

ISSN 1810-634X

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 83 N° 2  
ABRIL - JUNIO - 2017



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



**REVISTA**  
**de la**  
**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**  
**(Rev Soc Quím Perú)**  
**ISSN 1810 - 634X**  
**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

**Presidenta** : Ana María Muñoz Jáuregui  
**Editor en Jefe** : Ana Cecilia Valderrama Negrón  
**Miembros** : Julio Santiago Contreras  
Lisveth Flores Del Pino  
Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

**Comité Consultivo**

Caramantin Soriano, María  
**Universidad de Talca, Chile**  
Dávalos Prado, Juan  
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España**  
Calvo Buendía, Eduardo  
**Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú**  
Guija Poma, Emilio  
**Universidad Científica del Sur – Perú**  
Muñoz Jáuregui, Ana  
**Universidad San Ignacio de Loyola**  
Lock Sing, Olga  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**  
Santiago Contreras, Julio  
**Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú**  
Valderrama Negrón, Ana  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
De La Cruz Azabache, Mario  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**

Picasso Escobar, Gino  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Rueda Sánchez, Juan Carlos  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**  
Rabinovich Jaitin, Daniel  
**University of North Carolina – USA**  
Sun Kou, María del Rosario  
**Dpto. Ciencias, Sec. Química PUCP**  
Gutiérrez Correa, Marcel  
**Univ. Nac. Agraria La Molina – Perú**  
La Rosa-Toro Gómez, Adolfo  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Alarcón Caveró, Hugo  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Maza Mejía, Ily  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Gamboa Fuentes, Nadia  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**

**Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex**

Sede: Av. Nicolás de Araníbar 696 Santa Beatriz – Lima 01

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925

e-mail: [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

Portal web: [www.sqperu.org.pe](http://www.sqperu.org.pe)

**Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú**

**Certificado N° 95-1567**

---

**Vol 83**

**ABRIL - JUNIO 2017**

**N° 2**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00



**CONTENIDO**  
**(Vol. 83 – N° 2 – 2017)**

<b>Editorial</b> .....	129
<b>Trabajos Originales</b>	
- Aislamiento y elucidación estructural de un compuesto nitrogenado y del haematoma de etilo del líquen <i>Everniopsis trulla</i> , por Olivio Nino Castro Mandujano, Julio Santiago Contreras, J. Álvarez	131
- A mild procedure for the synthesis of allyl and benzyl $\alpha$ -hydroxyesters using O-allyl(Benzyl)-N, N' – dicyclohexylisourea, por Elvis Robles-Marín, César A. Sánchez and Juan-Manuel Urbina-González.	143
- Evaluación experimental de la degradación fotocatalítica del colorante cibacron navy H-2G empleando nanopartículas industriales de TiO <sub>2</sub> , por Elizabeth Deza Martí, Ana Osorio Anaya, Joaquín J. Manrique Fajardo.	160
- Determinación de la máxima retención de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tomate de árbol ( <i>Solanum betaceum</i> Cav.), por Daniella S. Rojas Benites, Ritva Repo de Carrasco, Christian R. Encina Zelada.	174
- Caracterización química del material particulado atmosférico del Centro Urbano de Huancayo, Perú, por Luis Suárez-Salas, Daniel Álvarez Tolentino, Yéssica Bendezú, José Pomalaya.	187
- Hidrólisis química y enzimática de extracto de yacón ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) para la producción de fructosa, por Rosana Chirinos, Rocío Mendoza, Ana Aguilar-Gálvez, David Campos.	200
- Uso de edulcorantes comerciales como una alternativa a la reducción de 5-Hidroximetil-2-furfural (HMF) en galletas modelo, por Nils Huamán Castilla, Erik Allecca, Nilton León, Gladys Yupanqui.	213
- Diseño y caracterización teórica de materiales fotoactivos eficientes basados en derivados de antra[2,3-c]pirrol y antra[2,3-c]tiofeno para celdas solares orgánicas, por Walter Cuadro Bautista, Adolfo Ensuncho Muñoz, Juana R. Robles.	221
- Síntesis de bismacromonomero de 2-oxazolina y su posterior polimerización, por Juan Carlos Rueda, Jesús Tito Gutarra.	234
Enseñanza de la Química	
- Estudio espectroscópico RMN bidimensional de bases de Schiff derivadas de la 4-aminoantipirina, por Sergio Zamorano, Juan Camus, Mariana Zavala.	249
<b>Informaciones</b>	261

---

**Revista Arbitrada**

Derechos reservados: Prohibido el uso total o parcial del material de esta revista sin indicar la fuente de origen.  
Nota: Las referencias comerciales que aparecen en los trabajos no constituyen una recomendación de la Sociedad Química del Perú.

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista de la Sociedad Química del Perú publica trabajos originales e inéditos de carácter científico, tecnológico y técnico en el campo de las ciencias químicas. La Revista acepta preferentemente los trabajos que expresen resultados valiosos, producto de las investigaciones científicas básicas o aplicadas, así como, los de divulgación que, por su importancia y la claridad de su exposición, constituyan un material valioso para la comunidad científica y tecnológica.

La Revista, en formato impreso o electrónico, está dividida en las siguientes secciones: artículos de investigación, comunicaciones cortas, cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y divulgación.

Los trabajos son recibidos por el Comité Editorial, quien revisará cumplan con las “Instrucciones para los autores”, la ortografía y redacción (incluida la puntuación). A continuación pasa a la Comisión de Publicaciones y Árbitros para que se pronuncien sobre el contenido científico. Si existen observaciones se comunicará al autor corresponsal para que se proceda a levantar dichas observaciones.

**Los artículos de investigación** son el resultado de un trabajo experimental o teórico, producto de una investigación científica o tecnológica, que aporta un nuevo conocimiento. Se recomienda una extensión entre 10 a 15 páginas a espacio y medio.

**Las comunicaciones cortas** son trabajos cuya extensión no debe ser mayor a 4 páginas a espacio simple, escritas bajo las mismas características que un artículo de investigación. Están referidos a trabajos cortos concluidos, pero en los que hay urgencia en su publicación.

**Las cartas al editor** son comunicaciones que brindan la oportunidad para discutir, criticar o ampliar algunos puntos sobre los trabajos publicados en la Revista. Su extensión no debe exceder una hoja a espacio simple.

**Los trabajos de revisión** se basan en recopilaciones bibliográficas de temas en los que el autor tiene amplia experiencia. La Comisión de Publicaciones encomendará estos trabajos a especialistas en la materia.

**Los artículos de enseñanza de la química** son aquellos que proporcionan, en especial a los profesores y alumnos, una nueva visión, interpretación o aclaran los conceptos, teorías o experimentos químicos. Los requisitos que deben tener son: originalidad, importancia pedagógica, relevancia y claridad.

**Las notas informativas** corresponden a temas que no están relacionados a una investigación, pero son artículos que merecen ser divulgados, por ser de gran interés para la comunidad química.

Los autores de los trabajos publicados son los únicos responsables de la autenticidad y opiniones expresadas en los mismos. Todos los autores de un artículo deberán firmar una carta de presentación del trabajo como garantía de haber participado activamente en la investigación y redacción del artículo. Todas las comunicaciones entre la Comisión de Publicaciones y el autor corresponsal se realizarán vía correo electrónico. El autor corresponsal deberá responder los correos electrónicos en el plazo que se señale.

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (disco compacto o al correo electrónico [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 30 soles por concepto de gastos administrativos, como adelanto del pago de la publicación, no reembolsables.

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago de las siguientes sumas:

Cuando todos los autores son socios: S/. 120,00

Cuando todos los autores no son socios: S/. 200,00

Si entre los autores hay socios y no socios: S/. 150,00

Si los autores residen en el extranjero US \$ 110,00

Cuando el número de autores es superior a 3 se añadirá, además, S/. 30,00 por cada autor en exceso.

Si el trabajo es enviado del extranjero, será US \$ 15,00 más por cada autor en exceso.

Por exceso de correcciones de estilo se cobrará después de la segunda, un mínimo de S/. 30,00.

Si alguna parte del trabajo, y a pedido de los autores, necesitara ser impreso a color, asumirán el 100 % del exceso del costo señalado por la imprenta.

The publication of each work is subject to payment of the following ones:

When all the authors are partners of the Peruvian Chemical Society: S/. 120,00

When all the authors are not partners: S/. 200,00

If among the authors there are partners and non partners: S/. 150,00

If the authors reside abroad US \$ 110,00

When the number of authors is superior at 3 it will be paid, also, US \$ 15,00 for each author in excess.

## Formato para los artículos

Baje la plantilla de artículo. Los autores pueden solicitar la plantilla de artículo al correo electrónico [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

1. El texto completo, debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes; izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3 cm. Espacio 1½, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción “justificar”). Los decimales deben llevar coma.
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor corresponsal se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor corresponsal colocará su correo electrónico después de la dirección postal completa de su institución.
4. Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (Abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con tamaño de fuente 12 y en negrita.).
5. Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos de género y especie van en cursiva (itálica).
6. El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.
7. Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores que una página A4, tienen numeración arábica seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.
9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberían fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y [List of Journals Indexed in Index Medicus](http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html), (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.



## Editorial

### EL PELIGRO DE LAS PSEUDOCIENCIAS

Nuestra sociedad está en peligro continuamente por varias amenazas: las mafias, la corrupción, el terrorismo, el cambio climático, los virus, etcétera. Sin embargo, hay una actividad que antes era marginal, pero que ahora, por los diversos medios de comunicación y las redes sociales, se difunde grandemente y sin control alguno: las pseudociencias.

Las pseudociencias son un conjunto de creencias que se presentan al público como si tuvieran un fundamento científico o que tienen efectos demostrables supuestamente basados en métodos científicos.

Un caso ejemplar son los movimientos anti vacunas. En países donde se había erradicado muchas enfermedades, gracias a los programas estatales de vacunación, debido a la difusión de falsas noticias y de engaño, estos movimientos pseudocientíficos han conseguido que muchas personas no vacunen a sus hijos. Por ello, en Europa actualmente hay cientos de reportes de casos de sarampión, enfermedad que ya había sido erradicada.

Inventos que hacen temblar a las industrias farmacéuticas, productos alternativos que hacen bajar de peso, plantas que curan milagrosamente todas las enfermedades, licuados de rana para incrementar la fertilidad, cartílago de tiburón que cura el cáncer y otros engaños son frecuentes en las redes sociales. Para difundir las bondades los estafadores se basan en “teorías científicas” o “evidencia experimental” que para las personas sin formación científica parecen reales, pero para el ojo experto de un científico son puras mentiras o, en el mejor de los casos, malas interpretaciones de las teorías científicas. Asimismo, la evidencia que estas creencias aportan no es nada más que un hecho aislado y anecdótico.

Hay una variedad de pseudociencias médicas y algunas tienen nombres rimbombantes. Por ejemplo, las supuestas teorías de la “medicina cuántica” son explicadas por “brujos ilustrados” usando teorías y hechos muy distorsionados de la mecánica cuántica. Como la palabra cuántica suena bonito, pero casi nadie la entiende, han aparecido una serie de terapias médicas y psicológicas que supuestamente tienen el fundamento de dicha teoría muy apreciada y comprendida por nuestros colegas físicos. Lo mismo pasa cuando los charlatanes dicen la palabra relatividad -teoría que Einstein, en colaboración con su esposa Mileva Marić, elaboraron trabajosamente- cuando en realidad le dan un significado erróneo a dicho término que haría enfurecer a cualquier físico.

Hay muchos negadores del cambio climático, pese a la abrumadora evidencia encontrada por varios grupos de investigación. Una cosa es cuando una persona opina que no cree en el cambio climático y otra es cuando esa persona toma decisiones políticas basada en esa creencia. De manera similar si personas que creen en las pseudociencias rigen su accionar como autoridad de algún organismo público, sus decisiones pueden afectar negativamente a la sociedad que los eligió. Lo peligroso del asunto es que paso a paso estamos retrocediendo

a la época del oscurantismo, donde las decisiones de estado se basan en creencias y no en evidencias o teorías comprobadas.

Muchas de las llamadas terapias alternativas no tienen fundamentos teóricos irrefutables que las sustenten, ni mucho menos evidencias reproducibles que demuestren que han funcionado. Sin embargo, se difunden, comercializan y personas inescrupulosas se hacen ricas por la ingenuidad o ignorancia de las personas.

Las sociedades científicas de muchos países se han pronunciado en contra de las pseudociencias, debido a que ellas tienen la responsabilidad de alertar a la sociedad los peligros de las prácticas y productos que no cuentan con el requisito riguroso científico: la evidencia basada en la experimentación controlada y reproducible.

Es curioso que siendo esta una sociedad cuyo desarrollo se basa en el conocimiento científico y tecnológico, la población en general sepa muy poco de ciencia y tecnología. Esto no quiere decir que personas educadas no crean en las pseudociencias, ya que de hecho las hay. Pero más peligroso aún es que se crea en pseudociencias y que estas luego se conviertan en políticas de estado, lo cual nos llevaría inexorablemente de vuelta a la época del oscurantismo que tanto retraso causó a la humanidad.

Frente a la amenaza de las pseudociencias los científicos tenemos un deber moral de hacerles frente con nuestra arma más poderosa: el método científico. De manera personal, vía conferencias, debates, en medios de comunicación y redes sociales. Asimismo, las sociedades científicas deben comunicar a la población de los peligros de las pseudociencias mediante eventos científicos y comunicados en un lenguaje claro y entendible.

***Mario Ceroni Galloso***  
***Presidente ACS PERU CHAPTER***

## AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE UN COMPUESTO NITROGENADO Y DEL HAEMATOMATO DE ETILO DEL LIQUEN *Everniopsis trulla*

O.N. Castro M.<sup>1\*</sup>, J. Santiago<sup>2</sup>, J. Álvarez<sup>2</sup>

### RESUMEN

Del extracto clorofórmico del líquen peruano *Everniopsis trulla*, fueron aislados cuatro metabolitos, siendo tres ya reportados en la literatura (ácido úsnico, atranorina, haematomato de etilo) y uno nuevo, los cuales fueron identificados y elucidados por técnicas espectroscópicas monodimensionales (RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, DEPT) y bidimensionales (COSY, HMBC y NOESY), espectrometría de masas y espectroscopia UV e IR. Este trabajo es el primer estudio químico del líquen *Everniopsis trulla*.

**Palabras clave:** ácido úsnico, atranorina, *Everniopsis trulla*, haematomato de etilo, líquen.

### ABSTRACT

The chloroform extract of the Peruvian lichen *Everniopsis trulla*, were isolated four metabolites, being three already reported in the literature (usnic acid, atranorin, Ethyl haematommate) and a new, which were identified and elucidated by one-dimensional spectroscopic techniques (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR DEPT) and two-dimensional (COSY, HMBC and NOESY), mass spectrometry and IR and UV spectroscopy. This work is the first chemical study of lichen *Everniopsis trulla*.

**Key words:** usnic acid, atranorin, *Everniopsis trulla*, ethyl haematommate, lichen.

### INTRODUCCIÓN

El líquen es un organismo simbiótico conformado por un hongo (micobionte) y un alga (ficobionte), donde el hongo se encarga del abastecimiento del agua y sales minerales mientras que el alga provee los productos fotosintéticos como los glúcidos. Los líquenes producen productos intracelulares, incluyendo proteínas, aminoácidos, carotenoides, polisacáridos y vitaminas, además producen metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos,

---

<sup>1\*</sup> Estudiante egresado del Doctorado en Ciencias Químicas, en la Escuela de Posgrado, Facultad de Química, de la UNMSM, ninocastro\_2005@yahoo.com

<sup>2</sup> Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM.

los cuales se acumulan en talos del líquen (dépsidos, depsidonas, dibenzofuranos y ácidos úsnicos); este grupo de compuestos se considera propio de los líquenes<sup>1</sup>, aunque también se han encontrado moléculas heterocíclicas con heteroátomo de nitrógeno<sup>2,3</sup>.

En el Perú, se tiene una gran variedad de especies liquénicas distribuidas en una diversidad de pisos botánicos; se les puede encontrar al nivel del mar o en zonas muy altas típicamente serranas. Según referencias bibliográfica actuales, el papel más importante que desempeñan los líquenes, en relación a los seres humanos, es el de bioindicadores de la contaminación del ambiente; además, tienen propiedades farmacológicas, capacidad quelante, acción sobre reacciones fotoquímicas ligadas a cationes y usado también como pigmento<sup>3,4</sup>.

El líquen *Everniopsis trulla* (*E. trulla*), tiene un talo gris a marrón pálido, que se adjunta por disco adhesivo basal; tiene, además, lóbulos en forma de cinta, dicotómicamente ramificados, de 2-3 mm de ancho, canaliculados. Las rizinas, cilios, isidios y soredios están ausentes<sup>5</sup>. La *E. trulla*, crece en Cajamarca, Ancash y Cusco<sup>6</sup>. Ramaut<sup>7</sup> *et al*, en 1978, realizaron cromatografía de capa delgada CCD del extracto etanólico de dos líquenes *Everniopsis trulla* (recolectada de Zaire-África y de Apurímac-Perú) y compararon con sustancias patrones. Cabe mencionar que ellos contaron con apenas un gramo de muestra vegetal, justificando su estudio solo por CCD. Según este artículo, la *Everniopsis trulla* contiene ácido úsnico, atranorina, cloroatranorina y dos componentes no identificados. Elix<sup>8</sup>, en 1993, hizo una revisión de todos los géneros de la familia Parmeliaceae incluyendo información sobre las características básicas para cada especie. Para el caso de la especie *E. trulla* (Ach.) Nyl., relató que contiene atranorina y ácido úsnico en la parte superficial del talo mientras que en las paredes celulares hay polisacáridos no determinados, triterpenos y  $\beta$ -orcinol depsidonas en la parte medular del líquen. El ácido úsnico y la atranorina ya fueron identificados en diferentes especies de líquenes, como por ejemplo en *E. trulla*<sup>6</sup>, *Cladina*, *Stereocaulon*, etc.<sup>7,8</sup>

El objetivo de la presente investigación es aislar algunos metabolitos del líquen *Everniopsis trulla*.

## PARTE EXPERIMENTAL

**Recolección y secado de la muestra.** La especie liquénica completa se colectó en el departamento de Ancash, provincia de Asunción, distrito de Chacas, pueblo de Canchas, a una altitud 3427 msnm. El líquen *Everniopsis trulla* fue identificado por la Dra. Magda Chanco, del Museo de Historia Natural - UNMSM. La muestra vegetal fue secada en una estufa (Memmert ®) a 40 °C, durante cinco días, se molió con un molino de casa y finalmente fue tamizado con malla 10.

**Extracción y aislamiento de compuestos.** Un kilogramo de líquen seco y molido fue macerado con 6 litros de cloroformo, por un periodo de tres días, con dos repeticiones, obteniéndose un volumen de 3,5 litros; este extracto se concentró hasta 400 mL y se dejó en reposo, a 0°C por 24 horas. Transcurrido el tiempo, se observó la precipitación de un sólido

crystalino amarillo, el cual fue separado por filtración y el extracto orgánico fue reservado. El sólido amarillo fue recrystalizado hasta obtener cristales de color amarillo A (120 mg, 0,012%). El extracto orgánico fue evaporado a presión reducida hasta sequedad (se obtuvo 31,2 gramos, 3,12%) y se realizó una columna cromatográfica en columna (CC) bajo las siguientes condiciones:

Fase estacionaria:	Sílica gel para CC, malla 230
Datos de la columna:	Diámetro: 3,5 cm x 50 cm de largo; la columna rellena fue de 40 cm.
Fase móvil: Sistema:	CHCl <sub>3</sub> -MeOH (0:10, 1:9, 2:8..... 9:1, 10:0) de cada sistema el volumen fue de 300 mL
Características de la fracción:	Cada fracción fue de 20 mL en tubos de ensayo, en total se obtuvieron 160 fracciones de un volumen aproximado de 20 mL.

Luego, las diferentes fracciones se agrupan teniendo en cuenta los resultados de las CCD realizadas a cada fracción, así se obtuvieron siete fracciones importantes: F1: tubo 3-14; F2: tubo 15-43; F3: tubo 44-71; F4: tubo 72-99; F5: tubo 100-123; F6: 124-141; F7: tubo 142-160. Cada fracción se recrystaliza empleando diferentes sistemas de solventes como el CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>-MeOH, acetona-MeOH y MeOH; se verifica su pureza realizando una cromatografía en capa delgada (CCD), usando cromatofolios de sílica gel bajo el sistema tolueno – AcOEt – ácido acético glacial (6:4:1), revelando con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10%) en MeOH, los resultados se encuentran en la tabla 1.

**Reactivos y equipos.** Para aislamiento se utilizaron los reactivos CHCl<sub>3</sub>, acetona, metanol, tolueno, etanol, ácido acético glacial y ácido sulfúrico de grado reactivo (Merck, Darmstadt, Germany), cromatofolios de sílica gel de Merck. Los equipos empleados son espectrofotómetro IR-FT Cary spectrometer, espectrofotómetro UV-visible Lambda 25 Perkin Elmer de la UNMSM; espectrómetro de resonancia nuclear RMN Bruker Avance de 400 MHz de la Universidade Estadual de Campinas (SP-Brasil); espectrómetro de masas Applied Biosystems QSTAR XL de la Universidad de Salamanca de España.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La muestra vegetal (1 kg) del líquen peruano *E. trulla*, previamente seca y molida, fue sometida a extracción con cloroformo, rindiendo 31,2 g de extracto cloroformico (3,12%) y un sólido cristalino amarillo (1,2 gramos). Seguidamente, se realizó cromatografía de columna (CC) al extracto cloroformico, donde se obtuvo 160 fracciones y luego agrupadas en siete fracciones según la CCD.

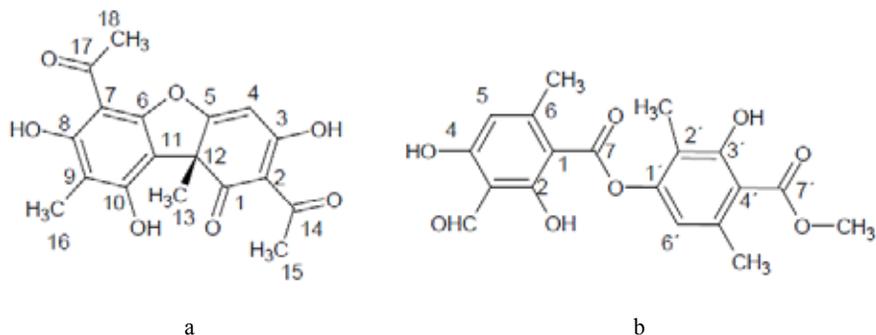
**Tabla 1.** Fracciones obtenidas por CC del extracto clorofórmico de *E. trulla*

FRACCIÓN	Masa
F1	A: 30 mg
F2	B: 103, C: 550 mg
F3	D: 40 mg
F4	E: 34 mg; F: 14 mg
F5	F: 60 mg
F6	G: 55 mg; H: 22 mg
F7	H: 37 mg

A continuación se discute la elucidación estructural de los cuatro compuestos aislados (A, B, C y D).

**Compuesto A.** Es un cristal de color amarillo, soluble en cloroformo y acetona, parcialmente soluble en etanol e insoluble en agua y tiene un punto de fusión de 202,5 °C. El compuesto **A** fue cromatografiado en capa fina usando el sistema de solvente (tolueno/acetato de etilo/ácido acético glacial 6:4:1v/v/v), y se asperjó con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en MeOH 10%, observándose una sola mancha con un R<sub>f</sub> de 0,46 idéntico al de la sustancia patrón de ácido úsnico. Se midió la rotación óptica del compuesto, calculándose el  $[\alpha]_D^{25}$  a 25°C de + 492, en cloroformo (c = 0,52). Según el espectro IR, el sólido **A** presenta los grupos funcionales OH, COOH, CHO, C-O-C. El espectro ultravioleta visible (UV/VIS) tiene dos bandas bien definidas cuyas máximas absorciones son 233 y 283 nm. Los espectros de RMN-H<sup>1</sup> y RMN-C<sup>13</sup> del sólido **A** mostraron señales características del dibenzofurano ácido úsnico C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>, (figura 1) aislado de varios líquenes<sup>4,9-11</sup>.

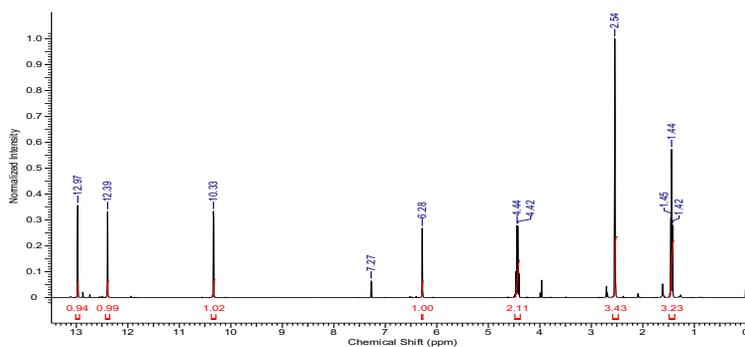
**Compuesto B.** El cristal de color blanco con punto de fusión de 198°C, soluble en CHCl<sub>3</sub> poco soluble en MeOH y acetona, reacciona con KOH formando una solución amarilla y con FeCl<sub>3</sub> dio rojo marrón, característico de los dépsidos. En el espectro UV-vis se observó dos bandas características, cuyas máximas longitudes de absorción son: 217 y 266 nm. El espectro de RMN-H<sup>1</sup> reveló la presencia de cuatro singuletes atribuidos a grupos metilos en  $\delta$  2,1 y 2,7 ppm (metilos aromáticos), en  $\delta$  2,5 ppm (COMe) y en  $\delta$  3,9 ppm (COOMe); asimismo, fueron observados dos singuletes en  $\delta$  6,4 y 6,5 ppm designados a dos protones aromáticos. Los singuletes en  $\delta$  11,9, 12,5 y 12,6 ppm fueron atribuidos a un protón de aldehído, y 2 protones oxidrilos. En el espectro RMN-C<sup>13</sup> fueron identificados diecinueve carbonos diferentes. Con los datos obtenidos, se propone que el compuesto **B** es el dépsido atranorina, que fue aislado y elucidado de otras especies de líquenicas<sup>4,7,9,10</sup>.



**Figura 1. (a)** Estructura del compuesto A **(b)** Estructura del compuesto B

**Compuesto C.** Es un cristal en forma de agujas con punto de fusión 103 oC. En el espectro IR se identificaron algunos grupos funcionales a partir de sus bandas de absorción como OH a 3478  $\text{cm}^{-1}$ , CH y  $\text{CH}_3$  a 2997  $\text{cm}^{-1}$ ; C=O a 1651  $\text{cm}^{-1}$ . En la figura 2 se muestran los desplazamientos para los diferentes tipos de hidrógenos.

