

Beatriz Angulo Cabeza

Transformación de derivados de ácidos grasos para la obtención de productos de interés industrial

Departamento
Química Orgánica

Director/es
Fraile Dolado, José María
Gil Puig, Laura
Herrerías Larripa, Clara Isabel

EXTRACTO

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

El presente documento es un extracto de la tesis original depositada en el Archivo Universitario.

En cumplimiento del artículo 14.6 del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado, los autores que puedan verse afectados por alguna de las excepciones contempladas en la normativa citada deberán solicitar explícitamente la no publicación del contenido íntegro de su tesis doctoral en el repositorio de la Universidad de Zaragoza. Las situaciones excepcionales contempladas son:

- Que la tesis se haya desarrollado en los términos de un convenio de confidencialidad con una o más empresas o instituciones.
- Que la tesis recoja resultados susceptibles de ser patentados.
- Alguna otra circunstancia legal que impida su difusión completa en abierto.



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606

Tesis Doctoral [Extracto]

TRANSFORMACIÓN DE DERIVADOS DE ÁCIDOS
GRASOS PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS
DE INTERÉS INDUSTRIAL

Autor

Beatriz Angulo Cabeza

Director/es

Fraile Dolado, José María
Gil Puig, Laura
Herrerías Larripa, Clara Isabel

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Química Orgánica

2018



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

TRANSFORMACIÓN DE DERIVADOS DE ÁCIDOS GRASOS PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS DE INTERÉS INDUSTRIAL

Autor

Beatriz Angulo Cabeza

Director/es

José María Fraile Dolado
Laura Gil Puig
Clara Isabel Herrerías Larripa

Facultad de Ciencias
2018

TRANSFORMACIÓN DE
DERIVADOS DE
ÁCIDOS GRASOS PARA
LA OBTENCIÓN DE
PRODUCTOS DE
INTERÉS INDUSTRIAL

Beatriz Angulo Cabeza

Tesis Doctoral

Junio 2018

JOSÉ MARÍA FRAILE DOLADO, Investigador Científico del CSIC en el Instituto de Síntesis Química y Catálisis Homogénea (ISQCH), centro mixto CSIC-Universidad de Zaragoza.

LAURA GIL PUIG, Directora Unidad de Desarrollo de Solutex GC S.L.

y

CLARA ISABEL HERRERÍAS LARRIPA, Profesora Titular del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Zaragoza

CERTIFICAN

Que la memoria **“Transformación de derivados de ácidos grasos para la obtención de compuestos de interés industrial”** ha sido realizada en los laboratorios del ISQCH (CSIC-Univ. Zaragoza) de la Facultad de Ciencias y en el laboratorio de Desarrollo de Solutex GC bajo su inmediata dirección y que, hallándose concluida, reúne las condiciones necesarias para su defensa, por lo que autorizan su presentación.

Zaragoza, 1 de junio de 2018

Fdo.: Dr. José M. Fraile Dolado Dra. Clara I. Herrerías Larripa Dra. Laura Gil Puig

ABREVIATURAS

AcOH	Ácido acético
ADFE	Ácidos diformiloxiesteáricos
APT	Attached Proton Test
ASTM	American Society for Testing and Materials
Cat.	Catalizador
CG	Cromatografía de gases
CG-EM	Cromatografía de gases-Espectrometría de masas
Conv.	Conversión
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
ρ	Densidad
dd	Doblete de dobletes
DE	Diéster
DF2	Destilado Fase 2
DFE	Diformiloxiestearatos
DHA	Docosahexaenoic acid
EE	Éster etílico
EH	2-Etil-1-hexanol
EPA	Eicosapentaenoic acid
EVO	Epoxidized vegetal oil
FAI	Formiloxiácidos insaturados
FAME	Fatty acid methyl esters
FEI	Formiloxiésteres insaturados
g	Gramos
h	Horas
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	Hercios

iPrOH	Isopropanol
ISO	International Organization for Standardization
I.V.	Índice de viscosidad
J	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
mbar	Milibar
mcpba	<i>meta</i> -Chloroperbenzoic acid
ME	Monoéster
Min	Minutos
Mt	Millones de toneladas
NPG	Neopentilglicol
P. C.	Punto de congelación
PEG	Polietilenglicol
P. I.	Punto de inflamación
ppm	Partes por millón
PUFAs	Polyunsaturated fatty acids
PVC	Policloruro de vinilo
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
t	Triplete
T	Temperatura
TBHP	terc-Butyl hydroperoxide
TE	Triéster
TG	Triglicérido
THF	Tetrahidrofurano
TMP	Trimetilolpropano
t _R	Tiempo de retención (CG)
UV	Ultravioleta visible
V. C.	Viscosidad cinemática

ÍNDICE



ABREVIATURAS	7
ÍNDICE	11
1. INTRODUCCIÓN	19
1. Economía circular	21
2. Química Sostenible	22
3. Aceites y materias grasas	23
4. Introducción a la empresa	25
5. Industria oleoquímica	26
6. Ácidos grasos y sus transformaciones	28
7. Objetivos	35
2. REACCIONES DE TRANSESTERIFICACIÓN	37
1. Antecedentes	39
1.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol	42
1.2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol	44
1.3. Reacción de transesterificación con isopropanol	44
1.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano (TMP)	46
1.5. Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG)	48
2. Resultados y discusión	52
2.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol	54
2.1.1. Optimización de la reacción de transesterificación de palmitato de etilo	54
2.1.2. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2	55
2.1.3. Aumento de escala de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2	59
2.1.4. Reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2	61
2.2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol	72
2.2.1. Optimización de la reacción de transesterificación química de palmitato de etilo ..	72
2.2.2. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2	73
2.2.3. Optimización de la reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2	74
2.3. Reacción de transesterificación con isopropanol	80
2.3.1. Optimización de la reacción transesterificación química de la mezcla DF2	80
2.3.2. Reacción transesterificación química de la mezcla DF2 en escala de 100 g	83
2.3.3. Reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2	84
2.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano	86
2.4.1. Optimización de la reacción de transesterificación química de oleato de metilo	86
2.4.2. Optimización de la reacción de transesterificación enzimática de oleato de metilo ..	92
2.4.3. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2	96
2.4.4. Reacción de transesterificación química de la mezcla DF2 en escala 50 g	99

2.4.5. Escalado de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2	99
2.4.6. Preparación de una mezcla enriquecida en triésteres a partir de la mezcla DF2 ...	101
2.5 Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG 400)	103
2.5.1. Optimización de la reacción de transesterificación de oleato de metilo.....	103
2.5.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2.....	105
2.5.3. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 en escala de 10 g	108
2.5.4. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 en escala de 100 g	108
3. Conclusiones	110
3. REACCIONES DE HIDRÓLISIS	113
1. Antecedentes	115
1.1. Hidrólisis química	116
1.2. Hidrólisis enzimática.....	120
2. Resultados y discusión	125
2.1. Hidrólisis química	125
2.1.1. Reacción en escala de 1 g.....	125
2.1.2. Escalado de la reacción a 10 g	127
2.1.3. Escalado de la reacción a 100 g	129
2.2. Hidrólisis enzimática.....	131
2.2.1. Reacción en escala de 1 g.....	131
2.2.2. Escalado de la reacción a 40 g	135
2.2.3. Escalado de la reacción a 100 g	136
2.2.4. Escalado de la reacción a 400 g	137
3. Conclusiones	139
4. REACCIONES DE FORMILOXILACIÓN	141
1. Antecedentes	143
2. Resultados y discusión	146
2.1. Reacción de formiloxilación de linoleato de metilo	146
2.1.1. Reacción en fase homogénea.....	147
2.1.2. Reacción en fase heterogénea	148
2.1.3. Caracterización e identificación de los productos	149
2.2. Reacción de formiloxilación de la mezcla DF2.....	153
2.2.1. Reacción en fase homogénea.....	153
2.2.2. Reacción en fase heterogénea	156
3. Conclusiones	157
5. REACCIONES DE HIDROXILACIÓN	159
1. Antecedentes	161

1.1. Reacción de epoxidación	164
1.2. Reacción de apertura de epóxidos	168
1.3. Reacción de dihidroxilación	171
2. Resultados y discusión	173
2.1. Reacción de epoxidación	173
2.2. Reacción de apertura de epóxidos	175
2.2.1. Reacción de apertura de epóxidos en medio acuoso	175
2.2.2. Reacción de apertura de epóxidos con hidrógeno	177
2.3. Reacción de hidrólisis del éster	179
2.4. Reacción de epoxidación-apertura en one-pot	180
3. Conclusiones	183
CONCLUSIONES	185
PARTE EXPERIMENTAL	189
1. Procedimientos generales	191
1.1. Espectroscopía	191
1.2. Cromatografía	191
1.3. Otros	191
2. Reacciones de transesterificación	192
2.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol	192
2.1.1. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo	192
2.1.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2	195
2.2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol	199
2.2.1. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo	199
2.2.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2	202
2.3. Reacción de transesterificación con isopropanol	205
2.3.1. Reacción transesterificación de la mezcla DF2	205
2.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano	208
2.4.1. Reacción de transesterificación de oleato de metilo	208
2.4.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2	210
2.5. Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG)	215
2.5.1. Reacción de transesterificación de oleato de metilo	215
2.5.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2	217
3. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2	219
3.1. Reacción de hidrólisis química de la mezcla DF2	219
3.2. Reacción de hidrólisis enzimática de la mezcla DF2	220
3.2.1. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 con la enzima Lypozyme 435	220

3.2.2. <i>Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 con la enzima Cal B</i>	221
3.3. Determinación de los resultados	222
3.3.1. <i>Determinación mediante cromatografía de gases</i>	222
3.3.2. <i>Determinación del índice de acidez</i>	223
3.4. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2	224
4. Reacción de formiloxilación de dobles enlaces de ésteres grasos	225
4.1. Reacción de formiloxilación de linoleato de metilo	225
4.1.1. <i>Reacción en fase homogénea</i>	225
4.1.2. <i>Reacción en fase heterogénea</i>	225
4.1.3. <i>Determinación de los resultados</i>	226
4.1.4. <i>Caracterización del crudo de la reacción de formiloxilación de linoleato de metilo (formiloxioleatos y diformiloxiestearatos)</i>	227
4.2. Reacción de formiloxilación de la mezcla DF2	227
4.2.1. <i>Reacción en fase homogénea</i>	227
4.2.2. <i>Reacción en fase heterogénea</i>	227
4.2.3. <i>Determinación de los resultados</i>	228
5. Reacción de hidroxilación de la mezcla DF2	229
5.1. Reacción de epoxidación de la mezcla DF2	229
5.1.1. <i>Procedimiento experimental</i>	229
5.1.2. <i>Determinación de los resultados</i>	230
5.1.3. <i>Caracterización de la mezcla de epóxidos</i>	231
5.2. Reacción de apertura en medio acuoso de los epóxidos de la mezcla DF2	232
5.2.1. <i>Procedimiento experimental</i>	232
5.2.2. <i>Determinación de los resultados</i>	232
5.2.3. <i>Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2</i>	233
5.3. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 hidroxilada	234
5.3.1. <i>Procedimiento experimental</i>	234
5.3.2. <i>Determinación de los resultados</i>	234
5.3.3. <i>Caracterización de la mezcla de ácidos hidroxilados</i>	235
REFERENCIAS	237

1. INTRODUCCIÓN



1. Economía circular

La contaminación del agua, del aire, la disminución de la capa de ozono, el cambio climático, la pérdida de biodiversidad, la degradación de la tierra, los residuos tóxicos y el uso incontrolado de ciertos recursos minerales han hecho que en los últimos años se haya puesto en duda la sostenibilidad del desarrollo humano. Además, se ha cuestionado la idea de que la humanidad puede disponer de los recursos naturales de la Tierra, transformarlos en productos y desecharlos sin posibilidad de retorno.

El modelo lineal de crecimiento económico basado en “coger, hacer y tirar” (take-make-dispose) no se ajusta a las necesidades de la sociedad actual.¹ Sin embargo, una economía circular tiene en cuenta el impacto medioambiental derivado del consumo de recursos y de la generación de residuos. El concepto de Economía Circular es introducido en 1990 por Pearce y Turner en el libro “Economía de los recursos naturales y el medioambiente” donde se postula que la Economía Circular consiste en utilizar los recursos durante el mayor tiempo posible, sacando su máximo valor durante su uso y aprovechando los residuos que se genera al final de su vida útil.^{2,3}

La Unión Europea publicó en 2015 un Plan de Acción para la Economía Circular que considera el ciclo de vida completo de los productos.⁴ Este modelo crea ciclos donde los recursos se mueven de forma circular dentro de un sistema de producción y consumo (*Figura 1.1*). Además, al mismo tiempo se genera beneficio económico y actúa en todos los eslabones de la cadena: materias primas, procesos de conversión, productos intermedios y finales y residuos. Algunos ejemplos son el reciclado y la sustitución de materias primas vírgenes por materias primas recicladas o de origen renovable, el diseño de productos de altas prestaciones para una mayor reutilización, la captura de CO₂ y su uso como materia prima, la creación de bioproductos y la utilización de energías renovables.⁵ En todo ello, la química tiene un papel crucial.

¹ Cerdá E., Khalilova A., *Economía Industrial*, **2016**, 401, 11.

² *Economía de los recursos naturales y el medioambiente*. Pearce D. W., Turner K. R., Ed. Celeste, **1995**.

³ Stahel W. R., *Nature* **2016**, 531, 435.

⁴ *Plan de Acción para la Economía Circular*, COM (2015) 614 final. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1453384154337&uri=CELEX:52015DC0614>

⁵ *Smart Chemistry, Smart Future*. FEIQUE (Federación Empresarial de la Industria Química Española), **2017**. <http://www.feique.org/>

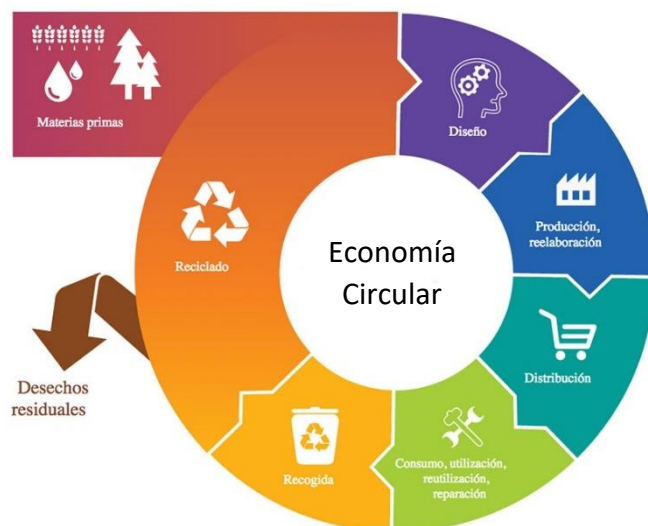


Figura 1.1. Modelo esquemático del funcionamiento de una economía circular⁶

2. Química Sostenible

La Química Sostenible se define como el diseño, el desarrollo y la implementación de productos químicos o procesos que sean capaces de reducir la contaminación por sustancias nocivas para la salud y el medio ambiente sin mermar las ventajas sociales que aporta la actividad química.⁷ La Química Sostenible se resume en 12 principios propuestos por Paul Anastas.⁸ Tres de estos principios se basan en el uso de materias primas renovables, la catálisis y la reducción de residuos. Aunque llevar a la práctica su aplicación presenta ciertas dificultades.

La industria química actual basa su actividad en el uso de hidrocarburos procedentes de fuentes fósiles. Las materias primas renovables representan un 10% de toda la materia prima consumida.⁹ Debido a que el petróleo y el gas natural son recursos limitados, es necesario encontrar alternativas. En las próximas décadas va a seguir predominando el consumo de petróleo y gas natural como materias primas en la industria química, porque los hidrocarburos proporcionan mucha energía⁹ y los compuestos orgánicos derivados se transforman en diferentes moléculas plataforma.¹⁰ Estos procesos son muy conocidos y rentables económicamente. Sin embargo, se prevé que el consumo de fuentes renovables aumente de forma progresiva.

⁶ Documento de Análisis del Instituto Español de Estudios Estratégicos, Hidalgo García M. M., 2017, 39. <http://www.ieee.es/publicaciones-new/documentos-de-analisis/>

⁷ Mestres R., *Educación química*, 2013, 24, 103.

⁸ Anastas P. T., Zimmerman J. B., *Environ. Sci. Technol.* 2003, 37, 94.

⁹ Dodds D. R., Gross R. A., *Science*, 2007, 318, 1250.

¹⁰ *Platform Molecules. Introduction to Chemicals from Biomass*, 2nd ed. Clark J., Deswarte F., Farmer T. J., Mascall M., Ed. Wiley, 2015.

El uso racional de materias primas renovables a través de procesos químicos de biorrefinería ayuda al desarrollo de una economía más sostenible y menos dependiente de fuentes fósiles, rebajando las emisiones de CO₂ y otros gases de efecto invernadero. También se evitan los problemas ambientales asociados a la extracción del crudo del mar y el cambio climático.⁹ Adicionalmente, la utilización de materias primas renovables cumple otros principios de la Química Sostenible como la degradabilidad incorporada al diseño de nuevos productos o la menor toxicidad de los mismos.⁸

Hay una amplia variedad de compuestos químicos que se pueden extraer directamente de la biomasa: azúcares, ácidos grasos, aminoácidos y proteínas, terpenos, etc. Desde el punto de vista químico el 75% de la biomasa son carbohidratos, el 20% lignina y el 5% grasas y otros compuestos.¹¹ Sin embargo, los aceites y las grasas son los más utilizados, ya que representan un 35% de las materias primas renovables usadas en la industria química.¹²

El paso hacia una economía circular puede ser la solución para alcanzar la sostenibilidad. La catálisis juega un papel crucial en estos procesos, siendo la investigación en este campo aún más importante de lo que lo fue para la industria petroquímica, debido a la mayor diversidad química de la biomasa con respecto al petróleo.

3. Aceites y materias grasas

La palabra aceite se refiere a mezclas de triglicéridos que son líquidas a temperatura ambiente. Aproximadamente, el 80% de la producción global de aceites y grasas es de origen vegetal mientras que el 20% es de origen animal, y un 25% es aceite de soja, de palma, colza y girasol.¹³ Los parámetros más importantes que afectan a las propiedades físicas y químicas de los aceites son: la longitud de la cadena de los ácidos grasos, el grado de insaturación y la estereoquímica del doble enlace.

La composición de los triglicéridos de los aceites vegetales depende de la planta, el cultivo, la estación y las condiciones climáticas. Por ejemplo, el aceite de linaza y el aceite de soja consisten principalmente en ácido linoleico y linolénico, el aceite de ricino de ácido ricinoleico, el aceite de palma de ácido laúrico, el aceite de colza y girasol de ácido oleico, etc. En la siguiente tabla se resume la composición de los aceites industriales más importantes.

⁹ Dodds D. R., Gross R. A., *Science*, **2007**, *318*, 1250.

⁸ Anastas P. T., Zimmerman J. B., *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 94.

¹¹ Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2009**, *111*, 865.

¹² *Fatty Acids. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 6th ed., Anneken D. J., Both S., Christoph R., Fieg G., Steinberner U., Westfechtel A., Ed. Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.

¹³ Meier M. A. R., Metzger J. O., Schubert U. S., *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1788.

Tabla 1.1. Composición en porcentaje de distintos aceites vegetales

R (x:y)^o	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0
colza	-	-	0,5	4	1	60	20	9	2
girasol	-	-	-	6	4	28	61	-	-
nuez de palma	5	50	15	7	2	15	1	-	-
linaza	-	-	-	5	4	22	15	52	-
soja	-	-	-	10	5	21	53	8	0,5
coco	7	48	17	9	2	15	1	-	-

^o (R (x:y) = composición de los ácidos grasos; x = longitud de la cadena; y = número de dobles enlaces)

Por otro lado, los aceites de origen animal tienen una composición que les hace particularmente interesantes. La industria pesquera proporcionó al mundo unos 158 Mt de pescado en 2012, de las cuales un 86% se destinó al consumo humano directo (136 Mt) y la fracción restante (21,7 Mt) a usos no alimentarios (por ejemplo, harina de pescado y aceite de pescado).¹⁴ Esta fracción incluye los subproductos que se generan principalmente a causa del procesamiento y los desechos del pescado.

En la Unión Europea, los subproductos generados representan un total de 5,2 Mt/año.¹⁴ El fileteado, salazón y ahumado de pescado genera la mayor cantidad de subproductos (50-75% de pescado procesado), con un total de 3,17 Mt/año. La industria conservera de pescado se considera como la segunda fuente de subproductos (30-65% de pescado procesado), con un total de 1,5 Mt/año. Finalmente, el procesamiento de crustáceos y moluscos también genera cantidades importantes de desechos sólidos (0,5 Mt/año).

Tanto en la industria pesquera como en la acuícola, el aceite y las grasas representan una fracción significativa de los desechos de procesamiento de pescado. Los lípidos constituyen un 60% de los desechos de pescado.¹⁵ El aceite está formado principalmente por triglicéridos compuestos por más de 50 ácidos grasos diferentes, donde los niveles de ácidos grasos insaturados, incluyendo monoinsaturados y poliinsaturados, son aproximadamente de dos a cuatro veces mayores que los niveles de ácidos grasos saturados.

Por tanto, resulta evidente, en un contexto de Economía Circular, que la valorización de los desechos del procesamiento de pescado es un desafío y deben implementarse soluciones para evitar el desperdicio de esta valiosa biomasa. Los beneficios que conlleva la recuperación de los desechos son: el desarrollo de nuevas industrias, la mejora de la viabilidad económica de las plantas de procesamiento, la minimización del impacto medioambiental de las plantas de procesamiento y la optimización del balance de energía a través del uso de biofuel.

¹⁴ Lopes C., Anterolo L. T., Franco-Uría A., Alonso A. A., Pérez-Martín R., *Waste Manage* **2015**, *46*,103.

¹⁵ Kerton F. M., Liu Y., Omari K. W., Hawboldt K., *Green Chem.* **2013**, *15*, 860.

Aunque los desechos de pescado se utilizan generalmente para obtener productos de bajo valor, como alimento para el ganado y fertilizantes, también se pueden obtener productos con alto valor añadido como aditivos alimentarios y nutraceúticos.¹⁶ Otras aplicaciones en las que podrían utilizarse son: biocombustibles,¹⁶ pigmentos (astaxantina)¹⁶ o biopolímeros (quitina).¹⁵

4. Introducción a la empresa

Esta tesis doctoral se engloba en el Programa de Doctorados Industriales de la Universidad de Zaragoza y se realiza en colaboración con la empresa Solutex GC, SL.

Solutex GC, S.L. es una compañía de base tecnológica y de tamaño medio fundada en marzo de 2004. La compañía se creó con la visión de obtener aceites e ingredientes esenciales de alto valor para las industrias de nutrición, farmacia y cosmética, utilizando las tecnologías más avanzadas para ello, entre las que destacan las relacionadas con el uso de fluidos supercríticos, tecnologías que tiene implementadas a nivel industrial junto con otras complementarias en su planta de producción de Mallén, en la provincia de Zaragoza. Tanto los productos desarrollados como las tecnologías con fluidos supercríticos, más concretamente las que utilizan dióxido de carbono, están incluidos en los principios de la Química Sostenible. Además, en Solutex se tienen distintas máximas que giran en torno a la Economía Circular, como son el aumento del rendimiento del producto, evitando así un consumo excesivo por parte del cliente, y el impulso de la innovación de sus productos.

La empresa Solutex se ubica en el apartado de Producción en el esquema de Economía Circular (*Figura 1.1*) pero también implementa procesos de Economía Circular en el uso de materias primas, en el diseño de productos y en su producción. Los principales elementos para la transición a una Economía Circular son los siguientes:

- La necesidad de aprovechamiento de los subproductos resultantes de los procesos de producción.
- La obligación de reutilizar los productos finales, incentivando la innovación y la transformación medioambiental sostenible.
- El aumento de la duración de la vida de los productos encontrando nuevas formas de uso.

Solutex extrae y concentra ácidos grasos omega-3 por vía sostenible a partir de matrices naturales. En este proceso de concentración se genera una corriente lateral de lípidos empobrecidos en ácidos grasos omega-3 que pueden, sin embargo, ser base de otros procesos de transformación en oleoderivados.

¹⁶ Arvanitoyannis I.S., Kassaveti A., *Int. J. Food Sci. Technol.* **2008**, *43*, 726.

¹⁵ Kerton F. M., Liu Y., Omari K. W., Hawboldt K., *Green Chem.* **2013**, *15*, 860.

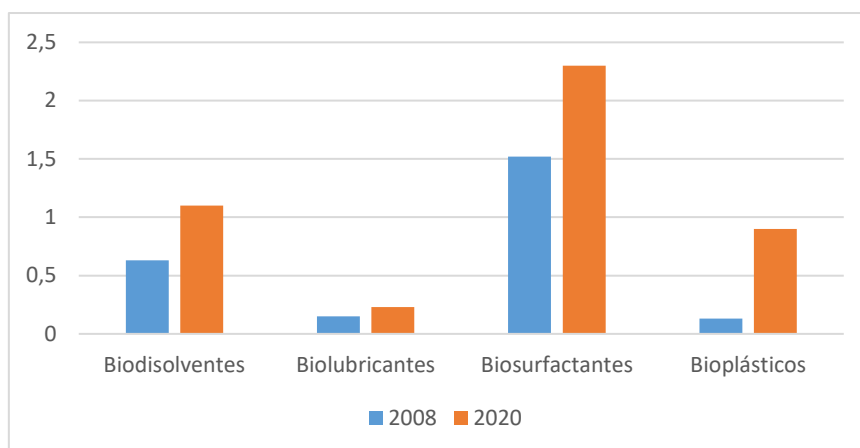
5. Industria oleoquímica

En el contexto de la Química Sostenible se enmarca la industria oleoquímica, que desarrolla productos de consumo a partir de materias grasas tanto de origen vegetal como animal. Una sexta parte de los aceites naturales y grasas producidos se utilizan en la industria química. La producción mundial anual de aceites y semillas oleaginosas es de 170 Mt, de las cuales una parte significativa se utiliza en la producción de biodiesel (30 Mt al año en 2013-2015) y en la producción de productos oleoquímicos.¹⁷ En dichos procesos se utilizan aceites purificados o previamente transformados en algunos de sus derivados. Con la excepción del uso de aceites de freidora en la preparación de biodiesel, no es frecuente el uso de corrientes residuales ya que son mezclas de mayor complejidad que conllevan, por su composición, un mayor grado de dificultad. Sin embargo, el aprovechamiento de los mismos para la obtención de productos de mayor valor añadido genera competitividad a la vez que reduce el consumo de materias primas no renovables.

Actualmente, los productos que se obtienen a partir de materias primas renovables más importantes son: biodisolventes, biolubricantes, bioplásticos y biosurfactantes. Los biodisolventes tienen distintas aplicaciones como pinturas y recubrimientos, adhesivos, fármacos, cosméticos y tintas de impresión. En Europa, en 2008 sólo el 13% de los disolventes eran biodisolventes.¹⁸ Los biolubricantes se utilizan en una amplia gama de equipos en la industria, desde maquinaria pesada hasta equipos en miniatura, en automóviles, maquinaria de aviación, etc. Sin embargo, sólo el 3% de los lubricantes producidos en 2008 eran biolubricantes.¹⁸ Aunque los bioplásticos se emplean para bolsas, films, botellas biodegradables y materiales para aplicaciones médicas, su uso no está muy extendido ya que su producción en 2008 fue de menos del 1% del total de plásticos producidos.¹⁸ Por último, los biosurfactantes forman parte de detergentes domésticos, cosméticos, limpiadores industriales, alimentos, productos químicos agrícolas, textiles, pinturas y revestimientos, lubricantes y aditivos de combustibles, etc. A diferencia de disolventes y lubricantes, casi un 60% de los surfactantes ya proceden de materias primas renovables. Sin embargo, se prevé que se produzca un aumento de estos productos de entre el 4 y el 16% en 2020.¹⁸ (*Gráfica 1.1*).

¹⁷ OECD-FAO *Agricultural Outlook 2016-2025*; OECD Publishing: Paris, 2016, http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en.

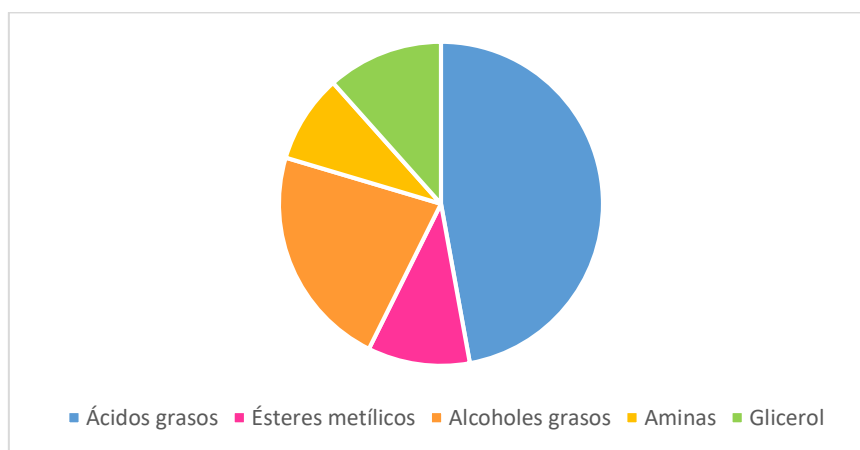
¹⁸ *Assessment of the Bio-based Products Market Potential for Innovation. BIOCHEM Project*, European Commission Enterprise and Industry, 2010, <http://www.biochem-project.eu>.



Gráfica 1.1. Estimación de la evolución del consumo de productos derivados de materias primas renovables en Europa (Mt)

Las materias grasas se utilizan para la producción de lubricantes, disolventes, combustibles, surfactantes, cosméticos y monómeros en la producción de polímeros para aplicaciones especiales y/o biodegradables.¹³ Los aceites vegetales se utilizan desde hace décadas en pinturas, materiales para suelos, recubrimientos y resinas.¹⁹ Una de las aplicaciones más conocidas es el linóleo, que se produce industrialmente desde 1864. El componente principal es el aceite de linaza y proporciona una alternativa ecológica a los recubrimientos de PVC.

Los principales productos químicos derivados de las materias grasas son ácidos grasos libres y derivados de los mismos, como alcoholes, aminas y ésteres, así como glicerol (*Gráfica 1.2*).²⁰



Gráfica 1.2. Producción de oleoquímicos básicos (Mt) en el año 2000²¹

¹³ Meier M. A. R., Metzger J. O., Schubert U. S., *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1788.

¹⁹ *Floor Coverings. Ullmann's encyclopedia of Industrial Chemistry*, Online Edition., Heisterberg-Moutsis G., Heinz R., Wolf T. F., Harper D. J., James D., Mazzur R. P., Kettler V., Ed. Wiley-VCH, **2017**.

²⁰ Metzger J. O., Bornscheuer U., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 71, 13.

²¹ *Basic Oleochemicals, Oleochemical Products and New Industrial Oils. Oleochemical Manufacture and Applications*. Gunstone F. D., Hamilton R. J., Ed. Sheffield Academic Press, **2001**.

6. Ácidos grasos y sus transformaciones

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena lineal, en general de un número relativamente elevado de átomos de carbono. A partir del grupo carboxilo las posiciones (metilenos, generalmente) se denominan α , β y así sucesivamente, hasta el grupo metilo terminal, que se denomina ω (omega). Se representan con el número total de átomos de carbono y el número de insaturaciones, separados por dos puntos. La posición de las insaturaciones se puede referir al grupo carboxilo usando la letra Δ , o respecto al metilo terminal usando ω .²² Así el ácido erúcido, con 22 átomos de carbono y una insaturación se representaría como 22:1 Δ 13, para indicar la posición de la insaturación desde el grupo carboxilo, o 22:1 ω -9, si se indica respecto al metilo terminal. Los ácidos grasos tienen nombres comunes y en general no se utiliza la nomenclatura sistemática.

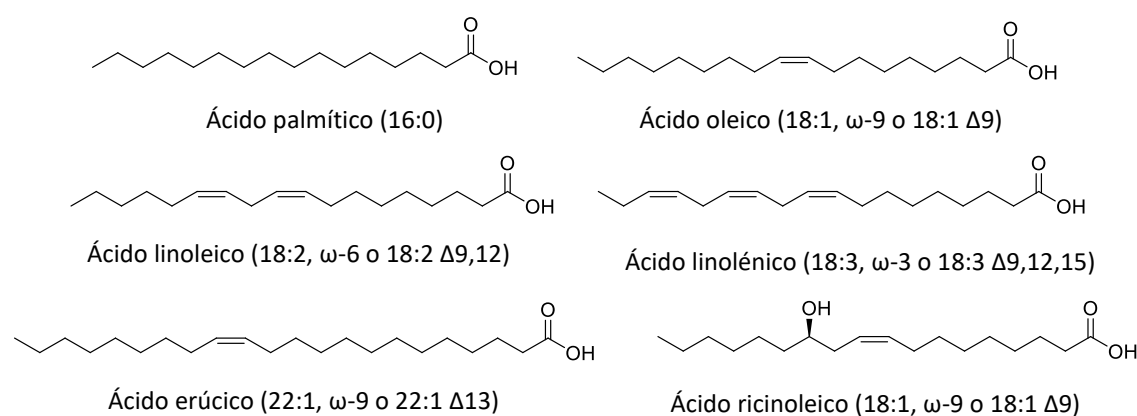


Figura 1.2. Algunos ácidos grasos y su nomenclatura

Los ácidos grasos son necesarios en la dieta humana y representan un 30-35% del total de la ingesta de energía. Los ácidos grasos saturados se encuentran principalmente en la mantequilla, el queso, la nata, la leche y la carne. Los ácidos grasos insaturados se encuentran en distintos aceites como el de oliva, de girasol, de maíz, de nuez y de soja, así como en pescados.²²

Los ácidos grasos, tanto libres como formando parte de lípidos complejos, desempeñan un papel clave en el metabolismo humano: almacenan (en el tejido adiposo y en los músculos) y transportan (lipoproteínas) energía, forman parte de las membranas de las células (fosfolípidos) y son reguladores genéticos. Los ácidos grasos saturados promueven el desarrollo físico e intelectual y regulan los lípidos de la sangre y el colesterol. Además, los lípidos dietéticos proporcionan ácidos grasos poliinsaturados (*polyunsaturated fatty acids*, PUFAs) que son precursores de los eicosanoides, moléculas de 20 carbonos que regulan la presión arterial, la coagulación sanguínea, la inflamación, el dolor y la fiebre. También son importantes para el aislamiento térmico y eléctrico y para la protección mecánica.²²

²² *Encyclopedia of Life Sciences*, Rustan A. C., Drevon C. A, Ed. John Wiley & Sons, 1, 2005.

La sustitución de ácidos grasos saturados por monoinsaturados o poliinsaturados disminuye la concentración de colesterol en el plasma.²²

Por otro lado, se ha incrementado su uso en el campo de la medicina ya que se utilizan como excipientes en la preparación de fármacos, como portadores de sustancias activas y en la producción de emulsiones grasas como complementos alimenticios. Por ejemplo, los PUFA se utilizan en medicamentos para reducir la concentración de triglicéridos en el plasma y la inflamación en pacientes como artritis reumatoide. También se están estudiando sus efectos en enfermedades crónicas y degenerativas como demencia, Alzheimer, esquizofrenia, enfermedades cardiovasculares y trastornos renales.²²

El aceite de pescado presenta un alto contenido de PUFA omega-3 (>20% en peso) lo que ha suscitado un interés creciente en la industria alimentaria y farmacéutica, debido a los reconocidos beneficios para la salud de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (*Figura 1.3*).²³ En concreto, el DHA es necesario en niveles altos en el cerebro y en la retina como un nutriente esencial para proporcionar un funcionamiento neuronal óptimo (capacidad de aprendizaje y desarrollo mental) y agudeza visual, en las primeras etapas de la vida.²⁴ Por otro lado, se considera que el EPA tiene efectos beneficiosos en la prevención de enfermedades cardiovasculares en adultos. Tanto EPA como DHA han mostrado inhibición a la proliferación de células cancerígenas *in vitro* y reducción de la progresión de estos tumores en experimentos con animales. Sin embargo, todavía está en fase de estudio en humanos.²²

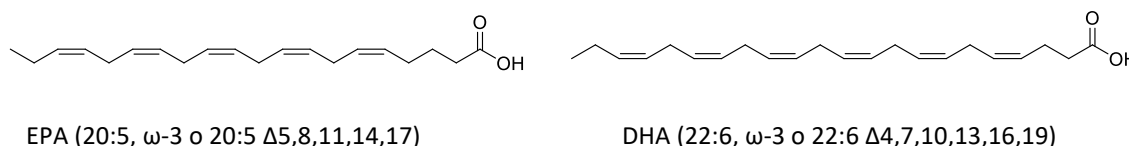


Figura 1.3. Estructura de EPA y DHA

Las fracciones de aceites de pescado con menor cantidad de EPA y DHA conducen a un rendimiento muy bajo de concentrados de omega-3, lo que reduce considerablemente sus aplicaciones en el campo de la medicina. Además, el aceite de pescado extraído a partir de los desechos puede no cumplir con los criterios de calidad requeridos para fines comestibles, pero sí ser útil para otras aplicaciones en función de sus características.²²

²² *Encyclopedia of Life Sciences*, Rustan A. C., Drevon C. A., Ed. John Wiley & Sons, 1, 2005.

²³ Uauy T., Valenzuela A., *Nutrition* 2000, 16, 680.

²⁴ Heird W.C. *Pediatr. Clin. North Am.* 2001, 48, 173.

Los ácidos grasos son poco solubles en agua en su forma ácida, mientras que son hidrofílicos como sales de sodio o de potasio. Los ácidos grasos ramificados o con dobles enlaces *cis* tienen puntos de fusión más bajos comparados con sus equivalentes saturados. Los ácidos grasos saturados son muy estables, mientras que los ácidos grasos insaturados son susceptibles a la oxidación, siendo mayor cuanto más dobles enlaces tienen.²²

A partir de los ácidos grasos se pueden obtener otros productos por modificación del grupo carboxilo²⁵ o del doble enlace si lo presentan.²⁶ (Figura 1.4) Además de la rotura oxidativa del doble enlace, que conduce a moléculas de menor tamaño, resulta interesante la funcionalización de este para obtener moléculas de mayor tamaño y complejidad.



Figura 1.4. Transformaciones de los ácidos y ésteres grasos

²² Encyclopedia of Life Sciences, Rustan A. C., Drevon C. A, Ed. John Wiley & Sons, 1, 2005.

²⁵ Gunstone F. D., Eur. J. Lipid. Sci. Technol. 2001, 103, 307.

²⁶ Corma A., Iborra S., Velty A., Chem. Rev. 2007, 107, 2411.

Los ácidos grasos se obtienen industrialmente por reacción de hidrólisis de los triglicéridos con agua en un proceso continuo a 20-60 bar y 250°C. El glicerol se obtiene como subproducto. Los ésteres grasos se obtienen mediante reacción de transesterificación de los triglicéridos con el correspondiente alcohol, en la mayoría de los casos con metanol, empleando una base como catalizador. Tanto la reacción de hidrólisis como la reacción de transesterificación se pueden llevar a cabo enzimáticamente a temperatura ambiente y presión atmosférica. Sin embargo, aspectos económicos limitan el uso de enzimas. Una aplicación importante de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) es su uso como biocombustible.²⁰

La producción de alcoholes grasos de cadena larga es un proceso industrial importante. La hidrogenación catalítica de los ésteres grasos metílicos a 200°C y 250-300 bar da lugar a alcoholes grasos de cadena larga.²⁰ Las aminas grasas se obtienen a partir de los ácidos grasos en un proceso de varias etapas. En primer lugar, se forman los nitrilos por reacción de los ácidos grasos con amoníaco seguido de una deshidratación de la amida primaria formada. La hidrogenación de los nitrilos da lugar mayoritariamente a aminas primarias que pueden convertirse a aminas terciarias y sales de amonio cuaternario y utilizarse como surfactantes catiónicos.²⁵

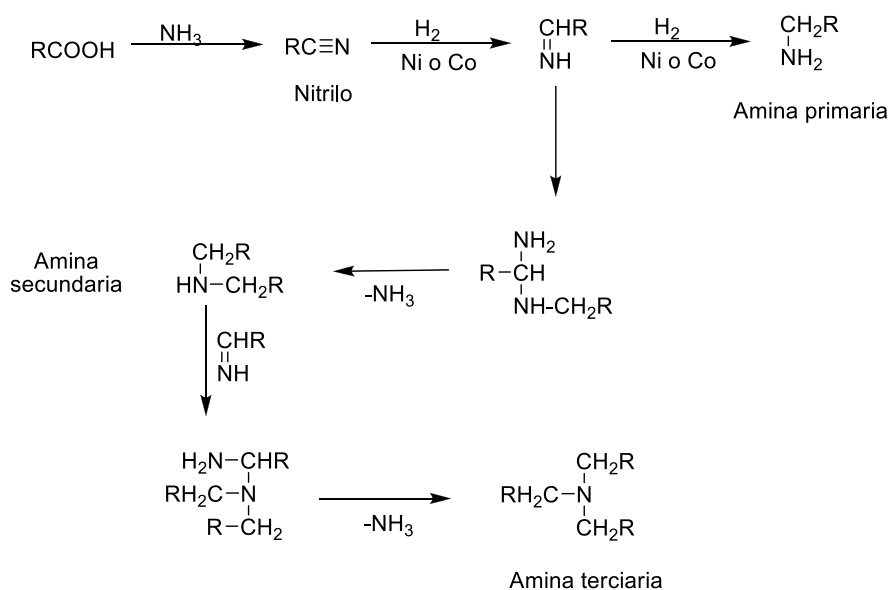


Figura 1.5. Preparación de aminas a partir de ácido grasos

²⁰ Metzger J. O., Bornscheuer U., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 71, 13.

²⁵ Gunstone F. D., *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* **2001**, 103, 307.

Además, de las reacciones ya mencionadas (transesterificación e hidrólisis) se pueden obtener otras moléculas por reacción en el grupo acilo.²⁵ Así, se pueden sintetizar lactonas (γ y δ) por reacción con HClO_4 , y etoxilatos reacción con óxido de etileno. A partir de los alcoholes y los etoxilatos se obtienen sulfatos utilizando SO_3 o ácido clorosulfónico y se usan en forma de sales de sodio, sales de amonio o sales de etanolamina. Los alcoholes también pueden dar lugar a fosfatos y a moléculas menos comunes como sulfosuccinatos, etoxicarboxilatos o carbonatos.

Por otro lado, pueden tener lugar numerosas reacciones en el doble enlace de la cadena. Por ejemplo, se pueden producir dihidroxilaciones con agua oxigenada para dar lugar a dioles.²⁷ Los dioles también se obtienen mediante reacción de epoxidación y posterior apertura en medio ácido. Industrialmente se lleva a cabo la reacción de epoxidación con ácido perfórmico. Los epóxidos pueden reaccionar con alcoholes, ácidos carboxílicos, HCl , H_2S , HCN , etc, para dar los correspondientes productos de apertura.²⁸

Las roturas oxidativas con ácido peracético o con ozono dan lugar a un diácido y a un ácido. En concreto, industrialmente se hace reaccionar el ácido oleico junto con ozono para obtener ácido azelaico (nonanodioico) y ácido pelargónico (nonanoico) (*Figura 1.6*).¹¹ De la misma forma se obtiene el ácido brasílico (tridecanodioico) a partir del ácido erúcico y el ácido adípico (hexanodioico) a partir del ácido petroselínico y como subproducto ácido laúrico.

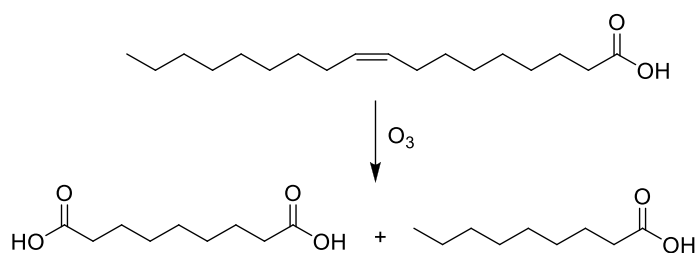


Figura 1.6. Rotura oxidativa de ácido oleico con ozono para obtener ácido azelaico y ácido pelargónico

²⁵ Gunstone F. D., *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* **2001**, 103, 307.

²⁷ Behr.A., *Chem. Eng. Technol.* **2008**, 31, 700.

²⁸ Danov S. M., Kazantsev O. A., Esipovich A. L., Belousov A. S., Rogozhin A. E., Kanakov E. A., *Catal. Sci. Technol.* **2017**, 7, 3659.

¹¹ Metzger J. O., *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* **2009**, 111, 865.

Existen varios métodos para introducir grupos carbonilo en el doble enlace. Entre ellos se encuentran la reacción de hidroformilación para obtener aldehídos y la reacción de hidrocarboxilación que permite obtener ácidos y ésteres (*Figura 1.7*).²⁶

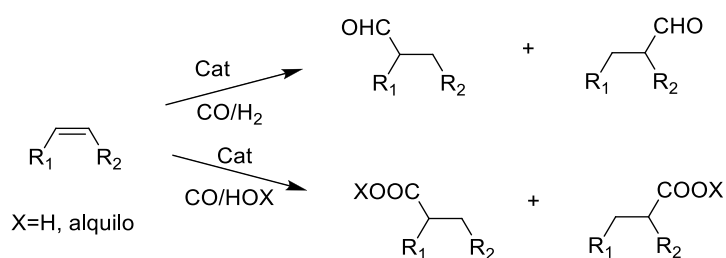


Figura 1.7. Reacciones de hidroformilación e hidrocarboxilación

La reacción de metátesis de olefinas es uno de los métodos más versátiles para la funcionalización de ésteres grasos ya que ofrece la posibilidad de introducir una amplia variedad de grupos funcionales y modificar la longitud de la cadena hidrocarbonada.²⁹ La reacción de autometátesis, o metátesis interna, conduce a una mezcla de diésteres y alquenos de cadena larga no funcionalizados (*Figura 1.8, izquierda*). La reacción de metátesis cruzada entre un éster graso y un alqueno permite obtener ésteres grasos con una funcionalización diferente. Por ejemplo, la reacción con etileno da lugar a un éster graso con una insaturación en posición terminal (*Figura 1.8, derecha, R=H*).²⁶

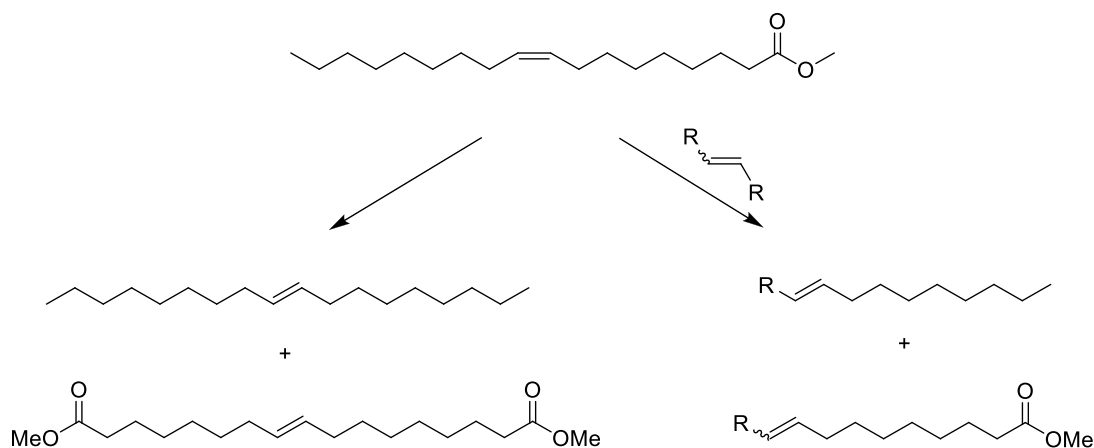


Figura 1.8. Reacción de autometátesis (izquierda) y reacción de metátesis cruzada de oleato de metilo (derecha)

²⁶ Corma A., Iborra S., Velty A., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2411.

²⁹ Chikkali S., Mecking S., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5802.

²⁶ Corma A., Iborra S., Velty A., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2411.

Los productos de estas reacciones tienen distintas aplicaciones. Los diácidos pueden utilizarse como monómeros para la fabricación de diferentes polímeros: poliésteres o poliamidas.¹¹ Además, se utilizan como disolventes, lubricantes, adhesivos, inhibidores de la corrosión, perfumería, fármacos, etc.²⁶ Los diésteres se usan como plastificantes en el PVC y para la preparación de otros polímeros. También se utilizan en insecticidas, síntesis de feromonas, fragancias, fármacos y como lubricantes sintéticos. Los ésteres grasos con una insaturación en posición terminal se utilizan como material de partida para la preparación de poliamidas, poliésteres, poliéteres, detergentes, lubricantes, surfactantes, etc.²⁰

Los polioles también pueden dar lugar a poliuretanos y utilizarse como emulgente. Los epóxidos se usan como estabilizantes del PVC o como recubrimientos de la madera.¹¹ Los epóxidos también pueden dar lugar a aziridinas. En concreto, las hidroxiaziridinas formadas a partir del ácido ricinoleico se han probado para determinar la actividad citostática/citotóxica con respecto a diferentes líneas celulares tumorales.²⁰ Los aldehídos tienen distintas aplicaciones: síntesis de polímeros (plastificantes), copolímeros (uretanos), lubricantes y recubrimientos.²⁶

El calentamiento del ácido ricinoleico permite obtener varios compuestos de interés en función de la temperatura empleada. Por ejemplo, a 500°C se obtiene heptanal, que se utiliza en perfumes y 10-undecinoato de metilo que se puede convertir en el ácido y emplearse como material de partida para poliamidas.²⁰ A 270°C y tratamiento con NaOH se obtiene ácido sebácico (decanodioico) que al reaccionar con 1,6-diaminohexano produce las fibras de nylon 6,10.³⁰

Por lo tanto, el uso de aceites o grasas es una alternativa al empleo de los productos derivados del petróleo debido a la variedad de reacciones que se pueden llevar a cabo en los ácidos grasos que contienen y a las posibles aplicaciones de éstos.

¹¹ Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2009**, *111*, 865.

²⁶ Corma A., Iborra S., Velty A., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2411.

²⁰ Metzger J. O., Bornscheuer U., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *71*, 13.

³⁰ *Renewable Bioresources. Scope and Modification for Non-Food Applications*, Stevens C. V., Verhé R. G., Ed. Wiley, Chichester, **2004**.

7. Objetivos

En esta tesis doctoral se plantea abordar la valorización de una corriente lateral en la extracción de ésteres grasos omega-3 en productos oleoquímicos de alto valor añadido, de forma que aumente la sostenibilidad, tanto medioambiental como económica del proceso. Esta corriente se denomina Destilado Fase 2 (DF2), es de origen animal y consiste en una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena media y larga, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Actualmente, Solutex genera 500-600 T/año de este subproducto que valoriza como biodiesel.

Debido a la variedad de ésteres etílicos que presenta la mezcla DF2 se pueden llevar a cabo diferentes reacciones para obtener productos con diferentes características y, por lo tanto, distintas aplicaciones. Dentro de todas ellas se han buscado procedimientos y reacciones sencillas, con reactivos lo más baratos posibles, para minimizar el coste de producción de los posibles compuestos de interés. También se ha intentado disminuir el uso de disolventes, realizar las reacciones de forma catalítica y reducir los residuos generados. De esta forma se favorecería su posible implementación en la empresa valorizando este subproducto dentro del marco de la Química Sostenible.

Por tanto, los objetivos se podrían resumir en:

- 1- Preparación por transesterificación de mezclas de ésteres de alcoholes de cadena más larga que puedan ser útiles en distintas aplicaciones como biodisolventes, biolubricantes o biosurfactantes.
- 2- Obtención de mezclas de ácidos grasos libres mediante reacciones de hidrólisis.
- 3- Hidroxilación o dihidroxilación de los ácidos grasos insaturados para mejorar sus propiedades hidrofílicas y conseguir productos con características emulgentes o surfactantes.

2. REACCIONES DE TRANSESTERIFICACIÓN



1. Antecedentes

Las propiedades de los aceites dependen de la estructura de los ácidos que los constituyen, es decir, de la longitud de las cadenas alifáticas y del número y de la posición de los dobles enlaces.³¹ Los ácidos saturados son muy resistentes a la oxidación a altas temperaturas y estables pero su punto de congelación es alto debido a la facilidad de empaquetamiento en cadenas que se pueden disponer en conformación todo-anti. Algunos ácidos como el linoleico o el linolénico tienen tendencia a la autooxidación y dan lugar a diferentes subproductos: ácidos, ésteres, aldehídos, cetonas, etc. La reacción de oxidación comienza en las posiciones alílicas a los dobles enlaces. Durante el proceso de oxidación se producen más de 100 radicales distintos, provocando que la descomposición suceda con una velocidad exponencial y se formen los distintos subproductos que hacen que los aceites se estropeen y se enrancien.³² Los ácidos grasos poliinsaturados son más susceptibles a la oxidación y a la degradación térmica, aunque sus ésteres tienen puntos de congelación bajos. Las propiedades características de cada aceite determinan su aplicación en áreas específicas y se intentan mejorar modificando los ésteres grasos. Por ejemplo, la introducción de cadenas ramificadas mejora el comportamiento en frío de los aceites disminuyendo el punto de congelación.³³

Los lubricantes tienen numerosas aplicaciones en industria, automoción, maquinaria de aviación, transmisiones de helicópteros, etc.³⁴ Los lubricantes más comunes son los fluidos de transmisión, los fluidos hidráulicos, los aceites para engranajes industriales y los de automoción. El papel de los lubricantes es reducir la fricción, eliminar partículas de desgaste, aumentar la eficiencia, reducir las pérdidas de energía, y distribuir uniformemente el calor, entre otros.³⁵

Los productos derivados del petróleo son altamente tóxicos para el medioambiente, no son biodegradables y son más caros. Por ello los derivados de aceites naturales se presentan como una alternativa a los lubricantes convencionales.³⁶ Los aceites vegetales se caracterizan por tener un 95% de biodegradabilidad, baja toxicidad, baja volatilidad, índices de viscosidad altos, buena estabilidad térmica, bajos puntos de congelación, puntos de inflamación altos, compatibilidad con aditivos y bajo coste de producción. Pero los ésteres de los aceites presentan como desventaja la susceptibilidad a hidrolizarse en presencia de agua y la baja estabilidad frente a la oxidación.

³¹ *Fats and fatty oils. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Thomas A., Matthäus B., Fiebig H. C. Ed. Wiley-VCH, **2015**.

³² *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 5th ed., Hui Y. H., Ed. Wiley-Interscience, **1996**.

³³ *Fatty Acids. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Anneken D. J., Both S., Christoph R., Fieg G., Steinberner U., Westfechtel A., Ed. Wiley-VCH, **2006**.

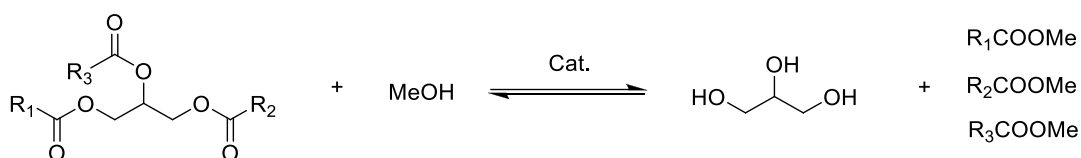
³⁴ *Lubricants and Lubrication. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Bartels T., Bock W., Braun J., Busch C., Buss W., Dresel W., Freiler C., Harperscheid M., Heckler R.-P., Hörner D., Kubicki F., Lingg G., Losch A., Luther R., Mang T., Noll S., Omeis J., Ed. Wiley-VCH, **2003**.

³⁵ Nagendramma P., Kaul S., *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2012**, *16*, 764.

³⁶ Soni S., Agarwal M., *Green Chem. Lett. Rev.* **2014**, *7*, 359.

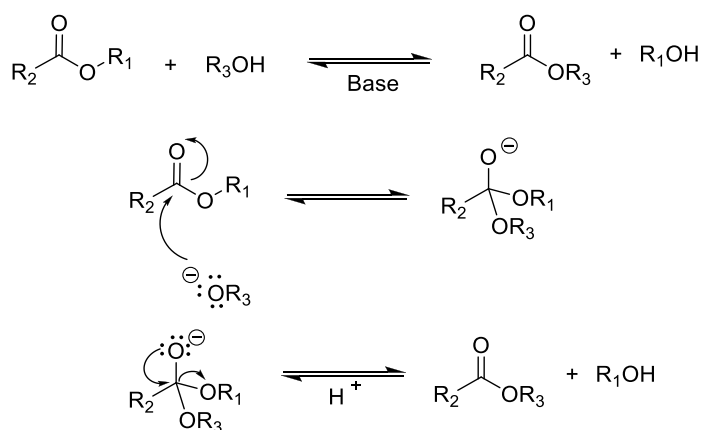
La reacción de transesterificación permite cambiar el sustituyente del grupo éster por otro distinto proveniente de un alcohol.³⁷ En la industria oleoquímica esta reacción es una de las más comunes. Sin embargo, en la mayoría de los casos se trata de transesterificaciones con alcoholes de bajo peso molecular (metanol o etanol), relacionadas con la producción de biodiesel debido a su bajo coste y a las propiedades físicas y químicas de los ésteres obtenidos.

El uso directo de triglicéridos como combustible es posible, pero no con los motores diésel convencionales, debido a los problemas operacionales del motor asociados a la formación de depósitos como resultado de la alta viscosidad y el alto peso molecular de los triglicéridos. Como consecuencia, el proceso de transesterificación está ampliamente extendido porque reduce la viscosidad de los triglicéridos, mejorando de este modo las propiedades físicas de los combustibles renovables, así como el rendimiento del motor.³⁸



Esquema 2.1. Reacción de transesterificación de triglicéridos con metanol

La reacción de transesterificación se puede catalizar por un ácido o por una base.³⁷ Las bases más comunes son: NaOH, KOH, NaOMe y NaOEt. El mecanismo de transesterificación en medio básico transcurre en dos etapas: en la primera etapa se produce el ataque del ión alcóxido procedente del alcohol al carbono del grupo carbonilo del éster y en la segunda etapa se produce la eliminación del alcóxido del éster que junto con un protón del medio forma el alcohol. (Esquema 2.2).



Esquema 2.2. Mecanismo de la reacción de transesterificación de un éster en medio básico

³⁷ a) Otera J., *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1449. b) *The Catalysis of Biodiesel Synthesis. Catalysis.* Lotero E., Goodwing J. G., Bruce J. D. A., Suwannakarn K., Liu Y., Lopez D. E., Ed. RSC, **2006**.

³⁸ Fukuda H., Kondo A., Noda H., *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, 92, 405.

La reacción de transesterificación catalizada por una base transcurre 4000 veces más rápida que otra con la misma cantidad de un catalizador ácido,³⁹ y no produce corrosión en los equipos al contrario que los ácidos. Sin embargo, las bases producen materia saponificable originada a partir de la neutralización de los ácidos grasos. La formación de jabones es indeseable porque consume parte de catalizador, disminuye el rendimiento aislado de la reacción y dificulta la separación de las fases.⁴⁰

Como alternativa al uso de catalizadores homogéneos se encuentran los catalizadores heterogéneos. En la bibliografía aparece descrita la reacción de transesterificación de triglicéridos con óxidos metálicos (ZrO_2-SiO_2 , KOH/ZrO_2-SiO_2 , $Co_2O_3-SiO_2$, $Mo_2O_5-SiO_2$, Na_2O-SiO_2),^{41,42} metales (Ni, Pd, Fe),^{42,43} zeolitas,⁴⁴ resinas de intercambio iónico^{42,45} y circonia sulfatada.⁴⁶ Pero industrialmente no es rentable todavía llevar a cabo reacciones de transesterificación con estos catalizadores.

Los ésteres metílicos no se utilizan como lubricantes porque sus valores de viscosidad e índice de viscosidad son muy bajos. El uso en la transesterificación de alcoholes de mayor peso molecular y con diferentes estructuras permite obtener ésteres grasos con diferentes propiedades (mayor viscosidad e índice de viscosidad o punto de inflamación), y pueden tener entonces otras aplicaciones. En este trabajo se han llevado a cabo reacciones de transesterificación con alcoholes de mayor peso molecular y con ramificaciones (2-etil-1-hexanol y 2-hexil-1-decanol), secundarios (isopropanol) y con polialcoholes (trimetilolpropano y polietilenglicol) para modificar las propiedades de los ésteres.

³⁹ Formo M.W., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1954**, *31*, 548.

⁴⁰ Wright H. J., Segur J. B., Clark H. V., Coburn S. K., Langdon E. E., DuPuis R. N., *Oil Soap* **1944**, *21*, 145.

⁴¹ Pinto A. C., Guarieiro L. L. N., Rezende M. J. C., Ribeiro N. M., Torres E. A., Lopes W. A., Pereira P. A. de P., de Andrade J. B., *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1313.

⁴² Suppes G., Dasari M. A., Daskocil E. J., Mankidy P. J., Goff M. J., *Appl. Catal. A.* **2004**, *257*, 11.

⁴³ Dasari M., Goff M., Suppes G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2003**, *80*, 189.

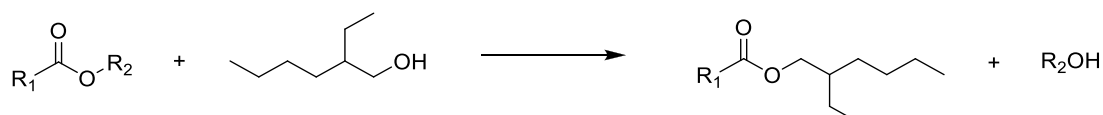
⁴⁴ a) Serio M., Ledda M., Cozzolino M., Minutillo G., Tesser R., Santacesaria E., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, *45*, 6. b) Leclercq E., Finiels A., Moreau C., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 5. c) Cantrell D. G., Gillie L. J., Lee A. F., Wilson K., *Appl. Catal. A.* **2005**, *287*, 8.

⁴⁵ a) Shibasaki-Kitakawa N., Honda H., Kuribayashi H., Toda T., Fukumura T., Yonemoto T., *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 416. b) dos Reis S. C. M., Lachter E. R., Nascimento R. S. V., Rodrigues J. A. Jr., Reid M. G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2005**, *82*, 5.

⁴⁶ a) Kim H., Kang B.-S., Kim M.-J., Kim D.-K., Lee J.-S., Lee K.-Y., *Surf. Sci. Catal.* **2004**, *153*, 4. b) Furuta S., Matsuhashi H., Arata K., *Catal. Commun.* **2004**, *5*, 721.

1.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol

Los ésteres de ácidos grasos de 2-etil-1-hexanol (EH) son de gran interés debido a sus aplicaciones en la industria cosmética, farmacéutica, alimentaria y química. Los ésteres de 2-etil-1-hexanol pueden reemplazar a los disolventes orgánicos convencionales en algunas aplicaciones como plastificantes de poliestireno o PVC y goma sintética.⁴⁷ Por ejemplo, los ésteres de 2-etil-1-hexilo del aceite de colza se pueden utilizar como disolventes en abrillantadores de coches o tintas de impresión.⁴⁸ Pero su uso más común es como lubricantes resistentes al agua o refrigerantes porque los ésteres de 2-etil-1-hexanol mejoran el punto de fluidez de los lubricantes.⁴⁹



Esquema 2.3. Reacción de transesterificación de un éster graso con 2-etil-1-hexanol

En la bibliografía aparece descrita la reacción de transesterificación de diferentes aceites con 2-etil-1-hexanol y el estudio de sus propiedades.

Se ha descrito la reacción de transesterificación de aceite de colza y 2-etil-1-hexanol con lipasas de diferentes microorganismos: *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus sp.* y PPL con un exceso de 2-etil-1-hexanol y agua como codisolvente.⁵⁰ En 3 horas de reacción la conversión más alta se consiguió con la enzima *Pseudomonas fluorescens* (98,3%). En 24 horas de reacción se obtuvieron conversiones superiores al 90% en la mayoría de los casos, siendo la conversión más alta con la enzima *Rhizopus sp.* (99,8%). Sin embargo, las enzimas *Aspergillus niger* y PPL no permitieron obtener más de 40% y 20% de conversión, respectivamente.

También se ha descrito esta misma reacción aumentando el tiempo de reacción hasta las 48 horas con las enzimas de: *Candida rugosa*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Rhizomucor miehei*.⁵¹ Con las tres primeras enzimas la conversión se mantenía constante, pero con la de *Rhizomucor miehei* la conversión aumentaba desde el 45% hasta el 87%.

Otras enzimas comerciales utilizadas para la reacción de transesterificación de los ésteres metílicos del aceite de colza fueron: Lipozyme IM (*Rhizomucor miehei*, RML),

⁴⁷ Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 45, 25.

⁴⁸ Linko, Y.-Y., Lämsä M., Huhtala A., Linko P., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, 71, 1411.

⁴⁹ Herrmann C., Hesselbach J., Bock R., Zein A., Öhlschläger G., Dettmer T., *Clean* **2007**, 35, 427.

⁵⁰ Wu X. Y., Jääskeläinen S., Linko Y. -Y., *Enzyme Microb. Tech.* **1996**, 19, 226.

⁵¹ Linko Y.-Y., Lämsä M., Wu X., Uosukainen E., Seppälä J., Linko P., *J. Biotechnol.* **1998**, 66, 41.

Pseudomonas cepacia (PCL) y Novozym 435 (*Candida antarctica*, CAL).⁴⁷ Las dos últimas se encuentran inmovilizadas. En este caso la relación molar aceite de colza/EH era 1:1. En 50 horas de reacción se obtuvo un 98% de conversión con la enzima Novozym 435, un 90% con la enzima RML y un 80% con PCL a 35°C. Si la temperatura descendía a 20°C para obtener la misma conversión con Novozym 435 el tiempo de reacción necesario era de 100 horas.

La reacción de transesterificación de los ésteres metílicos del aceite de palma con 2-etil-1-hexanol aparece descrita con metóxido de sodio como catalizador.⁵² En este caso fue necesario aplicar vacío (1,5 mbar) para eliminar el metanol que se forma. Es una reacción muy rápida y en el primer minuto de reacción, empleando un intervalo de temperaturas entre 70 y 100°C, la conversión era del 85%. En 7 min de reacción la conversión fue del 98%.

Otro de los sustratos utilizados es el oleato de metilo ya que el oleato de 2-etil-1-hexilo se puede utilizar como lubricante o como un plastificante biodegradable.⁵³ En este caso se utilizó una lipasa inmovilizada, Lipozyme TL IM, que gracias a esta característica se recuperó y se reutilizó durante 10 ciclos de reacción obteniendo conversiones entre 80-90% en 5 horas de reacción y del 100% en 10 horas.

El aceite obtenido de las semillas del árbol de Sal (*Shorea Robusta*), árbol muy común en el sur de Asia, contiene principalmente ácido esteárico (43%) y ácido oleico (41%). Se ha descrito el enriquecimiento de la mezcla de ésteres en oleato de metilo por concentración con urea y metanol, su hidrólisis y la posterior esterificación de los ácidos con 2-etil-1-hexanol.⁵⁴ La esterificación se realizó con ácido *p*-toluensulfónico como catalizador y xileno como disolvente a 135-140°C con un 97% de rendimiento.

Los mismos autores han llevado a cabo el mismo procedimiento con los ésteres del aceite de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis*) con un rendimiento del 96%⁵⁵ y el aceite de Thumba (*Cytrillus colocynthis* L.) con un 97%.⁵⁶ El aceite procedente de las semillas de caucho contiene mayoritariamente ácido linolénico (41%) y ácido linoleico (25%) y el aceite de Thumba contiene como ácidos grasos mayoritarios ácido oleico (24%) y ácido linoleico (56%).

⁴⁷ Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, *45*, 25.

⁵² a) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *J. Oleo. Sci.* **2014**, *63*, 497. b) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *Grasas y aceites* **2014**, *65*, 1.

⁵³ Kleinaitéa E., Jaškab V., Tvaskab B., Matijošytėa I., *J. Clean Prod.* **2014**, *75*, 40.

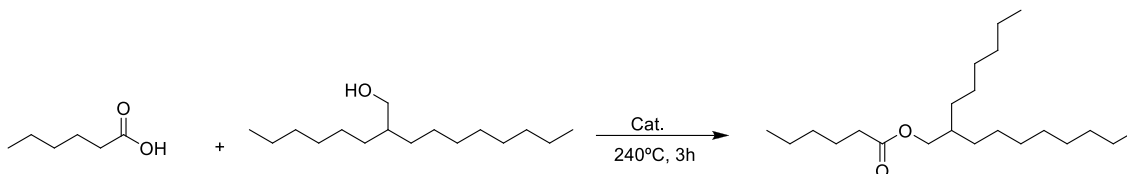
⁵⁴ Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Ind. Crops Prod.* **2015**, *76*, 456.

⁵⁵ Kamalakar K., Rajak A. K., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *51*, 249.

⁵⁶ Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Grasas Aceites* **2015**, *66*, 1.

1.2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol

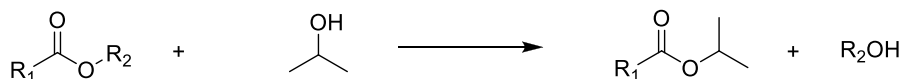
Los ésteres grasos de cadena corta (laurato, oleato, palmitato y estearato) de 2-hexil-1-decanol se utilizan en cosmética, por ejemplo, en champús, acondicionadores, geles, espumas de baño, lociones, emulsiones, o cremas hidratantes.⁵⁷ Su uso más común es como emoliente para relajar y suavizar la piel y nutrir la piel seca. A pesar de que forma parte de numerosos cosméticos sólo aparece descrita en la literatura la reacción de esterificación de ácido hexanoico con 2-hexil-1-decanol con oxalato de estaño a 240°C durante 3 horas.⁵⁷



Esquema 2.4. Reacción de esterificación de ácido hexanoico con 2-hexil-1-decanol

1.3. Reacción de transesterificación con isopropanol

La mayor parte de las reacciones de transesterificación con isopropanol descritas tienen como objetivo la producción de biodiesel, en sustitución de los ésteres grasos metílicos, y el estudio de sus propiedades.



Esquema 2.5. Reacción de transesterificación de un éster graso con isopropanol

Lee y colaboradores realizaron un estudio de la transesterificación de distintos aceites con alcoholes lineales y ramificados, entre ellos el isopropanol, con NaOH y estudiando la influencia de la longitud y la ramificación del sustituyente en las propiedades en frío.⁵⁸ La introducción de sustituyentes voluminosos mejora las propiedades (punto de enturbiamiento y punto de fluidez) aunque no se alcanzan los valores del combustible diésel convencional. Siguiendo esta línea se encuentran otros ejemplos.

⁵⁷ Patent NO.: US 8,158,680 B2.

⁵⁸ Lee I. L., Johnson L. A., Hammond E. G., *J AM OIL CHEM SOC* **1995**, 72, 1155.

Se ha descrito la reacción de transesterificación de los aceites de canola, palma, cacahuete, soja y girasol con isopropanol utilizando KOH y NaOH a 40-60°C durante 30-40 min con conversiones entre el 45 y el 65%, así como el estudio cinético de la reacción.⁵⁹ También se ha realizado la reacción de transesterificación del aceite de algodón con isopropanol utilizando KOH como base con un 99% de conversión.⁶⁰ El aceite de colza se ha transesterificado con diferentes alcoholes, entre ellos isopropanol, con H₂SO₄ como catalizador a reflujo durante 3 horas con un 96% de conversión.⁶¹

Otra de las bases utilizadas en esta reacción ha sido NaOMe para el aceite de almendra Macauba, que contiene mayoritariamente ácido láurico (33%) y ácido oleico (33%).⁶² A pesar de utilizar una relación molar aceite/alcohol 1:6 y temperatura de reflujo durante 1 hora no se superó el 84% de conversión. También se ha descrito la preparación *in situ* del isopropóxido de sodio para la transesterificación del aceite de soja permitiendo obtener un 92% de conversión en 8 horas.⁶³

En el estudio de la reacción se han empleado otros catalizadores menos comunes, como carbones funcionalizados con SO₃H y [Ph₂NH₂]⁺ para el aceite de arroz y la mantequilla con un rendimiento del 98%⁶⁴ y enzimas como la de *Candida antarctica B* soportada en carbón activado para el aceite de palma con un rendimiento del 86%.⁶⁵

Las resinas alquídicas son resinas sintéticas que se utilizan en recubrimientos como aglutinantes para formar películas resistentes.⁶⁶ Se usan en recubrimientos de superficies, pinturas, esmaltes, lacas y barnices. Químicamente son poliésteres obtenidos mediante polimerización de tres tipos de monómeros: polioles, poliácidos y ácidos grasos o triglicéridos (principalmente insaturados). Las resinas alquídicas son viscosas y difíciles de manejar. Este problema se resuelve disolviéndolas en disolventes orgánicos, aunque emiten compuestos orgánicos volátiles (VOC). Como alternativa se ha propuesto la preparación de ésteres isopropílicos derivados del aceite de caléndula y del aceite de tung como diluyentes.^{66b} Estos aceites contienen como ácido graso insaturado mayoritario el ácido caléndico (59-65%) y el ácido α -eleosteárico (84%), respectivamente. La preparación de los ésteres isopropílicos se realizó mediante transesterificación con NaOMe, con un 59% y un 72% de rendimiento para cada aceite.

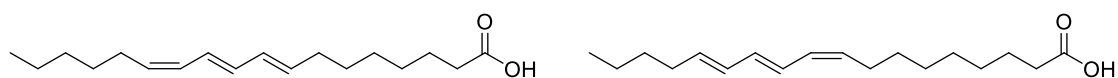


Figura 2.1. Ácido caléndico (18:3 (ω-6)) y ácido α -eleosteárico (18:3 (ω-5))

⁵⁹ Likoazar B., Levec J., *Applied Energy* **2014**, *123*, 108.

⁶⁰ Alhassan F. H., Uemura Y., *Procedia Engineer.* **2016**, *148*, 473.

⁶¹ Malins K., Kampars V., Kampare J., Prilucka J., Brinks J., Murnieks R., Apseniece L., *Fuel* **2014**, *137*, 28.

⁶² Silva L. N., Cardoso C. C., Pasa V. M. D., *Fuel* **2016**, *166*, 453.

⁶³ Wang P. S., Tat M., E., Gerpen J. V., *J AM OIL CHEM SOC* **2005**, *82*, 845.

⁶⁴ Cai L., Meng D., Zhan S., Yang X., Liu T., Pu H., Tao X., *RSC Adv.* **2015**, *7*, 2146.

⁶⁵ Naranjo J. C., Córdoba A., Giraldo L., García V. S., Moreno-Piraján J. C., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2010**, *66*, 166.

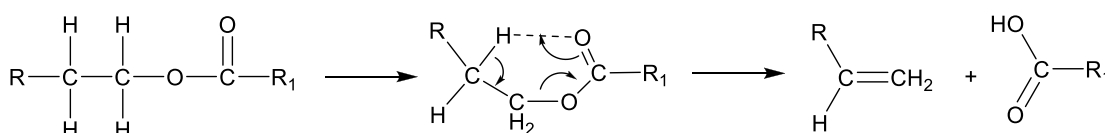
⁶⁶ a) *Alkyd Resins. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Jones F. N., Ed. Wiley-VCH, **2003**.

b) Biermann U., Butte W., Holtgreffe R., Fede W., Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, *112*, 103.

