los 21 días después de la siembra y se extendió hasta los 59 días, pero estuvieron expuestas a la luz y a una temperatura ambiente (T1 en la Figura 7). Los resultados indican que en *A. pleiacantha* Greene, la dormancia puede ser removida en forma más rápida y efectiva que en *A. ochroleuca* y *A. mexicana* en las cuales la germinación inició

hasta después de transcurridas 9 semanas aun cuando se consideraron tratamientos con ácido giberélico (Karlsson *et al.*, 2003).

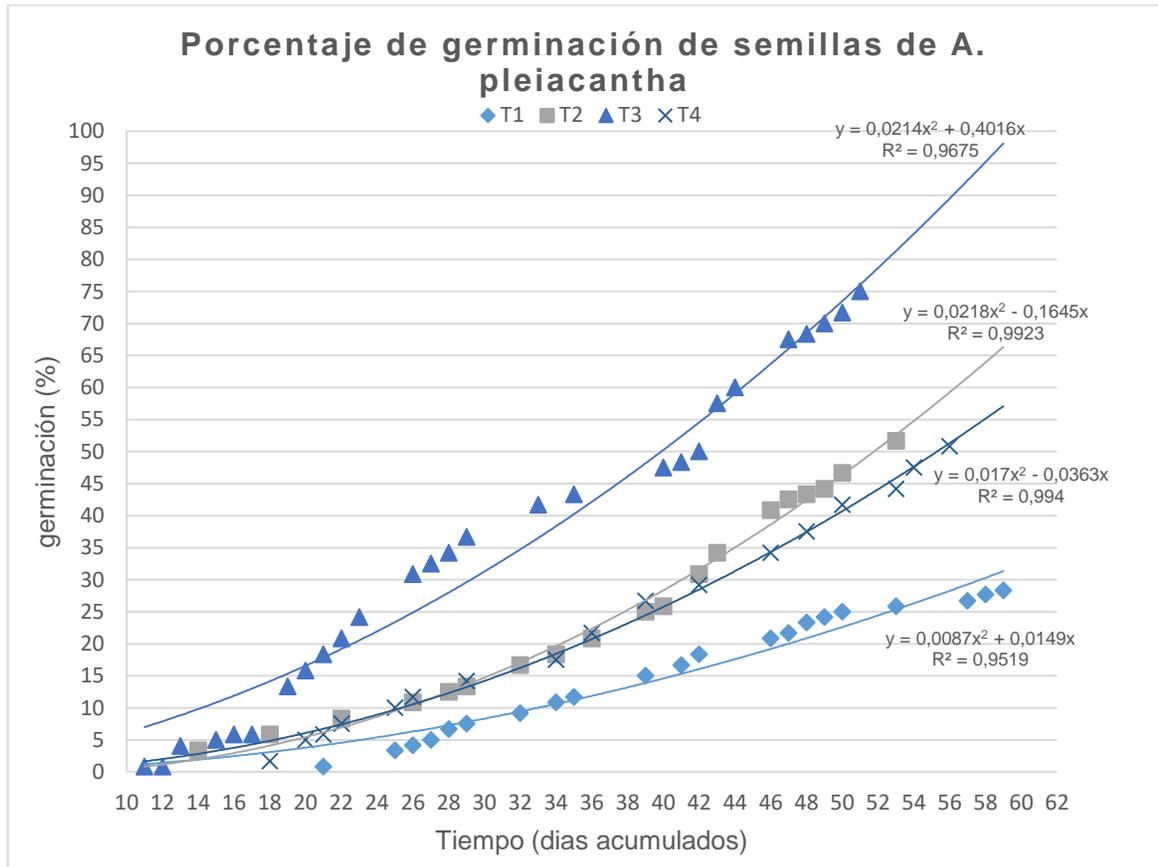


Figura 7. Curvas de porcentaje de germinación de semillas de *A. pleiacantha* Greene sometidas a cuatro tratamientos pre germinativos: T1 es inmersión en agua destilada a 25°C, T2 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25°C, T3 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a 25/5°C en horas luz/osc (10/14) y T4 es inmersión en AG (1000 mgL<sup>-1</sup>) a temperatura ambiente.

### Relación entre tamaño de plantas y número de frutos

El análisis de regresión realizado sobre los datos de tamaño de planta y número de frutos indica que no hubo una relación significativa entre estas dos variables ( $R^2 = 0.028$ ). En la Figura 2 se puede observar un diagrama de dispersión de los datos.

### Diagrama de dispersión

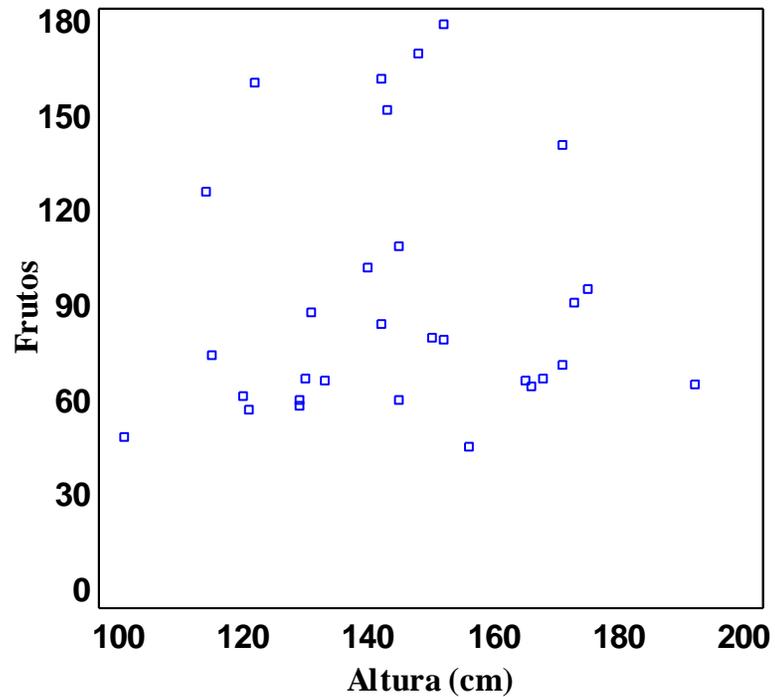


Figura 8. Diagrama de dispersión de altura de planta y número de frutos en un muestreo aleatorio de 30 plantas de *A. pleiakantha* Greene en competencia completa.

La dispersión de los datos no permite identificar una relación lineal significativa entre tamaño de planta y número de frutos. Esta característica puede ser muy importante para posibles programas de selección y mejoramiento genético con ésta especie.

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y en las condiciones en que se realizó el estudio, las conclusiones son las siguientes:

El ácido giberélico en concentraciones de  $1000 \text{ mgL}^{-1}$  estimula sustancialmente la germinación de semillas de *A. pleiakantha*.

La inducción de niveles adecuados de factores físicos como temperatura y fotoperiodo en conjunto con fitohormonas como el AG aceleran el proceso de germinación.

La germinación de *A. pleiakantha* está relacionada con niveles de giberelinas y condiciones de factores físicos como temperatura y luz.

La especie mostró *A. pleiakantha* Greene una gran dispersión en función de las variables tamaño de planta y número de frutos.

## CAPITULO III

### RESUMEN

#### **EVALUACIÓN DEL ACEITE DE SEMILLAS DE *Argemone pleiakantha* Greene COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL**

La conversión de aceites de origen vegetal a biodiesel (BD) a través de la transesterificación genera combustibles capaces de sustituir al diésel y producen gases menos tóxicos en el medio ambiente. La necesidad de sustituir los combustibles fósiles ha llevado a explorar nuevas fuentes de materia prima para producir biocombustibles. En este trabajo se llevó a cabo la caracterización físico-química del aceite de semilla de *Argemone pleiakantha* Greene. Aceite de las semillas fue extraído mediante maceración y el método Soxhlet. La viscosidad cinemática, densidad, índice saponificación, índice de peróxidos, índice de acidez y perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de *A. pleiakantha* fueron determinados en base a las normas oficiales mexicanas. Con base en el índice de acidez se realizó la conversión a biodiesel. Para definir las mejores condiciones para la obtención de biodiesel se estableció un experimento con diseño de factorial completo 2x2x2 y tres repeticiones. Los factores de variación fueron la relación etanol/aceite (6:1 y 6:5 mol:mol), tipo de catalizador (KOH y NaOH) y concentración de catalizador (0.5 y 0.75%), mientras que la variable dependiente fue el rendimiento de biodiesel. El rendimiento del aceite en las semillas fue en promedio de 39.8%. Los índices de saponificación y peróxido, así como la densidad y viscosidad del aceite se encuentran dentro de los valores emitidos por las normas internacionales. El índice medio de la acidez presente en el aceite es de 34.09%. Los tres factores variables (catalizadores KOH y NaOH, concentración y relación molar etanol/aceite) utilizados en el experimento tuvieron efectos importantes en el rendimiento de biodiesel y hubo una interacción significativa entre estas variables ( $p < 0.05$ ). En el análisis de varianza realizado arrojó que el tratamiento con catalizador KOH al 0.05% y una relación molar etanol/aceite de 6.5 produjo un rendimiento de biodiesel significativamente mayor 73.10% ( $p < 0.05$ ).

