

Determinación por cromatografía de gases de alquil ésteres (metílico y etílico) de ácidos grasos, en presencia de mono-, di- y triglicéridos

Gas chromatography determination of fatty acid alkyl esters (methyl and ethyl) in the presence of mono-, di- and triglycerides

Paulo César Narváez Rincón¹, Jesús Alfonso Torres², Francisco Sánchez Castellanos³,
Luisa Fernanda Ponce de León⁴

RESUMEN

La determinación de ésteres metílicos o etílicos de ácidos grasos, en presencia de mono-, di- y triglicéridos, es muy importante para el estudio de los procesos de metanólisis o etanólisis de compuestos grasos, y para el control de calidad de productos oleoquímicos. En este trabajo se presenta una técnica útil para la determinación por cromatografía de gases de alta temperatura de ésteres metílicos o etílicos de ácidos grasos, en presencia de mono-, di- y triglicéridos. Las muestras se sililaron con N, O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA), y posteriormente se pasaron por una columna HT5 de 12 m, recubierta con una película de fenil-polisiloxano-carburano. En la calibración de la técnica se emplearon soluciones estándar de palmitato de metilo y etilo, oleato de metilo y etilo, DL- α palmitina, dipalmitina, tripalmitina y trioleina, con tricaprina como estándar interno, y se determinaron los tiempos de retención y los factores de respuesta. Los resultados se emplearon en el seguimiento de reacciones de metanólisis y etanólisis de aceite de palma.

PALABRAS CLAVE: metanólisis, etanólisis, cromatografía de gases

ABSTRACT

Determining fatty acid methyl or ethyl esters, in the presence of mono-, di- and tri glycerides, is very important when studying fatty compounds' methanolysis or ethanolysis, as well as for controlling the quality of petrochemical products. This work presents a useful technique for determining fatty acids methyl or ethyl esters by high temperature gas chromatography in the presence of mono-, di- and triglycerides. Samples were silylated with N, O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) and then passed through a 12 m HT5 column coated with a phenyl-polysiloxane-carborane film. Standard methyl and ethyl palmitate, methyl and ethyl oleate, DL- α palmitin, dipalmitin, tripalmitin and triolein solutions were used for calibrating the technique, using tricaprin as internal standard. Retention times and response factors were also determined. The results were employed in following-up palm oil methanolysis and ethanolysis reactions.

KEY WORDS: methanolysis, ethanolysis, gas chromatography

Recibido: Febrero 1 de 2005
Aceptado: Marzo 10 de 2005

Introducción

Las ventajas comparativas de los ésteres metílicos como oleoquímicos básicos frente a los ácidos grasos (Bailey's, 1996), la crisis energética mundial de mediados de los setenta y su redescubrimiento como combustibles (Gunstone, 2001), dio un nuevo impulso a la investigación básica y aplicada sobre los procesos de transes-

terificación de los aceites y grasas. Una de las necesidades fundamentales para desarrollar investigaciones en esta área del conocimiento, o establecer la calidad de los productos obtenidos, es la determinación de ésteres metílicos o etílicos, en presencia de mono-, di- y triglicéridos.

Las técnica más empleada es la cromatografía de gases (Freedman, 1986a; Plank, 1995), cuya exactitud está li-

¹ Ingeniero Químico M. Sc., profesor asistente Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, pcnarvaez@unal.edu.co

² Estudiante de doctorado en ingeniería química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, jatorres@unal.edu.co

³ Ingeniero Químico, M. Sc, Dr. Sc., profesor asociado, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, fsanchezc@unal.edu.co

⁴ Química Farmaceuta, D. Sc., profesora asociada, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

mitada por la complejidad del proceso de calibración, la pureza de las sustancias empleadas como estándares, los cambios en los estándares como consecuencia de su manipulación y almacenamiento, la imposibilidad para identificar y cuantificar todos los ésteres en la muestra, y la complejidad de las muestras por sí mismas (Heiden, 1996).

Los sistemas de detección más usados son ionización de llama (FID) y espectroscopia de masas (MS). Como consecuencia de la baja volatilidad es necesario sililar los compuestos. Los agentes sililantes más empleados son N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA) y N, O-bis (trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA). En esta reacción se adiciona un grupo trimetilsililo a cada grupo hidroxilo presente en la muestras, lo que incrementa la volatilidad de los mono- y diglicéridos (Schumacher, 1997).

Otras técnicas empleadas para la determinación simultánea de ésteres metílicos o etílicos, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, son cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (Takano, 1987), y cromatografía de exclusión de tamaño de alta presión (HPSEC) (Filliers, 1995).