1.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano (TMP)

Entre los ésteres más empleados como lubricantes se encuentran los ésteres de trimetilolpropano.⁶⁷ Por ejemplo, se usan como fluidos hidráulicos, aceites de motor, aceites para engranajes o para distintos tipos de maquinaria.⁶⁸

La ventaja más significativa de la utilización de un poliol diferente de la glicerina, como trimetilolpropano, neopentilglicol o pentaeritritol, es que la ausencia de β -hidrógenos en el alcohol mejora la estabilidad térmica y oxidativa del lubricante a altas temperaturas. La presencia de átomos de hidrógeno en β permite la reacción de eliminación de ácidos grasos libres, con formación de alquenos, aumentando la viscosidad y la acidez. La presencia en posición β de un carbono cuaternario en estos alcoholes confiere a sus ésteres una alta estabilidad química en comparación con los ésteres de glicerol, por ejemplo.⁶⁹ Se cree que los triésteres pueden mejorar la lubricidad porque los grupos polares que tienen son capaces de formar una capa límite que dispersa las moléculas no polares pudiendo actuar como aditivo contra el desgaste para lubricantes minerales.⁷⁰



Esquema 2.6. Destrucción térmica de ésteres con β -hidrógenos

Además, los ésteres de estos alcoholes tienen una volatilidad baja y su estructura voluminosa les confiere una excelente resistencia a la hidrólisis. También tienen viscosidades altas y puntos de congelación bajos. La mayoría de los ésteres de TMP que aparecen recogidos en la bibliografía se han preparado para estudiar sus propiedades para su posible uso como lubricantes. En este capítulo se comentará su síntesis y preparación.

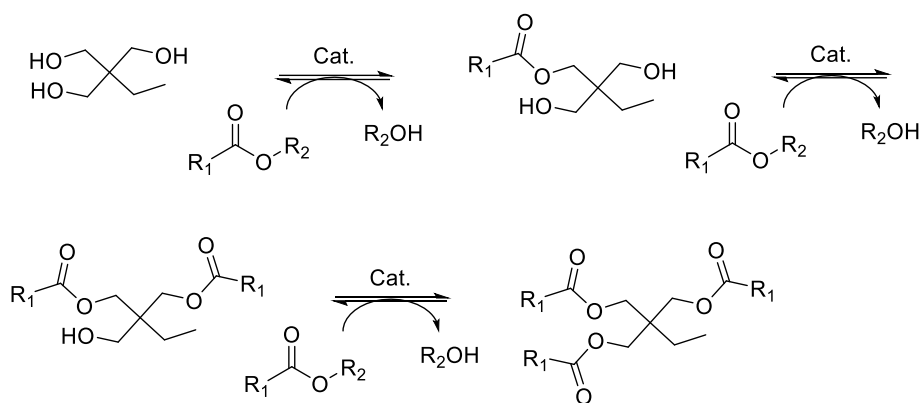
La reacción de transesterificación de una mezcla de ésteres grasos simples con TMP requiere del uso de vacío para desplazar el equilibrio. Se utilizan relaciones molares TMP/ésteres de 3:1 a 4:1 en función de los sustratos y del catalizador empleado.

⁶⁷ Panchal T. M., Patel A., Chauhan D. D., Thomas M., Patel J. V., *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2017**, *70*, 65.

⁶⁸ Syahir A. Z., Zulkifli N. W. M., Masjuki H. H., Kalam M. A., Alabdulkarem A., Gulzar M., Khuong L. S., Harith M. H., *J. Clean Prod.* **2017**, *168*, 997.

⁶⁹ Gryglewicz S., Piechocki W., Gryglewicz G. J., *Biores. Technol.* **2003**, *87*, 35.

⁷⁰ Maleque M. A., Masjuki H. H., Sapuan S. M., *Ind. Lubr. Tribol.* **2003**, *55*, 137.



Esquema 2.7. Representación esquemática de la reacción de transesterificación entre un éster graso y TMP

Los ésteres de TMP del aceite de colza se pueden utilizar como fluidos hidráulicos. Se ha descrito la reacción de transesterificación de los ésteres metílicos del aceite de colza empleando como catalizador metóxido de sodio.⁷¹ En esta reacción se usó una relación ésteres/TMP 3,2:1, 120°C y 33 mbar de presión. La conversión obtenida en 10 horas fue del 99%. Paralelamente se utilizaron tres enzimas: la lipasa de *Candida rugosa* y dos inmovilizadas en diferentes soportes (*Rhizomucor miehei* Lipozyme IM 20 o *Candida antarctica* Novozym 435) empleando más exceso aceite (1:3,5) y menor temperatura (37-58°C).⁷² Con la lipasa de *Candida rugosa* inmovilizada en Duolite ES 561, la conversión hacia los triésteres fue del 70% en 78 horas. Con la lipasa Lipozyme IM 20 fue del 90% en 66 horas. Por el contrario, con Novozym 435 sólo se obtuvieron los monoésteres y los diésteres. Sin embargo, se ha descrito esta reacción con Novozym 435 con un 97% de conversión, pero en 200 horas de reacción.⁴⁷

También aparece descrita la reacción de transesterificación de los ésteres metílicos procedentes de diferentes aceites: colza, oliva y grasa animal con metóxido de calcio (3% en peso) con rendimientos entre el 84 y el 87% en 20 horas.⁶⁹

Los ésteres de trimetilolpropano de aceite de palma también son posibles materiales para su uso como lubricantes biodegradables. Sin embargo, es necesario mejorar sus propiedades a baja temperatura, ya que son inferiores a los requisitos establecidos por los fabricantes de los lubricantes, enriqueciendo el aceite de palma en oleato de metilo.⁷³ Se logró obtener un 98% de conversión en la síntesis de los ésteres de TMP utilizando NaOMe (0,8% en peso) en apenas 45 minutos de reacción realizando 0,3 mbar de presión y a 120°C.

⁷¹ Uosukainen E., Linko Y.-Y., Lämsä M., Tervakangas T., Linko P., *J AM OIL CHEM SOC* **1998**, 75, 1557.

⁷² Linko Y.-Y., Tervakangas T., Lämsä M., Linko P., *Biotechnol. Tech.* **1997**, 11, 889.

⁴⁷ Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 45, 25.

⁶⁹ Gryglewicz S., Piechocki W., Gryglewicz G. J., *Biores. Technol.* **2003**, 87, 35.

⁷³ a) Yunus R., Fakhru'l-Razi A., Lye Ooi T., Omar R., Idris A., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, 44, 8178.

b) Bakar A. A., Yunus R., Chuah A.L., Fakhru'l-Razi A., *J. App. Sci.* **2007**, 7, 2011.

Por otro lado, se ha descrito la transesterificación de los ésteres metílicos del aceite de *Jatropha* con TMP utilizando ácido sulfúrico como catalizador a 210°C y a vacío en 5 horas con un 91% de conversión.⁷⁴ Se han preparado los ésteres de TMP a partir de los ésteres metílicos del aceite de ricino a 40°C en presencia de agua con la enzima de *Candida Rugosa* en 24 horas con un 95% de conversión.⁷⁵

Por último, se han preparado los ésteres de TMP de aceites menos comunes (semillas del árbol de Sal,⁵⁴ semillas de caucho⁵⁵ y aceite de *Thumba*)⁵⁶ con rendimientos del 93% de forma análoga a los ésteres de 2-etil-1-hexilo de estos aceites.

1.5. Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG)

Los surfactantes se utilizan en detergentes, cosméticos y productos de limpieza. Presentan carácter anfifílico porque poseen una cabeza polar y una cadena hidrofóbica.⁷⁶ Los ésteres de polietilenglicol son interesantes para su uso como surfactantes “verdes” debido a la falta de toxicidad, antigenicidad e inmunogenicidad. Además, son solubles en agua y en disolventes orgánicos. Tienen aplicaciones como emulsionantes, lubricantes, agentes humectantes y detergentes.⁷⁷ En cosmética los más utilizados son PEG-600-laurato como disolvente de pirononas, PEG-1000-laurato como emulsificante de perfumes y esencias y PEG-1500-laurato como emulsionante de cremas. La capacidad de emulsionar depende del grado de etoxilación (polimerización del PEG).

Los monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol se pueden preparar mediante reacción de etoxilación, es decir una reacción entre óxido de etileno con un ácido graso, por esterificación entre un ácido graso y polietilenglicol y mediante transesterificación entre ésteres grasos y PEG.

⁷⁴ Kamil R. N. M., Yusup S., Rashid U., *Fuel* **2011**, *90*, 2343.

⁷⁵ Cavalcanti da Silva J. A., Ferreira Soares V., Fernández-Lafuente R., Habert A. C., Freire D. M. G., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, *122*, 323.

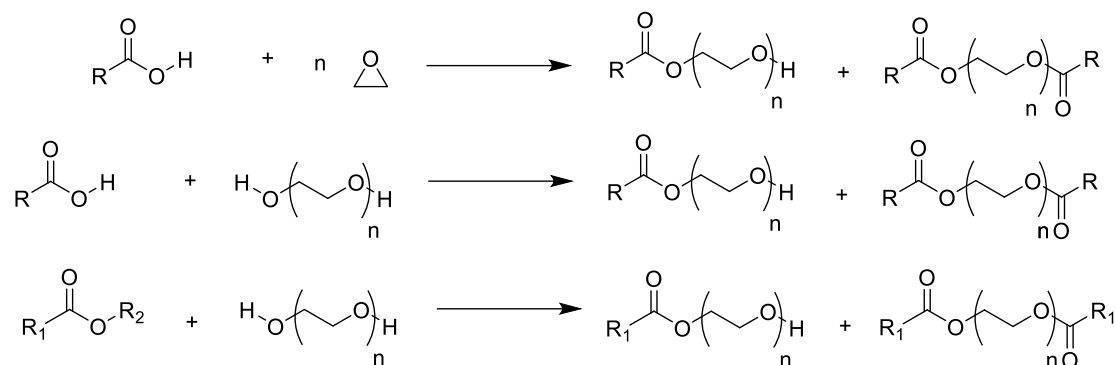
⁵⁴ Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Ind. Crops Prod.* **2015**, *76*, 456.

⁵⁵ Kamalakar K., Rajak A. K., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *51*, 249.

⁵⁶ Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Grasas Aceites* **2015**, *66*, 1.

⁷⁶ *Surfactants. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Kosswig K., Ed. Wiley, **2012**.

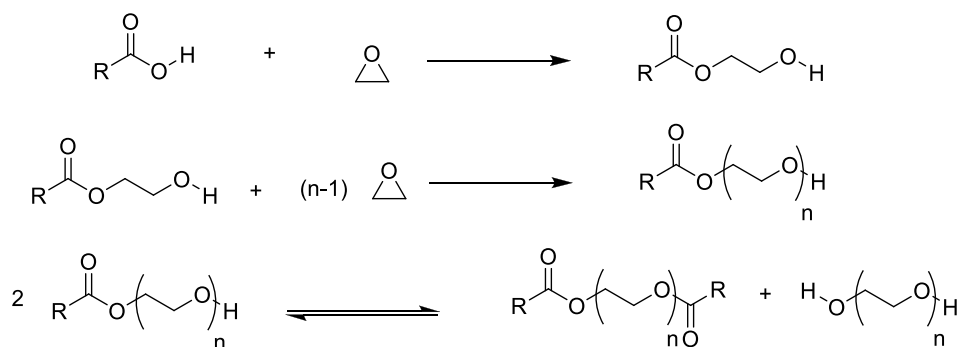
⁷⁷ Maag H., *J AM OIL CHEM SOC* **1984**, *61*, 259.



Esquema 2.8. Reacciones de etoxilación, esterificación y transesterificación.

Industrialmente las reacciones de ácidos grasos con óxido de etileno para obtener monoésteres se llevan a cabo entre 110 y 180°C en presencia de un catalizador básico como NaOH, KOH o NaOAc (1-3% mol).⁷⁸ La presión parcial de óxido de etileno en el reactor se mantiene entre 2 y 4 bar. El óxido de etileno es un reactivo peligroso que debe almacenarse y manejarse con cuidado. Es altamente explosivo en presencia de oxígeno además de carcinógeno. Como es muy reactivo y muy exotérmico puede polimerizar a elevadas temperaturas o en presencia de catalizadores. Por ello es necesario utilizar un equipamiento seguro, robusto, limpio y seco con un buen control de la temperatura y de la agitación en atmósfera de nitrógeno. El óxido de etileno debe añadirse lentamente y controlar las condiciones para que no se acumule sin reaccionar.

En la reacción de etoxilación se obtienen mezclas de monoéster, diéster y polietilenglicol. En la primera etapa de la reacción se forma el monoglicoléster y en la segunda etapa al añadir más óxido de etileno se forma el monoéster de poliglicol que posteriormente transesterifica para dar el diéster de poliglicol y polietilenglicol. Utilizando 7 mmoles de óxido de etileno por mmol de ácido se obtiene una proporción de monoéster/diéster/PEG de 2:1:1.⁷⁷



Esquema 2.9. Reacción de etoxilación de ácidos grasos.

⁷⁸ Stockburger G. J., *J AM OIL CHEM SOC* **1979**, 56, 774.

⁷⁷ Maag H., *J AM OIL CHEM SOC* **1984**, 61, 259.

Debido a los inconvenientes que presenta la reacción con óxido de etileno se prefiere utilizar las reacciones de esterificación o transesterificación.⁷⁶ La reacción de esterificación se lleva a cabo en presencia de catalizadores homogéneos ácidos como ácido sulfúrico, ácido *p*-toluensulfónico o ácido fosfórico mientras que los catalizadores básicos como hidróxidos o metóxidos se emplean en la reacción de transesterificación. El problema principal asociado a estos catalizadores es la necesidad de neutralizar la disolución por la formación de jabones y, por lo tanto, el uso de grandes cantidades de sal.

Dependiendo de la relación ésteres grasos/PEG empleada se obtiene mayoritariamente un producto u otro. En el caso de utilizar una relación ésteres grasos/PEG alta se favorece la formación de diésteres y si se utiliza un exceso de PEG se obtienen sólo los monoésteres.

En la bibliografía se ha descrito la preparación de monoésteres de PEG 600 de diferentes ácidos grasos: undecenoico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, ricinoleico y 12-hidroxiesteárico.⁷⁹ Todas las reacciones se llevaron a cabo utilizando una relación ácidos/PEG de 1:1,07 y ácido *p*-toluensulfónico como catalizador. En 3 horas de reacción a 110°C se han obtenido los monoésteres con un 71-75% de rendimiento.

Por otro lado, se ha descrito la preparación de diésteres de PEG 1500 a partir de ácido esteárico, ácido oleico, ácido 2-hidroxiesteárico y ácido ricinoleico utilizando una relación ácidos/PEG 12:1 y un alcóxido de Ti como catalizador a 230°C durante 3 horas.⁸⁰ Para el ácido oleico y el ácido esteárico no se obtuvieron rendimientos superiores al 50%. Sin embargo, para el ácido ricinoleico y para el ácido 12-hidroxiesteárico eran del 80 y 84% respectivamente.

En la bibliografía aparece descrita la síntesis de los diésteres de PEG 600 con diferentes ácidos grasos empleando una relación equimolecular y oxalato de estaño con un rendimiento del 97%.⁸¹ También se han preparado los monoésteres y los diésteres de PEG 600 del ácido esteárico y el 12-hidroxiesteárico con Novozym 435 en condiciones más suaves (75°C y a vacío).⁸² Utilizando una relación molar 10:1 de PEG/ácido se obtuvieron los monoésteres con conversiones del 100% y con la relación molar 1:3,2 se prepararon los diésteres. Estas reacciones transcurrieron con rendimientos similares a otros sustratos: 82-87% para monoésteres y 77% para diésteres.

Otra reacción que aparece descrita es la transesterificación de oleato de metilo con PEG 600 y diferentes catalizadores heterogéneos (bases de Lewis y de Brönsted).⁸³ Con HTc-Al/Li (hidrotalcita) se obtuvo un 90% de conversión y un 98% de selectividad al monoéster en las condiciones óptimas.

⁷⁶ *Surfactants. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Kosswig K., Ed. Wiley, **2012**.

⁷⁹ Rao T. C., Sastry S. R. S., Subbarao R., Lakshminarayana G., *J AM OIL CHEM SOC* **1976**, *54*, 15.

⁸⁰ Bhattacharyya D. N., Krishnan S., Kelkar R. Y., Chikale S. V., *J AM OIL CHEM SOC* **1984**, *61*, 1925.

⁸¹ O'Lenick A. J., Parkinson J. K., *J AM OIL CHEM SOC* **1998**, *1*, 529.

⁸² Viklund F., Hult K., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2004**, *27*, 51.

⁸³ Climent M. J., Corma A., Hamid S. B. A., Iborra S., Mifsud M., *Green Chem.* **2006**, *8*, 524.

En cuanto a la preparación de ésteres de PEG a partir de aceites, se ha descrito la preparación de monoésteres a partir de los ácidos de los aceites de semillas de mostaza, girasol, salvado de arroz, soja y coco con PEG de distinto peso molecular (200, 300, 400 y 600) con una relación molar aceite/PEG 2:1.⁸⁴ Para ello se utilizó la enzima de *Rhizomucor miehei* a 60°C y a vacío. Las esterificaciones transcurren con rendimientos entre el 76 y el 92%. También se prepararon los monoésteres con PEG (200, 300, 400 y 600) a partir del aceite de colza con la enzima de *Rhizomucor miehei* y una relación equimolecular con conversiones del 86-94%.⁸⁵ La síntesis de diésteres a partir de la mezcla de ácidos de los aceites de colza, ricino alto erúcico y soja con oxalato de estaño a 190°C transcurrió con un 97% de rendimiento en 5 horas.⁸⁶

⁸⁴ Basu S., Bhattacharyya D. K., *J. Surfactants Deterg.* **1998**, *1*, 343.

⁸⁵ Ghosh M., Bhattacharyya D. K., *J. Surfactants Deterg.* **1998**, *1*, 503.

⁸⁶ O'Lenick A. J., Parkinson J. K., *J AM OIL CHEM SOC* **2000**, *3*, 201.

2. Resultados y discusión

La fracción DF2 está constituida por ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena media y larga, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Es una corriente lateral que se obtiene en la extracción de ésteres grasos omega-3 y por ello la composición de dicha mezcla varía en función del proceso del que provenga. Los compuestos principales que contiene son los siguientes: miristato de etilo (12-14%), palmitato de etilo (25-31%), palmitoleato de etilo (14-16%), oleato de etilo (8-10%) y eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoato de etilo (4-8%). En la siguiente tabla aparecen las propiedades físicas de la fracción DF2.

Tabla 2.1. Propiedades físicas de la mezcla DF2

Propiedad física	
Color Gardner	2
Densidad a 15°C (g/cm³)	0,862
Viscosidad cinemática a 40°C (cSt)	3,75
Viscosidad cinemática a 100°C (cSt)	1,6
Punto de inflamación (°C)	176
Punto de congelación (°C)	-11

En el siguiente cromatograma aparecen los distintos ésteres que contiene la mezcla DF2 separados por bloques en función del número de carbonos del ácido graso y permite observar la complejidad de esta mezcla de ésteres grasos.

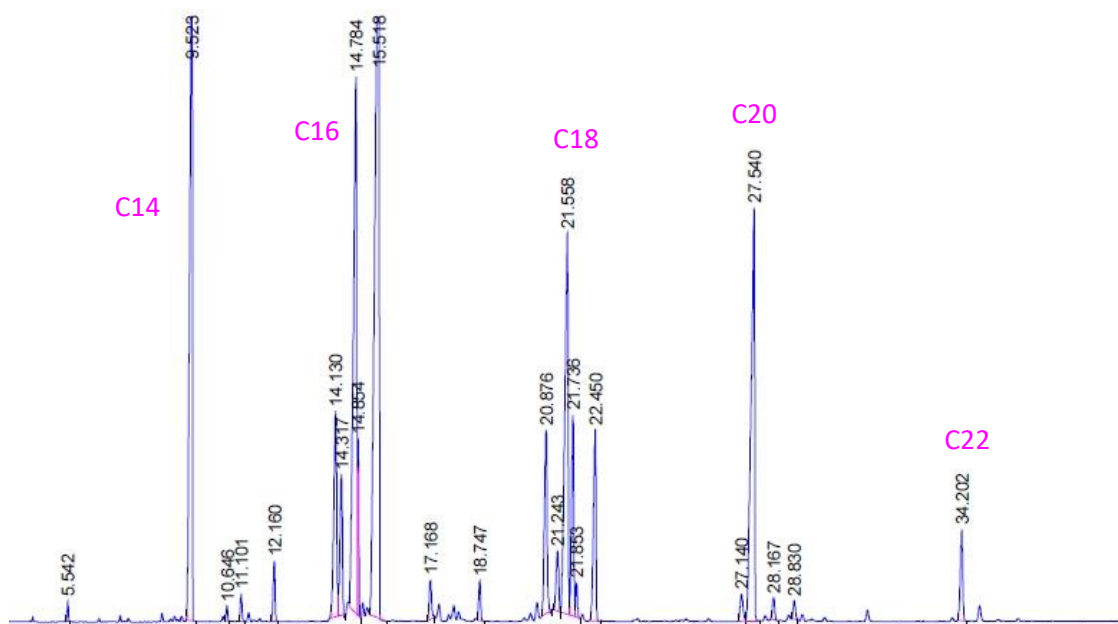


Figura 2.2. Cromatograma de la mezcla DF2

Para el cálculo de los moles de DF2 se ha estimado el peso molecular promedio de la mezcla. Al analizar la mezcla mediante RMN (en CDCl_3) se contabilizaban entre 34 y 36 protones en función de la mezcla utilizada. Para ello se usaban como referencia los 2 H del $-\text{CH}_2-$ que se encuentra en la posición α del carboxilo. Además, también se observaba que el número de protones vinílicos es 2 lo que indicaba que en promedio hay un doble enlace por cadena de éster graso. Este número de protones correspondía con el del éster etílico de un ácido graso C17:1, que sería 296,49 g/mol, idéntico al peso molecular del oleato de metilo.

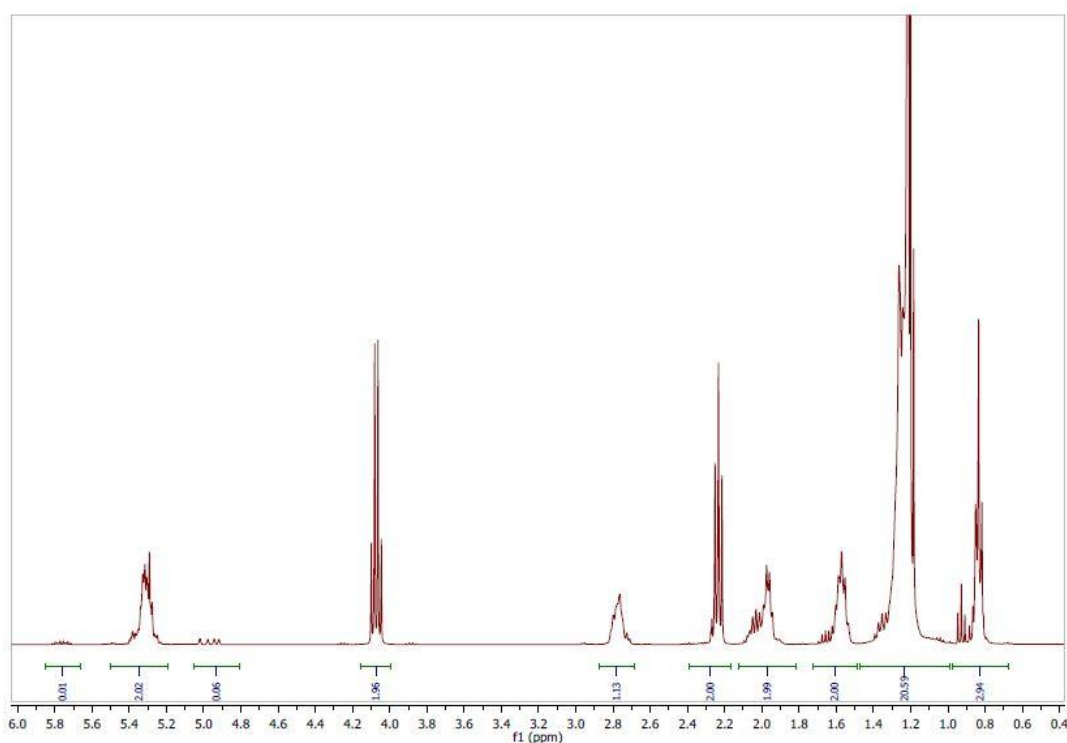
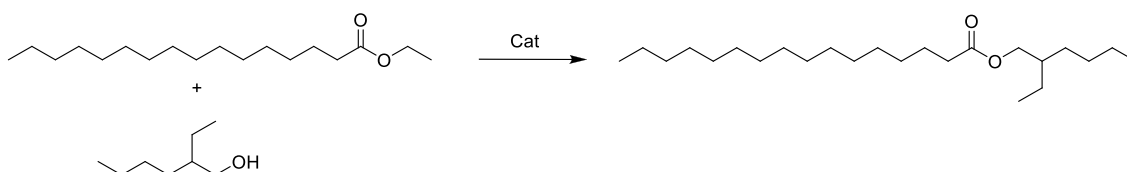


Figura 2.3. Espectro de ^1H -RMN de la mezcla DF2

En este capítulo se describe la optimización de las reacciones de transesterificación con 2-etil-1-hexanol, 2-hexil-1-decanol, isopropanol, trimetilolpropano y polietilenglicol 400 con la mezcla de ésteres DF2 para obtener mezclas con características diferentes y valorar su aplicabilidad.

2.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol

2.1.1. Optimización de la reacción de transesterificación de palmitato de etilo



Esquema 2.10. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo con 2-etil-1-hexanol

En primer lugar, se llevó a cabo la reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol (EH) y palmitato de etilo para obtener palmitato de 2-etilhexilo y caracterizar y detectar el producto mediante cromatografía de gases. Como el palmitato de etilo es uno de los ésteres de la mezcla DF2 sirve como compuesto de referencia para calcular la conversión de la reacción con la mezcla DF2, considerando una reactividad análoga de todos los ésteres grasos de la mezcla.

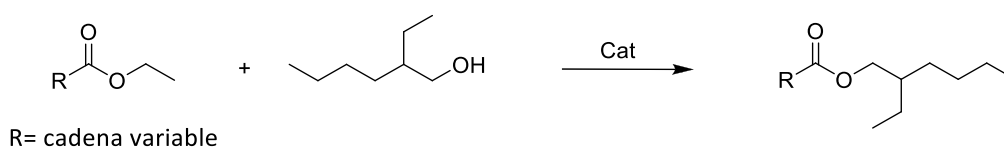
Se realizaron unas pruebas preliminares utilizando 2 g de palmitato de etilo (7,03 mmol) fijando la base (KOH) y optimizando el resto de los parámetros (porcentaje (en mol) de base con respecto al palmitato, relación molar palmitato/EH, temperatura, presión y tiempo). En esta reacción se decidió emplear vacío para eliminar el etanol que se forma y desplazar el equilibrio hacia la formación del producto. Al utilizar una base como catalizador se neutralizó al final con HCl, obteniendo los ésteres mediante extracción con CH_2Cl_2 .

Tabla 2.2. Estudio preliminar de la reacción de transesterificación de palmitato de etilo con 2-etil-1-hexanol

Reacción	Base (% mol)	Palmitato de Et/EH (mol)	T (°C)	P (mbar)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1:2	75	-	2	40
					6	45
					24	48
2	5	1:2	75	300	2	42
					4	43
3	5	1:10	75	300	4	95
4	5	1:10	90	100	2	92
5	1	1:10	90	100	2	48

La primera prueba se realizó a presión atmosférica y la conversión alcanzada no superó el 50% en 24 horas manteniéndose prácticamente sin variaciones a lo largo del tiempo (*reacción 1*), debido a que se había alcanzado el equilibrio de la reacción. El empleo de vacío (300 mbar) no mejoró el resultado en estas condiciones (*reacción 2*). Se aumentó entonces la relación palmitato de etilo/EH a 1:10 con el mismo vacío y en 4 horas de reacción la conversión alcanzada era del 95% (*reacción 3*). Para disminuir el tiempo de reacción se aumentó la temperatura a 90°C y el vacío a 100 mbar alcanzando un 92% de conversión en 2 horas (*reacción 4*). En las mismas condiciones se disminuyó el porcentaje de base hasta el 1% (mol) pero la conversión fue solo del 48% (*reacción 5*), posiblemente debido a que la base desaparece por formación de carboxilatos de potasio, más débiles que el hidróxido.

2.1.2. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2



Esquema 2.11. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con 2-etil-1-hexanol

A partir de los resultados obtenidos en la reacción con palmitato de etilo se realizó la optimización de la reacción con 3 g de mezcla de ésteres DF2 (10,1 mmol) (*Tabla 2.3*). La conversión se determinó por cromatografía de gases usando los picos de palmitato de etilo y palmitato de 2-etil-1-hexilo entre todos los presentes en la mezcla.

Tabla 2.3. Estudio de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol y KOH

Reacción	Base (% mol)	Mezcla DF2/EH (mol)	P (mbar)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1:10	100	1	99
2	5	1:5	100	1	77
				5 ^a	77
				10	77
3	5	1:5	50	1	86
				2	88
				4	89
4	5	1:5	10	1	95
				2	96
				4	100
5	5	1:1,5	10	1	100
6	1	1:1,5	10	1	89
				2	97
				4	99
7	1	1:1	10	1	93
				4	94

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), KOH (% mol con respecto a DF2) y 90°C.
^a Adición de 5 equivalentes de 2-etil-1-hexanol.

Empleando las condiciones optimizadas para el palmitato de etilo fue posible alcanzar un 100% de conversión de los ésteres en 1 hora de reacción (*reacción 1*). Se intentó entonces disminuir el exceso de alcohol, utilizando una relación molar mezcla DF2/EH a 1:5 (*reacción 2*), pero la conversión obtenida fue solo del 77%. A las 5 horas se añadieron 5 equivalentes más de alcohol, pero no se produjo ningún cambio en la conversión, lo que parece indicar una desactivación del catalizador básico, posiblemente por formación de carboxilatos de potasio. Para intentar aumentar la conversión, manteniendo la relación molar mezcla DF2/EH 1:5, se redujo la presión hasta 50 mbar lográndose un 89% de conversión (*reacción 3*) y hasta 10 mbar, lo que permite acelerar la reacción y alcanzar conversión total (*reacción 4*). Manteniendo la presión en 10 mbar, a continuación, se disminuyó aún más la relación molar ésteres/EH hasta 1:1,5, transcurriendo la reacción también con conversión cuantitativa (*reacción 5*). Por último, se intentó reducir la cantidad de base hasta un 1% (mol), lo que reduce la velocidad de reacción y para alcanzar una conversión cuantitativa se necesitan 4 horas (*reacción 6*). Con una relación equimolecular de ésteres/alcohol y un porcentaje de base de solo el 1% se obtuvo un 93% de conversión en 1 hora (*reacción 7*).

Por lo tanto, las condiciones de reacción óptimas para esta reacción son: relación molar ésteres/EH 1:1,5, 90°C y 10 mbar. El tiempo de reacción es de 1 hora si se utiliza un 5% (mol) de KOH o 4 horas si el porcentaje es 1% (mol).

También se empleó etóxido de sodio como ejemplo típico de alcóxido usado para transesterificaciones de ésteres etílicos y se optimizaron las condiciones de reacción.

Tabla 2.4. Estudio de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol y NaOEt

Reacción	Base (% mol)	Mezcla DF2/EH (mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1:5	1	97
			4	100
2	5	1:1,5	1	100
3	5	1:1	1	96
			4	96
4	1	1:1,5	1	100
5	1	1:1	1	92
			4	93

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), NaOEt (% mol con respecto a DF2), 90°C y 10 mbar.

En la tabla se observa que con una relación molar de 1:1,5 se obtuvo una conversión cuantitativa tanto con un 5% (mol) de NaOEt (*reacción 2*) como con un 1% (mol) (*reacción 4*). Al emplear la relación molar 1:1 la conversión con un 5% de base fue del 96% (*reacción 3*) y con un 1% del 93% (*reacción 5*). Las condiciones óptimas de reacción utilizando NaOEt son las mismas que las de la reacción de transesterificación con KOH.

Por otro lado, se llevó a cabo también la optimización de la reacción con una base fuerte de tipo amina: TBD (1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno) (*Figura 2.4*). Las condiciones de cada reacción y los resultados obtenidos de las reacciones con TBD aparecen en la *Tabla 2.5*.

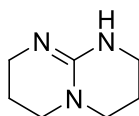


Figura 2.4. Estructura de 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno

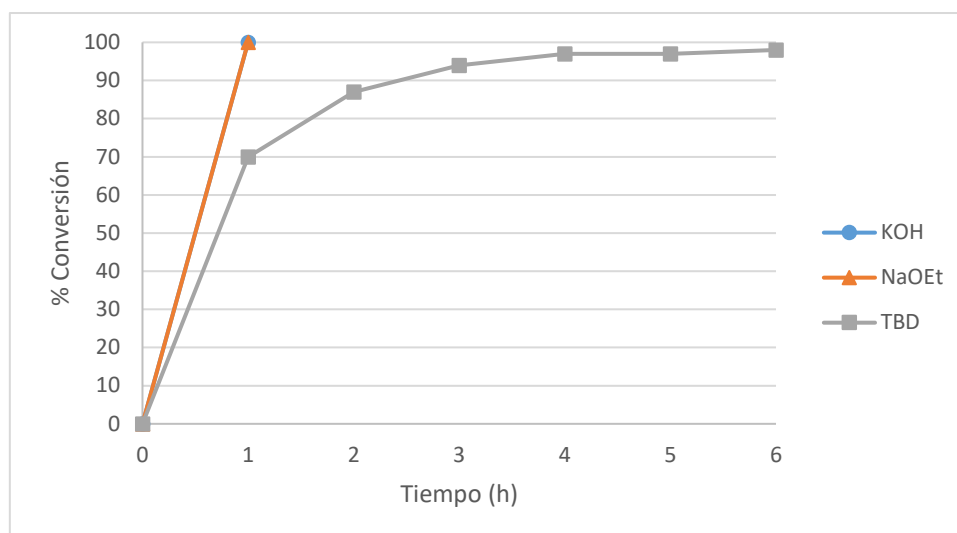
Tabla 2.5. Estudio de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol y TBD

Reacción	Base (% mol)	Mezcla DF2/EH (mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1:5	1	39
			3	86
			6	99
2	5	1:1,5	1	70
			3	94
			6	99
3	5	1:1	1	71
			3	86
			6	92
4	1	1:1,5	1	39
			3	47
			6	69

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), TBD (% mol con respecto a DF2), 90°C y 10 mbar.

Se llevaron a cabo tres reacciones variando la relación molar DF2/EH y manteniendo la misma cantidad de base (*reacción 1, 2 y 3*) observándose muy poca variación en cuanto a conversión final (99%, 99% y 92% respectivamente) y mejor velocidad inicial al emplear menos alcohol. La reducción de la cantidad de base hasta el 1% (en mol) mostró un efecto negativo tanto en la velocidad de reacción como en la conversión final. Por lo tanto, los mejores resultados con TBD se obtienen con una relación molar ésteres/alcohol 1:1,5 y un 5% (mol) de la misma.

En la *Gráfica 2.1* se comparan los resultados obtenidos con KOH, NaOEt y TBD en las condiciones óptimas de reacción.



Gráfica 2.1. Comparación de los resultados de la transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol con tres bases

En las condiciones óptimas se obtiene un 100% de conversión en 1 hora con KOH y NaOEt. Sin embargo, con TBD el tiempo de reacción es de 6 horas (4 horas para >95%). Por lo tanto, a la hora de escalar esta reacción se pueden utilizar tanto KOH como NaOEt.

2.1.3. Aumento de escala de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2

Una vez optimizada la reacción en escala de 3 g se pasó a utilizar 100 g de mezcla DF2 (337,3 mmol). Para ello se empleó un 1% (en mol) de NaOEt y una relación molar DF2/alcohol 1:1,5. La temperatura de la reacción fue 90°C y la presión de 10 mbar. Se monitorizó la reacción mediante cromatografía de gases y en 2 horas de reacción la conversión fue del 99%. Este resultado es similar con el obtenido a menor escala (100% en 1 hora).

Finalmente se decidió aumentar aún más la escala. Para ello se utilizaron 500 g de mezcla DF2 (1,69 mol) y una relación molar mezcla DF2/EH 1:1,5 en un reactor de 2L con agitación mecánica. Se realizaron varias pruebas, pero se observó que era imposible alcanzar el vacío de 10 mbar óptimo debido a que había pérdidas en el rotor del agitador. Las reacciones llevadas a cabo aparecen en la Tabla 2.6.

Tabla 2.6. Reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol en escala 500 g

Reacción	% Base (mol)	T (°C)	P (mbar)	Tiempo (h)	% Conv.
1	1 (NaOEt)	90	200-210	2	0
2	5 (NaOEt)	90	200-210	2	0
3	5 (NaOEt)	120	200-210	1	0
4	5 (KOH)	90	200-210	2	3
5	5 (KOH)	90	140-150	2	25

Condiciones: 500 g de mezcla DF2 (1,69 mol), base (% mol con respecto a DF2) y relación molar mezcla DF2/EH 1:1,5.

En ningún caso fue posible obtener conversión con NaOEt, a pesar de que se aumentó el porcentaje de base (*reacción 2*) y la temperatura (*reacción 3*). El resultado fue similar con KOH (*reacción 4*), lo que confirma la gran importancia del vacío en esta reacción. Se consiguió mejorar la estanqueidad del rotor del agitador y alcanzar 150 mbar de presión (*reacción 5*) alcanzando un valor de conversión del 25%. Dados los problemas con la pérdida de vacío en el reactor, se decidió volver a las reacciones en matraz, en este caso de 2L, utilizando agitación magnética.

Se llevaron a cabo tres reacciones con diferentes porcentajes de KOH (5, 10 y 15%) con el resto de las condiciones optimizadas previamente. Se monitorizaron las reacciones mediante cromatografía de gases y los resultados aparecen a continuación.

Tabla 2.7. Reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol en escala 500 g

Reacción	Base (%)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1	54
		3	59
		5	61
2	10	1	91
		2	92
3	15	1	96
		2	96
		3	97
		4	100

Condiciones: 500 g de mezcla DF2 (1,69 mol), KOH (% mol con respecto a DF2), relación DF2/EH 1:1,5 (mol), 90°C y 10-20 mbar.

En esta escala fue necesario aumentar el porcentaje de catalizador para alcanzar valores altos de conversión. Con un 15% (mol) de KOH se obtuvo >95% de conversión en 1 hora de reacción, similar al resultado en 1 hora utilizando 5% (mol) de base a menor escala (100%).

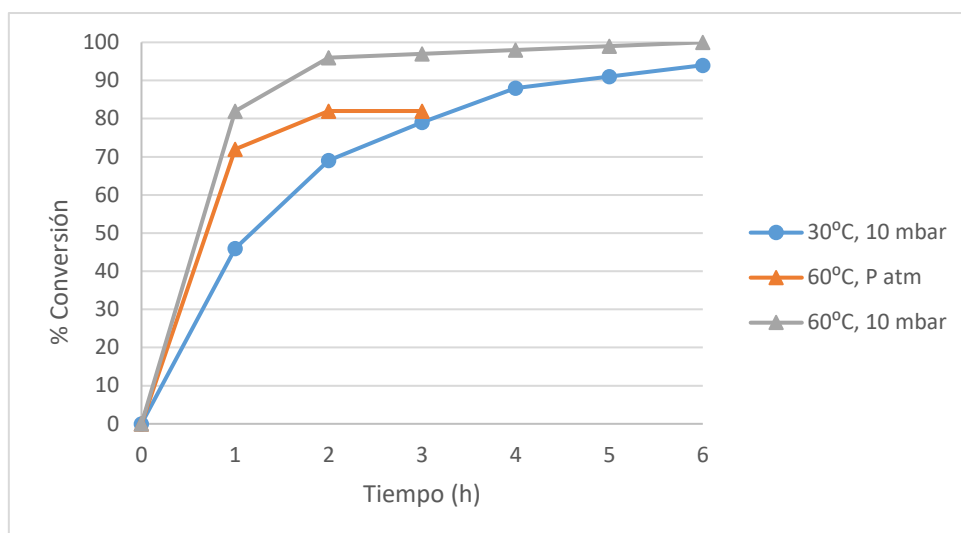
En los antecedentes aparece descrita esta reacción con NaOMe. En concreto se han transesterificado los ésteres del aceite de palma utilizando una relación molar aceite/EH 1:2, 2% (en peso) de base, 1,5 mbar y un intervalo de temperaturas entre 70 y 100°C.⁵² En 7 min de reacción la conversión era del 98%. En este caso el exceso de alcohol es menor (1:1,5) y el porcentaje de base es de 1-15% mol en función de la escala (3 g-500 g), es decir, un máximo de 2,8% en peso obteniéndose una conversión final cuantitativa. La temperatura y la presión se encuentran dentro en los valores descritos en la bibliografía. Por lo tanto, es posible obtener una mezcla de ésteres de 2-etil-1-hexilo de la fracción DF2 en condiciones similares de presión y temperatura, pero con menos alcohol y menos base.

2.1.4. Reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2

Como alternativa a la transesterificación química empleando bases, se decidió estudiar la transesterificación mediante catálisis enzimática. Se utilizaron dos lipasas de *Candida antarctica* comerciales: Novozym 435, inmovilizada en una resina acrílica, y CalB immo Plus C-Lecta, inmovilizada en poliestireno-metacrilato. La primera de ellas presenta una actividad de 10000 U/g y la segunda 9000 U/g. Estas enzimas, al estar inmovilizadas, se pueden recuperar mediante filtración y reutilizar en varios ciclos de reacción, mejorando la productividad del catalizador.

En primer lugar, se optimizó la presión y la temperatura (*Gráfica 2.2*) de la reacción fijando la relación molar ésteres/alcohol 1:5 y un 5% (en peso con respecto a la mezcla de ésteres) de enzima con 3 g de la mezcla DF2. La agitación empleada es de 200 r.p.m., para evitar la rotura de la enzima a mayores velocidades y la consiguiente disminución de su actividad. Por debajo de esa velocidad de agitación no se produce la mezcla adecuada del aceite con el alcohol.

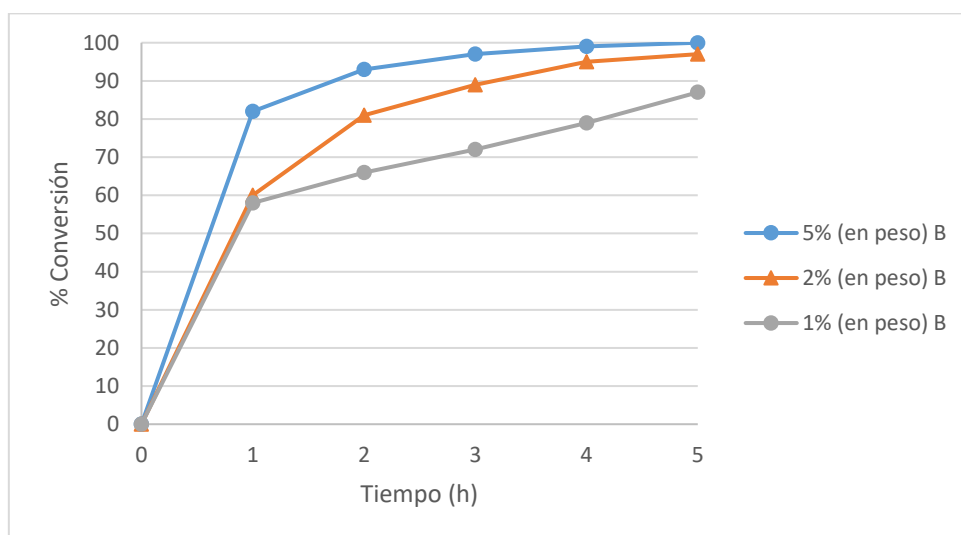
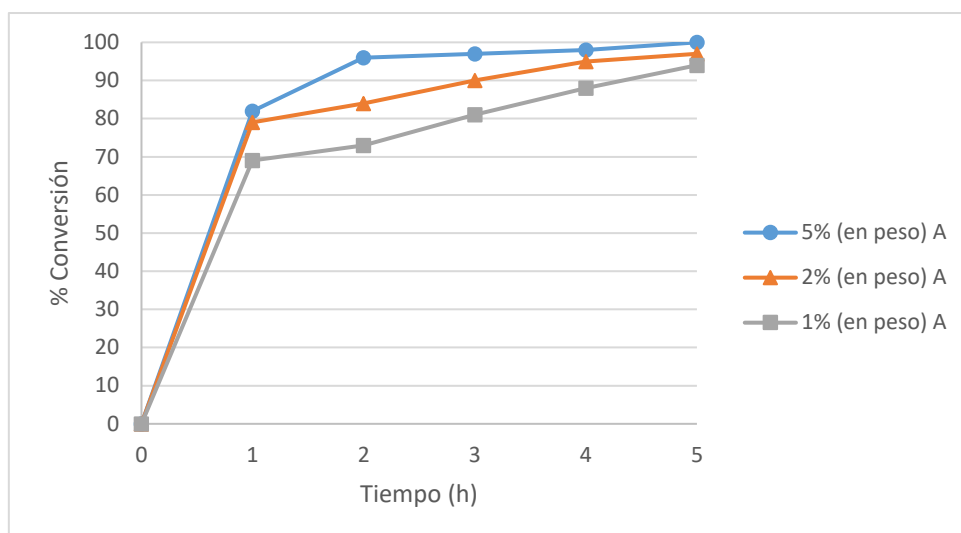
⁵² a) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *J. Oleo. Sci.* **2014**, *63*, 497. b) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *Grasas y aceites* **2014**, *65*, 1.



Gráfica 2.2. Optimización de la temperatura y la presión de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol utilizando Novozym 435

Como era de esperar, la temperatura en el rango de 30 a 60°C es importante para la velocidad de la reacción. Además, el vacío permitió llegar a un 100% de conversión. Manteniendo la mezcla de reacción a 60°C y a una presión de 10 mbar fue posible alcanzar una conversión >90% en 2 horas. Por lo tanto, las condiciones óptimas de temperatura y presión son 60°C y 10 mbar.

El siguiente parámetro optimizado fue el porcentaje de enzima y para ello se llevaron a cabo 3 reacciones con: 1, 2 y 5% (en peso) de Novozym 435 y de CalB Immo Plus con respecto a DF2. Los resultados aparecen en la *Gráfica 2.3*.

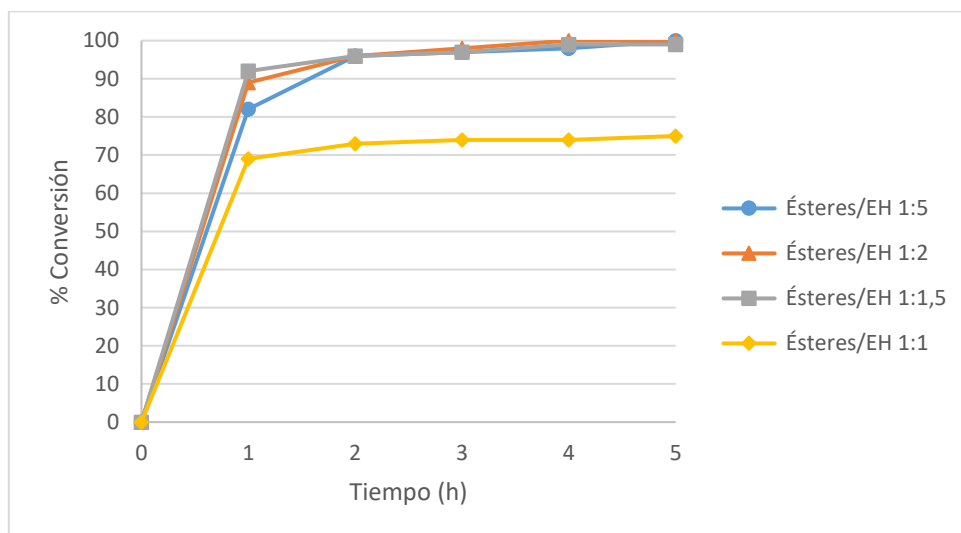


Gráfica 2.3. Optimización del porcentaje (en peso) de Novozym 435 (A) y CalB Immo Plus (B) de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol.

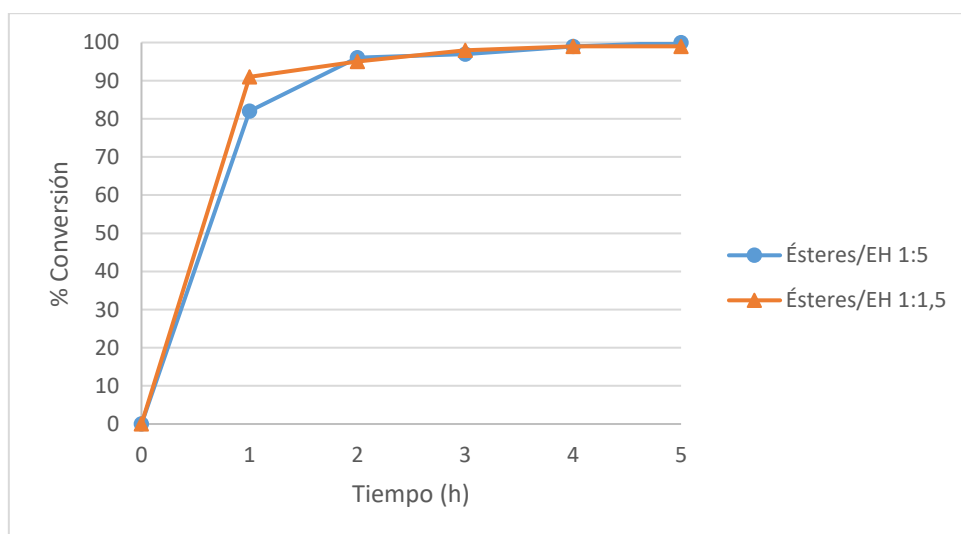
Con las dos enzimas se obtuvieron conversiones superiores al 90% en 5 horas de reacción con los tres porcentajes (excepto utilizando un 1% de CalB Immo Plus), pero con un 5% la reacción fue más rápida ya que se alcanzó este valor en tan sólo 2 horas de reacción.

El siguiente paso consistió en optimizar la relación ésteres/EH manteniendo el porcentaje en peso de enzima, la temperatura a 60°C, 200 r.p.m. de agitación y 10 mbar de presión.

a) Novozym 435



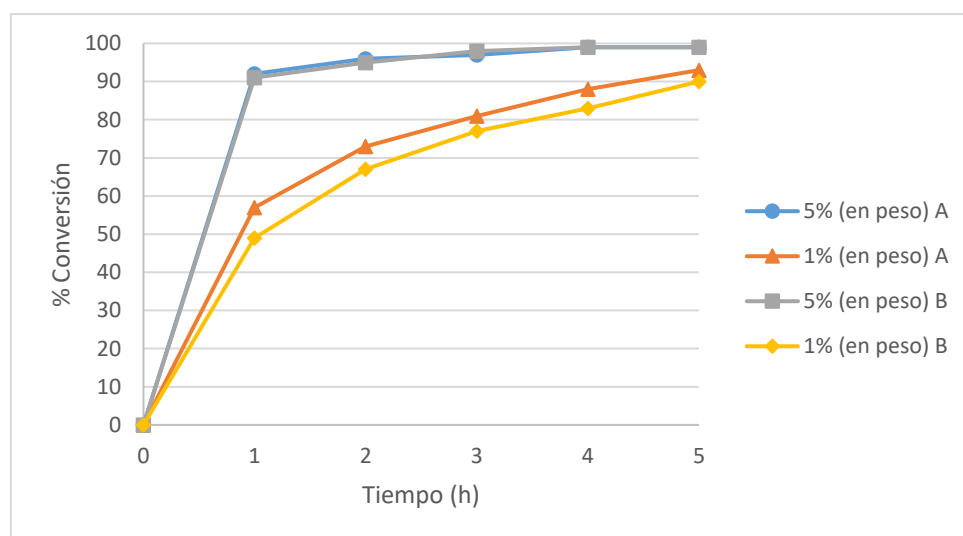
b) CalB Immo Plus



Gráfica 2.4. Optimización de la relación molar ésteres/EH de la reacción de transesterificación con Novozym 435 y CalB Immo Plus de DF2 con 2-etil-1-hexanol.

Cuando se optimizó la relación molar en la reacción enzimática con Novozym 435 (*gráfica superior*) se observó que con las relaciones molares 1:5, 1:2 y 1:1,5 se obtenía un 100% de conversión mientras que con la relación estequiométrica 1:1 la conversión se mantenía en un 73-74% desde la segunda hora de reacción. Como utilizar una relación ésteres/EH mayor de 1:1,5 no tenía un efecto positivo ni en la velocidad de reacción ni en la conversión, ésta fue la relación óptima. Este hecho también se observó con la enzima CalB Immo Plus (*gráfica inferior*).

Con todos estos resultados se pudo concluir que las condiciones óptimas de reacción son: relación molar ésteres/EH 1:1,5, 5% de enzima, 60°C, 200 r.p.m., 10 mbar de presión y 4 horas de reacción. Debido al alto coste de las enzimas se llevó a cabo una última reacción en la que se utilizó un 1% en peso de cada enzima con respecto a DF2 junto con el resto de los parámetros optimizados ya que sólo se había utilizado esta cantidad con la relación molar 1:5. En la *Gráfica 2.5* aparecen los resultados obtenidos con cada enzima.

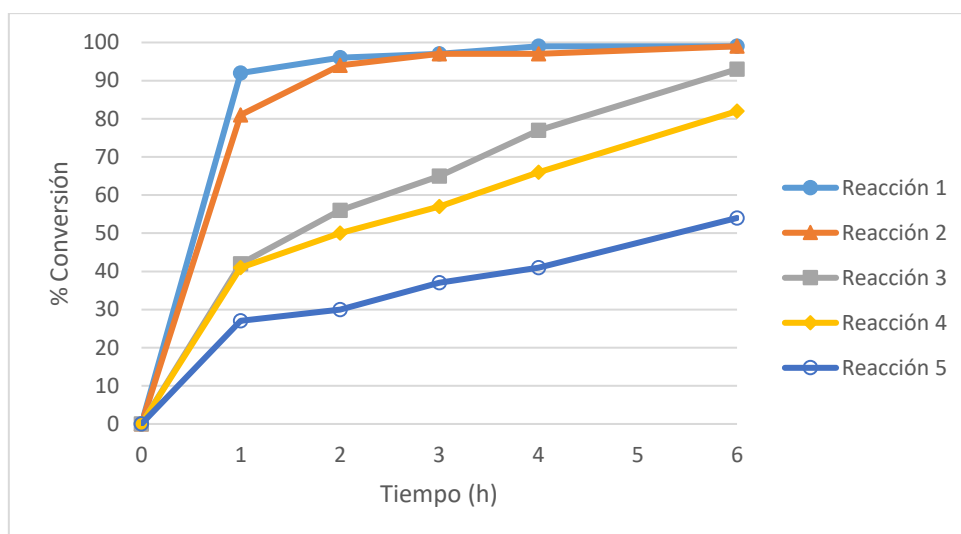


Gráfica 2.5. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol con las enzimas Novozym 435 (A) y CalB Immo Plus (B) en las condiciones óptimas

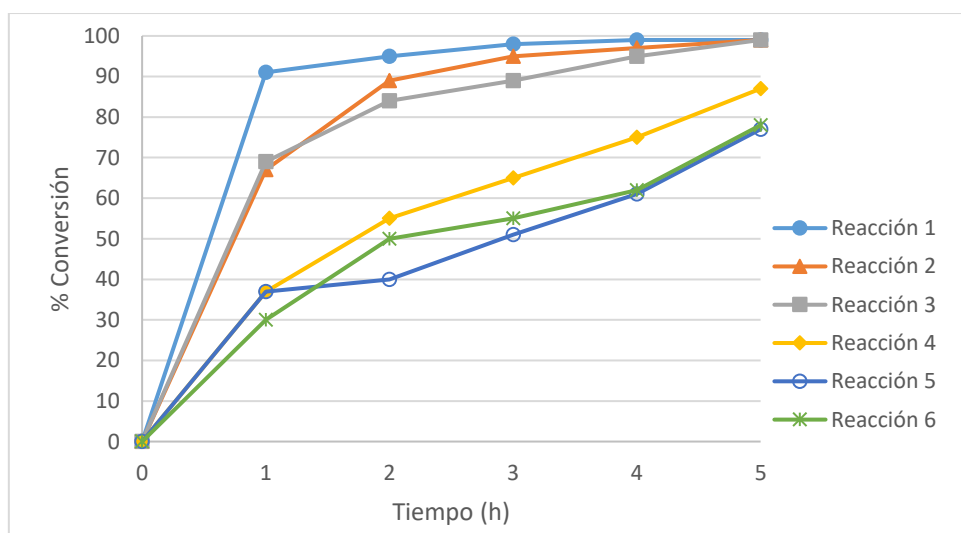
En la gráfica se observa que las dos reacciones en las que se utilizó un 1% (en peso) de enzima eran más lentas, aunque a las 5 horas de reacción la conversión alcanzaba valores superiores al 90% en los dos casos. Además, las dos enzimas permitieron obtener resultados muy similares en las mismas condiciones. Por lo tanto, a la hora de realizar un posible escalado de la reacción se debería valorar un menor uso de enzima, aunque conlleve una menor conversión.

Además, se recuperaron las enzimas de estas cuatro reacciones y se reutilizaron en sucesivos ciclos de reacción. Las enzimas se recuperaron mediante filtración a vacío y lavado de la misma con acetona. En cada una de las reacciones se ajustó la cantidad de reactivos en función de la masa de enzima porque en cada ciclo realizado no se recuperaba la totalidad de la enzima inicial. Las condiciones de las reacciones fueron: relación molar ésteres/EH 1:1,5, 5% (en peso) de enzima con respecto a DF2, 60°C, 200 r.p.m. y 10 mbar de presión. En las siguientes gráficas se representan los resultados obtenidos en cada reacción.

a) Novozym 435



b) CalB Immo Plus



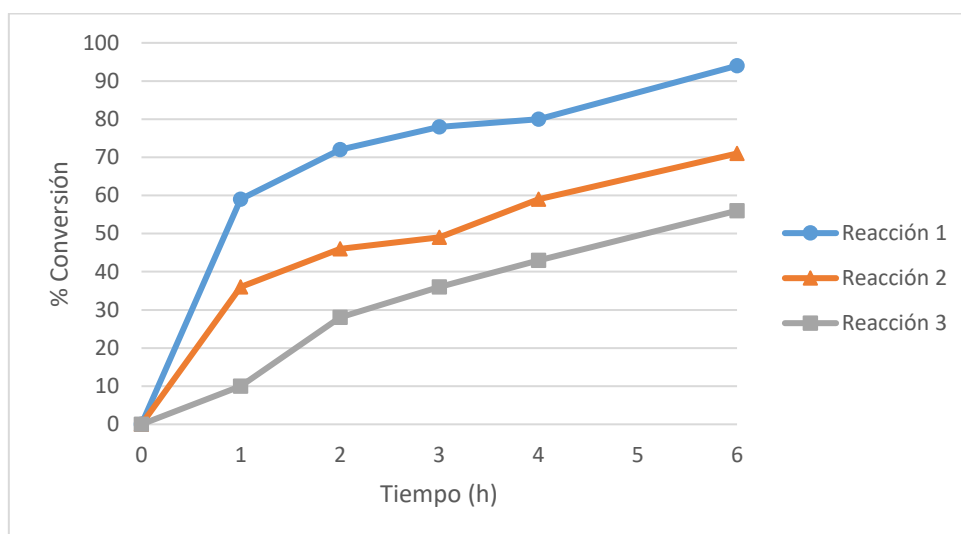
Gráfica 2.6. Recuperación y reutilización las dos enzimas de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol al utilizar un 5% (en peso).

La enzima Novozym 435 se pudo recuperar y reutilizar durante 5 ciclos sucesivos de reacción, aunque a medida que se reutilizaba la actividad de esta disminuía. En la última de las reacciones la conversión obtenida no superaba el 60% quedando lejos de los resultados obtenidos en las primeras reacciones (>99%). Además, a partir de la segunda recuperación fue necesario aumentar el tiempo de reacción hasta 6 horas para obtener resultados similares a los de las primeras reacciones.

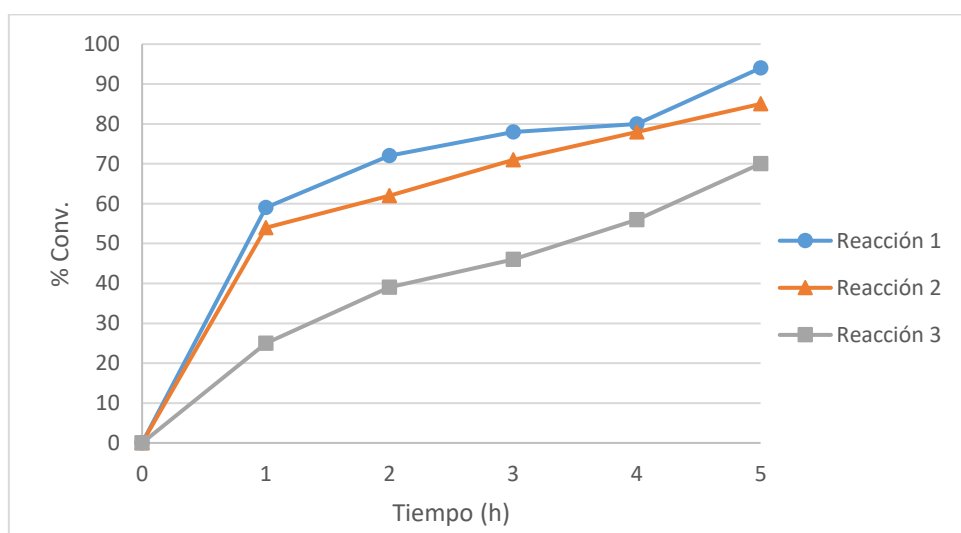
En el caso de la enzima CalB Immo Plus durante las tres primeras reacciones se obtuvo una conversión prácticamente cuantitativa a las 5 horas de reacción. Sin embargo, también se produjo un descenso acusado de la actividad de la enzima a partir de la cuarta reacción pasando de un 82% de conversión durante la primera hora en la primera reacción a un 37% en el cuarto ciclo. Aunque en las reacciones posteriores los resultados globales fueron mejores que con Novozym 435, esta enzima se pudo recuperar y reutilizar durante 6 reacciones con conversiones del 100-78%.

También se recuperaron y reutilizaron las dos enzimas cuando se empleó un 1% (en peso) de cada una de ellas en la reacción de transesterificación con EH las siguientes condiciones: relación molar ésteres/EH 1:1,5, 5% de enzima, 60°C, 200 r.p.m. y 10 mbar de presión (*Gráfica 2.7*).

a) Novozym 435



b) CalB Immo Plus



Gráfica 2.7. Recuperación y reutilización de las dos enzimas de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol al utilizar un 1% (en peso).

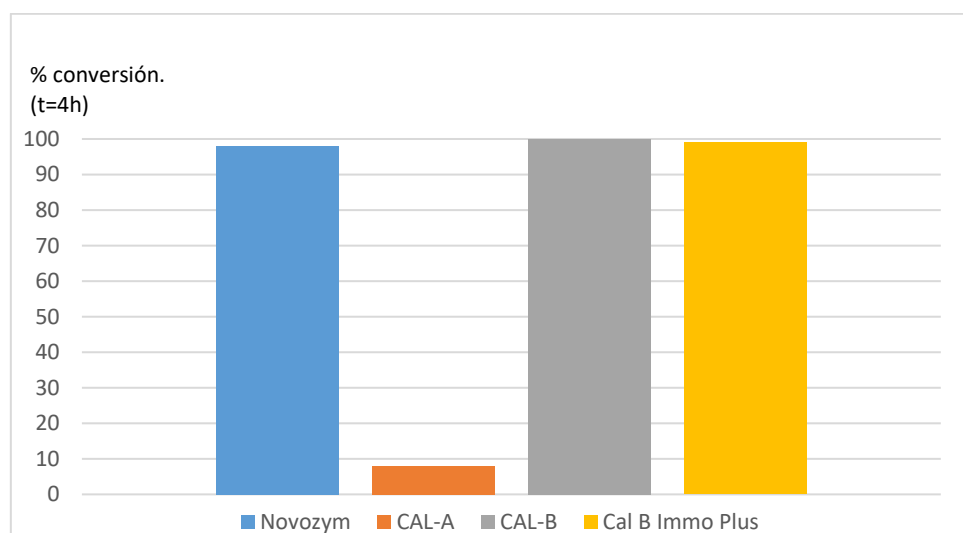
En este caso las dos enzimas perdieron la actividad más rápido y sólo se pudieron realizar 3 ciclos de reacción con cada una de ellas. También hay que tener en cuenta que se utilizó una cantidad muy pequeña de enzima por lo que las pérdidas en el proceso de filtrado fueron más significativas. Además, los resultados de conversión en estas reacciones fueron en todos los casos menores que los obtenidos con un 5% de enzima (Gráfica 2.6).

Como conclusión a todas las reacciones llevadas a cabo se puede decir que la enzima CalB Immo Plus permite obtener mejores resultados durante más ciclos de reacción.

Por último, se utilizaron otras dos lipasas de *Candida Antártica* que habían sido preparadas anteriormente en el Instituto de Catálisis y Petroquímica y ensayadas en nuestro grupo de investigación.⁸⁷ La enzima CAL-A se encuentra inmovilizada sobre sílice modificada con grupos octiltriatoxisilano (8%) y la enzima CAL-B se encuentra inmovilizada en un material híbrido compuesto por metacrilato de metilo (25%) y sílice (68%), modificado en su superficie con grupos octiltriatoxisilano (7%). El compuesto octiltriatoxisilano se une a la superficie mediante enlaces covalentes con los grupos silanol. La presencia de metacrilato de metilo aumenta el tamaño de partícula del soporte. La lipasa se inmoviliza al soporte mediante interacciones hidrofóbicas.

La actividad de las enzimas CAL-A es 19800 U/g y 18500 U/g para CAL-B. Por ello, en los experimentos comparativos se empleó mayor cantidad de CAL-B para tener la misma cantidad de lipasa presente en el medio de reacción.

Se llevaron a cabo dos reacciones en las siguientes condiciones: 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol), relación mezcla DF2/EH 1:5, 3,37% (en peso) de CAL-A o 3,71% (en peso) de CAL-B, 60°C, 10 mbar, 200 r.p.m. y 4 horas de reacción. Se compararon los resultados con los obtenidos con las enzimas Novozym 435 y Cal B Immo Plus en las mismas condiciones con un 5% de enzima.

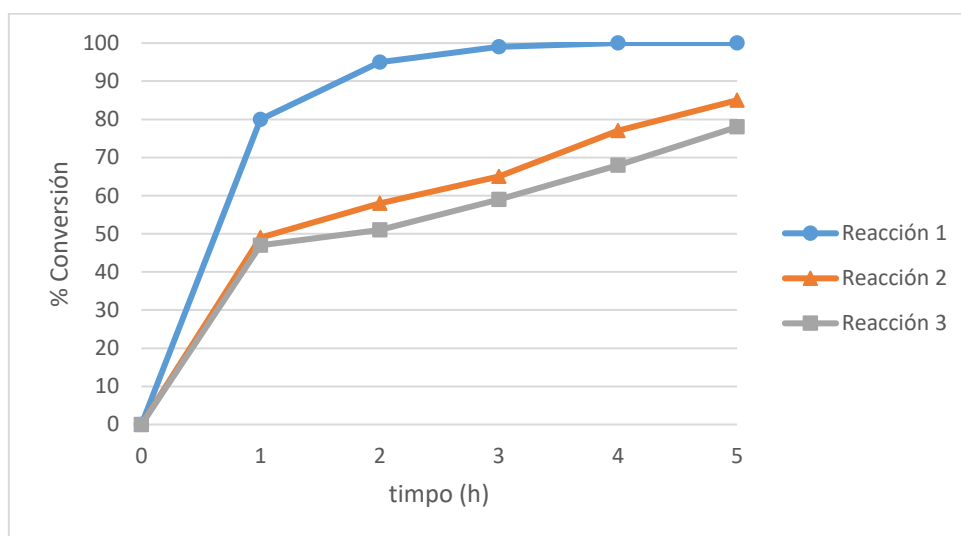


Gráfica 2.8. Comparación de resultados de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol con las cuatro enzimas

⁸⁷ De Torres M., Jiménez-Osés G., Mayoral J. A., Pires E., Blanco R. M., Fernández O., *Catal. Today* **2012**, 195, 76.

En la gráfica se observa que todas las enzimas inmovilizadas permitieron obtener una conversión prácticamente cuantitativa, excepto la enzima soportada sólo en sílice, lo que indica que este material no es adecuado para soportar enzimas con las que se realiza una reacción de transesterificación.

Debido a los resultados que se obtuvieron con la enzima CAL-B, ésta se recuperó y reutilizó al igual que en los casos anteriores. Los resultados aparecen en *Gráfica 2.9*.



Gráfica 2.9. Recuperación y reutilización de la enzima CAL-B en la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol

Al comparar la recuperabilidad de esta enzima con las comerciales se observa que en el tercer ciclo de reacción la conversión descendió hasta el 78% mientras que con Novozym 435 la conversión era del 93% (*Gráfica 2.6, superior*) y con CalB Immo Plus del 99% (*Gráfica 2.6, inferior*).

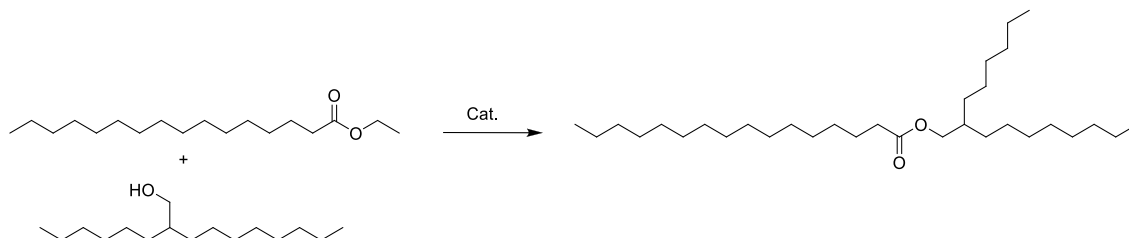
Finalmente se llevó a cabo esta reacción con la enzima Lipozyme 435, con las mismas características que la enzima Novozym 435 pero la calidad es de grado alimentario. Se utilizaron 3 g de mezcla DF2 (10,1 mmol), relación molar ésteres/EH 1:1,5, 200 r.p.m., 60°C y 10 mbar. En 6 horas de reacción la conversión de la reacción fue del 93%, valor ligeramente inferior al obtenido con Novozym 435 (99%) en 4 horas. También se recuperó la enzima y se reutilizó la enzima durante siete reacciones con conversiones comprendidas entre el 91 y el 97%.

En la bibliografía aparece descrita la reacción de transesterificación con diferentes enzimas y condiciones de reacción para diferentes aceites. Se han comparado los resultados de la reacción catalizada con Novozym 435. Gryglewicz y colaboradores utilizaron una relación aceite de colza/EH 1:1, 2% (en peso) de enzima y 35°C.⁴⁷ Mientras que en este caso la relación molar ésteres DF2/EH es 1:1,5, el porcentaje (en peso) de enzima un 5%, la temperatura es de 60°C y es necesario una presión de 10 mbar. A pesar de que se utiliza mayor cantidad de alcohol, de enzima y temperatura, se obtiene una conversión >95% en 2 horas de reacción. Sin embargo, el tiempo de reacción de la reacción del aceite de colza fue de 50 horas para obtener un 98% de conversión. Estos resultados pueden explicarse a que en ninguno de los casos se han llevado a cabo las reacciones empleando la temperatura óptima de trabajo de Novozym 435, que es aproximadamente 50-60°C. Por lo tanto, se han mejorado las condiciones descritas en la bibliografía.

⁴⁷ Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 45, 25.

2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol

2.2.1. Optimización de la reacción de transesterificación química de palmitato de etilo



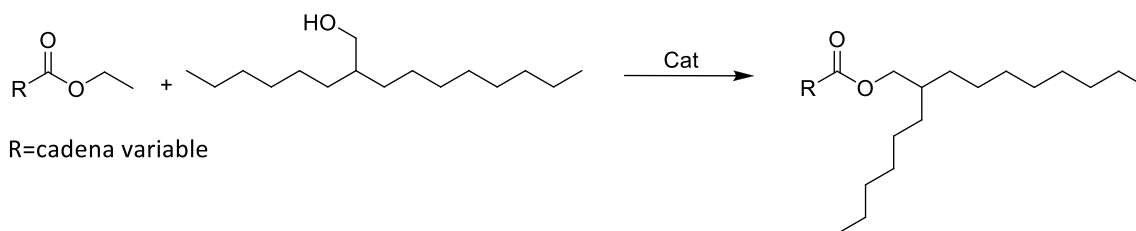
Esquema 2.12. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo con 2-hexil-1-decanol

Al igual que en la reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol se llevó a cabo en primer lugar la reacción entre el palmitato de etilo y 2-hexil-1-decanol. De esta forma se pudo detectar y conocer el tiempo de retención en cromatografía de gases para que posteriormente sirviera como referencia en el cálculo de la conversión de las reacciones con la mezcla DF2.

Se realizó la reacción de transesterificación en las condiciones óptimas para la mezcla DF2 y 2-etil-1-hexanol. Se utilizaron 6 g de palmitato de etilo (21,09 mmol), una relación molar palmitato de etilo/2-hexil-1-decanol (HD) 1:1,5 y un 5% (mol) de KOH con respecto al palmitato. La temperatura de la reacción fue de 90°C y la presión de 10 mbar. En esta reacción también fue necesario emplear vacío para desplazar el equilibrio de la reacción hacia la formación del producto y eliminar el etanol que se forma. Al utilizarse KOH como catalizador fue necesario neutralizar el exceso con HCl obteniendo los ésteres mediante extracción con CH₂Cl₂.

La conversión en 5 horas de reacción fue del 99%. Mediante los experimentos de RMN en CDCl₃ se confirmó su estructura.

2.2.2. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2



Esquema 2.13. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con 2-hexil-1-decanol

A partir de las condiciones optimizadas en la reacción con 2-etil-1-hexanol (relación molar mezcla DF2/alcohol 1:1,5, 90°C y 10 mbar de presión), se llevaron a cabo dos reacciones utilizando dos cantidades distintas de KOH (1% mol y 5% mol) con respecto a DF2 (6 g de mezcla DF2 (20,2 mmol)). Las reacciones se monitorizaron mediante cromatografía de gases y la conversión se determinó por cromatografía de gases usando los picos de palmitato de etilo y palmitato de 2-hexil-1-decilo entre todos los presentes en la mezcla. Utilizando un 5% (mol) de base se obtuvo un 98% de conversión en 1 hora de reacción. Al disminuir el porcentaje de base al 1% (mol) la conversión no fue superior a 9% durante 4 horas.

En esta reacción también se utilizó NaOEt como base. En un principio se llevó a cabo con las condiciones óptimas para la reacción con 2-etil-1-hexanol y un 1% (mol) de base con respecto a DF2, pero durante 4 horas no se produjo ningún cambio en la mezcla de ésteres inicial. Al utilizar un 5% (mol) la conversión de la reacción no superó el 11% (*reacción 1, tabla 2.8*).

El 2-hexil-1-decanol es un alcohol de mayor peso molecular y presenta mayor viscosidad (48 cSt) que el 2-etil-1-hexanol (12 cSt) lo que puede provocar que no sea tan miscible con la mezcla DF2 como lo era el 2-etil-1-hexanol. Para mejorar la miscibilidad de los reactivos se llevaron a cabo varias reacciones en las que se modificaron alguno de los parámetros de la reacción. Se aumentó la temperatura de la reacción hasta 120°C, o se añadió un codisolvente manteniendo la temperatura a 90°C. Como codisolvente se eligió un alcohol terciario para evitar la transesterificación de la mezcla DF2 con el disolvente.