El espectro de RMN- $\text{C}^{13}$  (figura 3), presenta once picos atribuidos a once carbonos diferentes. En base a los datos espectroscópicos de RMN- $\text{H}^1$  y  $\text{C}^{13}$ , se propone que el compuesto C se trata del compuesto conocido 2,4-dihidroxi-3-formil-6-metilbenzoato de etilo (figura 4).<sup>3,9,10</sup>



**Figura 2.** Espectro de RMN- $\text{H}^1$  del compuesto C

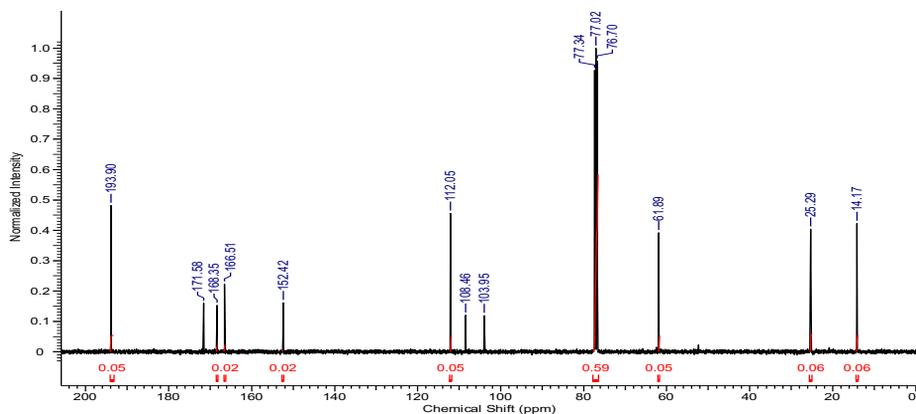


Figura 3. Espectro de RMN- $H^1$  del compuesto C

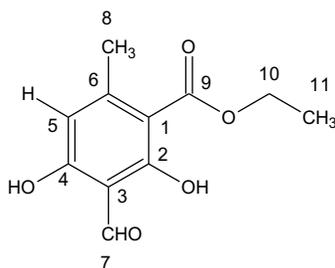


Figura 4. Estructura del compuesto C

**Compuesto D.** Es un cristal de color blanco que cristaliza en forma de hilos, cuyo punto de fusión es de  $112^{\circ}\text{C}$  y es soluble en  $\text{CHCl}_3$ , acetona y metanol. No reacciona con  $\text{KOH}$  ni con  $\text{FeCl}_3$ , sugiriendo que no se trata de un dépsido ni de una depsidona. En el espectro de RMN-H, figura 5, se observan los diferentes hidrógenos, que en forma resumida estos datos están en la tabla 2.<sup>9,10</sup>

En el espectro de RMN- $\text{C}^{13}$ , figura 6, se observan los 11 carbonos, como a los metilos a 14,32 y 25,46 ppm; un grupo metileno a 62,04 ppm y grupo aldehído a 194,04 ppm, etc. Ver tabla 2.

**Tabla 2.** Datos de RMN- $H_1$  y RMN- $C^{13}$  del compuesto **D**

Nro. Posición	H	Características del H	C	Características del C
1	-	-	166,65	-C=O
2	12,97	s, 1H	-	
3	-	-	168,48	-C=O
4	-	-	104,08	=C-
5	-	-	152,56	=CH
6	12,39	d, J=0,8Hz, 1H	-	
7	2,54	-	25,46	CH <sub>3</sub>
1'	-	-	108,60	=C-
5'	6,28	t, J=0,8 Hz, 1H	112,19	=CH
7'	-	-	171,72	-C=O
8'	10,33	d, J=0,6Hz, 1H	194,04	CHO
1''	4,43	q, J=7,1 Hz, 2H	62,04	-CH <sub>2</sub> -
2''	1,43	t, J= Hz, 3H	14,32	CH <sub>3</sub>

En las figuras 7 - 10, se observan los espectros bidimensionales como el COSY, lo cual revela que el H del C1'' está acoplado con el H del C2''. Del espectro HMBC, tenemos los acoplamientos de C1 con los hidrógenos de los dos nitrógenos adyacentes N2 y N6; también se observa el acoplamiento de estos mismos con el C4. En el espectro HSQC se observa la relación directa de cada hidrógeno con su carbono: H-C7, H-C5' y H-C9'. Finalmente, el espectro NOESY confirma las relaciones obtenidas de los diferentes espectros 2D, siendo lo más evidente la relación del H-C7. La información revelada por NOESY corrobora la estructura química propuesta.

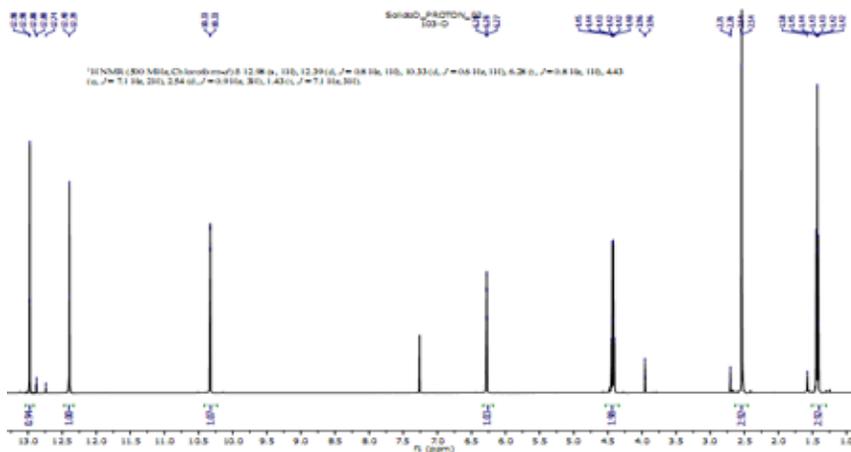


Figura 5. Espectro de RMN-H del compuesto D

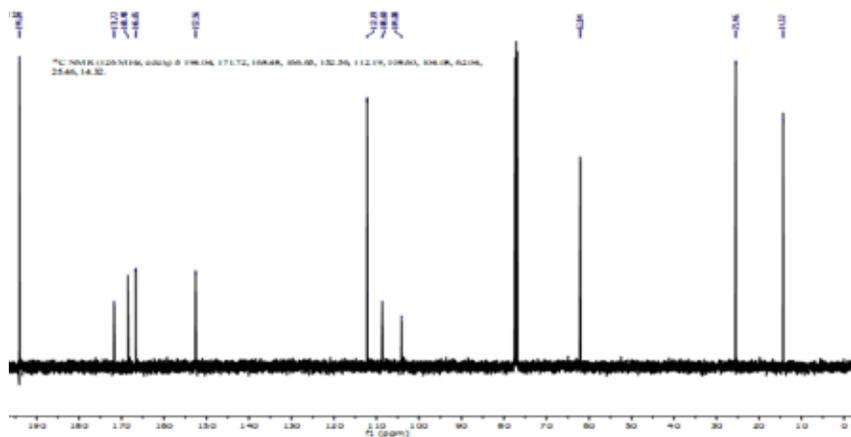
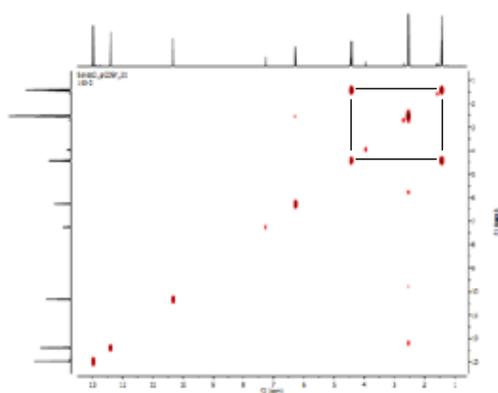


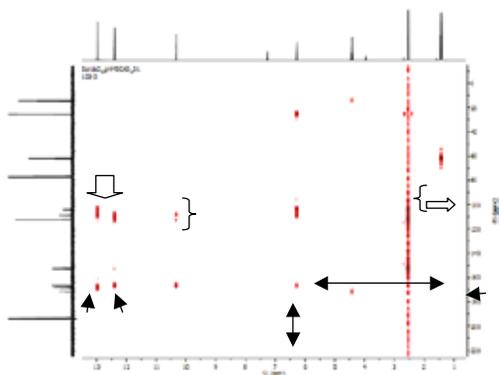
Figura 6. Espectro de RMN-C<sup>13</sup> del compuesto D

En la figura 11 se observa el espectro de masas e indica la masa molecular y la fórmula molecular del compuesto D, el cual es: C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, con un m/z de 293,0993; y la estructura química propuesta está en la figura 12. En la figura 13 se tienen las interacciones de los diferentes átomos en base a los datos de los espectros bidimensionales, ver tabla 3. Por otro lado, se hizo una búsqueda en la base de datos de Science Finder y la estructura propuesta para D no está registrada. Esta última información confirma que el compuesto D es inédito<sup>9,10</sup>.

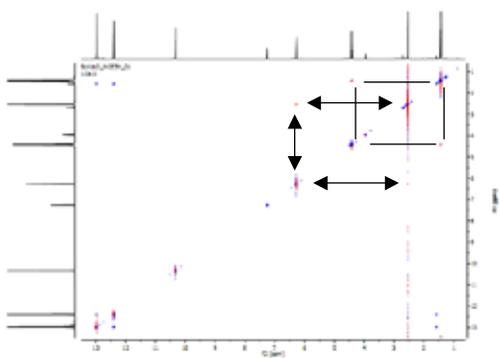
**Tabla 3.** Datos de RMN- $H^1$ , RMN- $C^{13}$  y sus interacciones según los espectros bidimensionales del compuesto **D**

Nro. posición	H	COSY	HMBC	HSQC	NOESY
1	-	-	-	-	-
2	12,97	-	168,48	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	12,39	-	166,65	-	-
7	2,54	-	-	25,46	6,28
1'	-	-	-	-	-
5'	6,28	-	108,60; 166,65	112,19	2,54
7'	-	-	-	-	-
8'	10,33	-	166,65; 112,19; 108,60	194,04	-
1''	4,43	1,43	168,48; 14,32	62,04	1,43
2''	1,43	4,43	-	14,32	4,43

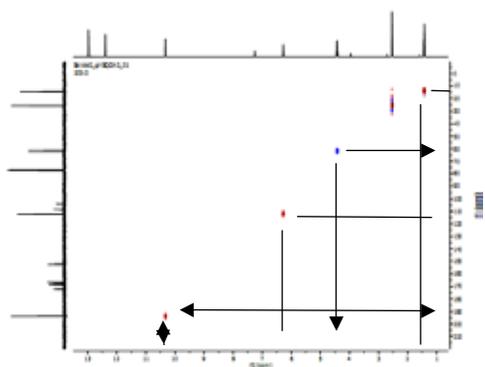
**Figura 7.** Espectro COSY H-H del compuesto **D**



**Figura 8.** Espectro HMBC del compuesto **D**



**Figura 9.** Espectro NOESY del compuesto **D**



**Figura 10.** Espectro HSQC del compuesto **D**

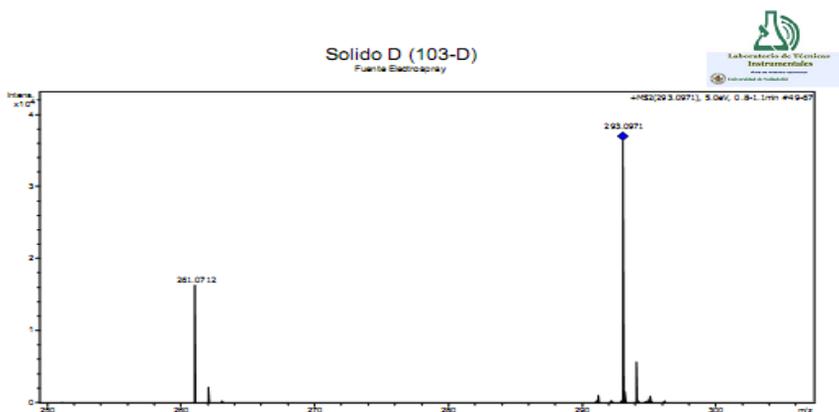


Figura 11. Espectro de masas del compuesto D

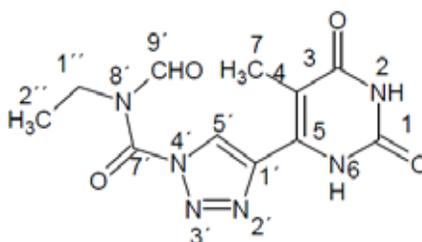


Figura 12. Estructura del compuesto D

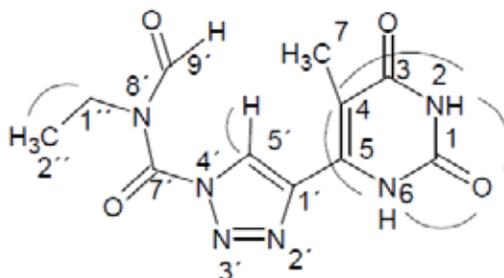


Figura 13. Estructura química del compuesto D con los acoplamientos

## CONCLUSIONES

Se realizó un estudio fitoquímico preliminar de la especie *Everniopsis trulla*, donde se aislaron y elucidaron tres compuestos conocidos, como son el ácido úsnico, la atranorina, el 2,4-dihidroxi-3-formil-6-metilbenzoato de etilo o haematomato de etilo y un heterocíclico nuevo, en base a los datos espectroscópicos de RMN mono y bidimensionales, espectros de masas y espectros UV e IR.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece a la Dra. Magda Chanco, por la identificación botánica; a la Dra. María Caramantín Soriano por los análisis de RMN, al Dr. Arturo San Feliciano por los análisis de espectrometría de masas; y al Dr. Carlos Areche (Universidad de Chile) por los espectros de RMN  $H^1$  y  $C^{13}$ .

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kika N, Vilegas WA. Química dos líquenes. Química Nova – Brasil. 1998; 21: 110 – 124.
2. Vila J, Mollamedo P, Flores Y. 1,3,7-trimetilguanina from the lichen *Stereocaulon ramulosum*. Rev Bol Quím. 2008; 25(1): 1-3.
3. Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin: Ed. Springer-Verlag GmbH; 1996.
4. Zambare VP, Christopher LP. Review article: biopharmaceutical potential of lichens. Pharm Biol. 2012; 50(6): 778-798.
5. Elix, JA. Progress in the generic delimitation of *Parmelia sensu lato* lichens (Ascomycotina: Parmeliaceae) and a Synoptic key to the Parmeliaceae. The Bryologist. 1993; 96(3): 359-383.
6. Ramos D. Lista de especies de líquenes y hongos liquenícolas del Perú. Glalia. 2014; 6(2): 16.
7. Ramaut JL, Brouers M, Serusiaux E, Corvisier M. Separation of mixtures of atranorina and chloroatranorin by thin layer chromatography. J Chromatogr. 1978; 155: 450-453.
8. Seo C, Hak SJ, Min PS, Han YJ, Kum LH, Oh H. Usimines A-C, bioactive usnic acid derivatives from the antarctic lichen *Stereocaulon alpinum*. J Nat Prod. 2008; 71: 710-712.
9. Silverstein R M. Spectrometric identification of organic compounds. 6th Edition. New York: John Wiley; 1997.
10. Pretsch E. Structure determination of organic compounds: tables of spectral data. New York: Springer; 2009.
11. Rashid M, Majid M, Quader M. Complete NMR assignments of (+) usnic acid, Fitoterapia, 1999; 70(1): 113-115.

## A MILD PROCEDURE FOR THE SYNTHESIS OF ALLYL AND BENZYL $\alpha$ -HYDROXYESTERS USING *O*-ALLYL(BENZYL)-*N,N'*-DICYCLOHEXYLSOUREA

Elvis Robles-Marín, César A. Sánchez and Juan-Manuel Urbina-González\*

### ABSTRACT

Allyl protecting group and more commonly used benzyl protecting group were easily introduced in several (cyclo)alkyl  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acids through a modified Steglich esterification using *O*-allyl or *O*-benzyl-*N,N'*-dicyclohexylisoureas. Corresponding esters were prepared under mild conditions and short reaction times; high reaction yields and easy purification of final products favored this procedure. Complete unambiguous assignment for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR data for prepared compounds is given.

**Key words:** Dicyclohexylcarbodiimide (DCC), *O*-allylisourea,  $\alpha$ -hydroxyallylester, *O*-benzylisourea,  $\alpha$  hydroxybenzylester

## UN PROCEDIMIENTO “SUAVE” PARA LA SÍNTESIS DE DIVERSOS ALIL Y BENCIL $\alpha$ -HIDROXIÉSTERES EMPLEANDO *O*-ALIL(BENCIL)-*N,N'*-DICICLOHEXILISOUREA

### RESUMEN

Los grupos protectores alilo y bencilo fueron fácilmente adicionados sobre una serie de ácidos (ciclo)alquil  $\alpha$ -hidroxicarboxílicos mediante una modificación a la esterificación de Steglich, utilizando *O*-alil y *O*-bencil-*N,N'*-díciclohexilisoureas. Los alil y bencil ésteres fueron preparados bajo condiciones suaves, en cortos tiempos de reacción; los rendimientos elevados y la alta pureza de los productos favorecen este procedimiento. Se presenta, además, la asignación completa de las señales de RMN para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los compuestos sintetizados.

**Palabras clave:** Díciclohexilcarbodiimida (DCC), *O*-alilisourea,  $\alpha$ -hidroxialiléster, *O*-bencilisourea,  $\alpha$ -hidroxibenciléster

---

\* Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio), Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Código Postal 680002, Carrera 27 Calle 9, Ciudad Universitaria, Bucaramanga, Colombia. jurbina@uis.edu.com

## INTRODUCTION

Esterification of carboxylic acids is a fundamental transformation in organic chemistry and several methods exist for that purpose.<sup>1</sup> Mild high yielding procedures for the formation of carboxylic acid esters are desirable and necessary for the synthesis of many highly functionalized and sensitive compounds of current chemical interest. In the field of peptide synthesis, for example, the nature of the N-terminus and side chain protecting groups precludes the use of many normal esterification procedures. With other complex organic compounds, degradation and side reactions with common procedures may reduce the yield and purity of the desired esters. Some reagents or procedures have inherent undesirable characteristics (*e.g.*, the danger of explosion with diazomethane) or form difficult-to-remove impurities (*e.g.*, the N-acylureas formed in the *one-pot* carbodiimide method).

Esterification of  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acids is a particular case due to the dual existence of reactive groups in the molecule. For this particular process potassium and caesium salts have proved useful. The CsF promoted esterification of  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acids described by Otera *et al.* is a good way to gain esters using alkyl bromides. The reaction is usually carried out under mild conditions and shows less racemization than the Mitsunobu esterification.<sup>2,3</sup> Correspondingly TCNE (tetracyanoethylene) can be used as a catalyst for the selective synthesis of  $\alpha$ -hydroxyesters according to a procedure first described by Masaki *et al.*<sup>4</sup> Particularly an iron (III) acetylacetonate complex was used as catalyst for direct condensation of mandelic acid and benzhydrol.<sup>5</sup> An enzyme mimicking catalytic esterification of  $\alpha$ -hydroxyacids by alcoholysis of their salicylaldehyde acetals was reported as a significant green alternative.<sup>6</sup>

In search of safety and optimal procedures for the preparation of allyl and benzyl  $\alpha$ -hydroxyesters as synthons of more complex derivatives, here is presented the use of *O*-allyl and *O*-benzyl-*N,N'*-dicyclohexylisourea as mild esterification agents of  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acids, which molecular data has not been appropriately reported.<sup>7,8</sup> The use of this methodology, easy product purification and high reaction yields are important issues to consider when using allyl or benzyl protecting groups.

## EXPERIMENTAL PART

NMR spectra were recorded on a *Bruker AM – 300* (300,13 MHz for <sup>1</sup>H-NMR and 75,48 MHz for <sup>13</sup>C – NMR) or a *Bruker Avance 400* (400,16 MHz for <sup>1</sup>H and 100,62 MHz for <sup>13</sup>C) spectrometers, with solutions in CDCl<sub>3</sub> or acetone-*d*<sup>6</sup> with TMS as internal standard (0 ppm). Unambiguous peak assignments were aided by DQF-COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H and GS-HSQC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C correlation experiments. All coupling constants (*J*) are quoted in Hertz (Hz).

IR spectra were recorded on a *Perkin – Elmer Spectrum One* spectrometer with an additional *ATR cell*. Intensities were automatically determined using ACD/SpecViewer v.4.53 (Advanced Chemistry Development Inc.) with relative intensity intervals (% of maximum

height) as Very Weak (VW) 0% - 10%, Weak (W) 10% - 30%, Medium (M) 30% - 60%, Strong (S) 60% - 90% and Very Strong (VS) 90% - 100%.

Mass spectra were recorded under EI conditions (70 eV) with previous gas chromatographic analysis on a *Finnigan MAT – 8500* spectrometer coupled with a *Hewlett Packard 5890 Series II* GC unit.

Melting points were recorded using an *Electrothermal 9100* apparatus.

Analytical gas chromatography was performed using a *Packard United Technologies Gas Chromatograph* Model 438S with DB – 5 silica column (30 m length and 0,32 mm diameter - J&W Scientific) 80 °C injection port, 3 °C / min to 280 °C coupled to a Shimadzu C-R3A as integrator.

Column chromatography was realized using Merck silica gel 60, particle size 0,063-0,2 mm (70-230 mesh); thin layer chromatography (TLC in SiO<sub>2</sub> plates: POLYGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub>) was visualized with UV light (254 nm) and by heating after spraying with an aqueous developing solution (100 mL) of 1 g CeSO<sub>4</sub>, 6 mL conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 2,5 g 12MoO<sub>3</sub>-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O.

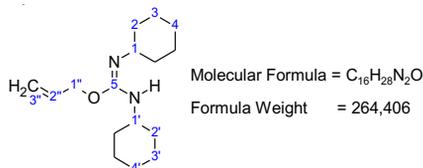
DCC, benzyl and allyl alcohols as well as *n*-alkyl  $\alpha$ -hydroxyacids were purchased from commercial sources (Aldrich, Merck); cycloalkyl  $\alpha$ -hydroxyacids were prepared from the corresponding ketones by known procedures; solvents as THF, toluene, benzene and diethyl ether were purified by distillation after refluxing them over sodium under an argon atmosphere; for methylenchloride CaH<sub>2</sub> was used. For methanol and ethanol, Mg turnings (2,5 g in 500 mL) were used. Ethyl acetate was dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR data is given due to literature references lack of detailed information; numbers on structures are given in order to have a complete, unequivocal assignment and easier comparison between compounds and their <sup>13</sup>C NMR signals.

## 1. Synthesis of *O*-Alkyl-*N,N'*-dicyclohexylisoureas

### *O*-Allyl-*N,N'*-dicyclohexylisourea (**3a**)

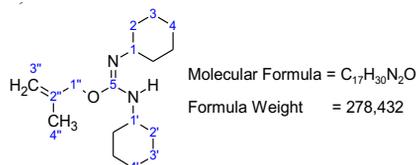
*General experimental procedure:* In a round bottom flask 10,0 g (172 mmol) of allyl alcohol were added to 35,0 g (172 mmol) of DCC under argon; 0,04 g (0,29 mmol) of CuCl<sub>2</sub> were added as catalyst. The mixture was stirred at 40 °C until the imide band ( $\alpha = 2119$  cm<sup>-1</sup>) disappeared in IR (usually after 24 h). The crude product was pre-purified from the copper salts and secondary compounds in an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> column chromatography using *n*-hexane / diethyl ether (9/1) as eluent. The product was then purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (10/1) to (5/1) gradient mixture as eluent.  $R_f$ (SiO<sub>2</sub>) = 0,42 (*n*-hexane : diethyl ether, 1 : 1, v : v). The pure product appears as colourless oil. Yield: 94% (42,7 g, 161 mmol).  $R_f$ (SiO<sub>2</sub>) = 0,42 (*n*-hexane : diethyl ether, 1 : 1, v : v).



*IR (ATR)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3447 (VW) [v (N-H)], 2924 (S) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 1662 (VS) [v (C=N)], 1311 (S) [v (C-O-C)], 1055 (M) [v (C-O)], 919 (M) [v (=C-H allyl)], 887 (M) [v (=CH<sub>2</sub>)], 710 (W) [v (C-H allyl)]; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 0,95-1,38 (m, 10H, 2-H<sub>ax</sub>, 2'-H<sub>ax</sub>, 3-H<sub>ax</sub>, 3'-H<sub>ax</sub>, 4-H<sub>ax</sub>, 4'-H<sub>ax</sub>), 1,50-1,78 (m, 8H, 2'-H<sub>eq</sub>, 3-H<sub>eq</sub>, 3'-H<sub>eq</sub>, 4-H<sub>eq</sub>, 4'-H<sub>eq</sub>), 1,83-1,97 (m, 2H, 2-H<sub>eq</sub>), 2,70 (m, 1H, 1'-H<sub>ax</sub>), 3,35 (m, 1H, 1-H<sub>ax</sub>), 4,51 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,35 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 2H, 1''-H), 5,11 (dq, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,65 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3''-H<sub>cis</sub>), 5,25 (dq, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,29 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,65 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3''-H<sub>trans</sub>), 5,91 (m, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,35 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,29 Hz, 1H, 2''-H); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 25,67 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 25,91 (CH<sub>2</sub>, 3-C), 26,36 (CH<sub>2</sub>, 4'-C), 26,65 (CH<sub>2</sub>, 4-C), 34,37 (CH<sub>2</sub>, 2-C), 34,43 (CH<sub>2</sub>, 2'-C), 50,24 (CH, 1-C), 54,77 (CH, 1'-C), 65,51 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 115,81 (CH<sub>2</sub>, 3''-H), 134,11 (CH, 2''-C), 150,97 (C<sup>q</sup>, 5-C); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 264 (7) [M<sup>+</sup>], 221 (8) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>, 182 (27) [M-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 167 (100) [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 139 (11) [M<sub>167</sub>-CO]<sup>+</sup>, 124 (11) [M<sub>182</sub>-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 98 (89) [C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup>], 83 (37) [C<sub>6</sub>H<sub>11</sub><sup>+</sup>].

### 1,3-Dicyclohexyl-2-(2-methyl-allyl)-isourea (**3b**)<sup>9</sup>

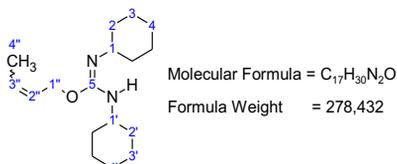
Colourless oil (4,86 g, 17,4 mmol, 90%) from 1,40 g (19,4 mmol) of 2-methyl-2-propen-1-ol and 4,0 g (19,4 mmol) of DCC; 0,04 g (0,29 mmol) of CuCl<sub>2</sub> were added as catalyst. The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 day (controlled via IR). The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using n-hexane / diethyl ether (10/1) to (5/1) gradient mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,55 (n-hexane : diethyl ether, 2 : 3, v : v).



*IR (ATR)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3443 (VW) [v (N-H)], 3079 (VW) [v (=C-H)], 2925 (S) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 2852 (S) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 1665 (VS) [v (C=N)], 1449 (M) [v (C-H)], 1316 (S) [v (C-O-C)], 889 (S) [v (=C-H)]; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 1,05 (m, 2H, 2-H<sub>ax</sub>), 1,24 (m, 2H, 2'-H<sub>ax</sub>), 1,10-1,35 (m, 6H, 3-H<sub>ax</sub>, 3'-H<sub>ax</sub>, 4-H<sub>ax</sub>, 4'-H<sub>ax</sub>), 1,70 (m, 2H, 2'-H<sub>eq</sub>), 1,50-1,75 (m, 6H, 3-H<sub>eq</sub>, 3'-H<sub>eq</sub>, 4-H<sub>eq</sub>, 4'-H<sub>eq</sub>), 1,74 (s, 3H, 4''-H), 1,91 (m, 2H, 2-H<sub>eq</sub>), 2,74 (br. s., 1H, 1'-H<sub>ax</sub>), 3,41 (m, 1H, 1-H<sub>ax</sub>), 3,47 (br. s., 1H, N-H), 4,42 (s, 2H, 1''-H), 4,82 (s, 1H, 3''-H<sub>cis</sub>), 4,94 (s, 1H, 3''-H<sub>trans</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 19,72 (CH<sub>3</sub>, 4''-C), 25,01 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 25,25 (CH<sub>2</sub>, 3-C), 25,67 (CH<sub>2</sub>, 4'-C), 25,95 (CH<sub>2</sub>, 4-C), 34,44 (CH<sub>2</sub>, 2'-C, 2-C), 50,43 (CH, 1'-C), 54,85 (CH, 1-C), 68,09 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 110,83 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 141,70 (C<sup>q</sup>, 2''-C), 151,09 (C<sup>q</sup>, 5-C); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 278 (4) [M<sup>+</sup>], 263 (1) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 181 (88) [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N]<sup>+</sup>, 110 (39) [M<sub>181</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 98 (100) [C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NH<sub>2</sub><sup>+</sup>], 83 (54) [C<sub>6</sub>H<sub>11</sub><sup>+</sup>], 55 (92) [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 41 (48) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>].