**Palabras clave:** bioenergía, *Argemone pleiakantha*, biodiesel, caracterización.

---

Tesis de Maestría en Ciencias

Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo- URUZA

Autor: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

Director de Tesis: Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

## ABSTRACT

### SEED OIL ASSESSMENT OF *Argemone pleiacantha* Greene AS A PRIMARY MATERIAL FOR BIODIESEL PRODUCTION

Converting vegetable oils to biodiesel (BD) through transesterification generates fuels capable of replacing diesel. They generate lower contaminants because they produce less toxic gases. The need for substitution of the fossil fuels has motivated the search for new raw materials for biofuels production. In this work, the physical-chemical characterization of the seed oil of *Argemone pleiacantha* Greene was carried out. The oil was obtained by means of maceration and the soxhlet method. Cinematic viscosity, density, saponification index, peroxide index, acid index and fatty acid profile of the *A. pleiacantha* seeds oil were determined. Based on the acidity index, conversion to biodiesel was performed. An experiment under a complete factorial design 2x2x2 with three replications was set up to identify the better conditions for biodiesel production. The variable factors were ethanol/oil ratio (6 and 6.5 mol mol<sup>-1</sup>), catalyst (KOH and NaOH) and catalyst concentration (0.5 and 0.75%), while the dependent variable was oil yield. The oil yield of the seeds was on average 39.8%. The saponification and peroxide indices as well as the density and viscosity of the oil are within the values emitted by international standards. The average acidity index in the oil is 34.09%. The three variable factors (KOH and NaOH catalysts, concentration and ethanol / oil molar ratio) used in the experiment had significant effects on biodiesel yield and there was a significant interaction between these variables ( $p < 0.05$ ). In the analysis of variance, it was found that the treatment with 0.05% KOH catalyst and an ethanol / oil molar ratio of 6.5 resulted in a significantly higher biodiesel yield of 73.10% ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** Argemone pleiacantha oil, biodiesel, characterization.

---

Master in Science Thesis

Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma  
Chapingo- URUZA

Author: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

Advisor: Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

## INTRODUCCIÓN

La necesidad de reducir las emisiones de CO<sub>2</sub>, con el fin de limitar el calentamiento global y el agotamiento de las reservas de combustibles fósiles se ha convertido en prioridad para la investigación sobre fuentes alternativas de energía. Entre estas alternativas se encuentran los biocombustibles para motores de combustión interna. Durante los últimos años, la investigación sobre biocombustibles se ha dirigido principalmente a explorar combustibles a partir de aceites de plantas: es decir, ésteres metílicos de ácidos grasos de aceites de semillas (Pinzi *et al.*, 2009).

Los aceites de semillas constituyen el 70% de la producción mundial de aceites y son una alternativa que da respuesta al agotamiento de los combustibles fósiles y a los efectos contaminantes del medio ambiente (Lafarge *et al.*, 2012). La relativa sencillez y versatilidad de los procesos físicos (fraccionamiento) o químicos (hidrogenación o transesterificación), usados por separado o en combinación permiten modificar las propiedades de los aceites vegetales para hacerlos particularmente indicados para ser transformados en biodiesel (BD) (Fernández *et al.*, 2010).

Al convertir aceites de origen vegetal a BD a través de un proceso químico llamado transesterificación, se obtienen combustibles capaces de sustituir el diésel (Ejilah *et al.*, 2010). La transesterificación implica una reacción entre un mol de triglicéridos y tres moles de alcohol de cadena corta, siendo el metanol el más usado (Bastante *et al.*, 2015). Los aceites grasos comestibles derivados de colza, soja, palma, coco y girasol, entre otros, han sido utilizados ampliamente como materia prima para producir biodiesel de primera generación (Bergsma *et al.*, 2006). Sin embargo, la producción de BD a partir de aceites comestibles es controversial, pues algunas organizaciones no gubernamentales y movimientos sociales (por ejemplo La Coalición Mundial de Bosques) señalan que la

fabricación de biocombustibles a partir de materias primas comestibles es la causa principal del aumento en los precios de los alimentos (Pinzi *et al.*, 2009).

Por otro lado, algunos cultivos oleaginosos no compiten con los alimentos, por ejemplo *Ricinus communis*, *Jatropha curcas*, *Pongamia pinnata* entre otros aceites de cultivos no comestibles, los cuales son llamados productores de BD de segunda generación (Moser & Vaughn, 2010).

En éste contexto, *Argemone* spp. es un género de plantas no comestibles que han sido consideradas como malezas y no compite con cultivos convencionales. A pesar de que éste género no ha sido ampliamente estudiado, el aceite obtenido a partir de sus semillas presenta un gran contenido de ácidos grasos insaturados (Reveles-Saucedo *et al.*, 2010, Fletcher *et al.*, 1993). Es importante mencionar que el grado de saturación de los aceites es un parámetro importante relacionado con las propiedades del BD producido, cuanto mayor es el grado de insaturación de los ésteres de ácidos grasos, menor será la viscosidad del BD lo cual es una característica clave para permitir el uso de BD como combustible en motores diésel (Moser, 2009). A pesar de que el contenido de aceite de semillas de *A. pleiacantha* es relativamente grande, no hay estudios sobre que revelen las características del aceite y su factibilidad para emplearse en la producción de biodiesel.

Los objetivos principales de éste estudio fueron realizar la caracterización físico-química del aceite obtenido de semillas de *Argemone pleiacantha* Greene para y definir la factibilidad de la transesterificación con dos catalizadores distintos para obtener el mayor rendimiento de BD.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El estudio se llevó cabo en los laboratorios Agua-Suelo-Planta y de Biotecnología de la Universidad Autónoma Chapingo – URUZA. Las semillas de plantas de chicalote se recolectaron en el ejido San Isidro, n coordenadas  $25^{\circ} 51'23.5''$  N y  $103^{\circ}45'56.7''$ . Para la obtención de semillas se extrajeron plantas completas. Las plantas se colocaron sobre plástico para que se secaran y el fruto terminara de expulsar todas las semillas para posteriormente recolectarlas y guardarlas en bolsas de plástico.



Figura 9. Colecta de semilla de *Argemone pleiakantha* Greene en una población vegetal natural.

## **Análisis del aceite**

### **Porcentaje de aceite y humedad en la semilla de *A. pleiacantha greene***

Antes de conocer la cantidad de aceite en las semillas se determinó el porcentaje de humedad. Esto se realizó sometiendo las semillas a un secado en estufa a 105°C durante 4 horas. La cantidad de aceite en la semilla se determinó por el método soxhlet. Las semillas fueron prensadas mediante un mortero para favorecer la exposición de los triglicéridos que contienen y facilitar así la extracción química del aceite. Dicha extracción se realizó siguiendo el método de extracción sólido-líquido utilizando hexano como disolvente.

El proceso se basa en lavados sucesivos del solvente con las semillas previamente prensadas y colocadas en un cartucho poroso. En el proceso se involucran una plancha caliente y un matraz balón, así como un sifón Soxhlet que consta de un brazo de alimentación del vapor y de un brazo de recuperación del solvente- hexano y, también, un condensador.

En primer lugar se llevó a cabo un pre-prensado con un molino industrial Thermoscientific modelo 3383-L20. La obtención del aceite se realizó con base en la norma oficial mexicana con algunas modificaciones (NMX-F-089-S-1978). Las modificaciones realizadas fueron varias, principalmente el solvente. En éste estudio se utilizó hexano para realizar la extracción del aceite, aparte de ser un solvente más barato, es el más utilizado para la extracción de aceites crudos por su buena respuesta en rendimientos. La cantidad de muestra también fue modificada. La norma establece 2.0 g. Para el estudio se utilizaron 10.0 g con el fin simplemente de acelerar la extracción.

Luego de terminar el proceso de extracción se procedió a separar la mezcla aceite-solvente por destilación utilizando el equipo extractor como destilador. Después, la mezcla se enfrió y pesó; luego se registró el valor obtenido como  $W_{bf}$ .

La cantidad de aceite contenido en la muestra se estimó por medio de la siguiente expresión:

$$\% \text{ ac} = \frac{W_{bf} - W_{bi}}{W_m}$$

Ec. (2)

Donde:

$\% \text{ ac}$ = porcentaje de aceite en la semilla.

$W_{bi}$ = peso de matraz vacío (peso inicial).

$W_{bf}$ = peso de matraz con aceite (peso final).

$W_m$ = peso de muestra de semillas.

### **Perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases**

El método está basado en la separación y determinación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos y es aplicable a aceites y grasas, tanto vegetales como animales, con cantidades de ácidos grasos de 12 a 24 átomos de carbono. Los ácidos grasos más abundantes en el biodiésel son: ácido palmítico (C18:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoleico (C18:2), ácido linolenico (C18:3), ácido decanóico (C10:0) y ácido dodecanóico (C12:0). La muestra fue saponificada con metóxido de sodio y esterificada con trifloruro de boro. Posteriormente, la muestra fue inyectada en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama adaptado con una columna SP-2560 de 120 m. La identificación se llevó a cabo por medio de una mezcla estándar de FAME (Fatty Acid Methyl Esters, por sus siglas en inglés).

## Viscosidad cinemática y densidad

La viscosidad cinemática se define como la resistencia ejercida por los fluidos al ser deformados cuando se le aplica un esfuerzo cortante. La viscosidad cinemática se determinó utilizando un viscosímetro calibrado de acuerdo con la norma EN ISO 3104 (Canakci & Sanli, 2008).

Un viscosímetro capilar de vidrio *Cannon-Fenske Proton* de rutina para líquidos transparentes de 200 mL fue usado para cargar la muestra de aceite y sumergido en un baño termostatzado a 40°C hasta alcanzar el equilibrio térmico. Con ayuda de un embolo se succiona la muestra por la rama más estrecha del viscosímetro hasta que quede por encima de la marca de cronometraje y se mide el tiempo que tarda en fluir libremente entre las dos marcas del menisco. Esta medida se realizó tres veces para tener una media aritmética y una desviación estándar pequeña.

La densidad se define como la masa por unidad de volumen que ocupa una sustancia, a una temperatura dada y expresada en  $\text{kg/m}^3$ . El protocolo para determinar la densidad del aceite se llevó a cabo siguiendo la norma ISO 3675, que describe el método del areómetro de vidrio a 15°C.

Esta propiedad depende indirectamente de la temperatura. A mayor temperatura, menor densidad. Además, la densidad aumenta con el contenido en ácidos grasos insaturados y disminuye con el peso molecular (Canakci *et al.*, 2008).