Tabla 2.8. Estudio de la reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con 2-hexil-1-decanol y NaOEt

Reacción	Codisolvente	T (°C)	Tiempo (h)	% Conv.
1	-	90	1	11
			2	11
2	-	120	1	94
			2	99
3	^t BuOH (5 mL)	90	1	93
			2	99
4	^t BuOH (10 mL)	90	1	91
			4	95

Condiciones: 3 g de mezcla DF2 (10,1 mmol), relación molar mezcla DF2/HD 1:1,5, 5% (mol) de NaOEt con respecto a DF2 y 10 mbar.

En la tabla se observa que al aumentar la temperatura de reacción aumentó la conversión hasta el 99% en 2 horas (*reacción 2*). Cuando se añadieron 5 mL de codisolvente a 90°C la conversión también fue del 99% en 2 horas (*reacción 3*). En cambio, si el volumen era de 10 mL la reacción era algo más lenta por la mayor dilución de los reactivos (*reacción 4*). Por lo tanto, lo idóneo es utilizar la mínima cantidad de disolvente posible o aumentar la temperatura hasta 120°C para obtener una conversión prácticamente cuantitativa.

Tanto con KOH como con NaOEt fue posible llevar a cabo la reacción con los mismos resultados (99%) en 2 horas de reacción.

2.2.3. Optimización de la reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2

Paralelamente se llevó a cabo la reacción de transesterificación con las dos enzimas que se habían utilizado en la reacción con 2-etil-1-hexanol: Novozym 435 y CalB immo Plus C-Lecta. Además de utilizar las condiciones optimizadas previamente, se llevaron a cabo varias reacciones aumentando la velocidad de agitación y añadiendo un codisolvente debido a los problemas observados en las pruebas iniciales de la reacción de transesterificación química. Las reacciones se monitorizaron mediante cromatografía de gases.

Tabla 2.9. Estudio de la reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2 con Novozym 435 y con CalB Immo Plus

Reacción^a	Enzima	% en peso de enzima^b	Codisolvente	Agitación (r.p.m.)	Tiempo (h)	% Conv.
1	Novozym 435	1	-	200	1	19
					3	30
					6	49
2	Novozym 435	5	-	200	1	31
					3	46
					6	74
3	Novozym 435	5	-	400	1	38
					3	75
					6	93
4	Novozym 435	5	tBuOH (5 mL)	200	1	62
					3	86
					6	95
5	CalB Immo Plus	1	-	200	1	9
					3	24
					6	44
6	CalB Immo Plus	5	-	200	1	40
					3	74
					6	91
7	CalB Immo Plus	5	-	400	1	72
					3	90
					6	96
8	CalB Immo Plus	5	tBuOH (5 mL)	200	1	70
					3	88
					6	95

Condiciones: ^a 6 g de mezcla DF2 (20,2 mmol), relación molar mezcla DF2/HD 1:1,5, 60°C y 10 mbar.
^b El porcentaje en peso de enzima es respecto a DF2.

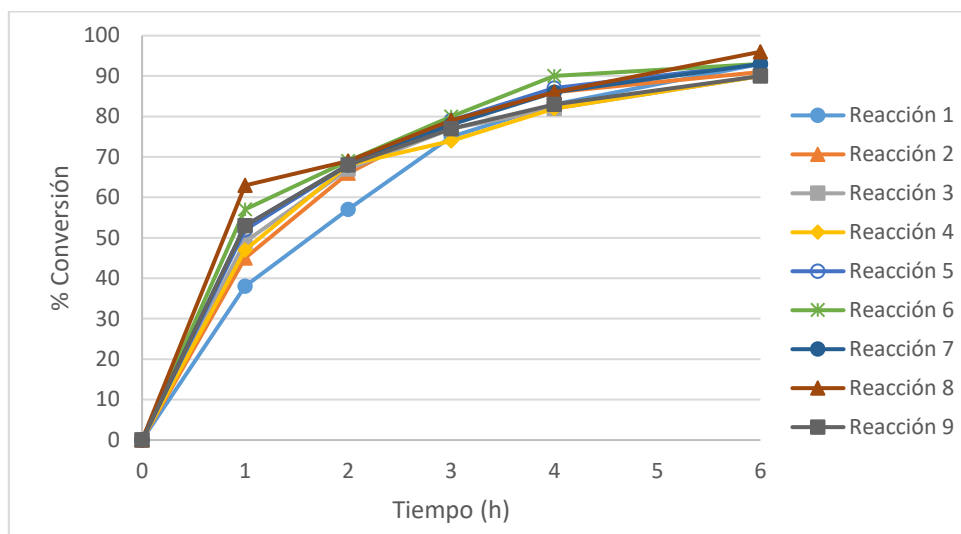
En la tabla se observa que la conversión fue mayor cuando se utilizó un 5% (en peso) de enzima (*reacciones 2 y 6*) en lugar de un 1% (*reacciones 1 y 5*), pero en cualquier caso los resultados distaban de los esperados. Sin embargo, un aumento de la velocidad de agitación supuso un significativo aumento de la conversión del 74% (*reacción 2*) al 93% en 6 horas reacción (*reacción 3*) con Novozym 435, lo que parecía indicar un problema de mezcla a baja velocidad de agitación. Esto se confirmó mediante la adición de un codisolvente, que permitió aumentar también la conversión hasta el 95% (*reacción 4*) al aumentar la homogeneidad de la mezcla de reacción. Con CalB Immo Plus el efecto de aumentar la agitación o añadir un codisolvente no fue tan significativo para la conversión final, del 91% al (*reacción 6*) al 96-95% (*reacciones 7 y 8*), y solo tuvo un impacto en la velocidad de reacción (del 40% al 70% de conversión en 1 h) (*reacciones 6, 7 y 8*).

Por lo tanto, para llevar a cabo la reacción de transesterificación con Novozym 435 con conversiones >90% es necesario utilizar una velocidad de agitación media o la adición de un codisolvente. Con la enzima CalB Immo Plus se obtiene una conversión >95% en los dos casos.

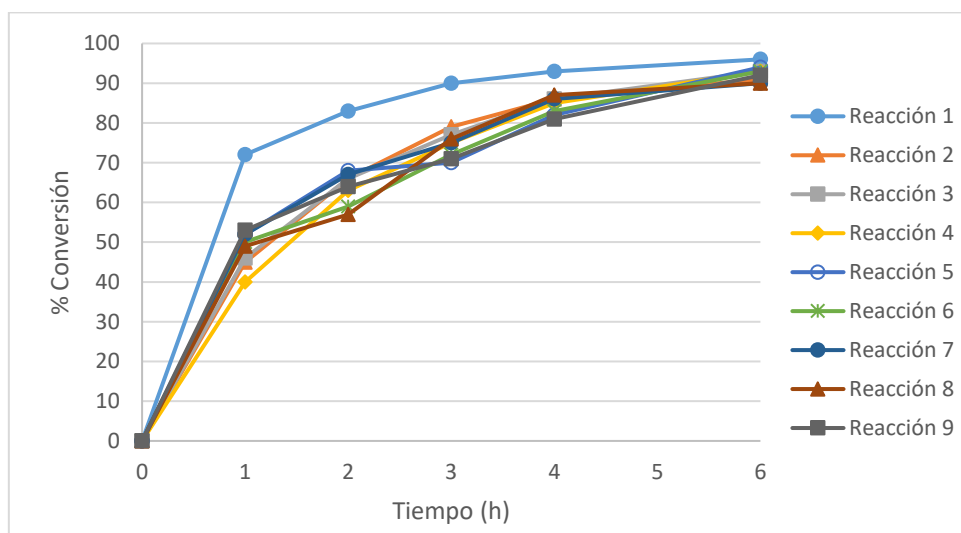
Debido a los buenos resultados que se obtuvieron en estas reacciones se recuperaron las dos enzimas mediante filtración, lavado con acetona y posteriormente se reutilizaron en sucesivos ciclos de reacción empleando mismas condiciones optimizadas.

En la *Gráfica 2.10* aparece representada la evolución de cada una de las reacciones realizadas con las dos enzimas en estas condiciones: 5% (en peso) de enzima con respecto a DF2, relación molar mezcla DF2/HD 1:1,5, 400 r.p.m., 60°C y 10 mbar.

a) Novozym 435



b) CalB Immo Plus

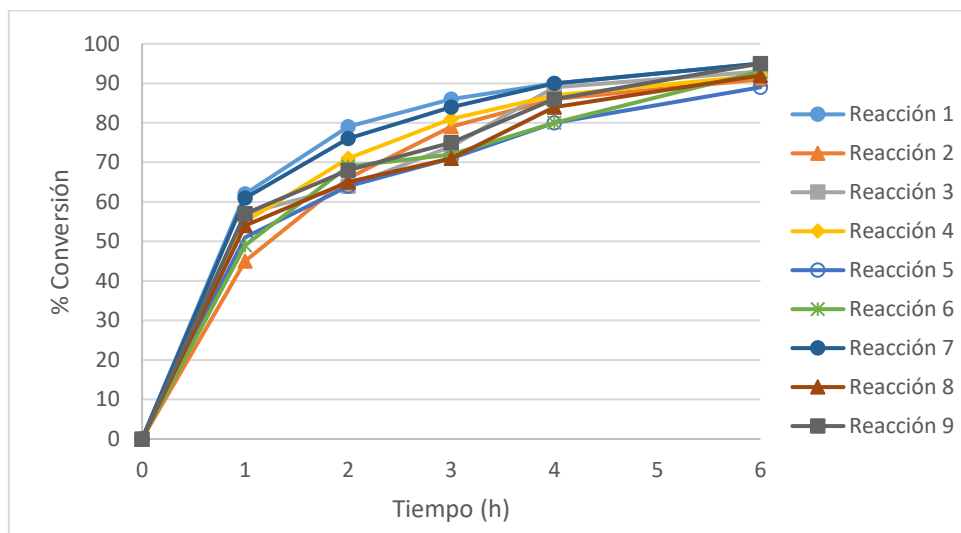


Gráfica 2.10. Recuperación y reutilización de las dos enzimas de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-hexil-1-decanol a 400 r.p.m.

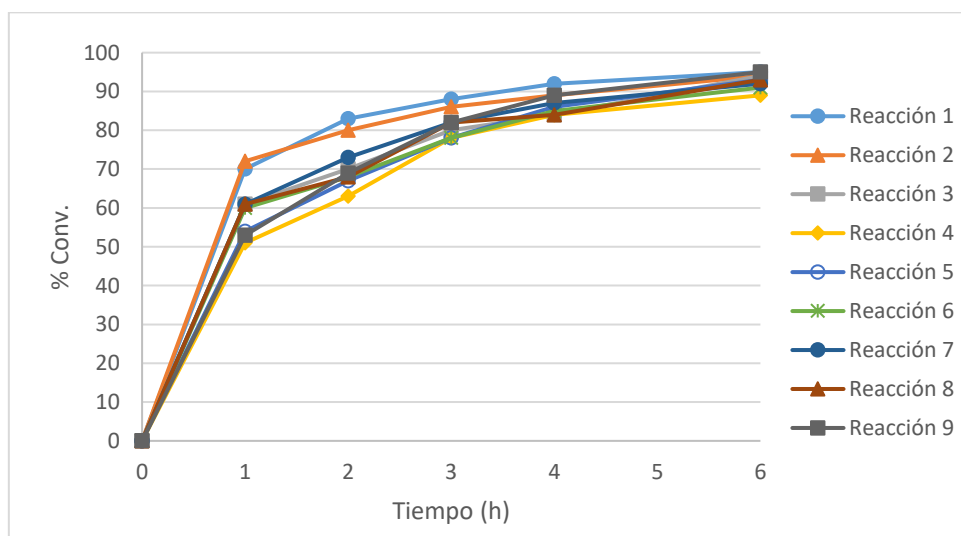
En las dos gráficas se observa que en estas condiciones las dos enzimas se pudieron recuperar y reutilizar en al menos 9 ciclos de reacción sin pérdida de la actividad ya que en todas ellas la conversión es superior al 90% en 6 horas de reacción. Este resultado contrasta con la pérdida de actividad observada en el caso de la transesterificación con EH, lo que parece indicar un papel del alcohol en la desactivación de la enzima.

También se estudió la recuperabilidad de las dos enzimas cuando en la reacción se añadía un codisolvente para mejorar la miscibilidad de los reactivos. Las condiciones de las reacciones eran: 5% (en peso) de enzima con respecto a DF2, relación molar mezcla DF2/HD 1:1,5, 5 mL de ^tBuOH, 60° y 10 mbar.

c) Novozym 435



d) CalB Immo Plus



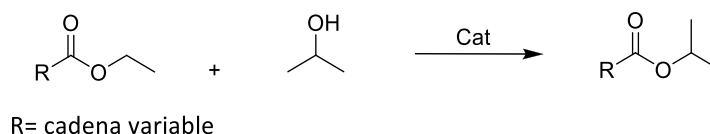
Gráfica 2.11. Recuperación y reutilización de las dos enzimas de la reacción de transesterificación de DF2 con 2-hexil-1-decanol y la adición de un codisolvente

Al igual que sucedía en las dos reacciones anteriores (Gráfica 2.10), las dos enzimas se pudieron recuperar y reutilizar durante al menos 9 ciclos de reacción. Las conversiones finales con cada enzima se encontraban entre el 89 y 95%.

Por último, se utilizó Lipozyme 435, misma enzima pero con calidad de grado alimentario, para comprobar si se obtenían los mismos resultados que con la enzima Novozym 435. Se llevó a cabo esta reacción en las condiciones óptimas: 5% (en peso) de enzima con respecto a DF2, relación molar mezcla DF2/2-hexil-1-decanol 1:1,5, 400 r.p.m., 60°C y 10 mbar de presión. La conversión fue del 90% en 6 horas de reacción. Este resultado es similar al obtenido con Novozym 435 en el mismo tiempo de reacción (93%).

2.3. Reacción de transesterificación con isopropanol

2.3.1. Optimización de la reacción transesterificación química de la mezcla DF2



Esquema 2.14. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con isopropanol

La reacción de transesterificación con un alcohol secundario es más difícil que con uno primario, debido a la menor reactividad de éste cuando se produce la etapa de adición nucleófila del alcohol al éster. Por lo tanto, el hecho de utilizar isopropanol en esta reacción era un reto.

En primer lugar, se llevó a cabo la reacción de transesterificación con isopropanol utilizando KOH como catalizador. Para ello se utilizaron 6 g de mezcla DF2 (20,2 mmol), un 5% (mol) de base con respecto a la cantidad inicial de DF2 y diferentes relaciones molares ésteres/ⁱPrOH. Se mantuvo la temperatura de la reacción a 90°C. En esta reacción no se empleó vacío ya que las temperaturas de ebullición de etanol (78°C) e isopropanol (82°C) son muy parecidas y retirar el etanol que se forma para desplazar el equilibrio supondría eliminar también el isopropanol. Para favorecer la formación de los productos se utilizó un exceso de isopropanol. La reacción se monitorizó mediante cromatografía de gases usando los picos de palmitato de isopropilo y palmitato de etilo entre todos los presentes en la mezcla. Al igual que en reacciones anteriores en medio básico fue necesario neutralizar la disolución hasta pH 7 y extraer los productos de reacción con diclorometano.

Tabla 2.10. Optimización de la relación molar ésteres/ⁱPrOH de la reacción de transesterificación de DF2 con isopropanol

Reacción	Mezcla DF2/ ⁱ PrOH (mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	1:5	1	19
		4	19
		24	19
2	1:10	1	24
		4	24
		24	24
3	1:50	1	46
		4	46
		24	46
4	1:100	1	44
		4	44
		24	44

Condiciones: 6 g mezcla DF2 (20,2 mmol), KOH 5% (mol con respecto a DF2) y 90°C.

Estos resultados indican que se alcanzaba el equilibrio de reacción en 1 hora. La relación molar más adecuada para llevar a cabo la reacción es 1:50 porque aumentarla hasta 1:100 no supuso un aumento de la conversión.

Para mejorar estos resultados se realizaron varias pruebas con diferentes porcentajes molares de KOH: 5, 10 y 15%. Además, se evaporó la mezcla etanol/isopropanol en el rotavapor y se volvió a añadir la cantidad inicial de isopropanol para favorecer el desplazamiento del equilibrio.

Tabla 2.11. Optimización de la cantidad de KOH de la reacción de transesterificación de DF2 con isopropanol

Reacción	% KOH (mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1	46
		6 ^a	46
		24	46
2	10	1	88
		6 ^a	88
		24	89
3	15	1	90
		6 ^a	90
		24	90

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), KOH (% mol con respecto a DF2), relación molar DF2/ⁱPrOH 1:50 y 90°C. ^a Evaporación de la mezcla ⁱPrOH/EtOH y posterior adición de la misma cantidad inicial de ⁱPrOH.

En la tabla se observa que el hecho de evaporar la mezcla de etanol e isopropanol no supuso una mejoría en la conversión en ninguna de las reacciones. Sin embargo, empleando un 10 o 15% (mol) de KOH se obtuvo un 90% de conversión en 1 hora de reacción (*reacciones 2 y 3*). Por lo tanto, el porcentaje óptimo de base es 10-15% (mol) y transcurren en menos de 2 horas.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos con KOH se llevó a cabo la reacción con NaOEt y se optimizaron las condiciones utilizando esta base. Los resultados aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 2.12. Optimización de la cantidad de NaOEt de la reacción de transesterificación de DF2 con isopropanol

Reacción	% NaOEt (mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	1	64
		2	64
2	10	1	97
		2	97
3	15	1	97
		2	97

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), NaOEt (% mol con respecto a DF2), relación molar DF2/ⁱPrOH 1:50 y 90°C.

En este caso empleando un 10% de base se alcanzó una conversión del 97% en 1 hora de reacción (*reacción 2*) mejorando los resultados obtenidos con un 15% (mol) de KOH (90%). No se observó diferencia entre emplear un 15% (en mol) y un 10% (en mol) (*reacciones 2 y 3*).

Para intentar alcanzar conversión total con las dos bases se realizaron dos pruebas con cada una de ellas. La primera consistió en añadir cada hora un 5% (mol) de base para comprobar si esta base se desactivaba con el paso del tiempo. La segunda prueba consistió en añadir un 5% (mol) de base, evaporar la mezcla etanol/isopropanol para desplazar el equilibrio y volver a añadir la cantidad inicial de isopropanol y otro 5% (mol) de base. Los resultados obtenidos se recogen en la *Tabla 2.13*.

Tabla 2.13. Optimización de la reacción de transesterificación de DF2 con isopropanol y dos bases distintas

<i>Reacción</i>	<i>% Base (mol)</i>	<i>Tiempo (h)</i>	<i>% Conv.</i>
1	5 (KOH)	1	53
	10	2	84
	15	3	90
	20	4	97
2	5 (KOH)	1 ^a	58
	10	2 ^a	68
	15	3 ^a	81
	20	4	92
3	5 (NaOEt)	1	59
	10	2	94
	15	3	97
	20	4	97
4	5 (NaOEt)	1 ^a	79
	10	2 ^a	90
	15	3 ^a	96
	20	4	99

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), base (% mol con respecto a DF2), relación molar DF2/iPrOH 1:50 y 90°C. ^a Evaporación de la mezcla ⁱPrOH/EtOH y posterior adición de la cantidad inicial de ⁱPrOH.

Cuando se utiliza como base KOH no es necesario evaporar la mezcla etanol/isopropanol (*reacción 1*) ya que se alcanza una mayor conversión: 97% en 4 horas de reacción. Con NaOEt se obtuvieron resultados similares en las dos reacciones (*3 y 4*) alcanzándose prácticamente una conversión del 100% (*reacción 4*). El hecho de añadir un 5% (mol) de base cada hora no tiene ningún efecto positivo, ya que al adicionar de una vez la base (10% mol) se alcanzó un 97% en 1 hora (*reacción 2 de la Tabla 2.12*) mientras que en este caso se obtuvo un 94% de conversión en 2 horas (*reacción 3*).

2.3.2. Reacción transesterificación química de la mezcla DF2 en escala de 100 g

El siguiente paso ha sido la optimización de la reacción empleando 100 g de mezcla DF2 y utilizando como base NaOEt ya que permite alcanzar mejores resultados.

Tabla 2.14. Optimización de la reacción de transesterificación de DF2 con isopropanol en escala de 100 g

Reacción	DF2/ ⁱ PrOH (mol)	% NaOEt (mol)	Tiempo (h)	% Conv.		
1	1:10	10	1	86		
			2	86		
2	1:20	10	1	92		
			2	92		
3	1:30	10	1	95		
			2	95		
4	1:10	5	1	85		
			2	85		
			3	85		
		15	4	91		
			8	94		
			9	94		
			15	94		
5	1:30	20	9	94		
			1:10	5	1 ^a	86
			1:10	10	2 ^a	96
	1:10	15	3 ^a	99		

Condiciones: 100 g mezcla DF2 (337,3 mmol), NaOEt (% mol con respecto a DF2) y 90°C.

^a Evaporación de la mezcla ⁱPrOH/EtOH y posterior adición de la cantidad inicial de ⁱPrOH.

En la tabla se observa que en las reacciones a escala de 100 g donde se añadió la base (10%) y el isopropanol desde el inicio, los valores de conversión se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo (*reacciones 1, 2 y 3*). El mejor resultado (95%) se obtuvo utilizando una relación molar DF2/isopropanol 1:30 (*reacción 3*).

La simple adición de catalizador en porciones del 5% no permitía superar el 85% de conversión (*reacción 4*), sino que era preciso añadir más isopropanol para conseguir alcanzar hasta el 94%. Finalmente fue posible obtener una conversión del 99% combinando la evaporación de la mezcla ⁱPrOH/EtOH cada hora con adición de base e isopropanol, utilizando un total de 15% (mol) de base y una relación molar DF2/isopropanol total de 1:30 (*reacción 5*).

Con estos resultados se puede concluir que es necesario utilizar una relación molar DF2/isopropanol 1:30 independientemente de si se evapora la mezcla de disolventes y se añade de nuevo el reactivo o se adiciona desde el principio a la reacción. En cuanto a la cantidad de base el valor oscila entre el 10% o el 15% (mol) respecto a DF2 para alcanzar una conversión entre el 95-99%.

Al comparar los resultados obtenidos en la reacción de transesterificación alcalina de la fracción DF2 con los resultados publicados de otros aceites se observa que a pesar de que otros autores utilizaron menor exceso de isopropanol (1:6), una temperatura de 40-60°C y un intervalo de 30 min a 1 hora de reacción alcanzaron conversiones mucho menores: 45-65% para los ésteres de los aceites de canola, palma, cacahuete, soja y girasol (con NaOH),⁵⁹ 84% para los ésteres del aceite de almendra Macauba (con NaOMe),⁶² 59% para el aceite de caléndula y 72% aceite de tung (con NaOMe).^{66b} Sin embargo, la reacción de transesterificación del aceite de algodón aparece descrita con un 99% de conversión empleando una relación molar aceite/isopropanol de 1:24, a 70°C, con 1,5% (en peso) de KOH durante 2 horas.⁶⁰ Este resultado es similar (95% de conversión) al obtenido con la mezcla DF2 en condiciones parecidas: relación molar aceite/alcohol 1:30, 2,3% (en peso) de NaOEt, 90°C y 1 hora.

2.3.3. Reacción de transesterificación enzimática de la mezcla DF2

Por otro lado, se llevó a cabo esta reacción con Novozym 435 y CalB Immo Plus en las mismas condiciones (porcentaje en peso de enzima, temperatura y agitación) que las reacciones de transesterificación enzimática con 2-etil-1-hexanol y 2-hexil-1-decanol. Sin embargo, en las reacciones con isopropanol la relación molar ésteres DF2/alcohol fue 1:50. El tratamiento de la reacción consistió en filtrar la enzima y recuperar la disolución.

Tabla 2.15. Optimización de la reacción de transesterificación enzimática con isopropanol

Reacción	Enzima	Tiempo (h)	% Conv.
1	Novozym 435	1	23
		6	45
		24	65
2	CalB Immo Plus	1	28
		6	66
		24	78
3	CalB Immo Plus	1	25
		6 ^a	67
		24	81
4	CalB Immo Plus ^b	1	26
		6	47
		24	59

Condiciones: 3 g mezcla DF2 (10,1 mmol), relación molar DF2/iPrOH 1:50, 5% (en peso) de enzima con respecto a DF2, 200 r.p.m. y 60°C.
^a Evaporación de la mezcla ⁱPrOH/EtOH y posterior adición de la cantidad inicial de ⁱPrOH. ^b500 r.p.m.

⁵⁹ Likozar B., Levec J., *Applied Energy* **2014**, 123, 108.

⁶² Silva L. N., Cardoso C. C., Pasa V. M. D., *Fuel* **2016**, 166, 453.

^{66b} Biermann U., Butte W., Holtgreffe R., Fede W., Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, 112, 103.

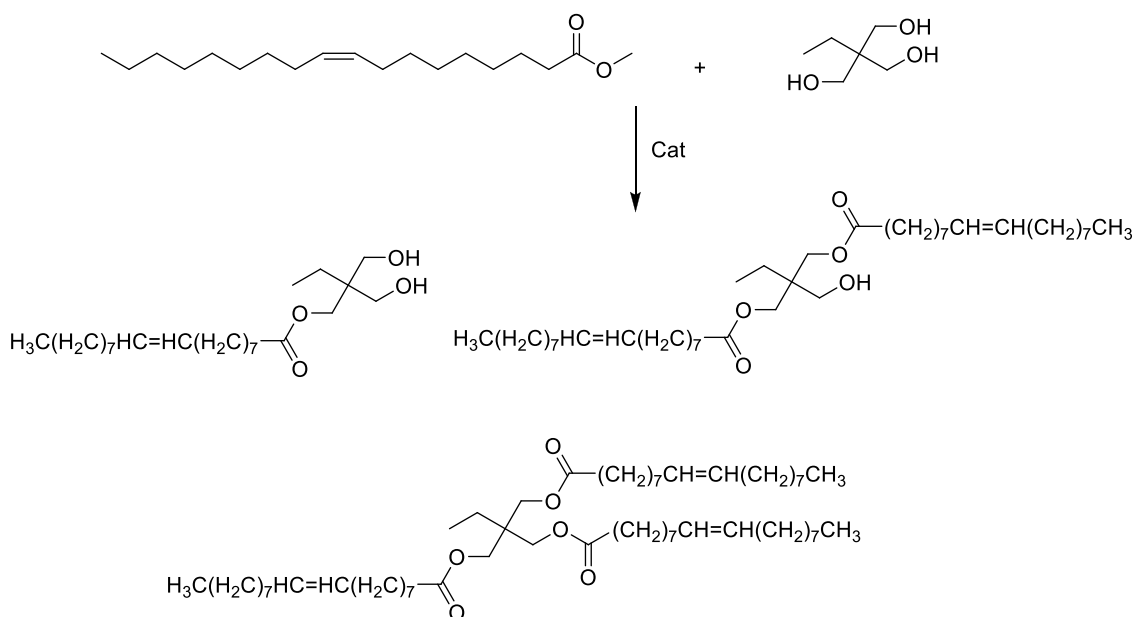
⁶⁰ Alhassan F. H., Uemura Y., *Procedia Engineer.* **2016**, 148, 473.

Con la enzima CalB Immo Plus se obtuvo una conversión mayor (*reacción 2*) que con Novozym 435 (*reacción 1*), 78% en 24 horas en lugar de un 65%. Para mejorar los resultados obtenidos con CalB Immo Plus se repitió la reacción y a las 6 horas de reacción se eliminó a vacío la mezcla EtOH/ⁱPrOH. A continuación, se añadió la cantidad inicial de ⁱPrOH y se mantuvo la mezcla de reacción a 60°C hasta las 24 horas aumentando de esta forma la conversión solo hasta un 81%. También se aumentó la velocidad de agitación hasta 500 r.p.m. para mejorar la mezcla de los ésteres con el isopropanol, pero la conversión obtenida en 24 horas (59%) fue menor que en los casos anteriores (*reacción 4*). Esto puede deberse a que la enzima sufre una degradación mecánica con la agitación. Como estos resultados son bastante inferiores a los obtenidos mediante la vía química (*Tabla 2.13*) no se siguió optimizando la reacción enzimática ni se realizó a mayor escala.

2.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano

2.4.1. Optimización de la reacción de transesterificación química de oleato de metilo

En la reacción de transesterificación de oleato de metilo con trimetilolpropano (TMP) se pueden obtener tres productos diferentes: monoéster (ME), diéster (DE) y triéster (TE).



Esquema 2.15. Reacción de transesterificación de oleato de metilo con TMP

En primer lugar, se llevaron a cabo varias pruebas preliminares con oleato de metilo utilizando como catalizador dos bases: NaOEt y NaOMe. Como tiempo de reacción se eligió 6 horas por ser el tiempo óptimo en otras reacciones de transesterificación. La temperatura de reacción fue más elevada que en otras reacciones y se utilizó el rango 120-140°C por estar descrita en la bibliografía para diferentes aceites.^{71,73} Como relaciones molares oleato de metilo/TMP se emplearon desde 1:4 hasta 4:1 para obtener mezclas enriquecidas en monoésteres y triésteres. En concreto aparece descrita la reacción de transesterificación de oleato de metilo con TMP empleando una relación molar oleato de metilo/TMP 4:1, un 1% (en peso) de NaOMe, 140°C y 1 mbar de presión.⁸⁸ Por ello, las pruebas realizadas se basaron en estas condiciones y en el cambio de alguno de los parámetros de estas condiciones iniciales (Tabla 2.16).

⁷¹ Uosukainen E., Linko Y., Lämsä M., Tervakangas T., Linko P., *J AM OIL CHEM SOC* **1998**, 75, 1557.

⁷³ a) Yunus R., Fakhru'l-Razi A., Ooi T. L., Omar R., Idris A., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, 44, 8178. b) Bakar A. A., Yunus R., Chuah A.L., Fakhru'l-Razi A., *J. App. Sci.* **2007**, 7, 2011.

⁸⁸ Sripada P. K., Sharma R. V., Dalai A. K., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 50, 95.

Esta reacción no se pudo monitorizar directamente mediante cromatografía de gases por el alto peso molecular de los productos de reacción. La alternativa sería la derivatización de los hidroxilos libres con grupos silano^{73,88} pero existiría también el problema del gran número de compuestos diferentes en el caso de la transesterificación de DF2. Por ello se prefirió identificar las señales de cada tipo de producto (monoéster, diéster y triéster) mediante RMN y calcular de esta forma la conversión y la selectividad.

⁷³ a) Yunus R., Fakhru'l-Razi A., Ooi T. L., Omar R., Idris A., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 8178.

⁸⁸ Sripada P. K., Sharma R. V., Dalai A. K., *Ind. Crops Prod.* **2013**, *50*, 95.

Tabla 2.16. Reacción de transesterificación de oleato de metilo con TMP usando catalizadores básicos^a

Reacción	Oleato/TMP (mol)	Cat. % (peso) ^b	P	T (°C)	Tiempo (h)	% Conv.	Selectividad		
							% ME	% DE	% TE
1	1:4	NaOEt (1%)	atm	140	24	22	90	10	0
2	1:4	NaOEt (1%)	1 mbar	140	6	94	61	37	2
3	1:3	NaOEt (1%)	1 mbar	140	6	95	67	31	2
4	4:1	NaOEt (1%)	1 mbar	140	6	71	0	12	88
5	4:1	NaOEt (5%)	1 mbar	140	6	78	0	6	94
6	1:1	NaOMe (1%)	1 mbar	140	6	64	16	49	35
7	4:1	NaOMe (1%)	1 mbar	140	6	60	5	7	88
8	3,2:1	NaOMe (1%)	1 mbar	120	6	30	41	38	21
9	3,2:1	NaOMe (1%)	50 mbar	120	6	15	100	0	0
10	3,9:1	NaOMe (0,7%)	60 mbar	130	6	7	87	13	0

Escala: ^a 2 g de oleato de metilo (6,75 mmol). ^b Porcentaje de la base en peso respecto al oleato de metilo.

Las reacciones se llevaron a cabo sin disolvente a 140°C y a vacío porque la conversión obtenida a presión atmosférica fue muy baja (*reacción 1*). Con solo un 1% de NaOEt, se consiguió una conversión prácticamente cuantitativa utilizando un exceso de TMP (*reacciones 2 y 3*), dando lugar a una mezcla de monoéster (61 y 67% respectivamente) y diéster (37% y 31% respectivamente). Bajo condiciones similares cambiando solo la relación oleato/TMP a 4:1 se pudo obtener el triéster con casi una conversión total (*reacciones 4 y 5*) dado que el máximo teórico es del 75%. Con un 1% (en peso) de base se obtuvo un 88% de selectividad del triéster (*reacción 4*) y utilizando un 5%, un 94% de selectividad (*reacción 5*). Por lo tanto, apenas hay diferencia entre utilizar un 1% (en peso) de catalizador (*reacción 4*) y un 5% (*reacción 5*) manteniendo el resto de las condiciones.

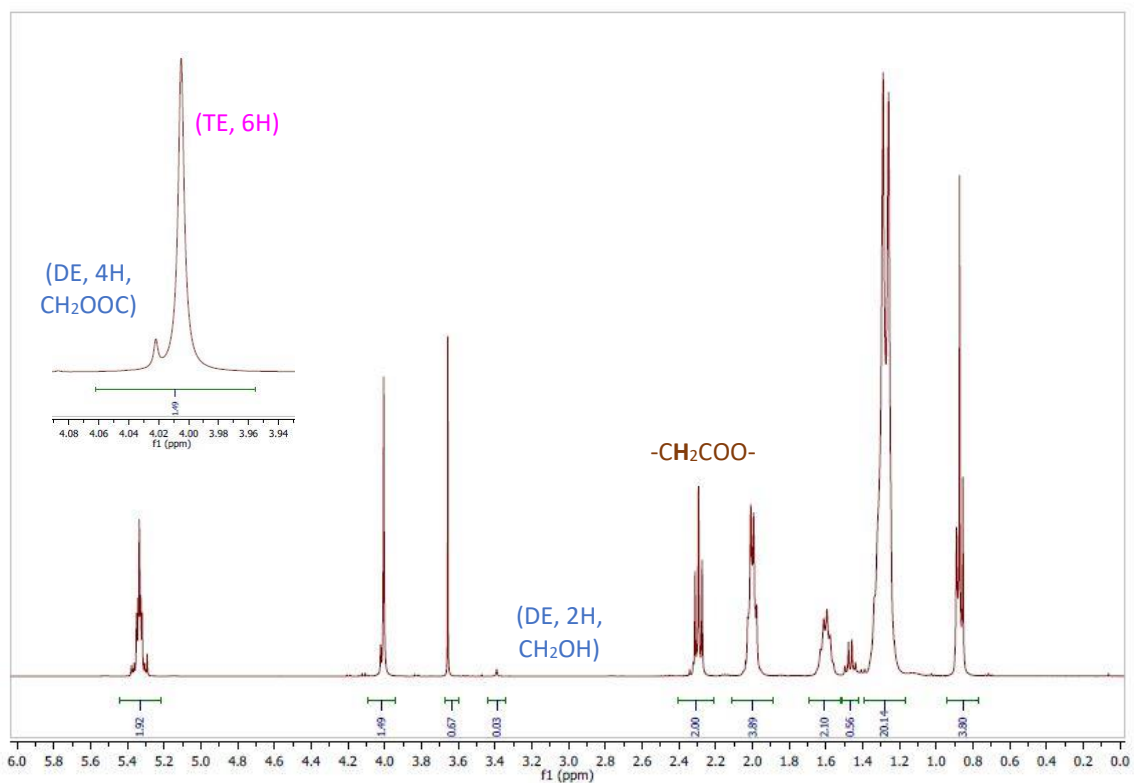
El uso de NaOEt puede dar lugar a pequeñas cantidades de oleato de etilo, y como consecuencia de ello, se utilizó NaOMe para evitar este hecho. Los resultados no fueron tan favorables ya que se obtuvieron conversiones menores en las mismas condiciones (en la *reacción 7* un 60% frente al 71% en la *reacción 4*). La relación oleato/TMP 1:1 permitió obtener los tres productos: monoéster (16%), diéster (49%) y triéster (35%) (*reacción 6*). Un descenso de la temperatura de reacción (*reacción 8*) y un aumento de la presión (*reacciones 9 y 10*) produjeron una caída de la actividad y por lo tanto, menores valores de conversión (30%, 15% y 7% respectivamente), obteniéndose como compuesto mayoritario el monoéster en las tres reacciones. Cuando la relación molar fue prácticamente la estequiométrica (*reacción 8*) se obtuvieron los tres productos en proporciones similares (41% de monoéster, 38% de diéster y 21% de triéster).

Como conclusiones a estas reacciones se puede decir que para obtener un mayor porcentaje de monoéster es necesario utilizar un exceso de TMP, ya que la reactividad de los hidroxilos en TMP, ME y DE parece ser muy similar. Para que el producto mayoritario sea el triéster se necesita un ligero exceso de oleato de metilo. La temperatura óptima es 140°C y el vacío de 1 mbar para obtener conversiones elevadas. Y finalmente la base más adecuada es NaOEt (1% en peso).

Para la caracterización de los productos se escogió una mezcla enriquecida en el triéster (6% de diéster y 94% de triéster) y una mezcla que contenía los tres productos y se realizó un experimento DOSY en CDCl₃ que mediante difusión de los productos en función de su peso molecular permite conocer qué señales pertenecen a cada uno de los productos de una mezcla sin necesidad de realizar una purificación. La asignación de las señales se recoge en la *Figura 2.3*.

Reacciones de Transesterificación

a)



b)

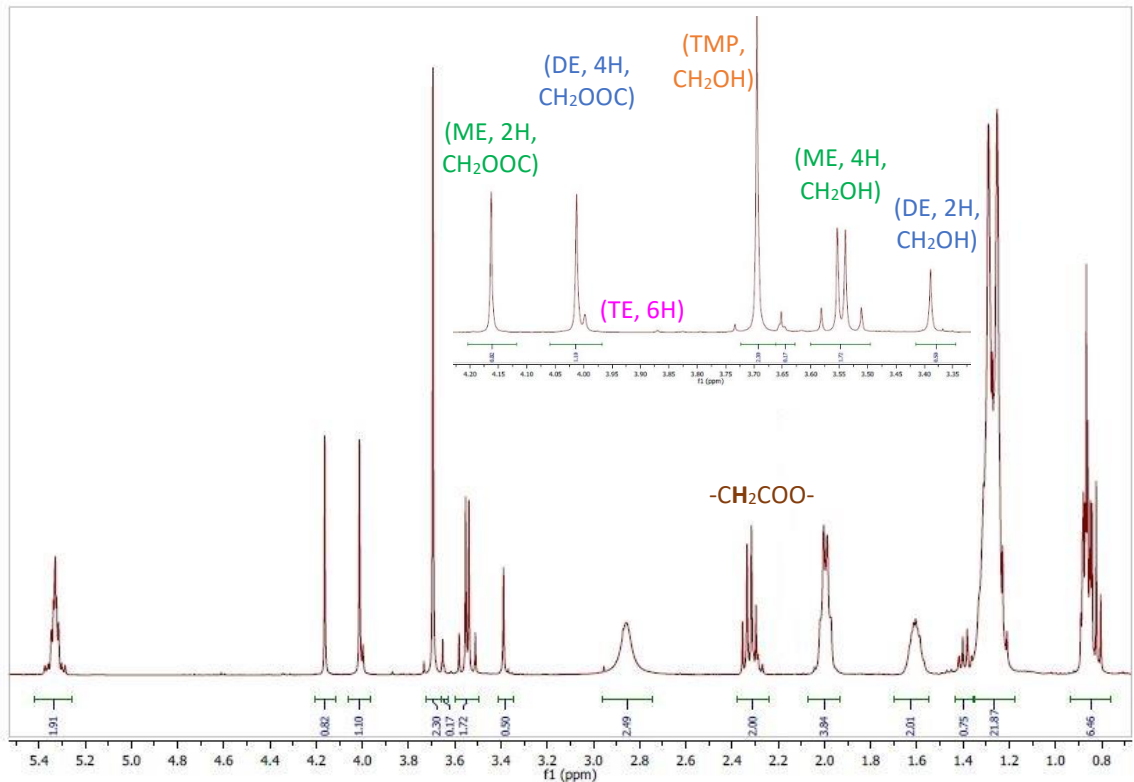


Figura 2.3. a) Espectro de ¹H-RMN de una mezcla de DE y TE. b) Espectro de ¹H-RMN de una mezcla de ME, DE y TE

El singlete que aparece a 3,73 ppm se corresponde con los grupos CH₂OH del TMP (6H). En el ME aparecen a 3,51-3,51 ppm como dos dobletes correspondientes a los protones diastereotópicos (4H) y en el DE a 3,39 ppm (2H).

Los sustituyentes éster (CH₂OOC-) aparecen a desplazamientos más altos, 4,17 ppm en el ME (2H), 4,01 PPM en el DE (4H) y 4,00 ppm en el TE (6H). Estas dos señales están ligeramente solapadas, pero se pueden llegar a diferenciar. Además, todas estas señales son diferentes al singlete que aparece a 3,66 ppm correspondiente al éster metílico (3H).

Con el área de las señales características de los productos se calculó la selectividad de cada uno de ellos y mediante la integración de la señal del éster metílico, la conversión de la reacción. La señal que aparece a 2,37-2,25 ppm que corresponde a –CH₂-COO se utilizó como referencia asignándole el valor de 2 (2H) y se dividió el área de la señal de –CH₃ entre 3 con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-CH_3} (\text{oleato de metilo})}{3} \cdot 100 \right]$$

A continuación, para calcular la selectividad de cada producto se realiza el cociente del área de la señal correspondiente a los H de un producto dividida por el número de H a los que corresponde y se divide el valor resultante entre la suma de todos.

$$\% \text{ Monoéster} = \frac{\left(\frac{A_{ME,CH_2COO}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{ME,CH_2COO}}{2} \right) + \left(\frac{A_{DE,CH_2OH}}{2} \right) + \left(\frac{A_{TE,6H}}{6} \right)} \cdot 100$$

El cálculo del resto de productos se hace de igual forma, pero indicando en el numerador el cociente que le corresponde. El ajuste de las integrales de las señales del CH₂-COO y las de los grupos éster permite comprobar si existe o no hidrólisis a ácido libre.

2.4.2. Optimización de la reacción de transesterificación enzimática de oleato de metilo

En la bibliografía aparece descrita esta reacción para otros aceites utilizando como catalizadores diferentes enzimas. Por ello se decidió probar la enzima Novozym 435 utilizando un exceso de oleato de metilo en condiciones ya descritas para otros aceites: 4% (en peso respecto a la masa total de reactivos) de enzima, 15% (en peso) de agua y 45°C.⁷⁵ También está descrita esta reacción utilizando una relación molar éster/TMP 3:1, 2 % (en peso) de Novozym 435 y temperaturas de 35-45°C.⁴⁷ La enzima se retira mediante filtración y se recuperan los productos.

En una primera tanda de experimentos, la reacción se llevó a cabo con la cantidad estequiométrica de reactivos o un ligero exceso de oleato de metilo (relación molar oleato/TMP 3-3,9) a presión atmosférica, con un 4% en peso de enzima con respecto al oleato y un 15% en peso de agua. Aunque se obtuvieron conversiones de oleato de metilo moderadas (24-49%), después de 24 horas, sólo se observaba hidrólisis al ácido oleico.

La detección de la formación de ácido oleico se realizó mediante el análisis de los crudos de reacción por cromatografía de gases. En el cromatograma se observó que el área del pico del oleato de metilo (16,38 min) disminuía mientras que aparecía uno nuevo (32,77 min) que correspondía al ácido oleico.

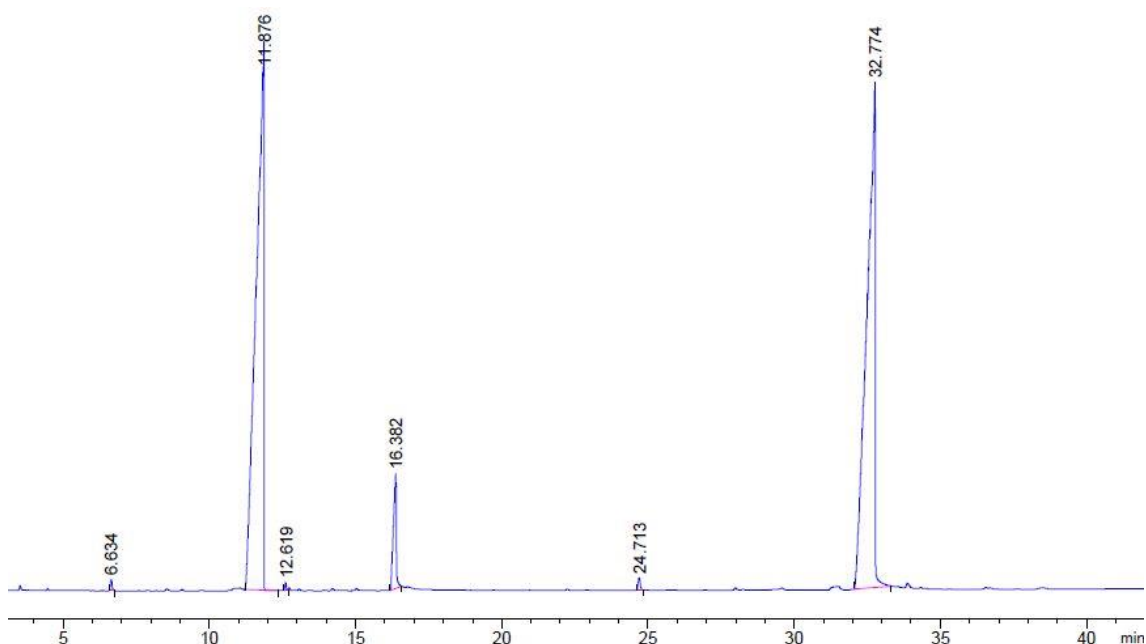


Figura 2.4. Cromatograma de la reacción de transesterificación donde aparece ácido oleico

⁷⁵ Cavalcanti da Silva J. A., Ferreira Soares V., Fernández-Lafuente R., Habert A. C., Freire D. M. G., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, 122, 323.

⁴⁷ Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 45, 25.

Cuando se llevó a cabo la reacción a vacío (1 mbar), para desplazar el equilibrio, se obtuvo un 16% de conversión a los ésteres de TMP. Como consecuencia de esto, el resto de las reacciones se llevaron a cabo sin agua, con un disolvente para facilitar el contacto de la enzima con los reactivos, o en ausencia de disolvente. Las condiciones de reacción y los resultados aparecen en la *Tabla 2.17*.

Tabla 2.17. Reacción de transesterificación de oleato de metilo con TMP con Novozym 435^a

Reacción	Oleato/TMP (mol)	Masa de enzima (mg)	Disolvente	P (mbar)	T (°C)	t (h)	% Conv. ^b	% Hidr. ^b	% Transest. ^b	Selectividad		
										% ME	% DE	% TE
1	3,9:1	89	-	atm	45	24	17	7	10	58	42	0
2	3,9:1	40	Acetona ^c	atm	45	24	10	6	4	77	23	0
3	3:1	40	Acetona	atm	60	48	12	8	4	100	0	0
4	3,9:1	89	-	1 mbar	45	6	13	9	4	63	32	5
5	3,9:1	89	^t BuOH	1 mbar	45	6	8	3	5	86	11	3
6	3:1	40	-	1 mbar	100	6	47	14	33	0	82	18
7	3:1	150	-	1 mbar	100	6	46	10	36	67	33	0
8	3:1	40	Acetona	1 mbar	60	36	47	7	40	55	44	1
9	1:1	40	Acetona	atm -1 mbar ^d	60	36	27	8	19	66	34	0
10	1:1	100	Acetona ^e	atm	60	24	53	1	52	61	39	0

^a Condiciones: 2 g de oleato de metilo (6,75 mmol), Novozym 435 (masa indicada en la tabla), TMP (relación molar indicada en la tabla), disolvente (2mL) y 150 r.p.m. ^b Conversión total del oleato de metilo, conversión a ácido oleico y conversión a los ésteres de TMP. ^c Solo 0,43 mL de acetona. ^d Reacción durante 24 h a presión atmosférica y 12 h a vacío. ^e Evaporación de la acetona a las 6 horas y a continuación sin disolvente.

En la tabla se observa que cuando se llevó a cabo la reacción de transesterificación sin emplear ningún disolvente a presión atmosférica, se obtuvo un 10% de conversión hacia los ésteres de TMP y un 7% de conversión a ácido oleico (*reacción 1*). Una posible explicación es que el contacto entre la enzima y los reactivos no fuera bueno. Para mejorar el contacto entre la enzima y los reactivos, se utilizó acetona como disolvente, pero sólo se obtuvo un 4% de conversión a los ésteres de TMP (*reacciones 2 y 3*). También se llevó a cabo esta reacción a vacío, pero no se produjo ninguna mejora significativa en los resultados (*reacción 4*) incluso utilizando ^tBuOH (*reacción 5*), codisolvente que permitió mejorar los resultados de la reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol.

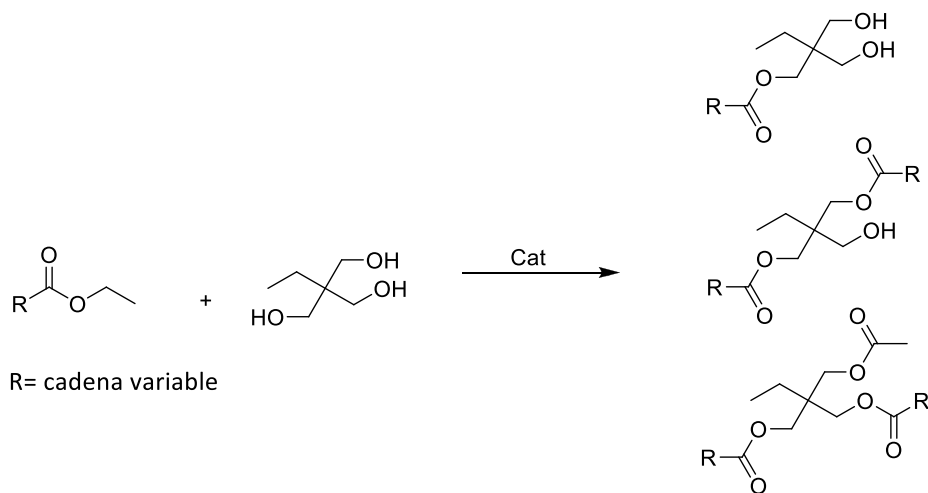
Cuando se aumentó la temperatura a 100°C y utilizando 40 mg de enzima se obtuvo un 47% de conversión de oleato de metilo, pero un 14% correspondía a la reacción de hidrólisis (*reacción 6*). En esta reacción se obtuvo una mezcla DE/TE en una relación 82/18. El uso de acetona como codisolvente redujo el porcentaje de hidrólisis a un 7% (*reacción 8*) además se produjo un cambio en la selectividad obteniéndose una mezcla de ME y DE (55/44). También se llevó a cabo una reacción durante 24 horas a presión atmosférica utilizando acetona como codisolvente para mejorar el contacto entre la enzima y los reactivos y una vez transcurrido ese tiempo se mantuvo a vacío durante 12 horas para favorecer la formación de los productos (*reacción 9*). En esta reacción se utilizó una relación molar oleato/TMP 1:1 obteniéndose como producto mayoritario el monoéster (66%). Sin embargo, la conversión del oleato fue del 27%.

Finalmente, el mejor resultado, se obtuvo a presión atmosférica, utilizando acetona como codisolvente (*reacción 10*). A las 6 horas de reacción, se evaporó la acetona y se mantuvo durante otras 18 horas sin disolvente. De esta forma, la conversión de la reacción mejoró hasta el 53% y prácticamente no se produjo reacción de hidrólisis.

Después de todas las pruebas llevadas a cabo se concluyó que la vía química era la más adecuada para utilizar en la reacción de transesterificación de la mezcla de ésteres de DF2.

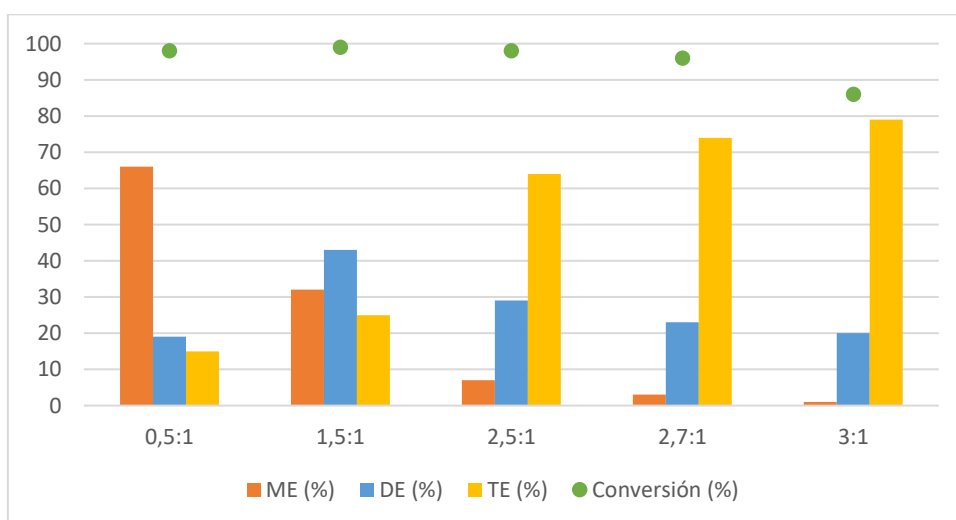
2.4.3. Optimización de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2

El objetivo de llevar a cabo la reacción de transesterificación de la mezcla de ésteres DF2 con TMP es obtener tres mezclas con diferente proporción de productos.



Esquema 2.15. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con TMP

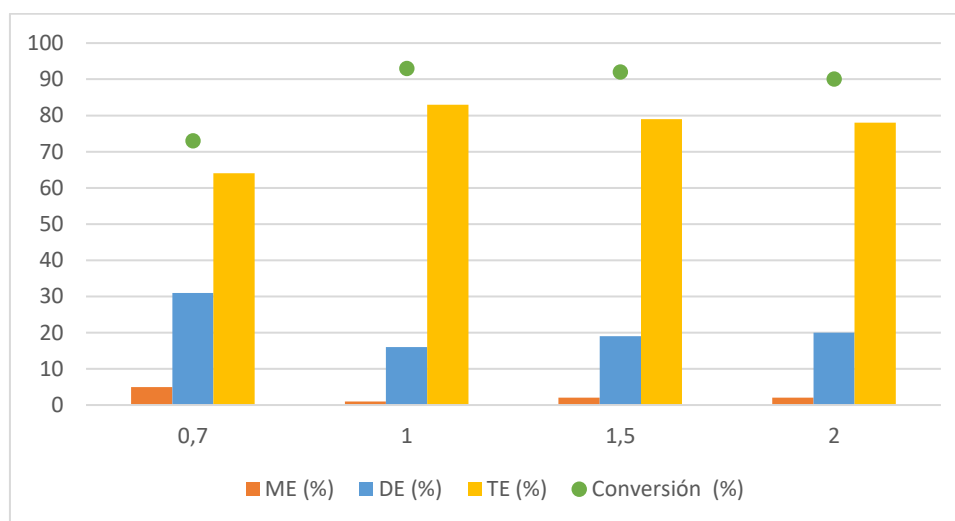
El primero paso para llevar a cabo la reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con TMP fue estudiar el efecto de la relación molar ésteres/TMP con 5 g de DF2. Se mantuvieron el resto de las condiciones fijas: 1% (peso) de NaOEt con respecto a la masa de ésteres, agitación vigorosa, 140°C, 1 mbar de presión y 6 horas. El cálculo de la conversión y la selectividad de los productos se realizaron mediante RMN. En la *Gráfica 2.12* se recogen los resultados.



Gráfica 2.12. Optimización de la relación molar DF2/TMP en la reacción de transesterificación de DF2 con TMP

En la gráfica se observa que las reacciones transcurrieron con una conversión comprendida entre el 86 y 99%. Como era de esperar, los productos mayoritarios con la relación molar ésteres/TMP 0,5:1 fueron los monoésteres (66% de selectividad), mientras que la proporción de DE y TE aumentó a relaciones mayores. La reacción llevada a cabo con la relación molar ésteres/TMP estequiométrica (3:1) transcurrió con un 86% de conversión, aunque se pudo alcanzar un 93% aumentando el tiempo de reacción hasta las 8 horas. Además, la selectividad a los TE en esta reacción fue del 79%.

Se utilizaron estas condiciones óptimas de tiempo (6 horas) y relación ésteres/TMP (3:1) para estudiar el efecto de la cantidad de catalizador.



Gráfica 2.13. Optimización de la cantidad de NaOEt (% en peso respecto a los ésteres DF2) en la reacción de transesterificación de DF2 con TMP

Como era de esperar, un porcentaje bajo de NaOEt (0,7%) condujo a una reacción más lenta, con menor conversión y menor selectividad hacia los triésteres. Sin embargo, el uso de una cantidad alta de catalizador (2%) también provocó que la conversión fuera menor debido a la formación de carboxilatos de sodio. Por lo tanto, el porcentaje óptimo de catalizador para obtener una mezcla enriquecida en triésteres es 1% porque permitió alcanzar un 93% de conversión en la reacción y una selectividad a los triésteres del 83%. El resto de las condiciones óptimas de reacción son: relación molar ésteres/TMP 3:1, 140°C, 1 mbar y 8 horas.

El siguiente paso fue obtener una mezcla enriquecida en monoésteres y para ello fue esencial controlar el tiempo de reacción. En esta reacción los monoésteres evolucionan a los diésteres y éstos dan lugar a los triésteres. Por ello se realizó la monitorización de la reacción mediante RMN utilizando una relación molar ésteres/TMP 0,5:1 y el resto de las condiciones optimizadas previamente.

Reacciones de Transesterificación

Se comprobó que la conversión de DF2 era completa en 1 hora de reacción. Dadas las concentraciones de los productos, el control cinético de la reacción favorece la formación del ME a tiempos cortos, y efectivamente la selectividad a ME es del 68% a 1 hora. Sin embargo, los tiempos de reacción más largos favorecen el control termodinámico de la reacción de transesterificación del ME con el TMP sin reaccionar, de manera que aumentan de forma significativa las selectividades a DE y TE, que llegan al 34 y 45% respectivamente a las 6 horas.

La caracterización de la mezcla procedente de los ésteres etílicos DF2 se realizó de la misma forma que para los ésteres del oleato de metilo ya que las señales de los productos son las mismas y aparecen en el mismo desplazamiento químico. El espectro se muestra a continuación (Figura 2.5).

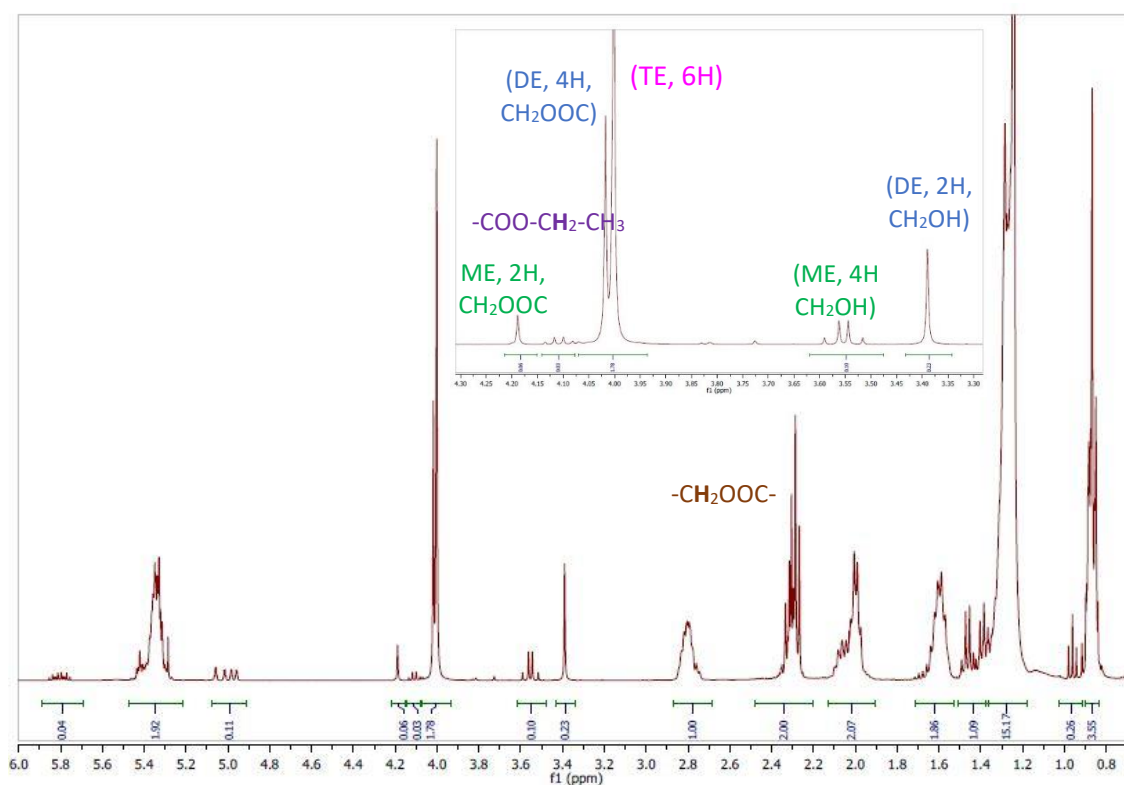


Figura 2.5. Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de ME, DE y TE de DF2

La descripción de los triésteres coincide con la descrita en la bibliografía para los triésteres de TMP del aceite de *Jatropha Curcas*.⁸⁹ En la bibliografía no se han descrito ni identificado las señales de los compuestos monoéster y diéster de TMP.

⁸⁹ Hafizah N., Salimon J., *J. Sci. Technol.* **2010**, 2, 47.

El cálculo de selectividad se realiza como aparece explicado en el apartado 2.4.1. En cálculo de la conversión se realiza asignando el valor de 2 a los 2H en α del carbonilo de los ésteres grasos e integrando los 2H de los ésteres etílicos DF2.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-COO-CH_2-(DF2)}}{2} \right] \cdot 100$$

2.4.4. Reacción de transesterificación química de la mezcla DF2 en escala 50 g

Se escalaron tres reacciones de las anteriores para obtener mezclas con distinta composición utilizando 50 g de mezcla DF2. En la siguiente tabla aparecen recogidas estas reacciones:

Tabla 2.18. Reacción de transesterificación de DF2 con TMP en escala de 50 g

Reacción	DF2/TMP (mol)	t (h)	% Conversión	Selectividad		
				% ME	% DE	% TE
1	3:1	8	96	1	17	82
2	1,5:1	6	100	43	41	16
3	0,5:1	1	100	83	16	1

Condiciones: 50 g de DF2 (0,17 mol), 1% de NaOEt (en peso respecto a la mezcla), 140°C y 1 mbar.

En esta escala los resultados fueron mejores que los obtenidos en escala más pequeña (2,2-6,7 g de mezcla DF2). Las conversiones de las tres reacciones fueron prácticamente cuantitativas y las selectividades muy similares a los resultados a menor escala. Se obtuvo una mezcla enriquecida en triésteres (82%), una segunda mezcla enriquecida en monoésteres (83%) y una última con proporciones similares de monoésteres y diésteres (43/41).

2.4.5. Escalado de la reacción de transesterificación química de la mezcla DF2

Para escalar la reacción a 100 g se eligieron las reacciones con relaciones molares ésteres/TMP 1,5:1 y 1:3 y los resultados obtenidos fueron idénticos a los obtenidos a menor escala tal y como se muestra la Tabla 2.19.

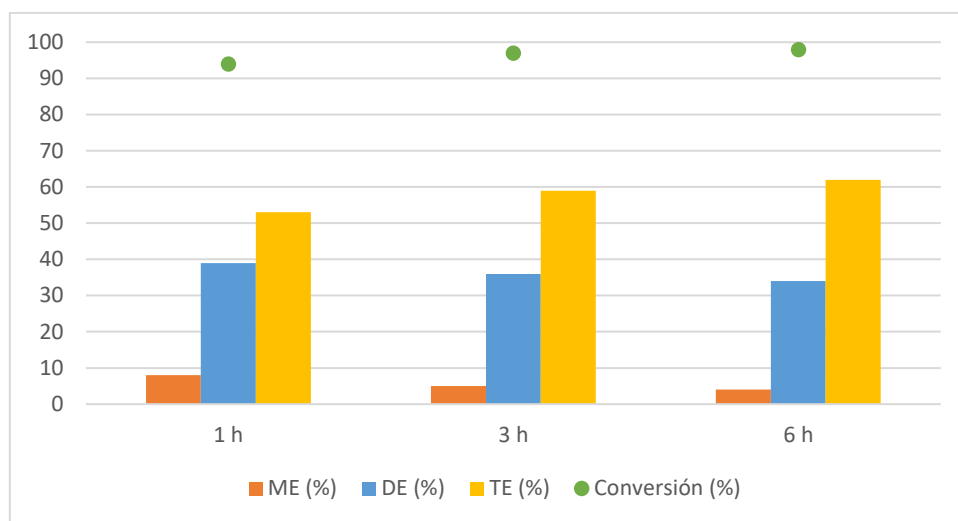
Tabla 2.19. Reacción de transesterificación de DF2 con TMP en escala de 100 g

Reacción	DF2/TMP (mol)	t (h)	% Conversión	Selectividad		
				% ME	% DE	% TE
1	3:1	8	98	2	19	79
2	1,5:1	6	100	46	41	13

Condiciones: 100 g de DF2 (0,34 mol), 1% de NaOEt (en peso respecto a la mezcla), 140°C y 1 mbar.

Reacciones de Transesterificación

Para el escalado de la reacción a 250 g se escogió únicamente la relación ésteres/TMP 3:1, por dar lugar a la mezcla que presentaba más interés debido a sus posibles aplicaciones.



Gráfica 2.14. Reacción de transesterificación de DF2 con TMP en escala de 250 g

En este caso, aunque la conversión de la reacción alcanzó el 98% en 6 horas, la selectividad hacia los triésteres fue menor (62%) que en reacciones anteriores (79%) en las mismas condiciones, aunque seguían siendo los compuestos mayoritarios.

Por último, se llevaron a cabo dos reacciones de transesterificación de DF2 con TMP utilizando 500 g de mezcla DF2 y un 1% (en peso con respecto a la mezcla DF2) de NaOEt y un 2% debido a que los resultados obtenidos en la escala de 250 g fueron inferiores.

Tabla 2.20. Reacción de transesterificación de DF2 con TMP en escala de 500 g

Reacción	% Base	t (h)	% Conversión	Selectividad		
				% ME	% DE	% TE
1	1	12	90	8	32	60
2	2	8	94	6	26	68

Condiciones: 500 g de DF2 (1,69 mol), relación molar ésteres/TMP 3:1, 140°C y 1 mbar.

En esta escala los resultados no fueron los esperados, sólo se obtuvo un 90% de conversión y un 60% de selectividad de los triésteres cuando se utilizó un 1% de catalizador (*reacción 1*), a pesar de que se aumentó el tiempo de reacción a 12 horas. En la *reacción 2* los resultados fueron mejores, pero la selectividad de los TE siguió teniendo un valor inferior a lo deseado.

Estos resultados se pueden explicar por el aumento de la viscosidad de la mezcla de reacción que se produce durante la reacción. Como consecuencia de esto surgieron problemas en la agitación dificultando la mezcla de los reactivos. Además, hubo que tener precaución a la hora de realizar vacío ya que la reacción es muy exotérmica y el etanol evaporado producía el arrastre de parte de los reactivos.

2.4.6. Preparación de una mezcla enriquecida en triésteres a partir de la mezcla DF2

Como el objetivo principal era obtener una mezcla enriquecida en triésteres (selectividad >90%) se propuso utilizar un mayor exceso de ésteres etílicos frente a TMP, aunque conllevara una menor conversión de la reacción.

Se llevaron a cabo dos reacciones a pequeña escala con la relación molar DF2/TMP de 4:1 a dos temperaturas diferentes: 140°C y 100°C. Se utilizó un 1% (en peso) de NaOEt y 1 mbar de presión. Los resultados de las dos reacciones aparecen en la *Tabla 2.21*.

Tabla 2.21. Reacción de transesterificación de mezcla DF2 con TMP (4:1) a 140°C y a 100°C

Reacción	T (°C)	t (h)	% Conversión	Selectividad		
				% ME	% DE	% TE
1	140	1	86	2	24	74
		2	85	2	20	78
		4	86	2	20	78
2	100	1	85	2	4	94
		2	87	2	2	96
		3	89	2	2	96

Condiciones: 9 g de DF2 (30,3 mmol), relación molar ésteres/TMP 4:1, 1% (en peso) de NaOEt respecto a DF2 y 1 mbar.

El uso de una relación molar ésteres/TMP 4:1 en las mismas condiciones (140°C, 1 mbar y 1% (en peso) de NaOEt) no supuso una gran mejora en la selectividad de TE (*reacción 1*). Sin embargo, cuando se llevó a cabo la reacción a 100°C (*reacción 2*), la selectividad de los TE fue del 96% en sólo 2 horas de reacción y la conversión de la reacción fue del 89%.

Una posible explicación para este resultado podría ser la eliminación parcial de alguno de los ésteres de la mezcla (principalmente miristato de etilo) a vacío por la alta temperatura, que también podría explicar que la conversión sea más alta que la teórica (75%), aunque esto último también podría deberse a una estimación incorrecta del peso molecular promedio de la mezcla de ésteres ya que cada fracción que se utilizó no tenía la misma composición porque procede de procesos distintos.

Reacciones de Transesterificación

Por último, se llevó a cabo esta reacción a escala de 100 g con las condiciones óptimas: 100 g de mezcla DF2, relación molar mezcla DF2/TMP 4:1, 1% peso de NaOEt (con respecto a la mezcla DF2), 100°C, 1 mbar y 3 horas de reacción. Se obtuvo una mezcla enriquecida en triésteres (94% de selectividad) aunque con una conversión inferior que a menor escala (82%).

Por lo tanto, se puede concluir que se han preparado y caracterizado cuatro mezclas diferentes a partir de los ésteres etílicos de DF2 mediante transesterificación química: mezcla enriquecida en ME (82%) con un 100% de conversión, mezcla con ME y DE (46 y 41%) con un 100% de conversión y dos mezclas enriquecidas en TE (79% y 96%) con conversiones del 99% y del 84% respectivamente.

En la bibliografía sólo aparece descrita la preparación de mezclas de triésteres. Sin embargo, en este trabajo se prepararon dos mezclas enriquecidas en los otros productos (ME y ME+DE). Linko y colaboradores prepararon los triésteres del aceite de colza con un 99% de conversión utilizando una relación molar ésteres/TMP de 3,2, 0,5% (en peso) de NaOMe, 120°C, 33 mbar de presión y 10 horas de reacción.⁷¹ En este caso la relación molar ésteres/TMP fue 3:1, el porcentaje de base fue ligeramente superior (1%) y la temperatura y la presión mayores (140°C y 1 mbar). Sin embargo, la conversión fue del 99% en 8 horas de reacción.

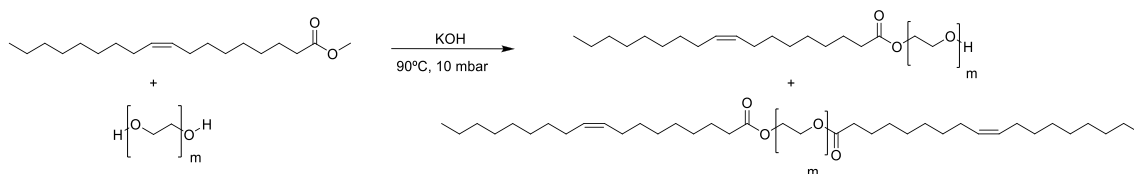
Por otro lado, también aparece descrita la reacción de transesterificación del aceite de palma enriquecido en oleato de metilo con una relación molar ésteres/TMP mayor (3,9:1), 0,9% (en peso) de NaOMe, 130°C y 50 mbar.^{73b} La selectividad hacia los triésteres fue del 90% en 60 min. En este trabajo se ha superado este valor siendo la selectividad de los TE 96% a menor temperatura (100°C) y mayor vacío con el resto de las condiciones similares.

⁷¹ Uosukainen E., Linko.Y., Lämsä M., Tervakangas T., Linko P., *J AM OIL CHEM SOC* **1998**, 75, 1557.

⁷³ b) Bakar A. A., Yunus R., Chuah A.L., Fakhru'l-Razi A., *J. App. Sci.* **2007**, 7, 2011.

2.5 Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG 400)

2.5.1. Optimización de la reacción de transesterificación de oleato de metilo



Esquema 2.6. Reacción de transesterificación de oleato de metilo con PEG 400

En primer lugar, se llevó a cabo la reacción de transesterificación del oleato de metilo utilizando las condiciones optimizadas para esta reacción con 2-etil-1-hexanol. Las condiciones de la reacción fueron: 2 g de oleato de metilo (6,75 mmol), relación molar aproximada oleato de metilo/PEG 400 1:1,5, 5% (mol) de KOH, 90°C y 10 mbar de presión. Al utilizarse una base como catalizador fue necesario neutralizar la disolución hasta pH neutro y posteriormente se extrajeron los ésteres con diclorometano. La monitorización de la reacción se realizó mediante RMN utilizando como disolvente metanol- d_4 . Dado el alto peso molecular de los productos obtenidos, se decidió determinar también la conversión y la selectividad de los productos mediante RMN.

En 1 hora de reacción se obtuvo prácticamente un 100% de conversión. La proporción entre los productos monoéster (ME) y diéster (DE) fue 90% y 10% respectivamente.

En el siguiente espectro se muestra la asignación de las señales características de cada producto. La señal que aparece a 4,21 ppm corresponde a los 2H de $-\text{COO}-\text{CH}_2-$ de la cadena de PEG unida al oleato de metilo. Estos protones se encuentran tanto en el monoéster como en el diéster. La señal que aparece a 3,56 ppm corresponde a los 2H de $-\text{CH}_2-\text{OH}$ del monoéster y al PEG libre que haya quedado sin reaccionar. Por último, la señal a 2,33 ppm corresponde a los 2H en posición α del carbonilo y sirve como referencia para el cálculo de la conversión y de la selectividad de los productos asignándole el valor de 2.

Reacciones de Transesterificación

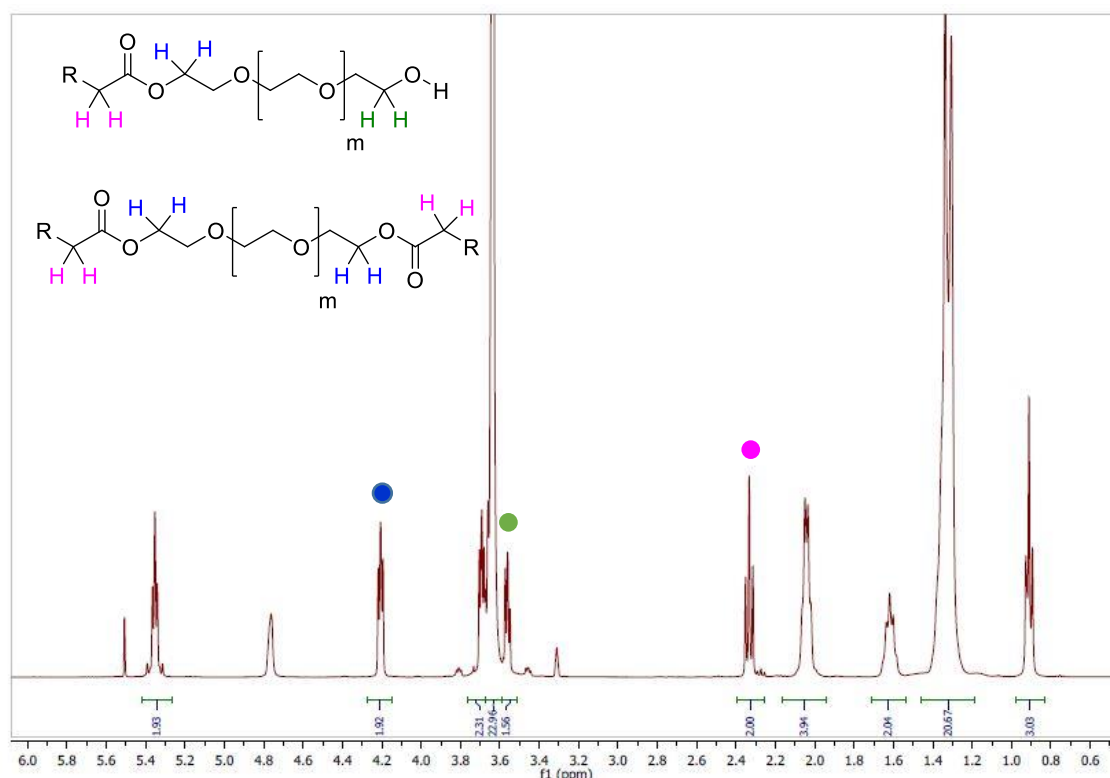


Figura 2.6. Espectro de ^1H -RMN de los productos de reacción de oleato de metilo con PEG

En el espectro de protón se observa la desaparición de la señal del $-\text{CH}_3$ del sustituyente éster del oleato de metilo a 3,56 ppm y la aparición del $-\text{CH}_2-$ unido a la cadena de PEG a 4,21 ppm.