Materiales y métodos

Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos: aceite de palma refinado blanqueado y desodorizado, grado comestible, proveniente de la empresa PALMALI, Bogotá D. C.; metanol analítico del 99.8% de pureza (ACS); hidróxido de sodio, piridina y hexano grado analítico (Merck); estándares cromatográficos (Sigma Chemical Company): palmitato de metilo, oleato de metilo, palmitato de etilo, oleato de etilo, DL- α palmitina, dipalmitina (mezcla de isómeros), tripalmitina y trioleína; estándar interno: tricaprina (Fluka); agente sililante: N, O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA).

Tabla 1. Soluciones estándar para la calibración de la técnica; relación peso de estándar a peso de estándar interno (Wc/Ws)

Solución	Palmitato de metilo	Oleato de metilo	DL- α palmitina	Dipalmitina	Tripalmitina	Trioleína
A	0,1835	0,0917	0,2202	0,1982	0,2390	0,1620
B	0,5048	0,2637	0,4918	0,5335	0,4436	0,3939
C	0,9605	0,6208	0,6124	0,7329	0,6131	0,6262
D	0,7206	0,8623	1,0414	0,9262	0,9209	0,9725
E	1,5302	1,6589	2,1228	1,4737	1,5224	1,4620

Tabla 2. Soluciones estándar para la calibración de la técnica; relación peso de estándar a peso de estándar interno (Wc/Ws)

Solución	Palmitato de etilo	Oleato de etilo
F	0,1847	0,1604
G	0,5321	0,3713
H	0,9885	0,7159
I	1,1812	1,1077

Preparación de las soluciones estándar

En las tablas 1 y 2 se muestra la relación en peso de estándar cromatográfico a peso de estándar interno para las soluciones estándar preparadas. Adicionalmente se prepararon soluciones que contienen solamente uno de los estándares cromatográficos y el estándar interno, con el objetivo de establecer los tiempos de retención. Las muestras se pesaron en una balanza Sartorius con precisión de 0.01 mg.

Las soluciones estándar se sililaron con BSTFA siguiendo el procedimiento IUPAC (*Standards Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates*, séptima edición), a temperatura ambiente, empleando piridina como catalizador, y disolviéndolas en hexano.

Condiciones de reacción

Para evaluar los tiempos de retención y los factores de respuesta obtenidos en la calibración de la técnica con las soluciones estándar, se realizaron reacciones de metanólisis y etanólisis, con base en las condiciones óptimas reportadas en estudios anteriores (Freedman, 1984; Freedman, 1986b; Darnoko, 2000). Se empleó una relación molar metanol a aceite de palma 6:1, porcentaje de NaOH, de 0.5% en peso con respecto al aceite, temperatura de 50°C y velocidad de agitación de 400 rpm.

Las reacciones se realizaron en un reactor de vidrio de fondo redondo de 50 mL, equipado con un puerto para toma de muestras, condensador de reflujo y un termómetro. El reactor se puso dentro de un baño de aceite mineral con un controlador capaz de mantener la temperatura en el intervalo de $\pm 1^\circ\text{C}$ con respecto al punto de consigna (*set point*). Para generar área de contacto entre las dos fases reaccionantes, se empleó un sistema de agitación magnética.

Se pesaron 15 g de aceite de palma y 3.5 g de solución de hidróxido de sodio en metanol a la concentración adecuada para cada porcentaje de catalizador estudiado. Todas las reacciones se realizaron en atmósfera de argón. Inicialmente se cargó el aceite de palma al reactor, y se dejó fluir argón durante 2 minutos para evacuar el aire del espacio vacío. Antes de adicionar la solución de NaOH en metanol, se esperó que el aceite alcanzara la temperatura de reacción. Se adicionó el metanol, y al finalizar la adición se empezó a contabilizar el tiempo de reacción.

Instrumentación

La cromatografía de gases se realizó en un equipo Hewlett Packard 5890 Series 2. El

cromatógrafo estaba equipado con un inyector para columnas capilares, un detector de ionización de llama, una precolumna de sílica fundida (0.3 m x 0.53 mm) y una columna capilar SUPELCO SGE HT-5 (aluminium clad, 12 m x 0.53 mm x 0.15 µm). Las muestras de 0.3 µL se inyectaron manualmente. El programa de temperaturas fue: después de un período de estabilización de 1 minuto a 140°C (temperatura inicial del horno), se realizó una rampa de calentamiento hasta 380°C con una velocidad de 20°C/minuto, y un período final de estabilización de 10 minutos. La temperatura del puerto de inyección fue 350°C y la del detector fue 400°C. El tiempo de cada corrida fue de 23 minutos. El gas de arrastre fue nitrógeno con un flujo de 7.10 mL/min, con relación de división de flujo 1:1. La adquisición y el procesamiento de los datos se realizaron con el programa Chemstation (Hewlett Packard).