El aceite de *A.pleiacantha* se colocó en una probeta de 100 mL que se introdujo en un baño termostatzado a 15°C y se aguardó hasta asegurar que la muestra había alcanzado los 15°C, momento en que se colocó el areómetro en el interior de la probeta en equilibrio y se anotó la lectura indicada en el punto de la escala hasta el cual se eleva la muestra a un nivel debajo del menisco. El areómetro empleado fue de la marca *Proton* cuyo campo de medida se situaba entre 0.800-0.900 g/mL a 15°C y el error de medida era menor a 0.001 g/mL.

## Índice de Acidez

El índice de acidez fue determinado con el procedimiento establecido en la norma UNE EN 14104. En primer lugar se definió un tamaño de muestra de aceite, el cual para este estudio fue de  $7.05\text{g} \pm 0.05$ . La cantidad designada de muestra se disolvió en 100 mL de alcohol etílico al 96%. Después, la muestra fue titulada con solución estándar de KOH 1 N. Fenolftaleína al 1% en etanol 96% fue usada como indicador del punto final de la titulación.

El porcentaje de ácidos grasos libres, expresados como ácido oleico se calculó con la siguiente expresión:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V_{\text{KOH}} * N * 56.1}{P_m}$$

Ec. (3)

Donde:

$V_{\text{KOH}}$ = Volumen en mL de solución de KOH gastado en la titulación.

N= Normalidad de la solución de KOH.

$P_m$ = peso de muestra

Las cantidades de muestra y reactivos utilizados fueron de acuerdo al tamaño de muestra (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cantidad de material empleado en las pruebas de índice de acidez en aceite de semillas de *A. pleiacantha Greene*.

% de Ácidos Grasos Libres	Muestra en Gramos	Mililitros de Alcohol	Normalidad de Solución
0.00 a 0.2	56.4 ± 0.2	50.0	0.1
0.2 a 1.0	28.2 ± 0.2	50.0	0.1
1.0 a 30.0	7.05 ± 0.05	75.0	0.25
30.0 a 50.0	7.05 ± 0.05	100.0	0.25 ó 1.0
50.0 a 100.0	3.525 ± 0.001	100.0	1.0

### Índice de Saponificación

Para la determinación del índice de saponificación se utilizó el método indicado en la norma NMX-F-174-S-1981. La muestra de 5 g depositó en un matraz de 250 mL y se adicionaron 25 ml de solución alcohólica de KOH aproximadamente 0,71 N. Esta se preparó por disolución de 40 g de KOH en un litro de alcohol etílico al 96%. Luego se ensambló el refrigerante de reflujo al matraz y se calentó en baño María hirviendo durante 60 minutos con agitación frecuente.

Una vez terminada la saponificación, la muestra se tituló, aún caliente, con HCl 0.5 N, en presencia de fenolftaleína. Paralelamente, un ensayo en blanco se realizó, empleando igual cantidad de reactivo medido con la misma pipeta que se empleó anteriormente y operando de la misma forma empleada en la muestra que se analiza.

El índice de saponificación se estimó por medio de la siguiente expresión:

$$I. S. = \frac{(v1-v2) \cdot 28,05}{Pm} \quad \text{Ec. (4).}$$

Donde:

I.S.= Índice de Saponificación.

v1= Volumen de HCL 0.5 N gastado en la titulación del blanco.

v2= Volumen de HCL 0.5 N gastado en la titulación de la muestra.

Pm= Peso de la muestra.

### Índice de Peróxido

El método empleado para determinar el índice de peróxido fue el indicado por la norma NMX-F-154-1987. Una masa de 5 gramos de aceite crudo fue colocada en un matraz de 250 mL, al cual se adicionaron 30 mL de la mezcla de ácido acético-cloroformo. Luego se agregaron 0.5 mL de la disolución de yoduro de potasio saturado, después se adicionaron 30 mL de agua y 0.5 mL de la solución de almidón al 1%. Por último, la titulación se hizo con tiosulfato de sodio al 0.1 N dejando caer gota a gota mientras se agitaba vigorosamente, hasta la desaparición del color azul.

El índice de Peróxido se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$I.P. = \frac{(A-A1)*N*1000}{Pm}$$

Donde:

Ec. (5)

I.P = Índice de Peróxido

A = Mililitros de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra.

A1= ml de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación del blanco.

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

Pm = Masa de la muestra en gramos.

## **Producción de biodiesel**

### **Reacción de transesterificación**

Un diseño experimental tri-factorial con dos niveles cada uno, se estableció para lograr los objetivos planteados. Los factores y sus niveles fueron: catalizador (KOH y NaOH), CC (0.5 y 0.75%) y REA (6:1 y 6.5:1). La variable dependiente fue el rendimiento de biodiesel. El experimento se llevó a cabo con tres repeticiones.

La reacción de transesterificación se llevó tomando como base la metodología presentada por Zuleta *et al.* (2008) con algunas modificaciones. Las modificaciones fueron cambiar la cantidad de muestra de aceite (60 g) y la cantidad en los reactivos. En un vaso de precipitado de 250 mL se instaló un termómetro de mercurio para medir la temperatura de reacción y un agitador magnético para conseguir una agitación constante. Una vez pesadas las cantidades necesarias de los diferentes reactivos se adicionaron al vaso y se llevaron a una temperatura de entre 60 y 65° C durante 1 hora. Las condiciones que se emplearon en este proceso se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones de transesterificación empleadas en la obtención de Biodiesel de *A. pleiacantha Greene*.

<b>Alcohol</b>	Metanol
<b>Catalizador</b>	Hidróxido de Potasio e Hidróxido de Sodio
<b>Cantidad de catalizador</b>	0.5 % y 0.75%
<b>Relación molar aceite/alcohol (ratio)</b>	6:1 y 6.5:1
<b>Temperatura de reacción</b>	60-65° C
<b>Tiempo de reacción</b>	1 h

### **Separación de biodiesel y glicerina**

La mezcla de biodiesel y glicerina obtenidos en el proceso de transesterificación se transfirió a un embudo de separación y se dejó en reposo durante 24 horas para así tener una buena separación de fases.

### **Purificación del biodiesel obtenido**

El biodiesel obtenido se colocó en una parrilla de calentamiento para lograr la evaporación completa del metanol; posteriormente, tres lavados con agua destilada se realizaron a una temperatura de 45 °C, hasta observar que el agua del lavado tuviera fuera transparente.

La determinación del rendimiento de biodiesel (Rb) se realizó mediante la Ec. (6), en donde los gramos de biodiesel puro son los gramos de biodiesel obtenidos al final del proceso (reacción, separación, lavado y secado) y los gramos de aceite crudo de semilla son los gramos de aceite adicionado al inicio de la reacción.

$$Rb = \frac{\text{gr biodiesel puro}}{\text{gr aceite de semilla}} \times 100\%$$

Ec. (6)

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Análisis del aceite

A partir de los resultados de rendimiento asociado a cada tratamiento se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de evaluar la variación de la respuesta producida por los factores y sus niveles, así como por la interacción entre los factores.

Las semillas de *Argemone pleiacantha greene* presentaron un contenido de humedad del 5.57 %. El aceite presentó color variable de amarillo intenso a café (Figura 10). El rendimiento promedio de aceite en la semilla en porcentaje fue de 39.81 %. Este resultado es similar al rendimiento reportado por Reveles-Saucedo *et al.* (2010) 39.8 % y rebasa o al menos se encuentra en las mismas proporciones que el de otras especies oleaginosas, como el presentado por Yate (2013) de 26.69% a partir de *jatropha curcas L.* Los valores de rendimiento de aceite y contenido de humedad de las semillas obtenidos en los diferentes análisis descritos se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Contenido de aceite (%) y humedad (%) de semillas de *A. pleiacantha Greene* (chicalote).

Ensayo	Porcentaje de rendimiento	Porcentaje de humedad
1	39.86	5.67
2	39.75	5.64
3	39.84	5.42
Media	39.81	5.57
Desviación estándar	0.0585	0.1342

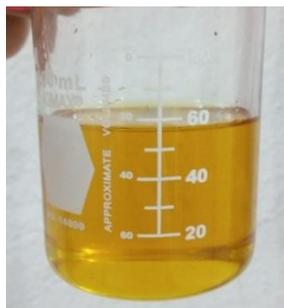


Figura 10. Apariencia del aceite de semillas de *A. pleiacantha*.

El rendimiento de aceite varía por la influencia de algunos factores, entre ellos, el contenido de aceite en las semillas y método de extracción empleado. El contenido de aceite en la semilla depende de la variedad y las condiciones del lugar donde se encuentre la planta (Nilgun *et al.* 2007). En este estudio los rendimientos obtenidos en los diferentes ensayos se mantuvieron relativamente constantes con una media cercana al 40 % y una desviación estándar menor a la unidad, lo que indica que los ensayos son confiables y reproducibles.

La humedad de las semillas es un factor que afecta, desde luego, la afinidad entre el aceite y la semilla. Si las semillas están muy secas, el aceite no se puede extraer eficazmente (Bailey, 1981).

La dificultad que puede presentarse en la extracción, es que el aceite de las semillas de *Argemone pleiacantha* (chicalote) se encuentra fuertemente aprisionado en las células que lo contienen. Por esta razón, el material debe ser previamente molido o macerado para permitir una mayor área de contacto entre el sólido y el solvente. Las semillas trituradas o sus partículas convertidas en trozos muy finos facilitan la extracción con disolvente, tanto por el efecto de rompimiento ejercido por la trituración, como por la disminución de las distancias que deben recorrer el aceite y el disolvente, dentro y fuera de la semilla (Bailey, 1981). En otras palabras, el método empleado en este estudio permitió obtener rendimientos de aceite muy buenos.

Cuadro 5. Caracterización del aceite fresco de las semillas de *A. pleiacantha Greene*.