El cálculo de la conversión de la reacción se realiza mediante RMN dividiendo el área de la señal correspondiente a los 3H de $\text{CH}_3\text{-COO-}$ del oleato de metilo.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-\text{CH}_3} (\text{oleato de metilo})}{3} \cdot 100 \right]$$

El cálculo de la selectividad de cada producto se realiza de la siguiente forma. En primer lugar, se calcula la diferencia entre el área total de la señal de 4,31 ppm (H de ME y DE) y el área de la señal a 3,56 ppm (H de ME, considerando la conversión total del PEG o su extracción en la fase acuosa) obteniendo el valor de los 4H del DE.

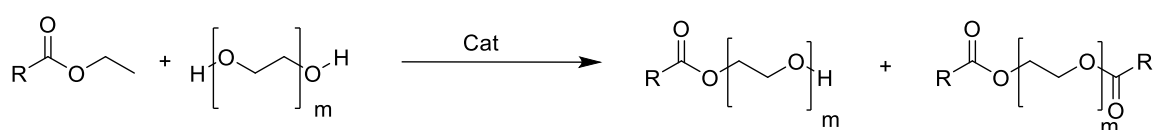
$$A_{-\text{COO-CH}_2-} (\text{diéster}) = A_{-\text{COO-CH}_2-} (4,21 \text{ ppm}) - A_{-\text{CH}_2-\text{OH}} (3,56 \text{ ppm})$$

A continuación, para determinar el porcentaje cada producto se calcula el cociente de las áreas correspondiente a un H de cada producto de la siguiente forma.

$$\% \text{ Monoéster} = \frac{\left(\frac{A_{-CH_2-OH}}{2}\right)}{\left(\frac{A_{-CH_2-OH}}{2}\right) + \left(\frac{A_{-COO-CH_2-}(\text{diéster})}{4}\right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Diéster} = 100 - \% \text{ Monoéster}$$

2.5.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2



R=cadena variable

Esquema 2.7. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con PEG 400

Se llevaron a cabo varias reacciones con diferentes relaciones molares de mezcla DF2/PEG para favorecer la formación de cada uno de los dos productos.

Tabla 2.22. Optimización de la reacción de transesterificación de mezcla DF2 con PEG

Reacción	DF2/PEG (mol)	Tiempo (h)	% Conv.	% ME	% DE
1	1:1,5	1	100	100	-
2	1:0,9	1	100	72	28
3	1:0,5	1	90	32	68

Condiciones: 2 g mezcla DF2 (6,75 mmol), 5% (mol) KOH con respecto a DF2, 90°C y 10 mbar.

En todos los casos la conversión de la reacción fue prácticamente cuantitativa en 1 hora. En función de la relación molar mezcla DF2/PEG, la selectividad de los productos es diferente. Con exceso de PEG, sólo se formaron los monoésteres, y quedó por lo tanto parte de PEG sin reaccionar. Cuando la relación fue de 1:0,9 se favoreció la formación de los monoésteres y con exceso de la mezcla DF2 se formaron mayoritariamente los diésteres (68%).

La selectividad se calcula como aparece explicado en el apartado 2.5.1. En este caso para la conversión, al ser ésteres etílicos, se tienen en cuenta los 2H del grupo éster $-CH_2-OOC-$ de la mezcla DF2 (Figura 2.7).

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-COO-CH_2-}(\text{mezcla DF2})}{2} \right] \cdot 100$$

Reacciones de Transesterificación

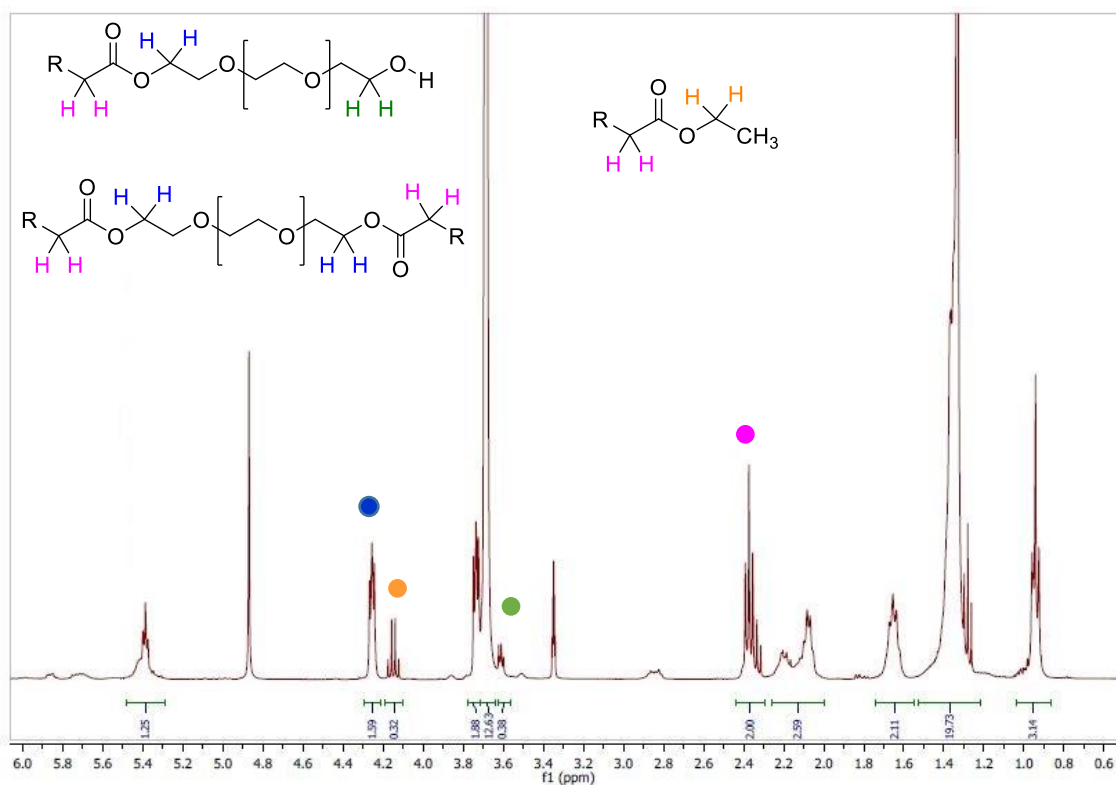


Figura 2.7. Espectro de $^1\text{H-NMR}$ de los productos de reacción de la mezcla DF2 con PEG

Para confirmar la presencia de los monoésteres y los diésteres del PEG en estas reacciones se llevó a cabo un análisis mediante espectrometría de masas (MALDI) de los crudos de reacción.

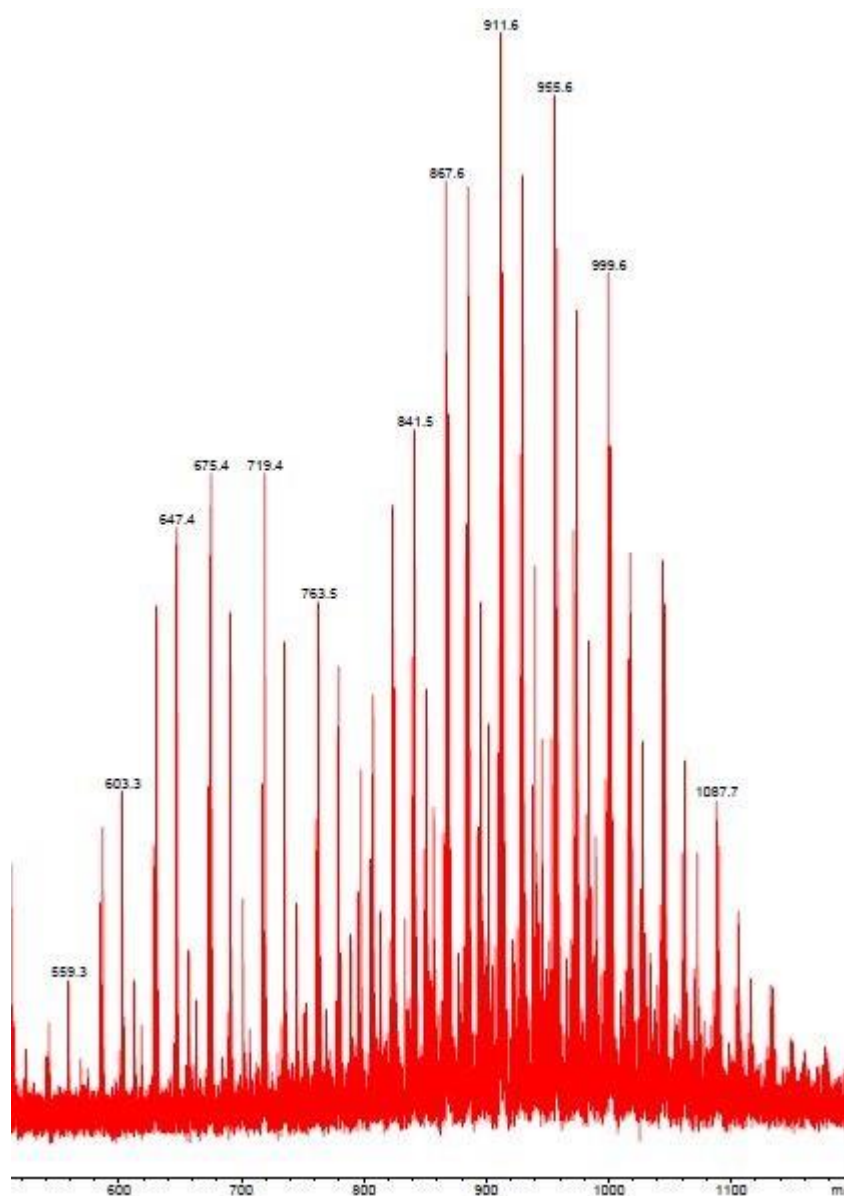


Figura 2.8. Espectro de espectrometría de masas (MALDI)

En la imagen se observa que hay dos distribuciones de señales correspondientes a dos tipos de moléculas diferentes. Una comprendida entre 500 y 800 y otra entre 800 y 1100. La primera correspondería a los monoésteres, con un peso molecular promedio de 634, y la segunda a los diésteres, con un peso molecular promedio de 898. La presencia de una distribución se debe tanto a la polidispersidad del PEG-400 como a la mezcla de ésteres grasos en la mezcla DF2 de partida. También se observa que la proporción de diésteres es mayor que la de monoésteres, al igual que se determinó por RMN (68% y 32%).

2.5.3. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 en escala de 10 g

Una vez confirmada la existencia de monoésteres y diésteres se llevó a cabo una reacción empleando 10 g de mezcla DF2 para obtener mayoritariamente los diésteres. La reacción se monitorizó mediante RMN.

Tabla 2.23. Monitorización de la reacción de transesterificación de 10 g de mezcla DF2 con PEG

Tiempo (h)	% Conv.	% ME	% DE
1	81	29	71
2	82	29	71
3	84	35	65
<i>Final^a</i>	84	39	61

Condiciones: 10 g de mezcla DF2 (33,7 mmol), relación molar DF2/PEG 1:0,5, 5% (mol con respecto a DF2) de KOH, 90°C y 7 mbar. ^a Resultados una vez realizado el tratamiento de la reacción.

Los resultados a 1 hora de reacción muestran que había reaccionado el 94% del PEG, y a partir de entonces prácticamente no aumentaba la conversión de ésteres. La pequeña cantidad de PEG que quedaba sin reaccionar transesterificó con los diésteres, aumentando la selectividad final a ME, con una conversión total del PEG (>100% debido a la imprecisión en el peso molecular).

Comparando los resultados obtenidos en las mismas condiciones, a menor escala (2 g de mezcla DF2) en 1 hora de reacción el valor de la conversión es ligeramente mayor (90%) y la proporción de diésteres similar (68%).

2.5.4. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 en escala de 100 g

El siguiente paso consistió en aumentar la escala a 100 g en las mismas condiciones de reacción (relación molar DF2/PEG 1:0,5, 5% (mol) KOH, 90°C y 7 mbar). En 1 hora de reacción la conversión de la reacción era del 91% y la relación entre los productos ME/DE 25/75. Al final de la reacción, después de 3 horas, la conversión aumentó hasta el 96% y la relación ME/DE cambió ligeramente a 21/79. Se mejoraron los resultados a mayor escala.

Como conclusiones se puede decir que en este trabajo se ha logrado preparar una mezcla con mayor proporción de diésteres (79%) con una conversión del 96% en condiciones más suaves que las descritas en la bibliografía. Para la preparación de los diésteres de PEG 1500 a partir de diferentes ácidos se utilizaba una relación molar ácidos/PEG 12:1 y la mezcla se calentaba a 230°C durante 3 horas utilizando como catalizador un alcóxido de Ti.⁸⁰ El porcentaje de diésteres obtenido era de 45 y 47% para el ácido esteárico y el ácido oleico con conversiones de 53 y 51% respectivamente. El diestearato de PEG 600 se obtenía utilizando una relación molar PEG/estearato de 1:3,2 a 80°C a 1 mbar con *Candida antarctica* con un 100% de conversión en 6 horas,⁸² es decir, menor presión durante más tiempo. En cuanto a preparación de ésteres de PEG 400 a partir de aceite de girasol y de soja el rendimiento descrito es del 90% utilizando la enzima *Mucor miehe*.⁸⁴ En este caso la temperatura de la reacción es de 90°C y no es necesario utilizar tanto exceso de ésteres (2:1) para obtener un 79% de diésteres con una conversión del 96%, además se utiliza como catalizador KOH, que tiene bajo coste.

⁸⁰ Bhattacharyya D. N., Krishnan S., Kelkar R. Y., Chikale S. V., *J AM OIL CHEM SOC* **1984**, *61*, 1925.

⁸² Viklund F., Hult K., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2004**, *27*, 51.

⁸⁴ Basu S., B Bhattacharyya D. K., *J. Surfactants Deterg.* **1998**, *1*, 343.

3. Conclusiones

En este trabajo se ha llevado a cabo la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol, 2-hexil-1-decanol, isopropanol, TMP y PEG obteniéndose buenos resultados.

La reacción con 2-etil-1-hexanol se llevó a cabo químicamente, usando como bases KOH, NaOEt y TBD, utilizando vacío para eliminar el etanol que se forma durante la reacción. Se optimizaron: la relación molar ésteres/alcohol, el porcentaje de catalizador, la temperatura, la presión y el tiempo. El mejor resultado se obtuvo con NaOEt, conversión total en 1 hora. Para la transesterificación enzimática se emplearon dos lipasas comerciales: Novozym 435 y CalB Immo Plus. Además de los buenos resultados obtenidos, una ventaja adicional es la recuperación y reutilización de las enzimas en 5-6 ciclos de reacción, con resultados similares. Además, se ha escalado esta reacción a 100 g, obteniéndose los mismos resultados que a escala de laboratorio (3 g), y a 500 g, aunque en este caso fue necesario aumentar el porcentaje de base para alcanzar conversiones de >95%.

Para la transesterificación con 2-hexil-1-decanol se emplearon KOH y NaOEt, pero se necesitaron condiciones más severas, mayor porcentaje de base y mayor temperatura o adición de ^tBuOH como codisolvente para mejorar la miscibilidad de la mezcla. También se utilizaron las enzimas Novozym 435 y CalB Immo Plus obteniéndose conversiones de 93-96%, usando ^tBuOH como codisolvente o aumentando la velocidad de agitación. En este caso fue posible recuperar y reutilizar las enzimas durante al menos 9 ciclos de reacción.

La reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con isopropanol se optimizó tanto con KOH como con NaOEt (porcentaje de base y relación molar ésteres/alcohol) obteniéndose una conversión >90%. Estos resultados mejoraron al efectuar la adición de la base en porciones a lo largo del tiempo. También se escaló esta reacción a 100 g utilizando NaOEt con una conversión del >95%. En la reacción catalizada con CalB Immo Plus fue preciso evaporar la mezcla isopropanol/etanol y añadir de nuevo isopropanol para alcanzar un 81% de conversión.

La reacción de transesterificación de la mezcla DF2 con trimetilolpropano no fue eficaz con enzimas, de manera que solamente se optimizó empleando bases, en concreto NaOEt. Se estudió el efecto de la relación molar ésteres/TMP, el porcentaje de catalizador, la temperatura, la presión y el tiempo para obtener mezclas enriquecidas en los diferentes productos, monoésteres, diésteres y triésteres, con conversión total de los ésteres etílicos de partida. El tiempo de reacción varía desde 1 hora para la mezcla enriquecida en ME (82%), hasta 8 horas para la enriquecida en TE (79%). El escalado a 100 g condujo a los mismos resultados que a escala de laboratorio (5 g). Sin embargo, a escala de 250 y 500 g los resultados fueron ligeramente inferiores. Y, por último, se preparó una mezcla enriquecida en triésteres (96%) tanto en escala laboratorio como en escala de 100 g utilizando más exceso de TMP.

Finalmente se estudió la reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG 400), optimizando la relación molar DF2/PEG, el porcentaje de KOH, la temperatura y la presión obteniendo resultados similares tanto en escala de laboratorio como en escala de 100 g. En 3 horas de reacción la conversión de la reacción fue del 96% y la relación entre los productos monoésteres/diésteres 21/79.

Por lo tanto, se logró obtener mezclas de ésteres de alcoholes muy diferentes a partir de la mezcla de DF2 con buenos resultados en todos los casos, utilizando catálisis básica y/o enzimática, dependiendo de la naturaleza del alcohol utilizado.

3. REACCIONES DE HIDRÓLISIS

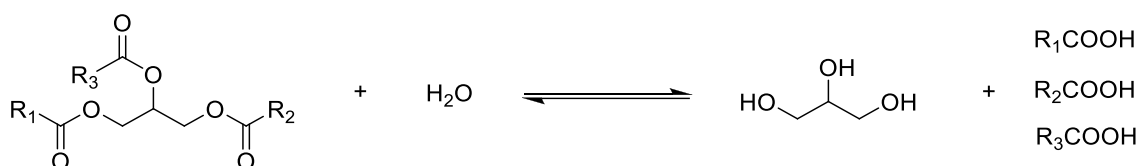


1. Antecedentes

La humanidad ha utilizado los ácidos grasos desde hace 4500 años para producir jabón. A principios del siglo XX se empezaron a producir diferentes tipos de surfactantes mediante transformaciones del grupo carboxilo.⁹⁰

Por otro lado, los ácidos grasos son la materia prima para la producción de alcoholes grasos, aminas grasas y ésteres grasos.²⁶ Estos productos oleoquímicos se utilizan en pinturas, gomas, recubrimientos, polímeros, textiles, alimentación animal, cosméticos, champús, detergentes, adhesivos, lubricantes, productos químicos, etc.^{12,26} De hecho, el mercado mundial de ácidos grasos naturales alcanzó 12100 millones de dólares en 2016 y se prevé que alcance 16800 millones para 2022.⁹¹

La producción de ácidos grasos mediante la reacción de hidrólisis de aceites y grasas es un componente muy importante de la explotación de aceites y grasas naturales. En la reacción de hidrólisis de triglicéridos se obtienen ácidos grasos que posteriormente se pueden convertir en alcoholes grasos de alto valor. Se producen 8 millones de toneladas por año de ácidos grasos mediante.⁹² La hidrólisis de triglicéridos implica reacciones con agua para producir ácidos grasos libres y glicerol. Actualmente se pueden dividir las rutas para la hidrólisis de grasas y aceites en dos grandes tipos: hidrólisis química e hidrólisis enzimática.



Esquema 3.1. Reacción de hidrólisis de triglicéridos

⁹⁰ Pel A., *OCL*, **2001**, 8, 145.

²⁶ a) Corma A., Iborra S., Velty A., *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2411.

¹² *Fatty Acids. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Anneken D. J., Both S., Christoph R., Fieg G., Steinberger U., Westfechtel A., Ed. Wiley-VCH, **2006**.

⁹¹ *Oleochemical Fatty Acids: Global Markets to 2022*. Andrew McWilliams, **2017**.

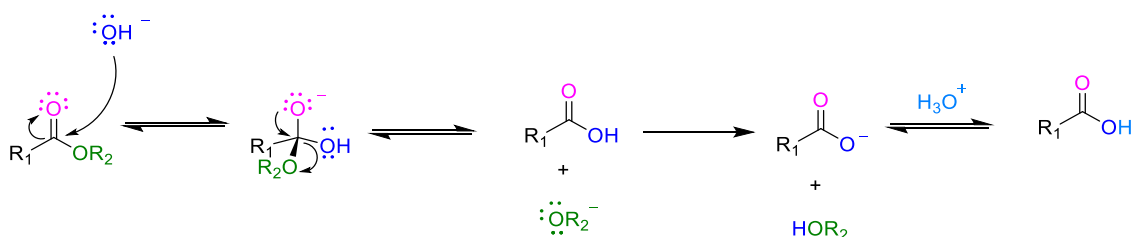
⁹² *Chemical Energy Storage*. Schlögl R., Ed. Walter de Gruyter GmbH, **2013**.

1.1. Hidrólisis química



Esquema 3.2. Reacción de hidrólisis de un éster graso

Los ésteres grasos se pueden hidrolizar tanto en medio ácido como en medio básico. La hidrólisis en medio básico se denomina saponificación. Esta reacción, al contrario que la hidrólisis en medio ácido es irreversible. El ión OH^- ataca al carbonilo del éster formando un intermedio tetraédrico. Cuando se regenera el grupo carbonilo se produce la eliminación del ión alcóxido y se forma un ácido carboxílico. A continuación, el ácido se desprotona formando el ión carboxilato por la presencia en el medio de reacción de especies básicas (OH^- y RO^-). Este último paso es muy exotérmico y desplaza los dos equilibrios anteriores del proceso de saponificación hacia la derecha (Esquema 3.3). Finalmente, la adición de un ácido produce la protonación del ión carboxilato dando lugar al ácido carboxílico.⁹³



Esquema 3.3. Mecanismo de reacción de la reacción de hidrólisis básica

La reacción de hidrólisis tradicional de aceites se lleva a cabo utilizando alta temperatura y presión para que la miscibilidad entre el agua y el aceite aumente. En estas condiciones se producen reacciones indeseadas como oxidación o interesterificación de los triglicéridos y no es adecuado para ácidos con dobles enlaces conjugados que pueden sufrir degradación térmica, para hidroxilados que se pueden deshidratar o para poliinsaturados que pueden polimerizar y dar lugar a mezclas de color oscuro que necesitan una posterior purificación para eliminar el color.⁹⁴

El proceso más utilizado es el llamado Colgate-Emery que es un proceso de hidrólisis con vapor de agua. La reacción se realiza en continuo y se alcanzan conversiones del 96%-99% en 6 horas empleando una temperatura de 250°C, en ausencia de catalizador y a una presión de 50 bar.⁹⁴ En estas condiciones se produce la miscibilidad parcial entre el agua y el aceite, lo que promueve la reacción. Es necesario utilizar un exceso de agua (6-10% en peso con respecto al agua estequiométrica).

⁹³ *Química Orgánica*, 8ª edición. John McCurry. Cengage Learning Editores, 2012.

⁹⁴ *Bailey's Industrial Oils and Fats Products*, 6th ed., Shahidi F., Ed. Wiley, New York, 2006.

Este proceso presenta algunos inconvenientes como el alto consumo de energía, la cantidad de agua utilizada, requiere el uso de reactores hechos de materiales resistentes a la corrosión y se obtienen mezclas de productos lo que implica una purificación posterior.⁹⁵

También se puede llevar a cabo esta reacción disminuyendo la presión a 10-20 bar y la temperatura a 150-180°C utilizando un catalizador (óxido de zinc, calcio o magnesio) para alcanzar una conversión del 90-98%.⁹⁶

El procedimiento Twitchell es un procedimiento de reacción discontinuo, opera a 100°C y presión atmosférica empleando un catalizador homogéneo que se conoce como reactivo de Twitchell, que se prepara por sulfonación de naftaleno (o benceno) y un ácido graso (oleico) usando ácido sulfúrico concentrado. En el proceso de hidrólisis de aceites se utiliza un 25-50% (en peso) de agua y un 0,75-1,25% (en peso) del reactivo de Twitchell con respecto a la masa de aceite. Necesita tiempos de contacto más largos (12-24 horas) para alcanzar conversiones del 80-85% y no se usa mucho en la actualidad.⁹⁷

La reacción de hidrólisis alcalina también presenta algunos inconvenientes como altos costes de energía y necesidad de acidificar los jabones formados generándose una cantidad significativa de residuos ácidos y aguas duras.⁹⁸

En general, la hidrólisis de ésteres es irreversible al utilizar bases de Brønsted tales como LiOH y NaOH. Dado que los ácidos carboxílicos resultantes neutralizan la base, se requieren cantidades estequiométricas para completar la reacción. Además, se requieren cantidades estequiométricas de un ácido para acidificar la mezcla de reacción resultante y obtener los ácidos carboxílicos. Por el contrario, los ácidos de Brønsted promueven catalíticamente la hidrólisis de ésteres. En disoluciones donde hay una bicapa orgánica/acuosa, la mayoría de los catalizadores ácidos de Brønsted homogéneos son ineficaces debido a su alta solubilidad en agua, sin embargo, sí que se pueden utilizar catalizadores heterogéneos como la Amberlita. El problema de la solubilidad del catalizador fue resuelto por Ishihara y colaboradores sintetizando un catalizador de transferencia de fase eficaz en este tipo de reacciones: el piro sulfato de *N,N*-diarilamonio. Con este catalizador se alcanzan conversiones superiores al 80% en la reacción de hidrólisis de diferentes triacilglicerolos.⁹⁹

⁹⁵ Holliday R. I., King J. W., List G. R., *Ind. Eng. Chem. Res.* **1997**, *36*, 932.

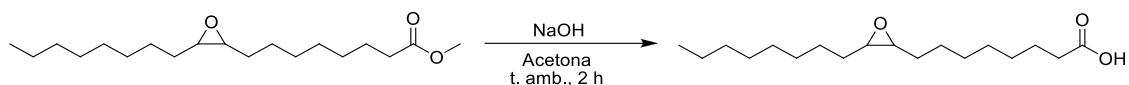
⁹⁶ Rincón S. M., Narváez P.C., Astudillo A., García J. A., *Tecnologías para la obtención de oleoquímicos provenientes del aceite de palmiste*, Boletín Técnico N° 24. Ed. Centro de Investigación en Palma de Aceite, Bogotá, **2008**.

⁹⁷ a) Hartman L., *J AM OIL CHEM SOC* **1953**, 349. b) Patil T. A., Butala D. N., Raghunathan T. S., Shankar H. S., *Ind. Eng. Chem. Res.* **1988**, *27*, 727.

⁹⁸ Murty V. R., Bhat J., Muniswaran P. K. A., *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2002**, *7*, 57.

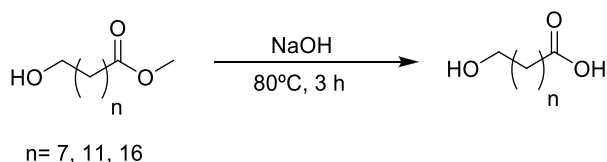
⁹⁹ Koshikari Y., Sakakura A., Ishihara K., *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3194.

Por otro lado, dos de las bases más utilizadas para la hidrólisis de ésteres son KOH y NaOH. Por ejemplo, se ha llevado a cabo la reacción de hidrólisis del grupo éster del epóxido del oleato de metilo con NaOH en acetona para obtener el ácido correspondiente con un 86% de rendimiento (*Esquema 3.4*).¹⁰⁰



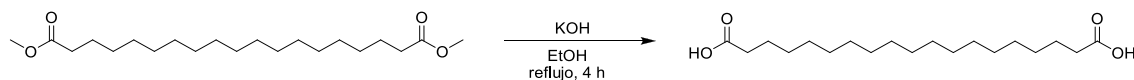
Esquema 3.4. Reacción de hidrólisis de 9,10-epoxiestearato de metilo

También se ha descrito la preparación de diferentes ω -hidroxiácidos (ácido 9-hidroxinonanoico, ácido 13-hidroxitridecanoico y ácido 18-hidroxioctadecanoico) a partir de los correspondientes ésteres utilizando una disolución acuosa de NaOH (*Esquema 3.5*).¹⁰¹ La reacción se calienta a 80°C durante 3 horas. En el tratamiento de la reacción es necesario acidificar con HCl la fase acuosa extraída con éter. El rendimiento de la reacción es del 80%.



Esquema 3.5. Reacción de hidrólisis de diferentes ω -hidroxiácidos

En la literatura también aparece descrita la reacción de hidrólisis del 1,19-nonadecanodioato de dimetilo con KOH para obtener el correspondiente diácido con un 99% de rendimiento.¹⁰² Para ello se emplea una relación molar de diéster/KOH de 1:3,5, etanol como disolvente y la mezcla se calienta a reflujo durante 4 horas (*Esquema 3.6*). Esta misma reacción también se ha llevado a cabo utilizando una relación molar diéster/KOH molar de 1:12, metanol como disolvente y calentando la mezcla a 70°C durante 8 horas con un 98% de rendimiento.¹⁰³



Esquema 3.6. Reacción de hidrólisis de 1,19-nonadecanodioato de dimetilo

¹⁰⁰ Wu Y., Li A., Li K., *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, 41143.

¹⁰¹ Jose J., Pourfallah G., Merkley D., Li S., Bouzidi L., Lopes Lao A., Narine S. S., *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 3203.

¹⁰² Walther G., Deutsch J., Martin A., Baumann F., Fridag D., Franke R., Köckritz A., *ChemSusChem* **2011**, *4*, 1052.

¹⁰³ Stemple F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S., *Macromolecules* **2011**, *4*, 4159.

1.2. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de los triglicéridos se puede llevar a cabo a temperatura ambiente y a presión atmosférica haciendo el proceso más favorable energéticamente en comparación con el proceso Colgate-Emery. Las enzimas son muy específicas lo que permite alcanzar una alta selectividad minimizando la aparición de subproductos y residuos, y en estas condiciones también se minimiza la degradación térmica.⁹⁸ Si las enzimas están inmovilizadas, además se pueden recuperar y reutilizar en sucesivos ciclos de reacción. Como inconveniente es que presentan un alto coste, lo que hace necesario desarrollar nuevos procesos para la producción de enzimas y su uso en la menor cantidad posible.

En los últimos años el uso de las lipasas (glicerol éster hidrolasas) ha aumentado debido a sus numerosas aplicaciones: aditivos en alimentos, química fina (síntesis de ésteres), detergentes (hidrólisis de grasas), tratamiento de aguas residuales (descomposición y eliminación del aceite), cosméticos (eliminación de lípidos), productos farmacéuticos (digestión de aceites y grasas en alimentos), tratamiento del cuero (eliminación de lípidos de la piel de animales) y ensayos biomédicos (triglicéridos en sangre).¹⁰⁷

Estas enzimas pueden romper los triglicéridos en presencia de una cantidad suficiente de agua llevando a la formación de monoglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y glicerol.

Las lipasas son enzimas interfaciales y actúan en la interfase agua-aceite pudiendo catalizar la reacción. El área interfacial se ve afectado por la mezcla de sustratos y la concentración influyendo en la velocidad de la reacción.¹⁰⁸ Se ha demostrado que el uso de un disolvente orgánico facilita la reacción de hidrólisis catalizada por lipasas porque sirve como un depósito para los sustratos y los productos.¹⁰⁹

Durante la reacción de hidrólisis el agua rodea a la enzima activando el sitio activo de la misma.¹¹⁰ El mecanismo catalítico se centra en el residuo catalítico serina, situado en el centro activo de la lipasa. El átomo de oxígeno de la serina, activado en cascada por dos residuos de aspartato e histidina, ataca nucleófilamente al grupo carbonilo del triglicérido (RCOOR') (paso *a* del *Esquema 3.8*) formándose un éster de serina con el triglicérido que se hidroliza liberando al diglicérido. De esta forma, el grupo acilo del sustrato se une covalentemente a la enzima formando un intermedio acil-enzima liberando el alcohol (R'OH).¹¹¹

⁹⁸ Murty V. R., Bhat J., Muniswaran P. K. A., *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2002**, 7, 57.

¹⁰⁷ *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*. Polaina J., MacCabe A. P., Ed. Springer, **2007**.

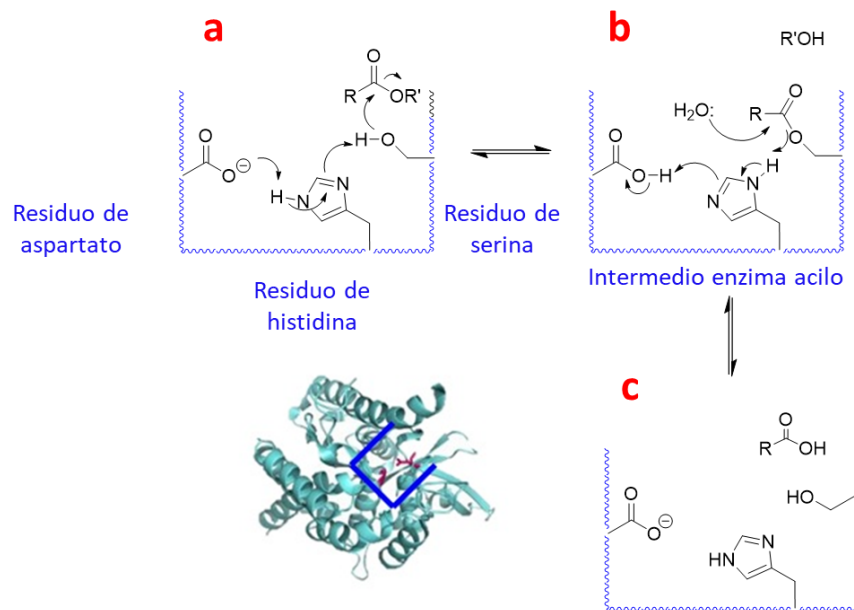
¹⁰⁸ Al-Zuhair S., Hasan M., Ramachandran K. B., *Process Biochem.* **2003**, 38, 1155.

¹⁰⁹ Murty V. R., Bhat J., Muniswaran P. K. A. *Biotechnol. Lett.* **2004**, 26, 563.

¹¹⁰ Souza P., Zandoná A. Pedersen F. A., Corazza M. L., *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2014**, 173, 1336.

¹¹¹ Petersen M. T. N., Fojan P., Petersen S. B., *J. Biotechnol.* **2001**, 85, 115.

A continuación, se produce el ataque nucleófilo del agua al intermedio acil-enzima regenerándose la enzima y obteniéndose el ácido carboxílico (RCOOH). (Esquema 3.8).¹¹¹



Esquema 3.8. Mecanismo de la reacción de hidrólisis de los triglicéridos catalizada por lipasas

Las lipasas se producen en distintos microorganismos como bacterias, hongos y levaduras lo que suscita un interés industrial ya que pueden producirse en grandes cantidades con alto rendimiento.¹¹²

El aceite de girasol ha sido objeto de estudio para obtener sus ácidos grasos. Se ha realizado su hidrólisis con la enzima de *Candida rugosa* OF360 para obtener principalmente ácido oleico con un 90% de conversión en 1 hora,¹¹³ también se ha hidrolizado con la enzima de *Candida rugosa* ATCC 14380 no superando el 40% de conversión en 24 horas¹¹⁴ y con la enzima de *Candida rugosa* alcanzándose un 76% de conversión en 24 horas.¹¹⁵

¹¹¹ Petersen M. T. N., Fojan P., Petersen S. B., *J. Biotechnol.* **2001**, 85, 115.

¹¹² Salihua A., Alam M. Z., AbdulKarima M. I., Salleha H. M., *Resour. Conserv. Recy.* **2012**, 58, 36.

¹¹³ Rooney D., Weatherley L. R., *Process Biochem.* **2001**, 36, 947.

¹¹⁴ Abdelmoez W., Mostafa N. A., Mustafa A., *J. Clean Prod.* **2013**, 59, 290.

¹¹⁵ Pongket U., Piyatheerawong W., Thapphasaraphong S., H-Kittikum A., *Biotechnol. Biotec. Eq.* **2015**, 5, 926.

El aceite de oliva también ha sido hidrolizado, aunque existen menos ejemplos ya que es uno de los aceites más valorados para el consumo humano como tal. Las enzimas utilizadas con aceite de oliva han sido Lipozyme *Rhizomucor miehei* (RMIM)¹¹⁰ y la enzima de *Candida rugosa* inmovilizada en tierra de diatomeas.¹¹⁶ En el primer caso la conversión no supera el 40% en 24 horas, sin embargo, en el segundo caso se logra un 100% en 1 hora.

También aparece descrita la reacción de hidrólisis del aceite de soja con la enzima Lipolase 100T con un 80% de conversión en 60 horas.¹¹⁷

La enzima de *Candida rugosa* también se ha utilizado para llevar a cabo la hidrólisis del aceite de palma con una conversión del 100% en 6 horas¹¹⁸ o del 97% en 90 minutos dependiendo del resto de condiciones de reacción.¹¹⁹ Además se ha utilizado inmovilizada en polipropileno microporoso para hidrolizar palmoleína en un sistema bifásico con un 97% de conversión en 30 minutos.¹²⁰

Otros aceites menos comunes que se han hidrolizado son el aceite de *Jatropha curcas*¹²¹ con la enzima de *Candida cylindracea* inmovilizada en carbón activado y el aceite de salvado de arroz¹⁰⁹ con la enzima de *Candida rugosa* en cuentas de vidrio activadas, obteniéndose un 78% y un 64% de conversión respectivamente en condiciones similares a las empleadas por otros autores.

Por otro lado, se ha intentado dar uso a los aceites de cocina usados mediante reacción de hidrólisis enzimática y posterior esterificación para obtener biodiesel.¹²² La reacción de hidrólisis de los aceites usados transcurre con una conversión del 92-100%.

El aceite de ricino contiene entre un 87 y un 90% de ácido ricinoleico.¹²³ Éste ácido tiene diferentes aplicaciones como su uso en tinta de impresora, acabados textiles, surfactantes, jabones para limpieza en seco y como intermedio para la síntesis de ácido subérico y ácido azelaico.¹²⁴ Además tiene interés en el campo de la medicina debido a su efecto bactericida, antiinflamatorio y antiherpético.¹²⁵ En la industria se obtiene mediante hidrólisis alcalina con los inconvenientes que eso conlleva.

¹¹⁰ Souza P., Zandoná A., Pedersen F. A., Corazza M. L., *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2014**, *173*, 1336.

¹¹⁶ Fadiloglu S., Söylemez Z., *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3411.

¹¹⁷ Li Y., Wang C., Liu J., Chen Y., Yin F., Xu L., Liu S., Zhao X., Zhang W., *Adv. Mar. Res.* **2013**, *675*, 275.

¹¹⁸ Khor H. T., Tan N. H., Chua C. L., *J AM OIL CHEM SOC* **1989**, *63*, 538.

¹¹⁹ Serri N. A., Kamarudin A. H., Rahaman S. N. A., *J. Phys. Sci.* **2008**, *19*, 79.

¹²⁰ H-Kittikun A., Prasertsan P., Sungpud C., *J AM OIL CHEM SOC* **2000**, *773*, 599.

¹²¹ Kabbashi N. A., Mohammed N. I., Alam M. Z., Mirgani A. E. S., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, *116*, 95.

¹⁰⁹ Murty V. R., Bhat J., Muniswaran P. K. A., *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 563.

¹²² a) Chowdhury A., Mitra D., Biswas D., *Environ. Prog. Sustain.* **2014**, *33*, 933. b) Chowdhury A., Mitra D., Biswas D.J., *Chem. Technol. Biotechnol.* **2013**, *88*, 139. c) Talukder M. M. R., Wu J. C., Chua L.P., *Energy Fuels* **2010**, *24*, 2016.

¹²³ Binder R. G., Applewhite T. H., Kohler G. O., Goldblatt L. A., *J AM OIL CHEM SOC* **1962**, *39*, 513.

¹²⁴ Mutlu H., Meier M. A. R., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, *112*, 10.

¹²⁵ Scarpa A., Guerci A., *J. Ethnopharmacol* **1982**, *5*, 117.

Para solucionar estas desventajas aparece propuesta la realización de la reacción de forma enzimática obteniéndose un 40% de ácidos grasos (1 hora a 25°C con la enzima de *Aspergillus oryzae*)¹²⁶ y un 47% de conversión (16 horas a 37°C con la enzima de *Candida rugosa*).¹²⁷

Los aceites provenientes de sardina, atún, salmón o camarón tienen un alto contenido en ácidos grasos omega 3 (EPA y DHA), entre un 10 y un 30% del total.¹²⁸ Por ello, también se ha estudiado la reacción de hidrólisis en este tipo de aceites. Por ejemplo, se ha utilizado aceite de sardina y tres lipasas de: *Candida antarctica* (CAL-B), *Rhizomucor miehei* (RML) y *Thermomyces lanuginosa* soportadas en agarosa en un sistema bifásico: agua (tampón) y ciclohexano/aceite.¹²⁹ Con RML se alcanza un 95% de conversión en 24 horas. También aparece descrita la reacción de hidrólisis del aceite de atún, de nuevo en un sistema bifásico con la enzima CAL-B inmovilizada en la resina Immobead-150.¹³⁰ En el primer ciclo de reacción se obtiene un 97% de conversión en 48 horas mientras que en el sexto un 30%. En otro trabajo los autores describen la hidrólisis de aceite de bacalao con las enzimas de *Candida cylindracea* y *Candida rugosa* con conversiones superiores al 97%.¹³¹

Las grasas animales también han sido objeto de estudio. Se ha hidrolizado con la enzima de *Candida rugosa* inmovilizada en un soporte de polipropileno microporoso sebo de vaca y manteca de cerdo con un 95% y 65% de conversión respectivamente en 24 horas.¹³² También se ha hidrolizado el sebo de vaca con la lipasa de *Aspergillus niger* con un 53% de conversión en 24 horas.¹³³ En otro ejemplo, se ha utilizado la enzima de *Rhizomucor miehei* para llevar a cabo la hidrólisis del sebo de vaca y la grasa de ave con un 68% y 62% de conversión respectivamente en 72 horas.¹³⁴

En las reacciones de hidrólisis enzimáticas de aceites se ha utilizado en algunas ocasiones el uso de ultrasonidos ya que aportan ventajas como: una mejor disolución de los sustratos, menor uso de energía, una disminución del tiempo de reacción, de la cantidad de reactivos y aumento del rendimiento.¹³⁵

¹²⁶ Puthli M. S., Rathod V. K., Pandit A. B., *Biochem. Eng. J.* **2006**, *31*, 31.

¹²⁷ Gamayurova V. S., Zinov'eva M. E., Tran H. T. T., *Catal. Ind.* **2013**, *5*, 269.

¹²⁸ Giogios I., Grigorakis K., Nengas I., Papasolomontos S., Papaioannou N., Alexis M. N., *J. Sci. Food Agric.* **2009**, *89*, 88.

¹²⁹ Fernández-Lorente G., Pizarro C., López-Vela D., Betancor L., Carrascosa A. V., Pessela B., Guisan J. M., *J AM OIL CHEM SOC* **2011**, *88*, 819.

¹³⁰ Sharma A., Chaurasia S. P., Dalai A. K., *Can. J. Chem. Eng.* **2014**, *92*, 344.

¹³¹ Sharma A., Chaurasia S. P., Dalai A. K., *Catal. Today* **2013**, *207*, 93.

¹³² Virto M. D., Agud I., Montero S., Blanco A., Solozabal R., Lascaray J. M., Llama M. J., Serra J. L., Landeta, de Renobales M., *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *6*, 61.

¹³³ Edwinoliver N. G., Thirunavukarasu K., Naidu R. B., Gowthaman M. K., Kmabe N., Kamini N. R., *Bioresource Technol.* **2010**, *101*, 6791.

¹³⁴ Adamczak M., Bednarski W., *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1347.

¹³⁵ Lerin L. A., Loss R. A., Remonatto D., Zenevicz M. C., Balen M., Netto V. O., Ninow J. L., Trentin C. M., Oliveira J. V., de Oliveira D., *Bioprocess. Biosyst Eng* **2014**, *37*, 2381.

Por ejemplo, se hidrolizado el aceite de soja con un 95% de conversión en 2 horas con la enzima Lipozyme *Thermomyces lanuginosus* (TL IM).¹³⁶ También se han obtenido los ácidos grasos del aceite de cocina usado con un 60% de conversión con Lipozyme TL IM en 2 horas¹³⁷ y un 80% de conversión en 2 horas con *Candida antarctica* (Novozym 435).¹³⁸ La reacción de hidrólisis del aceite de ricino transcurre con un 85% en 6 horas.¹³⁹

¹³⁶ Feiten M. C., Rosa C. D., Treichel H., Furigo A., Zenevitz M. C., de Oliveira D., Oliveira J. V., *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2014**, 3, 83.

¹³⁷ Zenevitz M. C. P, Jacques A., de Oliveira D., Furigo A., Valério A., Oliveira J. V., *Ind. Crops Prod* **2017**, 108, 52.

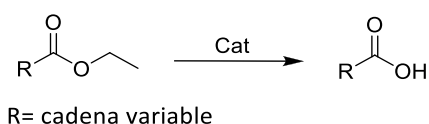
¹³⁸ Waghmare G. V., Rathod V. K., *Ultrason. Sonochem.* **2016**, 32, 60.

¹³⁹ Kulkarni S. R., Pandit A. B., *Indian J. Biotechnol.* **2005**, 4, 241.

2. Resultados y discusión

2.1. Hidrólisis química

Las reacciones de hidrólisis de la mezcla DF2 en medio alcalino se llevaron a cabo en presencia de cantidades variables de una base fuerte (KOH o NaOH) y en un alcohol secundario (isopropanol) o terciario (*tert*-butanol) como disolvente para minimizar las posibles transesterificaciones competitivas. Una vez producida la saponificación se evaporó el disolvente, se acidificó la disolución a pH= 2, obteniendo los ácidos carboxílicos mediante extracción con dietiléter (Et₂O). Cuando se aumentó la escala, la separación de las fases se produjo sin añadir Et₂O. La conversión se determinó por cromatografía de gases usando los picos de ácido palmítico y palmitato de etilo entre todos los presentes en la mezcla.



Esquema 3.9. Reacción de hidrólisis la mezcla DF2

2.1.1. Reacción en escala de 1 g

En primer lugar, se realizaron unas pruebas preliminares utilizando 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol), considerando un peso molecular promedio de 296,5 g/mol para dicha mezcla, y 15 mL de disolvente, fijando el tipo de base (KOH), el tiempo de reacción en 24 horas y 70°C de temperatura. En la siguiente tabla se recogen las condiciones y los resultados obtenidos.

Tabla 3.1. Estudio preliminar de la reacción de hidrólisis

Reacción	Mezcla DF2/ KOH (mol)	Disolvente	% Conv.
1	1:4	^t BuOH	100
2	1:4	ⁱ PrOH	100
3	1:2	^t BuOH	100
4	1:2	ⁱ PrOH	100
5	1:1	ⁱ PrOH	90

Condiciones: 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol), 15 mL de disolvente, agitación vigorosa (1200 r.p.m.), 24 h y 70°C.

Al emplear un exceso de KOH la conversión en 24 horas fue del 100% (reacciones 1- 4). No se observaron diferencias con la cantidad de KOH o el disolvente. Sin embargo, cuando se empleó isopropanol como disolvente y una relación molar mezcla DF2/KOH 1:1 (reacción 5) se observó en cromatografía de gases la presencia de unos picos que no correspondían ni a los ésteres de partida ni a los ácidos formados (Figura 3.1).

Por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) se identificaron como ésteres de isopropilo obtenidos mediante reacción de transesterificación.

El seguimiento de la reacción en isopropanol con 1 equivalente de KOH mostró que los ésteres de isopropilo empezaban a aparecer a partir de las 2 horas. Por lo tanto, para evitar la presencia de ésteres de isopropilo es necesario utilizar un exceso de base.

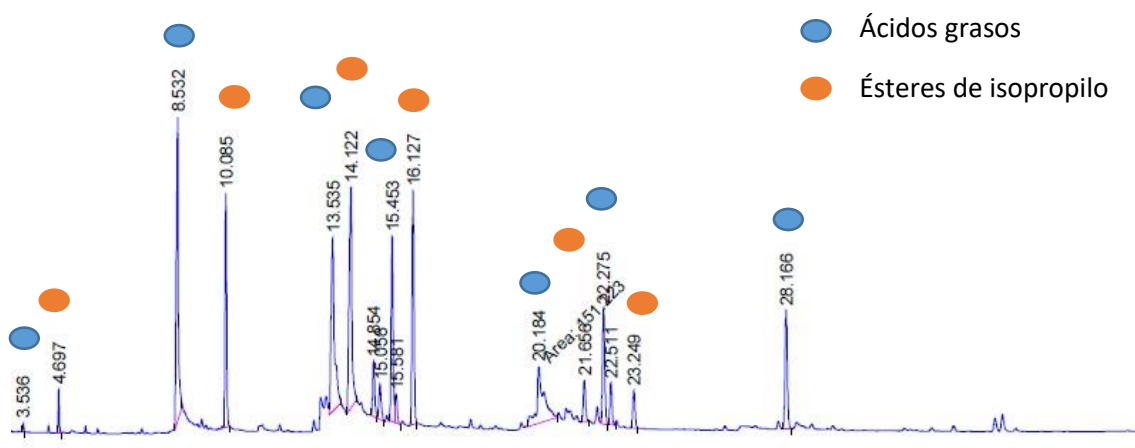


Figura 3.1. Cromatograma de la reacción de hidrólisis

El seguimiento de dos reacciones con 2 equivalentes de KOH en los dos disolventes elegidos (Tabla 3.2) mostró que en *terc*-butanol se alcanzó conversión total en 1 hora, mientras que con isopropanol la conversión no llegó a ser completa (97%) en el mismo tiempo. Por lo tanto, a la vista de los resultados, se escogió *terc*-butanol como disolvente para obtener los ácidos grasos.

Tabla 3.2. Optimización del disolvente

Reacción	Base	Disolvente	Tiempo (h)	% Conv.
1	KOH	^t BuOH	1	100
2	KOH	ⁱ PrOH	1	97
			2	97
			3	98
			4	99
			6	100

Condiciones: 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol), relación DF2/base (en mol) 1:2, 15 mL de disolvente, agitación vigorosa (1200 r.p.m.) y 70°C.

2.1.2. Escalado de la reacción a 10 g

Al trabajar en mayor escala se simplificó el tratamiento del crudo de reacción, ya que la separación de fases, tras añadir la cantidad correspondiente de agua y acidular, se produjo sin necesidad de añadir otro disolvente orgánico. También se optimizó la cantidad de agua empleada en el tratamiento, usando una relación en masa agua/mezcla DF2 1:1. Se observó que era preciso realizar todo el tratamiento de reacción en caliente porque a temperatura ambiente la mezcla de ácidos solidificaba. Durante el tratamiento se mantuvo la mezcla de reacción a 60-70°C, usando también el material de vidrio directamente de la estufa a 120°C.

En un primer paso se intentó optimizar el uso de *terc*-butanol, en reacciones con 2 equivalentes de KOH. En estas condiciones fue preciso utilizar agitación vigorosa (1200 r.p.m.) ya que, a medida que se iban formando los ácidos grasos éstos solidificaban. Se monitorizaron las reacciones por cromatografía de gases y se cuantificó el rendimiento aislado tras el tratamiento final.

Tabla 3.3. Optimización del uso de *terc*-butanol

Reacción	Disolvente (mL) (mezcla DF2/^tBuOH en mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	20 (1:6,3)	1	72
		2	86
		3	98
		4	100
2	10 (1:3,1)	1	39
		2	64
		3	92
		4	98
		6	100
3	5 (1:1,6)	1	83
		2	100
4	3,2 (1:1)	1	100

Condiciones: 10 g de mezcla DF2 (33,7 mmol), relación mezcla DF2/KOH (en mol) 1:2, ^tBuOH, agitación vigorosa (1200 r.p.m.) y 70°C.

En la tabla se observa que en las cuatro reacciones llevadas a cabo fue posible obtener un 100% de conversión. Al aumentar el volumen de disolvente las reacciones fueron más lentas (*reacciones 1 y 2*) requiriendo por lo tanto, un tiempo más largo para alcanzar conversión total, de acuerdo con el efecto de dilución, aunque en estas reacciones se obtuvo un 98% de conversión en 3 y 4 horas. En las *reacciones 3 y 4* el ^tBuOH se utilizó como codisolvente ayudando a disolver el KOH y que la disolución fuera homogénea, mejorando la velocidad de reacción.

También se intentó optimizar la cantidad de KOH a utilizar. En las reacciones se utilizaron 5 mL de *terc*-butanol (relación molar mezcla DF2/*t*BuOH 1:1,6).

Tabla 3.4. Optimización de la cantidad de KOH

Reacción	Mezcla DF2/ KOH (en mol)	Tiempo (h)	% Conv.
1	1:2	1	83
		2	100
2	1:1,5	1	100
3	1:1,2	1	88
		4	88
4	1:1	1	69
		4	72
5^b	1:1,5 ^a	8	77
		12	77
5^b	1:1,5	1	100

Condiciones: 10 g de mezcla DF2 (33,7 mmol), 5 mL de *t*BuOH, agitación vigorosa (1200 r.p.m.) y 70°C.
^a Adición de 10,16 mmol de KOH para completar la reacción.
^b Reacción con 3,2 mL de *t*BuOH

En la tabla se observa que por debajo de 1,5 equivalentes de KOH no se alcanzaba la conversión total de los ésteres grasos de partida (88% con 1,2 equivalentes, *reacción 3* y 77% con 1 equivalente, *reacción 4*). La relación molar DF2/KOH 1:1,5 permitió alcanzar conversión total en 1 hora de reacción (*reacción 2*), mientras que un exceso de KOH aún mayor ralentizaba la reacción. La existencia de un equilibrio se comprobó al añadir KOH adicional (*reacción 3*), de modo que la conversión pasó del 88% al 100%.

El siguiente paso consistió en combinar ambos factores, es decir, se emplearon las mínimas cantidades de KOH y de disolvente posibles (*reacción 5* de la *Tabla 3.4*). En 1 hora de reacción la conversión ya era del 100%. Además, en estas condiciones el rendimiento aislado era del 71%.

Por lo tanto, las condiciones óptimas encontradas para trabajar en escala de 10 g son 1,5 equivalentes de KOH y sólo 3,2 mL de *terc*-butanol.

2.1.3. Escalado de la reacción a 100 g

Dados los buenos resultados obtenidos en escala de 10 g, se decidió aumentar la escala de la reacción de hidrólisis a 100 g de mezcla DF2, con las mismas proporciones de KOH (1,5 equivalentes) y *terc*-butanol (1 equivalente) y en las mismas condiciones de temperatura (70°C) y agitación (1200 r.p.m.).

En estas condiciones la conversión fue del 98% en 1 hora, por lo que se prolongó el tiempo de reacción hasta 2 horas para conseguir una conversión total. Además, en esta reacción se observó que el rendimiento aislado de la reacción (83%) mejoró respecto al obtenido en la escala de 10 g de (71%), posiblemente por la menor incidencia de las pérdidas por manipulación.

Dada la heterogeneidad de la mezcla de reacción, debida a la precipitación de los ácidos grasos y a la dificultad de agitación en gran escala, se monitorizó por cromatografía de gases la conversión en muestras tomadas en dos zonas diferentes del reactor: zona A en el centro de la mezcla y zona B en un lateral. En la *Tabla 3.5* se observa puede haber diferencias de hasta un 4% de conversión según el punto de toma de muestra (*reacción 1*), con lo que existe incertidumbre respecto al tiempo de finalización de la reacción. Existe también la posibilidad de que el tratamiento de las alícuotas no sea suficientemente exhaustivo para obtener un resultado fiable. Por ello se repitió la reacción (*reacción 2*) y en las alícuotas se efectuó una extracción de la fase acuosa con éter una vez acidificada la disolución, algo que no era necesario al aumentar la escala de la reacción. Se observa cómo en la mayoría de los casos las conversiones obtenidas así son mayores, y existen además mayores diferencias en la conversión determinada, llegando hasta un 15% en el peor de los casos. El empleo de una mayor cantidad de ^tBuOH (*reacción 3*) minimizó las diferencias en la determinación de la conversión, probablemente por una menor heterogeneidad de la mezcla. Finalmente, hay que destacar que los rendimientos aislados en esta escala están en torno al 90% de ácidos grasos libres.

Tabla 3.5. Optimización de la reacción en escala de 100 g

Reacción	Disolvente (mL) (mezcla DF2/tBuOH en mol)	Tiempo (h)	% Conv.	
			A	B
1	32 (1:1)	1	87	85
		2	85	85
		3	87	83
		4	84	86
		6	100	97
2	32 (1:1) ^a	1	84	87
		2	93	93
		3	97	87
		4	97	82
		6	100	96
3	50 (1:2,5)	1	91	85
		2	97	96
		3	99	97
		4	99	100

Condiciones: 100 g de mezcla DF2 (337,3 mmol), muestra DF2/KOH (mol) 1:1,5, agitación vigorosa (1200 r.p.m.) y 70°C.
^a En el tratamiento de la reacción se extrajo la fase acuosa con Et₂O.

En la bibliografía aparece descrita la reacción de hidrólisis de ésteres con NaOH o KOH en diferentes disolventes.¹⁰⁰⁻¹⁰⁵ Al comparar los resultados obtenidos con la mezcla DF2 y los recogidos en la bibliografía se observa que con la mezcla DF2 se utiliza menor exceso de base y disolvente. Por ejemplo, en el caso de la reacción de hidrólisis de 9,10-epoxiestearato de metilo se han utilizado 300 mL de acetona para 40,16 mmol de sustrato (relación molar sustrato/disolvente 1:100)¹⁰⁰ mientras que para la mezcla DF2 han sido 32 mL de *terc*-butanol para 337,7 mmol de mezcla (relación DF2/disolvente molar 1:1). También se ha disminuido la cantidad de base empleada. Köckritz y colaboradores han empleado una relación molar éster/KOH 1:3,5 mientras que en este trabajo se ha conseguido que ésta sea de 1:1,5.¹⁰²

¹⁰⁰ Wu Y., Li A., Li K., *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, 41143.

¹⁰¹ Jose J., Pourfallah G., Merkley D., Li S., Bouzidi L., Lopes Lao A., Narine S. S., *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 3203.

¹⁰² Walther G., Deutsch J., Martin A., Baumann F., Fridag D., Franke R., Köckritz A., *ChemSusChem* **2011**, *4*, 1052.

¹⁰³ Stemple F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S., *Macromolecules* **2011**, *4*, 4159.

¹⁰⁴ a) Ebert C., Felluga F., Forzato C., Foscatto M., Gardossi L., Nitti P., Pitacco G., Boga C., Caruana P., Micheletti G., Calonghi N., Masotti., *J Mol Catal. B-Enzym.* **2012**, *83*, 38. b) Calonghi N., Cappadone C., Pagnotta E., Boga C., Bertucci C., Fiori J., Tasco G., Casadio R., Masotti L., *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 1596.

¹⁰⁵ Abraham S., Lan Y., Lam R. S. H., Grahame D. A. S., Kim J. J. H., Weis R. G., Rogers M. A., *Langmuir* **2012**, *28*, 4955.

Además, el tiempo de reacción para obtener los ácidos grasos de la mezcla DF2 es de 2 horas, siendo menor que el de la reacción de hidrólisis de otros sustratos donde varía desde 3 hasta 15 horas en función del resto de condiciones de reacción.¹⁰¹⁻¹⁰⁵

Concluyendo se puede decir que se ha conseguido realizar la hidrólisis química en condiciones suaves y disminuyendo la cantidad de reactivos empleados en comparación a lo descrito en la literatura.

2.2. Hidrólisis enzimática

Por otro lado, se llevó a cabo la reacción de hidrólisis enzimática debido a las ventajas que presenta el uso de enzimas: mayor especificidad, se evita acidificar el crudo de reacción y, por lo tanto, la generación de residuos, y si están inmovilizadas se pueden recuperar. Se decidió utilizar la misma lipasa que en el *Capítulo 2* Lipozyme 435 y la enzima CalB, que no está inmovilizada y presenta una actividad de 5000 U/g. En estas reacciones se utilizó agua como disolvente de reacción y *tert*-butanol como codisolvente para mejorar la miscibilidad entre las dos fases. La enzima Lipozyme 435 tiene mayor actividad porque la inmovilización favorece la orientación del sitio activo y presenta como ventaja que se puede recuperar mediante filtración. Para separar la enzima CalB de la mezcla de ácidos se evaporaba el codisolvente de reacción y posteriormente fue necesario añadir éter para facilitar la separación de las dos fases. En este último caso cuando se escala la reacción de nuevo no fue necesario la adición de éter.

2.2.1. Reacción en escala de 1 g

Se eligió la enzima Lipozyme 435 para optimizar las condiciones de reacción por tener una mayor actividad y ser recuperable mediante filtración. Uno de los factores importantes en el uso de enzimas en reacciones es la velocidad de agitación. Se realizaron varias reacciones con agitación mecánica, pero en ninguna de ellas se obtuvieron los ácidos grasos, por lo que se desechó este tipo de agitación. En el caso de la agitación magnética, si es muy baja, la difusión del sustrato al centro activo se puede ver afectada, y con ella la velocidad de reacción, pero si es demasiado alta, el núcleo magnético puede romper la enzima provocando un descenso en su actividad.

¹⁰¹ Jose J., Pourfallah G., Merkley D., Li S., Bouzidi L., Lopes Lao A., Narine S. S., *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 3203.

¹⁰² Walther G., Deutsch J., Martin A., Baumann F., Fridag D., Franke R., Köckritz A., *ChemSusChem* **2011**, *4*, 1052.

¹⁰³ Stemple F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S., *Macromolecules* **2011**, *4*, 4159.

¹⁰⁴ a) Ebert C., Felluga F., Forzato C., Foscatto M., Gardossi L., Nitti P., Pitacco G., Boga C., Caruana P., Micheletti G., Calonghi N., Masotti., *J Mol Catal. B-Enzym.* **2012**, *83*, 38. b) Calonghi N., Cappadone C., Pagnotta E., Boga C., Bertucci C., Fiori J., Tasco G., Casadio R., Masotti L., *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 1596.

¹⁰⁵ Abraham S., Lan Y., Lam R. S. H., Grahame D. A. S., Kim J. J. H., Weis R. G., Rogers M. A., *Langmuir* **2012**, *28*, 4955.

Se llevaron a cabo dos reacciones con una relación en peso DF2/agua/Lipozyme 100:100:5 a 60°C y con dos velocidades de agitación: 200 y 300 r.p.m. Los resultados aparecen en la *Tabla 3.6*.

Tabla 3.6. Optimización de la velocidad de agitación de la reacción

Reacción	Agitación (r.p.m.)	Tiempo (h)	% Conv.
1	300	1	0
		2	15
		3	17
		4	20
		24	20
2	200	1	0
		2	0
		3	11
		4	18
		24	28

Condiciones: 1 g de mezcla de DF2, relación (en masa) mezcla DF2/agua 1:1, 5% (en peso) de Lipozyme 435 y 60°C.

Los resultados de las reacciones muestran una mayor velocidad de agitación (*reacción 1*) permite una reacción más rápida, aunque muy moderada. Por el contrario, una agitación más lenta (*reacción 2*) condujo a una conversión final mayor (28% frente a 20%), probablemente por un menor deterioro de la enzima. Dados los pobres resultados se decidió cambiar las condiciones de reacción.

En la literatura aparece recogido que el uso de un disolvente orgánico facilita la reacción de hidrólisis catalizada por lipasas porque sirve como un depósito para los sustratos y los productos mejorando la miscibilidad de las dos fases y facilitando que el área interfacial entre la fase oleosa y la fase acuosa se mantenga constante.¹⁰⁹

Como en la reacción de hidrólisis química el disolvente óptimo fue *terc*-butanol, dado que evita la aparición de subproductos por reacción de transesterificación, éste fue el elegido para la hidrólisis enzimática. Se mantuvieron el resto de condiciones y se utilizaron 5 mL y 10 mL de codisolvente. También se realizó una reacción con mayor cantidad de Lipozyme 435 y 5 mL de disolvente para observar si se producía una mejoría en la conversión. Los resultados de las reacciones aparecen en la *Tabla 3.7*.

¹⁰⁹ Murty V. R., Bhat J, Muniswaran P. K. A., *Biotechnol. Lett.* **2004**, 26, 563.

Tabla 3.7. Optimización de la cantidad de enzima y de disolvente

Reacción	Enzima (% en peso)	^tBuOH (mL)	Tiempo (h)	% Conv.
1	5	-	1	0
			4	18
			6	22
			24	28
2	5	5	1	57
			4	79
			6	81
			24	66 ^a
			30	75
3	5	10	1	38
			4	78
			6	80
			24	80
4	10	5	1	68
			4	73
			6	75
			24	80

Condiciones: 1 g de mezcla de DF2, Lipozyme 435, relación (en masa) mezcla DF2/agua 1:1, 200 r.p.m. y 60°C. ^a Adición de 1 g de agua.

En la tabla se observa que el empleo del codisolvente mejoró de forma significativa la conversión obteniéndose un 80% en 6 horas (*reacciones 2 y 3*). A medida que avanzaba la reacción la conversión disminuía, ya que es una reacción reversible por lo que fue necesario añadir más agua para que ésta avanzara y el equilibrio se desplazara. Esto último sucedió a las 24 horas de reacción donde la conversión descendió hasta el 66% (*reacción 2*). Al añadir 1 g de agua más y tras 6 horas adicionales en reacción, ésta aumentó hasta el 75%. Al emplear 10 mL de codisolvente, la conversión a las 24 horas fue del 80% (*reacción 3*), y en este caso la adición de agua no produjo ningún cambio en la conversión. Al aumentar el porcentaje de enzima al 10% (en peso) (*reacción 4*) se obtuvo una conversión ligeramente más alta que con un 5% (80 y 75% respectivamente). Cabe destacar que se obtuvieron los mismos resultados de conversión que al emplear un 5% de enzima y 10 mL de codisolvente (*reacción 3*) y que los tiempos de reacción óptimos fueron de 6 horas. Como uno de los inconvenientes que presentan las enzimas es su alto coste, se utilizó un 5% (en peso) de enzima y 10 mL de disolvente en las siguientes reacciones.

La otra enzima utilizada fue la lipasa CalB. Como su actividad específica es la mitad que la de la Lipozyme 435, se llevó a cabo la reacción empleando un 10% (en peso) de enzima para comparar con los resultados usando 5% de Lipozyme. En la siguiente tabla se recogen los resultados de las dos reacciones para comparar los resultados.

Tabla 3.8. Resultados obtenidos con CalB

Reacción	Enzima (% en peso)	Tiempo (h)	% Conv.
1	Lypozyme 435 (5%)	1	38
		6	80
		24	80
2	CalB (10%)	1	22
		6	66
		24	87
3	CalB (5%)	1	35
		6	79
		24	87

Condiciones: 1 g de mezcla de DF2, relación (en masa) mezcla DF2/agua 1:1, 10 mL ^tBuOH, 200 r.p.m. y 60°C.

Se puede ver que la reacción fue más lenta con CalB, pero progresó hasta el 87% de conversión, mientras que con Lypozyme 435 la reacción se detenía en el 80%. Posteriormente se ensayó a reducir la cantidad de CalB hasta el 5%, alcanzando resultados análogos a los de Lypozyme 435 con la misma cantidad en peso. Por lo tanto, las condiciones óptimas de la reacción de hidrólisis con CalB son: 5% (en peso) de enzima, relación (en masa) mezcla DF2/agua 1:1, 10 mL de ^tBuOH, 200 r.p.m. y 60°C.

La relación mezcla DF2/agua puede afectar a la actividad de la enzima y por ello se llevaron a cabo varias reacciones con relaciones menores de 1, manteniendo el resto de las condiciones: un 5% (en peso) de Lipozyme 435 y 5 mL de ^tBuOH, a 200 r.p.m., 60°C y 6 horas. Se escogieron 5 mL de ^tBuOH para observar mejor la influencia de la cantidad de agua en la reacción. Los resultados de las reacciones aparecen en la siguiente tabla.

Tabla 3.9. Optimización de la relación mezcla DF2/agua

Reacción	Mezcla DF2/agua (en masa)	Tiempo (h)	% Conv.
1	1:1	1	57
		3	75
		6	81
2	1:0,5	1	56
		3	62
		6	64
3	1:0,25	1	53
		3	53
		6	54

Condiciones: 1 g de mezcla DF2, 5% (en peso) de Lipozyme 435, 5 mL de ^tBuOH, 200 r.p.m. y 60°C.

En esta tabla se observa que la cantidad de agua que permitió obtener mejores resultados fue 1 g en 6 horas de reacción ya que se obtuvo un 81% de conversión (*reacción 1*). En las reacciones en las que se utilizaron relaciones de 1:0,5 y 1:0,25 se obtuvieron conversiones inferiores porque la posición de equilibrio cambia para hidrolizar a los ésteres (*reacciones 2 y 3*).

Con todo se puede concluir que las condiciones óptimas para llevar a cabo la reacción de hidrólisis enzimática en escala de 1 g son: relación muestra DF2/agua 1:1, 5% (en peso) de enzima, 10 mL de ^tBuOH, agitación de 200 r.p.m., 60°C y 6 horas de reacción.

2.2.2. Escalado de la reacción a 40 g

Una vez optimizada la reacción de hidrólisis enzimática para 1 g de mezcla se llevó a cabo esta reacción con 40 g de mezcla y las dos enzimas: Lipozyme 435 y CalB utilizando un 5% para ambas. El resto de las condiciones fueron: 40 g de mezcla (134,9 mmol, considerando un peso molecular promedio de 296,5 g/mol), mezcla DF2/agua (en masa) 1:1, agitación vigorosa (1000 r.p.m.) y 60°C. En este caso fue necesario aumentar la velocidad de agitación para que se mezclaran las dos fases. Se monitorizaron las tres reacciones por cromatografía de gases.

Tabla 3.10. Optimización de la cantidad de enzima para 40 g de mezcla DF2

<i>Reacción</i>	<i>Enzima (% peso)</i>	<i>Tiempo (h)</i>	<i>% Conv.</i>
1	Lipozyme 435 (5)	1	82
		6	80
		24^a	86
2	CalB (5)	1	41
		6	63
		24^a	73
3	Lipozyme 435 (5) ^b	1	80
		6 ^a	90
		24	95

Condiciones: 40 g de mezcla DF2, relación mezcla DF2/agua (en masa) 1:1, 60°C y 1000 r.p.m.
^a Adición de 10 g más de agua. ^b Con borboteo de nitrógeno y utilizando 50 g de mezcla.

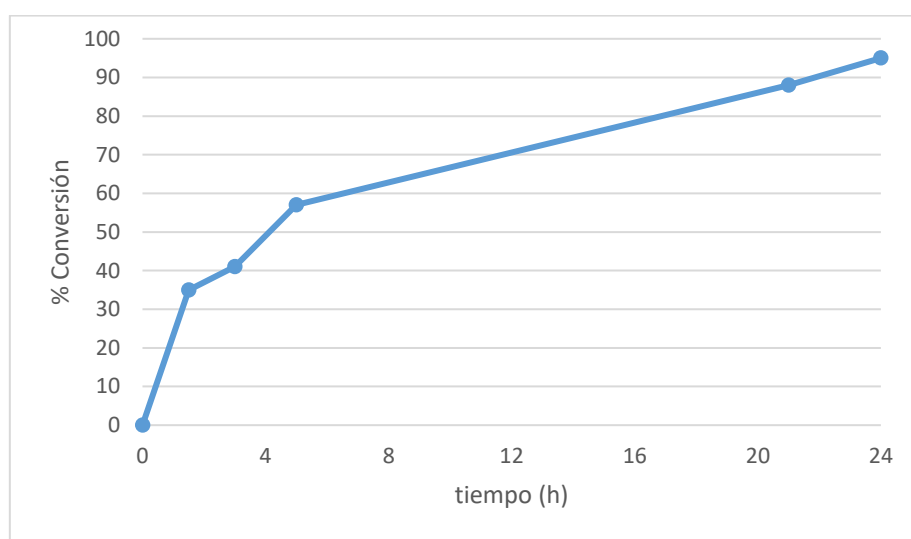
En la tabla se observa que los resultados obtenidos con CalB fueron inferiores (*reacción 2*) a los obtenidos con Lipozyme 435 (*reacción 1*), obteniéndose un 73% de conversión. La Lipozyme 435 permitió alcanzar una conversión en torno al 80%, que aumentó al 86% añadiendo una cantidad adicional de agua (*reacción 3*). La diferencia de resultado se debe a la diferencia de actividad de ambas enzimas. La enzima Lipozyme 435 tiene 10000 U/g de actividad y la enzima CalB tiene 5000 U/g.

Para mejorar estos resultados se utilizó borbotado de nitrógeno, que ayudó a eliminar el etanol que se formaba y a aumentar la superficie de contacto de las dos fases (*reacción 3*). Se alcanzó un 95% de conversión en 24 horas de reacción en escala de 50 g con un 5% (en peso) de la enzima Lipozyme 435. Con este método fue necesario mantener el nivel de agua constante a medida que se va evaporando en la corriente de nitrógeno, para evitar la reversibilidad de la reacción.

2.2.3. Escalado de la reacción a 100 g

Se llevó a cabo la reacción de hidrólisis de 100 g de la mezcla DF2 empleando un 5% (en peso) de enzima Lipozyme 435 y una relación en masa DF2/agua 1:1.

Antes de añadir la enzima al matraz de reacción se agitó a 1200 r.p.m. la mezcla junto con el agua 60°C durante 15 min para que se formara una emulsión y se produjera el contacto entre las dos fases. Por último, se realizó vacío (750 mbar) para eliminar el etanol en lugar de utilizar borbotado de nitrógeno. Durante la reacción se observó que había que adicionar agua cada cierto tiempo ya que ésta se evaporaba y era necesario que se mantuviera constante para el avance de esta. En concreto se adicionaron 5 g a las 5 horas de reacción y 10 g a las 21 horas.



Gráfica 3.1. Monitorización de la reacción en escala de 100 g

En escala de 100 g se obtuvo el mismo resultado que en escala de 40 g empleando el borbotado de nitrógeno (95% de conversión). Además, en esta reacción se determinó el índice de acidez (mg KOH/g) para comprobar que los resultados de conversión obtenidos mediante cromatografía de gases eran fiables y ambos resultados coincidieron.

2.2.4. Escalado de la reacción a 400 g

Debido a los buenos resultados obtenidos en escalas de 40 y 100 g se escaló esta reacción a 400 g utilizando las dos enzimas. Las condiciones de reacción fueron: 400 g de la mezcla DF2 (1,35 mol), 5% (en peso) de enzima y una relación en masa DF2/agua 1:1. El intervalo de temperaturas empleado fue de 55-65°C y la agitación de 1200 r.p.m. En esta reacción también se empleó borboteo de nitrógeno. En estas reacciones también fue importante añadir agua durante la reacción para mantener constante el nivel. En la siguiente tabla aparecen los resultados de las dos reacciones.