**2-But-2-enyl-1,3-dicyclohexylisourea (3c)**

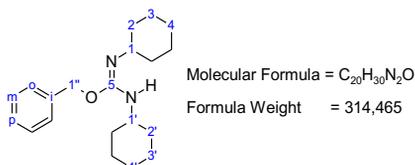
Yellowish oil (25,16 g, 90,3 mmol, 65%) from 10,0 g (139 mmol) of crotyl alcohol and 28,0 g (136 mmol) of DCC; 0,04 g (0,29 mmol) of  $\text{CuCl}_2$  were added as catalyst. The resulting mixture was stirred at 40 °C for 2d (controlled via IR). The product was purified filtering the mixture in a small pad of  $\text{Al}_2\text{O}_3$  using *n*-hexane / diethyl ether (2/3) mixture as eluent. The compound was unstable to be purified by column chromatography on  $\text{SiO}_2$ .



IR (ATR)  $\sigma$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3441 (W) [ $\nu$  (N-H)], 2827 (S) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 2853 (S) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 1664 (VS) [ $\nu$  (C=N)], 1448 (M) [ $\nu$  (C-H)], 1318 (S) [ $\nu$  (C-O-C)], 1034 (M) [ $\nu$  (C-O)], 966 (W) [ $\nu$  (=C-H)].

***O*-Benzyl-*N,N'*-dicyclohexylisourea (5)10**

Colourless oil (10,39 g, 33 mmol, 87%) from 4,10 g (38 mmol) of benzyl alcohol and 7,82 g (38 mmol) of DCC; 0,04 g (0,29 mmol) of  $\text{CuCl}_2$  were added as catalyst. The resulting mixture was stirred at 60 °C for 1d (controlled via IR). The product was purified by column chromatography on  $\text{SiO}_2$  using *n*-hexane / diethyl ether (10/1) to (5/1) gradient mixture as eluent.  $R_f$  ( $\text{SiO}_2$ ) = 0,30 (*n*-hexane : diethyl ether, 10 : 1,  $\nu$  :  $\nu$ ).

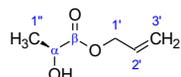


IR (ATR)  $\sigma$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3440 (VW) [ $\nu$  (N-H)], 3032 (VW) [ $\nu$  (=C-H)], 2928 (S) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 2853 (M) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 1665 (VS) [ $\nu$  (C=N)], 1055 (M) [ $\nu$  (C-O-C)], 734 (M) and 698 (S) [ $\nu$  (C-H arom. monosubstituted)];  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{TMS}_{int}$ )  $\delta$  (ppm) = 1,00-1,35 (m, 6H, 3- $\text{H}_{ax}$ , 3'- $\text{H}_{ax}$ , 4- $\text{H}_{ax}$ , 4'- $\text{H}_{ax}$ ), 1,10 (m, 2H, 2- $\text{H}_{ax}$ ), 1,35 (m, 2H, 2'- $\text{H}_{ax}$ ), 1,80 (m, 2H, 2'- $\text{H}_{eq}$ ), 1,50-1,85 (m, 6H, 3- $\text{H}_{eq}$ , 3'- $\text{H}_{eq}$ , 4- $\text{H}_{eq}$ , 4'- $\text{H}_{eq}$ ), 1,95 (m, 2H, 2- $\text{H}_{eq}$ ), 2,87 (br. s., 1H, 1'- $\text{H}_{ax}$ ), 3,47 (m, 1H, 1- $\text{H}_{ax}$ ), 3,58 (br. s., 1H, N-H), 5,16 (s, 2H, 1''-H), 7,20-7,35 (m, 5H, arom-H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{TMS}_{int}$ )  $\delta$  (ppm) = 25,05 ( $\text{CH}_2$ , 3'-C), 25,28 ( $\text{CH}_2$ , 3-C), 25,78 ( $\text{CH}_2$ , 4'-C), 26,15 ( $\text{CH}_2$ , 4-C), 34,53 ( $\text{CH}_2$ , 2-C), 34,60 ( $\text{CH}_2$ , 2'-C), 50,43 (CH, 1-C), 54,91 (CH, 1'-C), 66,54 ( $\text{CH}_2$ , 1''-C), 127,28 (CH, *para*-C), 127,52 (CH, *ortho*-C), 128,21 (CH, *meta*-C), 138,29 ( $\text{C}^q$ , *ipso*-C), 151,15 ( $\text{C}^q$ , 5-C); MS (GC inlet, EI, 70 eV)  $m/z$  (%) = 314 (11) [ $\text{M}^+$ ], 223 (9) [ $\text{M}-\text{C}_7\text{H}_7$ ] $^+$ , 98 (100) [ $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NH}_2$ ] $^+$ , 91 (94) [ $\text{C}_7\text{H}_7$ ] $^+$ , 83 (21) [ $\text{C}_6\text{H}_{11}$ ] $^+$ , 55 (29) [ $\text{C}_4\text{H}_7$ ] $^+$ .

## 2. Synthesis of $\alpha$ -hydroxyallyl esters

### Allyl lactate (**7a**)<sup>11</sup>

*General experimental procedure:* In a 250 mL round bottom flask, 5,00 g (55 mmol) of lactic acid (commercial purchased acid contains about 20% water inside) were dissolved in 200 mL of benzene and 5 drops of concentrated sulphuric acid were added to the remaining solution as catalyst. A Dean – Stark apparatus was connected to trap the water by azeotropic distillation (5 hours). After the water was collected, 150 mL of benzene were distilled. The reaction mixture was cooled down to room temperature and 10,65 g (12,5 mL, 183 mmol) of allyl alcohol were added. Then the mixture was heated under reflux for 20 hours. The reaction flask was cooled to room temperature and the reaction mixture was extracted with diethyl ether from a NaHCO<sub>3</sub> solution (pH = 10) (4 x 50 mL) and the combined organic layers were dried over sodium sulphate. The solvent was removed by rotary evaporation and the resulting residue was purified by distillation under reduced pressure. The pure product appeared as a colourless oil. Yield: 50% (3,58 g, 27,5 mmol).  $R_f$  (SiO<sub>2</sub>) = 0,46 (*n*-hexane : diethyl ether, 2 : 3, v : v). b.p. = 60 °C / 8 mmHg – Kugelrohr.



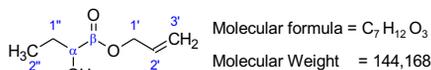
Molecular formula = C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>

Molecular Weight = 130,142

*IR (ATR)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3440 (W) [v (O-H)], 2987 (W) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 2942 (W) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 1735 (S) [v (C=O)], 1201 (S), 1123 (VS) [v (C-O)], 1043 (M) [v (C-O-C)], 924 (S) [v (C-H)]; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 1,34 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,86 Hz, 3H, 1''-H), 4,23 (q, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,86 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 4,57 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,77 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,24 Hz, 2H, 1'-H), 5,17 (dq, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,56 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,24 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>), 5,24 (dq, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,16 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,24 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>), 5,85 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,77 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,56 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,16 Hz, 1H, 2'-H); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 20,16 (CH<sub>3</sub>, 1''-C), 65,79 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 66,62 (CH, C- $\alpha$ ), 118,60 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 131,39 (CH, 2'-C), 175,17 (C<sup>q</sup>, C=O); *MS* (GC inlet, EI, 70 eV) *m/z* (%) = 131 (2) [M+H]<sup>+</sup>, 130 (2) [M<sup>+</sup>], 115 (29) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 112 (13) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 86 (20) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 57 (46) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 45 (100) [C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 43 (39) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>.

### 2-Hydroxybutanoic acid allyl ester (**7b**)

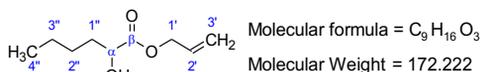
*General experimental procedure when using isoureas:* A solution of 2-hydroxybutanoic acid (10,66 g, 101,3 mmol) and O-allyl isourea **3a** (26,79 g, 101,3 mmol) in 400 mL dry THF was stirred in a Schlenk round bottom flask for 16 hours at 60 °C under argon atmosphere. The *N,N'*-dicyclohexylurea formed during the reaction was separated out by filtration and the product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (9/1) as eluent. Afterwards the product was distilled at 80 °C and 7 mmHg. The product appeared as a colourless oil. Yield: 73% (10,22 g, 70,9 mmol).  $R_f$  (SiO<sub>2</sub>) = 0.46 (*n*-hexane : diethyl ether, 2 : 3, v : v). b.p. = 80 °C / 7 mmHg – Kugelrohr.



*IR (ATR)*  $\sigma$  ( $cm^{-1}$ ) = 3474 (W) [v (O-H)], 2969 (W) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 2939 (W) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 1732 (VS) [v (C=O)], 1198 (S) [v (C-O-C)], 1128 (VS) [v (C-O)], 991 (S) [v (=C-H)], 932 (S) [v (C-H allyl)]; *<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 0,91 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,48 Hz, 3H, 2''-H), 1,56-1,74 (m, 1H, 1''-H), 1,70-1,88 (m, 1H, 1''-H), 2,96 (br. s., 1H, O-H), 4,13 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,68 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,60 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 4,62 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,77 Hz, 2H, 1'-H), 5,21 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>), 5,28 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,25 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>), 5,87 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,77 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,15 Hz, 1H, 2'-H); *<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 8,82 (CH<sub>3</sub>, 2''-C), 27,39 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 65,90 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 71,35 (CH, C- $\alpha$ ), 118,85 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 131,42 (CH, 2'-C), 174,78 (C<sup>q</sup>, C=O); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 145 (5) [M+H]<sup>+</sup>, 126 (2) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 115 (8) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 86 (3) [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 70 (21) [M<sub>126</sub>-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 59 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 57 (41) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 41 (95) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>].

### 2-Hydroxyhexanoic acid allyl ester (7c)

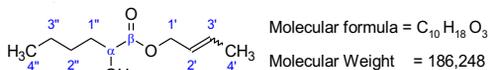
Colourless oil (6,95 g, 40,4 mmol, 97%) from 5,50 g (41,6 mmol) of 2-hydroxyhexanoic acid and 11,00 g (41,6 mmol) of *O*-allyl isourea **3a** dissolved in 250 mL of dry THF, stirring and refluxing for 16 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (95/5) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,77 (*n*-hexane : diethyl ether, 2 : 3, v : v). b.p. = 80 °C / 7 mmHg – Kugelrohr.



*IR (KBr)*  $\sigma$  ( $cm^{-1}$ ) = 3471 (M) [v (O-H)], 2958 (S) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 2869 (S) [v (-CH<sub>2</sub>-)], 1743 (VS) [v (C=O)], 1133 (S) [v (C-O-C)], 1084 (S) [v (C-O)], 988 (S) [v (=C-H)], 932 (M) [v (C-H allyl)]; *<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 0,89 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,08 Hz, 3H, 4''-H), 1,25-1,50 (m, 4H, 2''-H and 3''-H), 1,55-1,70 (m, 1H, 1''-H), 1,70-1,87 (m, 1H, 1''-H), 2,62 (br. s., 1H, O-H), 4,19 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,08 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,25 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 4,67 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,81 Hz, 2H, 1'-H), 5,28 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,39 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>), 5,35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,25 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>), 5,93 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,81 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,39 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,25 Hz, 1H, 2'-H); *<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 13,89 (CH<sub>3</sub>, 4''-C), 22,37 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 26,84 (CH<sub>2</sub>, 2''-C), 34,11 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 66,08 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 70,46 (CH, C- $\alpha$ ), 119,01 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 131,47 (CH, 2'-C), 175,13 (C<sup>q</sup>, C=O); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 173 (8) [M+H]<sup>+</sup>, 154 (3) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 127 (14) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 115 (3) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 87 (88) [M<sub>115</sub>-CO]<sup>+</sup>, 69 (100) [M<sub>127</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 57 (28) [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>], 43 (34) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>].

### (2*E*,*Z*)-But-2-enyl 2-hydroxyhexanoate (7d)

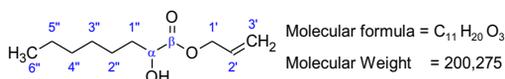
Colourless oil (16,70 g, 89,6 mmol, 98%) from 11,89 g (90 mmol) of 2-hydroxyhexanoic acid and 25,00 g (90 mmol) of *O*-(2-butenyl) isourea **3c** dissolved in 250 mL of dry THF, stirring and refluxing for 16 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (gradient from mixture 95/5 to only diethyl ether) as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,76 (*n*-hexane : diethyl ether, 2 : 3, v : v).



*IR* (KBr)  $\sigma$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3484 (M) [ $\nu$  (O-H)], 2954 (S) [ $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-)], 2865 (S) [ $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-)], 1735 (VS) [ $\nu$  (C=O)], 1454 (M), 1202 (S), 1134 (M) [ $\nu$  (C-O-C)], 1083 (S) [ $\nu$  (C-O)], 968 (S) [ $\nu$  (=C-H)]; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 0,79 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,14 Hz, 3H, 4''-H), 1,15-1,38 (m, 4H, 2''-H and 3''-H), 1,45-1,75 (m, 2H, 1''-H), 1,65 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,48 Hz, 3H, 4'-H), 3,11 (br. s., 1H, O-H), 4,07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,70 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,39 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 4,49 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,55 Hz, 2H, 1'-H), 5,41-5,53 (m, 1H, 2'-H), 5,63-5,77 (m, 1H, 3'-H); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 13,63 (CH<sub>3</sub>, 4''-C), 17,43 (CH<sub>3</sub>, 4'-C), 22,15 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 26,68 (CH<sub>2</sub>, 2''-C), 33,84 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 65,77 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 70,29 (CH, C- $\alpha$ ), 124,38 (CH, 2'-C), 131,79 (CH, 3'-C), 174,93 (C<sup>q</sup>, C=O); MS (GC inlet, EI, 70 eV)  $m/z$  (%) = 186 (4) [M<sup>+</sup>], 168 (3) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 114 (9) [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>, 87 (77) [C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sup>+</sup>], 69 (100) [M<sub>87</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 57 (34) [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>], 55 (81) [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 43 (37) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>].

### 2-Hydroxyoctanoic acid allyl ester (7e)

Colourless oil (5,10 g, 25,4 mmol, 82%) from 5,00 g (31,2 mmol) of 2-hydroxyoctanoic acid and 8,25 g (31,2 mmol) of *O*-allyl isourea **3a** dissolved in 200 mL of dry THF, stirring and refluxing for 16 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (4 / 1) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,30 (*n*-hexane : diethyl ether, 4 : 1,  $\nu$  :  $\nu$ ).

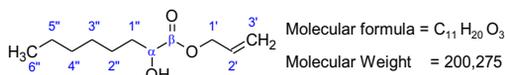


*IR* (ATR)  $\sigma$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3482 (W) [ $\nu$  (O-H)], 2955 (M) [ $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-)], 2927 (M) [ $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-)], 2859 (M) [ $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-)], 1734 (VS) [ $\nu$  (C=O)], 1457 (M), 1130 (S) [ $\nu$  (C-O-C)], 1088 (S) [ $\nu$  (C-O)], 985 (S) [ $\nu$  (=C-H)], 932 (S) [ $\nu$  (C-H allyl)]; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 0,82 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,00 Hz, 3H, 6''-H), 1,15-1,30 (m, 6H, 3''-H and 4''-H and 5''-H), 1,25-1,50 (m, 2H, 2''-H), 1,51-1,66 (m, 1H, 1''-H), 1,66-1,81 (m, 1H, 1''-H), 2,92 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,90 Hz, 1H, O-H), 4,16 (ddd, 1H, H- $\alpha$ ), 4,61 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,76 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,65 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, 2H, 1'-H), 5,21 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,23 Hz, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>), 5,28 (dt, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,29 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1,51 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 1,23 Hz, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>), 5,87 (ddt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,76 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10,43 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 17,29 Hz, 2'-H); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 13,91 (CH<sub>3</sub>, 6''-C), 22,43 (CH<sub>2</sub>, 5''-C), 24,59 (CH<sub>2</sub>, 4''-C), 28,86 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 31,54 (CH<sub>2</sub>, 2''-C), 34,32 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 65,88 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 70,41 (CH, C- $\alpha$ ), 118,79 (CH<sub>2</sub>, 3'-C), 131,45 (CH, 2'-C), 174,99 (C<sup>q</sup>, C=O); MS (GC inlet, EI, 70 eV)  $m/z$  (%) = 200 (2) [M+H]<sup>+</sup>, 182 (1) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 171 (7) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 115 (30) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 97 (86) [M<sub>115</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 69 (25) [M<sub>97</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 55 (100) [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 43 (40) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>].

### 3. Synthesis of $\alpha$ -hydroxybenzyl esters

#### 2-Hydroxypropanoic acid benzyl ester (**9a**)

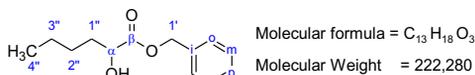
Colourless oil (2,26 g, 12,59 mmol, 94%) from 1,20 g (13,40 mmol) of lactic acid previously dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and 4,33 g (13.40 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 100 mL of dry toluene, stirring and refluxing for 24 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on  $\text{SiO}_2$  using petroleum ether / ethyl acetate (4 / 1) mixture as eluent.  $R_f(\text{SiO}_2) = 0,47$  (petroleum ether : ethyl acetate, 4 : 1, v : v).



IR (ATR)  $\sigma$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3482 (W) [ $\nu$  (O-H)], 2955 (M) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 2927 (M) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 2859 (M) [ $\nu$  (- $\text{CH}_2$ -)], 1734 (VS) [ $\nu$  (C=O)], 1457 (M), 1130 (S) [ $\nu$  (C-O-C)], 1088 (S) [ $\nu$  (C-O)], 985 (S) [ $\nu$  (=C-H)], 932 (S) [ $\nu$  (C-H allyl)];  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{TMS}_{int}$ )  $\delta$  (ppm) = 0,82 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7,00$  Hz, 3H, 6''-H), 1,15-1,30 (m, 6H, 3''-H and 4''-H and 5''-H), 1,25-1,50 (m, 2H, 2''-H), 1,51-1,66 (m, 1H, 1''-H), 1,66-1,81 (m, 1H, 1''-H), 2,92 (d,  $^3J_{\text{HH}} = 5,90$  Hz, 1H, O-H), 4,16 (ddd, 1H, H- $\alpha$ ), 4,61 (ddt,  $^3J_{\text{HH}} = 5,76$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1,65$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1,51$  Hz, 2H, 1'-H), 5,21 (dt,  $^3J_{\text{HH}} = 10,43$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1,51$  Hz,  $^2J_{\text{HH}} = 1,23$  Hz, 1H, 3'-H<sub>cis</sub>), 5,28 (dt,  $^3J_{\text{HH}} = 17,29$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1,51$  Hz,  $^2J_{\text{HH}} = 1,23$  Hz, 1H, 3'-H<sub>trans</sub>), 5,87 (ddt, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5,76$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 10,43$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 17,29$  Hz, 2'-H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{TMS}_{int}$ )  $\delta$  (ppm) = 13,91 ( $\text{CH}_3$ , 6''-C), 22,43 ( $\text{CH}_2$ , 5''-C), 24,59 ( $\text{CH}_2$ , 4''-C), 28,86 ( $\text{CH}_2$ , 3''-C), 31,54 ( $\text{CH}_2$ , 2''-C), 34,32 ( $\text{CH}_2$ , 1''-C), 65,88 ( $\text{CH}_2$ , 1'-C), 70,41 (CH, C- $\alpha$ ), 118,79 ( $\text{CH}_2$ , 3'-C), 131,45 (CH, 2'-C), 174,99 (C<sup>q</sup>, C=O); MS (GC inlet, EI, 70 eV)  $m/z$  (%) = 200 (2) [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup>, 182 (1) [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$ ]<sup>+</sup>, 171 (7) [ $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$ ]<sup>+</sup>, 115 (30) [ $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2$ ]<sup>+</sup>, 97 (86) [ $\text{M}_{115}-\text{H}_2\text{O}$ ]<sup>+</sup>, 69 (25) [ $\text{M}_{97}-\text{C}_2\text{H}_4$ ]<sup>+</sup>, 55 (100) [ $\text{C}_4\text{H}_7^+$ ], 43 (40) [ $\text{C}_3\text{H}_7^+$ ].

#### 2-Hydroxyhexanoic acid benzyl ester (**9b**)<sup>12</sup>

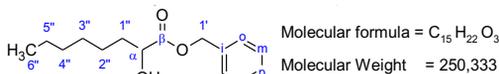
Colourless oil (1,38 g, 6,2 mmol, 87%) from 0,94 g (7,1 mmol) of 2-hydroxyhexanoic acid and 2,24 g (7,1 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 50 mL of dry THF, stirring and refluxing for 19 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on  $\text{SiO}_2$  using *n*-hexane / diethyl ether (1 / 1) mixture as eluent.  $R_f(\text{SiO}_2) = 0,56$  (*n*-hexane : diethyl ether, 1 : 1, v : v).



*IR (ATR)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3478 (W) [ν (O-H)], 2957 (M) [ν (-CH<sub>2</sub>-)], 1731 (S) [ν (C=O)], 1193 (S) [ν (C-O-C)], 1129 (S) [ν (C-O)], 1083 (S) [ν (C-O)], 749 (S) and 696 (VS) [ν (C-H arom. monosubstituted)]; *<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 0,87 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,35 Hz, 3H, 4''-H), 1,20-1,49 (m, 4H, 3''-H and 2''-H), 1,57-1,72 (m, 1H, 1''-H), 1,73-1,86 (m, 1H, 1''-H), 2,95 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,90 Hz, 1H, O-H), 4,21 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,27 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,90 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,25 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 5,17 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21 Hz, 1H, 1'-H), 5,22 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21 Hz, 1H, 1'-H), 7,30-7,37 (m, 5H, arom-H); *<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 13,79 (CH<sub>3</sub>, 4''-C), 22,28 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 26,71 (CH<sub>2</sub>, 2''-C), 33,98 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 67,09 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 70,44 (CH, C- $\alpha$ ), 128,52 (CH, *ortho*-C), 128,22 (CH, *para*-C), 128,41 (CH, *meta*-C), 135,21 (C<sup>q</sup>, *ipso*-C), 175,16 (C<sup>q</sup>, C=O); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 223 (2) [M+H]<sup>+</sup>, 204 (1) [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 91 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 87 (38) [C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>O]<sup>+</sup>, 77 (6) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>], 69 (87) [C<sub>5</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>], 65 (13) [C<sub>5</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>], 41 (29) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>].

### 2-Hydroxyoctanoic acid benzyl ester (9c)

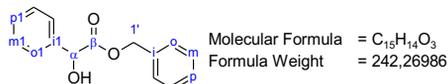
Colourless oil (3,76 g, 15,0 mmol, 94%) from 2,55 g (15,9 mmol) of 2-hydroxyoctanoic acid and 5,00 g (15,9 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 150 mL of dry THF, stirring and refluxing for 19 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / diethyl ether (2 / 3) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,56 (*n*-hexane : diethyl ether, 1 : 1, v : v).



*IR (ATR)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3483 (W) [ν (O-H)], 2927 (M) [ν (-CH<sub>2</sub>-)], 2958 (W) [ν (-CH<sub>2</sub>-)], 1732 (S) [ν (C=O)], 1187 (S) [ν (C-O)], 1130 (S) [ν (C-O)], 749 (S) and 696 (VS) [ν (C-H arom. monosubstituted)]; *<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 0,86 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,13 Hz, 3H, 6''-H), 1,15-1,50 (m, 8H, 5''-4''-3'' and 2''-H), 1,56-1,71 (m, 1H, 1''-H), 1,71-1,86 (m, 1H, 1''-H), 2,86 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,76 Hz, 1H, O-H), 4,21 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7,13 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,76 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,40 Hz, 1H, H- $\alpha$ ), 5,17 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21 Hz, 1H, 1'-H), 5,22 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21 Hz, 1H, 1'-H), 7,32-7,37 (m, 5H, arom-H); *<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)*  $\delta$  (ppm) = 13,97 (CH<sub>3</sub>, 6''-C), 22,45 (CH<sub>2</sub>, 5''-C), 24,55 (CH<sub>2</sub>, 4''-C), 28,88 (CH<sub>2</sub>, 3''-C), 31,57 (CH<sub>2</sub>, 2''-C), 34,33 (CH<sub>2</sub>, 1''-C), 67,15 (CH<sub>2</sub>, 1'-C), 70,48 (CH, C- $\alpha$ ), 128,27 (CH, *meta*-C), 128,46 (CH, *ortho*-C), 128,57 (CH, *para*-C), 135,22 (C<sup>q</sup>, *ipso*-C), 175,21 (C<sup>q</sup>, C=O); *MS (GC inlet, EI, 70 eV) m/z (%)* = 250 (2) [M]<sup>+</sup>, 115 (22) [C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>O]<sup>+</sup>, 97 (59) [C<sub>7</sub>H<sub>13</sub><sup>+</sup>], 91 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 77 (4) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>], 55 (90) [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 43 (20) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>].

### 2-Hydroxy-2-phenylacetic acid benzyl ester (9d)<sup>8</sup>

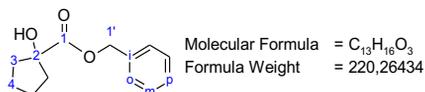
White solid (3,11 g, 12,8 mmol, 94%) from 2,08 g (13,7 mmol) of mandelic acid and 4,33 g (13,7 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 60 mL of dry toluene, stirring and refluxing for 19 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using petroleum ether / ethyl acetate (4 / 1) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,56 (petroleum ether : ethyl acetate, 4 : 1, v : v). m. p. = 92 °C.



*IR (KBr)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3447 (W) [v (O-H)], 1729 (S) [v (C=O)], 1210 (S) [v (C-O-C)], 1182 (S) [v (C-O)], 1098 (S) [v (C-O)], 727 (S) and 693 (VS) [v (C-H aromatic mono substituted)]; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 3,47 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,74 Hz, 1H, OH), 5,13 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21, 1H, 1''-H), 5,24 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12,21, 1H, 1''-H), 5,21 (s, 1H, H- $\alpha$ ), 7,33-7,45 (m, 10H, aromatic H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 67,68 (CH<sub>2</sub>, C-1''), 72,72 (CH, C- $\alpha$ ), 126,57 (CH, C-ortho1), 127,93 (CH, C-meta1), 128,44 (CH, C-para1), 128,49 (CH, C-ortho), 128,55 (CH, C-meta), 128,59 (CH, C-para), 134,92 (C<sub>q</sub>, C-*ipso*), 138,11 (C<sub>q</sub>, C-*ipso*1), 173,51 (C<sub>q</sub>, C=O); *MS (CG inlet, EI, 70 eV)* *m/z* (%) = 107 (100) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sup>+</sup>], 91 (50) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>], 79 (50) [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>].