Resultados y discusión

Análisis cualitativo

En la Tabla 3 se presentan los tiempos de retención de los estándares internos y sus respectivas desviaciones estándar. Los primeros compuestos eluidos fueron los ésteres metílicos, en su orden palmitato y oleato, seguidos por DL-amonopalmitina, tricaprina, dipalmitina, tripalmitina y trioleína. En la figura 1 se muestra uno de los cromatogramas obtenidos con la presencia de ésteres metílicos, mientras que en la figura 2 se presenta uno con la presencia de ésteres etílicos.

Tabla 3. Tiempos de retención para los estándares cromatográficos y el estándar interno.

	Tiempo de retención promedio (minutos)	Desviación estándar (minutos)
Palmitato de metilo	2,993	0,025
Oleato de metilo	3,762	0,029
Palmitato de etilo	3,247	0,029
Oleato de etilo	3,986	0,027
DL-αpalmitina	5,563	0,080
Dipalmitina	9,454	0,022
Tripalmitina	12,387	0,028
Trioleína	13,380	0,136
Tricaprina	8,577	0,081

Análisis cuantitativo

Para el análisis cuantitativo de las muestras se realizó una calibración de la técnica con base en las cinco soluciones estándar que se presentan en las tablas 1 y 2, las cuales fueron analizadas por cromatografía de gases por lo menos tres veces cada una. En la Tabla 4 se presenta el resumen de los resultados obtenidos. La función de calibración corresponde al ajuste lineal de los datos experi-

mentales, en donde la variable independiente es la relación entre el peso del estándar cromatográfico y el estándar interno (Wc/Ws), y la variable dependiente es la relación entre el área del pico del estándar cromatográfico y del estándar interno (Ac/As). En la figura 3 se presentan algunos de los datos experimentales.

Tabla 4. Funciones de calibración para palmitato de metilo, oleato de metilo, palmitato de etilo, oleato de etilo, DL-α monopalmitina, dipalmitina, tripalmitina y trioleína

Estándar cromatográfico	a	b	R ²
Palmitato de metilo	1.6844	0.0148	0.999
Oleato de metilo	1.6369	0.0458	0.995
Palmitato de etilo	1.9468	0.0082	0.993
Oleato de etilo	1.9031	0.0019	0.995
DL-α palmitina	1.1374	-0.0765	0.993
Dipalmitina	0.8235	0.0004	0.994
Tripalmitina	1.1888	-0.0079	0.994
Trioleína	0.8491	-0.0022	0.998

En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos al calcular la composición de algunas de las soluciones estándar con los factores de respuesta obtenidos en la calibración de la técnica.

$$\frac{Ac}{As} = a \frac{Wc}{Ws} + b \quad (1)$$

Tabla 5. Composición para algunas de las soluciones estándar

Solución estándar	Fracción en peso calculada					
	Palmitato de metilo	Oleato de metilo	Monoglicéridos	Diglicéridos	Tripalmitina	Trioleína
A	0,160	0,265	0,111	0,157	0,168	0,139
B	0,094	0,069	0,103	0,110	0,131	0,494
C	0,231	0,064	0,248	0,229	0,192	0,036
D	0,139	0,151	0,232	0,152	0,168	0,158
Solución estándar	Fracción en peso real					
	Palmitato de metilo	Oleato de metilo	Monoglicéridos	Diglicéridos	Tripalmitina	Trioleína
A	0,156	0,267	0,114	0,165	0,167	0,122
B	0,097	0,058	0,106	0,104	0,121	0,514
C	0,242	0,061	0,242	0,221	0,196	0,038
D	0,137	0,151	0,235	0,151	0,176	0,150

En la figura 4 se presenta un cromatograma de la mezcla reaccionante de la metanólisis del aceite de palma, en la figura 5 un cromatograma de la mezcla reaccionante de la etanólisis del mismo aceite, en la figura 6 se presenta la variación de la concentración de los productos de la reacción de etanólisis del aceite de palma en función del tiempo, en base libre de glicerina y metanol, calculada a partir de los análisis de las muestras mediante la técnica descrita en este trabajo.