Aceite de <i>Argemone Pleiacantha</i>	
<b>Composición de ácidos grasos (%)</b>	
Palmítico (C16:0)	6.514
Esteárico (C18:0)	2.996
Oleico (C18:1)	21.891
Linolenico (C18:0)	68.599
<b>Propiedades físicas y químicas</b>	
Acidez (mg KOH/g)	34.09
Índice de peróxido (meq de O <sub>2</sub> /kg)	7.996
Índice de saponificación mg (KOH/g)	125.41
Contenido en agua (ppm)	691
Viscosidad cinemática a 40°C $\mu$ (mm <sup>2</sup> /s)	2.728
Densidad a 15° C, $\rho$ (kg/m <sup>2</sup> )	934

En el Cuadro 5 se pueden observar los resultados de la caracterización físico-química y de la composición de ácidos grasos realizados al aceite de semilla de *Argemone pleiacantha*. El aceite mostró contenidos mayores de ácidos linoleico (68.59 %) y oleico (21.891). Estos resultados sugieren que el aceite de *Argemone pleiacantha* puede utilizarse para la producción de biodiesel pues es una planta que no compite con el sector alimenticio y los residuos obtenidos pueden ser aprovechados como componentes importantes en alimentos balanceados para animales domésticos. Además, la calidad nutricional de los productos de bovinos puede mejorarse con los residuos de este aceite, si se considera el ácido linoleico conjugado que se genera en el rumen a partir de alimentos ricos en este compuesto (Reveles- Saucedo *et al.*, 2010). El ácido linoleico conjugado se obtiene para la nutrición humana durante la digestión de la carne y productos lácticos, e inclusive se considera como un componente dietético importante para el control de cáncer, diabetes y obesidad (Khanal & Olson, 2004). Aun así, la

evaluación de la presencia y métodos de eliminación de los compuestos tóxicos contenidos en *A. pleiakantha* es necesaria, pues Cervantes *et al.* (2010) indican que ésta planta contiene sustancias tóxicas.

El índice de acidez promedio obtenido para el aceite fresco de semillas de *Argemone pleiakantha* fue de 34.09 expresado en % de ácido oleico, que corresponde a 7.05 expresado como mg KOH/g muestra. No hay información sobre este parámetro en semillas de esta especie, pero el valor estimado es mayor al nivel exigido por la norma europea EN UNE para grasas y aceites vírgenes, cuyo valor es de 4,0 mg KOH/g muestra. Uno de los principales parámetros a modificar para producir biodiesel es el contenido de ácidos grasos libres (% AG). Para poder realizar la transesterificación, Van Gerpen (2005) recomienda que el % AG debe ser menor al 5%, mientras que, Knothe *et al.* (2005) establecen que no debe ser mayor al 2%. El valor de acidez obtenido para el aceite de las semillas de *Argemone pleiakantha* es muy elevado, lo que indica que el aceite no puede ser consumido y su estabilidad oxidativa es inestable.

El valor del índice de peróxidos para el aceite de semillas de chicalote fue de 7.996 meq de O<sub>2</sub>/kg (Cuadro 5). Ese valor sugiere que en el aceite fresco de semillas de *Argemone pleiakantha* se encontraban peróxidos, lo cual indica que durante su extracción o almacenamiento sufrió degradación oxidativa.

## Producción de biodiesel

En el cuadro 6 se muestra los resultados del experimento para definir la concentración de catalizador.

Cuadro 6. Resultados de rendimiento promedio de biodiesel para cada tratamiento empleado con diferentes relaciones molares metanol:aceite (REA), diferentes catalizadores (CAT) y diferentes concentraciones de catalizador (CC).

Tratamiento	REA mol/mol	CAT	CC %	Rendimiento promedio de biodiesel en porcentaje ( $S_d$ )
1	6	KOH	0.5	67.919 (0.256)
2	6	KOH	0.75	58.631 (0.564)
3	6	NaOH	0.5	66.210 (0.357)
4	6	NaOH	0.75	58.588 (0.075)
5	6.5	KOH	0.5	73.105 (0.569)
6	6.5	KOH	0.75	68.011 (0.271)
7	6.5	NaOH	0.5	69.201 (0.594)
8	6.5	NaOH	0.75	68.138 (0.141)

$S_d$ = desviación

El tratamiento 5 con KOH al 0.5% y una REA de 6.5 fue el que propició el mayor rendimiento. Zuleta *et al.* (2008) obtuvieron una transesterificación alta de aceite de palma con una concentración similar y un nivel de REA ligeramente menor al encontrado en este estudio. Meher *et al.* (2004) ratifican el carácter de reacción de equilibrio, pues mencionan que al agregar más alcohol al proceso de transesterificación, la reacción se dirige hacia los productos.

Los resultados muestran también que en los dos casos de catalizadores usados, los valores menores de rendimiento se obtienen a partir del mayor nivel de concentración del catalizador (0.75%). Esto se debe a que al agregar más

catalizador (KOH o NaOH) se favorece una reacción de saponificación en lugar de la transesterificación, añadiéndole también pérdidas en las etapas de separación y lavado del BD obtenido (Dorado *et al.*, 2004). Buendía-Tamariz *et al.* (2015) encontraron que el rendimiento de biodiesel a partir de aceite de pennycress (*Thalpi arvense*) alcanzó su máximo en concentraciones de KOH de 1% pero decreció al incrementar la concentración a 1.25% cuando se empleó una relación molar metanol:aceite de 6:1 y una temperatura de reacción de 60°C

En general, los valores de rendimiento de BD para cada tratamiento son menores que los correspondientes a otros estudios en los cuales se utilizaron aceites refinados en lugar de aceites crudos como por ejemplo el que presenta Murillo (2004) , en cuyo caso el rendimiento de biodiesel es de 91.3 % a partir de aceite de palma. Asimismo, Cardeño *et al.* (2010) encontraron que al utilizar aceite de palma refinado hubo un mayor rendimiento en FAME comparándolo con aceite de palma crudo y de higuera. Buendía-Tamariz *et al.* (2015) obtuvieron rendimientos de 78% cuando emplearon aceite de carrasque del campo como materia prima. Esto se puede deber a que el índice de acidez en aceites crudos es muy grande y, además, la presencia de otras sustancias propios de como carotenos, tocoferoles, tocotrienoles y gomas que no reaccionan con el alcohol, pero especialmente a los ácidos grasos libres y agua que consumen parte del catalizador y forman jabones, lo que disminuye el rendimiento de la reacción (Vicente *et al.*, 2004).

En el Cuadro 7 se resume el análisis de varianza factorial realizado. Los factores REA, CC y CATALIZADOR afectan significativamente ( $P < 0.05$ ) el nivel de rendimiento de biodiesel. Los niveles de los factores REA y CC, tienen efecto sobre los cambios en el rendimiento de biodiesel. En el caso del factor catalizador, el mayor rendimiento se vincula al catalizador KOH (Figuras 6 y 7). Al utilizar un REA mayor con una concentración (CC) menor de catalizador, el rendimiento de biodiesel aumenta. Por lo tanto, se puede decir que existe una interacción entre los factores con efectos importantes

Cuadro 7. Análisis de varianza de un experimento factorial con dos niveles de relación metanol:aceite (REA: 6 y 6.5), dos catalizadores (KOH y NaOH) y dos concentraciones de catalizador (0.5 y 0.75%) y la variable de respuesta rendimiento de biodiesel.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F <sub>0</sub>	Sig.
<b>REA</b>	0.012	1	0.012	1777.636	0.000
<b>CATALIZADOR</b>	0.000	1	0.000	64.205	0.000
<b>CC</b>	0.009	1	0.009	1301.853	0.000
<b>Interacción</b>	0.00007039	1	0.00007039	10.481	0.005
<b>Error</b>	0.000	16	0.000006716		
<b>Total</b>	80.082	24			

En la Figura 6 se puede observar que el rendimiento de biodiesel mayor corresponde a la concentración de 0.5% de KOH. Asimismo, al incrementar la REA en presencia de KOH como catalizador se aumenta el rendimiento de biodiesel. Sin embargo, el incremento es mayor al emplear una concentración de 0.75% comparada con la de 0.5%. Esto sugiere la importancia de la interacción entre la REA y la concentración de KOH como catalizador.

En la Figura 6 se identifica un comportamiento similar cuando se emplea NaOH como catalizador. Los mayores rendimientos de biodiesel se relacionan con la concentración 0.5% de NaOH como catalizador. Asimismo, los rendimientos de biodiesel se incrementaron al pasar de una REA de 6 a 6.5 pero el incremento fue mayor para la concentración de 0.75% de NaOH. En esta figura se evidencia también la importancia de interacción entre la REA y la concentración de catalizador sobre el rendimiento de biodiesel

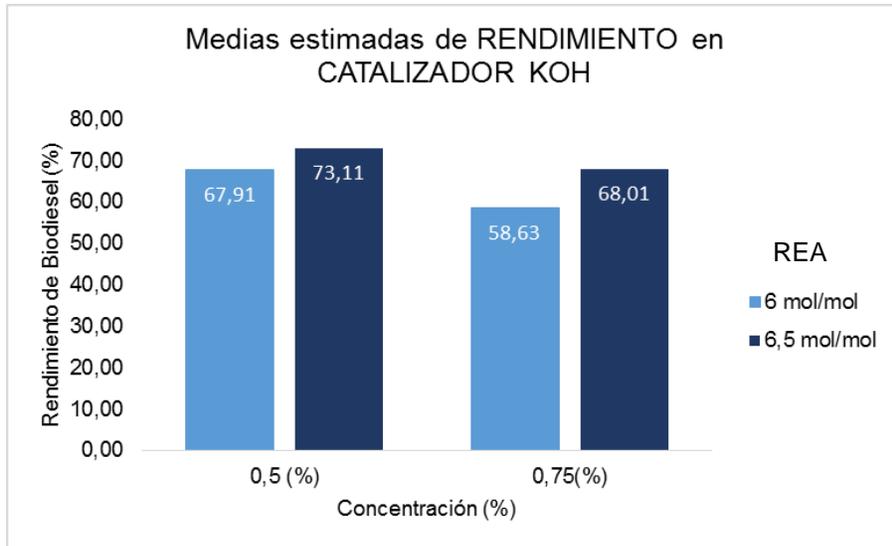


Figura 11. Rendimiento (%) de biodiesel de aceite de *A. pleiacantha* en función de REA (6 y 6.5 mol/mol) empleada con el uso de KOH (CC % 0.5 y 0.75) como catalizador.