### 1-Hydroxy-1-cyclopentanecarboxylic acid benzyl ester (**9e**)

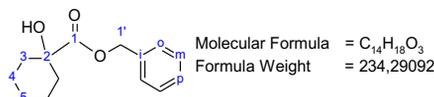
Colourless oil (2,11 g, 9,22 mmol, 95%) from 1,20 g (9,23 mmol) of 1-hydroxycyclopentanecarboxylic acid and 3,01 g (9,57 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 50 mL of dry THF, stirring and heating at 50 °C for 15 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / ethyl acetate (5 / 1) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,50 (*n*-hexane : ethyl acetate, 5 : 1, v : v).



*IR (KBr)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3486 (S) [v(OH)], 3070 (M), 3039 (M), 2962 (S), 2869 (S), 1727 (VS) [v(C=O)], 1604 (W), 1542 (W), 1496 (M), 1450 (S), 1373 (S), 1265 (VS) [v(-O-C(O)-C)]; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 1,70-2,15 (m, 8H, cycloalkane-H), 3,29 (s, 1H, O-H), 5,19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,32 (t, 1H, *para*-H), 7,34 (td, 2H, *meta*-H), 7,36 (d, 2H, *ortho*-H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 24,92 (3-C, x2), 39,65 (4-C, x2), 67,25 (CH<sub>2</sub>-Ph), 81,81 (2-C), 128,06 (*ortho*-C, x2), 128,43 (*para*-C), 128,66 (*meta*-C, x2), 135,55 (*ipso*-C), 177,27 (C=O); *MS (CG inlet, EI, 70 eV)* *m/z* (%) = 220 (1) [M<sup>+</sup>], 202 (2) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O], 107 (3) [M<sup>+</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>], 91 (71) [M<sup>+</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>], 85 (100) [M<sup>+</sup>-C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>], 77 (10) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>], 67 (35) [85-H<sub>2</sub>O], 65 (15) [67-H<sub>2</sub>].

### 1-Hydroxy-1-cyclohexanecarboxylic acid benzyl ester (**9f**)

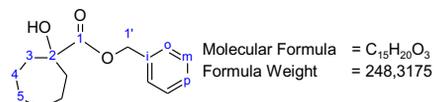
White solid (3,74 g, 16,0 mmol, 85%) from 2,71 g (18,81 mmol) of 1-hydroxycyclohexanecarboxylic acid and 6,00 g (19,08 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 50 mL of dry THF, stirring and heating at 50 °C for 15 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using *n*-hexane / ethyl acetate (10 / 1) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,60 (*n*-hexane : ethyl acetate, 10 : 1, v : v). *m. p.* = 54 °C.



*IR (KBr)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3502 (S) [ν(OH)], 2931 (S), 2854 (M), 1712 (VS) [ν(C=O)], 1450 (M) [ν(COOH)], 1388 (M), 1280 (S), 1218 (S); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 1,21-1,87 (m, 10H, cycloalkane-H), 2,91 (s, 1H, O-H), 5,19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,32 (t, 1H, *para*-H), 7,34 (td, 2H, *meta*-H), 7,36 (d, 2H, *ortho*-H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 21,13 (3-C, x2), 25,18 (5-C), 34,67 (4-C, x2), 67,25 (CH<sub>2</sub>-Ph), 73,67 (2-C), 128,03 (*ortho*-C, x2), 128,43 (*para*-C), 128,66 (*meta*-C, x2), 135,52 (*ipso*-C), 177,21 (C=O); *MS* (CG inlet, EI, 70 eV) *m/z* (%) = 234 (1) [M<sup>+</sup>], 216 (2) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O], 125 (1) [216-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>], 110 (3) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>], 99 (100) [M<sup>+</sup>-C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>], 91 (36) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>], 81 (47) [216-C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>], 55 (10) [81-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>].

### 1-Hydroxy-1-cycloheptancarboxylic acid benzyl ester (**9g**)

Colourless oil (2,12 g, 8,57 mmol, 97%) from 1,40 g (8,84 mmol) of 1-hydroxycycloheptancarboxylic acid and 3,01 g (9,57 mmol) of *O*-benzyl isourea **5** dissolved in 50 mL of dry THF, stirring and heating at 50 °C for 15 h under argon atmosphere. The product was purified by column chromatography on SiO<sub>2</sub> using n-hexane / ethyl acetate (5 / 1) mixture as eluent. *R<sub>f</sub>* (SiO<sub>2</sub>) = 0,60 (n-hexane : ethyl acetate, 5 : 1, v : v).

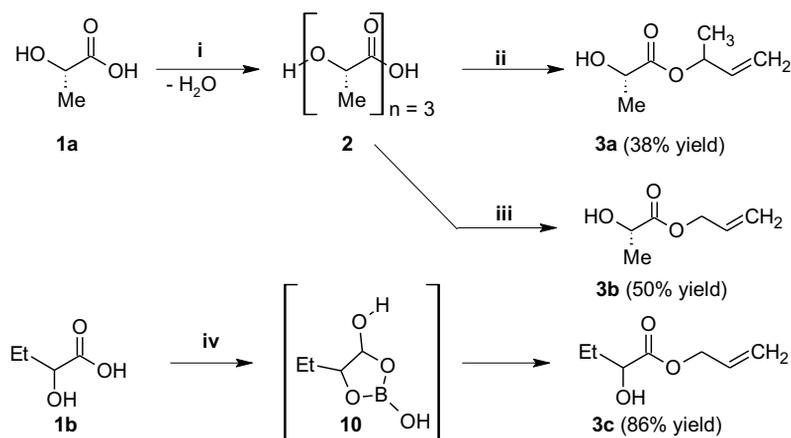


*IR (KBr)*  $\sigma$  (cm<sup>-1</sup>) = 3517 (W) [ν(OH)], 3070 (W), 3039 (W), 2931 (M), 2854 (M), 1727 (M) [ν(C=O)], 1604 (VW), 1542 (VW), 1496 (W), 1450 (M) [ν(COOH)]; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 1,45-2,04 (m, 12H, cycloalkane-H), 3,35 (s, 1H, O-H), 5,18 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7,32 (t, 1H, *para*-H), 7,34 (td, 2H, *meta*-H), 7,36 (d, 2H, *ortho*-H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS<sub>int</sub>)  $\delta$  (ppm) = 22,62 (3-C, x2), 29,60 (5-C, x2), 38,87 (4-C, x2), 67,23 (CH<sub>2</sub>-Ph), 76,96 (2-C), 127,98 (*ortho*-C, x2), 128,39 (*para*-C), 128,65 (*meta*-C, x2), 135,60 (*ipso*-C), 178,06 (C=O); *MS* (CG inlet, EI, 70 eV) *m/z* (%) = 157 (1) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>], 124 (1) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>], 113 (100) [157-CO<sub>2</sub>], 95 (43) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>], 91 (44) [M<sup>+</sup>-C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>], 67 (10) [124-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>], 55 (10) [124-C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O].

## RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis of allyl and benzyl  $\alpha$ -hydroxyesters has been reported to work properly through a transesterification reaction from the  $\alpha$ -hydroxyacid self-condensed product; in the case of lactic acid, a linear oligomer (of about 3 units) is initially formed (Scheme 1) and it can be converted into the corresponding ester using an excess of allyl alcohol, according to previous reports in the literature.<sup>11,13</sup> Modified Fischer esterification reaction is not completely effective due to the dual functional groups existence in the  $\alpha$ -hydroxyacid and is a common

mistake confirm the formation of products via IR or NMR (secondary products have similar vibration bands and chemical shifts to the expected product); when following the progress of the reaction using GC, the formation of secondary compounds can be clearly observed.



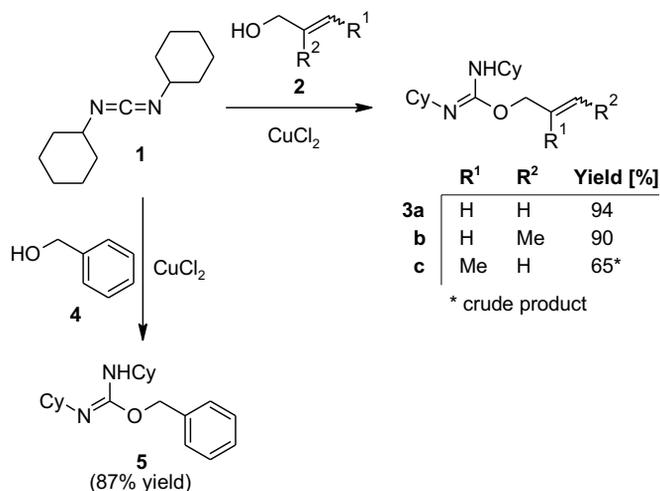
Reagents and conditions: (i) Benzene,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (cat), reflux, 4-6 h. (ii) Methallyl alcohol,  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , 20 h. (iii) Allyl alcohol,  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , 20 h. (iv) Allyl alcohol (as solvent),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (10% mol), reflux, 18 h.

**Scheme 1.** Preparation of allyl (an methallyl) esters from  $\alpha$ -hydroxy acids

After using this methodology it was possible to form methallyl lactate and allyl lactate in relatively good yields (Scheme 1). Unfortunately ester interchange occurs and polylactic acid (as linear polyester) was also formed. A small amount of the dimer of lactic acid allyl ester was also found in the NMR spectra. Preparation of methallyl lactate was not wholly satisfactory because the acid catalyzes the rearrangement of methallyl alcohol to isobutyraldehyde.<sup>11</sup> Trying to avoid this problem, boric acid was used as catalyst (the proposed intermediate is a boron complex between the carboxylic and the hydroxyl function, as shown in Scheme 1); the allyl alcohol attack the complex formed, thus the dimer is not formed. Unfortunately the boric acid catalyzed reaction works very well only when a high amount of allyl alcohol is used.<sup>14</sup> The use of borane in the synthesis of lactones by ester exchange has been also reported.<sup>15</sup>

Another common way to esterify carboxylic acids is to treat them with an alcohol in the presence of a dehydrating agent. One of most known agents is DCC (dicyclohexylcarbodiimide) **1**, which over the past years has proven to be an exceptionally useful reagent.<sup>16</sup> The carbodiimide is converted in the process to an isourea and eventually to *N,N'*-dicyclohexylurea (DCU): the urea is the more thermodynamically stable of the two isomers and its formation provides the driving force for the ready conversion of the isourea to the urea via loss of the oxygen substituent. It is this driving force the basis for the synthetic applications of isoureas.

Given the relatively low yields (and formation of secondary products) of the modified Fischer and the boric acid mediated esterification, the synthesis of  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid allyl **7** and benzyl esters **9** was achieved by the carbodiimide method. Work in this field of chemistry has been restarted since it facilitates the convenient preparation and use of polymer supported O-allyl(benzyl)isoureas.<sup>17</sup>



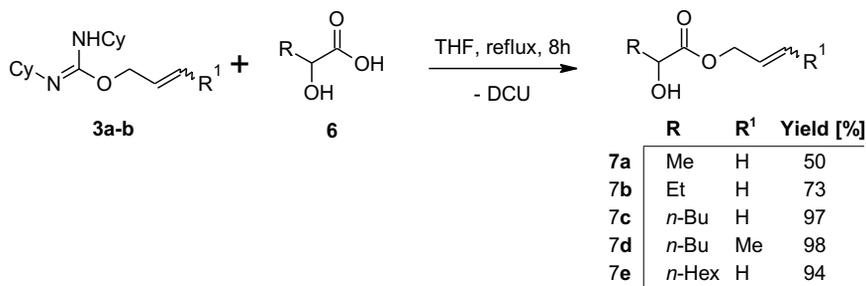
**Scheme 2.** Preparation of benzyl and substituted allyl isoureas.

According to Faure et al. when using Steglich conditions for the synthesis of allyl lactate (DCC + DMAP+ allyl alcohol + lactic acid), the dimer was also formed but to a minor degree.<sup>18</sup> It is also worth mentioning that with this normal method, the thermally unstable *O*-alkylisourea is the intermediate in the reaction. Rearrangement of this species to the *N*-alkylurea decreases the overall yield and more importantly, this side product is often difficult to remove from the desired material. Thus, the need for careful temperature control, and the formation of impurities somewhat limits the application of the Steglich method. Furthermore, exclusion of water is necessary to prevent hydrolysis of the isourea intermediates **3/5**.

Consequently the reactions were carried out by initially preparing the isoureas (Scheme 2) and reacting them with diverse  $\alpha$ -hydroxyacids (Schemes 3 and 4). The diverse *O*-alkyl isoureas employed as mild esterification reagents were prepared following the initial survey by Vowinkel.<sup>10</sup> Only the *O*-but-2-enyl isourea **3c** derived from crotyl alcohol was not purified, but used directly without further separation (it decomposes during the SiO<sub>2</sub> column chromatography). Thus, *in situ* isourea generation in a *one-pot* reaction was a viable alternative for the use of the reactive isourea intermediate **3c**.

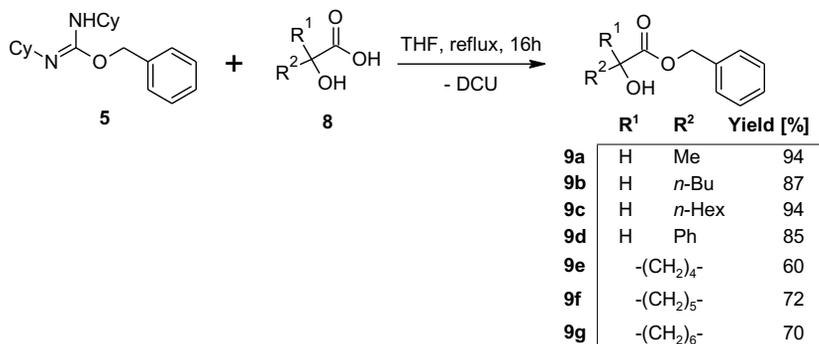
The individual steps in the process were carried out separately; thus, the isourea was isolated before conversion to the ester. This offers two advantages over the normal procedure: the *O*-alkylisourea is not converted into the *N*-alkylisourea due to thermal rearrangement, the *O*-alkylisourea may be purified prior to use, and, more importantly, they may be stored for extended periods of time. In the absence of moisture, typical isoureas may be stored in the cold or on the shelf for several months with little or no change in quality. Moisture causes gradual hydrolysis to the alcohol and the urea, although it was found that absolute drying of solvents was not necessary for high yields.

Ester formation via the isourea is mild, have a simple work up and proceeds in excellent yields with high purity of the final products (Schemes 3 and 4); also, no large excess of alcohol is necessary.<sup>19</sup> When comparing with other methodologies, the isourea method initially failed in the case of the synthesis of allyl lactate **7a** because of the high amount of water inside the commercial lactic acid (up to 20% water inside) which hydrolyzes the isourea formed. Removal of water using a THF solution of lactic acid with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> overnight result in a lactic acid solution dry enough to perform the reaction, giving the corresponding ester **7a** with a similar reaction yield but without those secondary products observed by GC when using the transesterification methodology.



**Scheme 3.** Preparation of allyl  $\alpha$ -hydroxyesters.

To facilitate both the reaction and purification, THF was used as solvent once the side-product *N,N'*-dicyclohexylurea (DCU) is insoluble. DCU can also be effectively separated out washing the reaction mixture with methylene chloride. After diverse derivatives **7** were prepared, several examples of *O*-benzylesters **9** were also prepared using the same reaction conditions (Scheme 4). Purity of final products and yields are in the same range although cyclic  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid esters preparation presented slightly lower yields due presumably to sterical reasons. For lactic and mandelic acid benzyl esters (**9a** and **9d** respectively) the reaction was completed also using toluene as solvent, giving comparable results.



**Scheme 4.** Preparation of benzyl  $\alpha$ -hydroxyesters.

All compounds were purified by column chromatography and obtained in high yields as colourless oils; white crystals were obtained in the case of **9d** and cyclic  $\alpha$ -hydroxyester **9f**. Mass spectra at 70 eV (electron impact) show typical fragmentation of esters and alcohols; in all cases molecular ion can be observed as well as water loss; for benzyl esters **9a-g**, benzyl fragments appear in all MS spectra in ( $m/z$ ) 91, 77 and 65. <sup>13</sup>C-NMR data for all compounds show clearly the C=O between 173-178 ppm. Benzyl methylene carbon is registered at 77 ppm while allyl methylene carbon appears nearby 66 ppm. <sup>1</sup>H-NMR show CH<sub>2</sub>-Ph protons as singlets around 5,19 ppm. Different multiplicity was observed for allyl hydrogens; complete coupling constant assignments are reported in the experimental section.

## CONCLUSIONS

Several examples of allyl and benzyl  $\alpha$ -hydroxyesters were prepared using a mild modified Steglich isourea procedure in a two steps process avoiding the use of DMAP. The soft conditions used and high reaction yields obtained favored this methodology while standard methods normally use expensive halide compounds, metal salts, non-green solvents or the alkylating agent itself as solvent. Due to the dual functionality of  $\alpha$ -hydroxyacids, modified Fischer esterification reaction generate also unknown esters as secondary products, which can be easily confused with the target compound when no GC (or GC-MS) control is used. Detailed conditions for the preparation of diverse allyl and benzyl  $\alpha$ -hydroxyesters as well as their complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR assignments is given.

## AKNOWLEDGMENTS

Authors thanks to Research and Extension Direction (DIEF) of Universidad Industrial de Santander – UIS, internal grant No. 1870.

## REFERENCES

1. Otera J. Esterification: Methods, Reactions, and Applications. Weinheim: Wiley-VCH; 2003.
2. Sato T, Otera J, Nozaki H. Cesium fluoride-promoted esterification of carboxylic acids. A practical alternative to the diazomethane method and direct conversion of organotin carboxylates *J Org Chem.* 1992; 57: 2166-2169.
3. Sato T, Otera J. CsF in Organic Synthesis. Malonic Ester Synthesis Revisited for Stereoselective Carbon-Carbon Bond Formation. *J Org Chem.* 1995; 60: 2627-2629.
4. Masaki Y, Tanaka N, Miura T. Mild Esterification and Transesterification of Carboxylic Acids Catalyzed by Tetracyanoethylene and Dicyanoketene Dimethyl Acetal. *Chem Lett.* 1997; 26: 55-56.
5. Weng S-S, Chen F-K, Ke C-S. Direct Esterification of Carboxylic Acids with Alcohols Catalyzed by Iron(III) Acetylacetonate Complex *Synth Commun.* 2013; 43: 2615-2621.
6. Weng S-S, Li H-C, Yang T-M. Chemoselective esterification of  $\alpha$ -hydroxyacids catalyzed by salicylaldehyde through induced intramolecularity. *RSC Adv.* 2013; 3: 1976-1986.
7. Badache L, Rahal S, Ghosez L. Synthèse et caractérisation d'une série de O-alkyl-N,N'-dialylisourees. *J Soc Alger Chim.* 2002; 12: 11-19.
8. Chighine A, Crosignani S, Arnal M-C, Bradley M, Linclau B. Microwave-Assisted Ester Formation Using O-Alkylisoureas: A Convenient Method for the Synthesis of Esters with Inversion of Configuration. *J Org Chem.* 2009; 74: 4753-4762.
9. Inoue Y, Taguchi M, Hashimoto H. Direct N-Allylation of Amides with 2-Allylisourea Catalyzed by Palladium(0). *Bull Chem Soc Jpn.* 1985; 58: 2721-2722.
10. Vowinkel E. Darstellung von Arylalkyläthern mittels O-Alkyl-N,N'-dicyclohexylisoharnstoffen. *Chem Ber.* 1966; 99: 1479.
11. Rehberg CE. Allyl Lactate. *Org Synth.* 1946; 26: 4.
12. Raddatz P, Minck K-O, Rippmann F, Schmitges CJ. Non-peptide renin inhibitors containing 2-(((3-phenylpropyl)phosphoryl)oxy)alkanoic acid moieties as P2-P3 replacements. *J Med Chem.* 1994; 37: 486-497.
13. Rehberg CE, Fisher CH. Preparation and polymerization of acrylic esters of olefinic alcohols. *J Org Chem.* 1947; 12: 226-231.
14. Houston TA, Wilkinson BL, Blanchfield JT. Boric acid catalyzed chemoselective esterification of  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acids. *Org Lett.* 2004; 6: 679-681.
15. Konoike T, Araki Y. Practical Synthesis of Chiral Synthons for the Preparation of HMG-CoA Reductase Inhibitors. *J Org Chem.* 1994; 59: 7849-7854.
16. Neises B, Steglich W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids *Angew Chem Int Ed Engl.* 1978; 17: 522-524.
17. Crosignani S, White PD, Steinauer R, Linclau B. Polymer-Supported O-Benzyl and O-Allylisoureas: Convenient Preparation and Use in Ester Synthesis from Carboxylic Acids. *Org Lett.* 2003; 5: 853-856.
18. Faure S, Piva-Le-Blanc S, Bertrand C, Pete JP, Faure R, Piva O. Asymmetric intramolecular [2 + 2] photocycloadditions:  $\alpha$ - and  $\beta$ -hydroxy acids as chiral tether groups. *J Org Chem.* 2002; 67: 1061-1070.
19. Mathias LJ. Esterification and alkylation reactions employing isoureas. *Synthesis.* 1979; 8: 561.

## **EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LA DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DEL COLORANTE CIBACRON NAVY H-2G EMPLEANDO NANOPARTÍCULAS INDUSTRIALES DE TiO<sub>2</sub>**

Elizabeth Deza Martí<sup>a</sup>, Ana Osorio Anaya<sup>a</sup>, Joaquín J. Manrique Fajardo<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se evaluó experimentalmente la degradación del colorante azul, Cibacron Navy-H2G a través de la acción fotocatalítica de nanopartículas industriales de TiO<sub>2</sub> de la empresa española Avanzare. Las nanopartículas corresponden a la fase anatasa caracterizada por DR-X, tienen un tamaño aproximado de 26,6 nm, medidos con TEM y 20,4 nm, medidos con DLS. La degradación fotocatalítica se evaluó en función a la masa del fotocatalizador desde 0,1 g hasta 1,0 g; a la concentración del colorante desde 20 ppm hasta 100 ppm; y a pH desde 2 hasta 10. El tiempo de degradación fotocatalítica del colorante se monitoreo con espectrofotometría UV-Visible. Los mejores resultados del proceso se obtuvieron con una masa de 0,6 g de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, concentración de colorante de 20 ppm y a un pH de 4.

**Palabras clave:** degradación fotocatalítica, nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, Cibacron Navy H-2G

## **EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE DYE PHOTOCATALYTIC DEGRADATION CIBACRON NAVY H-2G USING INDUSTRIAL NANOPARTICLES OF TiO<sub>2</sub>**

### **ABSTRACT**

In the present work the degradation of the blue dye, Navy H-2G cibacron was evaluated experimentally through the photocatalytic action of TiO<sub>2</sub> industrial nanoparticles of the Spanish company Avanzare. The nanoparticles correspond to the anatase phase characterized by DR-X, have an approximate size of 26.6 nm measured with TEM and 20.4 nm measured with DLS. The photocatalytic degradation was evaluated as a function of various masses of the photocatalyst from 0.1g to 1.0g; Depending on the concentration of the dye from 20 ppm to 100 ppm; And depending on the pH from 2 to 10.5. The time of photocatalytic degradation of the dye was monitored by UV-Visible spectrophotometry. The optimal results

---

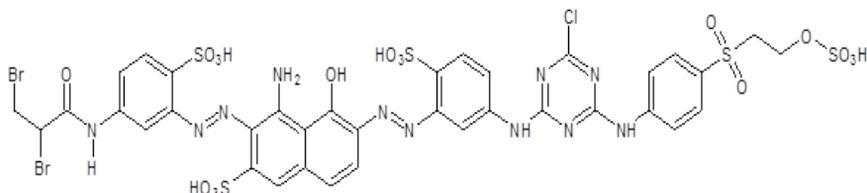
<sup>a</sup> Laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica, Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Calle Germán Amezcaga 375, Lima, Perú, lizdeza@yahoo.com.

of the process were observed with a mass of 0.6 g of nanoparticles of  $\text{TiO}_2$ , concentration of dye of 20 ppm and at a pH of 4.

**Key words:** photocatalytic degradation,  $\text{TiO}_2$  nanoparticles, Cibacron Navy H-2G

## INTRODUCCIÓN

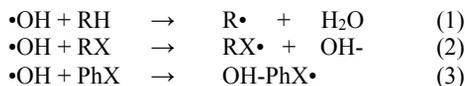
El colorante azul, Cibacron Navy H-2G, forma parte de la gama de colorantes reactivos utilizados en la industria textil. Se calcula que aproximadamente, entre el 1% a 15% del colorante se pierde durante los procesos de teñido y estos se liberan en las aguas residuales<sup>1-3</sup>, generando contaminación ambiental debido a los grupos azo, al dibromopropionil, monoclorotriazina, entre otros, tal como se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Estructura química del colorante Cibacron Navy H-2G.

Existen diversos métodos de descontaminación de aguas, para aplicar algún método de tratamiento se debe tener en cuenta, principalmente, la naturaleza y las propiedades fisicoquímicas de las aguas o efluentes a tratar<sup>4</sup>. Las aguas contaminadas, generalmente, pueden ser tratadas eficientemente mediante métodos biológicos, adsorción con carbón activado u otros adsorbentes, tratamientos químicos convencionales (oxidación térmica, cloración, ozonización, uso de oxidantes fuertes como el permanganato de potasio, entre otros.). En algunos casos, estos procedimientos resultan inadecuados, pues no logran alcanzar el grado de descontaminación final requerido por ley, es por eso que se recurre al uso de procesos o tecnologías avanzados de oxidación (PAOs, TAOs). Los PAOs se basan en procesos fisicoquímicos que pueden degradar la estructura química de los contaminantes orgánicos, generando principalmente el radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ) el cual es muy efectivo para oxidar compuestos orgánicos. Este radical puede ser generado por medios fotoquímicos (incluida la luz solar) o por otras formas de energía. Algunos PAOs, como la fotocatálisis heterogénea, la radiólisis y otras técnicas avanzadas, pueden transformar a contaminantes poco susceptibles a la oxidación, como iones metálicos y compuestos halogenados.

Los contaminantes orgánicos (representados por RH, RX y PhX) pueden ser oxidados por el radical hidroxilo, de acuerdo con tres mecanismos básicos: abstracción de hidrógeno, transferencia electrónica y adición electrofílica, conforme a las ecuaciones (1-3), respectivamente.



El radical hidroxilo  $\text{HO}\bullet$  posee propiedades que le permiten atacar a los compuestos orgánicos y reaccionar  $10^6$ - $10^{12}$  veces más rápido que algunos oxidantes alternativos como el  $\text{O}_3$ . Después del flúor, el  $\text{HO}\bullet$  es el oxidante más enérgico, presenta mayor velocidad de degradación con respecto al ozono ( $\text{O}_3$ )<sup>5</sup>, tal como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 1.** Comparación de la velocidad de reacción entre el radical  $\text{HO}\bullet$  y el  $\text{O}_3$

Compuesto orgánico	Velocidad de reacción ( $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ )	
	$\text{HO}\bullet$	$\text{O}_3$
Alquenos clorados	$10^9 - 10^{11}$	$10^{-1} - 10^3$
Fenoles	$10^9 - 10^{10}$	$10^3$
Aromáticos	$10^8 - 10^{10}$	$1 - 10^2$
Cetonas	$10^9 - 10^{10}$	1
Alcoholes	$10^8 - 10^9$	$10^{-2} - 1$
Alcanos	$10^6 - 10^9$	$10^{-2}$

Fuente: García Ortiz, J. (2013)<sup>5</sup>

La fotocatalisis es un proceso que se basa en la absorción directa o indirecta de energía radiante (visible o UV) por un sólido (el fotocatalizador heterogéneo, que normalmente es un semiconductor de banda prohibida ancha).

