

SÍNTESIS DE UN NUEVO ESTÁNDAR CROMATOGRÁFICO CON POTENCIAL APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DEL BIODIESEL.

Sebastián N. Jäger, María Inés Colombo y Guillermo R. Labadie

IQUIR-CONICET, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario.

Suipacha 531, 2000, Rosario, Santa Fe, [Argentina](#).

e-mail: labadie@iquir-conicet.gov.ar

Introducción

El contenido de componentes minoritarios en grasas y aceites empleado en la producción de biodiesel han sido olvidados en las últimas décadas. Sin embargo, los esteril glucósidos (SG) generados en el proceso de producción de biodiesel son asociados a numerosos problemas de producción de este biocombustible.

Existe una pequeña cantidad de SG presente naturalmente en los aceites vegetales, la cual se ve incrementada durante el proceso de transesterificación mediante catálisis básica. En esta etapa del proceso, ciertos componentes minoritarios presentes en aceites vegetales, conocidos como acil esteril glucósidos (ASG), pierden la porción acilo liberando SG al medio. Cuando este biocombustible es almacenado, los SG se aglomeran formando precipitados insolubles. Dichos flóculos son los responsables de bloqueos de filtros, formación de depósitos en tanques e incluso desperfectos técnicos en los motores de los automóviles, etc., lo cual hace a esta problemática aun más interesante desde un punto de vista científico y económico.¹⁻⁷. La mezcla de SG's encontrada habitualmente en diferentes industrias, está compuesta por β -sitosteril, estigmasteril y campesteril glucósido mayoritariamente.⁴

Debido a la importancia industrial de esta problemática, es necesario contar con las herramientas analíticas apropiadas para la determinación de estos componentes minoritarios en mezclas tan complejas, como lo es el biodiesel. El primer requisito para el desarrollo de tales métodos analíticos es la selección de un "adecuado" estándar interno que se posea una respuesta reproducible, con un factor de respuesta y tiempos de retención similares al del analito. Desafortunadamente, los estándares de SG disponibles en el mercado son extremadamente caros y están compuestos por mezclas, por lo que deben ser purificados antes de ser utilizados.

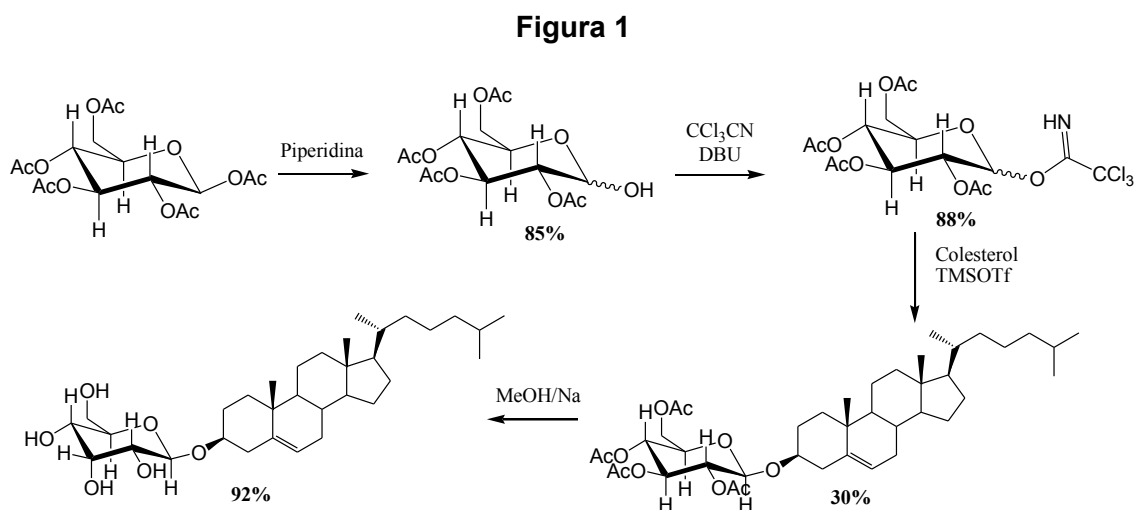
Actualmente se encuentran reportados distintos métodos de análisis de SG. Uno de los métodos utilizados para caracterizar SG y ASG es la cromatografía en capa delgada. Esta técnica es muy utilizada para análisis rápidos, especialmente si las muestras a analizar tienen que ser pretratadas para reducir la cantidad de especies interferentes presentes en la matriz.⁴ En caso de necesitarse una mayor sensibilidad, GC-FID y HPLC pueden ser utilizados. La principal desventaja del primer método es la superposición de picos y la necesidad de realizar pretratamiento de la muestra. El segundo método, requiere también pretratamiento de la muestra pero tiene como ventaja que es el instrumental presente en las plantas de producción de biodiesel. Por último, podemos mencionar un novedoso y muy sensible (50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) método de GC-