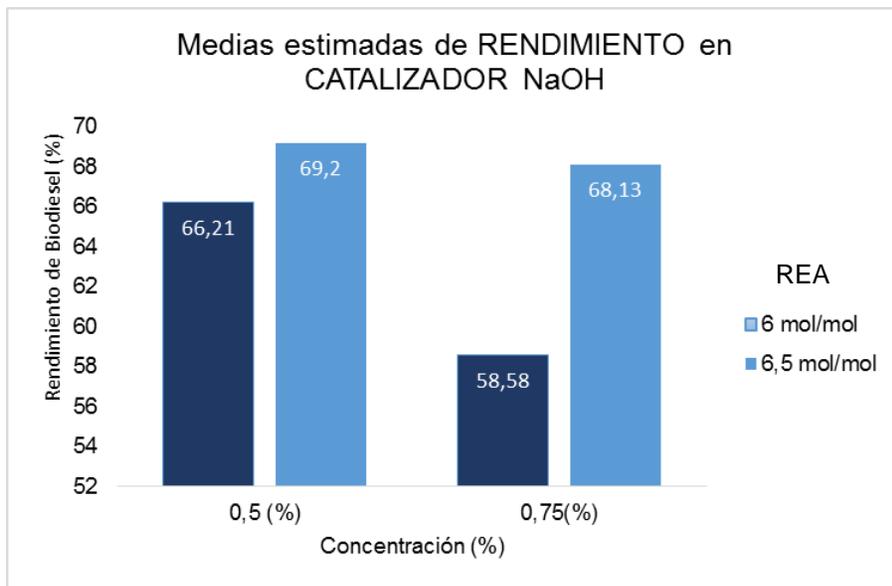


Figura 12. Rendimiento (%) de biodiesel de aceite de *A. pleiacantha* en función de REA (6 y 6.5 mol/mol) empleada con el uso de NaOH (CC % 0.5 y 0.75) como catalizador.

## CONCLUSIONES

El rendimiento de aceite de las semillas de *A. pleiacantha* fue relativamente grande, con un promedio de 39.8 %.

El índice de acidez del aceite de *A. pleiacantha* fue grande con respecto a otros aceites utilizados para la transformación a biodiesel pues sus valores son mayores al del valor establecido por las normas CODEX STAN y EN UNE (menor a 4 mg KOH/g muestra). Por lo tanto, una esterificación ácida y después la transesterificación básica deben disminuir el índice de acidez y así obtener un rendimiento de biodiesel grande. La saponificación y los valores de peróxidos, densidad y viscosidad cumplen con las normas.

El tratamiento 5 con KOH al 0.05% y REA de 6.5 propició el rendimiento mayor.

Al incrementar la REA en presencia de KOH como catalizador se incrementa el rendimiento de biodiesel. Sin embargo, el incremento es mayor al emplear una concentración de 0.75 % comparada con la de 0.5 %.

Trabajos futuros de investigación deben involucrar la composición química del biodiesel con la ayuda de cromatografía para: i) Cuantificar conversión y pureza.; ii) Optimizar el sistema de colecta o cosecha de semillas, así como la producción de materia prima de esta especie; iii) Domesticar la especie y iv) Continuar la búsqueda de nuevos cultivos alternativos para la síntesis de biodiesel que posean rendimientos de aceite rentables.

## CAPITULO IV

### RESUMEN

#### **TRANSESTERIFICACIÓN DE BIODIESEL OBTENIDO A PARTIR DEL ACEITE DE *Argemone pleiakantha Greene* ASISTIDA POR ULTRASONIDO**

La investigación sobre biocombustibles se ha dirigido principalmente a explorar combustibles de aceites vegetales, es decir, ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de aceites de semillas. Los aceites de semillas representan el 70% de la producción mundial de aceites y son una respuesta alternativa al agotamiento de los combustibles fósiles y los efectos contaminantes en el medio ambiente. Cuando el combustible es producido a partir de aceites vegetales o grasas animales, es considerado renovable y biodegradable. Por lo tanto, la intención es producir biocombustibles a partir de plantas que no compitan con el sector alimenticio. En este contexto, *Argemone pleiakantha Greene* es una planta no comestible que no compite con los alimentos. Por consiguiente, los objetivos principales de éste trabajo consistieron en realizar la reacción de transesterificación asistida por ultrasonido para la producción de BD a partir del aceite de *Argemone pleiakantha Greene*, y encontrar los parámetros óptimos de reacción en función del rendimiento en ésteres metílicos (FAME) y consumo energético. También se realizó una caracterización del BD obtenido. Una superficie de respuesta (RSM) fue usada para obtener los valores de las variables para optimizar el proceso de transesterificación. En tal contexto, el mayor rendimiento de biodiesel se dio en un tiempo de 8 min, a una amplitud de onda de 50 y un ciclo de 100% (98.45%). De acuerdo a la caracterización del biodiesel, todas las variables medidas estuvieron dentro de los estándares establecidos por las normas europeas. *A. pleiakantha* es una especie con potencial para producir biodiesel.

**Palabras clave:** Esterificación, transesterificación, ultrasonido, superficie de respuesta

---

Tesis de Maestría en Ciencias  
Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma  
Chapingo- URUZA  
Autor: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

## ABSTRACT

### TRANSESTERIFICATION OF BIODIESEL OBTAINED FROM *Argemone pleiakantha* Greene OIL ASSISTED BY ULTRASOUND

Research on biofuels has been directed primarily at exploring vegetable oil fuels: methyl esters of fatty acids from seed oils. Seed oils account for 70% of the world's oil production and are an alternative response to the depletion of fossil fuels and the polluting effects on the environment. When produced from vegetable oils or animal fats, it is considered renewable and biodegradable. So, it is sought to produce biofuels from plants that do not compete with the food sector. In this context, *Argemone pleiakantha* Greene is an inedible plant that does not compete with food. Therefore the main objective of this work was to perform the transesterification reaction assisted by ultrasound to produce BD from the oil of *Argemone pleiakantha* Greene, and to find the optimum reaction parameters as a function of the methyl esters (FAME) and consumption energetic. Finally, a characterization of the BD obtained was performed. The response surface methodology (RSM) was used to estimate values of the variables to optimize the transesterification process. In this context, the highest yield of biodiesel occurred at a time of 8 min, a wavelength of 50 and a cycle of 100% (98.45%). According to the characterization of biodiesel, all measured variables were within the standards established by European Authorities. *A. pleiakantha* is a species with potential to produce biodiesel.

**Key words:** Esterification, transesterification, ultrasound, response surface.

---

Master in Science Thesis

Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo- URUZA

Author: Elena del Carmen Villarreal Ornelas

Advisor: Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la investigación sobre biocombustibles se ha dirigido principalmente a explorar combustibles de aceites vegetales: es decir, ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de aceites de semillas (Pinzi *et al.*, 2009). Los aceites de semillas representan 70% de la producción mundial de aceites y son una respuesta alternativa al agotamiento de los combustibles fósiles y los efectos contaminantes en el medio ambiente (Lafarge *et al.*, 2012.) La relativa simplicidad y versatilidad de los procesos físicos y químicos (hidrogenación o transesterificación), utilizados por separado o en combinación, permiten modificar las propiedades de los aceites vegetales para hacerlos particularmente adecuados para la transformación en biodiesel (BD) (Fernández *et al.*, 2010).

El biodiesel consiste de esteres mono-alquílicos de aceites vegetales, animales y microbianos, convertido a través de un proceso químico llamado transesterificación, que implica una reacción entre un mol de triglicéridos y tres moles de alcohol de cadena corta, siendo el metanol el más utilizado (Bastante *et al.*, 2015). Cuando es producido a partir de aceites vegetales o grasas animales, es considerado renovable y biodegradable (Dorado, 2001). Los aceites más comunes utilizados en la producción de BD son: la colza, la soja, palma, coco, girasol entre otros, considerados biocombustibles de primera generación por ser cultivos alimenticios. Los de segunda generación son obtenidos de cultivos no alimenticios con coste reducido, como los residuos agroindustriales o de plantas no competitivas con dicho sector (Ejilah *et al.*, 2010).

En este contexto, *Argemone pleiacantha Greene* es una planta no comestible que no compite con los alimentos. Aunque este género no ha sido ampliamente estudiado, el aceite obtenido de sus semillas tiene un gran contenido de ácidos grasos insaturados (40%) y carbohidratos solubles que pueden ser materia prima para la producción de biodiesel (Reveles Saucedo *et al.*, 2010) y los residuos obtenidos pueden ser aprovechados como componentes importantes en

alimentos balanceados para animales domésticos (Khanal y Olson, 2004). Además, más del 50% de los FA (ácidos grasos) son poliinsaturados, siendo el componente principal el ácido linoleico (68,59%). En este sentido, es importante mencionar que el grado de saturación de los aceites es una variable importante relacionado con las propiedades del BD; entre mayor sea el grado de saturación de los FA, menor será la viscosidad del BD (Moser, 2009), que es una característica clave para permitir que el BD sea utilizado en motores diésel. Esta planta presenta también beneficios desde el punto de vista agronómico: es anual de corta temporada de crecimiento y tiene una amplia tolerancia climática (condiciones frías, secas y áridas). Esta versatilidad aumenta el interés sobre su semilla como materia prima para la producción de BD.