Conclusión

En este artículo se presentó una técnica de análisis por cromatografía de gases de alta temperatura, para muestras compuestas por ésteres metílicos o etílicos de ácidos grasos, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, que

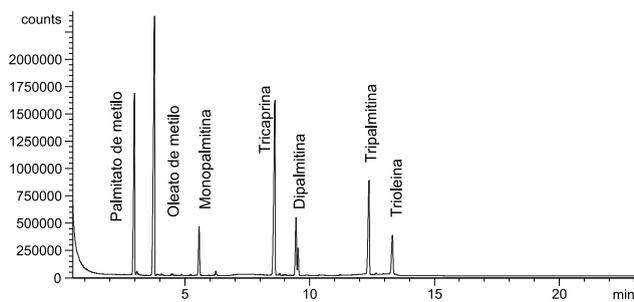


Figura 1. Cromatografía de gases de la solución estándar A

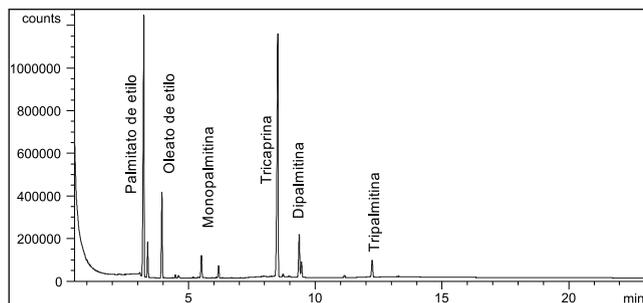


Figura 2. Cromatografía de gases de una muestra que contiene los siguientes estándares cromatográficos: palmitato, oleato de metilo, DL-αpalmitina, dipalmitina, y tripalmitina y tricaprina como estándar interno.

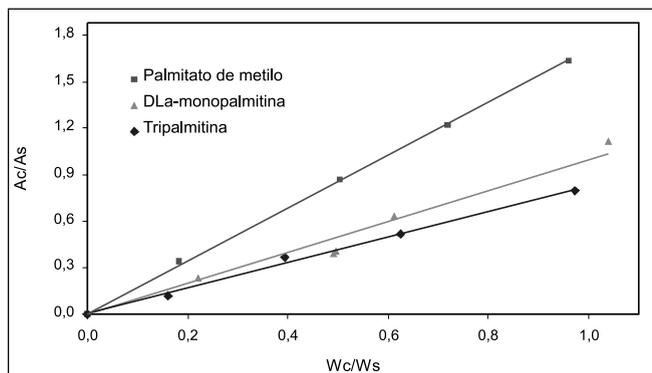


Figura 3. Datos experimentales para la obtención de las funciones de calibración para algunos de los compuestos analizados: palmitato de metilo, dipalmitina y tripalmitina

puede emplearse para el estudio de las reacciones de metanólisis y etanólisis de compuestos grasos, o para evaluar la calidad de los productos de la reacción. Se observó buena resolución tanto en las soluciones estándar de calibración, como en las muestras de la mezcla reaccionante de la metanólisis y etanólisis del aceite de palma. Las funciones de calibración se ajustan a líneas rectas en el intervalo de análisis.

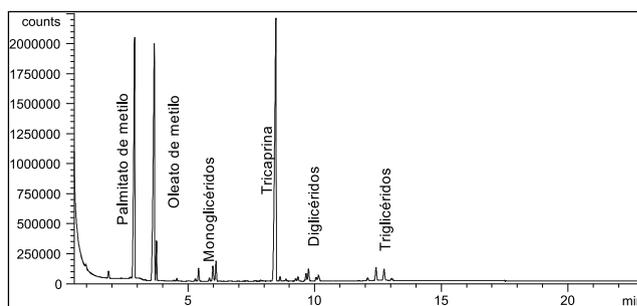


Figura 4. Cromatograma de la mezcla reaccionante de la reacción de metanólisis del aceite de palma. Relación molar metanol/aceite 6:1, catalizador 0.5% NaOH, temperatura 50°C.

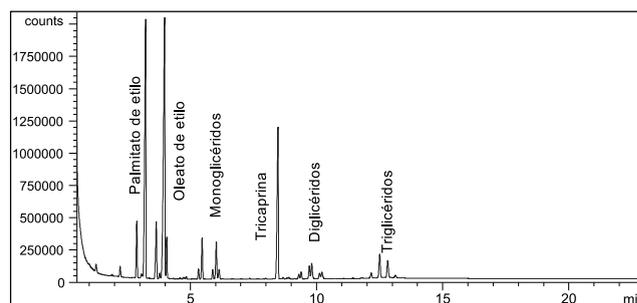


Figura 5. Cromatograma de la mezcla reaccionante de la reacción de etanólisis del aceite de palma. Relación molar etanol/aceite 6:1, catalizador 0.5% NaOH, temperatura 60°C.