MS via SIM en el que se emplea colesteril glucósido como estándar interno. La gran virtud de este método se debe a que se evita el pretratamiento de la muestra debido al análisis por SIM, resolviendo las interferencias de la matriz utilizando los fragmentos provenientes de la glucosa para cuantificar.⁸

Dentro de este contexto nos propusimos explorar las reacciones de glicosidación con el fin de sintetizar el colesteril glucósido y así poder utilizarlo como estándar interno para la adecuada cuantificación de esteril glucósidos presentes en biodiesel. Existen en la literatura numerosas reacciones de glicosidación, en líneas generales, dicha reacción consiste en el acoplamiento de un dador y un aceptor de glicósidos. Generalmente un dador de glicósido es un glicósido con un buen grupo saliente en el carbono anomérico, dicho grupo saliente es activado durante la reacción dejando un carbono electrofílico en el carbono anomérico. El aceptor de glicósidos es una especie que contenga un grupo hidroxilo libre que actúa como nucleófilo frente al carbono electrofílico del dador.

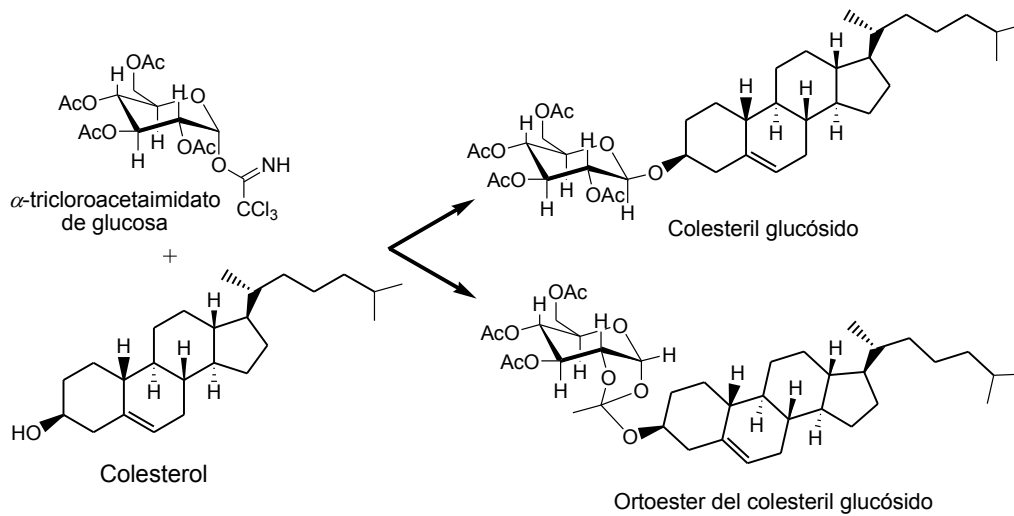
Resultados

La glicosidación en estudio tiene la particularidad de utilizar el glucósido del tricloro acetimidato como dador y el colesterol como aceptor de glicósido. Teóricamente, el producto esperado de esta reacción debería ser el colesteril glucósido. En la **Figura 1** se puede ver la ruta sintética empleada para la síntesis de este compuesto.