Reducir el tiempo de reacción y disminuir los requerimientos energéticos también podría conducir a la reducción de los costos de producción de BD. Para superar el primer problema, la transferencia de masa entre dos fases inmiscibles debe ser mejorada. Aceites con un gran porcentaje de triglicéridos (de naturaleza no polar) se mezclan con alcohol de cadena corta (metanol) de naturaleza polar. En transesterificación convencional, la transferencia de masa adecuada se consigue mediante calentamiento y agitando vigorosamente la mezcla de reacción, para estimular un rápido contacto entre reactivos (Stamenkovic *et al.*, 2007). Además, la temperatura de reacción debe ser relativamente alta, ligeramente menor al punto de ebullición del metanol (65°C). De esta manera, las conversiones de BD grandes se logran después de casi una hora de reacción con un gran consumo de energía para calentar y agitar, así aumenta así el costo de producción de BD. Como resultado, durante los últimos años se han estudiado varias fuentes de energía alternativas capaces de reducir el tiempo de reacción a temperatura ambiente y reducir el consumo de catalizador en la reacción de transesterificación de BD. Entre estas energías auxiliares se encuentra el ultrasonido (US) (Veljkovic *et al.*, 2012). El US mejora la transferencia de materia, el fraccionamiento y las reacciones químicas, dando lugar a un incremento en la eficiencia de las

reacciones, reduciendo los tiempos de reacción y la temperatura. El ultrasonido es una onda acústica cuya frecuencia supera los 20 kHz, frecuencia mayor al umbral de audición del ser humano (16-18 kHz). Esta onda se contrae y expande propagándose en un medio, líquido o en suspensión, dando lugar al fenómeno de cavitación. La onda ultrasonido atraviesa cualquier sustancia que posea propiedades elásticas provocando que las moléculas vibren continuamente transmitiendo la vibración, creando cavidades. Las pequeñas burbujas de cavitación formadas colapsan provocando un aumento de temperatura y de presión en el interior de la nube de burbujas en cavitación de hasta unos 5.000 K y 1.000 atm, respectivamente (Gude *et al.*, 2013). Estas condiciones favorecen la formación de radicales libres, los cuales aceleran la reacción (Leonelli y Mason, 2010).

Los objetivos principales de éste trabajo fueron realizar la reacción de transesterificación asistida por ultrasonido para producir BD a partir del aceite de *Argemone pleiacantha Greene*, y encontrar los parámetros óptimos de reacción en función del rendimiento en ésteres metílicos (FAME). Y por último, realizar una caracterización del BD obtenido

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Aceite de *Argemone pleiacantha Greene*.**

La producción de biodiesel se realizó con aceite de *Argemone pleiacantha Greene*, obtenido a partir de un proceso químico con hexano, en el laboratorio de Suelo-Agua-Planta de la Universidad Autónoma Chapingo.

### **Esterificación (ácida) del aceite**

Debido al alto índice de acidez presentado en el aceite de *A. pleiacantha greene* se optó por realizar un pre-tratamiento, que consistió en una esterificación

(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Con base en la metodología propuesta por Malaya *et al.* (2008), lo siguiente fue realizado: reacción a una temperatura de 65 °C con una relación molar de 6:1 y una concentración de catalizador de 1.5% v/v durante 120 min. Terminada la reacción, las muestras de aceite esterificadas se colocaron en embudos de separación para tener la capa de aceite separada de lo demás producido durante la reacción. Para eliminar el agua y el catalizador ácido, el aceite se lavó, se centrifugó a 4500 rpm durante 5 min (esto 4 veces) y se midió el índice de acidez.

### **Agentes utilizados en transesterificación por ultrasonido**

Para la transesterificación por ultrasonido se utilizaron metanol (MeOH) e hidróxido de potasio (KOH) de Panreac Química (Barcelona, Spain). Las cantidades de los reactivos fueron adaptadas a los traductores, los cuales disponen de un espacio limitado, manteniendo la proporción inicial de 5:1 para la relación molar y de 1,1% p/p para el catalizador.

La disolución se preparó en un matraz aforado a 50 mL al cual se le añadieron las lentejas de catalizados previamente pesadas (2,36 gramos de KOH) y metanol. Posteriormente, la disolución en el matraz se agitó suavemente con el tapón puesto hasta lograr la disolución completa de las lentejas de KOH. Tras disolverse se siguió añadiendo metanol hasta alcanzar los 50 mL y se mantuvo en un recipiente seguro, en frío hasta requerir su uso.

### **Transesterificación por ultrasonido**

Para llevar a cabo la transesterificación por sondas se empleó un dispositivo ultrasónico multifrecuencia *Meinhardt Ultraschalltechnik* modelo *E/805/T/M* compuesto de una aleación de titanio con un sintonizador que permite trabajar

con una amplitud variable y un ciclo de trabajo. El dispositivo incluye también un baño de agua termostático para disipar el calor producido por la aplicación de US. La frecuencia de la bocina se fija en 20 kHz, la potencia máxima alcanzada es de 450 W. Los experimentos se llevaron a cabo con una muestra de 15 gr de aceite de *A. pleiacantha*, pesados en un matraz. Luego se añadió la mezcla de metanol-hidróxido de potasio (4.16 mL.). Las cantidades de los reactivos fueron adaptadas a los traductores, los cuales disponen de un espacio limitado, manteniendo la proporción inicial de 5:1 para la relación molar y de 1,1% p/p para el catalizador.

Cada muestra fue sonicada durante el tiempo programado combinando ciclos de agitación y amplitud de onda (Cuadro 1). Al final de cada experimento las muestras de BD se sometieron a centrifugación durante 4 min a 4000 rpm para separar el glicerol; finalmente, las muestras se almacenaron en el interior de un refrigerador a 4°C y se procedió a realizar el análisis de FAME por cromatografía de gases. Posteriormente, las fases de separación y lavado para tener el biodiesel seco fueron realizadas.

Cuadro 8. Diseño de experimentos de muestras de aceite de *A. pleiakantha* para transesterificación por ultrasonido

Bloque	Amplitud	Ciclo de agitación (%)	Tiempo (min)
1	65	80	8
1	65	80	8
1	50	60	8
1	80	80	14
1	50	80	2
1	65	100	2
1	50	100	8
1	65	60	2
1	80	60	8
1	65	80	8
1	65	100	14
1	50	80	14
1	80	100	8
1	65	60	14
1	80	80	2

### Análisis de Superficie de Respuesta

Un análisis de superficie de respuesta con base en un diseño de Box- Benhken fue realizado, especificando 2 variables de respuesta, tres factores experimentales con tres niveles, en 15 ejecuciones tomando 1 muestra en cada ejecución. El análisis permitió desarrollar un modelo estadístico cuadrático que describe el rendimiento de biodiesel en la reacción de transesterificación a partir de la relación de tiempo, ciclos de agitación y amplitud de onda.

## **Caracterización del biodiesel**

El análisis del biodiésel se llevó a cabo determinando una propiedad básica del mismo, el contenido de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) siguiendo la norma EN 14103. El contenido de esos ésteres indica la pureza que presenta el biodiésel y, por lo tanto, la calidad del mismo; así, un biodiésel se considera de calidad cuando su contenido en metilésteres es igual o mayor a 96,5% p/p (Moser, 2009).

Para determinar el rendimiento en FAME del biodiésel sintetizado se utilizó el equipo *Perkin-Elmer modelo Clarus 500 acoplado a GC-FID*. La columna seleccionada fue una columna capilar SGE BPX70, de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor siendo la máxima temperatura alcanzada durante el análisis de 250 °C.

Para la caracterización del biodiesel se determinaron las siguientes variables; índice de acidez (UNE EN 14104), contenido de agua (EN ISO 12937), residuos de carbono (EN ISO 10370), Flash point (EN ISO 2719), poder calorífico (ASTM D240), viscosidad cinemática (EN ISO 3104) y densidad (EN ISO 3675).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La calidad del biodiésel es de gran importancia ya que combustibles con gran cantidad de mono-, di- y triglicéridos son empleados pueden causar la rotura de inyectores, válvulas y pistones en motores. Cantidades grandes de glicéridos aumentan la viscosidad y los residuos de carbono. Además, para conseguir cantidades pequeñas de mono-, di- y triglicéridos, valores de reacción óptimos son necesarios para conseguir la máxima producción de metil éster.

## Esterificación ácida

En la tabla 2. Se muestra el índice de acidez obtenido a partir del proceso de esterificación ácida y la composición físico-química del aceite.

Cuadro 9. Composición de ácidos grasos y propiedades físico- químicas del aceite de *A. pleiakantha Greene*

Aceite de <i>Argemone Pleiakantha</i>	
<b>Composición de ácidos grasos (%)</b>	
Palmítico (C16:0)	6.514
Estearico (C18:0)	2.996
Oleico (C18:1)	21.891
Linolenico (C18:0)	68.599
<b>Propiedades físicas y químicas</b>	
Acidez (mg KOH/g)	1.54
Índice de peróxido (meq de O <sub>2</sub> /kg)	7.996
Índice de saponificación mg (KOH/g)	125.41
Contenido en agua (ppm)	691
Viscosidad cinemática a 40°C $\mu$ (mm <sup>2</sup> /s)	2.728
Densidad a 15° C, $\rho$ (kg/m <sup>2</sup> )	934

## Superficie de Respuesta

Para el estudio de la superficie de respuesta se empleó el software Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Warrenton, Virginia, USA) con el fin de diseñar una respuesta múltiple optimizada. El diseño se realizó para estimar los tres factores de reacción (tiempo, ciclo de agitación y amplitud de la onda) con 2 variables de respuesta (rendimiento, y consumo energético), todos ellos con influencia en el proceso. El estudio está acotado a límites en cada uno de los factores; en el caso de la amplitud de onda, los valores fueron de 50, 65 y 80. El

ciclo de agitación tuvo valores de 60, 80 y 100% y el tiempo involucró valores de 2, 8 y 14 min.

El análisis del contenido en ésteres metílicos de las muestras, recogidas durante la producción de biodiesel asistida por ultrasonido, dio como resultado en el cuadro 10. Como se observa, el mayor rendimiento de biodiesel se dio en un tiempo de 8 min, a una amplitud de onda de 50 y un ciclo de 100% (98.45%), el cual cumple con la norma EN 14103 para el contenido en FAME (96.5 %).