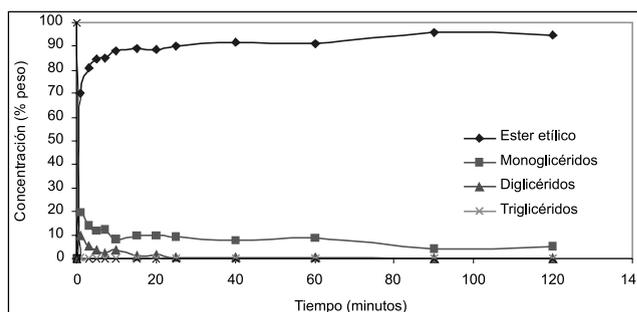


Figura 6. Resultado del seguimiento por cromatografía de gases para los productos de la reacción de etanólisis del aceite de palma. Relación molar metanol/aceite 6:1, catalizador 0.5% NaOH, temperatura 50°C.

Agradecimientos

Este trabajo hace parte del proyecto “Obtención de ésteres metílicos sulfonados derivados del aceite de palma», que cuenta con la financiación de Colciencias (Contrato RC 389) y la Universidad Nacional de Colombia (Programa Semilleros de Investigación, Facultad de Ingeniería, División de Investigación sede Bogotá). Los autores agradecen al Instituto de Tecnología Química de la Universidad Politécnica de Valencia, y en especial a los doctores Avelino Corma, Sara Iborra y Alexandra Veltý.

Bibliografía

[1] Bailey, A., *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Volume 5, Edited by Hui, Y. H., John Wiley & Sons, USA, 1996.

[2] Darnoko D.; Cheryan, M. "Kinetics of palm oil transesterification in a batch reactor". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77 (12), 1262-1266, 2000.

[3] Filliers, R.; Benjelloun-Mlayah; M., Delmas, M., "Ethanolysis of rapeseed Oil: Quantitation of Ethyl Esters, Mono- Di- and triglycerides and Glycerol by High performance Size Exclusion Chromatography", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72 (4), 427-432, 1995.

[4] Freedman, B.; Pryde, E. H.; Mounts, T. L., "Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61 (10), 1638-1643, 1984.

[5] Freedman, B.; Kwolek, W.; Pryde, E., "Quantitation in Analysis of Transesterified Soybean Oil by Capillary Gas Chromatography", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63 (10), 1370-1375, 1986.

[6] Freedman, B., Butterfield, R., Pryde, E. (1986). Transesterification Kinetics of Soybean, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63 (10), 1375-1380.

[7] Gunstone, F.; Hamilton, R.; *Oleochemical Manufacture and Applications*, Sheffield Academic Press, Sheffield, 2001.

[8] Heiden, R., "Analytical Methodologies for the determination of biodiesel ester purity – determination of total methyl esters", final report, Contract, 520320-1 NBB, February 27, pp.27, 1996.

[9] Plank, C.; Lorbeer, E., "Simultaneous determination of glycerol, and mono-, di- and triglycerides in vegetable oil methyl esters by capillary gas chromatography", *Journal of Chromatography A*, 697, 461-468, 1995.

[10] Shumacher, L. G.; Elser, N., *Sample Analysis from Biodiesel Fuel*, National Biodiesel Board, Columbia, Missouri, pp. 7, 1997.

[11] Takano, S.; Kondoh, Y., "Monoglyceride Analysis with Reversed Phase HPLC", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64 (7), 1000-1003, 1987.



Grupo de Investigación en **Control Inteligente de Sistemas**

www.ing.unal.edu.co/~cis

Categoría B. Colciencias

La experiencia adquirida durante la investigación se ha materializado en los Seminarios en Robótica Móvil de la maestría en Automatización Industrial y en el curso Robótica Evolutiva del Departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica. El grupo es coordinado por Alberto Delgado, PhD (UK) y los temas de trabajo son :

- Teoría y aplicaciones de la inteligencia computacional
- Emulación electrónica de procesos biológicos a nivel molecular
- Hardware evolutivo
- Robótica móvil.

Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá
Facultad de Ingeniería