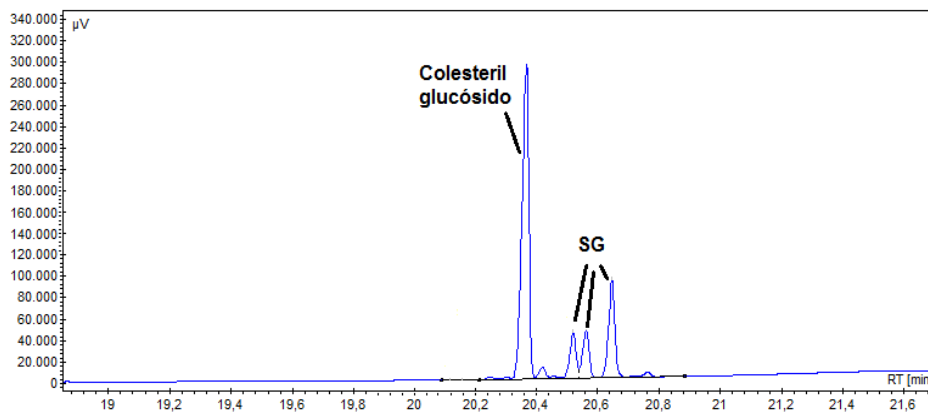
En los primeros estudios se obtuvo una mezcla de dos productos con características cromatográficas muy similares, lo cual dificultaba la obtención del producto con un alto grado de pureza para poder emplearlo como estándar interno. Los productos obtenidos fueron: el colesteril glucósido deseado y el ortoéster proveniente del acoplamiento indeseado entre el aceptor y el carbocation formado en uno de los carbonos del acetato del carbono 2 del dador de glicósidos (**Figura 2**). Estos resultados nos obligaron a realizar estudios exhaustivos de optimización de este acoplamiento con el fin de obtener únicamente el producto deseado. Dicha optimización fue realizada siguiendo por GC-FIC una batería de reacciones en las que se varió la temperatura, solvente y la cantidad de equivalentes de sustrato y reactivos.

Figura 2



Finalmente se pudo encontrar las condiciones requeridas para la síntesis del colesteril glucósido libre del ortoester, y así poder purificarlo para obtener el producto con alto grado de pureza. En la **Figura 3** se puede ver un cromatograma correspondiente a una corrida del estándar interno junto a los SG.

Figura 3



Conclusiones

Se logro optimizar la reacción de glicosidación obteniéndose el colesteril glucósido con un alto grado de pureza para ser empleado como estándar interno en la cuantificación de esteril glucósidos presentes en biodiesel.

Referencias

1. Bondioli, P., N. Cortesi, and C. Mariani, *Identification and quantification of steryl glucosides in biodiesel*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2008. **110**(2): p. 120-126.
2. Bondioli, P., *Nature of some insoluble materials recovered from biodiesel samples*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2009. **111**(8): p. 814-821.

3. Van Hoed, V., et al., *Identification and Occurrence of Steryl Glucosides in Palm and Soy Biodiesel*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2008. **85**(8): p. 701-709.
4. Breinhölder, P., L. Mosca, and W. Lindner, *Concept of sequential analysis of free and conjugated phytosterols in different plant matrices*. *J. Chromatogr. B*, 2002. **777**(1-2): p. 67-82.
5. Moreau, R., K. Scott, and M. Haas, *The Identification and Quantification of Steryl Glucosides in Precipitates from Commercial Biodiesel*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2008. **85**(8): p. 761-770.
6. Wang, H., et al., *Analysis of Sterol Glycosides in Biodiesel and Biodiesel Precipitates*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2010. **87**(2): p. 215-221.
7. Lacoste, F., et al., *Quantification of free and esterified steryl glucosides in vegetable oils and biodiesel*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 2009. **111**(8): p. 822-828.
8. Pieber, B., et al., *Novel sensitive determination of steryl glycosides in biodiesel by gas chromatography-mass spectroscopy*. *J. Chromatogr. A*, 2010. **1217**(42): p. 6555-6561.