Tabla 3.11. Monitorización de la reacción en escala de 400 g

Reacción	Enzima (% peso)	Tiempo (h)	% Conv.
1	Lipozyme 435 (5)	1,5	35
		3	49
		4,5	53
		9,5	80
		20	91
		24	96
2	CalB (5)	1,5	36
		3	60
		4,5	79
		9,5	83
		20	83
		24	88

Condiciones: 400 g de mezcla DF2, mezcla DF2/agua (en masa) 1:1, 5% de enzima (en peso), 55-65°C, agitación vigorosa y borboteo de nitrógeno.

Al comparar las dos enzimas en las mismas condiciones de reacción se observa que con la enzima Lipozyme 435 se obtuvo una conversión ligeramente superior alcanzándose el 96% en 24 horas. Estos resultados coinciden con los que se habían obtenido en escala de 40 g y 100 g mejorándose los obtenidos en escala de 1 g (80%). El tratamiento de la reacción con Lipozyme consistió simplemente en la filtración de la enzima en caliente, para evitar la solidificación de los ácidos grasos, ya que al haber más cantidad de mezcla DF2 la filtración es más lenta. El filtrado resultante se transfirió a un embudo de decantación para separar las dos fases, recuperar la fase orgánica y posteriormente se secó con MgSO₄ anhidro y obtener de esta forma los ácidos grasos. No se lavó la enzima para evitar el uso de acetona por lo que el rendimiento aislado es del 78% ya que una parte de los ácidos se quedaban embebidos en la enzima. Se realizó de igual manera que en escala industrial donde se asume que la enzima siempre se queda con aceite embebido, por lo que es un rendimiento extrapolable al que se obtendría a nivel de producción. En la reacción con la enzima CalB, se realizó la decantación del crudo de reacción también en caliente, para que se separasen correctamente las fases y poder recuperar la orgánica de la misma manera que en la reacción con Lipozyme 435. El rendimiento aislado que se alcanzó fue del 85%.

También se llevó a cabo esta reacción en un reactor PBR (Packed Bed Reactor) (reactor de lecho fijo) que contiene la enzima. El reactor se conectó al matraz donde se encontraban los reactivos (mezcla DF2 y agua) que eran conducidos hasta el reactor mediante una bomba de impulsión. La mezcla de reacción volvía al matraz y se hacía recircular de nuevo por el reactor (*Figura 3.2*). Se usaron 400 g de mezcla DF2, 400 g de agua, borboteo de nitrógeno y 55-65°C. De nuevo fue necesario mantener el nivel de agua constante. El flujo de los reactivos y productos fue de 1862 mL/h lo que indicaba que a los 30 minutos ya había pasado toda la mezcla de reacción. También se monitorizó la reacción.

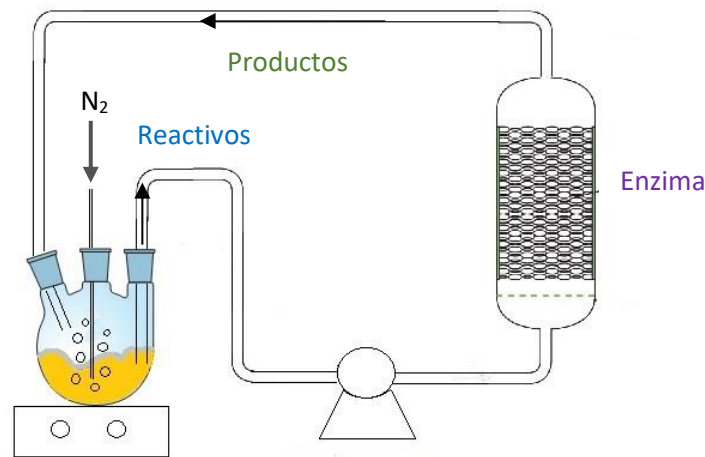
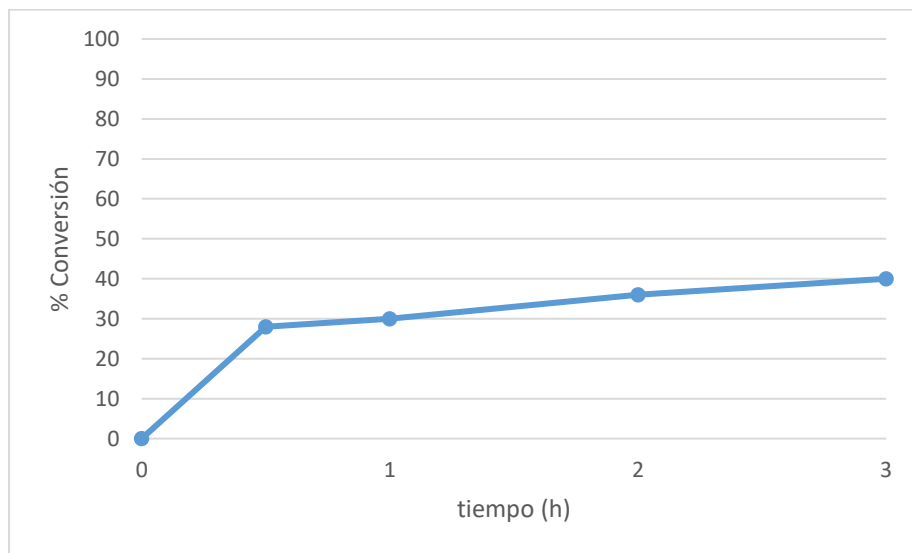


Figura 3.2. Esquema del sistema empleado en la reacción de hidrólisis



Gráfica 3.2. Monitorización de la reacción en escala de 400 g

Se observó la solidificación de los ácidos grasos en las conexiones del sistema a medida que se iban formando, bloqueando el flujo en el sistema. Sería necesario por tanto calefactar todo el recorrido de la mezcla de reacción para llevar a cabo la hidrólisis de manera eficaz, pero no se disponía del material adecuado para ello.

En los antecedentes aparece descrita la reacción de hidrólisis con diferentes enzimas y condiciones de reacción para diferentes aceites. Por ser la misma enzima (*Candida antarctica*) y un aceite de pescado se han comparado estos resultados con los obtenidos por Dalai y colaboradores.¹²³ En su trabajo utilizaban una relación molar de agua/aceite de 155/1 mientras que en la reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 es de 16,5/1 y es necesario el uso de un codisolvente, pero al realizar el escalado de la hidrólisis de la mezcla DF2 se ha sustituido su uso por borboteo de nitrógeno. Aunque la temperatura empleada por Dalai es de 35°C, el tiempo de reacción para obtener 97% de conversión es de 48 horas. En la hidrólisis de la mezcla DF2 la conversión es del 96% en 24 horas a 60°C. Se mejoran por tanto las condiciones descritas en la bibliografía.

3. Conclusiones

En la siguiente tabla se comparan los resultados obtenidos a mayor escala en las reacciones de hidrólisis química (100 g) y enzimática (400 g), así como las condiciones de cada una de ellas.

Tabla 3.13. Comparación de condiciones de reacción de las tres reacciones de hidrólisis

Reacción^a	DF2 (g)	Catalizador (% peso)	Reactivos (mL)	T (°C)	Tiempo (h)	% Conv.
Hidrólisis química	100	KOH (28,4)	^t BuOH (32)	70	2	100
Hidrólisis enzimática	400	Lipozyme 435 (5)	Agua (100)	60	24	96
	400	Cal B (5)	Agua (100)	60	24	88

^a En los tres casos se utiliza agitación vigorosa.

En la tabla se observa que, aunque en las reacciones de hidrólisis enzimática no se alcanzó conversión total, las condiciones son más favorables. En las dos reacciones enzimáticas, solo se utiliza un 5% (en peso) de enzima mientras que en la química es necesario un 28,4% de catalizador, que además posteriormente hay que neutralizar con HCl. Tampoco se precisa del uso de disolventes orgánicos en la reacción ni durante el tratamiento, ya que el agua actúa como reactivo y se puede separar fácilmente de los ácidos grasos posteriormente. También en este caso la temperatura de reacción es ligeramente inferior. La única desventaja que presenta es el tiempo de reacción siendo necesarias 24 horas. Al comparar las dos enzimas empleadas se observa que con la enzima Lipozyme 435 permite obtener un valor de conversión mayor. En conclusión, la reacción de hidrólisis enzimática se lleva a cabo de forma más sostenible.

¹²³ Sharma A., Chaurasia S. P., Dalai A. K., *Can. J. Chem. Eng.* **2014**, 92, 344.

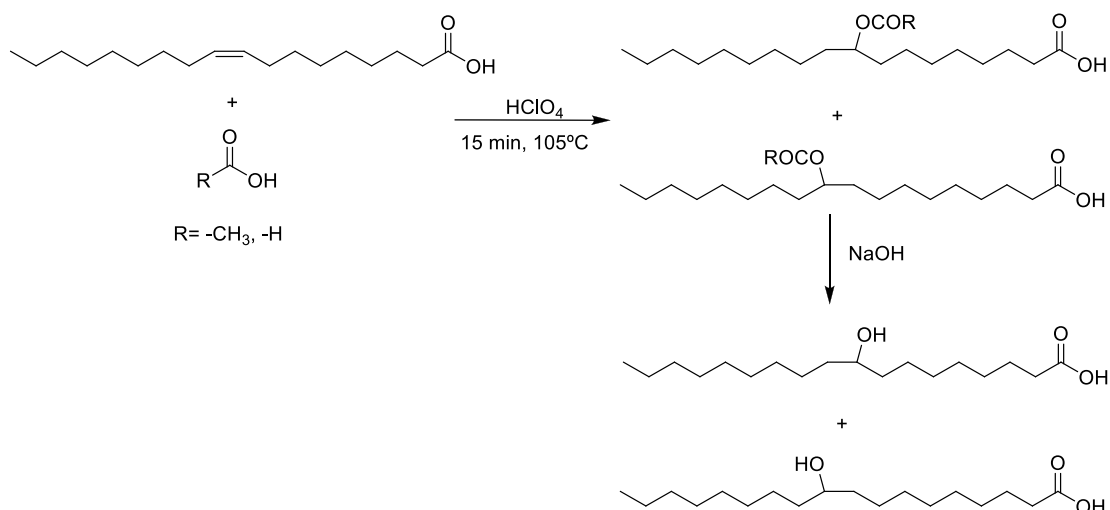
4. REACCIONES DE FORMILOXILACIÓN



1. Antecedentes

La introducción de un grupo hidroxilo en la cadena de un éster graso se puede realizar mediante la hidratación directa del doble enlace en presencia de un ácido fuerte o mediante la adición de un ácido carboxílico (fórmico o acético) usando un catalizador ácido fuerte y posterior hidrólisis en medio básico. La reacción de hidroxilación de forma directa con agua es una reacción muy difícil y solo hay casos eficaces descritos en la literatura empleando enzimas.¹⁴⁰ Por lo tanto, la reacción de formiloxilación constituye una alternativa.

Se ha descrito la adición de ácido fórmico anhidro a ácido oleico con varios catalizadores: HClO_4 , H_2SO_4 y BF_3/AcOH (1:2) utilizando 100 g de ácido oleico (0,35 mol) junto con 200 mL de ácido fórmico.¹⁴¹ El tiempo de reacción variaba en función del catalizador: para HClO_4 eran 5 minutos, para H_2SO_4 y BF_3/AcOH eran 15 minutos y sin catalizador aumentaba hasta 24 horas. En todos los casos se llevaba a cabo a la temperatura de reflujo. Una vez obtenidos los formiloxiácidos, se llevaba a cabo una reacción de hidrólisis para obtener los hidroxiaácidos. La conversión de la reacción de hidroxilación se encontraba entre el 78 y el 80% y el rendimiento aislado entre el 60 y el 70%. Sin embargo, utilizando ácido fórmico al 90%, el catalizador más efectivo fue el ácido sulfúrico (al 100%) con un rendimiento del 70% a reflujo tras una hora de reacción. Empleando ácido acético en lugar de ácido fórmico se obtuvieron rendimientos más bajos (30%).



Esquema 4.1. Esquema de la reacción de monohidroxilación de ácido oleico

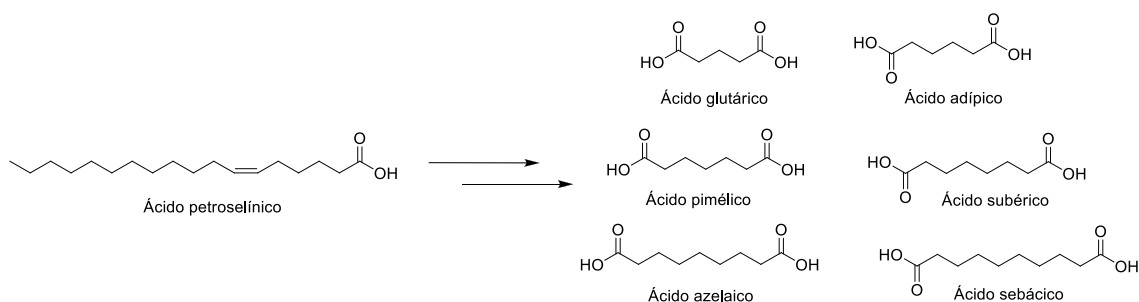
¹⁴⁰ Resch V., Hanefeld U., *Catal. Sci. Technol.* **2015**, *5*, 1385.

¹⁴¹ Knight H. B., Koos R. E., Swern D., *J AM OIL CHEM SOC* **1954**, *31*, 1.

También se prepararon los ácidos hidroxiesteáricos mediante la reacción de acetoxilación a partir de aceite rojo comercial (ácido oleico comercial) y posterior hidrólisis alcalina de los ácidos acetoxiesteáricos.¹⁴² Las condiciones de la primera reacción eran: 1% (en peso) de H₂SO₄, una relación ácido acético/ácido oleico 3:1 y 70°C. El rendimiento para esta reacción a las 70 horas fue del 60%. El rendimiento final de la preparación de los ácidos hidroxiesteáricos a partir del ácido oleico fue del 60%.

Por otro lado, aparece descrita la adición de ácido fórmico al ácido oleico (pureza del 87%) catalizada con ácido perclórico durante 15 minutos a la temperatura de reflujo.¹⁴³ Posteriormente se hidrolizó la mezcla para obtener los ácidos monohidroxiesteáricos correspondientes. Para determinar la posición de la cadena carbonada en la que se unía el grupo formiloxilo, la mezcla de hidroxiácidos se sometió a una secuencia de oxidación a los cetoácidos, formación de las oximas, transposición de Beckmann e hidrólisis de las amidas para conseguir finalmente una mezcla de ácidos dicarboxílicos. Mediante separación cromatográfica se consiguió una mezcla equimolar de ácido azelaico (ácido nonanodioico) y sebácico (ácido decanodioico). De esta forma se concluyó que la adición de ácido fórmico se llevaba a cabo igualmente en las posiciones 9 y 10.

De forma análoga aparece descrita la formiloxilación del ácido petroselinico con ácido perclórico en 90 minutos para obtener la mezcla de formiloxiácidos.¹⁴⁴ Posteriormente se llevó a cabo a cabo la misma secuencia de reacciones para obtener una mezcla de diácidos: ácido glutárico (pentanodioico) (19,2%), ácido adípico (hexanodioico) (25,1%), ácido pimélico (heptanodioico) (27,5%), ácido subérico (octanodioico) (18,9%), ácido azelaico (6,8%) y ácido sebácico (4,3%). Esto indicaba que la adición de ácido fórmico se producía desde el carbono 5 al 10 con menor preferencia por los carbonos 9 y 10 debido a la migración del ion carbonio por la cadena a tiempos largos de reacción. Cuando el tiempo de reacción era de 15 minutos no se observaban ni el ácido azelaico ni el ácido sebácico.



Esquema 4.2. Ácidos obtenidos por Placek y Bickford a partir del ácido petroselinico

¹⁴² Munns W. O., Kairys S., Manion D. A., Meade E. M., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1963**, *40*, 22.

¹⁴³ Rockett J., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1956**, *78*, 3191.

¹⁴⁴ Placek L. L., Bickford W. G., *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 864.

Además, se ha descrito la reacción de oleato de metilo con ácido acético (1:50) en presencia de una resina de intercambio catiónico entrecruzada (Amberlyst 15) (70% molar) a reflujo durante 8 horas obteniendo acetoxiestearato de metilo con un rendimiento de 45%.¹⁴⁵ También se realizaron ensayos con otros ácidos carboxílicos bajo las mismas condiciones que con ácido acético, sin embargo, los rendimientos fueron menores. Los autores concluyeron que la resina no catalizaba la reacción entre el ácido fórmico y el oleato de metilo. Los ésteres acetoxilados podrían ser eficientes plastificantes a baja temperatura para el policloruro de vinilo (PVC).

En resumen, varios estudios han mostrado que los ácidos grasos insaturados pueden ser formiloxilados o acetoxilados por adición de ácido fórmico o ácido acético al doble enlace en presencia de un catalizador ácido ya sea un ácido mineral o un sólido ácido de tipo resina arilsulfónica. Sin embargo, esta reacción no se ha aplicado en mezclas complejas de ésteres grasos.

Los productos de la reacción de formiloxilación/acetoxilación pueden hidrolizarse dando lugar a moléculas con propiedades emulgentes y/o surfactantes, que además pueden actuar como potenciales monómeros en procesos de polimerización para la obtención de materiales con nuevas propiedades. Debido a las aplicaciones de los productos y a la novedad de llevar a cabo esta reacción con una mezcla de ésteres grasos se decidió realizarla con la mezcla DF2.

¹⁴⁵ Black L. T., Beal R. E., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 310.

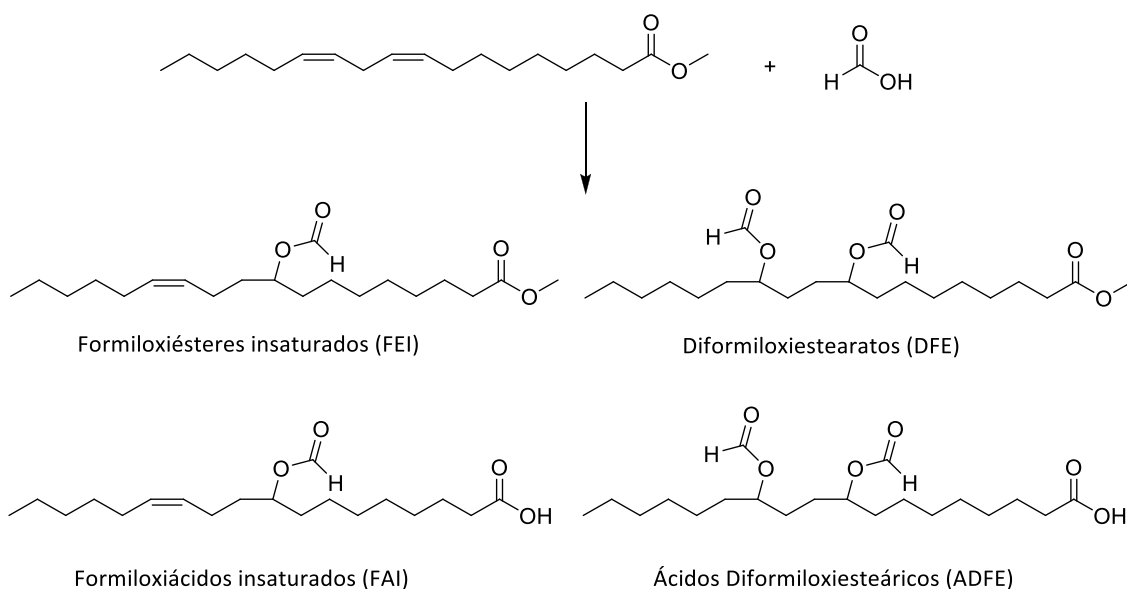
2. Resultados y discusión

El interés de esta reacción reside en la obtención de los correspondientes hidroxiésteres provenientes de los ésteres de la mezcla DF2 para su posible utilización como monómeros en reacciones de polimerización o en otras aplicaciones.

En un trabajo previo en el grupo de investigación se llevó a cabo la adición de ácido fórmico y ácido acético sobre oleato de metilo, se identificaron y se caracterizaron los productos. Además, se hidrolizó la mezcla de hidroxiésteres y se obtuvieron los hidroxiácidos. En el mismo trabajo se concluyó que la adición de ácido fórmico sobre los dobles enlaces del oleato de metilo conducía a mejores resultados que los obtenidos en la adición de ácido acético, por lo cual se decidió llevar a cabo la adición de ácido fórmico sobre la mezcla de ésteres grasos DF2.

2.1. Reacción de formiloxilación de linoleato de metilo

Dada la presencia de ésteres grasos poliinsaturados en la mezcla DF2, se llevó a cabo en primer lugar la reacción de adición de ácido fórmico con linoleato de metilo como modelo de ese tipo de ésteres. A partir de los dos dobles enlaces en los carbonos 9 y 12 se pueden obtener, sin considerar la posibilidad de transposición en la cadena: cuatro formiloxiésteres insaturados, en posiciones 9 y 10 con el doble enlace en 12, y en posiciones 12 y 13 con el doble enlace en 9, cuatro diformiloxiestearatos, y los correspondientes ácidos por hidrólisis del éster metílico. Además, se puede obtener también ácido linoleico proveniente de la hidrólisis del linoleato de metilo.



Esquema 4.3. Reacción de formiloxilación de linoleato de metilo

2.1.1. Reacción en fase homogénea

Para llevar a cabo esta reacción se escogió ácido sulfúrico como catalizador debido a los buenos resultados que se habían obtenido en el grupo con oleato de metilo. La reacción se monitorizó mediante cromatografía de gases. Una vez terminada la reacción se analizaron los crudos de reacción mediante RMN.

Como condiciones de reacción se escogieron las optimizadas previamente: relación molar linoleato de metilo/ácido fórmico 1:15, un 5% (en mol) de H₂SO₄ como catalizador y a reflujo. Se llevaron a cabo dos reacciones a 2,5 horas, la primera de ellas en condiciones anhidras (atmósfera de argón y material seco) y la segunda sin ellas.

Tabla 4.1. Resultados de la reacción de linoleato de metilo con ácido fórmico

Reacción	Cond. anhidras	t (h)	Conv.	FEI ^a	DFE ^a	FAI ^a	ADFE ^a	Otros
1	Sí	0,5	85	66	20	-	-	-
		2,5	95	40	38	3	11	7
2	No	0,5	87	61	26	-	-	-
		2,5	94	40	34	3	9	7
3	No	72	99	2	9	23	43	22

Condiciones: linoleato de metilo/HCOOH (1:15), 5% (mol) H₂SO₄ y 100°C.

^a FEI: fomiloxiésteres insaturados, DFE: difomiloxiestearatos, FAI: formiloxiácidos insaturados, ADFE: ácidos difomiloxiesteáricos.

En esta reacción no hubo apenas diferencia entre utilizar condiciones anhidras o no, ya que los resultados en cuanto a conversión y a porcentaje de productos fueron prácticamente idénticos. La proporción de difomiloxilación/monofomiloxilación era moderada, alrededor del 55/45, pese a tener conversiones de linoleato elevadas. Al aumentar el tiempo de reacción a 3 días se observó un aumento significativo de la difomiloxilación y una prácticamente total hidrólisis de los ésteres metílicos. Dentro del apartado de otros compuestos se incluye el ácido linoleico como producto principal, el resto de los picos no se han podido identificar.

Por otro lado, se llevó a cabo esta reacción a menor temperatura: 80°C en lugar de 100°C. Las condiciones de esta reacción eran: linoleato de metilo/ácido fórmico (1:15), H₂SO₄ (5% mol) y 80°C. También se realizó un seguimiento de la reacción.

Tabla 4.2. Comparación de los resultados de la reacción de linoleato de metilo con ácido fórmico a distintas temperaturas

Reacción	T (°C)	t (h)	Conv.	FEI ^a	DFE ^a	FAI ^a	ADFE ^a	Otros
1	100	0,5	85	66	20	-	-	-
		2,5	95	40	38	3	11	7
2	80	0,5	77	64	14	-	-	-
		1	95	68	27	-	-	-
		2,5	95	56	33	-	5	-
		4	97	49	34	1	11	2

Condiciones: linoleato de metilo/HCOOH (1:15), 5% (mol) H₂SO₄ y condiciones anhidras.

^a FEI: fomiloxiésteres insaturados, DFE: difomiloxiesteratos, FAI: fomiloxiácidos insaturados, ADFE: ácidos difomiloxiesteráticos.

Llevando a cabo la adición de ácido fórmico a menor temperatura se ralentizaba la reacción de hidrólisis de los ésteres, 89% de ésteres en 2,5 horas de reacción frente a un 78% que se obtenía a 100°C, y este resultado se puede optimizar reduciendo el tiempo de reacción a 1 hora, en la que la conversión era idéntica y no se detectaron los ácidos ni los compuestos sin identificar. Sin embargo, a esta temperatura la proporción de difomiloxilación/monofomiloxilación fue menor, 40/60 frente a 55/45 a 100°C.

2.1.2. Reacción en fase heterogénea

Por otro lado, se llevó a cabo la misma reacción empleando como catalizador la arcilla montmorillonita K10, ya que se había utilizado previamente con oleato de metilo y optimizado las condiciones de reacción. La montmorillonita natural presenta una estructura laminar de tipo 2:1, es decir, cada lámina consiste en dos capas tetraédricas de sílice y entre ellas se dispone una capa octaédrica de alúmina. Es una arcilla parcialmente deslaminada y desestructurada por tratamiento ácido, lo que aumenta su superficie específica hasta 250 m²/g y tiene una acidez de 0,59 mmol H⁺/g.¹⁴⁶

En estudios previos de la reacción de adición de ácido fórmico a oleato de metilo se observó que usando montmorillonita K10 como catalizador no se obtenían ácidos libres provenientes de la hidrólisis del éster metílico, y sólo se observaban en pequeña proporción al usar un 50% de catalizador. Con un porcentaje menor de catalizador (5%) apenas se obtenía un 30% de conversión. Para aumentarla fue necesario usar un mayor porcentaje de catalizador y mayor relación oleato de metilo/ácido fórmico, por lo que se concluyó que las condiciones óptimas eran 50% de catalizador y una relación molar de oleato de metilo/ácido fórmico de 1:25.

¹⁴⁶ Kaur N., Kishore D., *J. Chem. Pharma. Res.* **2012**, 4, 991.

Por lo tanto, a la hora de llevar a cabo la reacción de adición de ácido fórmico a linoleato de metilo se emplearon como condiciones: linoleato de metilo/ácido fórmico 1:25, 50% (mol) de K10 y 100°C. Se llevaron a cabo varias reacciones con distintos tiempos de reacción para observar cómo influye en la formación de productos. En la siguiente tabla se comparan los resultados de estas reacciones y los obtenidos con H₂SO₄.

Tabla 4.3. Comparación de resultados de la reacción de formiloxilación de linoleato de metilo con distintos catalizadores a 100°C.

Reacción	Catal.	t (h)	Conv.	FEI^c	DFE^c	FAI^c	ADFE^c	Otros
1	5% H ₂ SO ₄ ^a	2,5	95	40	38	3	11	7
2	5% H ₂ SO ₄ ^a	72	98	1	-	30	47	19
3	50% K10 ^b	24	55	42	4	-	-	9
4	50% K10 ^b	72	86	50	19	7	4	6

Condiciones: ^a linoleato de metilo/HCOOH (1:15), ^b linoleato de metilo/HCOOH (1:25).

^c FEI: fomiloxiésteres insaturados, DFE: difomiloxiestearatos, FAI: fomiloxiácidos insaturados, ADFE: ácidos difomiloxiesteáricos.

En la tabla se observa que la conversión de la reacción en 24 horas con K10 fue del 55%, resultado muy inferior en comparación con el obtenido con H₂SO₄. La mayor parte de los productos formados eran fomiloxiésteres insaturados.

Al aumentar el tiempo de reacción a 72 horas se produjo un aumento de la conversión, con un ligero aumento también del porcentaje de difomiloxiestearatos, aunque en proporción muy inferior a la obtenida con ácido sulfúrico. Este comportamiento es una consecuencia de la acidez más débil de la montmorillonita K10. Este catalizador permitiría obtener de manera selectiva los hidroxilácidos insaturados (análogos al ricinoleico), aunque con conversión moderada.

2.1.3. Caracterización e identificación de los productos

Como se ha explicado anteriormente en esta reacción se pueden formar una gran variedad de productos lo cual dificulta enormemente su separación y purificación. La identificación de los distintos productos en cromatografía de gases se realizó en primer lugar mediante comparación con los tiempos de retención de los productos obtenidos en la reacción entre el oleato de metilo y el ácido fórmico, fomiloxiestearatos (26-28 minutos) y ácidos fomiloxiesteáricos (alrededor de 50 minutos). Los tiempos de retención del linoleato de metilo y del ácido linoleico son 12,6 minutos y 33,7 minutos respectivamente.

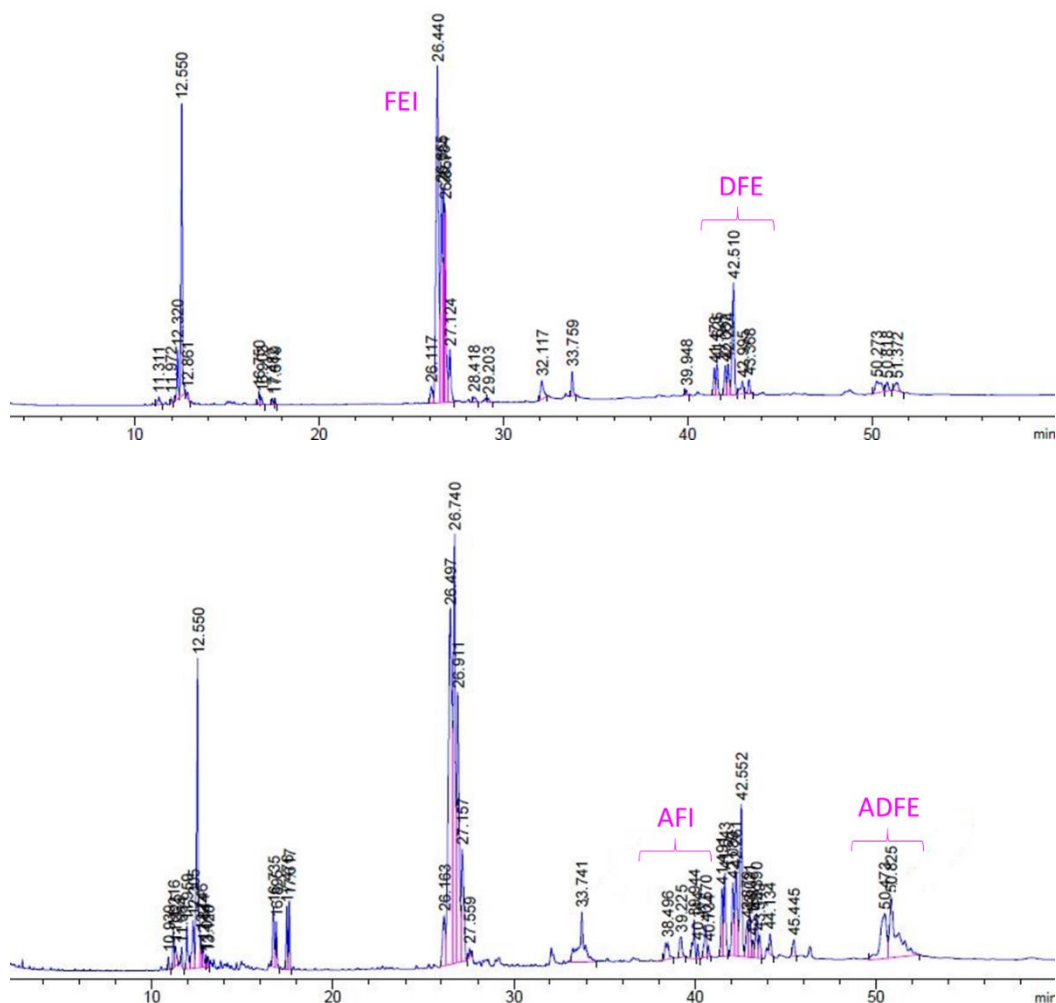
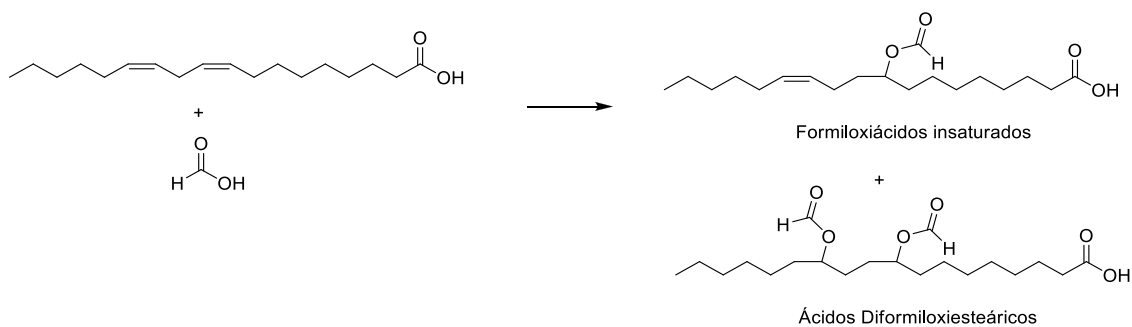


Figura 4.1. Cromatogramas de la reacción de formiloxilación de linoleato de metilo sin hidrólisis (superior) y con hidrólisis (inferior)

Para conocer el tiempo de retención de los formiloxiácidos insaturados y los ácidos diformiloxiesteáricos se llevó a cabo la reacción de formiloxilación del ácido linoleico utilizando como catalizador ácido sulfúrico (5% mol), una relación ácido linoleico/ácido fórmico (1:15), 100°C y 24 horas de reacción.



Esquema 4.4. Reacción de formiloxilación de ácido linoleico

La conversión de la reacción era del 85% obteniéndose formiloxiácidos insaturados (32%) y ácidos diformiloxiesteáricos (53%). De esta forma, se conocieron los tiempos de retención de ambos productos: 37-40 min y 50-52 min.

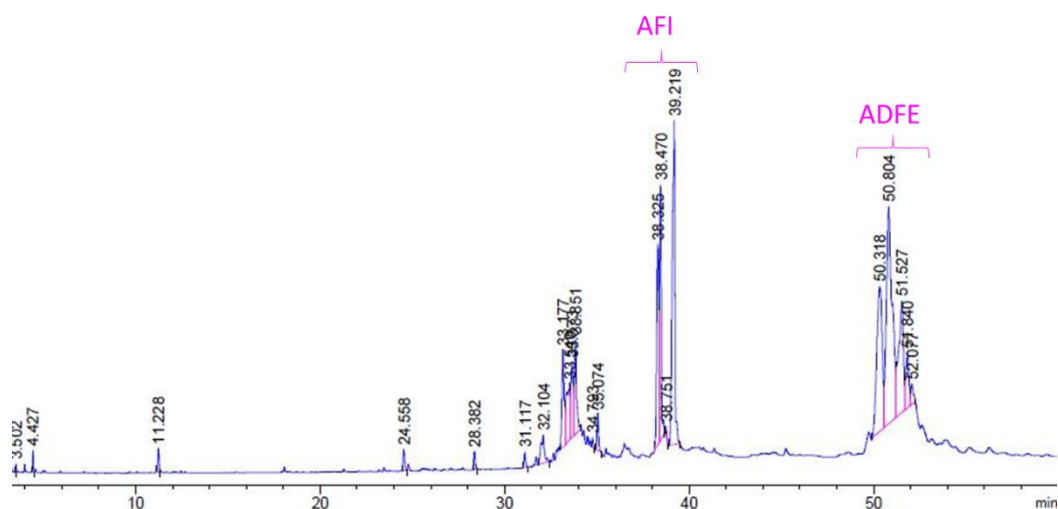


Figura 4.2. Cromatograma de la reacción de formiloxilación de ácido linoleico

Por último, con la reacción catalizada por K10 se confirmó el tiempo de retención de los formiloxiésteres insaturados, de forma que los formiloxiestearatos fueron asignados por descarte (40-45,5 min).

Al no poder separar los productos de reacción no se pudo realizar la caracterización de cada producto mediante RMN. Sin embargo, se analizaron los crudos de reacción para ver si los resultados de RMN y cromatografía de gases concordaban. El siguiente espectro de ^1H -RMN corresponde al crudo de reacción que prácticamente contenía solo formiloxiésteres.

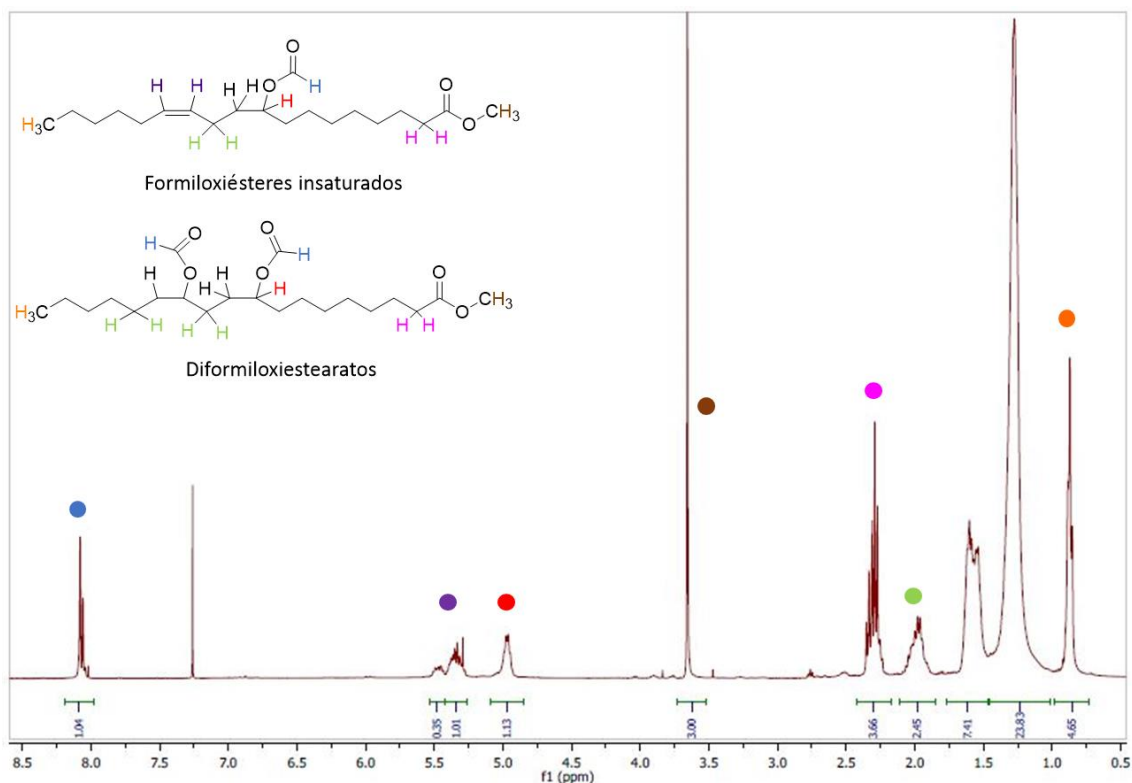
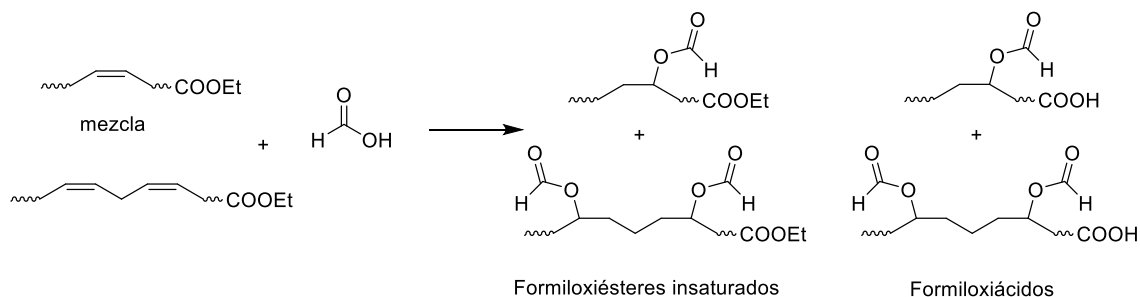


Figura 4.3. Espectro de ^1H -RMN de la mezcla de formiloxiesteres

En este espectro, no se observa la señal correspondiente al grupo metileno entre los dos dobles enlaces del linoleato de metilo (2,75 ppm). Además, destaca la aparición de un multiplete a 4,96 ppm (1H) y de varios singletes hacia 8,04 ppm (1H), que se asignan respectivamente al hidrógeno en posición α del grupo formiloxi y al hidrógeno del propio grupo formiloxi (H-COO). El multiplete que aparece a 5,37 ppm corresponde a los protones del doble enlace que no ha reaccionado. A 2 ppm hay un multiplete que se asigna a los protones alílicos. La asignación del resto de señales más características de este compuesto aparece señaladas en diferentes colores en el espectro.

2.2. Reacción de formiloxilación de la mezcla DF2

Una vez identificados los productos de la reacción con linoleato de metilo se llevó a cabo la reacción con la mezcla de ésteres DF2.



Esquema 4.5. Reacción de formiloxilación de los ésteres de la mezcla DF2

2.2.1. Reacción en fase homogénea

En primer lugar, se llevó a cabo la reacción en fase homogénea utilizando como catalizador H_2SO_4 . Se emplearon las condiciones óptimas para el linoleato: 593 mg de mezcla DF2 (2 mmol), relación molar de mezcla DF2/ácido fórmico 1:15, 5% (mol) H_2SO_4 , 100°C y 2,5 horas de reacción en atmósfera de argón.

Mediante cromatografía de gases se observaba la desaparición de los picos correspondientes a los ésteres insaturados de la mezcla DF2, y la aparición de picos nuevos que podrían corresponder a los compuestos de tipo formiloxiésteres y formiloxiácidos, dados los tiempos de retención, aunque la intensidad de los picos era muy pequeña (*Figura 4.4*). Por ello se decidió analizar los crudos de reacción mediante ^1H -RMN.

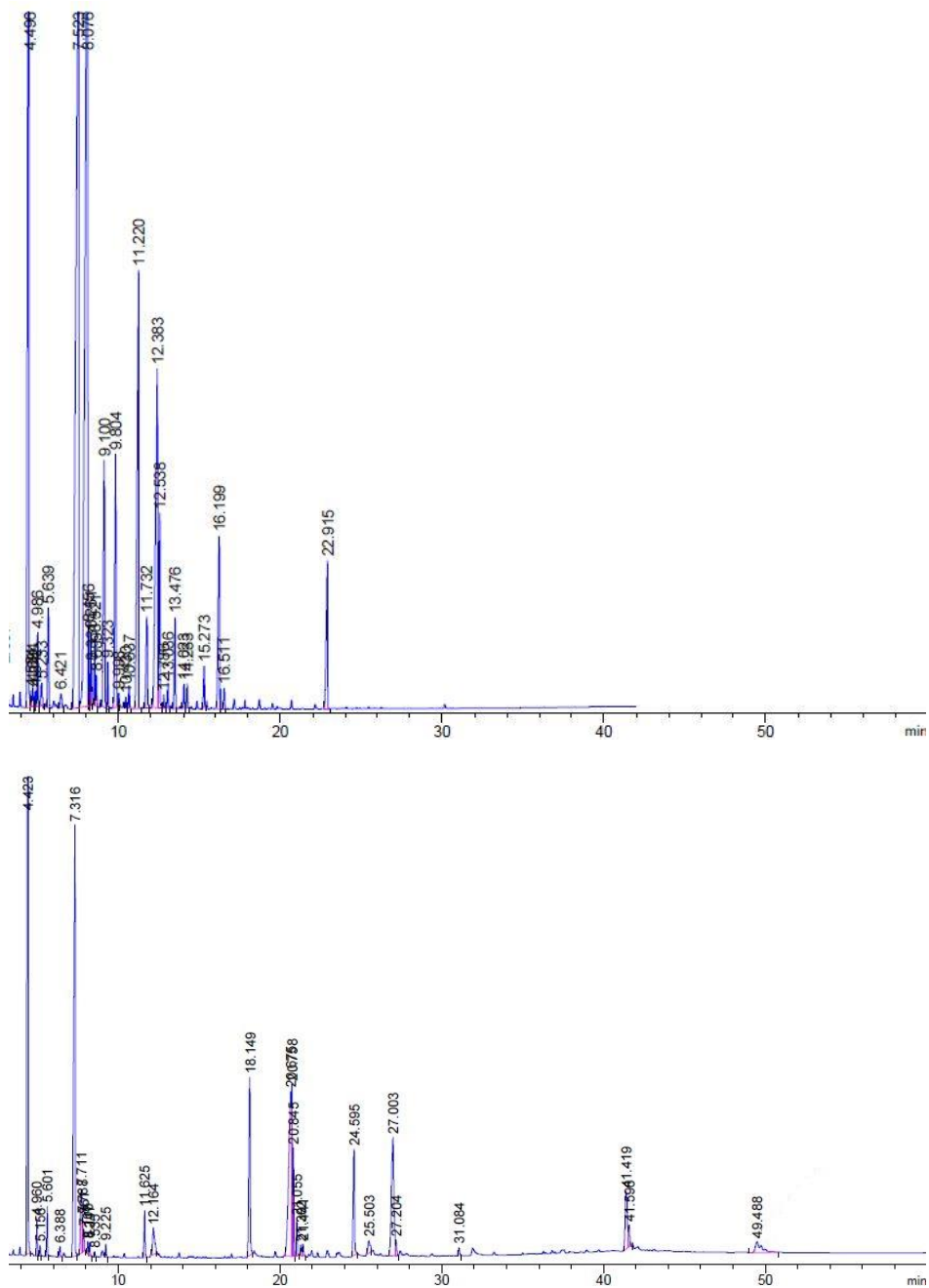


Figura 4.4. Cromatogramas de la mezcla DF2 (superior) y de la reacción de formiloxilación (inferior)

El espectro de ^1H -RMN es muy similar al obtenido en las reacciones de adición de ácido fórmico al linoleato de metilo y se observa la presencia de grupos formiloxi (señales a 4,97 y 8,04 ppm) y una pequeña parte de dobles enlaces sin reaccionar (señal a 5,37 ppm). Tomando como referencia la señal del CH_2 en α al carboxilato, se puede concluir que hay un promedio de 0,54 sustituyentes formiloxilo y 0,11 dobles enlaces por cadena de ácido graso. El hecho de que queden dobles enlaces sin reaccionar no significa que la conversión de la reacción no sea total ya que probablemente se encuentren en productos donde uno o varios dobles enlaces se hayan formiloxilado. Además, se observa que la señal del CH_2 del éster etílico integra por 1, en lugar de por 2, lo que indica que la mitad de los ésteres han sufrido hidrólisis a ácido.

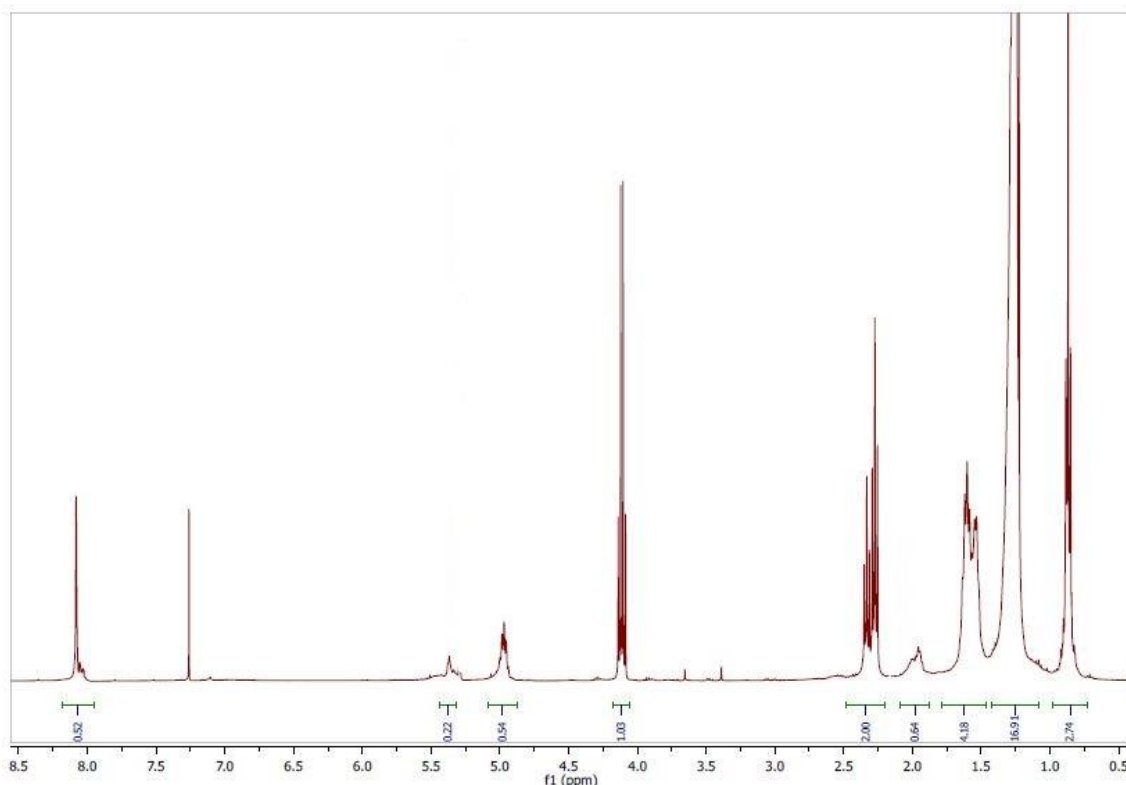


Figura 4.5. Espectro de ^1H -RMN del crudo de la adición de ácido fórmico a la mezcla DF2.

También se realizó esta reacción a escala multigramo utilizando 10 g de mezcla DF2 en las mismas condiciones de reacción. En el espectro de ^1H -RMN se observaba que el promedio de grupos formiloxi por cadena es de 0,41 y el de dobles enlaces sin reaccionar de 0,18, con sólo un 20% de hidrólisis a ácidos. Por tanto, el aumento de escala produce una ralentización, tanto de la reacción de formiloxilación como de la de hidrólisis.

2.2.2. Reacción en fase heterogénea

Por otro lado, se llevó a cabo esta reacción utilizando como catalizador la arcilla montmorillonita K10 en las mismas condiciones que con linoleato de metilo. Es decir, 593 mg de mezcla DF2 (2 mmol), relación molar linoleato de metilo/ácido fórmico 1:25, 50% (mol) de K10 y 100°C.

En cromatografía de gases a las 24 horas de reacción se observó la desaparición de algunos de los picos de la mezcla inicial y la aparición de picos nuevos que corresponderían a formiloxiésteres insaturados. Por otra parte, en el espectro de ¹H-RMN se observó un promedio de 0,14 dobles enlaces sin reaccionar, 0,22 grupos formiloxi y sólo se habían hidrolizado un 18% de los grupos éster.

Para comprobar si quedaban productos adsorbidos en el catalizador, se realizó una extracción de este en un Soxhlet con etanol durante 24 horas y con diclorometano durante 48 horas. Mediante RMN se observó que el etanol sólo desorbe la mezcla de ésteres DF2 inicial. Sin embargo, en el caso del diclorometano aparecían las señales típicas de los productos, con un aumento del número de grupos formiloxi y del grado de hidrólisis respecto al crudo de reacción. La suma de las dos fracciones extraídas del catalizador representaba un 20% con respecto al total que junto con el crudo que había inicialmente supone un resultado global de 0,19 dobles enlaces sin reaccionar, 0,37 grupos formiloxi y un 12% de hidrólisis de los grupos éster.

Por último, se utilizó el catalizador Dowex 50Wx2 (4,46 mmol H⁺/g) previamente secado. Este catalizador se había utilizado en el grupo de investigación en un trabajo anterior donde se llevó a cabo la reacción de formiloxilación de oleato de metilo. En este caso las condiciones de reacción utilizadas fueron: 593 mg de mezcla DF2 (2 mmol), relación molar mezcla DF2/ácido fórmico 1:15, 15% (mol) de Dowex 50Wx2, 100°C y 24 horas de reacción.

En el ¹H-RMN del crudo se observó que quedaban únicamente un promedio de 0,07 dobles enlaces sin reaccionar por cadena. Por lo tanto, este catalizador permite alcanzar mayor conversión que los utilizados anteriormente (H₂SO₄ y K10). El promedio de grupos formiloxi fue 0,31 pero se habían hidrolizado un 86% de los grupos éster.

Debido a la cantidad de productos de reacción que se pueden obtener derivados de los ésteres de la mezcla DF2, y a la dudosa aplicabilidad práctica de las mezclas obtenidas, se decidió detener en este punto la optimización de esta reacción.

3. Conclusiones

En este trabajo se llevó a cabo la reacción de formiloxilación de linoleato de metilo por adición de ácido fórmico al doble de enlace utilizando ácido sulfúrico como catalizador obteniéndose mezclas enriquecidas en formiloxiésteres con conversiones >95% en todos los casos. De forma paralela, se utilizó una arcilla ácida (K10) como catalizador, y aunque se obtuvieron prácticamente solo formiloxiésteres insaturados, los resultados en cuanto a conversión fueron inferiores. Además, se identificaron mediante cromatografía de gases todos los productos de reacción: formiloxiésteres insaturados, diformiloxiestearatos, y los correspondientes ácidos por hidrólisis del éster metílico.

Por otro lado, se llevó a cabo la reacción de formiloxilación de la mezcla DF2 en las condiciones optimizadas con linoleato de metilo. Sin embargo, debido a la complejidad de la mezcla de partida no se pudieron identificar todos los productos formados y se observó que no había conversión total de los dobles enlaces.

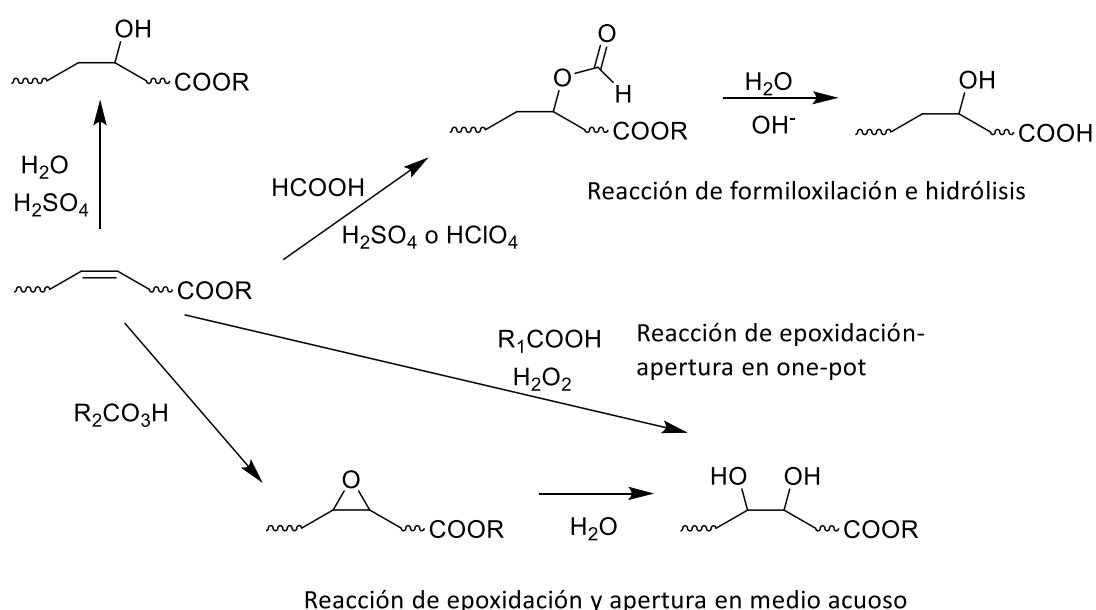
5. REACCIONES DE HIDROXILACIÓN



1. Antecedentes

La introducción de grupos polares, como el hidroxilo, en las cadenas altamente hidrófobas de los ésteres grasos produce moléculas con propiedades emulgentes y surfactantes. Esto puede hacerse mediante hidratación del doble enlace, por adición de un ácido carboxílico (habitualmente fórmico o acético) usando un catalizador ácido fuerte (H_2SO_4 o HClO_4) y posterior hidrólisis en medio básico, como se ha explicado en el *Capítulo 4*. La introducción simultánea de dos grupos hidroxilo en el doble enlace puede llevarse a cabo por epoxidación con una posterior apertura del epóxido en medio acuoso o mediante la reacción de dihidroxilación. En la bibliografía se describen numerosos ejemplos de aplicaciones.

Reacción de hidratación directa

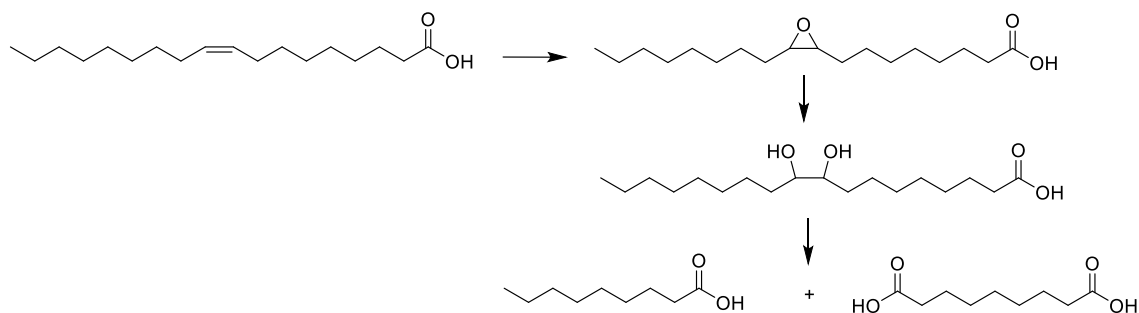


Esquema 5.1. Formación de mono o dihidroxiésteres (ácidos)

Los hidroxiésteres o hidroxiácidos grasos se utilizan en numerosas aplicaciones como lubricantes y cosméticos. Una de las más aplicaciones más comunes es la producción de ácidos dicarboxílicos como el ácido azelaico (nonanodioico) junto con otro ácido como el ácido pelargónico (nonanoico) mediante epoxidación, apertura del anillo utilizando H_2O_2 y posterior rotura de los hidroxiácidos.¹⁴⁷

¹⁴⁷ Dahlke B., Hellbardt S., Paetow M., Zech W. H., J AM OIL CHEM SOC **1995**, 72, 349.

El ácido azelaico se utiliza como antiacnéico y en el tratamiento de melanomas malignos. Industrialmente se utiliza en la producción de poliamidas, adhesivos, plastificantes y fluidos hidráulicos. También se usa para el empaquetamiento de alimentos (papel o film), en electrónica (circuitos, aislamiento de bobinas), en textiles (calzado o etiquetas) y en la industria del automóvil (recubrimientos o tapizados de asientos). El ácido pelargónico se utiliza en la fabricación de lubricantes y plastificantes.¹⁴⁸



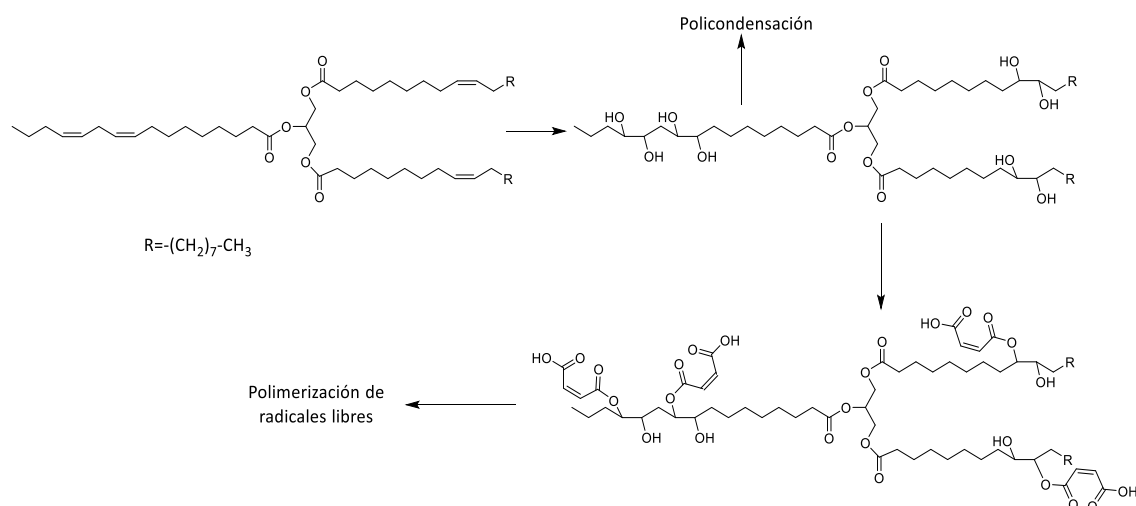
Esquema 5.2. Síntesis de ácido pelargónico y ácido azelaico a partir del ácido oleico

Otra de las posibles aplicaciones de los hidroxiácidos grasos es la síntesis de polímeros.¹⁴⁹ Se ha estudiado su uso para producir redes interpenetradas de polímeros (IPNs). Las IPNs formadas por triglicéridos aumentan la tenacidad y la resistencia a fracturas en polímeros termoestables convencionales. Los triglicéridos son los componentes minoritarios de la matriz polimérica actuando como modificadores de las propiedades físicas.

Los triglicéridos hidroxifuncionalizados pueden dar lugar a monómeros mediante reacción con anhídrido maleico y éstos polimerizar con estireno y divinilbenceno. Se han estudiado varias propiedades (tensión, flexión y compresión) de los materiales compuestos formados con este polímero y fibra de vidrio, y éstas son comparables a las del polímero comercial Dow 411C50.¹⁴⁹

¹⁴⁸ *Dicarboxylic Acids, Aliphatic. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Cornils B., Lappe P., Ed. Wiley-VCH, **2014**.

¹⁴⁹ Khot, S. N., et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, 82, 703.



Esquema 5.3. Formación de polímeros derivados de triglicéridos hidroxifuncionalizados

La espuma de poliuretano es uno de los materiales más utilizados en la construcción como aislante.¹⁵⁰ En la actualidad estas espumas están formadas por polioles de poliéter o poliéster. Los polioles convencionales se pueden sustituir por el aceite de colza hidroxisustituido.¹⁵¹ Los grupos hidroxilo pueden reaccionar con los grupos -NCO del isocianato para dar lugar a la espuma de poliuretano, con densidad, fuerza compresiva, conductividad térmica y estabilidad dimensional comparables a las de la espuma comercial DaltolacTM P744.

También se ha estudiado la copolimerización de los hidroxieésteres del aceite de soja en presencia de ácido fosfórico para su uso como adhesivos sensibles a la presión (PSAs).¹⁵²

¹⁵⁰ *The ICI Polyurethanes Book*, 2nd edition, Woods G., Ed. Wiley-New York, **1990**.

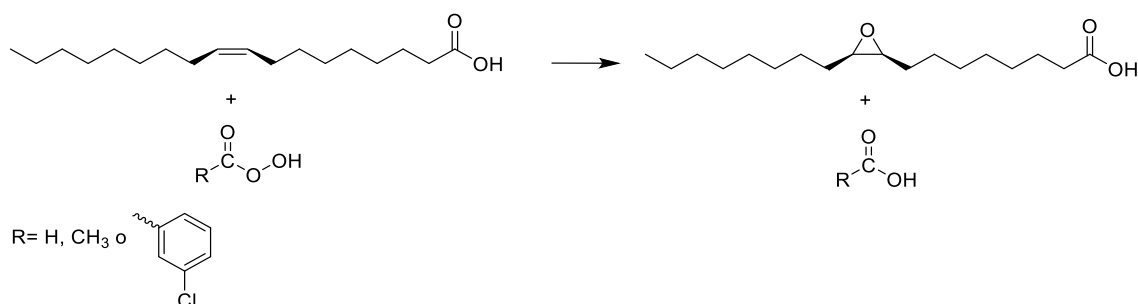
¹⁵¹ Hu Y. H., Gao Y., Wang D. N., Hu C. P., Zu S., Vanoverloop L., Randall D., *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *84*, 591.

¹⁵² Ahn B.J. K., Kraft S. Sun X. S., *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 9498.

1.1. Reacción de epoxidación

La reacción de epoxidación se utiliza para la obtención de compuestos de interés industrial y en la síntesis de intermedios y productos de química fina y farmacéuticos. Los aceites vegetales epoxidados (EVOs) han suscitado gran interés en los últimos años. Se utilizan como estabilizantes del cloruro de polivinilo, plastificantes, lubricantes y como material de partida para producir polioles y prepolímeros para recubrimientos de superficies, además de para preparar espumas de poliuretano como ya se ha mencionado antes.¹⁵³

La mayor parte de los EVOs se obtienen mediante el proceso de epoxidación convencional (epoxidación de Prilezhaev) utilizando peroxiácidos (ácido *m*-cloroperbenzoico, ácido peracético o ácido perfórmico) que transfieren el oxígeno al doble enlace. Esta reacción transcurre mediante un mecanismo concertado que conlleva la conservación de la estereoquímica del doble enlace de partida. El uso de ácido perfórmico o peracético implica su formación *in situ* a partir de peróxido de hidrógeno y el correspondiente ácido carboxílico en presencia de un ácido mineral fuerte (H₂SO₄, HCl, H₃PO₄ y HNO₃), pero este procedimiento presenta varias desventajas: baja selectividad de los epóxidos por la apertura del anillo de oxirano, el carácter corrosivo del medio de reacción necesario neutralizar y los perácidos son inestables y explosivos.



Esquema 5.4. Epoxidación del ácido oleico con perácidos

Mediante el método convencional con ácido peroxiacético generado *in situ* se han epoxidado diferentes aceites, como el aceite de algodón¹⁵⁴, el de colza¹⁵⁵ y el de semillas de uva¹⁵⁶ con conversiones entre 66 y 78% en 4-6 horas a 60-65°C. Pan y colaboradores epoxidaron el aceite de oliva y el aceite de linaza con ácido perfórmico generado *in situ* llegando a conversiones del 81%.¹⁵⁷

¹⁵³ Danov S. M., Kazantsev O. A., Esipovich A. L., Belousov A. S., Rogozhin A. E., Kanakov E. A., *Catal. Sci. Technol.* **2017**, 7, 3659.

¹⁵⁴ Dinda S., Patwardhan A. V., Goud V. V., Pradhan N. C., *Bioresour. Technol.* **2008**, 99, 3737.

¹⁵⁵ Milchert E., Smagowicz A., Lewandowski G., *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2010**, 85, 1099.

¹⁵⁶ De Haro J. C., Izarri I., Rodríguez J. F., Pérez A., Carmona M., *J. Cleaner Prod.* **2016**, 138, 70.

¹⁵⁷ Huang Y-B., Yao M-Y., Xin P-P., Zhou M-C., Yang T., Pan H. *RSC Adv.* **2015**, 5, 74783.

El ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*CPBA) se ha usado menos en aceites vegetales, pero se ha descrito la epoxidación de dos aceites de semillas poco conocidas: *Lesquerella gordonii* que contiene casi un 60% del ácido 14-hidroxi-cis-11-eicosenoico y *Limnanthes alba* con un 60% del ácido cis-5-eicosenoico. Las reacciones se llevaron a cabo a 25°C con un exceso del 10% de *m*CPBA en benceno durante 100 minutos obteniéndose rendimientos en torno al 85%.¹⁵⁸

Para evitar el uso de ácidos fuertes se ha descrito esta reacción en presencia de una resina ácida (Amberlite IR-120) para el aceite de algodón¹⁵⁹ (63% de conversión en 10 horas), el aceite de ricino¹⁶⁰ (78% de conversión en 10 horas) y el aceite de *Jatropha*¹⁶¹ (90% de conversión en 24 horas).

Como alternativa al uso de perácidos se encuentran el peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos como el hidroperóxido de *terc*-butilo (TBHP) o el hidroperóxido de cumilo (CHP). El peróxido de hidrógeno presenta como ventajas que el único subproducto que se genera es agua, que se puede separar fácilmente mediante decantación, y su menor coste. El TBHP tiene alta estabilidad térmica, no genera problemas de corrosión, es soluble en disolventes polares y apolares y el *terc*-butanol que se genera se puede eliminar mediante destilación.

Esta reacción puede ser catalizada por complejos metálicos. Se ha llevado a cabo la epoxidación del aceite de soja en el sistema bifásico CH₃ReO₃-H₂O₂/CH₂Cl₂ con un 95% de rendimiento en 2 horas a temperatura ambiente.¹⁶² También se ha realizado para este mismo aceite con [MoO₂(acac)₂] y TBHP en tolueno a 110°C durante 2 horas con un 54% de rendimiento.¹⁶³ Sin embargo, no fue fácil separar el catalizador de renio ni es recomendable el uso de tolueno como disolvente aunque presenta menor coste y toxicidad que el catalizador de Re.

¹⁵⁸ Carlson K. D., Kleiman R., Bagby M. O., *J AM OIL CHEM SOC* **1994**, 71, 175.

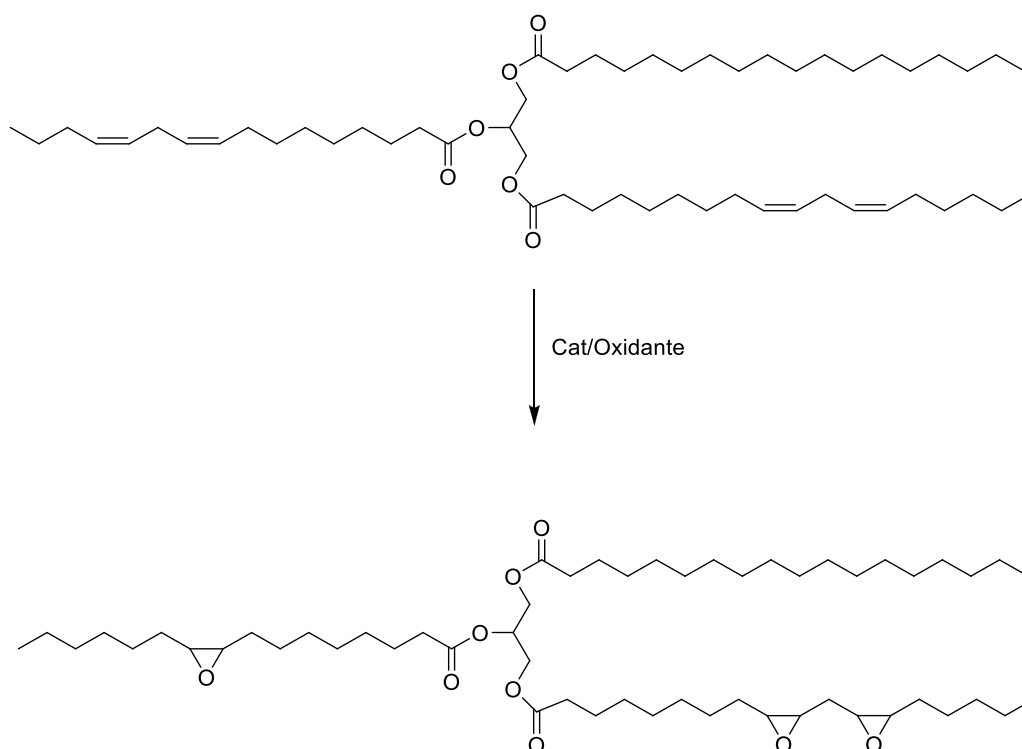
¹⁵⁹ Dinda S., Patwardhan A. V., Goud V. V., Pradhan N. C., *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* **2011**, 6, 870.

¹⁶⁰ Janković M., Sinadinović-Fišer S., Govedarica O., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, 53, 9357.

¹⁶¹ Rios L. A., Echeverri D. A., Franco A., *Appl. Catal. A.* **2011**, 394, 132.

¹⁶² Gerbase A. E., Gregório J. R., Martinelli M., Brasil M. C., Mendes A. N. F., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, 79, 179.

¹⁶³ Farias M., Martinelli M., Bottega D. P., *Appl. Catal. A.* **2010**, 384, 213.



Esquema 5.5. Reacción de epoxidación de un triglicérido

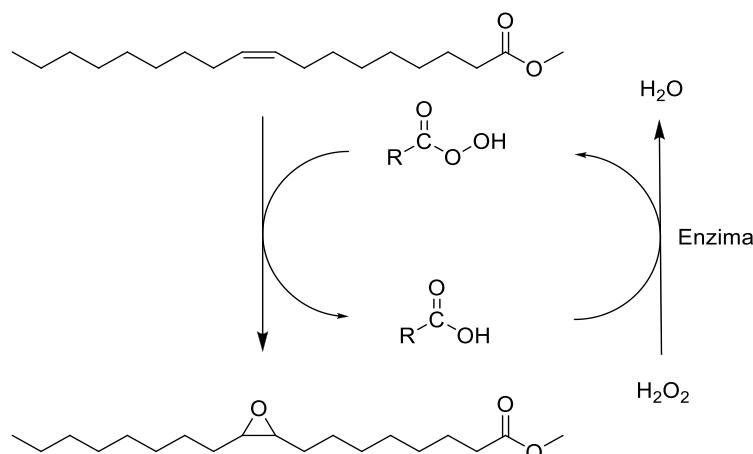
Otra de las alternativas que existen para llevar a cabo la reacción de epoxidación es el uso de enzimas, que presenta como ventajas la alta quimioselectividad, regioselectividad y estereoselectividad, y no se producen reacciones indeseadas de apertura del anillo. Estas reacciones se llevan a cabo en un sistema trifásico: una fase acuosa que contiene H_2O_2 , la fase orgánica que contiene un disolvente y el aceite y una fase sólida que contiene la lipasa inmovilizada. Con la enzima Novozym 435 se pudo epoxidar el aceite de soja con un 90% de conversión en 4 horas a $50^\circ C$.¹⁶⁴ Se ha demostrado que altas concentraciones de H_2O_2 conducen a mayores conversiones, pero desactivan la lipasa al igual que el uso de altas temperaturas. El aceite de *Karanja* se logró epoxidar a $40^\circ C$ en 5 horas con esta enzima obteniendo un 80% de conversión.¹⁶⁵ El aceite de *Jatropha* se epoxidó con H_2O_2 y ácido acético con un 100% de conversión en 24 horas a temperatura ambiente aunque no fue posible recuperar la enzima.¹⁶¹ También se estudió la reacción de epoxidación de semillas de *Sapindus mukorossi* en presencia de H_2O_2 empleando Novozym 435 obteniendo un 90% de conversión en 7 horas a $50^\circ C$ aunque tampoco se pudo recuperar la enzima.¹⁶⁶ El uso de enzimas presenta varios inconvenientes: uso de grandes cantidades de disolventes, alto coste de enzimas, baja actividad catalítica hacia los triglicéridos y desactivación de las enzimas.

¹⁶⁴ Vlček T., Petrović Z. S., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **2006**, 83, 247.

¹⁶⁵ Bajwa A. S., Sathaye S., Kulkarni V. M., Patwardhan A. V., *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* **2016**, 11, 314.

¹⁶¹ Rios L. A., Echeverri D. A., Franco A., *Appl. Catal. A*. **2011**, 394, 132.

¹⁶⁶ Sun S., Ke X., Cui L., Yang G., Bi Y., Song F., Xu X., *Ind. Crops Prod.*, **2011**, 33, 676.