Los fotocatalizadores más investigados hasta el momento son los óxidos metálicos semiconductores de banda ancha y, particularmente, el dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ), el cual presenta una elevada estabilidad química que lo hace apto para trabajar en un amplio rango de pH, al mismo tiempo que es capaz de producir transiciones electrónicas por absorción de la luz en el ultravioleta cercano (UV-A).

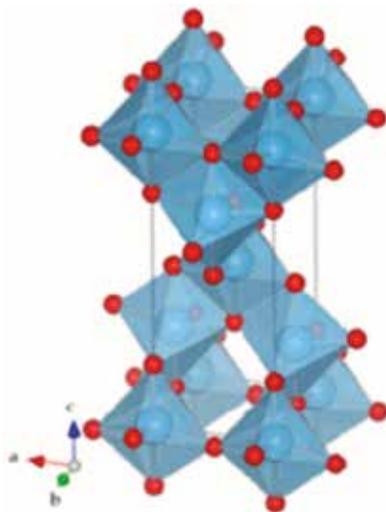
El proceso de fotocatalisis heterogénea degrada exitosamente contaminantes presentes en diversos tipos de efluentes<sup>6-11</sup> y constituye uno de los métodos existentes, los que se reportan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Procesos de oxidación avanzados (PAOs)

Procesos no fotoquímicos	Procesos fotoquímicos
Ozonización alcalina ( $O_3/OH^-$ )	Fotólisis UV de vacío
Ozonización con $H_2O_2$ ( $O_3/H_2O_2$ )	UV/ $H_2O_2$
Procesos fenton ( $Fe^{+2}/H_2O_2$ )	UV/ $O_3$
Oxidación electroquímica	Foto-fenton
Radiólisis $\gamma$	UV/ peryodato
Plasma no térmico	<b>Fotocatálisis heterogénea</b>
Ultrasonido	
Ferrioxalato y otros complejos Fe(III)	

Fuente: Doménech X., Jardim W., Litter M. (2001)<sup>4</sup>

En el presente trabajo, se evalúa la eficiencia fotocatalítica de nanopartículas de  $TiO_2$  de estructura anatasa del sistema tetragonal registrada en la figura 2, se considera que su estudio es un tema emergente de las nuevas tecnologías<sup>12-14</sup>.



**Figura 2.** Estructura cristalina de la Anatasa, Sistema tetragonal  
( $a = b = 3,78 \text{ \AA}$  ;  $c = 9,51 \text{ \AA}$ )

## PARTE EXPERIMENTAL

### Caracterización de la fase cristalina de las NPs- $TiO_2$ por difracción de rayos X

Las fases cristalinas de las nanopartículas de  $TiO_2$  fueron identificadas por difracción de rayos-X (DR-X) empleando el difractor XPERT-PRO modelo X'Pert MPD, de la marca PANalytical, usando una fuente de  $CuK\alpha$  medio de  $\lambda = 1.54069 \text{ \AA}$ . El rango de la medida fue realizado en  $5$  a  $80^\circ$  ( $2\theta$ ) con un paso de  $0,03$  grados y un tiempo de  $50$  segundos por paso, con un tiempo aproximado de  $16$  minutos a temperatura ambiente. La caracterización

fue realizada en el Centro de Apoyo a la Investigación (CAI) de Difracción de Rayos X de la Universidad Complutense de Madrid.

### Medición del tamaño de nanopartículas de $\text{TiO}_2$ por TEM y DLS

La distribución del tamaño de partícula se caracterizó por microscopía electrónica de transmisión (TEM) con el equipo JEOL, modelo JEM-2100HT. Todas las mediciones TEM se realizaron con una suspensión de 100 mg/L para cada medición, 1 mL de la solución coloidal se colocó sobre una rejilla de cobre recubierta de carbono y se dejaron secar durante 5 minutos. La medición se realizó en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica de la Universidad Complutense de Madrid.

Respecto al método de la dinámica de dispersión de luz (DLS), es una técnica fisicoquímica empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión, el equipo utilizado es el Nicomp N3000, la medición se realizó en el Laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

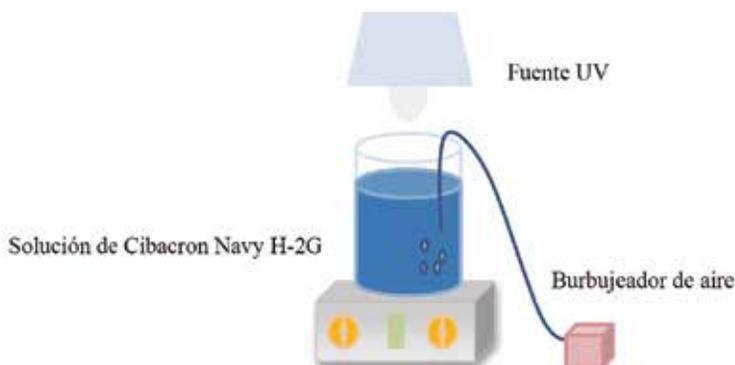
### Metodología experimental de la degradación del colorante por fotocatalisis

Se emplearon diferentes pesos de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  (NPs- $\text{TiO}_2$ ) en polvo, según referencia de la tabla 3.

**Tabla 3.** Masas de fotocatalizador empleadas en la parte experimental

NPs- $\text{TiO}_2$	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Masa (g)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	1,0

Las NPs- $\text{TiO}_2$  o fotocatalizador se colocó dentro de un reactor conteniendo 1L de solución 20ppm del colorante azul Cibacron Navy-H2G e irradiados con luz UV de una lámpara de mercurio de 250 W marca Tungfram, con burbujeo de oxígeno con agitación constante y a temperatura ambiente hasta la observación de la decoloración, el sistema de trabajo se aprecia en la figura 3.



**Figura 3.** Reactor empleado en el desarrollo experimental de la fotocatalisis

Una vez evaluada la eficiencia del sistema en función al peso de las NPs-TiO<sub>2</sub>, se tomó como variable la concentración del colorante según se especifica en la tabla 4.

**Tabla 4.** Concentraciones del colorante azul empleadas en el desarrollo experimental

Colorante	C1	C2	C3	C4	C5
Concentración (ppm)	20	40	60	80	100

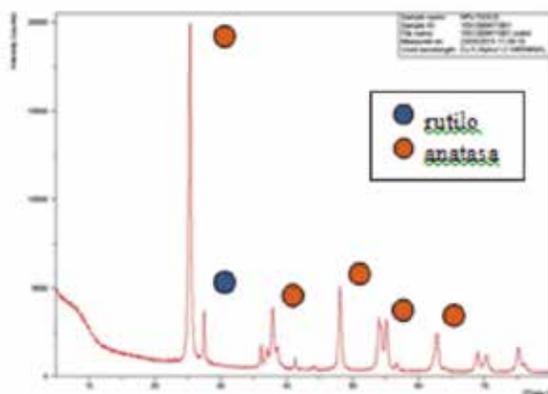
Luego de evaluar los resultados en función a la concentración de la solución del colorante azul Cibacron Navy H-2G, se evaluó la acción fotocatalítica en función al pH de valores: 2, 4, 6, 8 y 10.

#### Monitoreo de la degradación fotocatalítica con mediciones en el rango de UV-Visible.

Las mediciones de la degradación fotocatalítica del colorante se realizó en el equipo espectrofotómetro PG INSTRUMENTS modelo T80+, las mediciones se realizaron cada 10 minutos hasta la observación de la decoloración completa del colorante azul.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 4 se observa el difractograma de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> Avanzare, se muestran claramente las líneas de difracción en los ángulos  $2\theta = 25^\circ, 48^\circ, 54^\circ, 55^\circ, 62^\circ, 71^\circ$  y  $75^\circ$ , característicos de la fase anatasa (tetragonal) del óxido de titanio, y también los ángulos pertenecientes a la fase rutilo en los ángulos  $2\theta = 27^\circ, 36^\circ, 41^\circ, 44^\circ$  y  $57^\circ$  que se encuentran en menor porcentaje. Se comprueba que las dos fases están presentes, en un porcentaje de 85% y 15% registrado en la tabla 5.



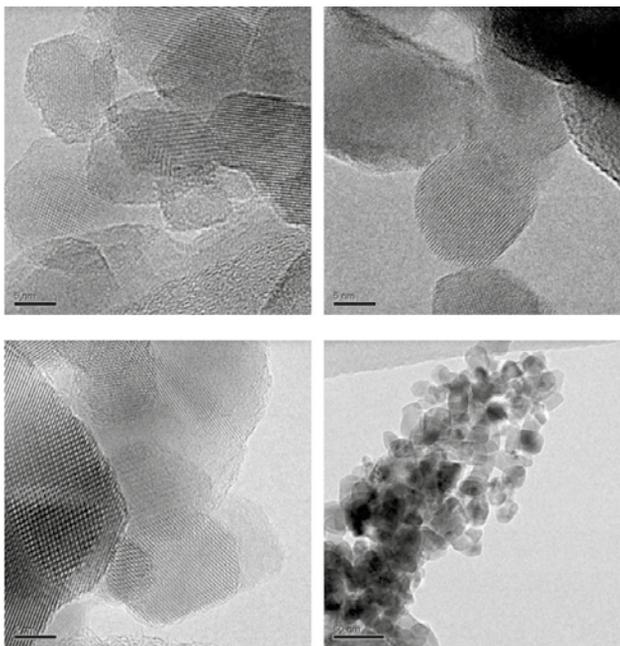
**Figura 4.** Difractograma de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> Avanzare

La anatasa como el rutilo presentan el mismo sistema cristalino, la diferencia entre la anatasa y el rutilo radica en el parámetro c de sus celdas, siendo el de la anatasa tres veces mayor que la del rutilo.

**Tabla 5.** Composición porcentual de las NPs- TiO<sub>2</sub> medido con el difractor XPERT-PRO

Código de referencia	Nombre de mineral	Fórmula química	Semicuantificación (%)
PDF 00-021-1272	Anatasa	TiO <sub>2</sub>	85
PDF 00-021-1276	Rutilo	TiO <sub>2</sub>	15

Con respecto a la medición del tamaño de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> se realizó directamente de las microfotografías del TEM, midiendo las partículas con la escala de la resolución y se analizó alrededor de 80 nanopartículas para su evaluación estadística.



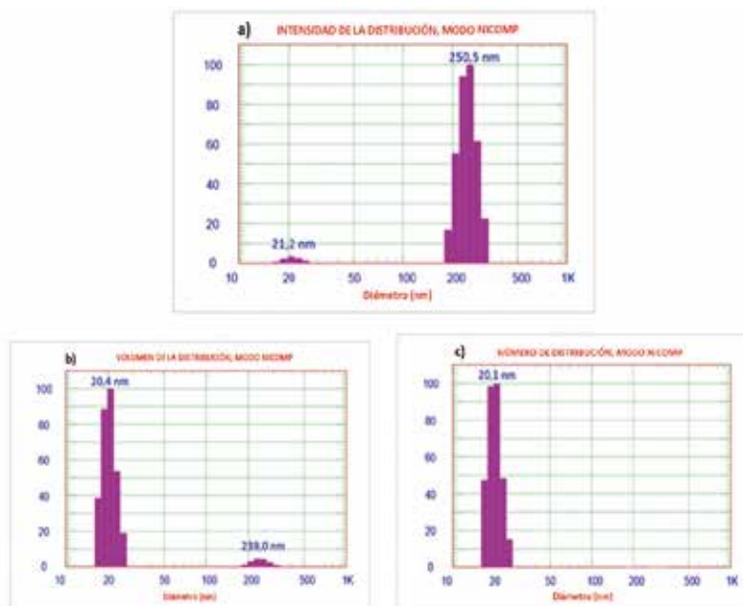
**Figura 5.** Medición del tamaño por distribución de NPs de TiO<sub>2</sub> de la empresa Avanzare.

TEM (microscopio electrónico de transmisión)	Tamaño de partícula (nm)
TiO <sub>2</sub> Avanzare	26,64 ± 6,23

Por otro lado, las mediciones realizadas por DLS indican que las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> presentan en cuanto a la intensidad de tamaño de partículas dos distribuciones en promedio de 21,2 nm y 250,5 nm, tal como se aprecia en la figura 6 (a). En cuanto a la distribución del volumen se presenta igualmente dos distribuciones a 20,4 nm y la otra de 239 nm registradas en la figura 6 (b). Respecto a la distribución del número de partículas se observa monodispersidad en 20,1 nm correspondiente al tamaño hidrodinámico de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> apreciadas en la figura 6 (c).

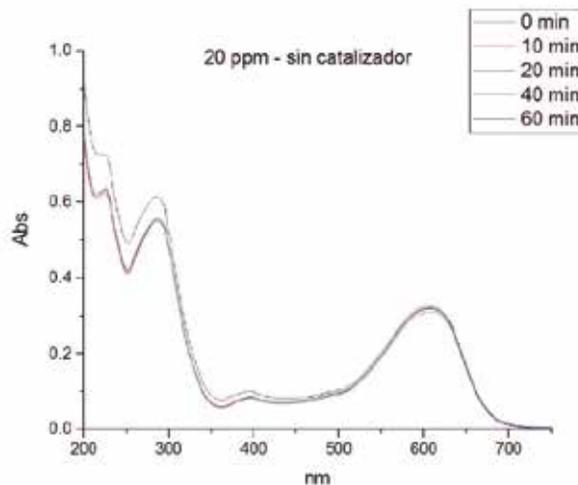
De acuerdo a las mediciones realizadas, se puede concluir que existe un mínimo de partículas correspondientes al tamaño entre 250,5 nm y 239 nm que representan un porcentaje de 0,5% en tanto que las nanopartículas de tamaños entre 20,4 nm y 20,1 nm representan el 99,5%.

Con los resultados obtenidos se puede apreciar que las partículas son monodispersas en un alto porcentaje.



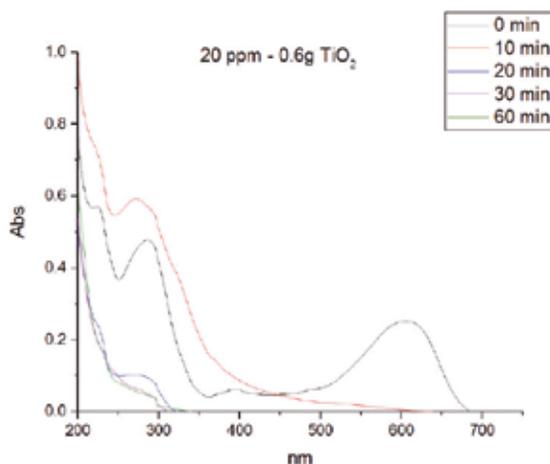
**Figura 6.** Determinación de la dispersión de nanopartículas: (a) intensidad, (b) volumen y (c) número de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> Avanzare.

La fotodegradación, empleando sólo radiación UV, es casi nula en ausencia del catalizador, como se puede apreciar en la figura 7.



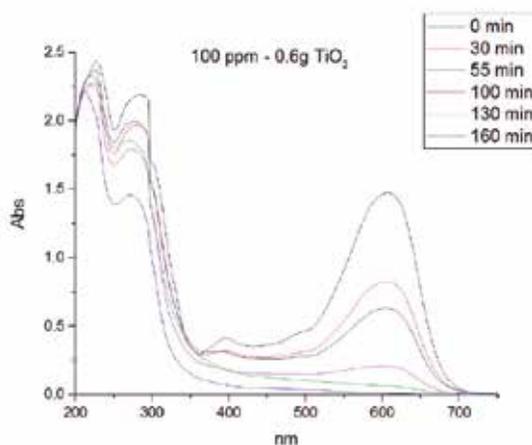
**Figura 7.** Espectro de absorción UV-Visible del colorante Cibacron Navy H-2G de concentración 20 ppm sin empleo de fotocatalizador.

Al evaluar la influencia del peso del fotocatalizador se obtiene mayor velocidad de degradación al utilizar 0,6 g de  $\text{TiO}_2$  con una decoloración a los 10 minutos y a la desaparición de las bandas presentes en el rango ultravioleta a los 30 minutos como se aprecia en la figura 8.



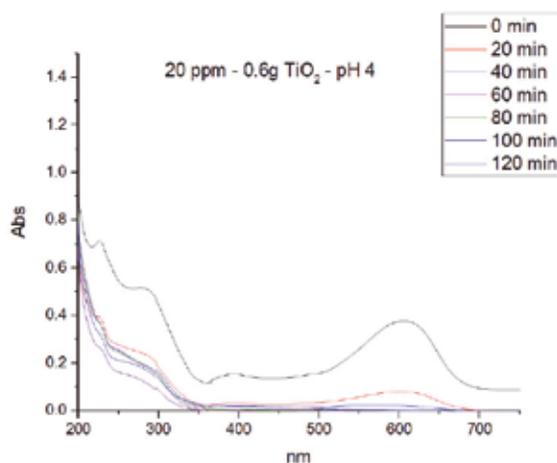
**Figura 8.** Espectro de absorción UV-Visible del colorante Cibacron Navy H-2G de concentración 20 ppm en presencia de 0,6 g de fotocatalizador.

En la figura 9 se observa que a medida que se aumenta la concentración de colorante el tiempo de decoloración aumenta a los 130 minutos y las bandas que se encuentran en la región ultravioleta se degradan lentamente por lo que se requiere más de 3 horas para degradarse completamente.



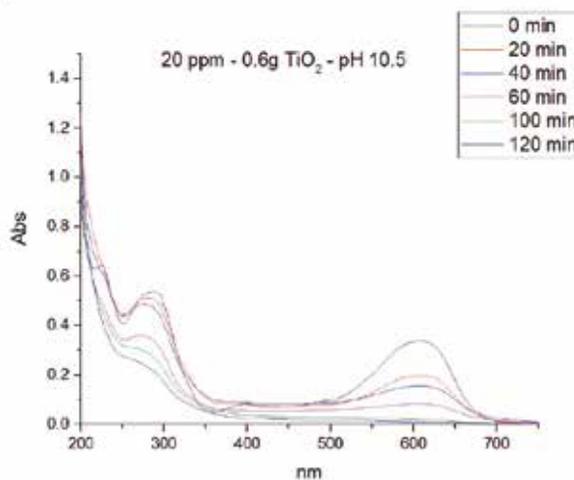
**Figura 9.** Espectro de absorción UV-Visible de 100 ppm de colorante Cibacron Navy H-2G con 0,6 g nanopartículas de TiO<sub>2</sub> Avanzare.

La última evaluación experimental fue en función al pH, comprobándose que a medida que disminuye el pH, la degradación fotocatalítica aumenta, lo contrario sucede a pH básico, se determinó que la velocidad de degradación aumenta a pH 4, se observó que a los 20 minutos la solución estaba decolorada y los componentes cuyas bandas de absorción están en el rango ultravioleta se degradaron en 40 minutos, tal como se observa en la figura 10.



**Figura 10.** Espectro de absorción UV-Visible de 20 ppm de colorante Cibacron Navy H-2G con 0,6 g nanopartículas de TiO<sub>2</sub> Avanzare a pH 4.

En la figura 11 se observa que a pH básico la velocidad de degradación disminuye observándose la decoloración a los 100 minutos y a los 120 minutos la desaparición de las bandas del rango del ultravioleta.

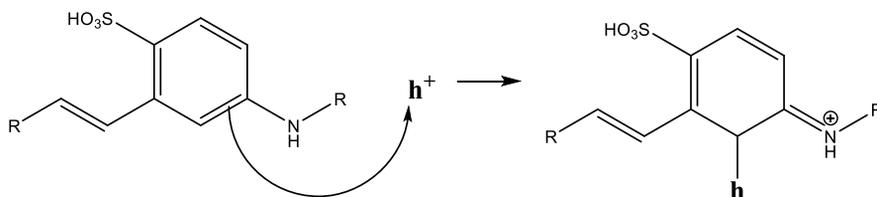


**Figura 11.** Espectro de absorción UV-Visible de 20 ppm de colorante Cibacron Navy H-2G con 0,6 g nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  Avanzare a pH 10,5.

En las figuras 8, 9, 10 y 11 se observa que es mayor la velocidad de decoloración, debido principalmente a la ruptura de los enlaces azo, pero los grupos aromáticos que absorben en la región del UV, toman mayor tiempo en degradarse.

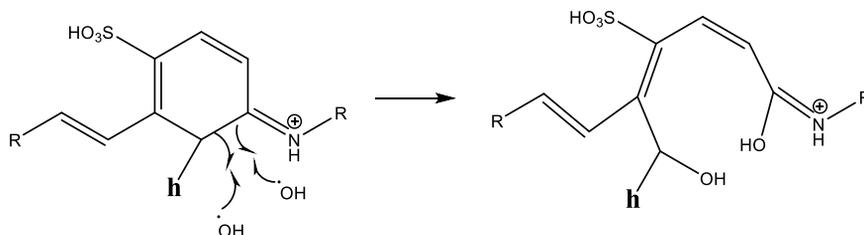
Las bandas que se encuentran a 208 y 286 nm corresponden a la presencia de anillos bencénicos en la molécula del colorante Cibacron Navy H-2G. Estas bandas desaparecen más rápidamente a pH ácido como se observa en la figura 10.

Como se sabe, al inicio de la reacción de fotocatalisis ocurre la adsorción del colorante en la superficie del  $\text{TiO}_2$ . La cantidad de colorante adsorbido es mayor en medio ácido, esto se puede atribuir a la influencia del pH de la solución tanto en la superficie del  $\text{TiO}_2$  como en el grado de ionización de la molécula orgánica del colorante. En general se puede correlacionar la disminución del pH con el aumento de la cantidad de  $\text{TiOH}_2^+$  el cual es responsable de la adsorción del colorante en la superficie del fotocatalizador<sup>15</sup>. Uno de los mecanismos propuestos, que describen cómo se degradan los compuestos orgánicos, indica que los huecos fotogenerados ( $h_{\text{bv}}^+$ ) oxidan directamente a los compuestos adsorbidos en la superficie del semiconductor<sup>16</sup>. A pH ácido se favorece la formación de huecos<sup>17</sup>, y estos huecos en la superficie del  $\text{TiO}_2$  provocan la fijación de la molécula del colorante, ello explica que la degradación en el rango UV ocurra en menor tiempo a pH ácido. Los anillos aromáticos que absorben en el UV se fijan a la superficie mediante un ataque electrofílico como se observa en las figuras 12 y 13.



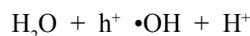
**Figura 12.** Fijación del anillo aromático sobre la superficie del  $\text{TiO}_2$ . Ataque electrofílico sobre los huecos fotogenerados ( $h^+_{bv}$ )

La etapa subsiguiente podría ser la ruptura de la estructura cíclica resultante (no aromática) debido a la acción de los radicales  $\bullet\text{OH}$  sobre el enlace señalado, perdiéndose irreversiblemente los anillos aromáticos que dan origen las bandas del UV.



**Figura 13.** Ruptura del anillo aromático por acción de radicales  $\bullet\text{OH}$

Por otro lado, los radicales  $\bullet\text{OH}$  se obtienen debido a que los huecos oxidan el agua adsorbida según la siguiente ecuación:



En general, se supone que en solución alcalina es más fácil generar radicales  $\bullet\text{OH}$  oxidando los iones hidróxido de mayor disponibilidad en la superficie del  $\text{TiO}_2$ , mejorando la eficiencia del proceso, pero se debe notar que en solución alcalina hay una repulsión coulombica entre la superficie negativa del fotocatalizador y los aniones hidróxido. Este hecho puede retrasar la formación del  $\bullet\text{OH}$  y así disminuir la actividad fotocatalítica, como se ve en los resultados de la figura 11. Se presume que los productos finales de la degradación, además de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , podría contener aniones<sup>18</sup> como  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , entre otros, menos dañinos al ambiente que los grupos orgánicos del colorante.

## CONCLUSIONES

A través de la evaluación experimental de la degradación fotocatalítica del colorante textil azul, Cibacron Navy H-2G empleando como fotocatalizadores nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  de la fase anatasa, con un tamaño promedio de 24 nm, medidos por TEM, y con controles de UV-Visible en función al tiempo de la decoloración y degradación del colorante se determina que los parámetros que aumentan la velocidad del proceso corresponde a 0,6 g de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , 20 ppm de colorante y pH 4.

## AGRADECIMIENTO

Agradecemos a INNOVATE PERÚ, CONVENIO N° 134-FINCYT-IA-2013. Los ensayos fueron realizados en los laboratorios de Nanotecnología en Innovación Tecnológica (LabNanoInTec-FQIQ-UNMSM) y en el Laboratorio de Catálisis y Medio Ambiente de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Rani B, Kumar V, Singh J, Bisht S, Teotia P, Sharma S, Kela R. Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. *Braz J Microbiol.* 2014; 45(3):1055-63.
2. Dutta AK, Maji SK, Adhikary B.  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  nanoparticles: An easily recoverable effective photo-catalyst for the degradation of rose bengal and methylene blue dyes in the wastewater treatment plant. *Mater Res Bull.* 2013; 49: 28-34.
3. Predescu A, Nicolae A. Adsorption Of Zn, Cu And Cd From Waste Waters By Means Of Maghemite Nanoparticles. *UPB Sci Bull. Series B: Chemistry and Materials Science.* 2012; 74: 255-264.
4. Peral J, Domenech X, Ollis DF. Heterogeneous Photocatalysis for Purification, Decontamination and Deodorization of Air. *J Chem Technol Biotechnol.* 70; 1997: 117-140.
5. García Ortiz J. Depuración de aguas contaminadas con plaguicidas empleados en cultivos de caña de azúcar en Colombia. [tesis para optar el grado de Master en tratamientos de aguas]. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2013.
6. Duarte CJ, Forerp VF. Evaluación de un sistema de oxidación por fotocatalisis para la degradación del plaguicida thiodan 35 ec (i.a. Endosulfán) a nivel de laboratorio. [tesis para optar el grado de ingeniero ambiental y sanitario]. Bogotá: Universidad de la Salle; 2008.
7. Al-Rasheed, Radwan. Water treatment by heterogeneous photocatalysis, an overview. Saline Water Desalination Institute and Saline Water Conversion Corporation, Arabia Saudita; 2005.
8. Blanco J, Rodríguez SM, Estrada CA, Bandala ER, Gelover S, Leal T. Purificación de aguas por fotocatalisis heterogénea. Cap 3. Almería; 2005.

9. Mills A, Le Hunte S. An overview of semiconductor photocatalysis. *J Photochem Photobiol A*. 1997; 108:1-35.
10. Degremont G. *Water Treatment Handbook*. 6th Ed. París: Lavoisier Publishing; 1991.
11. Ramesh BB, Parande AK, Raghu S, Prem Kumar T. Cotton Textile Processing: Waste Generation and Effluent Treatment. *J. Cotton Sci*. 2007, 11, 141–153.
12. Ram C, Kant R, Singh V. Photocatalytic Degradation of Textile Dye by Using Titanium Dioxide Nanocatalyst. *Int J Theor & Appl Sci*. 2012, 4(2): 82-88.
13. Renge VC, Khedkar SV, Bhojar KS. Micropollutant removal from waste water treatment plant – a review. *IJAET*. 2012; 3(4): 27-30.
14. Blanco Gálvez, Julián; Malato Rodríguez, Sixto. Purificación de aguas por fotocátalisis heterogénea: estado del arte. [Internet]; 2003. [citado el 11 de noviembre del 2016] Disponible en: <http://www.cnea.gov.ar/sites/default/files/08cap03>.
15. Barka N, Qourzal S, Assabbane A. Photocatalytic Degradation of an Azo Reactive Dye, Reactive Yellow 84, in Water Using an Industrial Titanium Dioxide Coated Media *Arabian J Chem*. 2010; 3: 279–283.
16. Gerischer H, Heller A. The role of oxygen in photooxidation of organic molecules on semiconductor particles. *J Phys Chem*. 1991; 95(13): 5261–5267.
17. Minero C, Pelizzetti E, Piccini P, Vincenti M. *J Phys Chem B*. 1999; 103: 6400.
18. Clavijo Penagos J. Sobre las reacciones de eliminación de compuestos contaminantes de aguas por fotocátalisis con TiO<sub>2</sub> / UV: caso azul de metileno. *Revista Elementos*. 2013; 3: 149-156.