Cuadro 10. Resultados de Rendimiento y consumo energético obtenidos por transesterificación de ultrasonido

Bloque	Amplitud	Duty (%)	Tiempo (min)	Rendimiento (%)	Consumo energético (J)
1	65	80	8	96.107	33101
1	65	80	8	96.005	30193
1	50	60	8	92.02	22372
1	80	80	14	95.76	54146
1	50	80	2	96.06	5552
1	65	100	2	95.56	8394
1	50	100	8	93.70	25282
1	65	60	2	95.22	9967
1	80	60	8	96.44	43213
1	65	80	8	98.45	30424
1	65	100	14	96.21	58868
1	50	80	14	96.90	47879
1	80	100	8	97.18	38799
1	65	60	14	93.86	57987
1	80	80	2	94.56	9910

El análisis estadístico arrojó lo siguiente:

Cuadro 11. Resultados del modelo de superficie de respuesta

Modelo	Rendimiento	Consumo
P-valor	0.5210	0.0010
Error estándar	1.56486	4288.14
R <sup>2</sup>	64.73	98.04
Adj. R <sup>2</sup>	1.25	94.51

$R^2$  es el coeficiente de determinación del modelo y corresponde a la proporción de variabilidad de la variable dependiente que es explicada por las variables independientes. Este Cuadro 11 muestra la variabilidad del valor de rendimiento y consumo energético para cada uno de los efectos.

Los valores de  $R^2$  indican que los modelos explican el 64.73% de la variabilidad del valor de Rendimiento y el 98.04% de la variabilidad del consumo. Los errores estándar son 1.56486 y 4288.14, respectivamente.

No existe una relación significativa ( $p < 0.05$ ) entre las variables. Para el caso del consumo si existe una relación significativa ( $p < 0.05$ ) entre variables indicando que a una amplitud de onda de 50, un ciclo de agitación de 80% y un tiempo de 2 min, se tiene un menor consumo energético.

Los valores óptimos de amplitud, ciclo de agitación y tiempo que maximizan rendimiento de biodiesel y consumo energético corresponden a los puntos más altos en las gráficas de superficie de respuesta (Figuras 12 y 13). Los valores de amplitud de 65.6933, ciclo de agitación de 100 y tiempo de 10.492 inducen un valor máximo 99.6329 para el caso de rendimiento y 59387.1 para el de consumo energético.

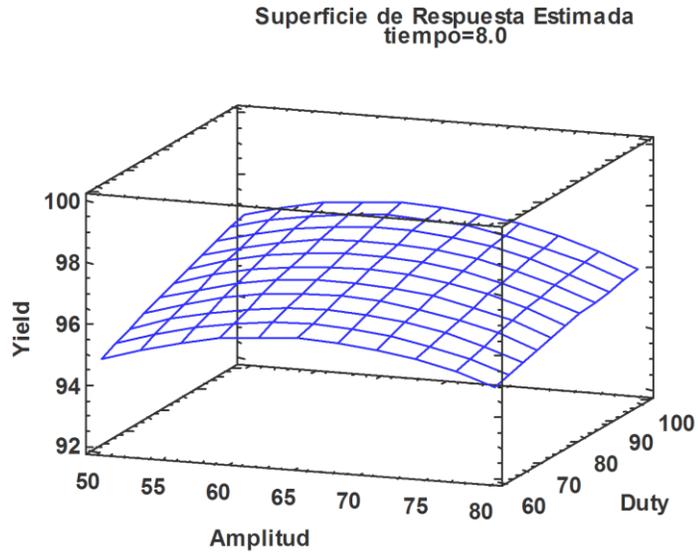


Figura 13. Superficie de Respuesta estimada para rendimiento de Biodiesel

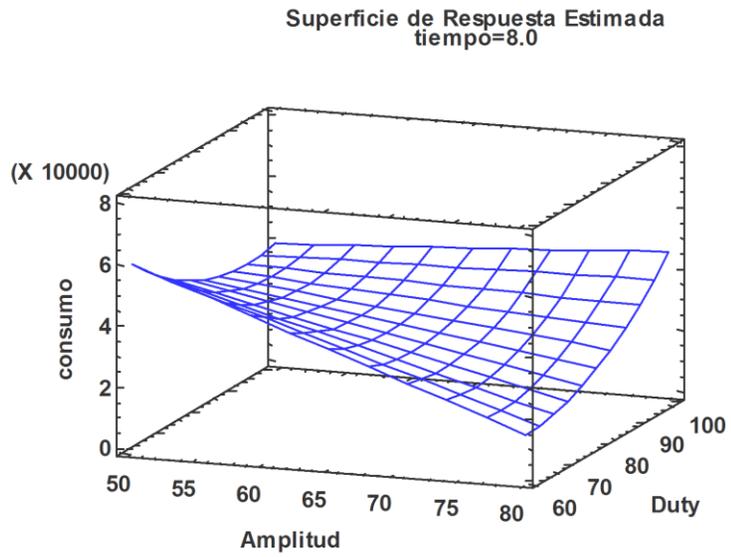


Ilustración 14. Superficie de respuesta estimada para consumo energético.

## Caracterización de Biodiesel

En la Cuadro 12 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de biodiesel a partir del aceite de *A. pleiakantha*.

Cuadro 12. Propiedades de Biodiesel por transesterificación asistida por ultrasonido

Propiedad	Norma	Parámetros	Valor
<i>Variables</i>			
<b>MG (% w/w)</b>	EN 14105	Max; 0.8	0.25
<b>DG (% w/w)</b>	EN 14105	Max; 0.2	0.19
<b>TG (% w/w)</b>	EN 14105	Max; 0.2	0.16
<b>Glycerol (% w/w)</b>	EN 14105	Max; 0.25	0.248
<b>FAME (% w/w)</b>	EN 14103	Min; 96.5	98.45
<b>Acidez (mg KOH/g)</b>	EN 14104	Max; 0.5	0.135
<b>Contenido en agua (ppm)</b>	EN ISO 12937	Max; 500	398
<b>Residuo de carbón (% w/w)</b>	EN ISO 10370	Max; 0.3	0.08
<b>Flash Point, FP (°C)</b>	EN ISO 2719	Min; 120	116
<b>Poder calorífico, HCV (J/g)</b>	ASTM D240		39104
<b>Viscosidad cinemática a 40°C <math>\mu</math> (mm<sup>2</sup>/s)</b>	EN ISO 3104	Min; 3.5; Max; 5	4.03
<b>Densidad a 15° C, <math>\rho</math>(kg/m<sup>2</sup>)</b>	EN ISP 3675	Min; 860; Max; 900	864

De acuerdo a los parámetros establecidos por las normas europeas, todos los valores estimados en el biodiesel del presente caso de estudio se encuentran dentro de los permisibles, queriendo decir que el biodiesel obtenido a partir del aceite de semilla de *A. pleiakantha* es bueno para ser utilizado como biocombustible.

## CONCLUSIONES

Un proceso de esterificación ácida en aceite es requerido, debido a que su nivel de acidez es bastante elevado, para así obtener una transesterificación básica buena, y con un rendimiento en FAME grande.

La transesterificación por ultrasonido proporcionó un buen rendimiento en FAME y cumple con las normativas vigentes en materia de biocombustibles para automotores.

El biodiesel, por sí solo, no podrá ser capaz de soportar el sector transporte, que cada vez se expande más, debido a que requiere superficies de cultivo grandes para obtener materia prima suficiente. Sin embargo, puede ser una buena alternativa a mediano plazo mientras se mejoran otras tecnologías con mayor viabilidad a largo plazo.

## LITERATURA CITADA

- Arteca, R. (1996). Plant growth substances. Principles and Applications. Chapman and Hall. New York, USA. 331 pp.
- Bastante J., Ortega C., Pinzi S., Lara R., Leiva D. & Dorado M.P. (2015). Ultrasound- assisted biodiesel production from *Camelina sativa* oil, Bioresource Technology. 185:116-124.
- Bergsma, G.; Kampman, B.; Croezen, H.; Sevenster, M. (2006). Biofuels and their global influence on land availability for agriculture and nature; Delft: CE.
- Boulifi N., Bouaid A., Martínez M., & Aracil J. (2010). Process Optimization for Biodiesel Production from Corn Oil and Its Oxidative Stability. International Journal of Chemical Engineering. pp. 1-9.
- Brasil, R. V., Cavallieri, A. L. F., Costa, A. L. M., & Gonçalves, M. A. B. (2011). Caracterização física e química do óleo de pequi exposto a diferentes condições de armazenamento. In VIII Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão-Conpeex.
- Buendía-Tamariz, M.N., Trejo-Calzada R., Abiola A., Pedroza-Sandoval A., Jacobo-Salcedo R. Reveles-Hernández M. (2015). Characterization of

- Biodiesel Produced from Chicken Fat and Pennycress Oil using Different Concentrations of Basic Catalysts. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences* 4(1):127-133
- Canakci, M & Sanli H. (2008). Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 35 (5):431-441.
- Cardeño F., Rios L., Franco, A. 2010. Producción de Biodiesel de aceite crudo de palma mediante catálisis heterogénea. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*. 51. Pp. 81-86.
- Cervantes, S., Tonne, P., Govindarajulu, R., Alexander P. and Bailey C. 2010. Population genetic analysis of argemone *plaiacantha* subsp. *Pinnatisecta* (Sacramento prickly poppy, papaveraceae) and reevaluation of its taxonomic status. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* Vol. 4, No. 1. pp. 261-269.
- Cardoso, M.B., Ladio A.H., Lozada, M. (2013). Fuelwood consumption patterns and resilience in two communities of northwest steppe, Argentina. *J. Arid Environment* 98:146-152.
- Castellanos, A.E., & Esqueda, M.C. (2013). Biodiversity for bioenergy and biofuels in arid lands. *J. Arid Environments* 98:133-134.
- Chisti, Y. 2007. Research review paper Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.
- Crews, C., P. Hough, J. Godward, P. Brereton., M. Lees, S. Guet and W. Winkelman. (2005). A study of the main constituents of some authentic grapeseed oils. *J. Agric. Food Chem*. 53:4853-4860.
- Das M. & Khanna SK. (1997). Clinicoepidemiological, toxicological and safety evaluation studies on argemone oil. *NCBI*. 27 (3): 273-297.
- Devshony S., Eteshola E. & Shani A. (1992). Characteristics and Some Potential Applications of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Seeds and Seed Oil *JAOCS* 69(6):595-597.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2008. Ley de promoción y desarrollo de los bioenergéticos. México. 385 p.
- Dorado, M. P. 2001. Desarrollo y ensayo de nuevos biocombustibles para motores diésel procedentes de diversas semillas oleaginosas y de grasas vegetales usados. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Dorado, M. P. (2004). Optimization of alkalicycatalyzed transesterification of *Brassica carinata* oil for biodiesel production. *Energy & Fuels*, pp. 18,92.
- Ejilah I.R., Asere A.A., Adisa, A. B. & Ejila, A. (2010). The effect of diesel fuel-*Jatropha curcas* oil methyl ester blend on the performance of a variable speed compression ignition engine". *Australian Journal of Agricultural Engineering*. *AJAE* 1(3):80-85.
- Erwin, E. S.; Marco, G. J. and Emery, E. M. (1961). Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. DairySci*. 44:1768-1776.
- Fernández L.C., Montiel J., Millá, A., Badillo J. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai* 8:101-115.