Esquema 5.6. Reacción de epoxidación de oleato de metilo catalizada por enzimas

Los polioxometalatos (POMs) son clusters de óxidos metálicos aniónicos que contienen Mo (VI), W (VI) y/o V (V). Los polioxometalatos pueden transformarse en peroxopolioxometalatos (PPOMs) con un exceso de H₂O₂. Normalmente se usan con amonios cuaternarios para mejorar la solubilidad. Se ha descrito la reacción de epoxidación del aceite de soja con $[\pi\text{-C}_5\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3]_3[\text{PW}_4\text{O}_{16}]$ en 4 horas a 60°C obteniendo un 90% de conversión.¹⁶⁷ Sin embargo, estos catalizadores se desactivaron rápidamente debido a la desaparición de sitios activos durante la reacción y presentaron problemas de separación. Para superar estos inconvenientes se prepararon otros PPOMs como $[\text{MeN}(n\text{-C}_8\text{H}_{17})_3]\{\text{PO}_4[\text{WO}(\text{O}_2)_2]_4\}$ inmovilizados en diferentes soportes, aunque el rendimiento fue menor.¹⁶⁸

En los últimos años se ha descrito la reacción de epoxidación de aceites vegetales con catalizadores heterogéneos de distintos metales: titanio, aluminio, renio, wolframio, vanadio, molibdeno, etc. Aunque los catalizadores de titanio se han utilizado en diferentes reacciones de epoxidación de oleato de metilo con resultados aceptables, las conversiones de las epoxidaciones llevadas a cabo con el aceite de soja y TBHP no superaron el 25% en la mayoría de los casos.^{169,170} Sólo se alcanzó un 87% de conversión con Ti/SiO₂ y H₂O₂ pero en 54 horas de reacción.¹⁷¹ Tampoco se obtuvieron buenos resultados con $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ ¹⁷² (48% de conversión en 10 horas) ni con MoO₃/Al₂O₃¹⁶⁹ (16% de conversión en 4 horas) ni con Nb₂O₅-SiO₂¹⁷³ (10% conversión en 5 horas).

¹⁶⁷ Cheng W., Liu G., Wang X., Liu X., Jing L., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2015**, *117*, 1185.

¹⁶⁸ a) Jiang J., Zhang Y., Yan L., Jiang P., *Appl. Surf. Sci.* **2012**, *258*, 6637. b) Zhang H., Yang H., Guo H., Yang J., Xiong L., Huang C., Chen X., Ma L., Chen Y., *Appl. Clay Sci.*, **2014**, *90*, 175.

¹⁶⁹ Miao Y. X., Liu J. P., *Adv. Mater. Res.* **2014**, *881*, 140.

¹⁷⁰ Ye X., Jiang P., Zhang P., Dong Y., Jia C., Zhang X., Xu H., *Catal. Lett.* **2010**, *137*, 88.

¹⁷¹ Campanella A., Baltanás M. A., Capel-Sánchez M. C., Campos-Martín J. M., Fierro J. L. G., *Green Chem.*, **2004**, *6*, 330.

¹⁷² Turco R., Pischetola C., Tesser R., Andini S., Di Serio M., *RSC Adv.* **2016**, *6*, 31647.

¹⁷³ Di Serio M., Turco R., Pernice P., Aronne A., Sannino F., Santacesaria E., *Catal. Today* **2012**, *192*, 112.

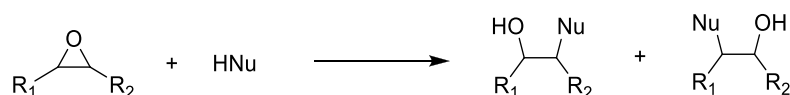
Esto es debido a que el tamaño de los poros de la sílice no es suficiente para que una molécula de triglicéridos pueda entrar al sitio catalítico y es necesario el uso de titanosilicatos mesoporosos y materiales con una gran área superficial.

Los aceites de pescado son interesantes para la reacción de epoxidación debido a las cadenas de ácidos grasos ω -3 contienen cinco o seis dobles enlaces. Sin embargo, apenas hay ejemplos descritos en la bibliografía. Tradicionalmente se han epoxidado con perácidos. En la bibliografía aparece descrita la reacción de epoxidación de aceite de anchoas con ácido peracético preparado previamente a partir de H_2O_2 y ácido acético y diferentes resinas ácidas Dowex alcanzando una conversión superior al 90% con Dowex 50W-X12.¹⁷⁴

Se ha descrito la reacción de epoxidación de dos aceites de pescado, uno en forma de éster etílico y otro en forma de triglicéridos.¹⁷⁵ Para ello se utilizó el catalizador CH_3ReO_3 y piridina junto con H_2O_2 en CH_2Cl_2 a $25^\circ C$ en 6 horas. La conversión de las dos reacciones fue del 100% aunque el rendimiento aislado fue mayor para el aceite en forma de éster etílico (86%).

1.2. Reacción de apertura de epóxidos

La presencia de uno o varios grupos oxirano en la cadena alifática de los ácidos grasos permite la funcionalización de esta mediante la apertura nucleófila con distintos reactivos, pudiéndose obtener diferentes productos como, por ejemplo: 1,2-hidroxiésteres, 1,2-dioles, 1,2-aminoalcoholes, 1,2-hidroxinitrilos, etc.



Esquema 5.7. Reacción de apertura de epóxidos

La obtención de los dioles se realiza mediante adición de un ácido fuerte como HF_4 , H_2SO_4 o $HClO_4$ en medio acuoso. En la bibliografía aparece descrita la reacción de apertura de 9,10-epoxiestearato de metilo con distintos ácidos obteniéndose buenos resultados de conversión: HF_4 ¹⁷⁶ (89%), H_2SO_4 ¹⁷⁷ (97%) o $HClO_4$ ¹⁵² (80%).

¹⁷⁴ Wisniak J., Navarrete E., *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.* **1970**, 9, 33.

¹⁷⁵ Marks D. V., Larock R. C., *J AM OIL CHEM SOC*, **2002**, 79, 65.

¹⁷⁶ Maerker G., Haerberer E. T., Ault W. C., *J AM OIL CHEM SOC*, **1964**, 41, 585.

¹⁷⁷ Behr A., Tenhumberg N., Wintzer A., *RSC Adv.* **2013**, 3, 172.

¹⁵² Ahn B. J. K., Kraft S. Sun X. S., *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 9498.

Por el contrario, respecto a la reacción de apertura de los epóxidos de aceites vegetales para obtener los dioles apenas hay ejemplos descritos en la bibliografía. Aunque aparece descrita la reacción de apertura de los epóxidos del aceite de soja (ESO) utilizando como catalizador ácido fosfórico y agua.¹⁷⁸ Las condiciones de reacción eran: ESO/acetato de *terc*-butilo = 1/0,5 (en peso), 2% (en peso) de ácido fosfórico y 10% (en peso) de agua. El tiempo de reacción era de 6 horas y la reacción se llevaba a cabo a reflujo. La conversión fue mayor del 99%.

Se ha descrito la reacción de reacción de epoxidación del aceite de *Jatropha* con ácido fórmico y H₂O₂ a 50°C en 30 min.¹⁷⁹ A continuación se realizó la reacción hidrólisis a 90°C durante 5 horas. La conversión fue del 100%.

También se llevó a cabo la formación de los epóxidos de los aceites de semillas de goma con ácido fórmico y H₂O₂ durante 8 horas a 60°C.¹⁸⁰ Transcurrido el tiempo de reacción se aumentó la temperatura a 80°C y se mantuvo durante otras 14 horas para abrir los epóxidos.

Se ha realizado la reacción de apertura de los epóxidos del aceite de maíz con HCl para obtener los polihidroxiácidos.¹⁸¹

Por otro lado, se puede llevar a cabo la apertura del oxirano con hidrógeno molecular para tener sólo un grupo hidroxilo, aunque cuando los dos extremos del epóxido son similares se obtienen los dos hidroxicompuestos en cantidades iguales. La hidrogenólisis del óxido de etileno y de epóxidos de alquilo con hidrógeno molecular y paladio libre o soportado se conoce desde 1930 y por ello en la bibliografía se recogen numerosos ejemplos de esta reacción.¹⁸² Sin embargo, su uso no está tan extendido para ésteres grasos y no se ha llevado a cabo con aceites.

En 1964 Howton describió la reacción de hidrogenólisis de *cis*-9,10-epoxiestearato de metilo utilizando Pd/C (5% mol) con ácido acético como disolvente a temperatura ambiente en 10 minutos.¹⁸³ Se obtuvo una mezcla de compuestos: 57,5% de 9(10)-hidroxiestearato de metilo, 20,1 % de estearato de metilo por hidrogenólisis total, 8,1% de 9(10)-oxoestearato de metilo por transposición de Meinwald del epóxido, y 2,3% de 9(10)-acetoxi-10(9)-hidroxiocetadecanoato de metilo por apertura del epóxido con ácido acético (*Esquema 5.8*).

¹⁷⁸ Guo Y., Hardesty J. H., Mannari V. M. Massingill Jr. J. L., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2007**, *84*, 929.

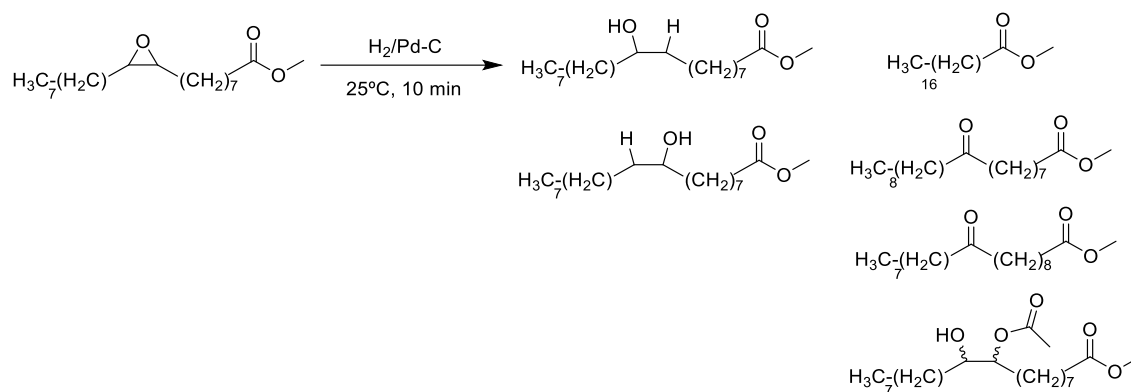
¹⁷⁹ Liu C., Liu J., Ma L., Rong L., *Journal of Chemistry* **2014**, *2014*, 1.

¹⁸⁰ Okieimena F. E., Pavithranb C., Bakare I. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2005**, *107*, 330.

¹⁸¹ Harry-O'kuru R. E., Mohammed A., Xu J., Sharma B. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *88*, 1211.

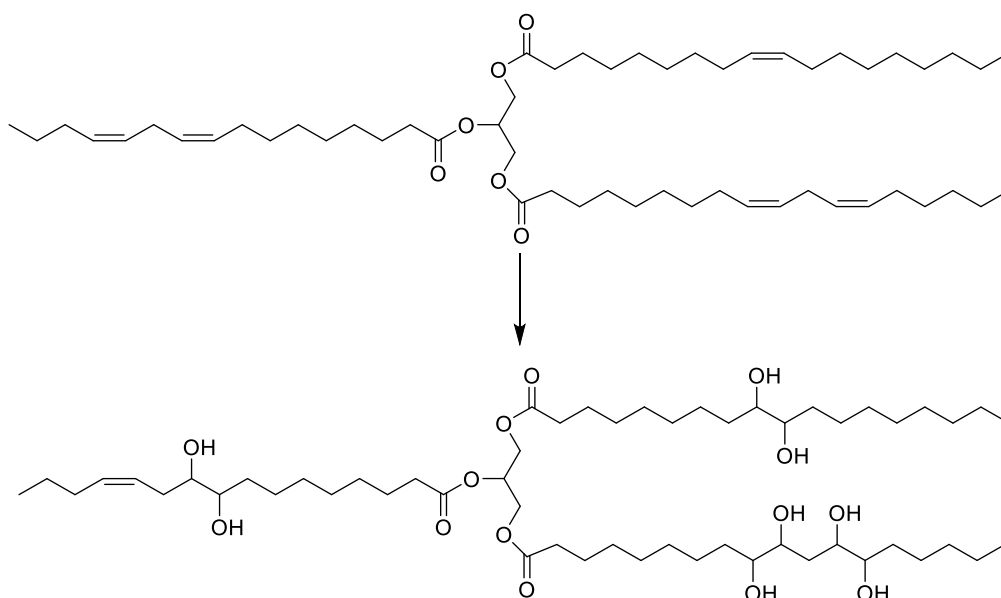
¹⁸² Thiery E., Le Bras J., Muzart J., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 961.

¹⁸³ Howton D. R., Kaiser, Jr R.W., *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2420.



Esquema 5.8. Reacción de hidrogenólisis de cis-9,10-epoxiestearato de metilo

En la mayoría de los casos se lleva a cabo la reacción de dihidroxilación en *one-pot*. En la bibliografía aparece descrita esta reacción para distintos aceites.



Esquema 5.9. Reacción de dihidroxilación de un triglicérido

Se han empleado diferentes tipos de resinas ácidas: Amberlyst 15, Amberlite IR-120 y Dowex 50WX2 como catalizadores para dihidroxilar los ésteres de metilo del aceite de *Jatropha*.¹⁸⁴ En la reacción se utilizó tolueno como disolvente y ácido acético/H₂O₂ como oxidante. La reacción se llevó a cabo a 57°C durante 24 horas. Con Amberlyst 15 obtuvieron los mejores resultados: 100% de conversión.

¹⁸⁴ Rios L., Echeverri D., Cardeño F., *Ind. Crops Prod.* **2013**, 43, 183.

Daniel y colaboradores llevaron a cabo la reacción de dihidroxilación de Prilezhaev del aceite de *Jatropha* donde la adición de los hidroxilos tiene lugar de forma *trans* utilizando ácido fórmico y H₂O₂ a temperatura ambiente durante 24 horas.¹⁸⁵ La conversión fue del 100% y el rendimiento aislado del 87%.

También se ha descrito la reacción de dihidroxilación de los ésteres alquílicos del aceite de *Jatropha* (método de Prilezhaev) con un 100% de conversión.¹⁸⁶

Por otro lado, aparece descrita la reacción de dihidroxilación de ésteres de 2-etilhexilo de aceite de sal (*Shorea Robusta*), enriquecidos en ácido oleico, con ácido fórmico, H₂O₂ y ácido sulfúrico con un 100% de conversión.¹⁸⁷ La temperatura de la reacción fue 90°C y el tiempo de reacción 24 horas. También está descrita con los ésteres de neopentilglicol (NPG) y de TMP provenientes de aceite de sal enriquecido en ácido oleico con resultados similares.

El aceite de *Karanja* se extrae de las semillas del árbol de *Karanja* que se encuentra comúnmente en la India. Se llevó a cabo la reacción de dihidroxilación de Prilezhaev de los ésteres metílicos de este aceite a 85°C durante 7 horas con un 100% de conversión.¹⁸⁸

La familia de *Asclepias* comprende 2500 especies de árboles que se extienden desde el sur de Canadá hasta el norte de Méjico. Se llevó a cabo la preparación de los polihidroxitriglicéridos a partir del aceite obtenido de las semillas estos árboles con HCOOH/H₂O₂/HCl a 70°C durante 15 horas con una conversión prácticamente cuantitativa.¹⁸⁹

1.3. Reacción de dihidroxilación

En 1967 Swern y colaboradores llevaron a cabo la reacción de dihidroxilación del aceite de oliva y del aceite de colza utilizando como catalizador H₂WO₄, aunque los rendimientos no superaron el 55% en 18-20 horas.¹⁹⁰ Además, la reacción de dihidroxilación del aceite de colza es muy exotérmica por lo que se realizó a 25°C. Mediante la adición de ácido fórmico y peróxido de hidrógeno al aceite de colza a 40°C en 1 hora fue posible dihidroxilar el aceite de colza con un 95% de rendimiento.¹⁵¹

¹⁸⁵ Daniel L., Ardiyanti A. R., Schuur B., Manurung R., Broekhuis A. A., Heeres H. J., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 18.

¹⁸⁶ Sammaiah A., Padmaja K. V., Prasad R. B. N., *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 4652.

¹⁸⁷ Kamalar K., G. N. V. T. Sai Manoj, Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 11980.

¹⁸⁸ Gorla G., Kour S. M., Padmaja K. V., Karuna M. S. L., Prasad R. B. N., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*, 8685.

¹⁸⁹ Harry-O'kuru R. E., Holser R. A., Abbott T. P., Weisleder D., *Ind. Crops Prod.* **2002**, *15*, 51.

¹⁹⁰ Luong T. M., Schriftman H., Swern D., *J AM OIL CHEM SOC* **1967**, *44*, 316.

¹⁵¹ Hu Y. H., Gao Y., Wang D. N., Hu C. P., Zu S., Vanoverloop L., Randall D., *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *84*, 591.

Daniel y colaboradores también llevaron a cabo la reacción de dihidroxilación de Upjohn donde los hidroxilos se introducen de forma *cis* empleando como catalizador tetraóxido de osmio y N-óxido de 4-metilmorfolina a 60°C, durante 18 horas con una conversión del 100% y un rendimiento aislado del 46%.¹⁸⁵

Blighia unijugata es un árbol que se encuentra en Nigeria. Se ha descrito la hidroxilación de los ésteres metílicos del aceite que se obtiene de este árbol. Para ello se empleó como catalizador permanganato de cetiltrimetilamonio y H₂O₂ como oxidante. La disolución se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente obteniéndose un 100% de conversión y un 87% de rendimiento aislado.¹⁹¹

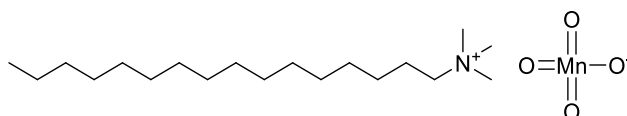


Figura 5.1. Permanganato de cetiltrimetilamonio

¹⁸⁵ Daniel L., Ardiyanti A. R., Schuur B., Manurung R., Broekhuis A. A., Heeres H. J., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 18.

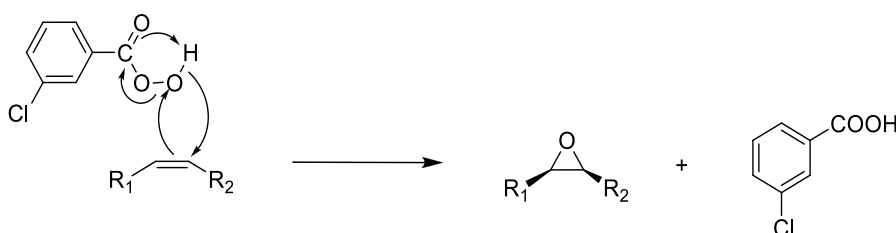
¹⁹¹ Adewuyi A., Oderinde R. A., Prasad R. B. N., Nalla M., *Chem. Cent. J.* **2011**, *5*, 79.

2. Resultados y discusión

2.1. Reacción de epoxidación

Se ha llevado a cabo la síntesis de los epóxidos de los ésteres grasos de la mezcla DF2 con un perácido, reacción descrita para diferentes aceites, como los de algodón,¹⁵⁴ colza,¹⁵⁵ de semillas de uva,¹⁵⁶ de oliva, de linaza,¹⁵⁷ y otros aceites menos habituales.¹⁵⁸ Se ha utilizado como perácido el ácido *m*-cloroperbenzoico ya que evita tener que formar *in situ* otros perácidos como el ácido perfórmico o el peracético.

El mecanismo de la reacción es concertado y permite mantener la estereoquímica del epóxido final.



Esquema 5.10. Epoxidación de olefinas con *m*CPBA.

El uso de *m*CPBA presenta como ventajas que es una reacción rápida en condiciones suaves de temperatura y en la que no se producen subproductos derivados de la olefina. Además, es un reactivo fácilmente manipulable, pero para alcanzar la conversión total del doble enlace se forma, de manera estequiométrica, el ácido *m*-clorobenzoico. Una vez ha terminado la reacción es necesario eliminar este subproducto.

En primer lugar, se llevó a cabo esta reacción utilizando 1,48 g (5 mmol) de mezcla DF2 y un ligero exceso de *m*CPBA (6,2 mmol).

Durante el tratamiento de la reacción se filtra la disolución y se lava con disolución saturada de NaHCO₃ para eliminar el ácido *m*-clorobenzoico.

Mediante comparación del cromatograma resultante de la reacción con el de la mezcla DF2 inicial se observó la desaparición de los picos correspondientes a los ésteres grasos que contienen dobles enlaces y la aparición de nuevos picos que corresponderían a los epóxidos formados.

¹⁵⁴ Dinda S., Patwardhan A. V., Goud V. V., Pradhan N. C., *Bioresour. Technol.* **2008**, 99, 3737.

¹⁵⁵ Milchert E., Smagowicz A., Lewandowski G., *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2010**, 85, 1099.

¹⁵⁶ De Haro J. C., Izarri I., Rodríguez J. F., Pérez A., Carmona M., *J. Cleaner Prod.* **2016**, 138, 70.

¹⁵⁷ Huang Y-B., Yao M-Y., Xin P-P., Zhou M-C., Yang T., Pan H., *RSC Adv.* **2015**, 5, 74783.

¹⁵⁸ Carlson K. D., Kleiman R., Bagby M. O., *J AM OIL CHEM SOC* **1994**, 71, 175.

Para confirmar la existencia de los epóxidos se analizó el crudo de la reacción con diferentes experimentos de RMN. En el espectro de protón no aparecen las señales de los dobles enlaces a 5,3 ppm y aparecen las señales típicas de los protones de los epóxidos (2,8 a 3,2 ppm) lo que indica que la conversión de la reacción es del 100%. Al tener en la muestra inicial varios tipos de dobles enlaces no aparece una única señal, sino cuatro. Las moléculas con un epóxido aislado, como el del oleato de etilo, presentan las señales de los protones a 2,8 ppm (tipo A). Las moléculas obtenidas a partir de ácidos grasos diinsaturados, como el linoleico, presentan los protones a 2,94 (tipo B), 3,09 y 3,14 ppm (tipo C). Estos resultados concuerdan con lo descrito en la bibliografía donde aparecen caracterizados los epóxidos de trilinoleína y trilinolenina e identificados los epóxidos de diferentes aceites.¹⁹² Además, estas señales correlacionan con los carbonos que aparecen en APT entre 58,1 y 56,4, 54,4 y 53,8. La señal a 58,1 ppm correlaciona con los protones de las moléculas con un solo epóxido (A). La señal a 56,4 ppm correlaciona con los protones externos del diepóxido (B) y las señales entre 54,4 y 53,8 ppm con los protones internos del diepóxido (C).

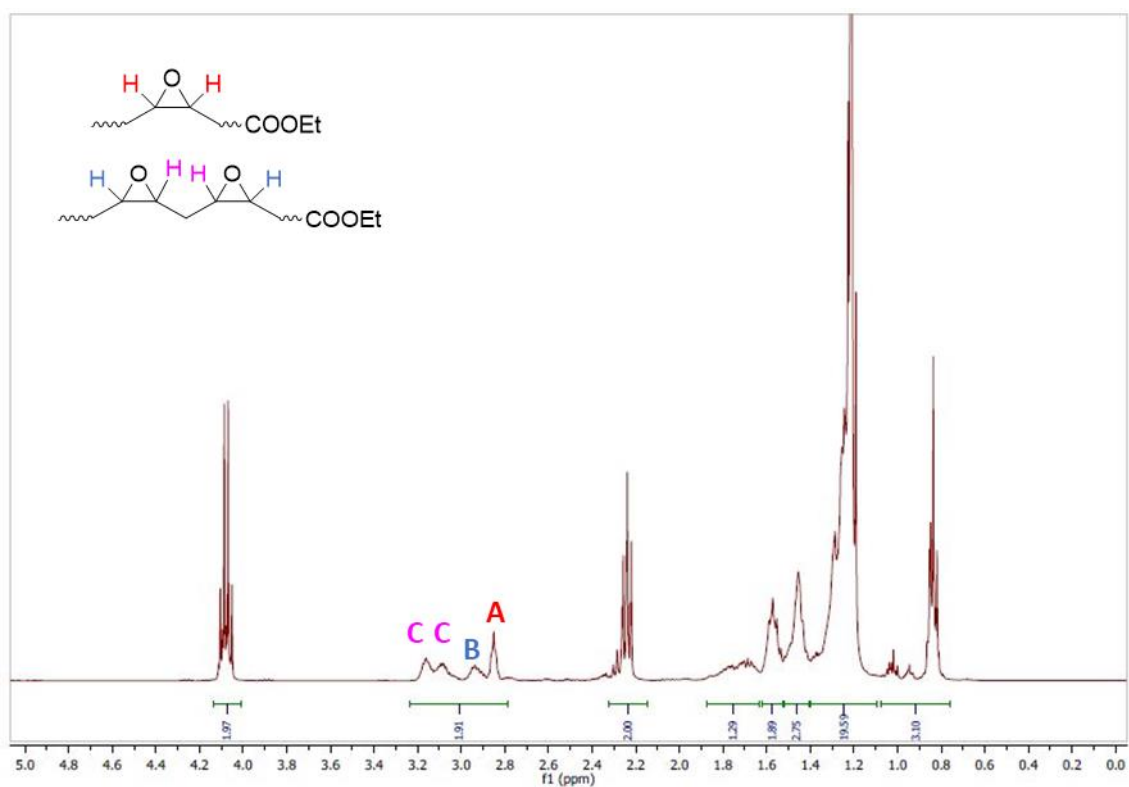


Figura 5.2. Espectro de ^1H -RMN de la mezcla de epoxidación de la mezcla DF2

Una vez identificados los productos de la reacción, se llevó a cabo con 20 g de mezcla DF2 (0,067 mol). Se realizó un seguimiento de la reacción por cromatografía de

¹⁹² Xia W., Budge S. M., Lumsden M. D., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2016**, *93*, 467.

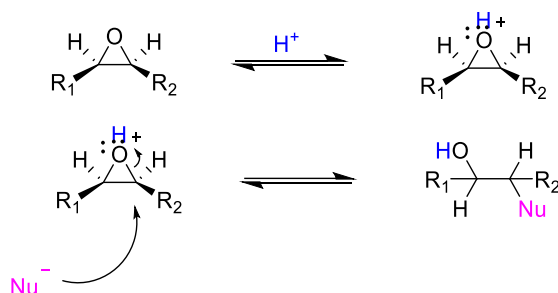
gases y se observó que en 1 hora la conversión era del 88% y no aumentaba hasta las 24 horas. Esto indicó que la cantidad de *m*CPBA era insuficiente por lo que se añadió una cantidad adicional de *m*CPBA, hasta una relación molar DF2/*m*CPBA de 1:1,5, y tras una hora de reacción la conversión era del 100%.

Con las condiciones optimizadas se escaló esta reacción a 40 g de mezcla DF2 y se observó que en 2 horas de reacción la conversión era del 100%. Por último, se llevó a cabo con 100 g de mezcla DF2 obteniendo de nuevo un 100% de conversión.

2.2. Reacción de apertura de epóxidos

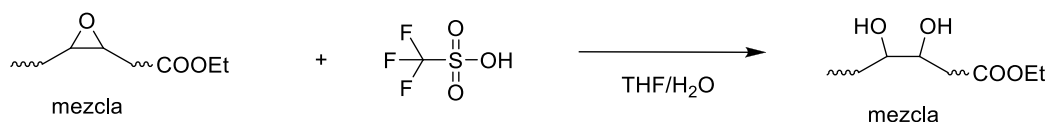
2.2.1. Reacción de apertura de epóxidos en medio acuoso

Debido a la alta reactividad del oxirano, éste se puede abrir y dar lugar a diferentes productos. La apertura del anillo tiene lugar a través de la escisión de uno de los enlaces carbono-oxígeno. En el epóxido, el enlace C-O es débil debido a la tensión angular del anillo. La catálisis ácida ayuda a la apertura del anillo de oxirano al debilitar todavía más el enlace por la protonación y proporcionar un mejor grupo saliente en el carbono sometido al ataque nucleofílico. Esta catálisis es especialmente importante si el nucleófilo es débil como agua.



Esquema 5.11. Reacción de apertura de un epóxido catalizada en medio ácido.

Una vez preparados los epóxidos correspondientes se ensayó la reacción de apertura siguiendo el procedimiento descrito por Sun y colaboradores, pero utilizando ácido triflico (trifluorometanosulfónico) en lugar de ácido perclórico.¹⁵²



Esquema 5.12. Reacción de apertura de los epóxidos de la mezcla DF2 catalizada en medio ácido.

¹⁵² Ahn B. J. K., Kraft S. Sun X. S., *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 9498.

Se comenzó utilizando 500 mg de epóxidos de la mezcla DF2 (1,6 mmol) junto con 3,5 mL de una disolución de ácido triflico en agua al 10%. Como disolvente de la reacción se emplearon 25 mL de THF/H₂O (3:2). Se analizó el crudo de la reacción mediante RMN, ya que por cromatografía de gases se observaba únicamente la desaparición de los epóxidos de partida, pero no se observaba la presencia de los nuevos productos.

En el espectro de ¹H-RMN aparecía una señal a 3,4 ppm que corresponde a los protones de los carbonos que tienen un hidroxilo como sustituyente. Esto se confirmó con el experimento de HSQC donde se produce la correlación de estos protones con los carbonos que aparecen a 74,47 y 74,52 ppm, señales características de estos carbonos. Además, esto coincide con lo descrito en la bibliografía por Harry-O'kuru.¹⁹¹ Por lo tanto, la conversión de esta reacción es del 100%.

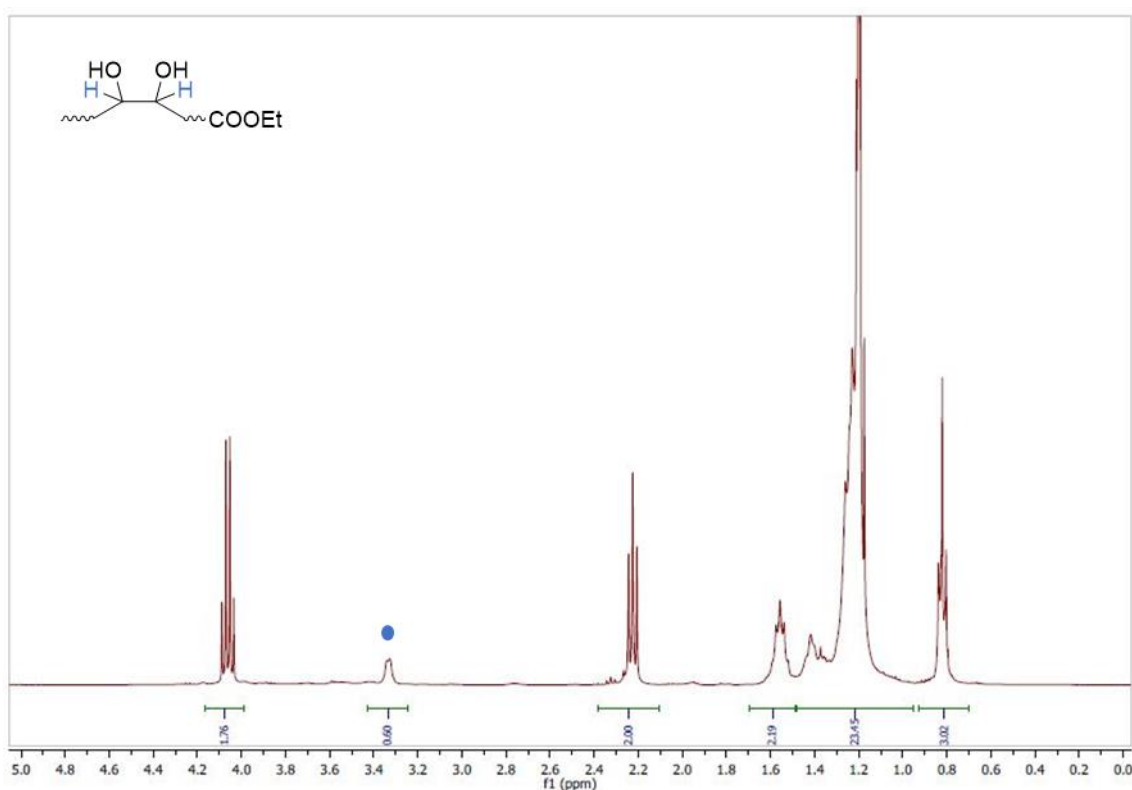


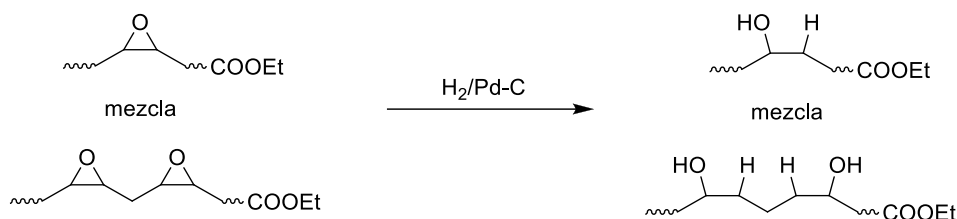
Figura 5.3. Espectro de ¹H-RMN de la reacción de apertura en medio acuoso de los epóxidos de la mezcla DF2

Debido a los buenos resultados se decidió escalar esta reacción a 50 g de mezcla de epóxidos de DF2. Mediante el análisis del crudo por ¹HRMN se confirmó que la conversión de la reacción es del 100%.

¹⁹¹ Harry-O'kuru R. E., Mohammed A., Xu J., Sharma B. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *88*, 1211.

2.2.2. Reacción de apertura de epóxidos con hidrógeno

Los epóxidos también se pueden abrir con hidrógeno usando Pd/C como catalizador para obtener los monohidroxiésteres correspondientes.



Esquema 5.13. Reacción de hidrogenólisis de los epóxidos de la mezcla DF2.

Siguiendo lo descrito por Howton¹⁸³ y un trabajo realizado previamente en el grupo de investigación, se utilizó Pd/C (5% Pd en peso) como catalizador y AcOH glacial como disolvente para la hidrogenación a presión atmosférica de la mezcla DF2 epoxidada a temperatura ambiente durante 3 horas.

En el análisis del crudo por ¹H-RMN se observaba la presencia de un 43% de epóxidos sin reaccionar y aparecía una señal a 3,8 ppm correspondiente al protón de los carbonos con un sustituyente hidroxilo. Howton realizó esta reacción para la apertura del *cis*-9,10-epoxiestearato de metilo, pero en este caso hay entre 1 y 6 epóxidos en las distintas moléculas lo que dificulta el acceso del hidrógeno a los carbonos.

Se aumentó la temperatura a 50°C y el tiempo de reacción a 7 horas para aumentar la conversión de la reacción. En espectro de ¹H-RMN (Figura 5.4) se observaba, además de los alcoholes esperados, la formación de acetoxi-compuestos (4,79 y 3,54 ppm) debido al uso de ácido acético como disolvente, hecho observado también por Howton.¹⁸³

En este punto se intentó optimizar esta reacción para alcanzar conversión total de los epóxidos y minimizar la presencia de acetatos. Además, se disminuyó el porcentaje de catalizador, desde el 5 mol% de Pd inicial, con vistas a un posible escalado.

Al utilizar un 2,5% de Pd fue necesario aumentar el tiempo de reacción hasta las 24 horas para que reaccionaran por completo los epóxidos, aunque aparecieron los acetatos además de los alcoholes.

¹⁸³ Howton D. R., Kaiser, Jr R.W., *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2420.

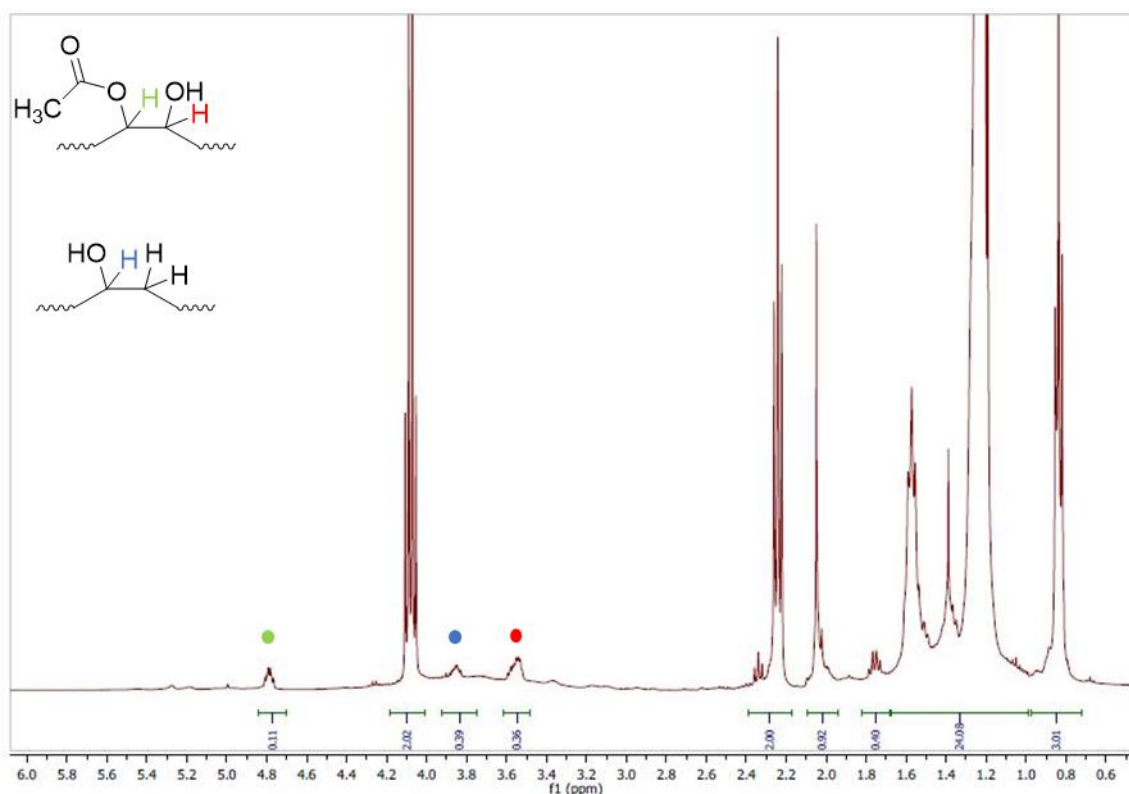
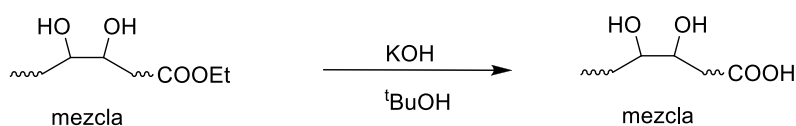


Figura 5.4. Espectro de ^1H -RMN de la reacción de hidrogenólisis

Para determinar el origen de los acetatos, se llevó a cabo una reacción sin catalizador con ácido acético como disolvente durante 24 horas. La formación de los acetatos se produce sin presencia de catalizador, indicando que los acetatos provienen fundamentalmente de la apertura del epóxido con acético en lugar de la esterificación del hidroxilo libre. Para evitar la formación de acetatos se llevó a cabo la reacción usando *tert*-butanol como disolvente, pero la formación de alcoholes es mucho más lenta por lo que es necesario añadir un equivalente de ácido acético para favorecer la apertura del epóxido. A pesar de que el tiempo de reacción fue de 4 días y el porcentaje de catalizador un 2%, siguieron quedando epóxidos sin reaccionar (18%).

Debido a que se produce la competencia entre dos reacciones y no fue posible obtener los alcoholes con un 100% de selectividad en esta reacción no se realizaron más pruebas.

2.3. Reacción de hidrólisis del éster



Esquema 5.14. Reacción de hidrólisis de los dihidroxiésteres y polihidroxiésteres

Por último, para obtener los dihidroxiácidos se llevó a cabo la hidrólisis química de los dihidroxiésteres preparados anteriormente y de esta forma tener tres grupos polares en cada molécula. Para ello se utilizaron las condiciones óptimas de la reacción de hidrólisis de los ésteres etílicos de la mezcla DF2 inicial (*Capítulo 3*). En este caso se usaron 40 g de dihidroxiésteres, una relación molar ésteres/KOH 1:1,5, 40 mL de ^tBuOH y 70°C. Se aumentó el tiempo de reacción a 24 horas en lugar de 2 horas para asegurar la formación de los ácidos.

En el espectro de ¹H-RMN se observa la desaparición de la señal de los dos protones del grupo etilo (4,07 ppm) y en el espectro de APT aparece la señal correspondiente a un grupo ácido –COOH (179,8 ppm).

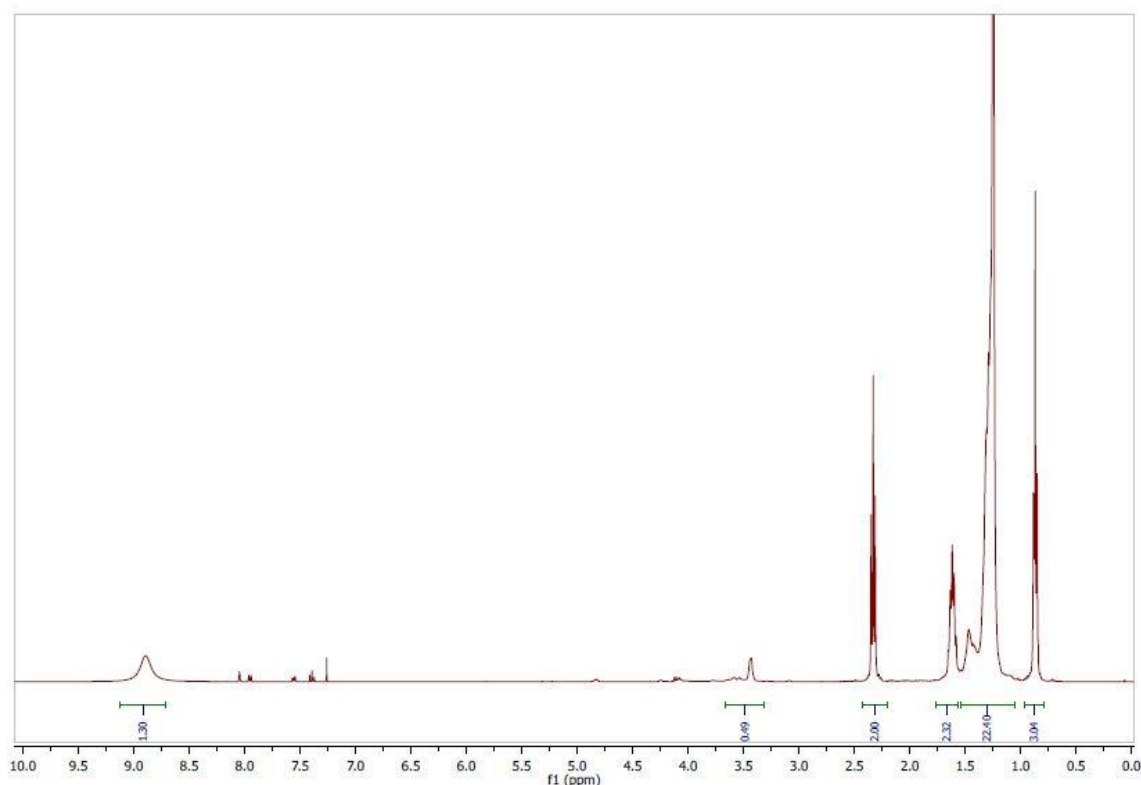


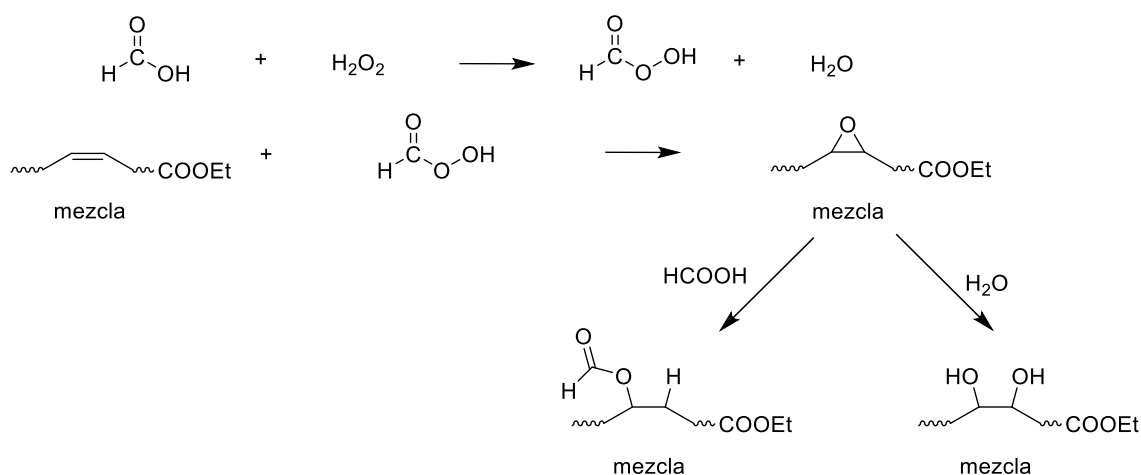
Figura 5.5. Espectro de ¹H-RMN de la reacción de hidrólisis de los dihidroxiésteres de la mezcla DF2

Se puede llevar a cabo el mismo procedimiento para 80 g de polioles escalando los reactivos utilizados en las mismas condiciones de reacción transcurriendo la reacción con un 100% de conversión.

Como conclusión se puede decir que se han preparado dos mezclas como posibles emulgentes debido a la introducción de grupos polares: una mezcla de dihidroxiésteres y una mezcla de dihidroxiácidos.

2.4. Reacción de epoxidación-apertura en one-pot

Se llevó a cabo la reacción de epoxidación-apertura de la mezcla DF2, siguiendo el procedimiento descrito por Daniel y colaboradores.¹⁸⁵ Se empleó un exceso de ácido fórmico (relación molar HCOOH/DF2 = 8) y H₂O₂ del 60% en cantidad estequiométrica a 40°C.



Esquema 5.15. Reacción de epoxidación-apertura en *one-pot*

Por cromatografía de gases se observó la presencia de formiloxiésteres y polioles. Los formiloxiésteres aparecen a 34,6 y 40,7 minutos y los polioles a 37,6 y 44 minutos (*Figura 5.6*).

¹⁸⁵ Daniel L., Ardiyanti A. R., Schuur B., Manurung R., Broekhuis A. A., Heeres H. J., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 18.

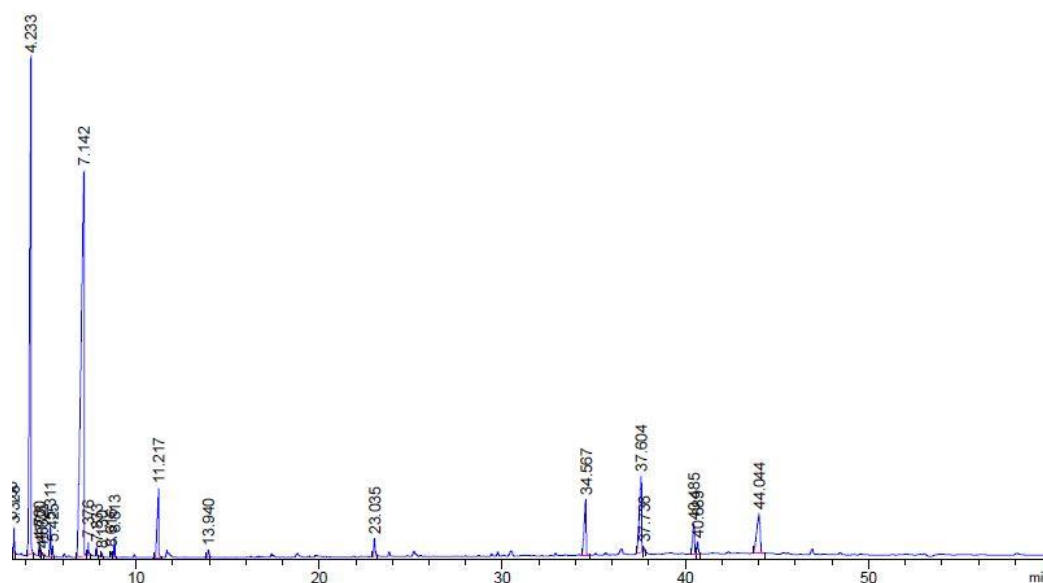


Figura 5.6. Cromatograma de la reacción de dihidroxilación de la mezcla DF2

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Figura 5.7) se observa una reducción en la intensidad de la señal correspondiente a los dobles enlaces (5,1 ppm), lo que indica que parte de ellos han reaccionado, pudiendo calcularse una conversión de dobles enlaces del 87%. También aparecen las señales correspondientes a los protones de los carbonos cuyo sustituyente es un hidroxilo (3,39 y 3,60 ppm) y la señal correspondiente a los protones de los carbonos con sustituyentes formiloxilo (4,9 ppm). En este caso no se observan señales correspondientes a los epóxidos (2,8-3.2 ppm). Debido a la complejidad de la mezcla de partida no es posible determinar qué sustituyentes tienen cada una de las moléculas que conforman la mezcla, pero sí se puede conocer la proporción que hay de los productos provenientes de la apertura con ácido fórmico y los productos procedentes de la apertura con agua. Las señales que aparecen a 4,90 ppm y a 3,60 ppm pertenecen a los compuestos procedentes de la apertura con ácido fórmico e integran por 0,17 (en promedio) y corresponden cada una a un protón (unido al carbono con sustituyente formiloxilo y unido al carbono con sustituyente hidroxilo). La señal que se encuentra a 3,4 ppm corresponde a los dos protones de la molécula con dos sustituyentes hidroxilo e integra por 0,08. Por lo tanto, la relación que hay es 81% (productos provenientes de la apertura con ácido fórmico) y 19% (productos procedentes de la apertura con agua).

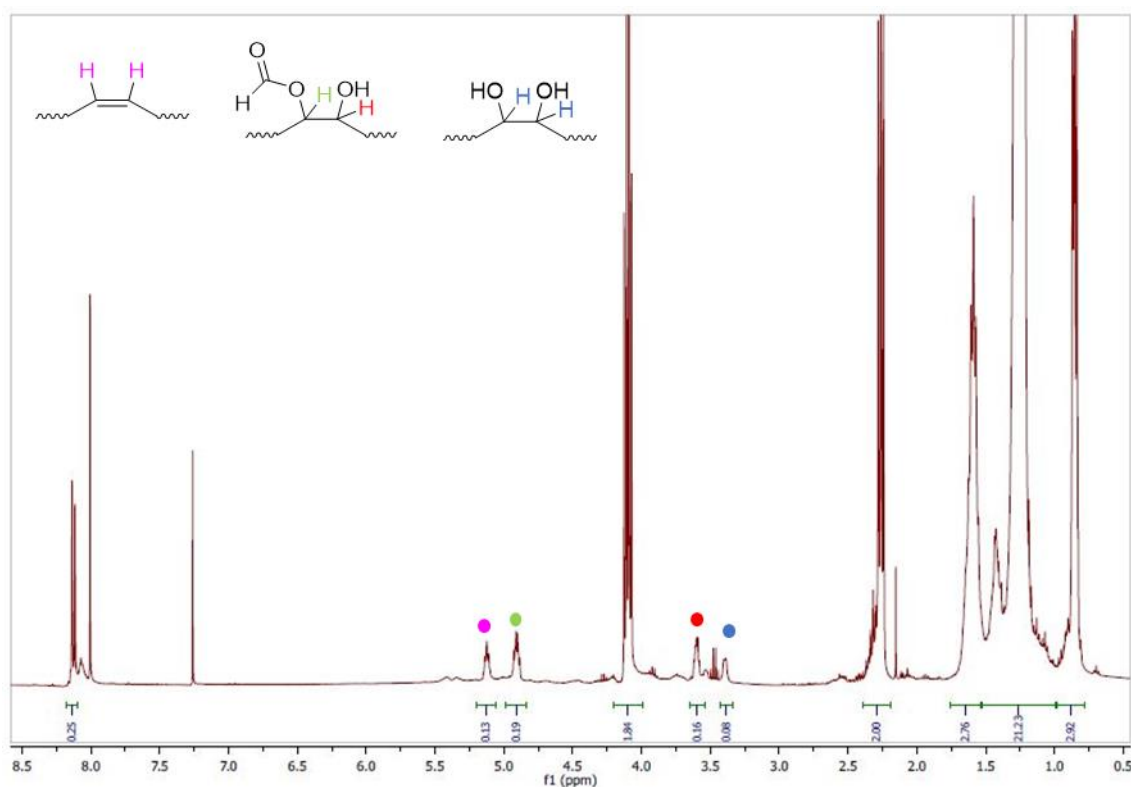


Figura 5.7. Espectro de ^1H -RMN de la reacción de dihidroxilación de la mezcla DF2

Para mejorar los resultados de conversión y reducir la cantidad de grupos formiloxi se aumentó la cantidad de H_2O_2 hasta 2 equivalentes y se utilizó del 30% (en peso) para favorecer la apertura del epóxido con agua. A las 24 horas de reacción se observó mediante ^1H -RMN no quedaban epóxidos ni dobles enlaces. Por lo tanto, la conversión de la reacción es del 100%. Al igual que en el caso anterior se observó que se han formado los polioles correspondientes y los formiloxihidroxiésteres. En este caso la proporción de formiloxihidroxiésteres era del 45% y la de polioles era del 55%. Esto indica que al aumentar la cantidad de agua en la reacción se favorece la conversión total y la formación de los polioles, aunque siguen apareciendo los productos de apertura con fórmico.

Por último, se llevó a cabo esta reacción con menos cantidad de ácido fórmico (relación molar $\text{HCOOH}/\text{DF2} = 1$) para intentar minimizar la proporción de formiloxiésteres formados. Fue preciso utilizar un poco de acetonitrilo como disolvente para favorecer la homogeneidad de la mezcla de reacción. A las 24 horas de reacción se observaban dobles enlaces sin reaccionar, epóxidos y formiloxihidroxiésteres. Transcurridas 48 horas la mezcla de reacción seguía conteniendo una mezcla de los tres tipos de compuestos. La conversión de la reacción fue del 76% y la proporción de los productos era 51% de polioles y 49% de epóxidos. Los epóxidos no habían aparecido en las otras reacciones lo que indica que estas condiciones no son lo suficientemente fuertes como para que se abra el epóxido.

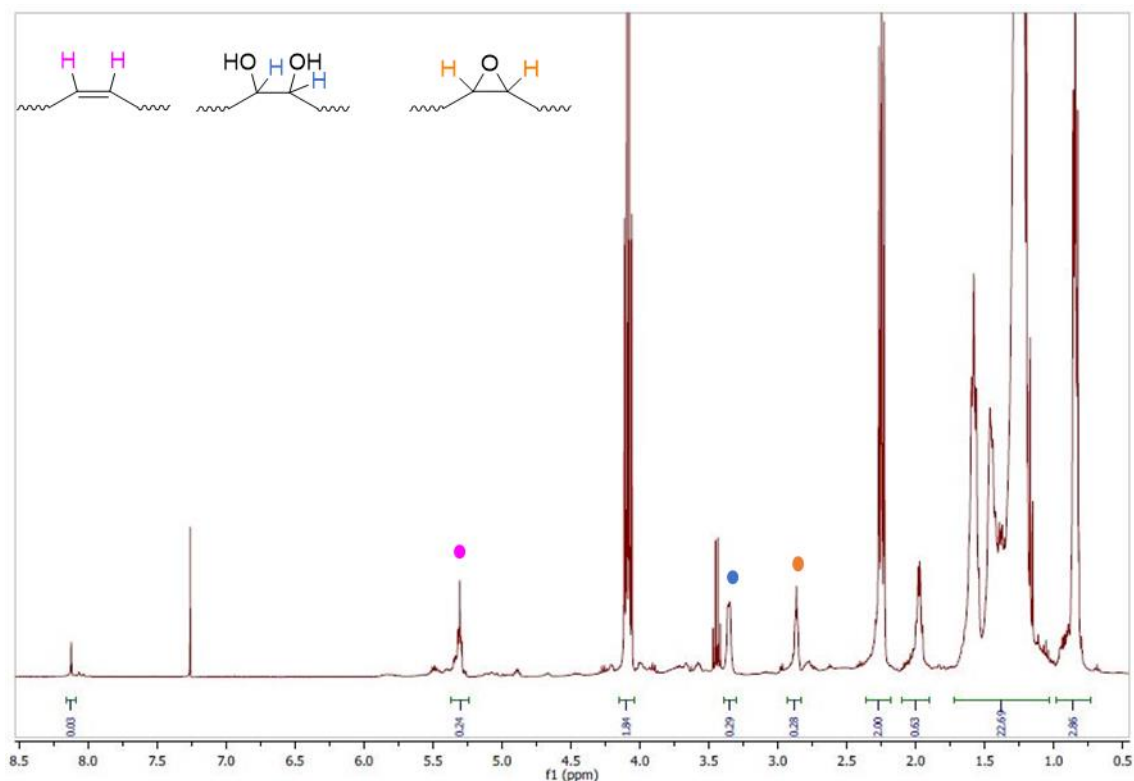


Figura 5.8. Espectro de ^1H -RMN de la reacción de dihidroxilación de la mezcla DF2

Debido a la variedad de productos obtenidos en la reacción de dihidroxilación se decidió no seguir optimizando esta reacción.

3. Conclusiones

En una primera aproximación se preparó la mezcla de epóxidos a partir de la fracción DF2 usando un peroxiácido (*m*CPBA) y se ensayaron dos tipos de apertura. La hidrogenólisis con Pd/C en ácido acético produjo, además de los alcoholes esperados, la formación de acetoxi-compuestos. Debido a que se produce la competencia entre dos reacciones y no fue posible obtener los alcoholes con un 100% de selectividad en esta reacción no se realizaron más pruebas. Por otro lado, la apertura en medio acuoso (THF/H₂O= 3:2) con ácido trifluorometanosulfónico a temperatura ambiente permitió obtener los correspondientes dihidroxiésteres con una conversión del 100%, hasta una escala de 50 g. Los polihidroxiácidos se obtuvieron por hidrólisis del éster con una conversión del 100%.

Por otro lado, se llevó a cabo la reacción de dihidroxilación de la mezcla DF2 con ácido fórmico y peróxido de hidrógeno, pero se obtuvo una mezcla de productos: formiloxihidroxiésteres y polioles. Además, quedaban ésteres de partida sin reaccionar.

CONCLUSIONES



- Es posible llevar a cabo la reacción de transesterificación de DF2 con 2-etil-1-hexanol, 2-hexil-1-decanol, isopropanol, TMP y PEG en condiciones suaves, empleando bases o enzimas como catalizadores.
- La optimización de la **reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol** mostró que los mejores resultados se obtenían con NaOEt, conversión total en 1 hora. Las lipasas promueven la reacción más lenta, pero se pueden recuperar y reutilizar en 5-6 ciclos de reacción. Además, es posible escalar esta reacción hasta 500 g.
- La **reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol** requiere condiciones más severas para obtener conversiones del 100% en 2 horas. Con las lipasas se alcanzan conversiones de 93-96% en 6 horas y es posible recuperar y reutilizar las enzimas durante al menos 9 ciclos de reacción.
- La **reacción de transesterificación con isopropanol** se puede llevar a cabo tanto con KOH como con NaOEt, obteniéndose una conversión >90% en 1 hora, resultado escalable a 100 g utilizando. Las lipasas son menos eficaces en este caso, requiriendo la evaporación de la mezcla isopropanol/etanol para alcanzar conversiones elevadas.
- En la **reacción de transesterificación con trimetilpropano**, catalizada por bases, es posible favorecer la formación de monoésteres o triésteres cambiando las condiciones de reacción, en un proceso a 100 g. De la misma manera es posible optimizar la **reacción de transesterificación con PEG 400** para obtener monoésteres o diésteres.
- La **reacción de hidrólisis** de los ésteres de la mezcla DF2 para obtener los ácidos grasos permite alcanzar elevadas conversiones, escalables de 100 g en el caso de hidrólisis química y a 400 g en la hidrólisis enzimática, más favorable desde el punto de vista medioambiental.
- La **reacción de formiloxilación** de los ésteres grasos de la mezcla DF2 se realizó usando como catalizadores ácido sulfúrico y K10. Sin embargo, no se consiguió la conversión total de los dobles enlaces.
- A partir de los epóxidos de la fracción DF2, preparados con *m*CPBA, se ensayaron dos tipos de apertura. La **hidrogenólisis** con Pd/C requiere el uso de ácido acético como disolvente, lo que produce la competencia de la apertura con acético. La **apertura en medio acuoso** con ácido trifluorometanosulfónico permitió obtener los correspondientes dihidroxiésteres con una conversión del 100%, hasta una escala de 50 g., y los dihidroxiácidos por hidrólisis del éster.

PARTE EXPERIMENTAL



1. Procedimientos generales

1.1. Espectroscopía

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C -APT y HSQC fueron adquiridos en un espectrómetro Bruker AV400 utilizando diferentes disolventes deuterados: CDCl_3 ($\delta = 7,26$ ppm para ^1H y $\delta = 77,16$ ppm para ^{13}C) y CD_3OD ($\delta = 3,31$ ppm para ^1H y $\delta = 49,0$ ppm para ^{13}C). El desplazamiento químico de las diferentes señales está expresado en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en hercios (Hz). Las multiplicidades están asignadas de la siguiente forma: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete y m = multiplete.

Las determinaciones mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) fueron llevadas a cabo en un equipo Agilent 6890N utilizando como fase estacionaria una columna capilar HP5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) cuya fase estacionaria de dimetilpolisiloxano y un detector selectivo de masas Agilent 5973N.

Para medir la absorbancia se utilizaron los espectrofotómetros UV-Visible Helios y de Thermo y 4211/20 de Zuzi. Los análisis por espectrometría de masas se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker Microflex empleando la técnica de ionización MALDI (Desorción/Ionización Láser Asistida por Matriz) utilizando MeOH como disolvente y PEG como matriz.

1.2. Cromatografía

Para la cuantificación de las conversiones de algunas de las reacciones se utilizó como técnica analítica la cromatografía de gases utilizando los equipos Agilent 7890 y Agilent 6890N, equipados con detectores de ionización de llama. Se utilizaron dos columnas: ZB-5HT Inferno (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) cuya fase estacionaria es de dimetilpolisiloxano y ZB-FFAP (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) cuya fase estacionaria es de polietilenglicol modificado con ácido nitrotereftálico. Como gas portador se usó helio.

La conversión aproximada se determinó directamente con la relación de áreas del reactivo y del producto de una reacción. Cuando la reacción se llevó a cabo con la mezcla DF2, la conversión se determinó con la relación de áreas del palmitato de etilo presente en la mezcla DF2 inicial y el derivado de palmítico obtenido en la reacción.

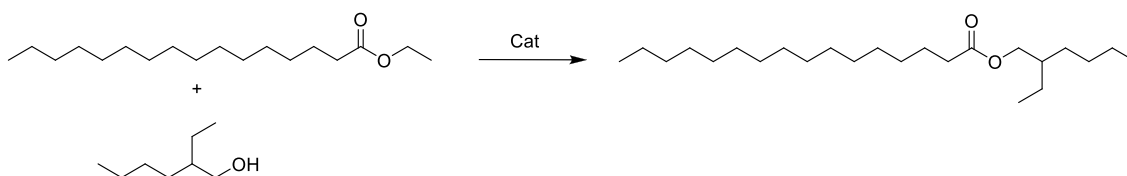
1.3. Otros

Para la preparación de las emulsiones se utilizó un homogeneizador dispersor ULTRA-TURRAX T25 de IKA.

2. Reacciones de transesterificación

2.1. Reacción de transesterificación con 2-etil-1-hexanol

2.1.1. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo



2.1.1.1. Reacción en fase homogénea

Se pesan en un matraz de dos bocas de 50 mL 19,7 mg de KOH (5% mol, 0,35 mmol). A continuación, se añaden 9,16 g de 2-etil-1-hexanol (70,3 mmol) y 2 g de palmitato de etilo (7,03 mmol). La mezcla de reacción se agita a 90°C y a vacío (100 mbar). La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de palmitato (2 horas).

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y luego se añade HCl (35% peso) hasta pH neutro para neutralizar la base. Posteriormente se adicionan 10 mL de CH₂Cl₂ y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL), se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO₄ anhidro y se filtra. El exceso de alcohol y el CH₂Cl₂ se evaporan a vacío. El rendimiento aislado de la reacción después del tratamiento es del 86%.

2.1.1.2. Determinación de los resultados

Las condiciones del cromatógrafo de gases y los tiempos de retención (t_R) de los reactivos (t_R) y del producto son:

Cromatógrafo: Agilent 7890A con detector FID

Columna: ZB-5HT Inferno 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

T^a detector: 250°C

T^a inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 22,8 psi

Programa de temperatura:

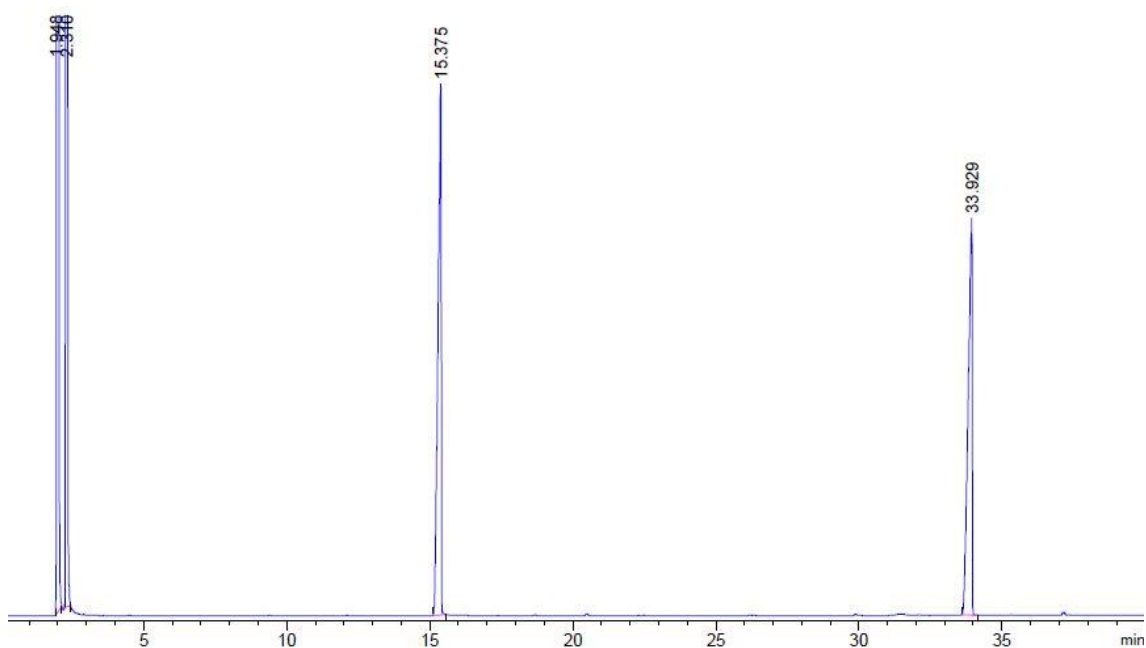
180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (2 min)

Relación de SPLIT 1:30

2-Etil-1-hexanol: t_R = 2,3 min

Palmitato de etilo: t_R = 15,4 min

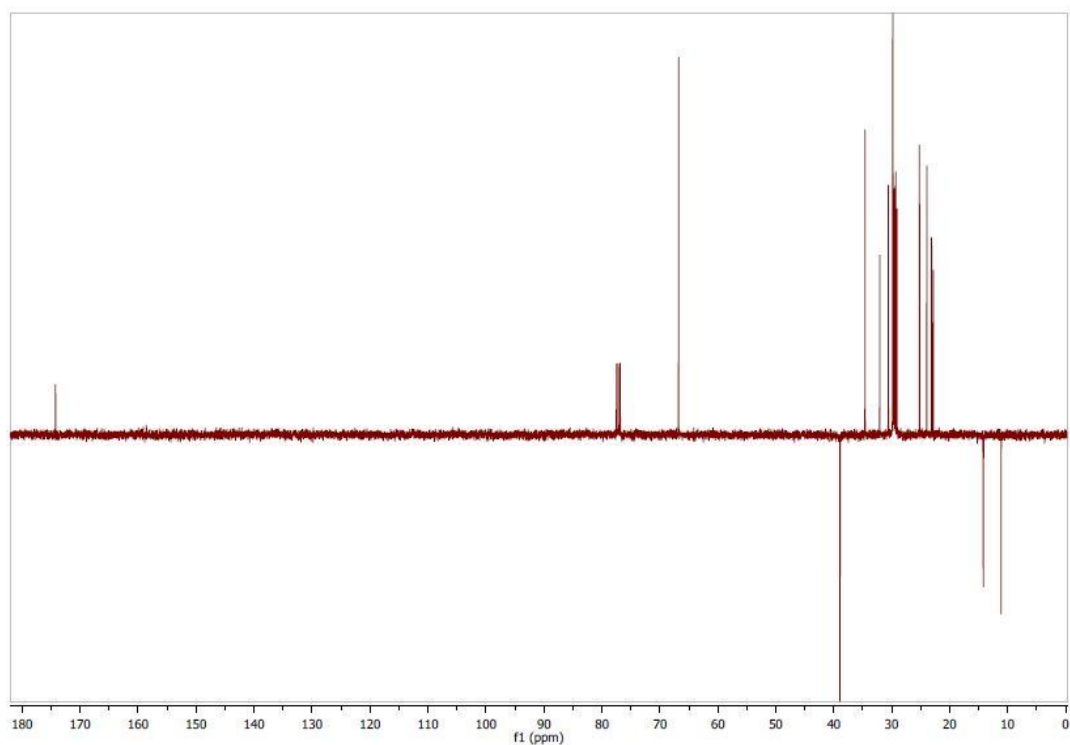
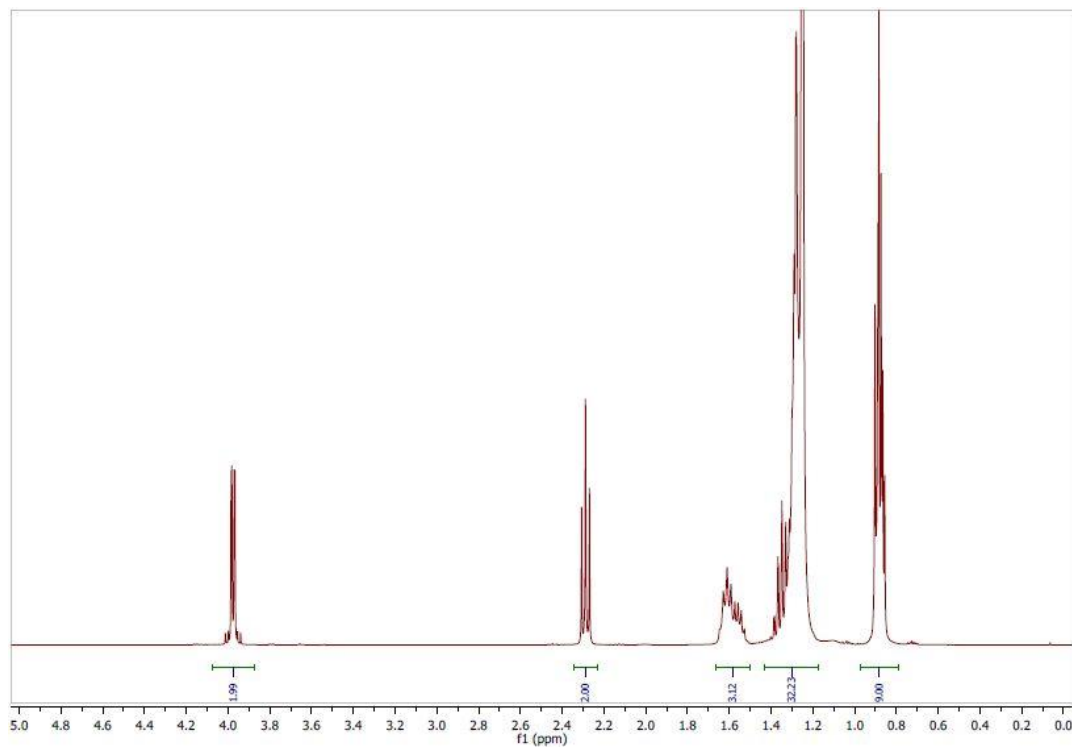
Palmitato de 2-etil-1-hexilo:
 t_R = 33,9 min



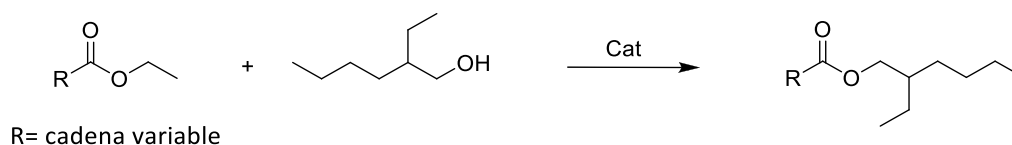
2.1.1.3. Caracterización del palmitato de 2-etil-1-hexilo

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): 3,98 (dd, 2H, $J=5,8$ Hz, $J=1,4$ Hz), 2,29 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 1,66-1,50 (m, 3H), 1,43-1,17 (m, 32H), 0,98-0,79 (m, 9H).

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 100 MHz): 174,2, 66,8, 38,9, 34,6, 32,1, 30,6, 29,85, 29,84, 29,82, 29,80, 29,79, 29,75, 29,6, 29,5, 29,4, 29,3, 29,1, 25,22, 24,0, 23,1, 22,8, 14,25, 14,17, 11,1.



2.1.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2



La mezcla DF2 está constituida por ésteres etílicos de ácidos grasos de cadena media y larga, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Es una corriente residual que se obtiene en la extracción de ésteres grasos omega 3 por ello la composición de dicha mezcla varía en función del proceso del que provenga. Algunos de los compuestos que contiene son los siguientes: miristato de etilo (12-14%), palmitato de etilo (25-31%), palmitoleato de etilo (14-16%), oleato de etilo (8-10%) y eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoato de etilo (4-8%). Para los cálculos de moles, se ha considerado un peso molecular promedio de 296,5 g/mol.

2.1.2.1. Reacción en fase homogénea

Se añade a un matraz de dos bocas de 50 mL 0,1 mmol de la base correspondiente (KOH, NaOEt o TBD, 1 mol% respecto a la mezcla DF2). A continuación, se añaden 1,98 g de 2-etil-1-hexanol (15,18 mmol) y 3 g de mezcla DF2 (10,12 mmol). La mezcla de reacción se agita a 90°C y a vacío (10 mbar). La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de la mezcla de ésteres (2 horas).

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y luego se añade HCl (35% peso) hasta pH neutro para neutralizar la base. Posteriormente se adicionan 10 mL de CH₂Cl₂ y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO₄ anhidro y se filtra. El exceso de alcohol y el CH₂Cl₂ se evaporan a vacío. El rendimiento aislado de la reacción después del tratamiento es del 85%.

Al escalar la reacción usando 500 g de mezcla DF2, el porcentaje de base necesaria aumenta hasta un 15% (en mol) manteniéndose igual el resto de las condiciones de reacción y de tratamiento posterior. El rendimiento aislado de la reacción con KOH es del 81%.

2.1.2.2. Reacción con enzimas soportadas

Se han utilizado dos lipasas de *Candida antártica* comerciales: Novozym 435 inmovilizada en una resina acrílica y CalB immo Plus C-Lecta inmovilizada en estireno-metacrilato. La primera de ellas presenta una actividad de 10000 U/g y la segunda de ellas 9000 U/g. 0,1 mmol de la base correspondiente.

Se introducen 150 mg de las enzimas soportadas Novozym 435 o CalB Immo Plus (5% en peso respecto a DF2) en un matraz de dos bocas de 50 mL. A continuación, se añaden 1,98 g de 2-etil-1-hexanol (15,18 mmol) y 3 g de mezcla DF2 (10,12 mmol). La mezcla de reacción se agita a 150 r.p.m., a 60°C y a vacío (10 mbar). La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de la mezcla de ésteres (4 horas).

Transcurrido el tiempo de reacción se filtra la enzima en una placa porosa y se lava con 15 mL de acetona. A continuación, se evapora el exceso de alcohol y el disolvente a vacío. La enzima se puede recuperar y reutilizar en sucesivos ciclos de reacción secándola previamente antes de su uso. El rendimiento de la reacción es del 90%.