## **DETERMINACIÓN DE LA MÁXIMA RETENCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EL NÉCTAR DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.)**

Daniella S. Rojas Benites<sup>a</sup>, Ritva Repo de Carrasco<sup>b</sup>, Christian R. Encina Zelada<sup>c</sup>

### **RESUMEN**

Se establecieron los parámetros apropiados para elaborar néctar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) con una mayor retención en el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos, carotenoides totales y capacidad antioxidante presentes en la materia prima. Se determinó el contenido de compuestos bioactivos en la pulpa de tomate de árbol: carotenoides totales con 4,27 mg  $\beta$ -caroteno/100g, vitamina C con 28,83 mg de ácido ascórbico/100g, compuestos fenólicos con 100,55 mg ácido gálico equivalente/100g y una capacidad antioxidante de 3,31  $\mu$ mol trolox/g medida por el método DPPH y 4,65  $\mu$ mol trolox/g medida por el método ABTS. Se obtuvo una mayor retención de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tomate de árbol con un pH de 3,33; 13°Brix, dilución pulpa:agua 1:2,5 y una temperatura de pasteurización de 99,5°C por un minuto, encontrándose un contenido de carotenoides totales de 1,68 mg  $\beta$ -caroteno/100g, vitamina C de 11,45mg de ácido ascórbico/100g, compuestos fenólicos de 32,96 mg ácido gálico equivalente/100g y capacidad antioxidante de 1,38  $\mu$ mol trolox/g medida por el método DPPH y 2,00  $\mu$ mol trolox/g medida por el método ABTS.

**Palabras clave:** tomate de árbol, ácido ascórbico, compuestos fenólicos, carotenoides totales, capacidad antioxidante.

## **DETERMINATION OF MAXIMUM RETENTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY ON NECTAR OF TREE TOMATO (*Solanum betaceum* Cav.)**

### **ABSTRACT**

The appropriate parameters to produce nectar of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), with a greater retention on the content of ascorbic acid, phenolic compounds, total carotenoids

---

<sup>a</sup> Ingeniero en Industrias Alimentarias. Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Avenida La Molina, Lima 15024, Perú, drojas@lamolina.edu.pe

<sup>b</sup> Profesor Principal del Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima - Perú.

<sup>c</sup> Profesor Asociado del Departamento de Tecnología de Alimentos, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima - Perú.

and antioxidant capacity that are present in the raw material, were established. The content of bioactive compounds in the tree tomato pulp was determined: total carotenoids with 4,27 mg  $\beta$ -carotene/100g, vitamin C with 28,83 mg ascorbic acid/ 100g, phenolic compounds with 100,55 mg AGE/100g and the antioxidant capacity with 3,3172  $\mu$ mol trolox/g measured by the DPPH method and 4,6551  $\mu$ mol trolox/g measured by the ABTS method. A greater retention on the bioactive compounds and antioxidant capacity on the tree tomato nectar was obtained at a pH of 3,33, °Brix of 13, dilution water:pulp of 1:2,5 and a pasteurization temperature of 99,5°C for 1 minute, finding on it a content of 1,68 mg  $\beta$ -carotene/100g, vitamin C of 11,45 mg de ascorbic acid/100g, phenolic compounds of de 32,96 mg AGE/100g y the antioxidant capacity of de 1,3803  $\mu$ mol trolox/g measured by the DPPH method and 2,0006  $\mu$ mol trolox/g measured by the ABTS method.

**Key words:** tree tomato, ascorbic acid, phenolic compounds, total carotenoids, antioxidant capacity, nectar.

## INTRODUCCIÓN

La importancia adquirida en los últimos años, en relación al consumo de frutas y vegetales, como alternativa para prevenir diversas enfermedades cardiovasculares, neurológicas y cancerígenas, atribuyéndole esta propiedad a la presencia de compuestos bioactivos en su composición, que poseen actividad antioxidante y contribuyen a la defensa del organismo<sup>1</sup>, permite desarrollar nuevas propuestas en el consumo de diversas variedades de frutas. Dentro del grupo de frutas nativas, de gran potencial agroindustrial procedentes de la sierra del Perú, se encuentra el tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) perteneciente a la familia de las solanáceas, originaria de los Andes peruanos, dispersa en otros países de la región andina como Chile, Ecuador, Bolivia, Brasil y Colombia. Apreciado por sus excelentes cualidades nutritivas, sensoriales y su uso versátil; fuente de vitaminas A (1000 U.I), C (25 mg/ 100 g), E y complejo B (niacina, tiamina, riboflavina y piridoxina), bajo nivel en hidratos de carbono (menos de 40 calorías), rico en minerales, pectina y fibra que ayudan a prevenir el estreñimiento y a reducir la tasa de colesterol en la sangre<sup>15</sup>. A pesar de estas cualidades, el cultivo de tomate de árbol no ha logrado alcanzar un desarrollo a nivel industrial y comercial en el Perú. Por lo señalado anteriormente, la investigación se orientó a evaluar el efecto de los factores de pH, °Brix y dilución durante la estandarización y la temperatura de pasteurización en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante durante la elaboración de néctar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) con la finalidad de obtener información sobre una industrialización adecuada que garantice la difusión de una bebida alimenticia con propiedades nutritivas y saludables favorables para el consumidor.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Lugar de ejecución

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología e Instrumentación,

Laboratorio de Análisis Físico-Químico de los Alimentos, Laboratorio de Investigación y en la Planta Piloto de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias y en el Laboratorio de Análisis Químico del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias, en las instalaciones de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

### **Materiales y reactivos**

**Muestra:** Se trabajó con tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) variedad amarilla, procedente del distrito de Chinchao, Provincia de Huánuco, Departamento de Huánuco.

**Reactivos:** ABTS (2,2' azinobis (3-ethylbenoxthiazoline 6-sulfonate acid) de Sigma Aldrich Co. ®; DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) de Sigma Aldrich Co. ®; etanol absoluto y ácido bórico de Merck; metanol, hexano, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, biftalato de potasio de J.T. Baker; folin-Ciocalteu 2 N, trolox, ácido gálico, β Caroteno, ácido ascórbico de Sigma Aldrich Co. ®; acetona, ácido acético glacial, hidróxido de sodio, cloruro de sodio y alcohol isopropílico de Fermont; sulfato de cobre pentahidratado (Sulfato cúprico), thiourea de Merck; 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNP), ácido metafosfórico y persulfato de potasio de Harleco; diclorometano de Riedel-de-Haë, y carbonato de sodio y bicarbonato de sodio de Mallinckrodt.

### **Métodos de análisis**

- **Análisis físicos**<sup>13</sup>: colorimétrico, diámetro y largo, peso, firmeza, rendimiento en pulpa.
- **Análisis fisicoquímicos**<sup>3</sup>: humedad, proteína, grasa, fibra bruta, cenizas, carbohidratos, pH; acidez titulable, sólidos solubles.
- **Análisis químico**<sup>2,4,5,9</sup>: ácido ascórbico, compuestos fenólicos totales, carotenoides totales, capacidad antioxidante.
- **Análisis microbiológico**: recuento total de aerobios viables, recuento total de hongos y levaduras.

### **Metodología experimental**

#### **Caracterización de la materia prima**

Se realizó la caracterización de los frutos de tomate de árbol mediante los siguientes análisis: físicos (diámetro, largo, peso, color y firmeza), fisicoquímicos (proximal, pH, sólidos solubles (°Brix), acidez titulable).

Luego del escaldado, pulpeado y refinado de la materia prima, se evaluó el rendimiento y se procedió a realizar la determinación del contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en la pulpa, antes de ser sometida al proceso de estandarización y tratamiento térmico. Finalmente, se realizó el análisis microbiológico de recuento total de aerobios viables y recuento total de mohos y levaduras en la pulpa.

### **Determinación de los factores ( $p < 0,01$ ) que influyen en la retención del ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la estandarización y tratamiento térmico en la elaboración del néctar de tomate de árbol.**

Se determinaron los factores que influyen significativamente en la retención del ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante la elaboración de néctar de tomate de árbol. Los factores de pH, °Brix, dilución de pulpa y temperatura del tratamiento térmico con sus respectivos niveles se muestran en el cuadro 1.

En la tabla 1 se presenta el flujo de operaciones para la elaboración del néctar de tomate de árbol.

**Tabla 1.** Factores y sus niveles considerados en el diseño experimental Taguchi  $L_9(3^4)$

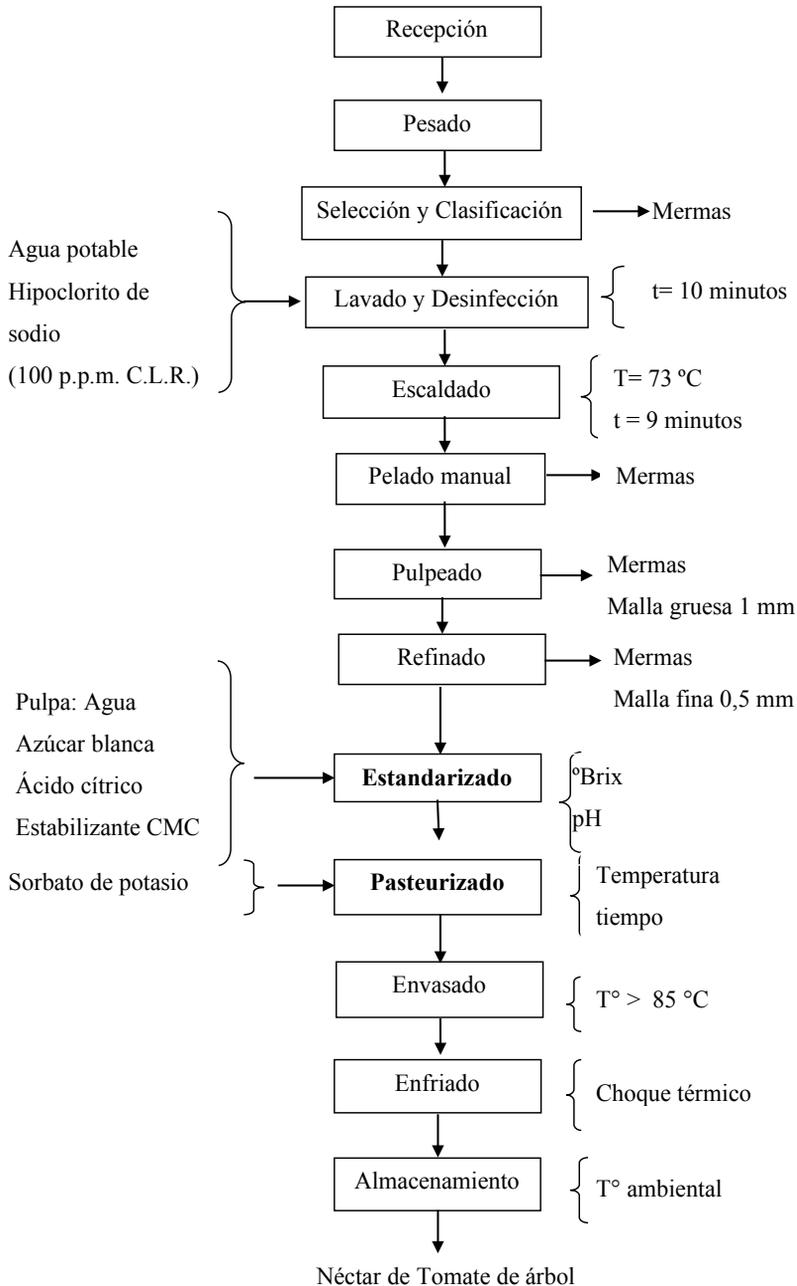
FACTORES	MÁXIMO	MEDIO	MÍNIMO
F <sub>1</sub> : pH del néctar	3,7	3,5	3,3
F <sub>2</sub> : °Brix del néctar	14	13	12
F <sub>3</sub> : Dilución de pulpa: agua	1:4	1:3,5	1:3
F <sub>4</sub> : Temperatura del tratamiento térmico (°C)	95	90	85

### **Determinación del nivel adecuado para los factores que influyen significativamente en la retención del ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la estandarización y tratamiento térmico en la elaboración del néctar de tomate de árbol.**

Para una mayor retención del contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la elaboración del néctar de tomate de árbol se empleó el método de Superficie de Respuesta ( $\alpha = 0,05$ ), juntamente con la función deseabilidad para un análisis multirespuesta, haciendo uso de las variables significativas que resultaron de la evaluación por el método Taguchi en la etapa anterior.

### **Caracterización del producto final**

En base al resultado de las etapas de investigación, se elaboró el néctar de tomate de árbol con los factores que hacen máxima la retención ácido ascórbico, compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante durante la elaboración. Se caracterizó el producto a través de las siguientes evaluaciones: análisis proximal, pH, sólidos solubles (°Brix), acidez titulable, color, vitamina C, carotenoides totales, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y evaluación sensorial. Para verificar la eficiencia del tratamiento térmico, así como las buenas prácticas de manufactura durante la elaboración, se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: detección de microorganismos aerobios mesófilos viables y recuento total de hongos y levaduras.



**Figura 1.** Flujo de operaciones para la obtención de néctar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

### Análisis estadístico

Se utilizó la metodología Taguchi<sup>12</sup> con un arreglo ortogonal  $L_9(3^4)$  que comprende un diseño factorial con cuatro variables independientes, cada una con tres niveles de trabajo. Las variables dependientes fueron: contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, estando combinadas mediante la función deseabilidad<sup>7,10</sup> bajo el criterio “mayor es mejor”, las cuales fueron evaluadas con el paquete estadístico *Statistica*<sup>®</sup> versión 8. Para las tres variables respuestas la deseabilidad global ( $D$ ) fue definida como la media geométrica de las deseabilidades individuales, tal como  $D = (dAA \times dCF \times dCA)^{1/3}$ . Posteriormente, aplicando la Metodología de Superficie de Respuesta, se determinaron los niveles adecuados para los factores que resultaron significativos en la etapa anterior; la función deseabilidad fue aplicada para combinar matemáticamente las tres variables respuestas y generar una función simple, mediante el análisis multirespuesta realizado por el paquete estadístico *Statgraphic Centurion* versión 16.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de la materia prima

En la tabla 2 se muestran los resultados del análisis físico-químico de la pulpa de tomate de árbol. En relación a los parámetros de pH, acidez, sólidos solubles e índice de madurez hallados se indica que el fruto se encontraba en un estado de madurez maduro<sup>13</sup> siendo factible su procesamiento para la elaboración de néctar, dado el desarrollo aceptable de las características sensoriales en el fruto.

**Tabla 2.** Composición proximal y fisicoquímica de la pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

Parámetro	Contenido
Humedad (%)	88,72 ± 0,12
Proteína (g/100 g de parte comestible)	1,49 ± 0,02
Grasa (g/100 g de parte comestible)	0,34 ± 0,01
Fibra bruta (g/100 g de parte comestible)	1,11 ± 0,02
Ceniza (g/100 g de parte comestible)	0,83 ± 0,03
Carbohidratos (g/100 g de parte comestible)	7,50 ± 0,15
pH	3,61 ± 0,04
Sólidos solubles (°Brix)	11,09 ± 0,27
Acidez titulable (% ácido cítrico)	1,67 ± 0,07
Energía total (kcal/100 g de parte comestible)	39,06 ± 0,51

### Análisis químico de compuestos bioactivos

Se determinó el contenido de compuestos bioactivos en la pulpa de tomate de árbol que se muestran en la tabla 3, observándose que el contenido total de vitamina C se encuentra por debajo de 38,5 mg ácido ascórbico/100 g<sup>17</sup>, que incluye la forma oxidada y reducida del ácido ascórbico; los compuestos fenólicos se encuentran por debajo de 130 mg AGE/100g<sup>17</sup> y superior a 62,71 mg AGE/100g<sup>16</sup> la capacidad antioxidante se encuentran por encima a los

de algunas frutas como piña con 3,4  $\mu\text{mol trolox/g}$ , copuazú con 2,0  $\mu\text{mol trolox/g}$ , maracuyá con 2,7  $\mu\text{mol trolox/g}$ <sup>11</sup> tumbo serrano con 2,31  $\mu\text{mol trolox/g}$ <sup>6</sup> y por debajo de frutas como aguaymanto con 4,25  $\mu\text{mol trolox/g}$ , papaya de monte con 8,55  $\mu\text{mol trolox/g}$ <sup>17</sup>.

**Tabla 3.** Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la pulpa de tomate de árbol

Componente		Contenido
Vitamina C (mg ac, ascórbico/100 g muestra)		28,83 $\pm$ 0,10
Carotenoides totales (mg de $\beta$ -caroteno/100g muestra)		4,27 $\pm$ 0,08
Compuestos fenólicos (mg AGE/100 g muestra)		100,55 $\pm$ 1,25
Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol}$ trolox/g muestra)	DPPH Hidrofilica	3,3172 $\pm$ 0,90
	Hidrofilica	3,9811 $\pm$ 2,69
	ABTS Lipofilica	0,67394 $\pm$ 0,58

**Determinación de los factores ( $p < 0,01$ ) que influyen en la retención del ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la estandarización y tratamiento térmico en la elaboración del néctar de tomate de árbol.**

En la tabla 4 se muestran los valores hallados para las variables respuesta, y la combinación de estas mediante la función deseabilidad, que permite corregir las diferencias observadas en las combinaciones de factor/nivel para cada variable. La combinación adecuada de los factores con sus respectivos niveles que garanticen una formulación óptima del néctar de tomate de árbol se obtuvo bajo el criterio “mayor es mejor”, observándose en la figura 2 los valores señal/ruido (ETA) de cada factor evaluado para la función deseabilidad global ( $D$ ), obteniéndose una combinación adecuada factor/nivel de  $\text{pH}_1$ ,  $^\circ\text{Brix}_2$ , Dilución<sub>1</sub>, Temperatura<sub>3</sub>.

**Tabla 4.** Resultados del contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del néctar de tomate de árbol

Tratamientos	Variables Respuesta			
	Vitamina C (mg ácido ascórbico/100 g muestra) Y + DS	Compuestos fenólicos (mg AGE/100 g muestra) Y ± DS	Capacidad antioxidante ( $\mu$ mol/g muestra) Y ± DS	Deseabilidad global promedio Y
1	8,90 ± 0,23	26,29 ± 0,09	1,58 ± 0,88	0,286
2	9,86 ± 0,26	22,28 ± 0,81	1,52 ± 0,78	0,277
3	7,16 ± 0,25	18,18 ± 1,00	1,38 ± 0,66	0,225
4	7,71 ± 0,37	24,87 ± 0,72	1,61 ± 0,56	0,269
5	4,14 ± 0,21	15,89 ± 0,58	1,14 ± 0,30	0,168
6	11,10 ± 0,36	28,30 ± 0,64	1,66 ± 0,14	0,321
7	4,68 ± 0,37	16,87 ± 0,34	1,28 ± 0,61	0,185
8	10,24 ± 0,24	30,35 ± 0,76	1,79 ± 0,43	0,328
9	6,30 ± 0,14	19,93 ± 0,69	1,43 ± 0,22	0,225

Y: Promedio de 3 repeticiones en base húmeda

DS: Desviación estándar

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), demostrándose que los factores con una mayor influencia significativa ( $p \leq 0,01$ ) fueron la dilución y temperatura de tratamiento térmico con un valor  $F = 18478,7$  y  $F = 320,3$ , respectivamente. Posteriormente, aplicando la Metodología de Superficie de Respuesta ( $p \leq 0,05$ ), se determinaron los niveles adecuados para los factores de dilución de pulpa y temperatura de pasteurización que resultaron significativos en la etapa anterior, manteniéndose constantes el contenido de pH y grados brix con valores de 3,3 y 13, respectivamente; estando las tres variables respuesta combinadas matemáticamente para generar una función simple mediante la función deseabilidad.

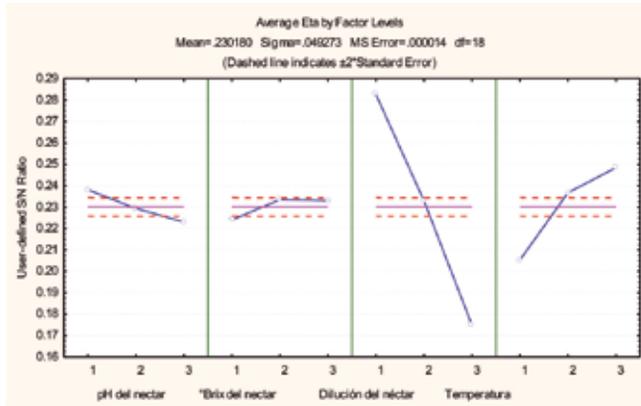


Figura 2. Valores Señal/Ruido de cada factor evaluado para una mayor retención de la función deseabilidad global en el néctar de tomate de árbol aplicando el método Taguchi  $L_9(3^4)$

**Determinación del nivel adecuado para los factores que influyen significativamente en la retención del ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la estandarización y tratamiento térmico en la elaboración del néctar de tomate de árbol.**

Mediante el método de Superficie de Respuesta ( $p < 0,05$ ) se determinaron los niveles adecuados de los factores en estudio que contribuyen a una mayor retención en el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la elaboración del néctar de tomate de árbol, estando las tres variables respuesta combinadas matemáticamente para generar una función simple mediante la función deseabilidad, a través del análisis multirespuesta realizado por el paquete estadístico.

En las figuras 3 y 4 se presentan las gráficas de superficie de respuesta y curvas de nivel, respectivamente; observándose los niveles óptimos de dilución y temperatura del tratamiento térmico del néctar, con una tendencia hacia los valores máximos en ambos casos. Se obtuvo una mayor retención de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tomate de árbol con un pH de 3,33; 13°Brix, dilución pulpa:agua 1:2,5 y una temperatura de pasteurización de 99,5°C por 1 minuto.

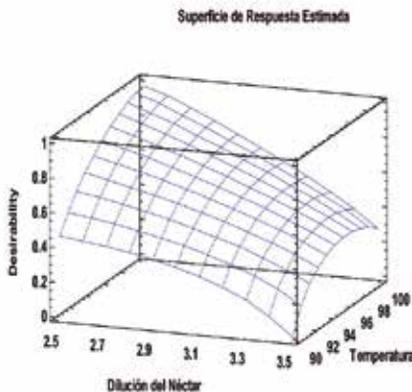
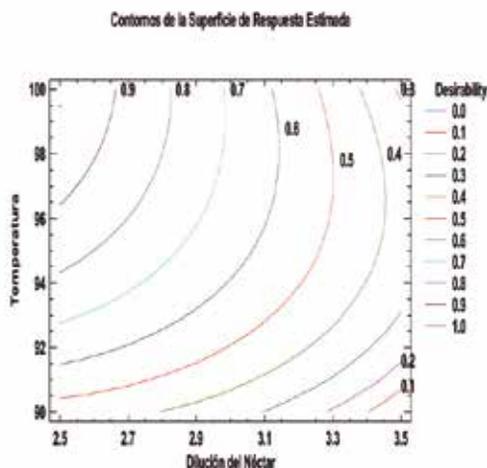


Figura 3. Gráfica de superficie de respuesta correspondiente a la función deseabilidad



**Figura 4.** Curvas de nivel para la mayor retención de la función deseabilidad

### Caracterización del producto final

Con los resultados obtenidos para los niveles de dilución y tratamiento térmico del néctar, y los niveles constantes de pH y °Brix, se procedió a la elaboración del néctar de tomate de árbol cuya composición fisicoquímica se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5.** Composición proximal y fisicoquímica del néctar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)

Parámetro	Contenido
Humedad (%)	89,45 ± 0,20
Proteína (g/100 g de parte comestible)	0,24 ± 0,02
Grasa (g/100 g de parte comestible)	0,12 ± 0,04
Fibra bruta (g/100 g de parte comestible)	0,23 ± 0,02
Ceniza (g/100 g de parte comestible)	0,25 ± 0,05
Carbohidratos (g/100 g de parte comestible)	9,71 ± 0,17
pH	3,34 ± 0,01
Sólidos solubles (°Brix)	13,0 ± 0,08
Acidez titulable (% ácido cítrico)	0,41 ± 0,01
Energía total (kcal/100 g de parte comestible)	40,85 ± 0,81

El contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del producto obtenido se muestran en la tabla 6, valores que determinan un porcentaje de retención de 40,42% de vitamina C, 32,78% de compuestos fenólicos, 60,6% de carotenoides totales y 41,61 y 42,98% de capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS, respectivamente. Al respecto, en otras investigaciones realizadas en néctares de frutas se obtuvieron retenciones de 36,90% de vitamina C para el néctar de guayaba<sup>14</sup> retención de carotenoides totales de 61% y 70% en néctar de tuna<sup>8</sup> y una retención del 60,48% de capacidad antioxidante hidrofílica en el néctar de tumbo<sup>6</sup>.