- Fletcher MT, Takken G, Blaney BJ, Alberts V. (1993). Isoquinoline alkaloids and keto-fatty acids of *Argemone ochroleuca* and *A. Mexicana* (Mexican Poppy) Seed. *Aust. J Agricul Res* 44:265 – 275.
- García-Martínez, J.L. and J. Gil (2002). Light Regulation of Gibberellin Biosynthesis and Mode of Action. *J. Plant Growth Regul.*, 20:354-368.
- González-Zertuche, L., y A. Orozco-Segovia. (1996). Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Bol. Soc. Bot. México* 58: 15-3.
- González, Y., Reino, J., Machado, R. 2009. Dormancia y tratamientos pregerminativos en las semillas de *Leucaena* spp. Cosechadas en suelo ácido Pastos y Forrajes. 32 (4). Pp. 134-138
- Gude, V.G. and G.E. Grant, Biodiesel from waste cooking oils via direct sonication. *Applied energy*, 2013. 109: p. 135-144.
- Hernández, R. (1990). Un estudio sobre la germinación de la semilla de *Alnus acuminata* H.B, K. *Revista Foresen semillas de lichi y de al- tal venezolana* 3:39-54.
- Hoffmann, J.J. & Lippinsky, E.S. (1983). Arid land plants as feedstocks for fuels and chemicals. *Crit. Rev. Plant Sci.* 1:95-116
- Ikeda, A., M. Ueguchi-Tanaka, Y. Sonoda, H. Kitano, M. Koshioka, Y. Futsuhara, M. Matsuoka y J. Yamaguchi. (2001). Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the SLR1 gene, an ortholog of the height regulating gene AGI/RAG/RHT/D8. *Plant Cell Nagoya* 113:999-1010.
- IPCC. (2014). *Climate change 2014: The physical Science Basis*. Cambridge Univ. Press, Cambridge UK and New York, NY USA.
- IPCC. (2016). *The NOAA annual greenhouse gas index (AGGI)*. NOAA Earth System Research Laboratory, R/GMD, 325 Broadway, Boulder, CO 80305-3328.
- Jurado, J., Muñoz, L. (2009). Caracterización del aceite de las semillas de *Solanum quitoense* L. variedad la selva y evaluación de su actividad antioxidante. Proyecto de grado. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA. PEREIRA.
- Khanal, R. C. and Olson, K. C. (2004). Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: A Review. *Pakistan J. Nutr.* 3:8298.
- Karlsson L.M., Tamado T. and Milberg P. (2003). Seed dormancy patterns of the annuals *Argemone ochroleuca* y *A. Mexicana* (Papaveraceae). *Flora* 198:329-339.
- Kaul S., Porwal J., & Garg M. (2010). Parametric Study *Jatropha* Seeds for Biodiesel Production by Reactive Extraction. *J Am Oil Chem Soc* 87:903–908.

- Konothe, G. Matheus, A. C. and Ryan, T.W. (2003). Cetane number of brached and straight-chain fatty acid esters determined in an ignition quality tester. *Fuel* 82:971-975.
- Lafargue-Perez F., Barrera-Vaillant N., Assuncao- Nascimento J. (2012). Caracterización físico- química del aceite vegetal de *Jatropha curcas* L. *Tecnología química*. 32:162-165.
- Leonelli, C. and T.J. Mason, *Microwave and ultrasonic processing: Now a realistic option for industry*. 2010. *hemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 49(9): p. 885-900.
- López, B., Barranco, J. (2004). Caracterización fisicoquímica del aceite de semilla de Piritu (*Bactris piritu*). *Grasas y Aceites* 5:138-142.
- López, S., A., J. Pinto E., G. Esquivel A., V. H. Randeles R. y P. Bueno H. 2015. Escenarios climáticos locales basados en los MGCG del IPCC. Universidad Autónoma de Chapingo. Primera edición, noviembre de 2015. 128 p. ISBN: 978-607-12-0403-5.
- Malaya N., Meher L.C., Naik S.N. and Das L.M. 2008. Production of biodiesel from high free fatty acid Karanja (*Pongamia pinnata*) oil. 34(4).p. 354-357.
- Martínez, M. 1996. Las plantas medicinales de México. Editorial Botas. México. pp. 108 - 110.
- Meher L.C., Vidya Sagar D. & Naik S.N. (2004). Technical aspects of biodiesel production by transesterification- a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. pp. 1-21.
- Moser B.R. (2009). Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In vitro cell. Dev.* 45:229-266.
- Moser B.R. (2010). Camelina (*Camelina sativa* L.) oil as a biofuels feedstock: Golden opportunity or false hope? *Lipid Technol* 22:270-273.
- Moser, B.R., Vaughn, S.F. (2010). Evaluation of alkyl esters from *Camelina sativa* oil as biodiesel and as blend components in ultra low-sulfur diesel fuel. *Bioresour. Technol.* 101:646-653.
- Murillo, J.E. (2004). Producción de Biodiesel a partir de aceite de palma. *PALMAS*. Vol. 25 No. 4.
- Nilgun G., Gulcan, O.; Emine S. Çetin. (2007). Characterization of grape seed and pomace oil extracts. *Grasas y aceites* 58 (1):29-33.
- Petruzzelli, L.; Muller, K.; Hermann, K. and Leubner-Metzger, G. (2003). Distinct expression patterns of  $\beta$ -1, 3-gluconases and chitinases during the germination of Solanaceae seeds. *Seed Sci. Res.* 13:139-153.

- Pinzi S., García L., López- Giménez F.J., Luque de Castro M.D., Dorado G. & Dorado M.P. (2009). The ideal Vegetable oil-based biodiesel Composition: A review of Social, Economical and Technical Implications. *Energy & Fuels* 23:2325-2341.
- Reay, D. (2007). Carbon dioxide: importance, sources and sinks. *In*: Reay, D.; Hewitt, N.; Smith, K. and Grace, J. (eds). *Greenhouse gas sinks*. C.A. B. I. University of Edinburgh, U. K. 448 p.
- Reveles-Saucedo, F., Rosales-Serna, R., Nava-Berúmen, C., Delgado-Lincón, E., Cuellar-Robles, E., Carrete-Carreón F. & Ríos-Saucedo, J. (2010). Identificación de especies vegetales con potencial para la producción de biocombustibles líquidos en Durango, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 1(1): 45-54.
- Rincón S., & Martínez D. (2009). Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria. *PALMAS* 30(2):11-24.
- Schwarzbach A. & Kadееit J., (1999). Phylogeny of prickly poppies, *Argemone* (Papaveraceae), and the evolution of morphological and alkaloid characters based on ITS nrDNA sequence variatio. *Plant Systematics and Evolution*. 218: 257-279.
- Stamenkovic, O.S., Lazic, M.L., Todorovi, Z.B., Veljkovic, V.B., Skala, D.U., 2007. The effect of agitation intensity on alkali-catalyed methanolysis of sunflower oil. *Bioresour. Technol.* 98, 2688-2699.
- UNAM (1990). Atlas nacional de México. Instituto de Geografía. México.
- Van Gerpen J., Shanks B., Prusko R. (2004). Biodiesel Production Technology, August 2002– January 2004. Colorado National Renewable Energy Laboratory.
- Vega O. 2010. Atlas de la agroenergía y los biocombustibles en las Américas: i.etanol/IICA. San José:IICA. 181 pp.
- Veljkovic, V.B., Avramovic, J.M., Stamenkovic, O.S. 2012. Biodiesel production by ultrasound- assisted transesterification: state of the art and the perspectives. *Renew. Sust. Energy Rev.* 16, 1193-1209.
- Vicente G., Martínez M. and Aracil J. (2004). Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresource Technology* 92(3):297-305.
- Villareal, Q., J. A. 2001. Listados florísticos de México. XXIII Flora de Coahuila. Instituto de Biología. UNAM. México, D.F. 138 p. ISBN 968-36-1004-8 (serie).

- Wagutu A.W., Chhabra S.C., Thoruwa C.L. Thoruwa T.F., Mahunnah R.L.A. (2009). Indigenous oil crops as a source of production of biodiesel in Kenya. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 23(3):359-370.
- Yate, Andrea. 2013. Evaluación del proceso de extracción del aceite de *Jatropha curcas* L. para la producción de biodiesel. Tesis de Ingeniería. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia.
- Zuleta E. C., Bonet J.D, Díaz L.C., Bastidas M. J. (2008). Optimización del proceso de obtención de biodiesel a partir de aceite de palma y etanol, mediante el método de superficie de respuesta. (6) pp. 75-80.