2.1.2.3. Determinación de resultados

Las condiciones del cromatógrafo de gases y los tiempos de retención de cuatro de los componentes de la mezcla, el alcohol y uno de los productos resultantes son:

Cromatógrafo: Agilent 7890A con detector FID

Columna: ZB-5HT Inferno 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

T^a detector: 250°C

T^a inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 24,7 psi

Programa de temperatura:

180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (20 min)

Relación de SPLIT 1:30

2-Etil-1-hexanol: 2,3 min

Miristato de etilo: t_R= 9,3 min

Palmitoleato de etilo:
t_R= 14,5 min

Palmitato de etilo: t_R= 15,2 min

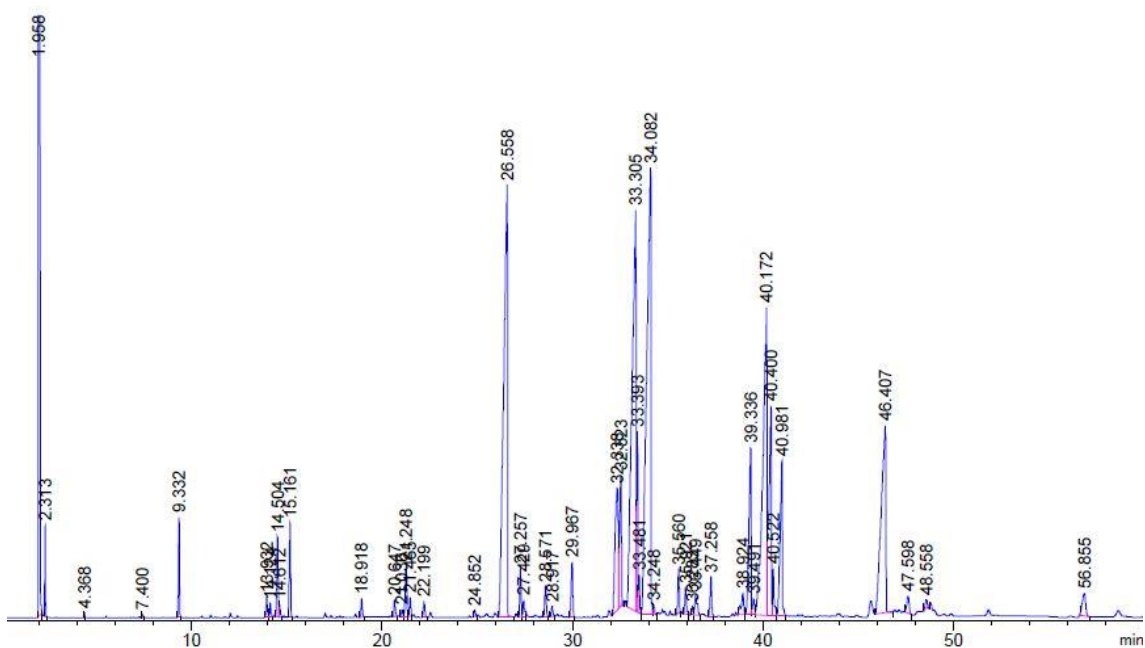
Oleato de etilo: t_R= 21,2 min

Miristato de 2-etil-1-hexilo:
t_R= 26,6 min

Palmitoleato de 2-etil-1-hexilo:
t_R= 33,3 min

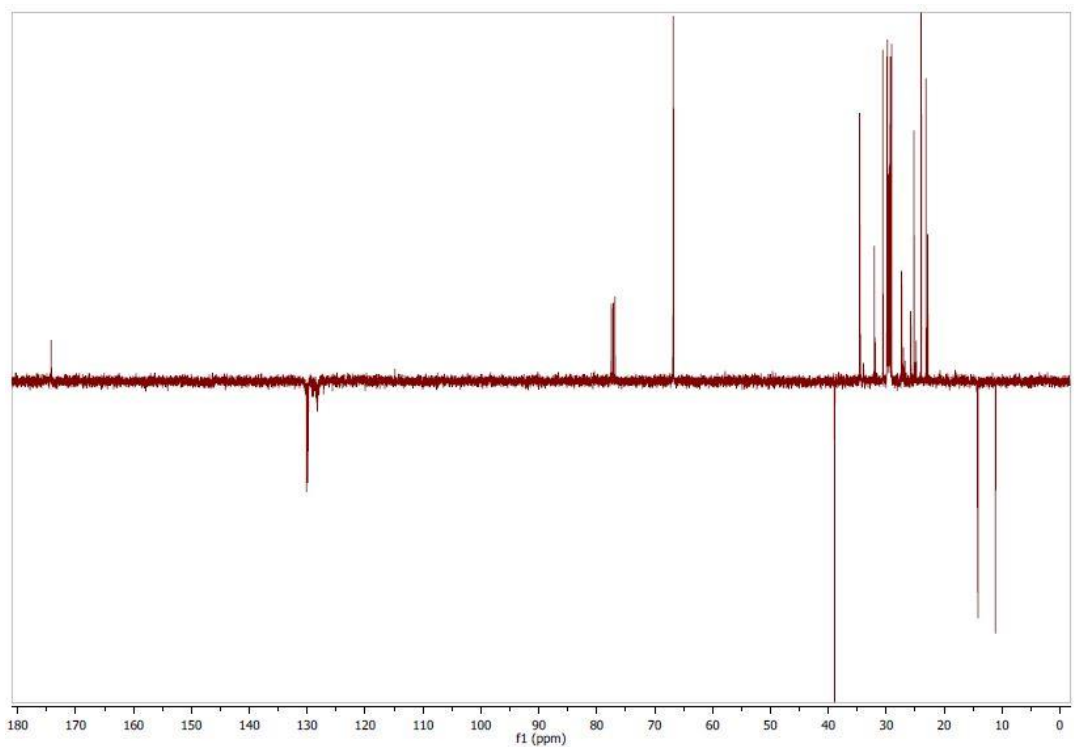
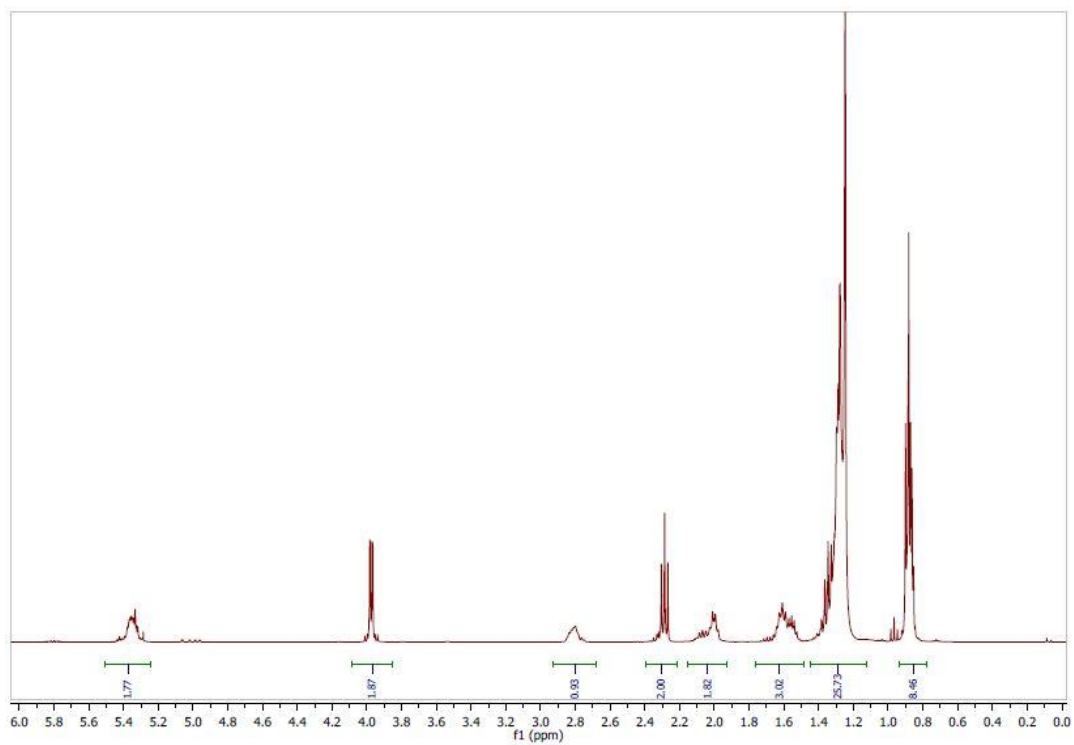
Palmitato de 2-etil-1-hexilo:
t_R= 34,1 min

Oleato de 2-etil-1-hexilo:
t_R= 40,2 min



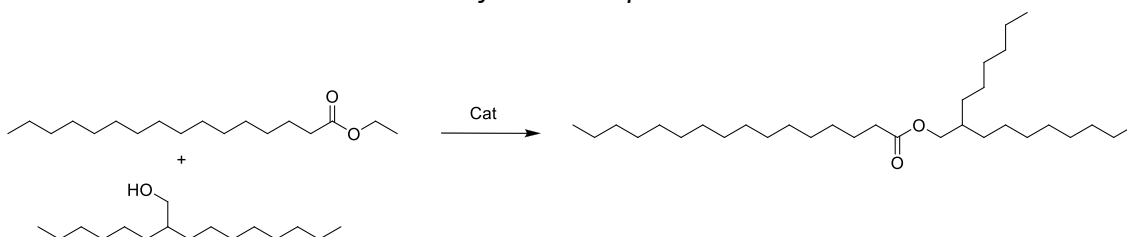
2.1.2.4. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): $-\text{OCH}_2-$ 3,97 (dd, 2H, $J=5,8$ Hz, $J=1,4$ Hz), $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}-$ 2,31 (t, 2H, $J=7,5$ Hz).



2.2. Reacción de transesterificación con 2-hexil-1-decanol

2.2.1. Reacción de transesterificación de palmitato de etilo



2.2.1.1. Reacción en fase homogénea

El procedimiento es el mismo que el explicado en el apartado 2.1.1.1 pero utilizando como base KOH. Una vez la reacción ha terminado, para eliminar el exceso de 2-hexil-1-decanol, el crudo se filtra por sílice y se lava con hexano. El rendimiento aislado de la reacción es del 75%.

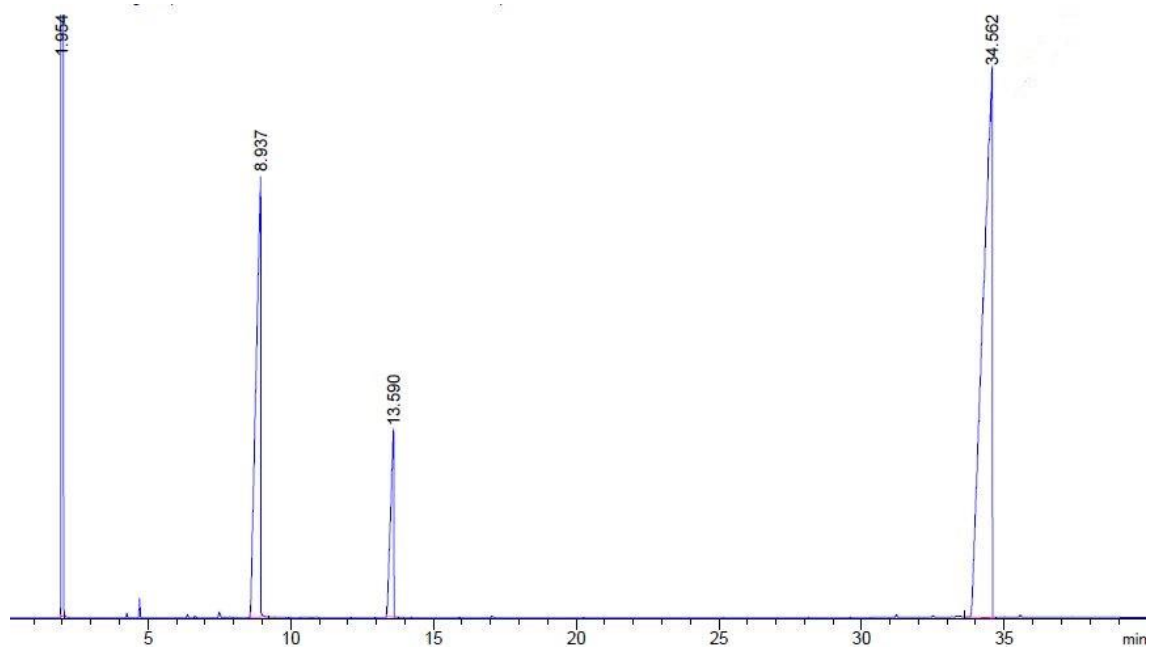
2.2.1.2. Determinación de resultados

Las condiciones del cromatógrafo de gases y los tiempos de retención de los reactivos y del producto son:

Cromatógrafo: Agilent 7890A con detector FID
 Columna: ZB-5HT Inferno 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m
 T^a detector: 250°C
 T^a inyector: 280°C
 Gas portador: helio
 P de cabeza= 24,7 psi
 Programa de temperatura:
 180°C (5 min) – 2°C/min – 200°C (0 min)
 – 5°C/min – 300°C (20 min)
 Relación de SPLIT 1:30

2-Hexil-1-decanol: t_R= 8,9 min
 Palmitato de etilo: t_R= 13,5 min
 Palmitato de 2-hexil-1-decilo:
 t_R= 34,2 min

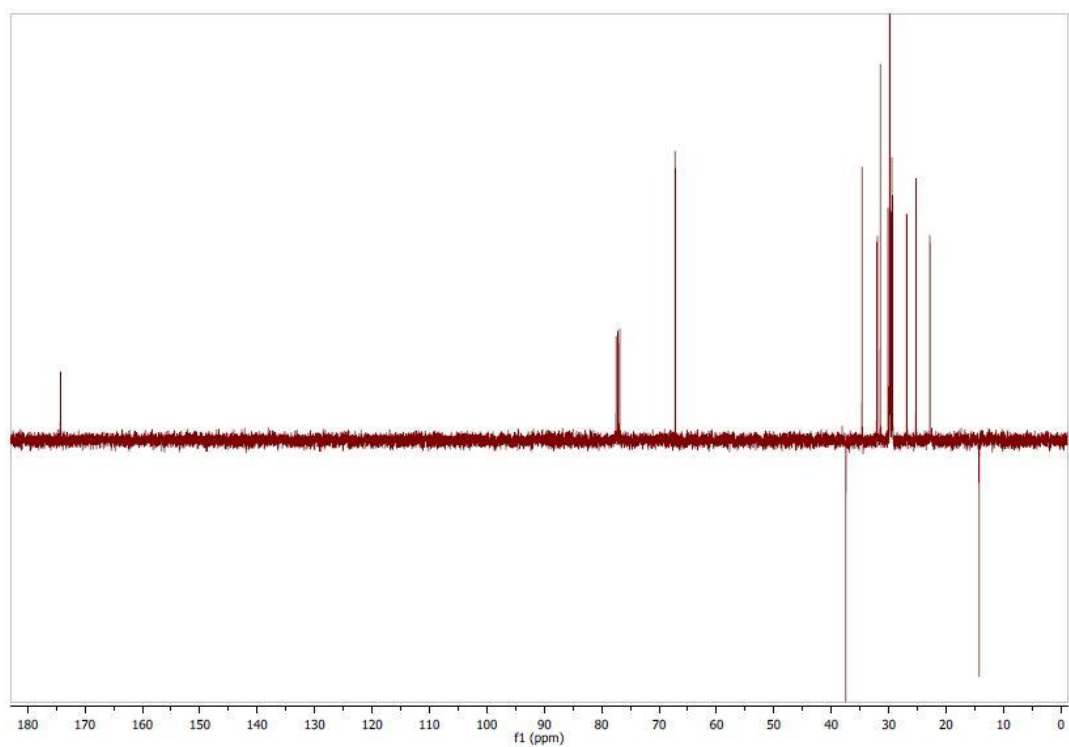
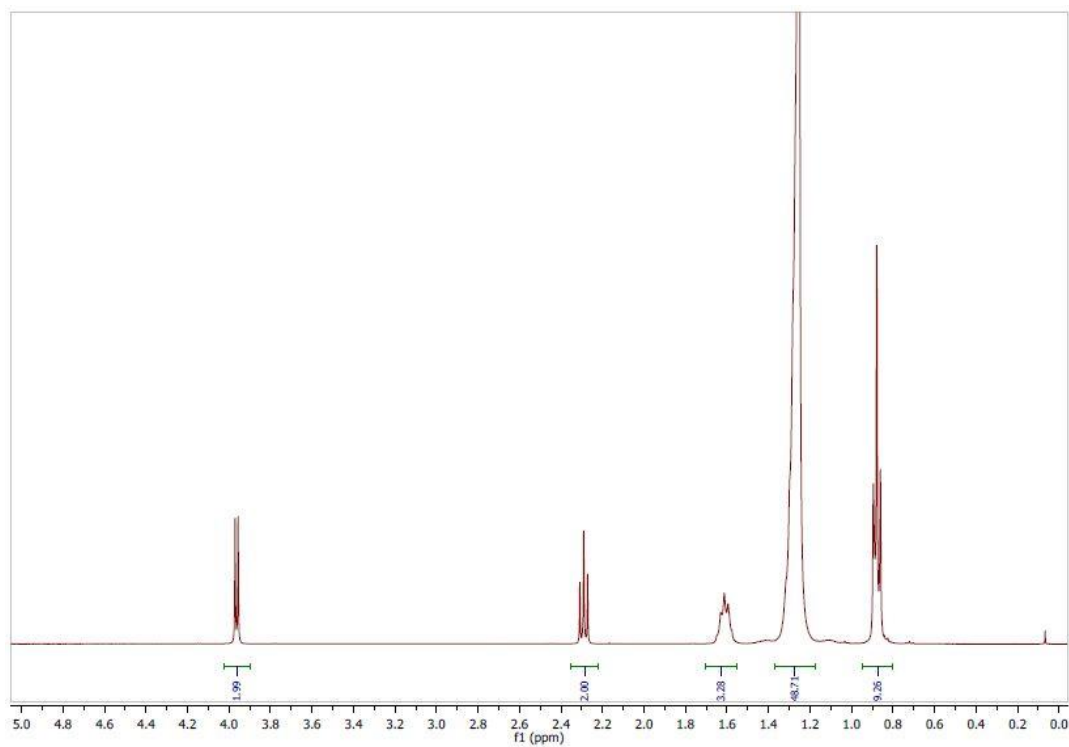
Parte Experimental



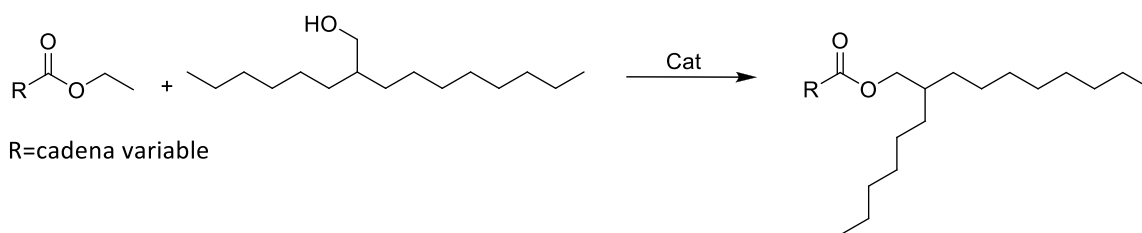
2.2.1.3. Caracterización

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): 3,96 (d, 2H, $J=5,8$ Hz), 2,29 (t, 2H, $J=7,5$ Hz), 1,71-1,55 (m, 3H), 1,38-1,16 (m, 48H), 0,88 (t, 9H, $J=6,7$ Hz).

^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 100 MHz): 174,3, 67,2, 37,5, 34,6, 32,1, 32,06, 31,98, 31,46, 30,12, 29,85, 29,82, 29,78, 29,72, 29,66, 29,52, 29,47, 29,46, 29,35, 26,87, 26,83, 25,2, 22,84, 22,83, 22,81, 14,25, 14,24.



2.2.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2



2.2.2.1. Reacción en fase homogénea

El procedimiento es el mismo que el explicado en el apartado 2.1.2.1 utilizando como base KOH. Sin embargo, si la base empleada es NaOEt, se añade en un 5% (en mol) respecto a la mezcla DF2 y se introduce otra variación: bien se calienta la mezcla de reacción a 120°C o se añaden 5 mL de ^tBuOH como disolvente manteniendo la temperatura a 90°C. Para eliminar el exceso de 2-hexil-1-decanol se filtra por sílice y se lava con hexano. El rendimiento aislado de la reacción con KOH es del 73%, del 75% con NaOEt y del 70% si se usa NaOEt con ^tBuOH.

2.2.2.2. Reacción con enzimas soportadas

Se introducen 150 mg de de las enzimas soportadas Novozym 435 o CalB Immo Plus (5% en peso respecto a DF2) a un matraz de dos bocas de 50 mL. A continuación, se añaden 3,7 g de 2-etil-1-hexanol (15,18 mmol) y 3 g de mezcla DF2. La mezcla de reacción se agita a 200 r.p.m., a 60°C y a vacío (10 mbar) durante 6 horas. También se puede emplear una agitación de 150 r.p.m., a 60°C con 5 mL de ^tBuOH como disolvente y a vacío (10 mbar) durante 6 horas obteniendo los mismos resultados en los dos casos. La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de la mezcla de ésteres

Transcurrido el tiempo de reacción se filtra la enzima en una placa porosa y se lava con 15 mL de acetona. A continuación, se filtra el crudo por sílice y se lava con hexano para eliminar el alcohol. La enzima se puede recuperar y reutilizar en sucesivos ciclos de reacción secándola previamente antes de su uso. El rendimiento aislado de la reacción es del 77%.

2.2.2.3. Determinación de resultados

Las condiciones del cromatógrafo de gases y los tiempos de retención de cuatro de los componentes de la mezcla, el alcohol y uno de los productos resultantes son:

Cromatógrafo: Agilent 7890A con detector FID

Columna: ZB-5HT Inferno 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

T^a detector: 250°C

T^a inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 24,7 psi

Programa de temperatura:

180°C (5 min) – 2°C/min – 200°C (0 min)

– 5°C/min – 300°C (00 min)

Relación de SPLIT 1:30

2-Hexil-1-decanol: 8,9 min

Miristato de etilo: t_R= 7,5min

Palmitoleato de etilo:
t_R= 12,9 min

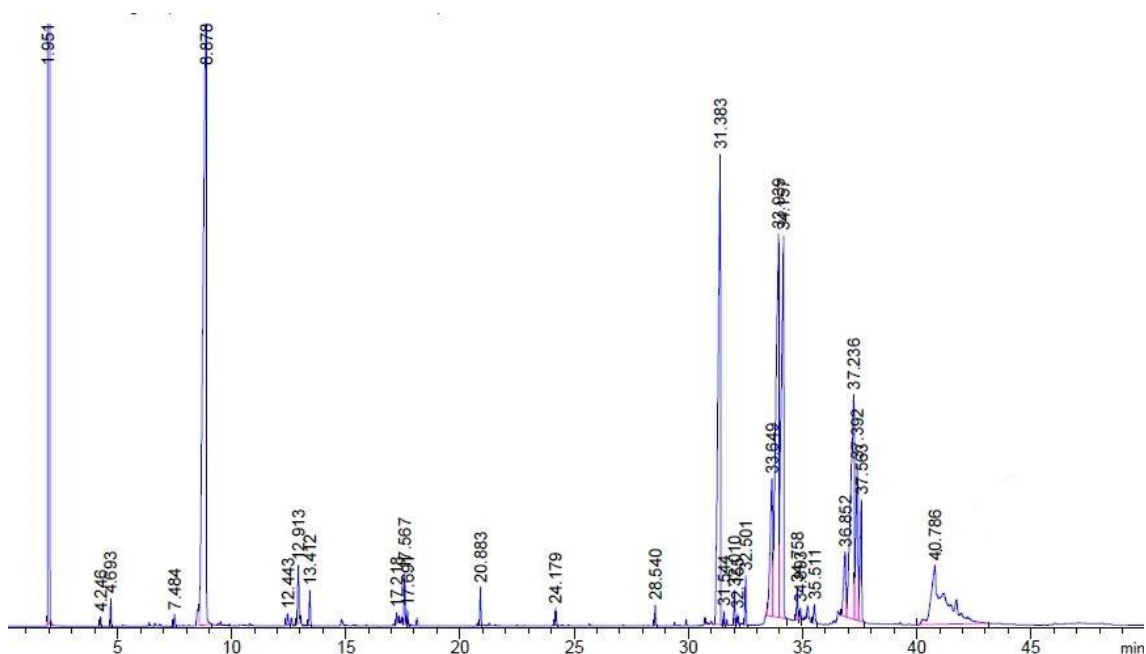
Palmitato de etilo: t_R= 13,4 min

Oleato de etilo: t_R= 17,7 min

Miristato de 2-hexil-1-decilo:
t_R= 31,4 min

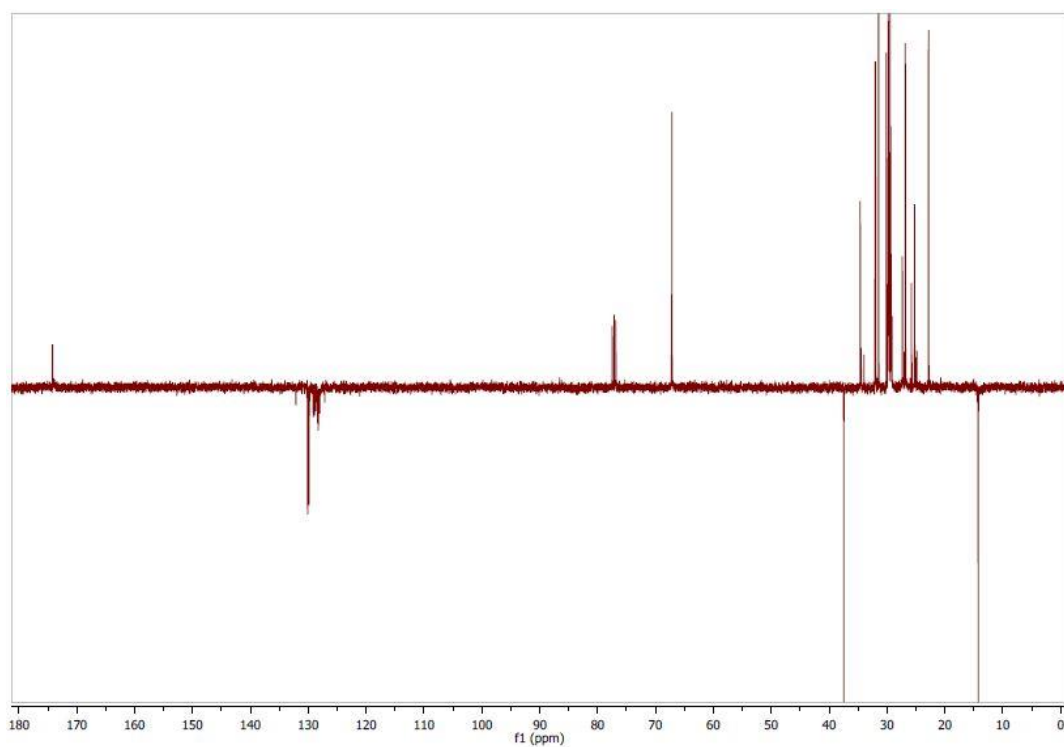
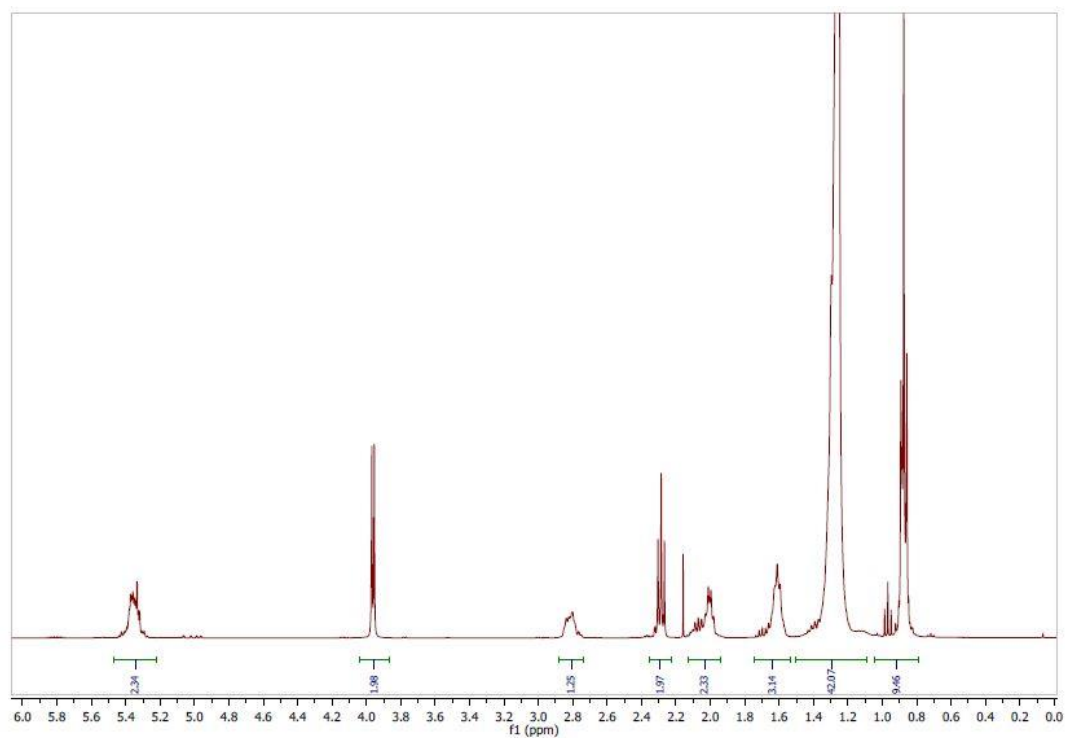
Palmitoleato de 2-hexil-1-decilo:
t_R= 34,0 min

Palmitato de 2-hexil-1-decilo:
t_R= 34,2 min



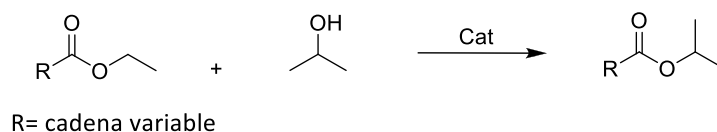
2.2.2.4. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): $-\text{OCH}_2-$ 3,96 (dd, 2H, $J=5,8$ Hz, $J=1,4$ Hz), $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}-$ 2,29 (t, 2H, $J=7,5$ Hz).



2.3. Reacción de transesterificación con isopropanol

2.3.1. Reacción transesterificación de la mezcla DF2



2.3.1.1. Reacción en fase homogénea

En un matraz de 100 mL se pesan 3 g de mezcla DF2 (10,12 mmol), 34,4 mg de NaOEt (0,5 mmol, 5 mol %) y se disuelve todo con 38,5 mL de isopropanol (0,5 mol). La disolución se calienta a 90°C durante 1 hora. Cuando ha transcurrido este tiempo se evapora la mezcla etanol/isopropanol y se vuelve a añadir la misma cantidad inicial de isopropanol y otros 34,4 mg de base. Este procedimiento se repite en otras dos ocasiones, lo que supone un total de 20 mol% de base. La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de la mezcla de ésteres (4 horas).

Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el isopropanol junto con el etanol y se realiza el tratamiento explicado en el apartado 2.1.2.1. El rendimiento de la reacción es del 88%.

Al escalar la reacción usando 100 g de mezcla DF2, se sigue el mismo procedimiento utilizando un 5 mol% de NaOEt y una relación molar inicial DF2/isopropanol 1:10, con dos adiciones sucesivas de base e isopropanol hasta un total de 15 mol% de base y DF2/isopropanol 1:30. El rendimiento aislado de la reacción es del 90%.

2.3.1.2. Reacción con enzimas soportadas

En un matraz de 100 mL de dos bocas se añaden 150 mg de enzima CalB Immo Plus (5% en peso con respecto a DF2) junto con 3 g de mezcla DF2 y 38,5 mL de isopropanol (relación molar DF2/ isopropanol 1:50). La disolución se agita a 150 r.p.m. y 60°C durante 6 horas. Cuando ha transcurrido este tiempo se evapora la mezcla etanol/isopropanol y se vuelve a añadir la cantidad inicial de isopropanol. Se mantiene la disolución a 60°C hasta las 24 horas de reacción. La reacción se monitoriza mediante cromatografía de gases.

Por último, se filtra la enzima, se lava con 20 mL de acetona y se concentra la disolución a vacío. La reacción transcurre con un 80% de conversión.

2.3.1.3. Determinación de resultados

Las condiciones del cromatógrafo de gases y los tiempos de retención de cuatro de los componentes de la mezcla, el alcohol y uno de los productos resultantes son:

Cromatógrafo: Agilent 6890A con detector FID

Columna: ZB-5HT Inferno 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

Tª detector: 250°C

Tª inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 22,7 psi

Programa de temperatura:

180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (20 min)

Relación de SPLIT 1:30

Isopropanol: t_R = 1,5 min

Miristato de etilo: t_R = 7,8 min

Miristato de isopropilo:
 t_R = 8,6 min

Palmitoleato de etilo:
 t_R = 13,0 min

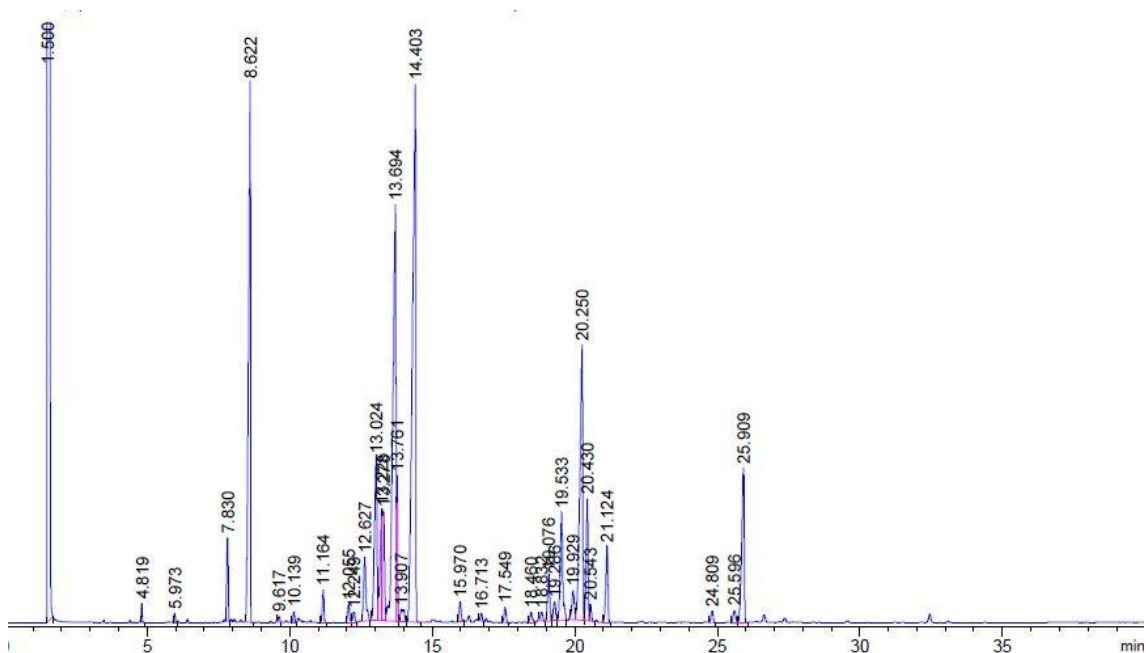
Palmitato de etilo: t_R = 13,2 min

Palmitoleato de isopropilo:
 t_R = 13,7 min

Palmitato de isopropilo:
 t_R = 14,4 min

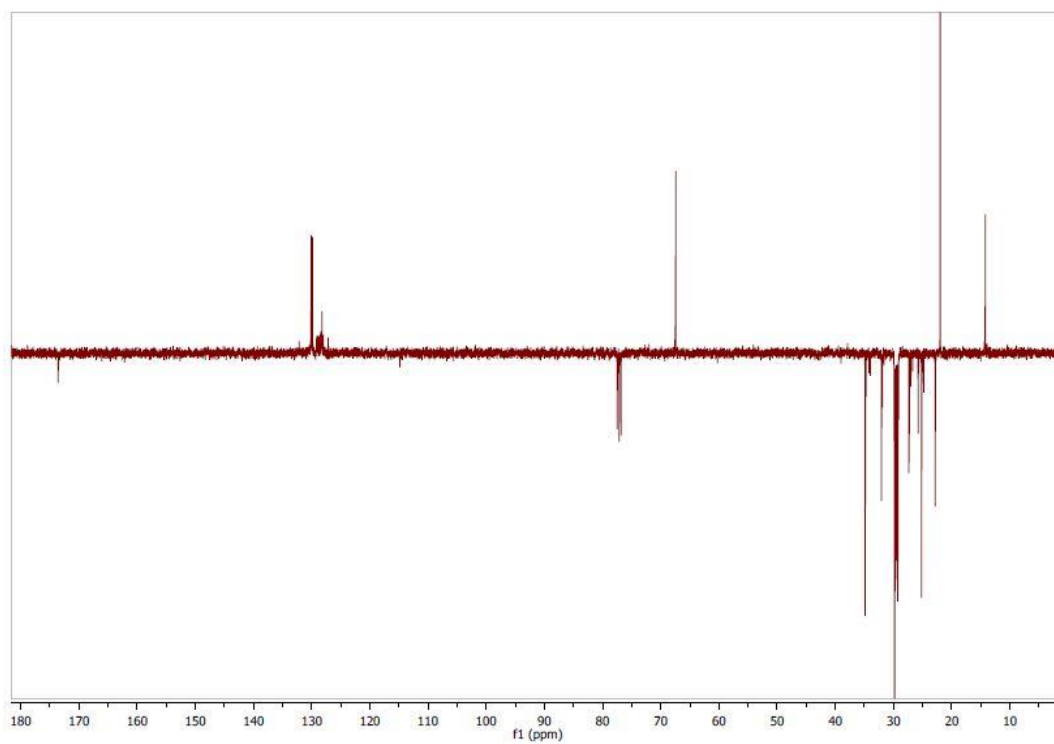
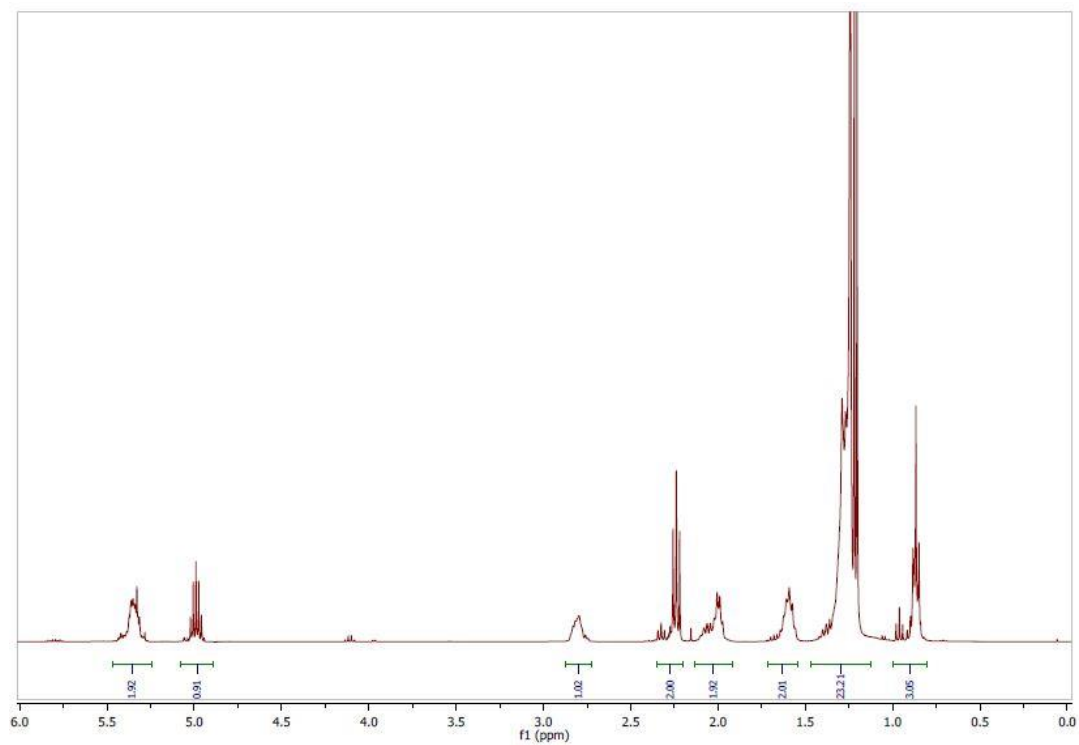
Oleato de etilo: t_R = 19,5 min

Oleato de isopropilo: t_R = 20,2 min



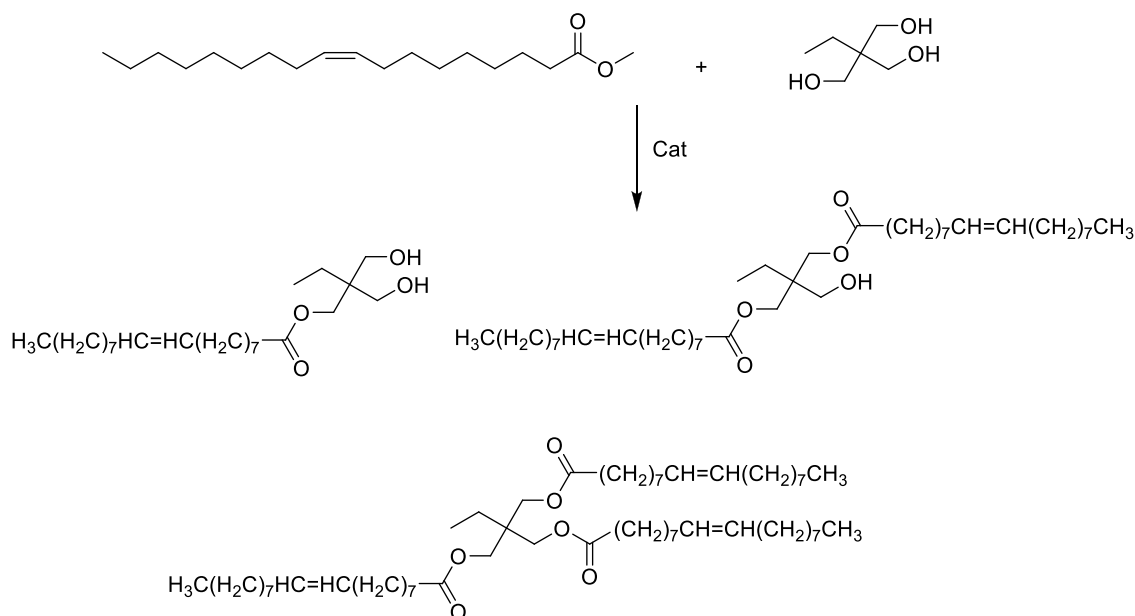
2.3.1.4. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): $-\text{OCH}-$ 4,99 (hep, 1H, $J=6,3$ Hz), $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}-$ 2,35-2,20 (m, 2H).



2.4. Reacción de transesterificación con trimetilolpropano

2.4.1. Reacción de transesterificación de oleato de metilo

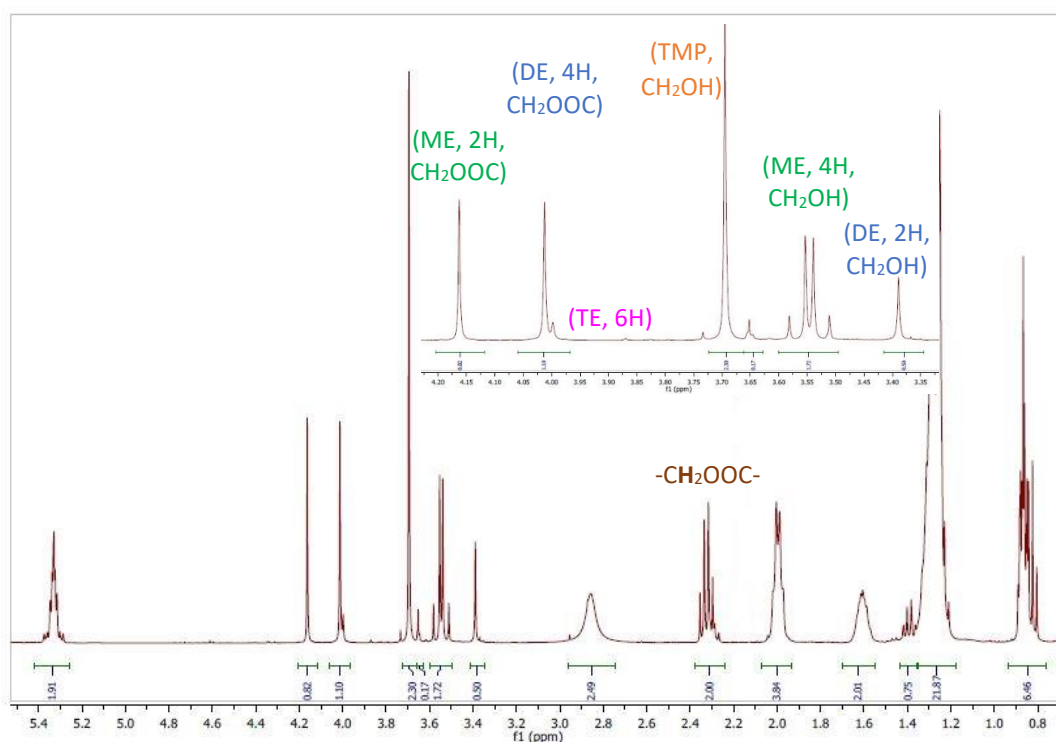


2.4.1.1. Procedimiento experimental

En un matraz de 50 mL se añaden 2 g de oleato de metilo (6,75 mmol), 226,4 mg de trimetilolpropano (TMP) (1,69 mmol) y 100 mg de NaOEt (1,47 mmol, 5% en peso respecto al oleato de metilo). Se agita la mezcla a 140°C y a vacío (1 mbar) durante 6 horas. La reacción se monitoriza mediante $^1\text{H-RMN}$.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y se va añadiendo disolución de HCl (35% peso) hasta pH neutro. Se adicionan seguidamente 10 mL de CH_2Cl_2 , la mezcla se agita y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con más CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO_4 anhidro y se filtran. Se evapora el CH_2Cl_2 a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La mezcla que se obtiene contiene un 6% del diéster y un 94% del triéster. La conversión de la reacción es del 78%.

2.4.1.2. Determinación de resultados



El cálculo de la conversión se realiza mediante ¹H-RMN. Se toma como referencia los 2H del -CH₂- en posición α del carbonilo del oleato de metilo que aparecen a 2,29 ppm asignándoles el valor de 2 y se divide el área de la señal de -CH₃ entre 3. La diferencia del 100% y este valor indica el porcentaje de conversión.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-\text{CH}_3} (\text{oleato de metilo})}{3} \cdot 100 \right]$$

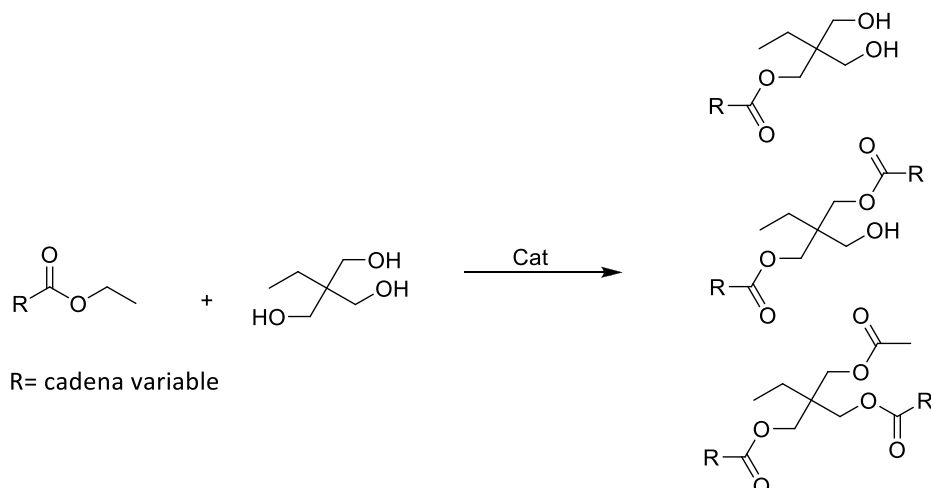
Para calcular la selectividad de cada producto se realiza el cociente del área de la señal correspondiente a los H de un producto entre el número de H a los que corresponde y se divide el valor resultante entre la suma de todos.

$$\% \text{ Monoéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Diéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Triéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

2.4.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2

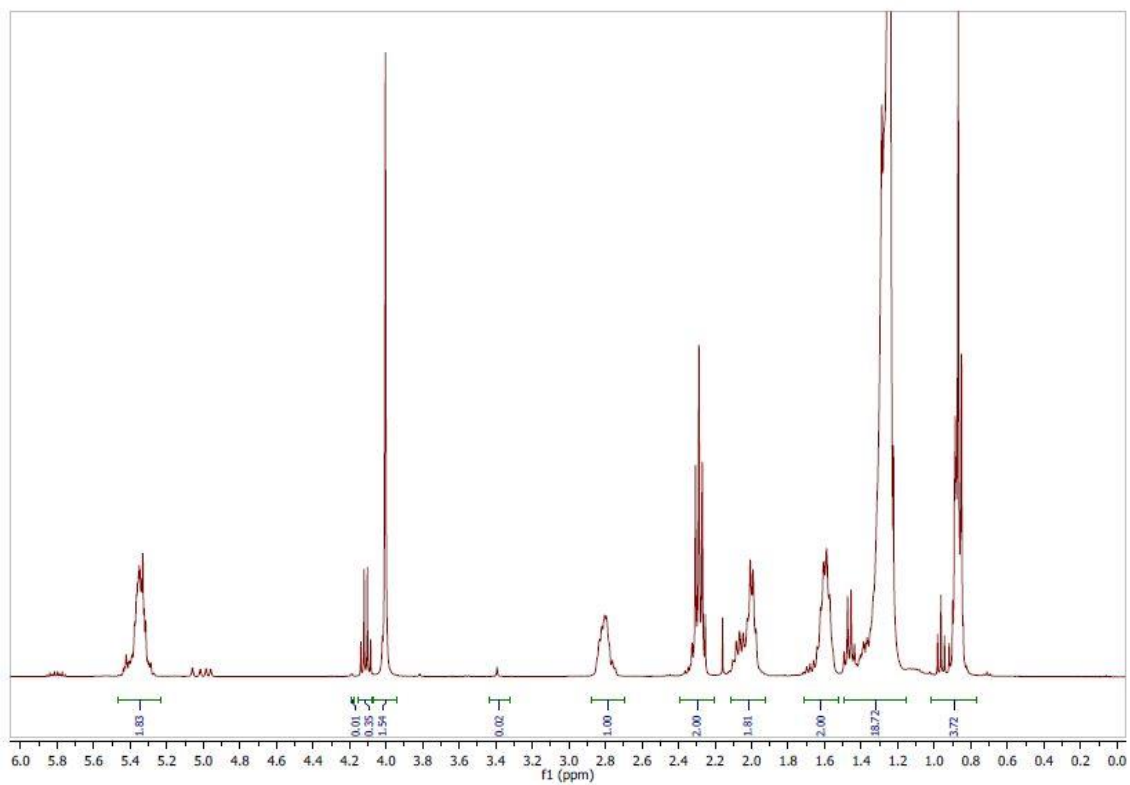


2.4.2.1. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 para la obtención de una mezcla enriquecida en triésteres

En un matraz de 50 mL se añaden 9,90 g de la mezcla DF2 (33,72 mmol), 1,13 g de TMP (8,43 mmol) y 99 mg de NaOEt (1% en peso). Se calienta la mezcla a 100°C y a vacío (1 mbar) durante 3 horas. La reacción se monitoriza mediante ¹H-RMN.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 15 mL de agua y se va añadiendo disolución de HCl (35% peso) hasta pH neutro. Se adicionan seguidamente 15 mL de CH₂Cl₂, la mezcla se agita y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con más CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO₄ anhidro y se filtran. Se evapora el CH₂Cl₂ a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La conversión de la reacción es del 84%. La composición de la mezcla que se obtiene es 2% de monoésteres, 2% de diésteres y 96% de triésteres.

Esta reacción se puede escalar usando las mismas condiciones partiendo de 100 g de mezcla. La conversión es del 82% y la composición de la mezcla que se obtiene es 2% de monoésteres, 4% de diésteres y 94% de triésteres.

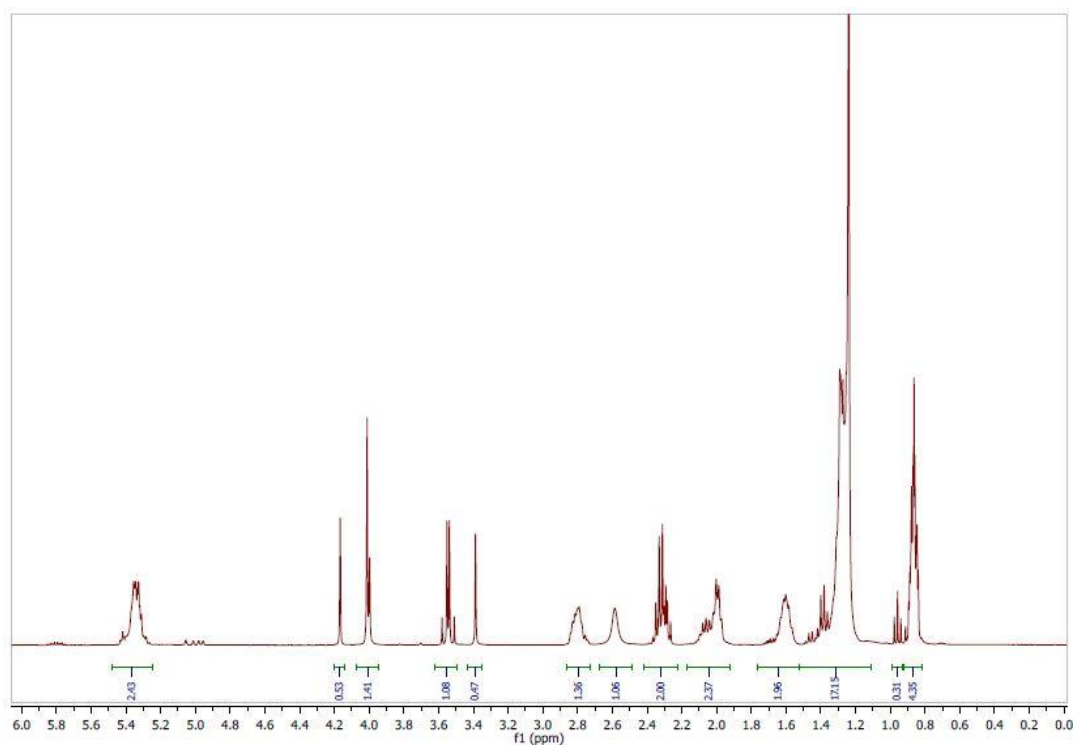


2.4.2.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 para la obtención de una mezcla enriquecida en monoésteres y diésteres

En un matraz de 50 mL se añaden 3,75 g de mezcla DF2 (12,64 mmol), 1,13 g de TMP (8,43 mmol) y 37,5 mg de NaOEt (1% en peso respecto a DF2). Se agita a 140°C y a vacío (1 mbar) durante 6 horas. La reacción se monitoriza mediante ^1H -RMN.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y se va añadiendo disolución de HCl (35% peso) hasta pH neutro. Se adicionan seguidamente 10 mL de CH_2Cl_2 , la mezcla se agita y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con más CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO_4 anhidro y se filtran. Se evapora el CH_2Cl_2 a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La conversión de la reacción es del 100% y el rendimiento aislado del 70%. La composición de la mezcla que se obtiene es 32% de monoésteres, 42% de diésteres y 25% de triésteres.

Esta reacción se puede escalar usando las mismas condiciones partiendo de 100 g de mezcla. La conversión es del 100%, el rendimiento aislado del 75% y la composición de la mezcla que se obtiene es 46% de monoésteres, 41% de diésteres y 13% de triésteres.

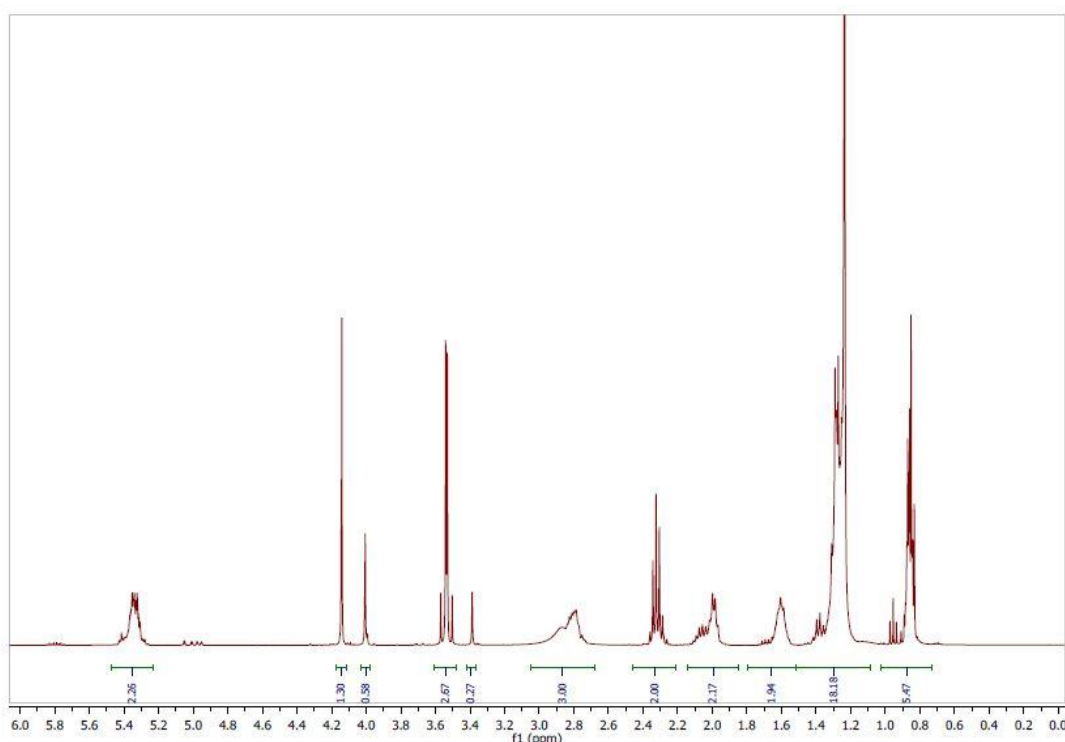


2.4.2.3. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2 para la obtención de una mezcla enriquecida en monoésteres

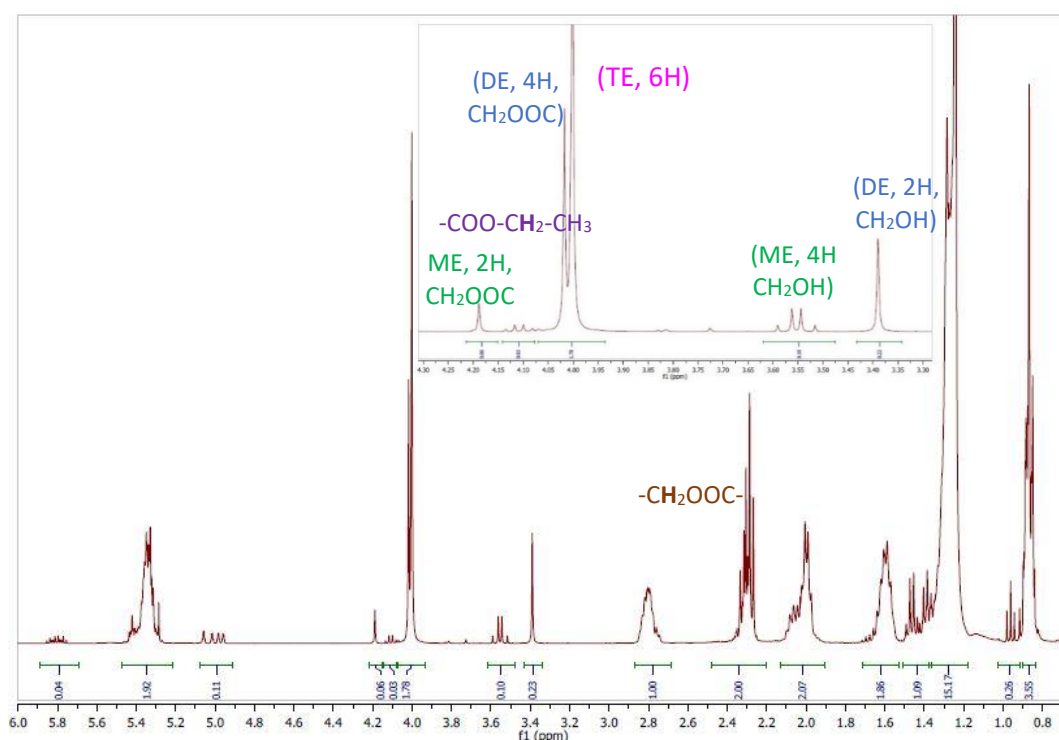
En un matraz de 50 mL se añaden 2,50 g de la mezcla DF2 (8,43 mmol), 2,26 g de TMP (16,86 mmol) y 25 mg de NaOEt (1% en peso respecto a DF2). Se agita a 140°C y a vacío (1 mbar) durante 1 hora. La reacción se monitoriza mediante ^1H -RMN.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y HCl (35% peso) hasta pH neutro para neutralizar la base. Se adicionan 10 mL de CH_2Cl_2 y se separan las fases. La fase orgánica se lava con H_2O (3 x 10 mL) y una vez con 10 mL de disolución saturada de NaCl para eliminar el TMP que haya quedado sin reaccionar. A continuación, se seca la fase orgánica con MgSO_4 anhidro y se filtra. Se evapora el CH_2Cl_2 a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La conversión de la reacción es del 100%. El rendimiento aislado de la reacción es del 78%. La composición de la mezcla que se obtiene es 82% de monoésteres, 16% de diésteres y 1% de triésteres.

Esta reacción se puede escalar usando las mismas condiciones partiendo de 100 g de mezcla. La conversión es del 100%, el rendimiento aislado es del 80% y la composición de la mezcla que se obtiene es 82% de monoésteres, 16% de diésteres y 1% de triésteres.



2.4.2.4. Determinación de resultados



El cálculo de la conversión se realiza teniendo en cuenta los 2H de $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COO-}$ de los ésteres etílicos de la mezcla de ésteres DF2 asignando el valor de 2 a los 2H en α del carbonilo de los ésteres grasos. A continuación, se divide el área de la señal a 4,10 ppm que corresponde a los 2H del éster entre 2 para conocer el porcentaje de DF2 que queda sin reaccionar. Por lo tanto, la conversión es la diferencia entre 100 y lo que queda de mezcla.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-\text{COO}-\text{CH}_2-} (\text{mezcla DF2})}{2} \right] \cdot 100$$

Para calcular la selectividad de cada producto se realiza el cociente del área de la señal correspondiente a los H de un producto entre el número de H a los que corresponde y se divide el valor resultante entre la suma de todos.

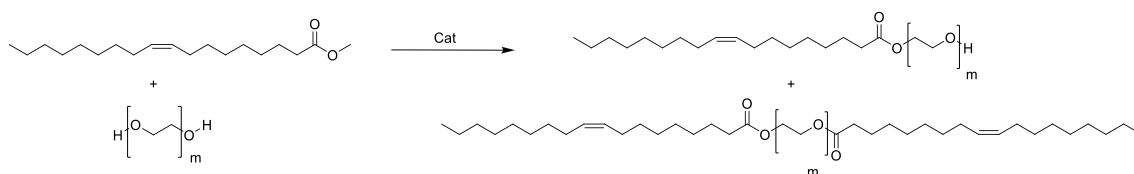
$$\% \text{ Monoéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Diéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Triéster} = \frac{\left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)}{\left(\frac{A_{\text{ME,CH}_2\text{COO}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{DE,CH}_2\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{\text{TE,6H}}}{6} \right)} \cdot 100$$

2.5. Reacción de transesterificación con polietilenglicol (PEG)

2.5.1. Reacción de transesterificación de oleato de metilo

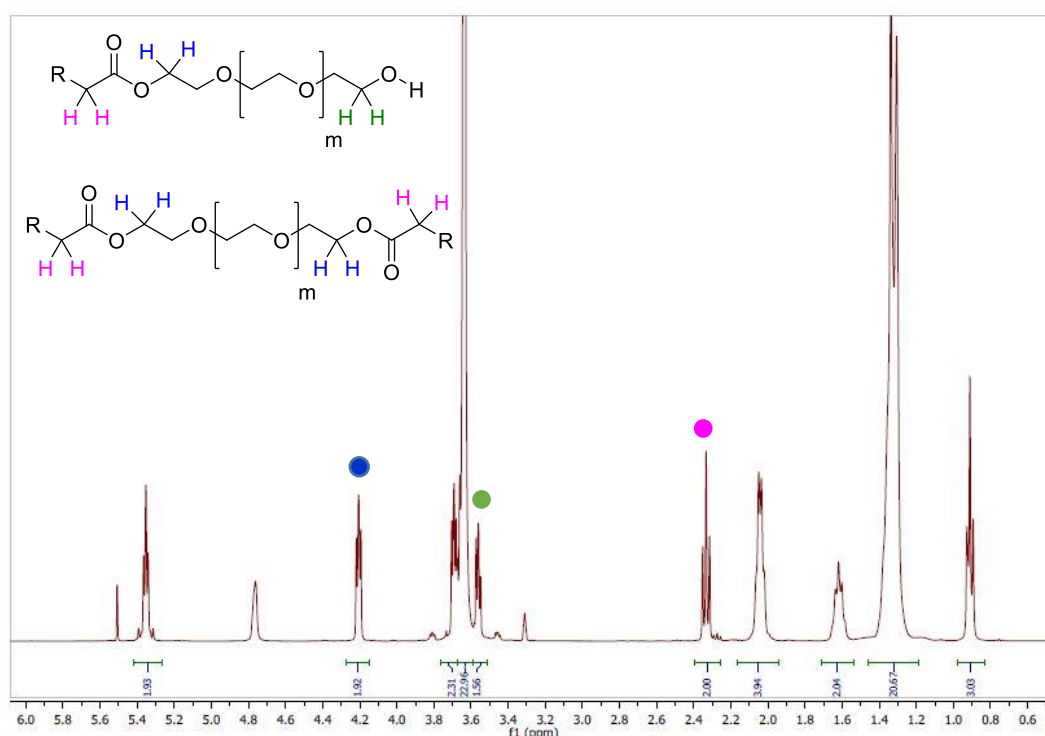


2.5.1.1. Procedimiento experimental

En un matraz de 50 mL se añaden 2 g de oleato de metilo (6,75 mmol), 4,05 g de polietilenglicol 400 (PEG) (10,12 mmol) y 18,9 mg de KOH (0,34 mmol, 5 mol% respecto al oleato de metilo). Se agita a 90°C y a vacío (1 mbar) durante 1 hora. La reacción se monitoriza mediante ^1H -RMN.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y se va añadiendo disolución de HCl (35% peso) hasta pH neutro. Se adicionan seguidamente 10 mL de CH_2Cl_2 , la mezcla se agita y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con más CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO_4 anhidro y se filtran. Se evapora el CH_2Cl_2 a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La conversión de la reacción es del 100%. La mezcla que se obtiene contiene un 68% del monoéster y un 32% del diéster.

2.5.1.2. Determinación de resultados



El cálculo de la conversión de la reacción se realiza mediante $^1\text{H-RMN}$. Para ello se toma como referencia los 2H del $-\text{CH}_2-$ en posición α del carbonilo del oleato de metilo que aparecen a 2,33 ppm asignándoles el valor de 2, se divide el área de la señal de $-\text{CH}_3$ entre 3 por los 3H de $\text{CH}_3\text{-COO-}$ del oleato de metilo y se hace la diferencia entre el 100% y este valor de la siguiente forma:

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{-\text{CH}_3} (\text{oleato de metilo})}{3} \cdot 100 \right]$$

El cálculo de la selectividad de cada producto se realiza de la siguiente forma. En primer lugar, se calcula la diferencia entre el área total de la señal de 4,21 ppm (H de monoéster y diéster) y el área de la señal a 3,56 ppm (H de monoéster) obteniendo el valor de los 4H del diéster.

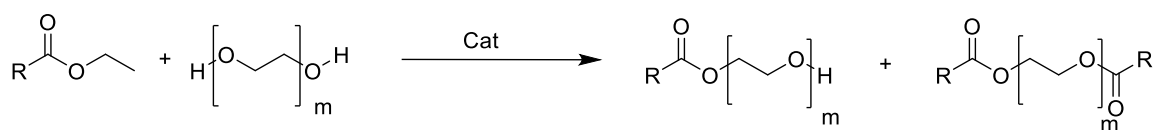
$$A_{-\text{COO}-\text{CH}_2-} (\text{diéster}) = A_{-\text{COO}-\text{CH}_2-} (4,21 \text{ ppm}) - A_{-\text{CH}_2-\text{OH}} (3,56 \text{ ppm})$$

A continuación, para calcular la selectividad de cada producto se realiza el cociente del área de la señal correspondiente a los H de un producto entre el número de H a los que corresponde y se divide el valor resultante entre la suma de los dos.

$$\% \text{ Monoéster} = \frac{\left(\frac{A_{-\text{CH}_2-\text{OH}}}{2} \right)}{\left(\frac{A_{-\text{CH}_2-\text{OH}}}{2} \right) + \left(\frac{A_{-\text{COO}-\text{CH}_2-} (\text{diéster})}{4} \right)} \cdot 100$$

$$\% \text{ Diéster} = 100 - \% \text{ Monoéster}$$

2.5.2. Reacción de transesterificación de la mezcla DF2



R=cadena variable

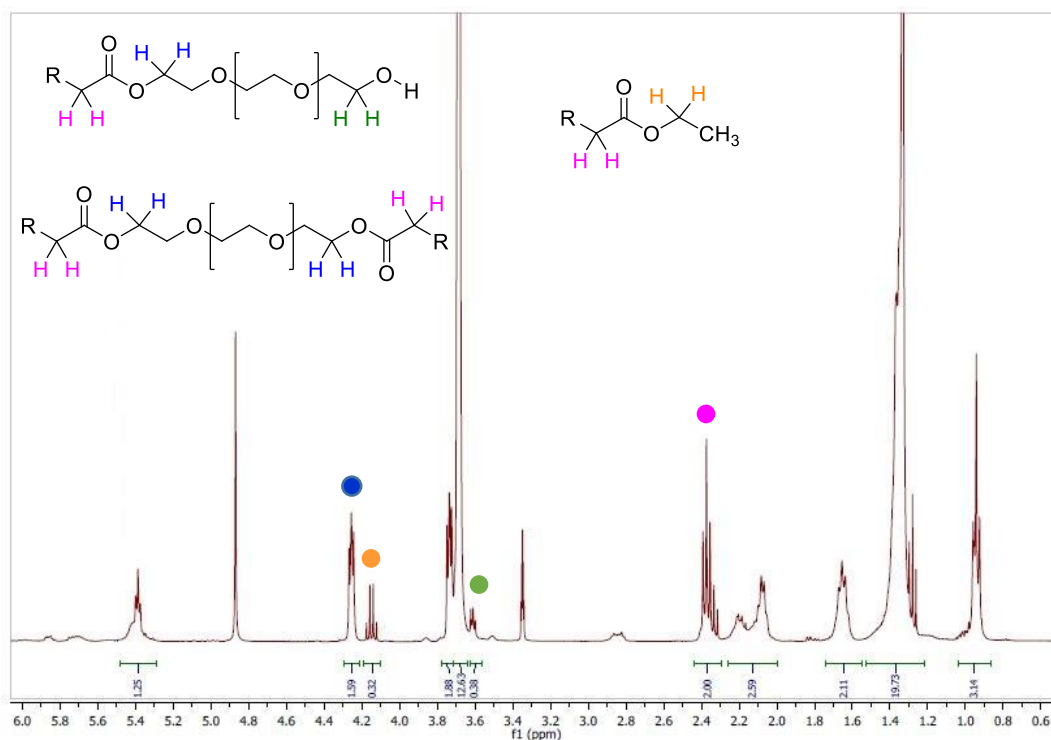
2.5.2.1. Procedimiento experimental

En un matraz de 50 mL se añaden 2 g de mezcla DF2 (6,75 mmol), 1,35 g de polietilenglicol 400 (PEG) (3,37 mmol) y 18,9 mg de KOH (0,34 mmol, 5 mol% respecto a DF2). Se agita a 90°C y a vacío (10 mbar) durante 1 hora. La reacción se monitoriza mediante ¹H-RMN.

Transcurrido el tiempo de reacción se añaden 10 mL de agua y se va añadiendo disolución de HCl (35% peso) hasta pH neutro. Se adicionan seguidamente 10 mL de CH₂Cl₂, la mezcla se agita y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con más CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Se combinan las fases orgánicas, se secan con MgSO₄ anhidro y se filtran. Se evapora el CH₂Cl₂ a vacío. La conversión y las selectividades de los distintos productos se determinan por RMN. La mezcla que se obtiene contiene un 32% del monoéster y un 68% del diéster. La conversión de la reacción es del 90%.

Esta reacción se puede escalar usando las mismas condiciones partiendo de 100 g de mezcla DF2. La conversión es del 96% y la composición de la mezcla que se obtiene es 21% de monoésteres y 79% de diésteres.

2.5.2.2. Determinación de resultados



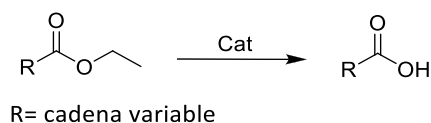
El cálculo de la conversión de la mezcla DF2 se realiza teniendo en cuenta los 2H de $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COO-}$ de los ésteres etílicos de la mezcla. Se asigna como referencia la señal correspondiente a los 2H del $\text{-CH}_2\text{-}$ en posición α del carbonilo de los ésteres (2,38 ppm). A continuación, se divide el área de la señal de los dos 2H ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COO-}$) entre 2 y se realiza la diferencia entre el 100% y este valor de la siguiente forma:

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{\text{-COO-CH}_2\text{-}} (\text{mezcla DF2})}{2} \cdot 100 \right]$$

El cálculo de selectividad se realiza como aparece explicado en el apartado 2.5.1.2.

3. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2

3.1. Reacción de hidrólisis química de la mezcla DF2



En primer lugar, se pesan 10 g de mezcla DF2 (33,7 mmol) en un matraz de 100 mL. A continuación, se añaden 3,12 g de KOH (50,6 mmol) y 3,2 mL de ^tBuOH. Se calienta la disolución a 70°C y se deja agitando a 1200 r.p.m. La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total de la mezcla de ésteres (1 hora).

Una vez transcurrido este tiempo se evapora el disolvente, se añaden 20 mL de agua y se agita hasta la total disolución del crudo. Es conveniente que la mezcla esté caliente para facilitar este proceso porque a temperatura ambiente la mezcla de ácidos solidifica. A continuación se añaden 7 mL de HCl (35% en peso) hasta pH=2. Se separan las dos fases (agua y aceite) en un embudo de decantación y se recoge la fase orgánica. La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro y se filtra en caliente. La determinación de los resultados se hace por cromatografía de gases. El rendimiento aislado es del 71%.

La reacción se puede escalar a 100 g de mezcla DF2 utilizando las mismas condiciones y el mismo procedimiento de reacción. En 2 horas la conversión de la reacción es total y el rendimiento aislado del 90%.