**Tabla 6.** Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del néctar de tomate de árbol

Componente	Contenido
Vitamina C (mg ac. ascórbico/100 g muestra)	11,45± 0,44
Carotenoides totales (mg de β-caroteno/100g muestra)	1,68± 0,05
Compuestos fenólicos (mg AGE/100 g muestra)	32,96 ± 0,64
DPPH Hidrofilica	1,3803 ± 2,08
Capacidad antioxidante (μmol trolox/g muestra)	1,6833±0,95
ABTS Lipofilica	0,3172 ± 0,69

### CONCLUSIONES

- La composición y características fisicoquímicas en la pulpa de tomate de árbol fueron: humedad 88,75%, proteínas 1,49%, grasa 0,34%, fibra 1,11%, cenizas 0,83%, carbohidratos 7,50%, 1,67 g de ácido cítrico/100g, 11,09 °Brix y un pH de 3,61 con un adecuado desarrollo de las características sensoriales, favoreciendo su procesamiento para la elaboración de néctar.
- El contenido de compuestos bioactivos en la pulpa de tomate de árbol fue de: carotenoides totales con 4,27 mg β-caroteno/100g, vitamina C con 28,83 mg de ácido ascórbico/100g compuestos fenólicos con 100,55 mg ácido gálico equivalente/100g y capacidad antioxidante de 3,3172 μmol trolox/g medida por el método DPPH y 4,65504 μmol trolox/g medida por el método ABTS.
- De acuerdo al método Taguchi, los factores altamente significativos sobre la función deseabilidad global, que combina el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, en la elaboración del néctar de tomate de árbol fueron la dilución pulpa:agua (1:3) y la temperatura del tratamiento térmico (95 °C).
- Se establecieron los parámetros de elaboración del néctar de tomate de árbol que proporcionaban un mayor contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante: pH 3,3, 13 °Brix, dilución pulpa:agua 1:2,5 y la temperatura del tratamiento térmico del néctar de 99,5°C por 1 minuto.
- La composición y características fisicoquímicas en el néctar de tomate de árbol fueron: humedad 89,45%, proteínas 0,24%, grasa 0,12%, cenizas 0,25%, carbohidratos 9,71%, aporte energético 40,85 kcal/100g, 0,41 g de ácido cítrico/100g, 13 °Brix y un pH de 3,34.
- El contenido de compuestos bioactivos en el néctar de tomate de árbol fue de carotenoides totales con 1,68mg β-caroteno/100g, vitamina C con 11,45mg de ácido ascórbico/100g compuestos fenólicos con 32,96mg ácido gálico equivalente/100g y capacidad antioxidante de 1,38 μmol trolox/g medida por el método DPPH y 2,00 μmol trolox/g medida por el método ABTS.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina, a la Sra. Karina Capa y al Sr. Máximo Zúñiga

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ajila M, Naidu K, Bhat SG, Prasada U. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chem.* 2005; 105: 982-988.
2. Al-Ani M, Linus O, Al-Bahri D, Al-Rahbi N. Spectrophotometric quantification of ascorbic acid contents of fruits and vegetables using the 2,4-dinitrophenylhydrazine method. *JFAE*; 2007; 5: 165-168.
3. AOAC (Association of Official Agricultural Chemists, US). *Official Methods of Analysis*, 18th edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2005.
4. Arnao M. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. *Trends Food Sci Technol.* 2000; 2: 419-421
5. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free Radical method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm Wiss Tol.* 1995; 28: 25-30.
6. Carpio L, Encina C. Determinación de la máxima retención de ácido ascórbico, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tumbo (*Passiflora mollisima* H.B.K., Bailey). *Revista Ingeniería Industrial.* 2009; 29: 225-247.
7. Chang M, Tsai G, Houg J. Optimization of the medium composition for the submerged cultura of *Ganoderma lucidum* by Taguchi array design and steepest ascent method. *Enzyme Microb Technol.* 2006; 38: 407-414.
8. El-Samahy SK, El-Mansy HA, Bahlol HE, El-Desouky AI, Ahmed AE. Thermal process time and sensory evaluation for canned cactus pear nectar. *J Prof Assoc Cactus.* 2008; 10: 85-107.
9. Howard L, Talcott S, Brenes C, Villalon B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum species*) as influenced by maturity. *J Agric Food Chem.* 2000; 48 (5): 1713-1720.
10. Kim D, Rhee S. Optimization of a gas metal arc welding process using the desirability function and the genetic algorithm. *Proc Inst Mech Eng, B Eng Manuf.* 2004; 218 (1): 35-41.
11. Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la capacidad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas.* 2005; 25 (4): 726-732.
12. Marfil R. Una herramienta para el mejoramiento de la calidad. *Tecnología de Alimentos – México.* 1991; 25:5.
13. Ocampo E, Barrera E, Yepes P. Evaluación de las características fisicoquímicas del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en tres estados de maduración. [Internet] Medellín: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia; 2009 [citado 24 junio 2015]

- Disponible en: <http://documentslide.com/documents/tomate-558b0bba21050.html>
14. Ordoñez-Santos LE, Vásquez-Riascos A. Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents of néctar of pink guava (*Psidium guajava* L.). ALAN. 2010; 6 (3): 280-284.
  15. Ordoñez R, Vattuone M, Isla M. Changes in carbohydrate content and enzymes related activity during *Cyphomandra betacea* Sendt. fruit maturation. Postharvest Biol Technol. 2005; 35: 239-301.
  16. Muñoz-Jáuregui AM, Ramos-Escudero DF, Alvarado-Ortiz C, Castañeda-Castañeda B. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Rev Soc Quím Perú. 2007;73 (3): 142-149.
  17. Repo-Carrasco R, Encina C. Determinación de la Capacidad Antioxidante y Compuestos Bioactivos de Frutas Nativas Peruanas. Rev Soc Quím Perú. 2008; 74(2):108-124.

## CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO DEL CENTRO URBANO DE HUANCAYO, PERÚ

Luis Suárez-Salas<sup>a</sup>, Daniel Álvarez Tolentino<sup>a</sup>, Yéssica Bendezú<sup>b</sup>, José Pomalaya<sup>b</sup>

### RESUMEN

La ciudad de Huancayo, ubicada en los Andes centrales del Perú, presenta problemas de calidad del aire, siendo el principal contaminante el material particulado (MP). Por ello, el objetivo del presente artículo fue caracterizar la composición química del MP atmosférico colectados en una estación ubicada en el centro urbano de Huancayo. Se colectó MP en agosto del 2007, y enero, abril y mayo del 2008 con un equipo de bajo volumen (PARTISOL FRM 2000) y filtros de 47 mm. Se determinó la concentración de partículas de tamaño hasta 10  $\mu\text{m}$  ( $\text{MP}_{10}$ ), partículas menores a 2,5  $\mu\text{m}$  ( $\text{MP}_{2,5}$ ) y se analizó la composición química de hasta 38 elementos, mediante la técnica de fluorescencia de rayos X (XRF). Y en el caso del  $\text{MP}_{2,5}$  se analizó los iones: nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) y especies carbonáceas: carbono orgánico (COrg) y carbono elemental (CE).

Los resultados de  $\text{MP}_{10}$  ( $64,54 \pm 30,87 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) y  $\text{MP}_{2,5}$  ( $34,47 \pm 14,75 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) superaron la normativa anual de calidad del aire peruano, siendo el  $\text{MP}_{2,5}$  el que representa mayor abundancia en comparación a otras ciudades importantes. También se evidencia una mayor concentración de  $\text{MP}_{10}$  y  $\text{MP}_{2,5}$  en periodo seco. La determinación de la composición química indicó que los elementos geológicos (8%), metales (12%) y metaloides (7%) fueron los componentes más abundantes en el  $\text{MP}_{10}$  y los no metales (4%), iones (11%) y especies carbonáceas (44%) en el  $\text{MP}_{2,5}$ . En conclusión este estudio confirma la problemática del MP en la ciudad de Huancayo, pero evidencia el mayor riesgo del  $\text{MP}_{2,5}$  a la salud de su población, siendo el sector transporte una de las fuentes de emisión más importantes.

**Palabras clave:** Composición química, material particulado, Huancayo.

## CHEMICAL CHARACTERIZATION OF PARTICULATE MATTER AT AN URBAN SITE OF HUANCAYO CITY, PERU

### ABSTRACT

Huancayo city, located at the Central Andes of Peru, presents air quality problems being the main pollutant the particulate matter (PM). For that reason, the objective of this paper was to characterize the chemical composition of atmospheric PM sampled in a station located

<sup>a</sup> Observatorio de Huancayo, Instituto Geofísico del Perú. Email: lsuarez@igp.gob.pe

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

in urban center of Huancayo city. It was sampled PM in august 2007, and January, April and May 2008 with a low volume sampler (Partisol FRM2000) and 47 mm filters. It was determined the concentration of particles smaller than 10  $\mu\text{m}$ , particles smaller than 2.5  $\mu\text{m}$  and it was analyzed the chemical composition up to 38 elements, using the X Rays Fluorescence (XRF) technique. In the case of (MP<sub>2,5</sub>) additional analysis were performed for ionic composition: nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sulfates (SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) and carbonaceous species: organic carbon (COrg) and elemental carbon (CE).

The results of MP<sub>10</sub> ( $64.54 \pm 30.87 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) y MP<sub>2,5</sub> ( $34.47 \pm 14.75 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) were higher than the annual Peruvian air quality standard, being the MP<sub>2,5</sub> the one that registered higher values than other important cities. Also higher values of MP<sub>10</sub> y MP<sub>2,5</sub> were registered during the dry season. The determination of the chemical composition showed that geological elements (8%), metals (12%) and metalloids (7%) were the most abundant elements in the MP<sub>10</sub> and the non-metals (4%), ions (11%) and carbonaceous species (44%) in the MP<sub>2,5</sub>. In conclusion this study confirms the problem of PM in Huancayo city, but provides important evidence the higher risk of MP<sub>2,5</sub> to the health of its population, being the transport sector one of the most important emission sources.

**Key words:** Chemical composition, particulate matter, Huancayo city.

## INTRODUCCIÓN

El material particulado (MP) atmosférico es una compleja mezcla de partículas sólidas y líquidas presentes en el aire y su composición química representa una complejidad aún mayor. Para un mejor estudio, es común la medición de las fracciones del material particulado: partículas menores de 10 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ), MP<sub>10</sub> y partículas menores de 2,5  $\mu\text{m}$ , MP<sub>2,5</sub>, las cuales varían ampliamente con respecto a su concentración y composición química según el tiempo y lugar. Según su origen se clasifican en partículas primarias, provenientes de fuentes directas como: la quema de biomasa, combustión incompleta de combustibles fósiles, erupciones volcánicas, desgaste de carreteras, suelo, mar y materiales biológicos (fragmentos de plantas, microorganismos, polen, etc.); y partículas secundarias, provenientes principalmente de la conversión de gases a partículas en la atmosfera<sup>1</sup>.

El MP tiene una profunda influencia en la salud pública, visibilidad atmosférica (smog) conservación de los materiales artificiales (corrosión) y en el clima de un lugar. En la salud pública, por ejemplo, muestra una fuerte correlación estadística positiva entre la toxicidad del PM y las enfermedades respiratorias agudas<sup>2</sup>; siendo Lima, capital del Perú, una de las ciudades con frecuencia de asma en niños por la relación del MP proveniente de emisiones del parque automotor<sup>3</sup>. Por tal motivo, la caracterización química y vigilancia permanente del MP es básica e importante porque nos brinda información para la elaboración de estrategias y planes de control y mitigación del MP.

En los Andes centrales del Perú se ubica la ciudad de Huancayo, que tiene una de las mayores poblaciones de la región andina peruana y donde las actividades económicas más importantes son: comercio, transporte e industria. Está ubicado en la margen izquierda del río Mantaro, en el extremo sur del valle del Mantaro; está dominado por un relieve plano con una baja gradiente altitudinal. Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú (INEI) a nivel metropolitano (distritos de El Tambo, Huancayo y Chilca) tiene una población de 336 293 habitantes.

La ciudad de Huancayo está incluida en zonas de atención prioritaria de calidad del aire del Ministerio de Ambiente de Perú (MINAM); siendo el MP, el principal problema de calidad de aire<sup>4</sup>. Por ello, este trabajo, por primera vez, caracteriza la composición química elemental, iónica y carbonácea de  $MP_{10}$  y  $MP_{2,5}$  del centro urbano de Huancayo por ser una zona de intensa actividad económica.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Ubicación de la estación de monitoreo

La estación de monitoreo de MP se ubicó en el centro urbano de la ciudad de Huancayo (12,07°S; 75,21°O; 3 272 msnm), cerca de la intersección de dos calles de gran confluencia vehicular y comercial (figura 1).

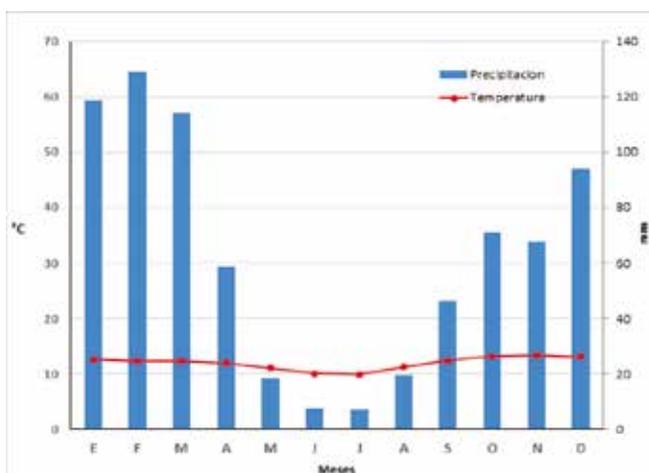


**Figura 1.** Ubicación del sitio de muestreo en el centro urbano de Huancayo, Perú.

### Climatología

La climatología de Huancayo fue obtenida de la estación del Huayao (12,04°S; 75,32°O; 3313 msnm) del Instituto Geofísico del Perú (IGP) desde 1966 hasta 20025 (figura 2). La variación de la temperatura describe dos períodos bien definidos durante el año, la primera de mínimos valores, centrándose en junio y julio (invierno), y la segunda de valores máximos entre octubre y diciembre (primavera). La temperatura media anual es de  $11,9 \pm 1,2^\circ\text{C}$ .

Del mismo modo, la precipitación registra dos períodos bien definidos durante el año: época seca y húmeda. Entre junio y julio (invierno) se registran mínimas lluvias, mientras que entre enero y marzo (verano) se presentan las lluvias más intensas. Febrero es el mes con el mayor registro, alcanzando un valor acumulado de 129,1 mm de lluvia. El promedio acumulado anual de lluvia es de  $752 \pm 44,3$  mm.



**Figura 2.** Climatograma de Huancayo en base a los años 1966-2002. Fuente: IGP

### Monitoreo

El monitoreo del MP se realizó con un equipo colector de partículas de bajo volumen (PARTISOL FRM 2000 de Thermo Scientific, EE.UU.), el cual fue instalado a 10 metros del suelo. Complementariamente se instaló una estación meteorológica (modelo 232 de Weatherhawk, EE.UU.).

El monitoreo formó parte del programa de evaluación de calidad de aire de la zona alta y media de la cuenca hidrográfica del Mantaro de la Mesa de Diálogo Ambiental de la Región Junín (MEDIAREJ), por tal motivo, en Huancayo se monitoreó en cuatro meses: agosto del 2007, enero, abril y mayo del 2008. Durante este tiempo se realizaron colectas de  $MP_{10}$  y  $MP_{2,5}$  en filtros de teflón con diámetros de 47 mm y tamaño de poro de  $2,0 \mu\text{m}$ , para evaluar las concentraciones y composición química elemental de ambos tamaños de partículas y también se realizaron colectas adicionales de  $MP_{2,5}$  en filtros de cuarzo de 47

mm de diámetro, previamente sometidos a 500°C por 2,5 horas para evitar que contengan fracciones carbonáceas. Esto se realizó para evaluar la concentración en el MP de iones de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  y las especies carbonáceas: carbono orgánico (COrg) y carbono elemental (CE). La frecuencia de monitoreo del MP10 fue de cada tres días y del MP2,5 fue de cada 15 días. La colecta de ambos tamaños de partículas se realizó con un flujo constante de 16,7 L/min por 24 horas según lo establecido en el Decreto Supremo N° 074-2001 PCM y D.S. N° 003-2008-MINAM de la normativa peruana.

### Análisis de muestras

Las muestras colectadas de  $\text{MP}_{10}$  y  $\text{MP}_{2,5}$  fueron enviadas a EE.UU. para ser analizadas por el Laboratorio CHESTER LabNet (<http://www.chesterlabnet.com>) acreditado por el NELAC (National Environmental Laboratory Accreditation Conference) de EE.UU.

Las concentraciones de  $\text{MP}_{10}$  y  $\text{MP}_{2,5}$  se determinaron por el método gravimétrico establecido en el Método de la EPA IO-3.1 a través de la diferencia del peso inicial y final de cada filtro mediante una microbalanza de  $\pm 0,010$  mg de precisión.

La composición química elemental del MP se obtuvo mediante el análisis de hasta 38 elementos posibles a detectar a través de la técnica de la fluorescencia de rayos X (XRF) establecido en el método analítico EPA IO-3.3. Los límites de detección de los elementos analizados en el MP se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Límites de detección de los elementos analizados en el material particulado.

Elemento	$\mu\text{g}/\text{filtro}$	Elemento	$\mu\text{g}/\text{filtro}$	Elemento	$\mu\text{g}/\text{filtro}$
Al	0,136	Sr	0,038	Ag	0,129
Sb	0,185	P	0,081	Pb	0,067
As	0,029	Ga	0,036	K	0,051
S	0,067	Ge	0,022	Rb	0,024
Ba	1,424	Fe	0,014	Se	0,024
Br	0,022	In	0,336	Si	0,095
Cd	0,132	La	0,870	Na	2,543
Ca	0,034	Mg	0,305	Ti	0,024
Cl	0,082	Mn	0,026	V	0,017
Co	0,014	Hg	0,060	Y	0,036
Cu	0,014	Mo	0,060	Zn	0,017
Cr	0,017	Ni	0,014	Zr	0,043
Sn	0,231	Pd	0,122		

Fuente: CHESTER LabNet

Los iones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  se analizaron por la técnica de cromatografía con un equipo Dionex ICS-3000 (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). Estos fueron separados en una columna de intercambio iónico a alta presión y extraídos a partir de sustratos de filtro por inmersión en 10,0 mL de agua desionizada en 60 minutos con sonicación.

Las especies carbonáceas de COrg y CE se analizaron utilizando el método térmico/óptico basado en el método NIOSH 5040. El COrg se definió como todo el carbono producido en una única fase móvil de gas helio, y el CE como todo el carbono producido en una fase móvil de la mezcla del gas helio/oxígeno.

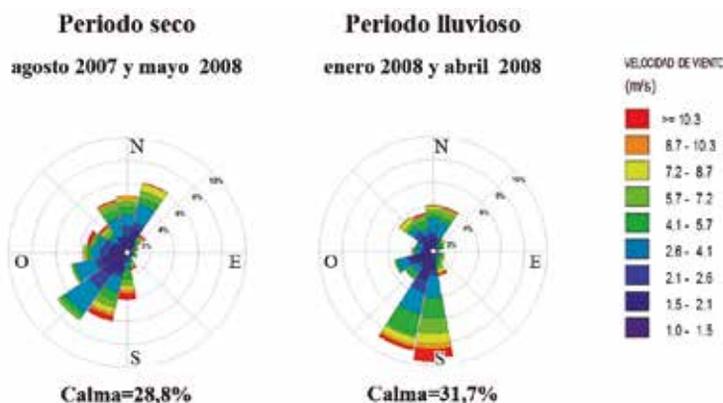
### Análisis de datos

Con la información meteorológica de dirección y velocidad de viento se elaboraron rosas de vientos con el programa WRPlot View v8.0 (Lakes Environmental Software, EE.UU.). Se utilizó la hoja de cálculo Excel de Microsoft Office para la conversión de datos reportados del laboratorio de microgramos por filtro ( $\mu\text{g}/\text{filtro}$ ) a microgramos por metro cúbico ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ), tomando en cuenta la temperatura y presión atmosférica del sitio de monitoreo por el Método EPA IO-2.4. Con el programa R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) se calculó los estadísticos descriptivos para cada tamaño de materia particulado y componente químico analizado, para luego compararlas con la normativa peruana vigente.

También se realizó un análisis de la variabilidad de las concentraciones diarias de  $\text{MP}_{10}$  y  $\text{MP}_{2.5}$  por período seco (agosto y mayo) y lluvioso (enero y abril)<sup>5</sup>. Finalmente, se calcularon los porcentajes de los elementos químicos, iones y especies carbonáceas detectados en el  $\text{MP}_{10}$  y  $\text{MP}_{2.5}$ , determinándose los elementos más abundantes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la figura 3, entre agosto 2007 y mayo 2008, *periodo seco*, los vientos predominantes fueron en dirección suroeste y noreste con una velocidad frecuente de 2,6 a 4,1 m/s; en cambio en enero y abril del 2008, *periodo lluvioso*, los vientos predominantes fueron con dirección hacia el sur y sursuroeste con velocidades dominantes de 4,1 a 5,7 m/s. En ambos periodos las velocidades máximas fueron mayores a 10,3 m/s. Por lo que la dirección vientos varía según periodo lluvioso y seco.



**Figura 3.** Rosas de vientos obtenidas en la estación de monitoreo del centro urbano de Huancayo en periodo seco (agosto 2007, mayo 2008) y lluvioso (enero 2008, abril 2008).

## Composición elemental

### Material particulado menor a 10 $\mu\text{m}$ ( $\text{MP}_{10}$ ):

Como se aprecia en la tabla 2 el promedio para el  $\text{MP}_{10}$  en el centro de Huancayo para los cuatro meses de evaluación fue de  $64,54 \pm 30,87 \mu\text{g}/\text{m}^3$  superando el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) anual ( $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) en más del 29%. Siendo el valor máximo diario registrado de  $143 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . Ningún valor diario de  $\text{MP}_{10}$  superó el ECA de 24 horas peruano ( $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

Comparando el valor promedio de  $\text{MP}_{10}$  de Huancayo, muestra menor concentración con respecto al distrito de Ate-Lima-Perú ( $137,37 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ; 355 msnm)<sup>6</sup> y otras ciudades de América Latina como Santiago-Chile ( $69 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ; 550 msnm; 2007); y es ligeramente mayor que La Paz-Bolivia ( $54 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ; 3640 msnm; 2007)<sup>7</sup>.

Respecto a la composición elemental los metales (Ca, Al, Fe, K, Mg, Ti, Na, Zn, Mn, Pb, Cu, Sr, Rb, Cr, Cd, Ni, V, Zr y Y) constituyeron aproximadamente 11,9% del peso del  $\text{PM}_{10}$ , los metaloides (Si, As y Sb) el 7,5% del peso del  $\text{PM}_{10}$ , y los no metales (S, Cl, P, Br y Se) el 1,9% del peso del  $\text{PM}_{10}$ . Los cinco elementos más abundantes del  $\text{MP}_{10}$  de Huancayo, durante el periodo de monitoreo, fueron el Si, Ca, Al, Fe y K ocupando el 7,6% del  $\text{MP}_{10}$ , indicando la dominancia de elementos geológicos cuya fuente principal es el suelo<sup>8</sup>.

**Tabla 2.** Media aritmética, desviación estándar (s), máximo valor (máx.) y número de datos (n) para el  $\text{MP}_{10}$  (en  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) del centro urbano de Huancayo en agosto 2007 y enero, abril y mayo del 2008.

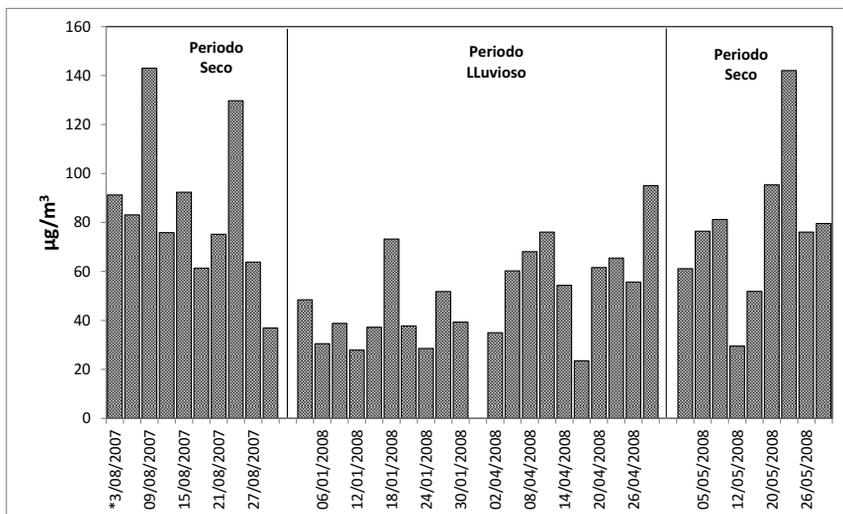
Variable	media	s	máx.	n	Variable	Media	s	máx.	n
<b>MP<sub>10</sub></b>	64,536	30,87	143,003	41	<b>As</b>	0,022	0,03	0,118	38
<b>Si</b>	4,796	2,42	10,984	40	<b>Sb</b>	0,021	0,01	0,029	9
<b>Ca</b>	2,448	1,25	5,803	41	<b>P</b>	0,019	0,01	0,048	25
<b>Al</b>	1,986	1,07	4,652	40	<b>Cu</b>	0,009	0,01	0,024	40
<b>Fe</b>	1,425	0,73	3,231	40	<b>Cd</b>	0,008	0,0004	0,008	3
<b>K</b>	1,083	0,61	3,145	40	<b>Sr</b>	0,008	0,004	0,024	39
<b>S</b>	0,882	0,55	2,227	40	<b>Zr</b>	0,005	0,002	0,008	26
<b>Cl</b>	0,348	0,29	1,340	40	<b>V</b>	0,005	0,003	0,012	16
<b>Na</b>	0,249	0,10	0,427	9	<b>Rb</b>	0,004	0,002	0,009	39
<b>Mg</b>	0,186	0,11	0,474	38	<b>Br</b>	0,003	0,002	0,010	35
<b>Ti</b>	0,131	0,07	0,304	40	<b>Cr</b>	0,003	0,002	0,008	32
<b>Zn</b>	0,057	0,03	0,122	40	<b>Y</b>	0,003	...	0,003	1
<b>Mn</b>	0,040	0,02	0,096	40	<b>Ni</b>	0,002	0,002	0,008	15
<b>Pb</b>	0,035	0,03	0,190	40	<b>Se</b>	0,002	0,0001	0,002	2

Dada la variabilidad climática de la zona, luego de determinar la normalidad de los datos de  $\text{MP}_{10}$  con la prueba de Shapiro-Wilk (p-value = 0,09), diferencia de varianzas (F = 0,311; p-value = 0,013) y de someter la prueba T para varianzas desiguales (t = -3,21; p-value < 0,01) se concluyó que sí hay diferencia significativa entre las concentraciones de  $\text{MP}_{10}$

registrados entre el periodo seco y lluvioso. Por lo que las concentraciones del MP<sub>10</sub> en los meses secos ( $77,31 \pm 34,95 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) es mayor que los meses lluviosos ( $50,40 \pm 19,08 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Esta variabilidad diaria del MP<sub>10</sub> según periodos secos y húmedos se muestra en la figura 4.

### Material particulado menor a 2,5 $\mu\text{m}$ (MP<sub>2,5</sub>)

Como se puede apreciar en la tabla 3, la media aritmética del MP<sub>2,5</sub> para Huancayo fue de  $34,47 \pm 14,75 \mu\text{g}/\text{m}^3$  superando en más del doble el ECA anual ( $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Sólo un valor diario ( $67,79 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) registrado el 25 de agosto del 2007 superó el ECA para 24 horas ( $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Comparando el promedio anual del MP<sub>2,5</sub> obtenido en Huancayo con otras ciudades, registra menores concentraciones con respecto a Bogotá - Colombia ( $35,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )<sup>9</sup>; pero mayores concentraciones en comparación con Lima ( $31,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ); Santiago ( $26,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ); y México D.F.-México ( $26,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )<sup>9</sup>. Cabe resaltar que el MP<sub>2,5</sub> es el tamaño de partícula de mayor importancia en la problemática de calidad de aire y salud pública en Huancayo.



**Figura 4.** Variación diaria del MP<sub>10</sub> en el centro urbano de Huancayo durante los meses de agosto 2007, enero, abril y mayo del 2008.

Los cinco elementos químicos más abundantes en el PM<sub>2,5</sub> fueron el S, Si, K, Ca y Cl; la gran presencia del S en este tamaño de partícula podría estar relacionado con la quema de biomasa<sup>10</sup> y la combustión del diésel<sup>11</sup>, debido a que cerca al lugar de monitoreo existen hornos de pollería y parrilleras donde usan carbón y leña como combustible. Asimismo, existe gran tránsito vehicular. Los elementos Si, K y Ca pertenecen a los elementos geológicos de los suelos<sup>8</sup>.

Los metales en el peso del MP<sub>2,5</sub> constituyeron aproximadamente el 4,1 %, los metaloides representaron el 2,1% y los no metales representaron el 3,8%. Si comparamos estos porcentajes con los registrados en el MP<sub>10</sub> se aprecia una reducción en aproximadamente tres veces de

la proporción de los metales y metaloides, por lo que estos elementos se encontrarían en las fracciones gruesas (MP<sub>10</sub>). Caso contrario se observa para los no metales, predominando en la fracción fina (MP<sub>2,5</sub>).

**Tabla 3.** Media aritmética, desviación estándar (s), máximo valor (máx.) y número de datos (n) para el MP<sub>2,5</sub> (en µg/m<sup>3</sup>) del centro urbano de Huancayo en agosto 2007 y enero, abril y mayo del 2008.