3.2. Reacción de hidrólisis enzimática de la mezcla DF2

Se han utilizado dos lipasas de *Candida antártica* comerciales: Lipozyme 435, inmovilizada en una resina acrílica macroporosa, y CalB, enzima no inmovilizada. La primera de ellas presenta una actividad de 10000 U/g y la segunda de ellas 5000 U/g.

3.2.1. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 con la enzima Lipozyme 435

En un matraz de 25 mL se pesa 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol) y se añaden 1 g de agua (55,49 mmol) y 100 mg de enzima Lipozyme 435 (5% en peso). A continuación, se añaden 10 mL de ^tBuOH, se calienta la disolución a 60°C y se agita a 200 r.p.m. durante 24 horas. La reacción se monitoriza mediante cromatografía de gases.

Transcurrido este tiempo de reacción se evapora el disolvente. Posteriormente se filtra la enzima y se lava con 10 mL de acetona. Por último, se concentra la disolución a vacío. Esta reacción transcurre con un 80% de conversión.

Al aumentar la escala a 400 g el procedimiento de la reacción es el siguiente. En primer lugar, se pesan en un matraz de 2L 400 g de mezcla DF2 y se añaden 400 g de agua. Se calienta la disolución a 60°C bajo atmósfera de nitrógeno y se agita durante 15 minutos hasta que se forme una emulsión. Transcurrido este tiempo se añaden 20 g de enzima y se deja la reacción con borbotado de nitrógeno durante 24 horas. Durante este tiempo se adiciona agua a medida que ésta se va evaporando. Transcurridas 24 horas de reacción se filtra la disolución mediante un embudo buchner a vacío y en caliente. Una vez retirada la enzima, se decanta la disolución en un embudo de decantación y se separan las dos fases (agua y mezcla DF2). Se retira la fase acuosa y la fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro y se filtra en caliente obteniéndose la mezcla de ácidos. La conversión de la reacción es del 96%.

3.2.2. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 con la enzima Cal B

En un matraz de 25 mL se pesa 1 g de mezcla DF2 (3,37 mmol) y 1 g de agua (55,49 mmol). Se añaden 100 mg de CalB (5% en peso) disuelta en 10 mL de ^tBuOH, se calienta la disolución a 60°C y agita a 1000 r.p.m. durante 24 horas. La reacción se monitoriza mediante cromatografía de gases.

Transcurrido este tiempo de reacción se evapora el disolvente. A continuación, se añaden 10 mL de Et₂O y se separan las fases. Se lava la fase acuosa con Et₂O (2 x 10 mL), se retira la fase acuosa que lleva la enzima y la fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro y se filtra. Por último, se concentra la disolución a vacío. La conversión de la reacción es del 87%.

Para llevar a cabo la reacción a escala 400 g se realiza el siguiente procedimiento. En primer lugar, se pesan en un matraz de 2L 400 g de mezcla y se añaden 400 g de agua. Se calienta la disolución a 60°C bajo atmósfera de nitrógeno y se agita durante 15 minutos hasta que se forme una emulsión. Transcurrido este tiempo se añaden 40 g de enzima (5% en peso) y se deja la reacción agitando durante 24 horas. Durante este tiempo se adiciona agua a medida que ésta se va evaporando. Transcurridas las 24 horas de reacción se pasa la disolución a un embudo de decantación y se separan las dos fases en caliente. Se retiran la fase acuosa con la enzima, la fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro y se filtra en caliente. La conversión de la reacción es del 88%.

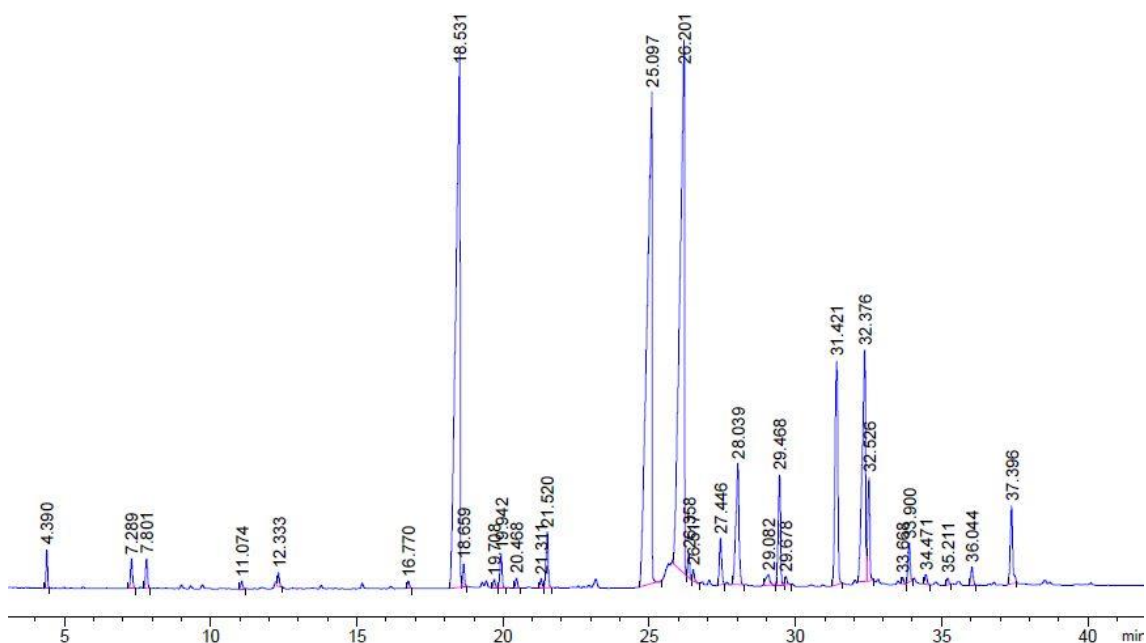
3.3. Determinación de los resultados

3.3.1. Determinación mediante cromatografía de gases

Las condiciones cromatográficas y los tiempos de retención de cuatro de los compuestos de la mezcla y su correspondiente producto son:

Cromatógrafo: Agilent 6890A con detector FID
Columna: ZB-FFAP 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m
T^a detector: 250°C
T^a inyector: 280°C
Gas portador: helio
P de cabeza= 22,7 psi
Programa de temperatura:
180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (5 min)
Relación de SPLIT 1:30

Miristato de etilo: t_R= 4,4 min
Palmitato de etilo: t_R= 7,3 min
Palmitoleato de etilo: t_R= 7,8 min
Oleato de etilo: t_R= 12,3 min
Ácido mirístico: t_R= 18,5 min
Ácido palmítico: t_R= 25,1 min
Ácido palmitoleico: t_R= 26,2 min
Ácido oleico: t_R= 32,4 min



3.3.2. Determinación del índice de acidez

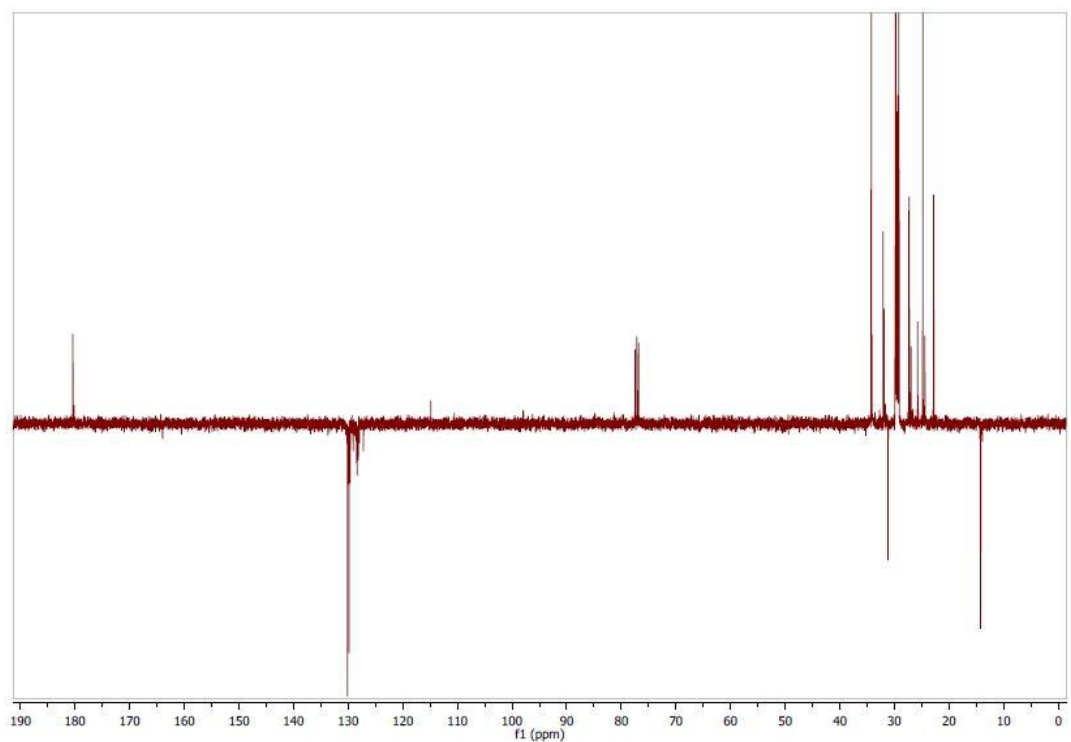
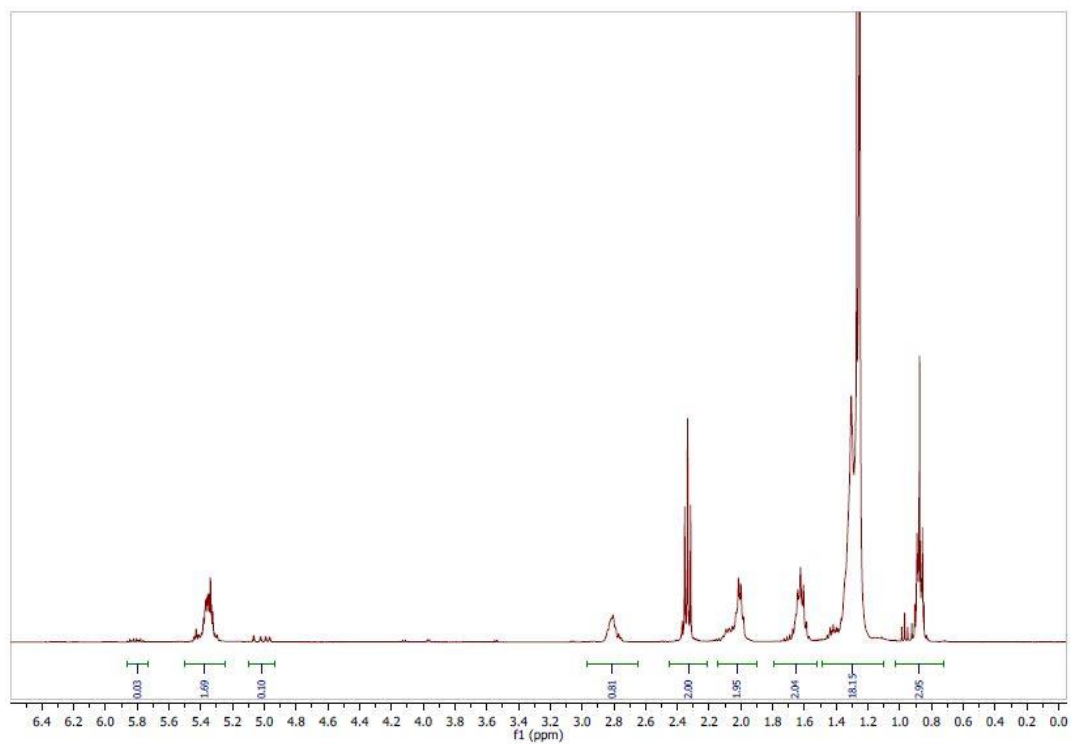
En primer lugar, se preparan 250 mL de una disolución 0,1N de KOH en etanol al 96% y se valora con H₂SO₄ 1N. A continuación, se preparan 400 mL de mezcla EtOH-Et₂O (1:1) a la que se le añaden unas gotas de fenolftaleína al 1% en EtOH y se neutraliza esta última disolución con la disolución de KOH hasta viraje de la fenolftaleína (rosa).

Para determinar el índice de acidez se pesan 0,1 g de muestra, se añaden 50 mL de la disolución EtOH-Et₂O que contiene la fenolftaleína y se agita hasta la total disolución de la muestra. A continuación, se valora la muestra con la disolución de KOH 0,1N hasta que se observe el cambio de color.

El índice de acidez se calcula mediante la siguiente fórmula:

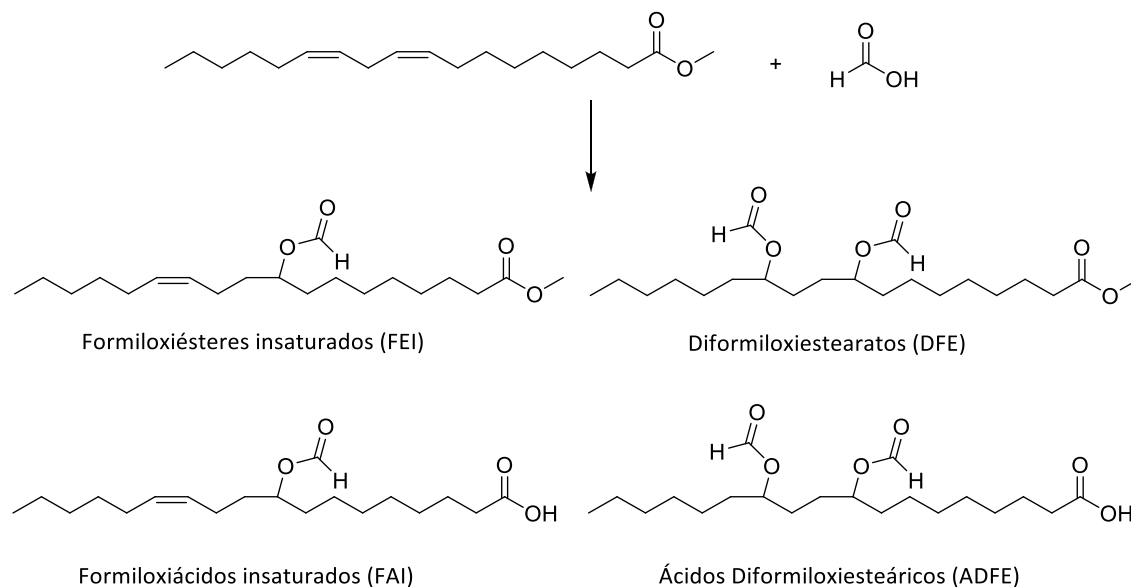
$$\text{Índice de acidez} \left(\frac{\text{mg KOH}}{\text{g}} \right) = \frac{V_{\text{disolución de KOH}} (\text{mL}) \cdot N_{\text{disolución de KOH}} \cdot PM (\text{KOH})}{m \text{ muestra}}$$

3.4. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2



4. Reacción de formiloxilación de dobles enlaces de ésteres grasos

4.1. Reacción de formiloxilación de linoleato de metilo



4.1.1. Reacción en fase homogénea

En un matraz seco de 10 ml se añaden linoleato de metilo (2 mmol, 589 mg) y ácido fórmico al 98% (30 mmol, 1,14 mL). A continuación, se adiciona H₂SO₄ (0,1 mmol, 5,3 µL) como catalizador. La disolución se calienta a reflujo durante 2,5 horas a 100°C bajo atmósfera de argón. La reacción se monitoriza mediante cromatografía de gases.

Transcurrido este tiempo necesario de reacción, se añaden 10 mL de una disolución acuosa de NaHCO₃ y 10 mL de CH₂Cl₂, se separan las fases y se extrae la fase acuosa con más CH₂Cl₂ (3x10 mL). Los extractos orgánicos se combinan y se secan con MgSO₄ anhidro. El disolvente se evapora a vacío. La reacción transcurre con un 95% de conversión. La determinación de resultados se hace por cromatografía de gases.

4.1.2. Reacción en fase heterogénea

Se añaden a un matraz de 10 mL linoleato de metilo (2 mmol, 589 mg) y el ácido fórmico al 98% (30 mmol, 1,14 mL). A continuación, se adicionan 1,69 g de K10 (1 mmol). La suspensión resultante se calienta a reflujo durante 72 horas a 100°C. La reacción se monitoriza mediante cromatografía de gases. Una vez transcurrido este tiempo el catalizador se separa por filtración y posteriormente se lava con CH₂Cl₂. La determinación de resultados se realiza mediante cromatografía de gases.

4.1.3. Determinación de los resultados

Las condiciones cromatográficas y los tiempos de retención del reactivo, los productos y subproductos son:

Cromatógrafo: Agilent 6890A con detector FID

Columna: ZB-FFAP 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

T^a detector: 250°C

T^a inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 22,7 psi

Programa de temperatura:

180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (20 min)

Relación de SPLIT 1:30

Linoleato de metilo: t_R= 12,5 min

Otros: t_R= 16,1-17,8 min

Ácido linoleico: t_R= 32,3 min

Formiloxiésteres insaturados (FEI):

t_R= 26,1-27,6 min

Diformiloxiestearatos (DFE):

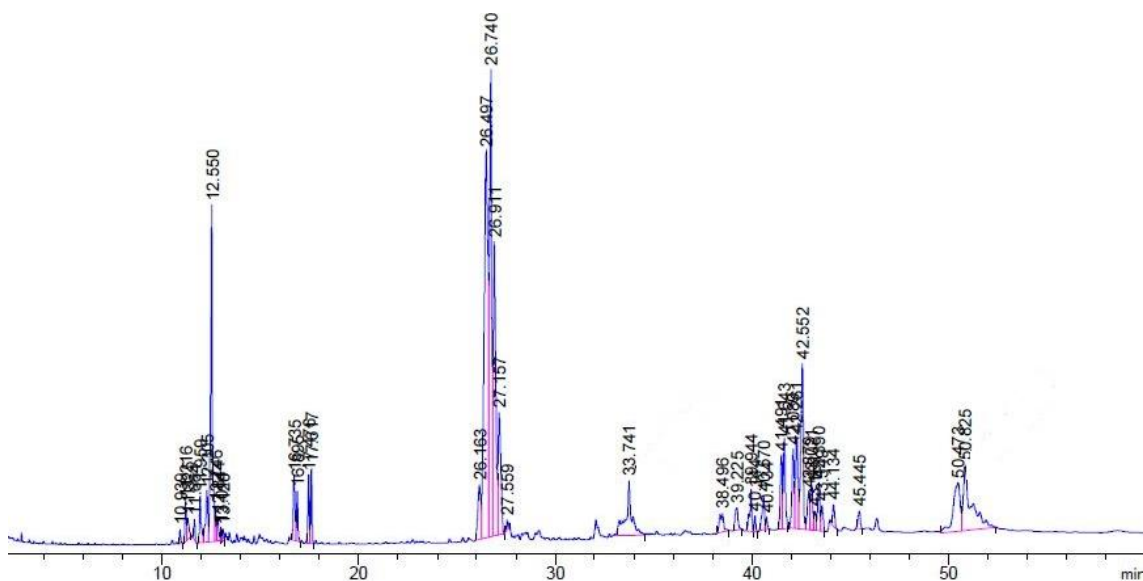
t_R= 40-45,5 min

Formiloxiácidos insaturados (FAI):

t_R= 37-40 min

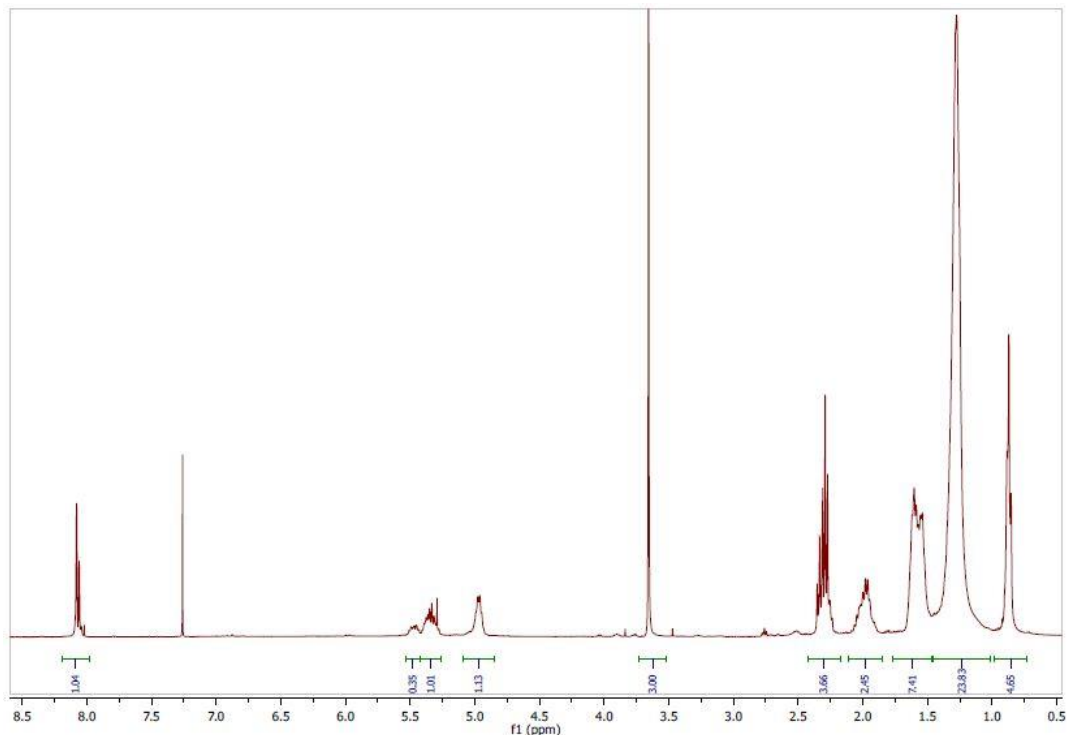
Ácidos Diformiloxiesteáricos

(ADFE): t_R= 50-52 min

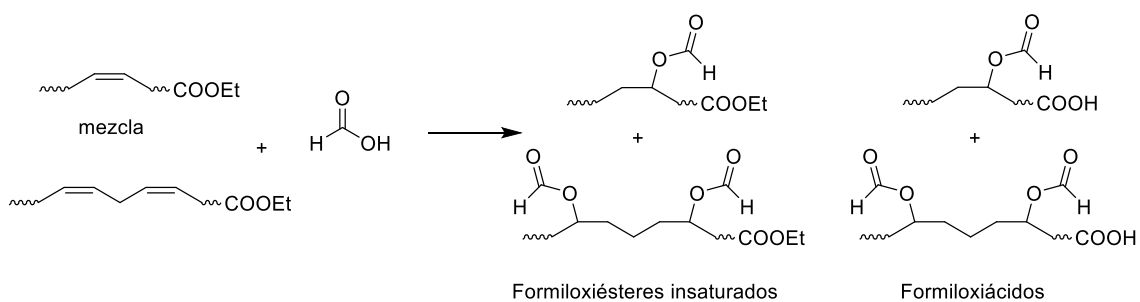


4.1.4. Caracterización del crudo de la reacción de formiloxilación de linoleato de metilo (formiloxioleatos y diformiloxiestearatos)

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): HCOO- 8,19-7,98 (m, 1H), $-\text{HC}=\text{CH}-$ 5,54-5,42 (m, 1H) y 5,42-5,26 (m, 1H), H-C-OOCH 5,09-4,85 (m, 1H), $-\text{CH}_2-\text{CO-}$ 2,43-2,18 (m, 2H).



4.2. Reacción de formiloxilación de la mezcla DF2



4.2.1. Reacción en fase homogénea

Esta reacción se lleva a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 4.1.1 para linoleato de metilo.

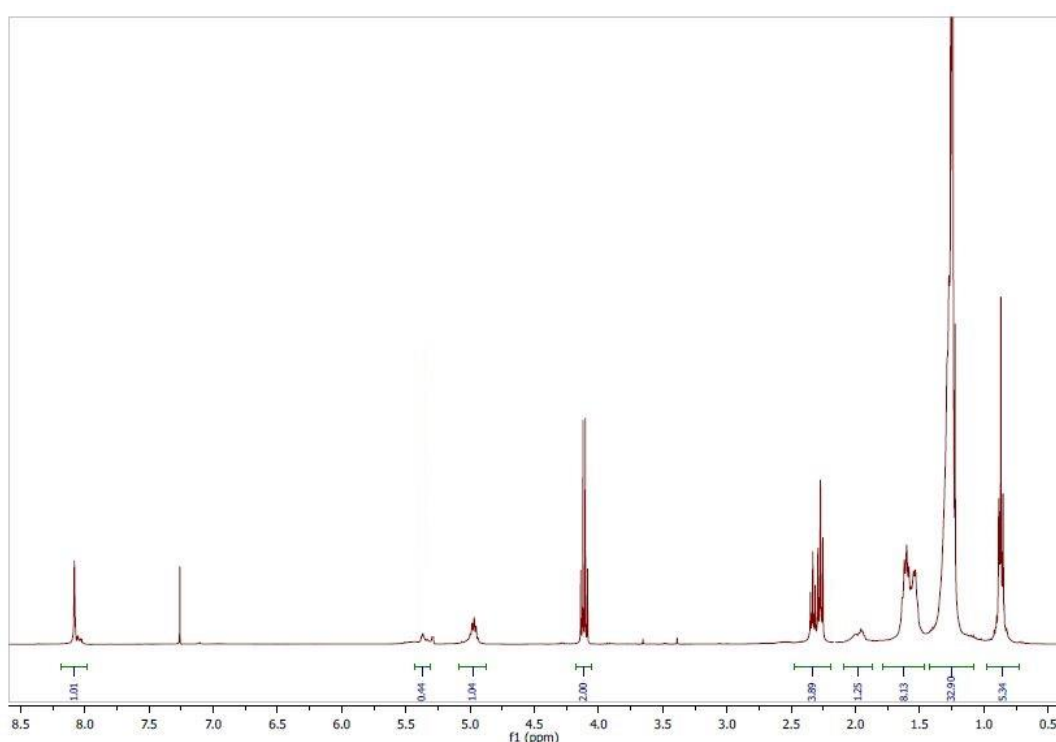
4.2.2. Reacción en fase heterogénea

La reacción de con catalizadores heterogéneos se realiza como aparece explicado en el apartado 4.1.2.

4.2.3. Determinación de los resultados

La conversión se determina por ^1H -RMN teniendo en cuenta la desaparición de la señal correspondiente a los H de los dobles enlaces tomando como referencia la señal del CH_2 en α al carboxilato. Realizando el cociente entre el área de la señal de los H de los dobles enlaces que quedan sin reaccionar (5,37 ppm) y los H de los dobles enlaces iniciales que había en la de la mezcla se conoce el porcentaje de dobles enlaces que queda sin formiloxilar. Por lo tanto, la conversión es la diferencia entre el 100% y éste último valor.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{H \text{ de } C=C \text{ finales}}}{A_{H \text{ de } C=C \text{ iniciales}}} \cdot 100 \right]$$



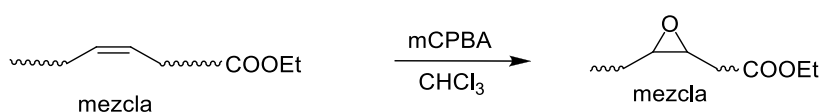
5. Reacción de hidroxilación de la mezcla DF2

La obtención de la mezcla hidroxilada consta de tres etapas:

1. Epoxidación
2. Apertura en medio acuoso de los epóxidos
3. Hidrólisis de los ésteres para obtener los ácidos.

5.1. Reacción de epoxidación de la mezcla DF2

5.1.1. Procedimiento experimental



En un matraz de 25 mL se disuelve ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*CPBA) (1069,9 mg, 6,2 mmol) en 10 mL de CHCl₃ a 0°C. A continuación, se añade lentamente durante 30 minutos la mezcla DF2 (1,48 g, 5 mmol). La disolución se agita a temperatura ambiente. La reacción se monitoriza por cromatografía de gases hasta conversión total (2 horas).

Transcurrido este tiempo de reacción, la disolución se filtra a vacío y se lava con 15 mL de disolución saturada de NaHCO₃. Se recoge la fase orgánica, se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. El rendimiento de la reacción es del 80%.

Cuando la reacción se lleva a cabo escalando hasta 100 g de mezcla DF2 (0,34 mol) es necesario utilizar 87,31 g (0,51 mol) de *m*CPBA disueltos en 200 mL de CHCl₃ a 0°C. La adición de la mezcla DF2 se realiza durante 50 minutos, y la disolución se agita durante 2 horas más a temperatura ambiente. El tratamiento posterior de la reacción es el mismo que el explicado cuando la escala era menor. Esta reacción transcurre con un 100% de conversión y con un 85% de rendimiento.

5.1.2. Determinación de los resultados

Las condiciones cromatográficas y los tiempos de retención de dos de los compuestos de la mezcla y su correspondiente producto son:

Cromatógrafo: Agilent 6890A con detector FID

Columna: ZB-FFAP 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m

T^a detector: 250°C

T^a inyector: 280°C

Gas portador: helio

P de cabeza= 22,7 psi

Programa de temperatura:

180°C (5 min) – 2°C/min – 250°C (5 min)

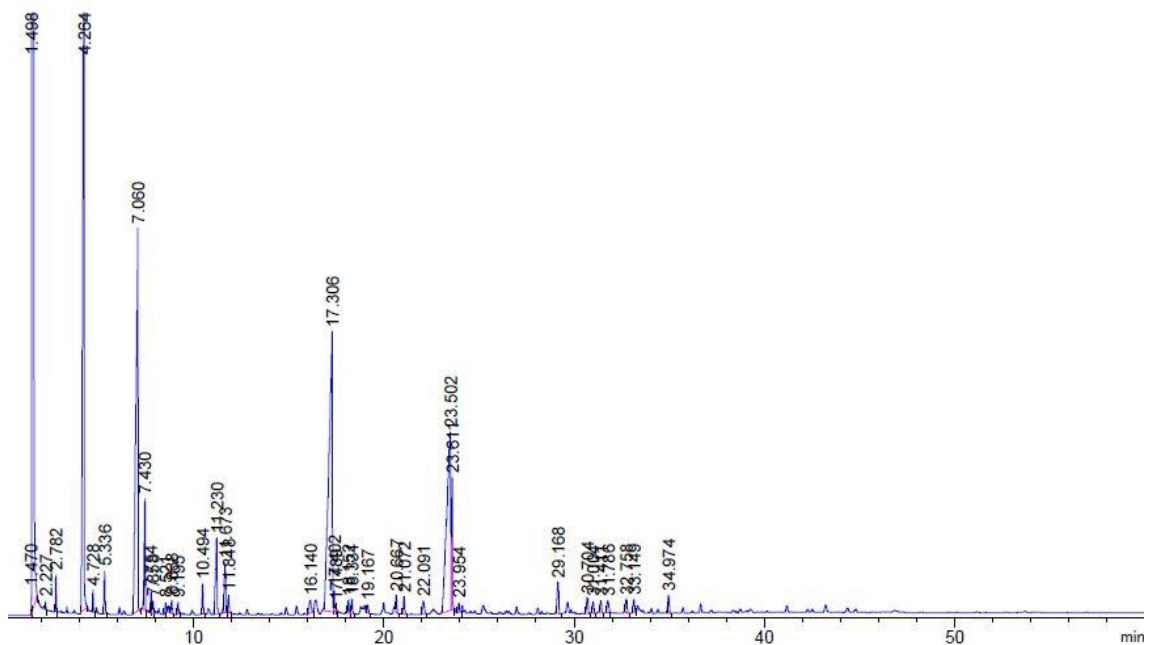
Relación de SPLIT 1:30

Palmitoleato de etilo: t_R= 7,4 min

Oleato de etilo: t_R= 11,2 min

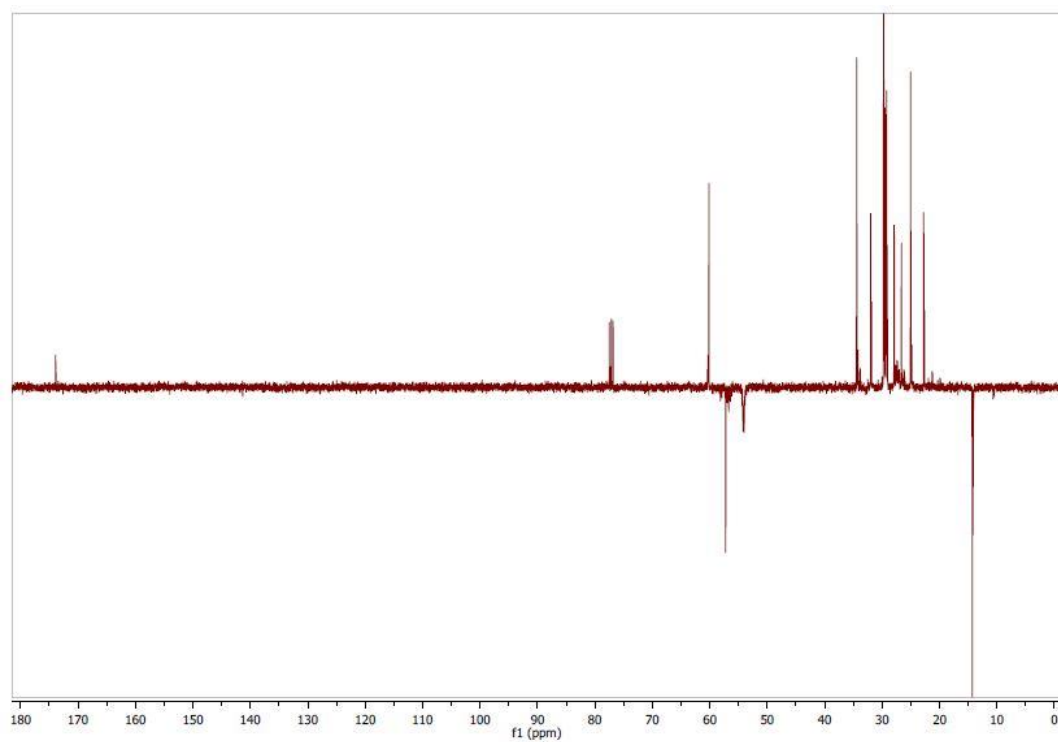
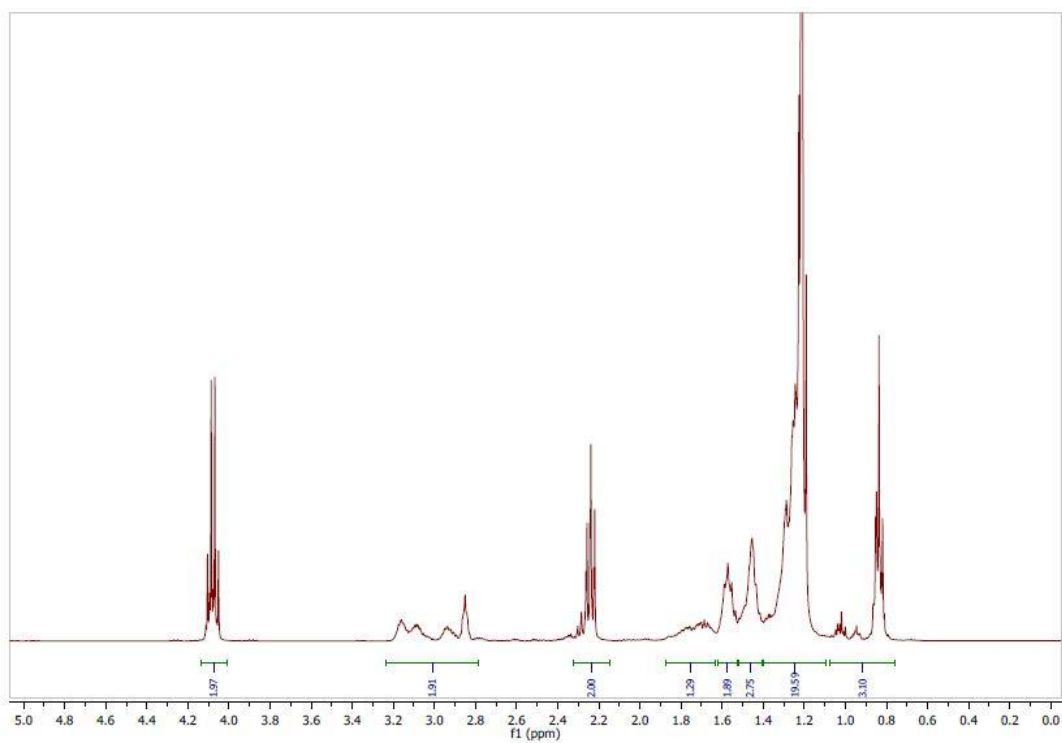
9,10-epoxihexadecanoato de etilo: t_R= 17,3 min

9,10-epoxioctadecanoato de etilo: t_R= 23,5 min



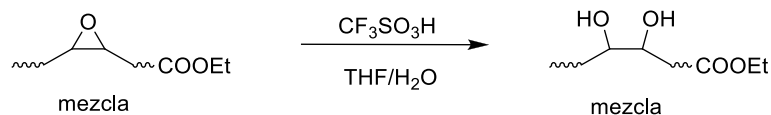
5.1.3. Caracterización de la mezcla de epóxidos

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): $\text{CH}_{\text{oxirano}}$ 2,78-3,23 (m, 2H), $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}-$ 2,24 (t, 2H, $J=7,5$ Hz).



5.2. Reacción de apertura en medio acuoso de los epóxidos de la mezcla DF2

5.2.1. Procedimiento experimental



Se prepara una disolución acuosa de ácido trifluorometansulfónico (10% en peso) a 0°C. En un matraz de 50 mL se agitan 500 mg de epóxidos de la mezcla DF2 (1,6 mmol) junto con 3,5 mL de disolución de ácido trifluorometansulfónico en 25 mL de THF/H₂O (3:2) durante 20 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido este tiempo de reacción, se añaden 20 mL de Et₂O y se separan las fases. La fase orgánica se lava con NaHCO₃ (2 x 20 mL), se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a vacío. Esta reacción transcurre con un 100% de conversión y el rendimiento aislado es del 62%. La determinación de resultados se realiza mediante ¹H-RMN.

Al escalar la reacción a 50 g (0,16 mol) de epóxidos de la mezcla DF2 es necesario emplear: 36,7 mL de ácido triflico (10% en agua) en 330 mL de THF/H₂O (3:2). La disolución se agita a temperatura ambiente. La reacción se monitoriza mediante ¹H-RMN hasta conversión total (3 horas). El rendimiento aislado de la reacción es 69%.

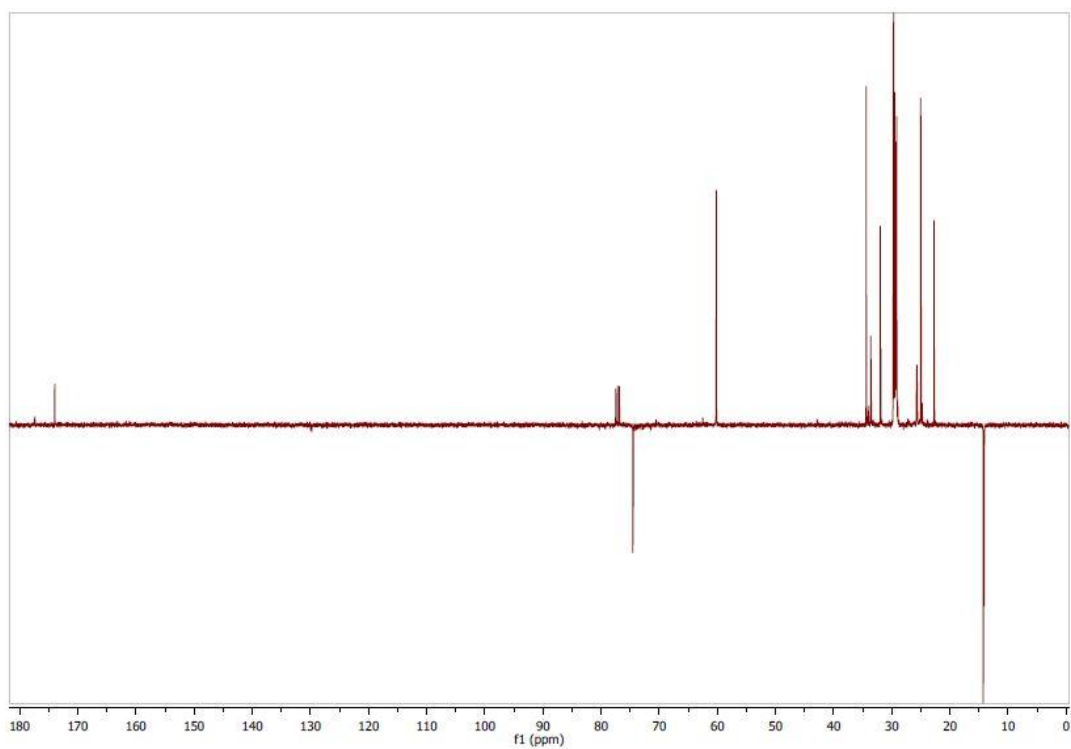
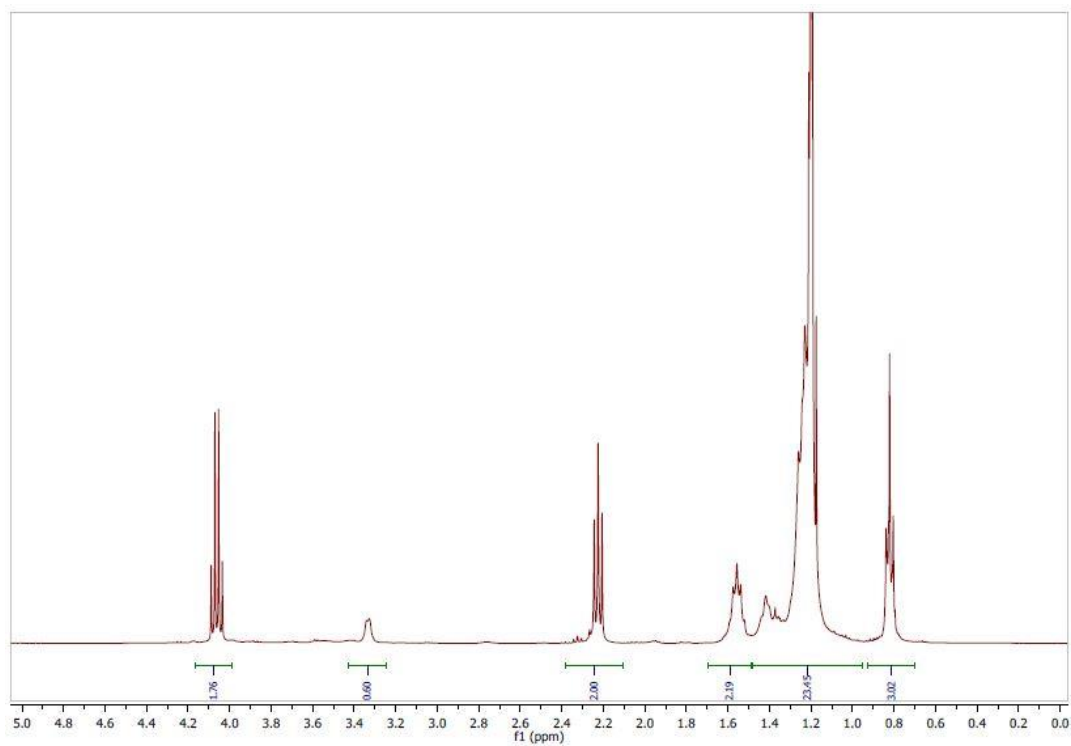
5.2.2. Determinación de los resultados

El cálculo de la conversión se realiza tomando como referencia los 2H en α del carbonilo de los ésteres y asignando a dicha señal el valor de 2. A continuación, mediante el cociente del valor del área de las señales de los H de los epóxidos durante la reacción y el área de los H de epóxidos al inicio de la reacción (2,78-3,23 ppm) se conoce el porcentaje que todavía hay de epóxidos sin reaccionar. La conversión es, por tanto, la diferencia entre 100 y este valor.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{CH}(\text{epóxidos}(t))}{A_{CH}(\text{epóxidos}(t=0))} \cdot 100 \right]$$

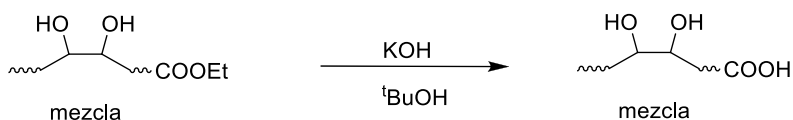
5.2.3. Caracterización de la mezcla de productos de reacción de DF2

^1H -RMN (CDCl_3 , δ ppm, 400 MHz): $-\text{HC}-\text{OH}$ 3,39-3,23 (m, 1H), $-\text{H}_2\text{C}-\text{CO}-$ 2,23 (t, 2H, $J=7,6$ Hz).



5.3. Reacción de hidrólisis de la mezcla DF2 hidroxilada

5.3.1. Procedimiento experimental



En un matraz de 250 mL se añaden 40 g de dioles de la mezcla DF2 (0,116 mol), 11,56 g de KOH (0,174 mol) junto con 35 mL de ^tBuOH. La disolución se calienta a 70°C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo de reacción se añaden 40 mL de H₂O y se mantiene en agitación hasta que se disuelve la mezcla. A continuación, se añade HCl (35%) hasta pH=2 (aproximadamente 30 mL). Se adicionan seguidamente 40 mL de Et₂O y se separan las fases. La fase acuosa se lava con Et₂O (3 x 40 mL). Se combinan los extractos orgánicos y se secan con MgSO₄ anhidro. Por último, se elimina el disolvente a vacío. La determinación de resultados se realiza mediante ¹H-RMN. El rendimiento aislado es del 86%.

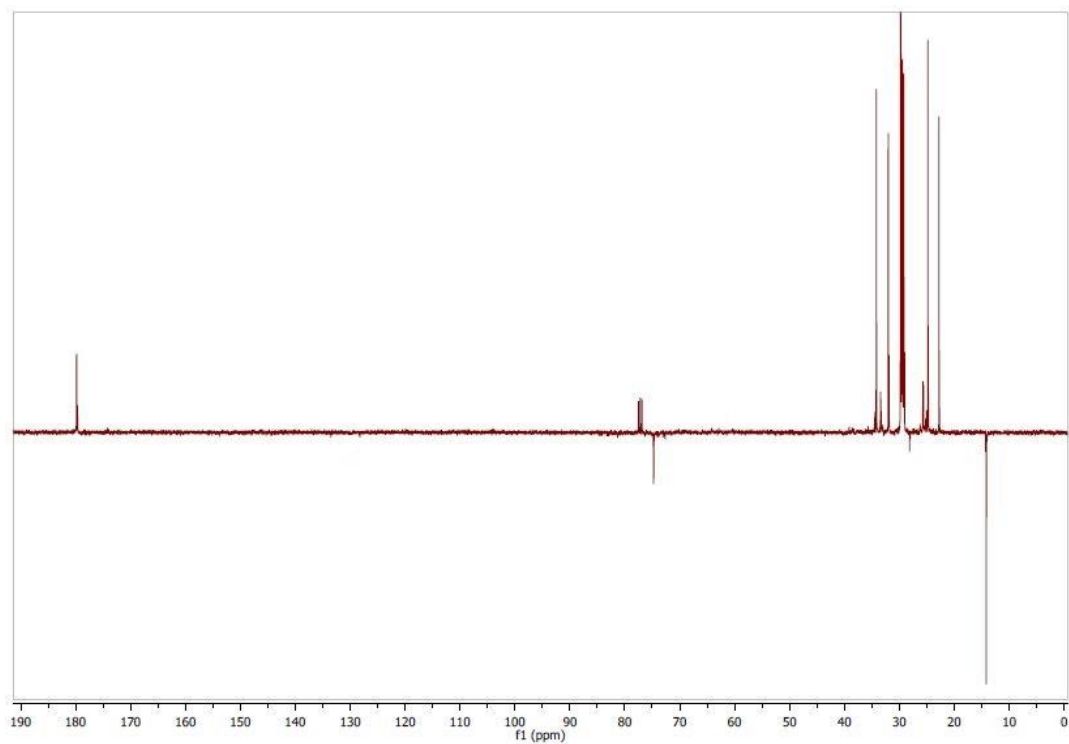
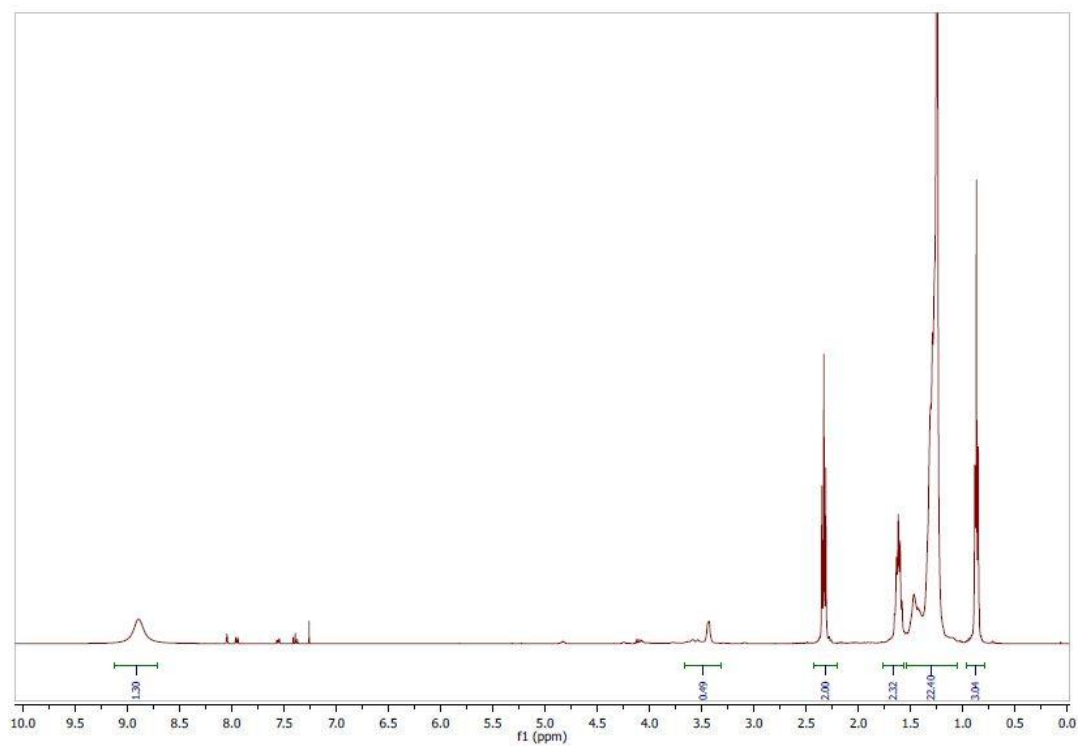
Se puede llevar a cabo el mismo procedimiento para 80 g de dioles escalando los reactivos utilizados en las mismas condiciones de reacción. La conversión en este caso es del 100% y el rendimiento aislado es del 96%.

5.3.2. Determinación de los resultados

La determinación de la conversión se realiza teniendo en cuenta la desaparición de la señal de los 2H del sustituyente –COOCH₂-CH₃ de los ésteres hidroxilados de la mezcla. Esta señal aparece a 4,08 ppm en el espectro de ¹H-RMN. Se referencia la señal de los 2H en α del carbonilo asignándole el valor de 2.

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{A_{CH_2}}{2} \cdot 100 \right]$$

5.3.3. Caracterización de la mezcla de ácidos hidroxilados



REFERENCIAS



1. Cerdá E., Khalilova A., *Economía Industrial*, **2016**, 401, 11.
2. *Economía de los recursos naturales y el medioambiente*. Pearce D. W., Turner K. R., Ed. Celeste, **1995**.
3. Stahel W. R., *Nature* **2016**, 531, 435.
4. *Plan de Acción para la Economía Circular*, COM (2015) 614 final. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1453384154337&uri=CELEX:52015DC0614>
5. *Smart Chemistry, Smart Future*. FEIQUE (Federación Empresarial de la Industria Química Española), **2017**. <http://www.feique.org/>
6. Hidalgo García M. M., *Documento de Análisis del Instituto Español de Estudios Estratégicos* **2017**, 39. <http://www.ieee.es/publicaciones-new/documentos-de-analisis/>
7. Mestres R., *Educación química*, **2013**, 24, 103.
8. Anastas P. T., Zimmerman J. B., *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 94.
9. Dodds D. R., Gross R. A., *Science*, **2007**, 318, 1250.
10. *Platform Molecules. Introduction to Chemicals from Biomass, 2nd Edition*. Clark J., Deswarte F., Farmer T. J., Mascal M., Ed. Wiley, **2015**.
11. Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2009**, 111, 865.
12. *Fatty Acids. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 6th ed., Anneken D. J., Both S., Christoph R., Fieg G., Steinberner U., Westfechtel A., Ed. Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
13. Meier M. A. R., Metzger J. O., Schubert U. S., *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1788.
14. Lopes C., Anterlo L. T., Franco-Uría A., Alonso A. A., Pérez-Martín R., *Waste Manage.* **2015**, 46,103.
15. Kerton F. M., Liu Y., Omari K. W., Hawboldt K., *Green Chem.* **2013**, 15, 860.
16. Arvanitoyannis I.S., Kassaveti A., *Int. J. Food Sci. Technol.* **2008**, 43, 726.
17. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025*; OECD Publishing: Paris, **2016**. http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en.
18. *Assessment of the Bio-based Products Market Potential for Innovation. BIOCHEM Project*, European Commission Enterprise and Industry, **2010**. <http://www.biochem-project.eu>.
19. *Floor Coverings. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Online Edition., Heisterberg-Moutsis G., Heinz R., Wolf T. F., Harper D. J., James D., Mazzur R. P., Kettler V., Ed. Wiley-VCH, **2017**.
20. Metzger J. O., Bornscheuer U., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 71, 13.
21. *Basic oleochemicals, oleochemical products and new industrial oils. Oleochemical manufacture and applications*. Gunstone F. D., Hamilton R. J., Ed. Sheffield Academic Press, **2001**.
22. Rustan A. C., Drevon C. A., *Encyclopedia of Life Sciences*, Ed. John Wiley & Sons, 1, **2005**.
23. Uauy T., Valenzuela A., *Nutrition* **2000**, 16, 680.
24. Heird W.C. *Pediatr. Clin. North Am.* **2001**, 48, 173.
25. Gunstone F. D., *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* **2001**, 103, 307.
26. Corma A., Iborra S., Velty A., *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2411.
27. Behr.A., *Chem. Eng. Technol.* **2008**, 31, 700.
28. Danov S. M., Kazantsev O. A., Esipovich A. L., Belousov A. S., Rogozhin A. E., Kanakov E. A., *Catal. Sci. Technol.* **2017**, 7, 3659.

29. Chikkali S., Mecking S., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5802.
30. *Renewable Bioresources. Scope and Modification for Non-Food Applications*, Stevens C. V., Verhé R. G., Ed.; Wiley, Chichester, **2004**.
31. *Fats and fatty oils. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Thomas A., Matthäus B., Fiebig H. C. Ed. Wiley-VCH **2015**.
32. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 5th ed., Hui Y. H., Ed. Wiley-Interscience, **1996**.
33. *Fatty Acids. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Anneken D. J., Both S., Christoph R., Fieg G., Steinberner U., Westfechtel A., Ed. Wiley-VCH, **2006**.
34. *Lubricants and Lubrication. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Bartels T., Bock W., Braun J., Busch C., Buss W., Dresel W., Freiler C., Harperscheid M., Heckler R.-P., Hörner D., Kubicki F., Lingg G., Losch A., Luther R., Mang T., Noll S., Omeis J., Ed. Wiley-VCH, **2003**.
35. Nagendramma P., Kaul S., *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2012**, *16*, 764.
36. Soni S., Agarwal M., *Green Chem. Lett. Rev.* **2014**, *7*, 359.
37. a) Otera J., *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1449. b) *The Catalysis of Biodiesel Synthesis. Catalysis*. Lotero E., Goodwing J. G., Bruce J. D. A., Suwannakarn K., Liu Y., Lopez D. E., Ed. ACS, **2006**,
38. Fukuda H., Kondo A., Noda H., *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, *92*, 405.
39. Formo M.W., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1954**, *31*, 548.
40. Wright H. J., Segur J. B., Clark H. V., Coburn S. K., Langdon E. E., DuPuis R. N., *Oil Soap* **1944**, *21*, 145
41. Pinto A. C., Guarieiro L. L. N., Rezende M. J. C., Ribeiro N. M., Torres E. A., Lopes W. A., Pereira P. A. de P., de Andrade J. B., *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1313.
42. Suppes G., Dasari M. A. Doskocil E. J., Mankidy P. J., Goff M. J., *Appl. Catal. A.* **2004**, *257*, 11.
43. Dasari M., Goff M., Suppes G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2003**, *80*, 189.
44. a) Serio M., Ledda M., Cozzolino M., Minutillo G., Tesser R., Santacesaria E., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, *45*, 6. b) Leclercq E., Finiels A., Moreau, C., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 5. c) Cantrell D. G., Gillie L. J., Lee A. F., Wilson K., *Appl. Catal. A.* **2005**, *287*, 8.
45. a) Shibasaki-Kitakawa N., Honda, H. Kuribayashi H., Toda T., Fukumura T., Yonemoto T., *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 416. b) dos Reis S. C. M., Lachter E. R., Nascimento R. S. V., Rodrigues J. A. Jr., Reid M. G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2005**, *82*, 5.
46. a) Kim H., Kang B.-S., Kim M.-J., Kim D.-K., Lee J.-S., Lee K.-Y., *Surf. Sci. Catal.* **2004**, *153*, 4. b) Furuta S., Matsushashi H., Arata K., *Catal. Commun.* **2004**, *5*, 3.
47. Gryglewicz S., Muszynski M., Nowicki J., *Ind. Crops Prod.* **2013**, *45*, 25.
48. Linko Y.-Y., Lämsä M., Huhtala A., Linko P., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 1411.
49. Herrmann C., Hesselbach J., Bock R., Zein A., Öhlschläger G., Dettmer T., *Clean* **2007**, *35*, 427.
50. Wu, X. Y., Jääskeläinen S., Linko, Y. -Y., *Enzyme Microb. Tech.* **1996**, *19*, 226.
51. Linko Y.-Y., Lämsä M., Wu X., Uosukainen E., Seppälä J., Linko P., *J. Biotechnol.* **1998**, *66*, 41.
52. a) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *J. Oleo. Sci.* **2014**, *63*, 497. b) Habib N. S. H. A., Yunus R., Rashid U., Taufiq-Yap Y. H., Abidin Z. Z., Syam A. M., Irawan S., *Grasas y aceites* **2014**, *65*, 1.

53. Kleinaitė E., Jaškab V., Tvaskab B., Matijošytė I., *J. Clean Prod.* **2014**, *75*, 40.
54. Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Ind. Crops Prod.* **2015**, *76*, 456.
55. Kamalakar K., Rajak A. K., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *51*, 249.
56. Kamalakar K., Sai Manoj G. N. V. T., Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *Grasas Aceites* **2015**, *66*, 1.
57. Patent NO.: US 8,158,680 B2.
58. Lee I. L., Johnson L. A., Hammond E. G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 1155.
59. Likozar B., Levec J., *Applied Energy* **2014**, *123*, 108.
60. Alhassan F. H., Uemura Y., *Procedia Engineer.* **2016**, *148*, 473.
61. Malins K., Kampars V., Kampare J., Prilucka J., Brinks J., Murnieks R., Apseniece L., *Fuel* **2014**, *137*, 28.
62. Silva L. N., Cardoso C. C., Pasa V. M. D., *Fuel* **2016**, *166*, 453.
63. Wang P. S., Tat M., E., Gerpen J. V., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2005**, *82*, 845.
64. Cai L., Meng D., Zhan S., Yang X., Liu T., Pu H., Tao X., *RSC Adv.* **2015**, *7*, 2146.
65. Naranjo J. C., Córdoba A., Giraldo L., García V. S., Moreno-Piraján J. C., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2010**, *66*, 166.
66. a) *Alkyd Resins. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Jones F. N., Ed. Wiley-VCH, **2003**.
b) Biermann U., Butte W., Holtgreffe R., Fede W., Metzger J. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, *112*, 103.
67. Panchal T. M., Patel A., Chauhan D. D., Thomas M., Patel J. V., *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2017**, *70*, 65.
68. Syahir A. Z., Zulkifli N. W. M., Masjuki H. H., Kalam M. A., Alabdulkarem A., Gulzar M., Khuong L. S., Harith M. H., *J. Clean Prod.* **2017**, *168*, 997.
69. Gryglewicz S., Piechocki W., Gryglewicz G. J., *Biores. Technol.* **2003**, *87*, 35.
70. Maleque M. A., Masjuki H. H., Sapuan S. M., *Ind. Lubr. Tribol.* **2003**, *55*, 137.
71. Uosukainen E., Linko Y.-Y., Lämsä M., Tervakangas T., Linko P., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 1557.
72. Linko Y.-Y., Tervakangas T., Lämsä M., Linko P., *Biotechnol. Tech.* **1997**, *11*, 889.
73. a) Yunus R., Fakhru'l-Razi A., Lye Ooi T., Omar R., Idris A., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005**, *44*, 8178.
b) Bakar A. A., Yunus R., Chuah A.L., Fakhru'l-Razi A., *J. App. Sci.* **2007**, *7*, 2011.
74. Kamil R. N. M., Yusup S., Rashid U., *Fuel* **2011**, *90*, 2343.
75. Cavalcanti da Silva J. A., Ferreira Soares V., Fernández-Lafuente R., Habert A. C., Freire D. M. G., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, *122*, 323.
76. *Surfactants. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Kosswig K., Ed. Wiley **2012**.
77. Maag H., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1984**, *61*, 259.
78. Stockburger G. J., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1979**, *56*, 774.
79. Rao T. C., Sastry S. R. S., Subbarao R., Lakshminarayana G., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1976**, *54*, 15.
80. Bhattacharyya D. N., Krishnan S., Kelkar R. Y., Chikale S. V., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1984**, *61*, 1925.
81. O'Lenick A. J., Parkinson J. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *1*, 529.
82. Viklund F., Hult K., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2004**, *27*, 51.

83. Climent M. J., Corma A., Hamid S. B. A., Iborra S., Mifsud M., *Green Chem.* **2006**, *8*, 524.
84. Basu S., Bhattacharyya D. K., *J. Surfactants Deterg.* **1998**, *1*, 343.
85. Ghosh M., Bhattacharyya D. K., *J. Surfactants Deterg.* **1998**, *1*, 503.
86. O'Lenick A. J., Parkinson J. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *3*, 201.
87. De Torres M., Jiménez-Osés G., Mayoral J. A., Pires E., Blanco R. M., Fernández O., *Catal. Today* **2012**, *195*, 76
88. Sripada P. K., Sharma R. V., Dalai A. K., *Ind. Crops Prod.* **2013**, *50*, 95.
89. Hafizah N., Salimon J., *J. Sci. Technol.* **2010**, *2*, 47.
90. Pel A., *OCL*, **2001**, *8*, 145.
91. *Oleochemical Fatty Acids: Global Markets to 2022*. Andrew McWilliams, **2017**.
92. *Chemical Energy Storage*. Schlögl R. Ed. Walter de Gruyter GmbH, **2013**.
93. *Química Orgánica*. John McCurry. 8ª Edición. Cengage Learning Editores, **2012**.
94. *Bailey's Industrial Oils and Fats Products, 6th ed.*, Shahidi F., Ed. Wiley, New York, **2006**.
95. Holliday R. I., King J. W., List G. R., *Ind. Eng. Chem. Res.* **1997**, *36*, 932.
96. Rincón S. M., Narváez P.C., Astudillo A., García J. A., Tecnologías para la obtención de oleoquímicos provenientes del aceite de palmiste, Boletín Técnico Nº 24. Ed. Centro de Investigación en Palma de Aceite, Bogotá, **2008**.
97. a) Hartman L., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1953**, 349. b) Patil T. A., Butala D. N., Raghunathan T. S., Shankar H. S., *Ind. Eng. Chem. Res.* **1988**, *27*, 727.
98. Murty V. R., Bhat J, Muniswaran P. K. A., *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2002**, *7*, 57.
99. Koshikari Y., Sakakura A., Ishihara K., *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3194.
100. Wu Y., Li A., Li K., *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, 41143.
101. Jose J., Pourfallah G., Merkley D., Li S., Bouzidi L., Lopes Lao A., Narine S. S., *Polym. Chem.* **2014**, *5*, 3203.
102. Walther G., Deutsch J., Martin A., Baumann F., Fridag D., Franke R., Köckritz A., *ChemSusChem* **2011**, *4*, 1052.
103. Stemple F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S., *Macromolecules* **2011**, *4*, 4159.
104. a) Ebert C., Felluga F., Forzato C., Foscatto M., Gardossi L., Nitti P., Pitacco G., Boga C., Caruana P., Micheletti G., Calonghi N., Masotti., *J Mol Catal. B-Enzym.* **2012**, *83*, 38. b) Calonghi N., Cappadone C., Pagnotta E., Boga C., Bertucci C., Fiori J., Tasco G., Casadio R., Masotti L., *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 1596.
105. Abraham S., Lan Y., Lam R. S. H., Grahame D. A. S., Kim J. J. H., Weis R. G., Rogers M. A., *Langmuir* **2012**, *28*, 4955.
106. Satyarthi J. K., Srinivas D., Ratnasamy P., *Appl. Catal. A-Gen.* **2011**, *391*, 427.
107. *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*. Polaina J., MacCabe A. P., Ed. Springer, **2007**.
108. Al-Zuhair S., Hasan M., Ramachandran K. B., *Process Biochem.* **2003**, *38*, 1155.
109. Murty V. R., Bhat J, Muniswaran P. K. A. *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 563.
110. Souza P., Zandoná A. Pedersen F. A., Corazza M. L., *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2014**, *173*, 1336.
111. Petersen M. T. N., Fojan P., Petersen S. B., *J. Biotechnol.* **2001**, *85*, 115.
112. Salihua A., Alam M. Z., AbdulKarima M. I., Salleha H. M., *Resour. Conserv. Recy.* **2012**, *58*, 36.
113. Rooney D., Weatherley L. R., *Process Biochem.* **2001**, *36*, 947.
114. Abdelmoez W., Mostafa N. A., Mustafa A., *J. Clean Prod.* **2013**, *59*, 290.

115. Pongket U., Piyatheerawong W., Thapphasaraphong S., H-Kittikum A., *Biotechnol. Biotec. Eq.* **2015**, *5*, 926.
116. Fadiloglu S., Söylemez Z., *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3411.
117. Li Y., Wang C., Liu J., Chen Y., Yin F., Xu L., Liu S., Zhao X., Zhang W., *Adv. Mar. Res.* **2013**, *675*, 275.
118. Khor H. T., Tan N. H., Chua C. L., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1989**, *63*, 538.
119. Serri N. A., Kamarudin A. H., Rahaman S. N. A., *J. Phys. Sci.* **2008**, *19*, 79.
120. H-Kittikum A., Prasertsan P., Sungpud C., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, *773*, 599.
121. Kabbashi N. A., Mohammed N. I., Alam M. Z., Mirgani A. E. S., *J. Mol. Catal. B-Enzym.* **2015**, *116*, 95.
122. a) Chowdhury A., Mitra D., Biswas D., *Environ. Prog. Sustain.* **2014**, *33*, 933.
b) Chowdhury A., Mitra D., Biswas D.J., *Chem. Technol. Biotechnol.* **2013**, *88*, 139.
c) Talukder M. M. R., Wu J. C., Chua L.P., *Energy Fuels* **2010**, *24*, 2016.
123. Binder R. G., Applewhite T. H., Kohler G. O., Goldblatt L. A., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1962**, *39*, 513.
124. Mutlu H., Meier M. A. R., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, *112*, 10.
125. Scarpa A., Guerci A., *J. Ethnopharmacol* **1982**, *5*, 117.
126. Puthli M. S., Rathod V. K., Pandit A. B., *Biochem. Eng. J.* **2006**, *31*, 31.
127. Gamayurova V. S., Zinov'eva M. E., Tran H. T. T., *Catal. Ind.* **2013**, *5*, 269.
128. Giogios I., Grigorakis K., Nengas I., Papasolomontos S., Papaioannou N., Alexis M. N., *J. Sci. Food Agric.* **2009**, *89*, 88.
129. Fernández-Lorente G., Pizarro C., López-Vela D., Betancor L., Carrascosa A. V., Pessela B., Guisan J. M., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *88*, 819.
130. Sharma A., Chaurasia S. P., Dalai A. K., *Can. J. Chem. Eng.* **2014**, *92*, 344.
131. Sharma A., Chaurasia S. P., Dalai A. K., *Catal. Today* **2013**, *207*, 93.
132. Virto M. D., Agud I., Montero S., Blanco A., Solozabal R., Lascaray J. M., Llama M. J., Serra J. L., Landeta, de Renobales M., *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *6*, 61.
133. Edwinoliver N. G., Thirunavukarasu K., Naidu R. B., Gowthaman M. K., Kmabe N., Kamini N. R., *Bioresource Technol.* **2010**, *101*, 6791.
134. Adamczak M., Bednarski W., *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1347.
135. Lerin L. A., Loss R. A., Remonatto D., Zenevicz M. C., Balen M., Netto V. O., Ninow J. L., Trentin C. M., Oliveira J. V., de Oliveira D., *Bioprocess. Biosyst Eng* **2014**, *37*, 2381.
136. Feiten M. C., Rosa C. D., Treichel H., Furigo A., Zenevicz M. C., de Oliveira D., Oliveira J. V., *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2014**, *3*, 83.
137. Zenevicz M. C. P., Jacques A., de Oliveira D., Furigo A., Valério A., Oliveira J. V., *Ind. Crops Prod* **2017**, *108*, 52.
138. Waghmare G. V., Rathod V. K., *Ultrason. Sonochem.* **2016**, *32*, 60.
139. Kulkarni S. R., Pandit A. B., *Indian J. Biotechnol.* **2005**, *4*, 241.
140. Resch V., Hanefeld U., *Catal. Sci. Technol.* **2015**, *5*, 1385.
141. Knight H. B., Koos R. E., Swern D., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1954**, *31*, 1.
142. Munns W. O., Kairys S., Manion D. A., Meade E. M., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1963**, *40*, 22.
143. Rockett J., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1956**, *78*, 3191.
144. Placek L. L., Bickford W. G., *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 864.
145. Black L. T., Beal R. E., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 310.
146. Kaur N., Kishore D., *J. Chem. Pharma. Res.* **2012**, *4*, 991.

147. B., Hellbardt S., Paetow M., Zech W. H., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, 72, 349.
148. *Dicarboxylic Acids, Aliphatic. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Cornils B., Lappe P., Ed. Wiley-VCH, **2014**.
149. Khot, S. N., et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, 82, 703.
150. *The ICI Polyurethanes Book*, 2nd edition, Woods G., Ed. Wiley-New York, **1990**.
151. Hu Y. H., Gao Y., Wang D. N., Hu C. P., Zu S., Vanoverloop L., Randall D., *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, 84, 591.
152. Ahn B. J. K., Kraft S. Sun X. S., *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 9498.
153. Danov S. M., Kazantsev O. A., Esipovich A. L., Belousov A. S., Rogozhin A. E., Kanakov E. A., *Catal. Sci. Technol.* **2017**, 7, 3659.
154. Dinda S., Patwardhan A. V., Goud V. V., Pradhan N. C., *Bioresour. Technol.* **2008**, 99, 3737.
155. Milchert E., Smagowicz A., Lewandowski G., *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2010**, 85, 1099.
156. De Haro J. C., Izarri I., Rodríguez J. F., Pérez A., Carmona M., *J. Cleaner Prod.* **2016**, 138, 70.
157. Huang Y-B., Yao M-Y., Xin P-P., Zhou M-C., Yang T., Pan H., *RSC Adv.* **2015**, 5, 74783.
158. Carlson K. D., Kleiman R., Bagby M. O., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, 71, 175.
159. Dinda S., Patwardhan A. V., Goud V. V., Pradhan N. C., *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* **2011**, 6, 870.
160. Janković M., Sinadinović-Fišer S., Govedarica O., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, 53, 9357.
161. Rios L. A., Echeverri D. A., Franco A., *Appl. Catal. A.* **2011**, 394, 132.
162. Gerbase A. E., Gregório J. R., Martinelli M., Brasil M. C., Mendes A. N. F., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, 79, 179.
163. Farias M., Martinelli M., Bottega D. P., *Appl. Catal. A.* **2010**, 384, 213.
164. Vlček T., Petrović Z. S., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2006**, 83, 247.
165. Bajwa A. S., Sathaye S., Kulkarni V. M., Patwardhan A. V., *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* **2016**, 11, 314.
166. Sun S., Ke X., Cui L., Yang G., Bi Y., Song F., Xu X., *Ind. Crops Prod.*, **2011**, 33, 676.
167. Cheng W., Liu G., Wang X., Liu X., Jing L., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2015**, 117, 1185.
168. a) Jiang J., Zhang Y., Yan L., Jiang P., *Appl. Surf. Sci.* **2012**, 258, 6637. b) Zhang H., Yang H., Guo H., Yang J., Xiong L., Huang C., Chen X., Ma L., Chen Y., *Appl. Clay Sci.*, **2014**, 90, 175.
169. Miao Y. X., Liu J. P., *Adv. Mater. Res.* **2014**, 881, 140.
170. Ye X., Jiang P., Zhang P., Dong Y., Jia C., Zhang X., Xu H., *Catal. Lett.* **2010**, 137, 88.
171. Campanella A., Baltanás M. A., Capel-Sánchez M. C., Campos-Martín J. M., Fierro J. L. G., *Green Chem.*, **2004**, 6, 330.
172. Turco R., Pischetola C., Tesser R., Andini S., Di Serio M., *RSC Adv.* **2016**, 6, 31647.
173. Di Serio M., Turco R., Pernice P., Aronne A., Sannino F., Santacesaria E., *Catal. Today* **2012**, 192, 112.
174. Wisniak J., Navarrete E., *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.* **1970**, 9, 33.
175. Marks D. V., Larock R. C., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, 79, 65.
176. Maerker G., Haeberer E. T., Ault W. C., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1964**, 41, 585.

177. Behr A., Tenhumberg N., Wintzer A., *RSC Adv.* **2013**, *3*, 172.
178. Guo Y., Hardesty J. H., Mannari V. M. Massingill Jr. J. L., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2007**, *84*, 929.
179. Liu C., Liu J., Ma L., Rong L., *Journal of Chemistry* **2014**, *2014*, 1.
180. Okieimena F. E., Pavithranb C., Bakare I. O., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2005**, *107*, 330.
181. Harry-O'kuru R. E., Mohammed A., Xu J., Sharma B. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *88*, 1211.
182. Thiery E., Le Bras J., Muzart J., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 961.
183. Howton D. R., Kaiser, Jr R.W., *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2420.
184. Rios L., Echeverri D., Cardeño F., *Ind. Crop. Prod.* **2013**, *43*, 183.
185. Daniel L., Ardiyanti A. R., Schuur B., Manurung R., Broekhuis A. A., Heeres H. J., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *113*, 18.
186. Sammaiah A., Padmaja K. V., Prasad R. B. N., *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 4652.
187. Kamalar K., G. N. V. T. Sai Manoj, Prasad R. B. N., Karuna M. S. L., *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 11980.
188. Gorla G., Kour S. M., Padmaja K. V., Karuna M. S. L., Prasad R. B. N., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*, 8685.
189. Harry-O'kuru R. E., Holser R. A., Abbott T. P., Weisleder D., *Ind. Crops Prod.* **2002**, *15*, 51.
190. Luong T. M., Schriftman H., Swern D., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 316.
191. Adewuyi A., Oderinde R. A., Prasad R. B. N., Nalla M., *Chem. Cent. J.* **2011**, *5*, 79.
192. Xia W., Budge S. M., Lumsden M. D., *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2016**, *93*, 467.