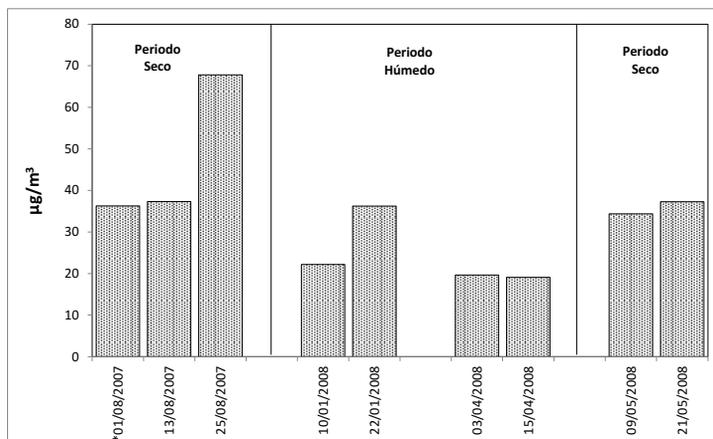
Variable	media	S	máx.	n	Variable	media	S	máx.	N
MP <sub>2,5</sub>	34,465	14,75	67,792	9	Pb	0,018	0,01	0,043	9
S	0,946	0,69	1,929	9	Ti	0,017	0,01	0,027	9
Si	0,684	0,31	1,129	9	As	0,014	0,01	0,033	9
K	0,418	0,25	1,002	9	P	0,009	...	0,009	1
Ca	0,346	0,13	0,501	9	Mn	0,005	0,002	0,009	9
Cl	0,335	0,16	0,497	8	Cu	0,004	0,005	0,015	8
Al	0,334	0,18	0,618	9	V	0,003	...	0,003	1
Fe	0,208	0,09	0,330	9	Br	0,003	0,001	0,005	8
Mg	0,043	0,01	0,051	4	Ni	0,003	0,002	0,004	2
Sb	0,020	...	0,020	1	Sr	0,002	...	0,002	1
Zn	0,018	0,01	0,032	9					

Al igual que el caso del MP<sub>2,5</sub> se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (p-value = 0,002), pero los datos no cumplieron normalidad. Por ello, se aplicó la prueba no paramétrica de Mann Whitney (p-value = 0,037), la que indicó que también existe una diferencia significativa entre los dos períodos.

La media aritmética en periodo seco fue de  $42,61 \pm 14,13$  µg/m<sup>3</sup> siendo mayor al registrado en el periodo lluvioso  $24,28 \pm 8,07$  µg/m<sup>3</sup>. Para evaluar diferencias significativas entre estación seca y húmeda primero En la figura 5 se puede apreciar la variación diaria de las concentraciones del MP<sub>2,5</sub> en el zona urbana de Huancayo agrupado por estaciones.

### Iones

Como se observa en la tabla 5, en el MP<sub>2,5</sub> existe mayor concentración y variabilidad del SO<sub>4</sub><sup>=</sup> en comparación con el NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. La mayor presencia de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, se debería al parque automotor, pues el centro urbano es muy transitado por vehículos menores y transporte público, lo que estaría aumentando las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> por procesos de combustión, típicas en áreas urbanas<sup>11</sup>.



**Figura 5.** Concentración del MP<sub>2.5</sub> en el centro urbano de Huancayo durante agosto 2007, enero, abril y mayo del 2008.

En la figura 6 se muestra la variación diaria de las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el MP<sub>2.5</sub>. El promedio registrado de Huancayo para NO<sub>3</sub><sup>-</sup> fue de 1,03±0,52 µg/m<sup>3</sup> y SO<sub>4</sub><sup>=</sup> fue de 2,45 ± 1,77 µg/m<sup>3</sup>, en comparación con lo registrado en Sao Paulo- Brasil (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 2,1 µg/m<sup>3</sup>; SO<sub>4</sub><sup>=</sup> = 3,3 µg/m<sup>3</sup>)<sup>12</sup>, y el área urbana de Guangzhou-China<sup>13</sup> (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 8,8 µg/m<sup>3</sup>; SO<sub>4</sub><sup>=</sup> = 38,6 µg/m<sup>3</sup>) fue menor. Mientras que comparado con la ciudad de Piracicaba-Brasil (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 0,5 µg/m<sup>3</sup>; SO<sub>4</sub><sup>=</sup> = 1,8 µg/m<sup>3</sup>)<sup>12</sup>, Huancayo registra mayores valores.

**Tabla 4.** Media aritmética, desviación estándar (s), número de datos (n) de los sulfatos y nitratos contenidos en el MP<sub>2.5</sub>, expresado en µg/m<sup>3</sup>, en el centro urbano de Huancayo.

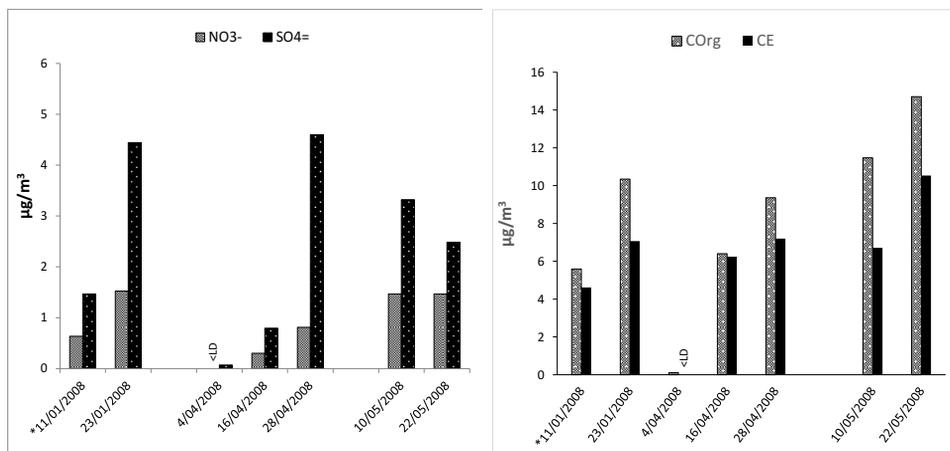
Var.	media	s	n
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1,03	0,52	6
SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	2,45	1,77	7

### Especies carbonáceas

En la tabla 5 se observa que existe mayor cantidad de carbono orgánico (COrg) respecto al carbono elemental (CE) en el PM<sub>2.5</sub>. La figura 6 muestra la variabilidad diaria registrada en este estudio.

**Tabla 5.** Media aritmética, desviación estándar (s), número de datos (n) del carbono orgánico (COrg) y carbono elemental (CE) contenidos en el PM<sub>2.5</sub>, expresado en µg/m<sup>3</sup>, en el centro urbano de Huancayo.

Var.	media	s	n
COrg	8,284	4,733	7
CE	7,062	1,940	6

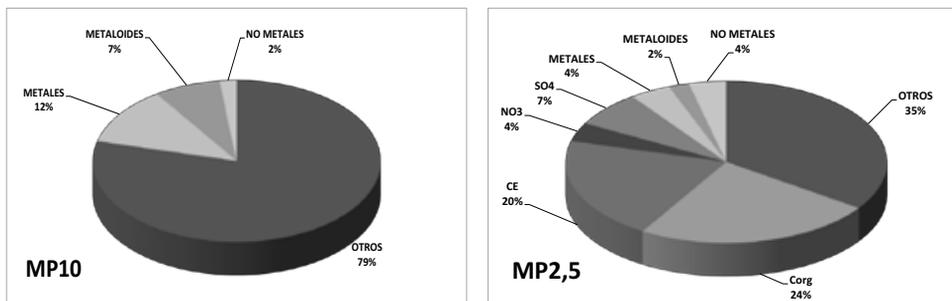


**Figura 6.** Concentraciones registradas de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, CO<sub>org</sub> y CE en MP<sub>2.5</sub> en el centro urbano de Huancayo durante los meses de agosto 2007, enero, abril y mayo del 2008 (LD: Límite de Detección)

Para evaluar la dependencia de ambas especies carbonáceas se realizó la prueba de correlación de Spearman, para comprobar la hipótesis de regresión lineal significativa entre los dos parámetros evaluados, dando un coeficiente de correlación alto ( $r=0,903$ ;  $p\text{-value}=0,005$ ), por lo que se puede decir que estas dos variables provienen de una misma fuente. Sabiendo que el CE se produce principalmente de los vehículos que funcionan a base de combustibles fósiles, grandes emisiones de compuestos carbonáceos<sup>14</sup> y dada la gran confluencia vehicular en la zona de muestreo de material particulado, podemos afirmar que el CO<sub>org</sub> y el CE, registrado para este estudio en la ciudad de Huancayo, provienen principalmente del parque automotor.

### Componentes del material particulado

A manera de resumen, se elaboraron los gráficos de la figura 7 con el fin de representar las proporciones que ocupan los componentes analizados en el MP del centro de Huancayo. En caso del MP<sub>10</sub>, a nivel elemental el 12% estuvo representado por los metales, 7% de metaloides, 2% de no metales. Para el MP<sub>2.5</sub> las fracciones carbonáceas: CO<sub>org</sub> y CE representaron el 24% y 20%, respectivamente, mientras que a nivel elemental: el 4% estuvo representado por los metales, 2% de metaloides y 4% de no metales; y las fracciones iónicas: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>=</sup> representaron el 4% y 7%, respectivamente.



**Figura 7.** Porcentajes de los componentes químicos analizados en el MP<sub>10</sub> y MP<sub>2,5</sub> del centro de Huancayo.

## CONCLUSIONES

El MP<sub>10</sub> y MP<sub>2,5</sub> en los cuatro meses de monitoreo registraron valores mayores de los ECAs anuales peruanos. Siendo el MP<sub>2,5</sub> que registró valores de más del doble del ECA anual. Debido a su tamaño, el MP<sub>2,5</sub> es de mayor importancia en la problemática de calidad de aire, considerándose un agente de riesgo potencial a la salud de los pobladores de Huancayo.

Existe mayor concentración de MP<sub>10</sub> y MP<sub>2,5</sub> en periodos secos, lo que nos estaría indicando su relación con los parámetros climáticos.

En el MP<sub>10</sub> se muestra una apreciable cantidad de metales (12%) y abundancia de elementos geológicos. En cambio en el MP<sub>2,5</sub> se ha registrado mayoritariamente el S, no metales y concentraciones importantes de COrg, CE y SO<sub>4</sub><sup>=</sup> las cuales estarían siendo atribuidas al parque automotor.

## AGRADECIMIENTO

Al Arzobispado de Huancayo y Mesa de Diálogo Ambiental de la Región Junín y a su proyecto: Fortalecimiento de la Gestión Ambiental para la lucha contra la contaminación de la zona alta-media de la cuenca del río Mantaro-Junín conocido como “El Mantaro Revive” el cual fue financiado por el Fondo Ítalo Peruano - FIP por la data otorgada en este estudio. Al fondo Innóvate-Perú por el apoyo a través de contrato 324-PNICP-PIAP-2015 de la Universidad Nacional del Centro del Perú. A la United States Agency International for Development (USAID) vía el proyecto: “Impacto del transporte transfronterizo de contaminantes del aire sobre los Andes Centrales de Perú relacionados a la quema de vegetación en la Amazonía” del programa PEER Sciences.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Pöschl U. Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2005; 44: 7520 – 7540.
2. Anderson JO, Josef G, Stolbach A. Clearing the Air: A Review of the Effects of Particulate Matter Air Pollution on Human Health. *J Med Toxicol.* 2012; 8(2): 166–175.
3. Carbajal AL, Barraza VA, Durand PR, MH, Espinoza LR, Chiarella OP, *et al.* Impact of traffic flow on the asthma prevalence among school children in Lima, Peru. *J Asthma.* 2007; 44(3): 197-202.
4. Consejo Nacional del Ambiente (CONAM). Plan "A Limpiar el Aire de Huancayo". Decreto del Consejo Directivo N° 029-2005-CONAM/CD.
5. Instituto Geofísico del Perú (IGP). Atlas Climático de precipitación y temperatura del aire en la cuenca del río Mantaro. Volumen I. Lima: Fondo Editorial CONAM; 2005.
6. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI). Evaluación de la calidad del aire en Lima Metropolitana 2011. Lima: Dirección General de Investigación y Asuntos Ambientales del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología; 2011.
7. Programa de las Naciones para el Medio Ambiente – PNUMA. Perspectivas del Medio Ambiente: América Latina y el Caribe Geo ALC 3 [Internet]. 2010 [citado el 12 de octubre del 2016] Disponible en: <https://wedocs.unep.org/rest/bitstreams/13194/retrieve>
8. Artaxo P, Oyola P, Martínez R. Aerosol composition and source apportionment in Santiago de Chile. *Nucl Instrum Methods Phys Res B.* 1999; 150 (1–4): 409–416.
9. Clean Air Institute. La calidad del Aire en América Latina: Una visión Panorámica [Internet]. Washington D.C. [citado en 22 de marzo de 2013]. Disponible en: <http://www.cleanairinstitute.org/calidaddelaireamericalatina/cai-report-spanish.pdf>.
10. Echalar F, Artaxo P, Vanderlei J, Yamasoe M, Gerab F. Long-term monitoring of atmospheric aerosols in the Amazon Basin: Source identification and apportionment. *J Geophys Res.* 1998; 103 (D24): 31849-31864.
11. Stechmann H, Dannecker W. Characterization and source analysis of vehicle generated aerosols. *J Aerosol Sci.* 1990; 21(1): S287-S290.
12. Souza DZ, Vasconcelos PC, Lee H, Aurela M, Saarnio K, Teinilä K, Hillamo R. Composition of PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>10</sub> Collected at Urban Sites in Brazil. *Aerosol Air Qual Res.* 2014; 14: 168–176.
13. Chang S, Chou C, Liu S, Zhang Y. The Characteristics of PM<sub>2.5</sub> and Its Chemical Compositions between Different Prevailing Wind Patterns in Guangzhou. *Aerosol Air Qual Res.* 2013; 13: 1373–1383.
14. Kwangsam N, Sawan AA, Song Ch, Cocker DR. Primary and secondary carbonaceous species in the atmosphere of Western Riverside County, California. *Atmos Environ.* 2004; 38: 1345–1355.

## HIDRÓLISIS QUÍMICA Y ENZIMÁTICA DE EXTRACTO DE YACÓN (*Smallanthus sonchifolius*) PARA LA PRODUCCIÓN DE FRUCTOSA

Rosana Chirinos<sup>a</sup>, Rocío Mendoza<sup>a</sup>, Ana Aguilar-Gálvez<sup>a</sup>, David Campos<sup>a\*</sup>

### RESUMEN

Los parámetros de conversión máxima de la sacarosa y fructooligosacáridos (FOS), de un extracto clarificado de yacón (1% de FOS), a fructosa, fueron optimizados empleando hidrólisis química y enzimática. Se evaluó la hidrólisis química con ácido sulfúrico y ácido fosfórico; mientras que la hidrólisis enzimática fue estudiada con inulinasa e invertasa. La metodología de superficie respuesta fue empleada para la optimización de las hidrólisis. El diseño Box-Behnken fue usado para la hidrólisis química, obteniéndose como condiciones óptimas con ácido sulfúrico: pH 1, temperatura 88,4°C y tiempo de 38,7 min, alcanzando un 9,11 g fructosa/L de extracto; mientras que con el ácido fosfórico estas fueron: pH 1, temperatura 89,9°C y tiempo de 42,2 min obteniéndose 7,84 g fructosa/L de extracto. Para la hidrólisis enzimática se empleó el diseño central compuesto, encontrándose como condiciones óptimas con la inulinasa: 134 min y concentración de enzima de 11,7 U/g FOS y con la invertasa: tiempo de 127,5 min y concentración de enzima  $6,74 \times 10^{-1}$  U/g FOS (en ambos casos se mantuvo constantes la temperatura a 50°C y pH 5), obteniéndose un 6,16 y 7,50 g fructosa/L de extracto, respectivamente. Los modelos de superficie respuesta obtenidos mostraron un ajuste satisfactorio de los resultados para ambas hidrólisis ( $R^2$  entre 0,880 y 0,999).

**Palabras clave:** yacón, fructosa, hidrólisis química, hidrólisis enzimática

## CHEMICAL AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF YACON EXTRACT (*Smallanthus sonchifolius*) TO PRODUCE FRUCTOSE

### ABSTRACT

The maximum conversion parameters of sucrose and fructooligosaccharides (FOS) from a clarified yacon extract (1% FOS) to fructose were optimized by using chemical and enzymatic hydrolysis. Chemical hydrolysis was performed using sulfuric and phosphoric acids and enzymatic hydrolysis with inulinase and invertase enzymes. Surface methodology response

---

<sup>a</sup> Instituto de Biotecnología (IBT), área de Biotecnología Industrial y Bioprocesos. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Av. La Molina s/n, La Molina. Lima – Perú. (\*) autor de correspondencia: dcampos@lamolina.edu.pe

was employed for optimization hydrolysis. A Box-Behnken design, was used for chemical hydrolysis, where optimal conditions using sulfuric acid were: pH 1, temperature 88,4°C and time of 38,7 min reaching 9,11 g fructose/L extract while with phosphoric acids were: pH 1, temperature 89,9°C and time of 42,2 min obtaining 7,84 g fructose/L extract. To enzymatic hydrolysis a central compose design was used, founding as optimal conditions with inulinase a time of 134 min and a enzymatic concentration of 11,7 U/g FOS and with invertase a time of 127,5 min and a enzymatic concentration of  $6,74 \times 10^{-1}$  U/g FOS (both reactions under constant conditions of temperature 50°C and pH of 5) reaching as maximum 6,16 and 7,50 g fructose/L extract, respectively. The obtained response surface models produced a satisfactory fitting of the results for both hydrolysis methods (R<sup>2</sup> entre 0,880 y 0,999).

**Key words:** yacón, fructose, chemical hydrolysis, enzymatic hydrolysis

## INTRODUCCIÓN

El yacón es una raíz originaria de los Andes, alrededor del 90% de su peso seco son carbohidratos y de estos, entre 50 al 70% son FOS y el resto lo conforman, principalmente, sacarosa, glucosa y fructosa<sup>1,2</sup>. Los FOS son oligosacáridos de fructosa, pueden contener o no una molécula de glucosa, tienen efecto prebiótico debido a que favorecen el crecimiento de bacterias benéficas del intestino humano (bifidobacterias y lactobacilos)<sup>3</sup>.

La fructosa es comercializada en la industria alimentaria principalmente como jarabe, para ello, habitualmente, se realiza la hidrólisis enzimática del almidón hasta glucosa y posteriormente esta es isomerizada a fructosa empleando reactores con glucosa isomera inmovilizada. Frente a este proceso, que requiere por lo menos tres etapas de hidrólisis enzimática, está la posibilidad de utilizar materias primas ricas en polisacáridos u oligosacáridos de fructosa. La hidrólisis de FOS libera cantidades importantes de fructosa<sup>4</sup>.

Se han reportado diversos estudios sobre procesos de hidrólisis química y enzimática de polímeros de FOS, habiéndose considerando diversas variables: pH, temperatura, tiempo, concentración de FOS y tipo de ácido para, la hidrólisis química<sup>5-7</sup>; así como el tipo de enzima, tiempo de hidrólisis, concentración de sustrato y concentración de enzima para la hidrólisis enzimática<sup>7,8</sup>. Los extractos de yacón, sometidos previamente a un proceso de hidrólisis, son una alternativa interesante para obtener fructosa; sin embargo a la fecha no se han encontrado estudios sobre la optimización de la hidrólisis química o enzimática de los FOS del yacón. Por esta razón, los objetivos de la presente investigación fueron: realizar un estudio comparativo de la hidrólisis química y enzimática de los FOS de yacón, teniendo en cuenta, en el primer caso, las variables pH, tiempo y temperatura y en el segundo la concentración de enzima y tiempo de reacción. En ambos casos se utilizó la metodología de superficie respuesta (MSR).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materia prima, enzimas y reactivos

Se empleó harina de yacón obtenida a partir de raíces de yacón, de acuerdo al procedimiento descrito por Campos *et al.*<sup>2</sup>. Las enzimas empleadas fueron: la Invertase® ((β-D-fructohidrolasa- D -fructofuranosidasa) (200000 SU/g) procedente de *Saccharomyces cerevisiae* adquirida de NOVO Nordisk (Copenhague, Denmark) y la inulinaasa (β-D-2,1-fructano fructohidrolasa) (≥ 200 INU/g) endoinulinaasa procedente de *Aspergillus niger* adquirida de Sigma Aldrich (USA). El ácido sulfúrico (99%), fosfórico (85%), ácido acético glacial, hidróxido de sodio, tartrato de sodio y potasio, hidróxido de calcio y el acetonitrilo grado HPLC fueron adquiridos de J.T. Baker (USA), el ácido 3,5 dinitrosalicílico fue adquirido de Sigma (USA).

### Métodos de análisis

**Determinación de sólidos solubles:** Se empleó el método refractométrico 932.14-C de la AOAC<sup>9</sup>, reportándose los resultados en °Brix.

**Determinación del contenido de azúcares reductores:** Se utilizó el método de Miller<sup>10</sup>. Los resultados se expresaron en g de fructosa equivalente/100 mL de solución.

**Determinación de azúcares mediante UPLC:** Los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) fueron analizados de acuerdo al protocolo reportado por Campos *et al.*<sup>2</sup>, con ligeras modificaciones. Brevemente, los extractos de yacón (sometidos o no a hidrólisis) fueron diluidos al 50% con acetonitrilo y posteriormente los azúcares fueron identificados y cuantificados al sistema ACQUITY UPLC H-Class (Waters, Milford, MA) equipado con un detector IR y utilizando el software Empower II. La columna empleada fue una ACQUITY UPLC® BEH Amide (1,7 μm). La fase móvil estuvo compuesta por acetona: agua (77:23, v/v) con 0,05% trietilamina (p/v). Previo a la inyección al UPLC todas las muestras fueron filtradas con un filtro de 0,22 μm a través de un filtro Millipore, tipo GV (Millipore, Bedford, MA). Un volumen de muestra de 2 μL fue inyectado, el tiempo de corrida fue de 10 min a 85°C, el flujo fue de 0,15 ml/min. Los azúcares fueron identificados y cuantificados al comparar los tiempos de retención con los de los estándares previamente inyectados. La concentración de FOS fue determinada con el UPLC-IR siguiendo el procedimiento de cálculo reportado por Pedreschi *et al.*<sup>11</sup>. Los resultados se expresaron como: fructosa, glucosa, sacarosa y FOS en porcentaje.

**Rendimiento de conversión de sacarosa y FOS del extracto de yacón a fructosa:** Se calculó tomando en cuenta el cociente entre la cantidad de fructosa (g) liberada por litro (L) de extracto de yacón.

### Metodología experimental

#### Obtención del extracto clarificado de yacón

La extracción se realizó con una proporción harina de yacón: agua destilada, 1:30 (g/ml), a temperatura de 30°C bajo agitación constante (150 rpm) durante 10 min. Posteriormente,

la mezcla fue filtrada y se recuperó el sobrenadante<sup>12</sup>. El extracto fue clarificado<sup>12</sup>, se le adicionó solución de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  al 50% hasta llegar a pH 11, la mezcla se calentó a 40°C por 5 min y luego se centrifugó a 4000 rpm por 10 min recuperándose el sobrenadante. Este fue llevado a pH 7 con ácido fosfórico (1M), luego la solución fue llevada a 90°C por 2 minutos, seguida de centrifugación a 4000 rpm por 10 min recuperándose el sobrenadante. El extracto clarificado fue concentrado en un evaporador rotatorio al vacío ( $58 \pm 2$  °C) hasta obtener la concentración deseada para luego ser empleado en las pruebas de hidrólisis.

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

#### **Optimización de la hidrólisis química del extracto del yacón**

La MSR fue empleada para determinar la influencia de las variables independientes: pH (1 a 3), tiempo (20 a 70 min) y temperatura (60 a 98 °C). Se evaluó dos tipos de ácidos, sulfúrico y fosfórico. Las variables independientes (factores) y sus niveles (-1, 1) se presentan en la tabla 1. Se empleó el diseño Box Behnken (DBB), un total de 17 corridas con 5 puntos centrales fueron generadas (tabla 1). Las corridas fueron evaluadas de forma independiente para cada tipo de ácido en estudio. La respuesta medida fue la cantidad de fructosa (g) liberada a partir del extracto de yacón. Todas las corridas se realizaron por triplicado y en forma aleatoria.

#### **Optimización de la hidrólisis enzimática del extracto del yacón**

La MSR fue empleada para determinar la influencia de las variables independientes: concentración de enzima (unidades de actividad enzimática por g de FOS, U/g FOS) (de 2 a 10) y el tiempo (5 a 120 min). Los parámetros temperatura (50°C) y pH (5,0) fueron constantes para ambas enzimas, inulinasa e invertasa. Las variables independientes (factores) y sus niveles (-1, 1) se presentan en la tabla 2. Se empleó un Diseño Central Compuesto (DCC), un total de 13 corridas que incluyen 5 puntos centrales fueron generados (tabla 2). El arreglo del DCC se desarrolló independientemente para cada enzima del estudio.

En todos los ensayos se empleó un extracto de yacón con 1% de FOS. Las superficies de respuestas generadas de ambas hidrólisis fueron experimentalmente validadas con tres repeticiones y los valores obtenidos fueron comparados con los predichos por el modelo matemático generado. Se graficó las superficies utilizando dos variables dentro del rango experimental evaluado y manteniendo la otra constante al punto central (0). El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion XV (Stat Point Inc., VA, USA) y Minitab® 17.1.0 (LEAD Technologies, Inc., USA).

**Tabla 1.** Diseño Box Behnken para las variables independientes, niveles y variable respuesta de la hidrólisis química empleando ácido sulfúrico y ácido fosfórico

Corrida	Variables independientes			Rendimiento, fructosa (g/L)			
	pH X <sub>1</sub>	Tiempo (min) X <sub>2</sub>	Temperatura (°C) X <sub>3</sub>	Ácido sulfúrico (Y)		Ácido fosfórico (Y)	
				Observado (Ŷ)	Estimado (Ŷ)	Observado (Ŷ)	Estimado (Ŷ)
1	2 (0)	20 (-1)	98 (1)	7,84	6,96	6,24	5,56
2	3 (1)	45 (0)	98 (1)	6,32	6,58	5,67	6,15
3	2 (0)	45 (0)	79 (0)	6,67	6,81	5,49	5,86
4	2 (0)	70 (1)	60 (-1)	2,06	2,94	1,69	2,37
5	2 (0)	45 (0)	79 (0)	6,90	6,81	5,32	5,86
6	1 (-1)	45 (0)	98 (1)	7,63	8,63	6,94	7,70
7	2 (0)	45 (0)	79 (0)	7,34	6,81	7,36	5,86
8	1 (-1)	45 (0)	60 (-1)	7,76	7,50	6,56	6,08
9	2 (0)	20 (-1)	60 (-1)	0,03	0,40	0,54	1,09
10	2 (0)	45 (0)	79 (0)	6,68	6,81	5,84	5,86
11	3 (1)	70 (1)	79 (0)	2,27	2,38	3,32	3,40
12	3 (1)	20 (-1)	79 (0)	0,00	0,62	0,60	0,81
13	2 (0)	70 (1)	98 (1)	5,46	5,09	6,96	6,42
14	3 (1)	45 (0)	60 (-1)	0,00	0,00	0,00	0,00
15	1 (-1)	70 (1)	79 (0)	6,86	6,23	6,29	6,08
16	2 (0)	45 (0)	79 (0)	6,46	6,81	5,30	5,86
17	1 (-1)	20 (-1)	79 (0)	7,42	7,32	6,60	6,52

**Tabla 2.** Diseño central compuesto para las variables independientes, niveles y variable respuesta de la hidrólisis enzimática empleando inulinasa e invertasa

Corridas	Variables independientes		Rendimiento, fructosa (g/L)			
			Inulinasa (Y)		Invertasa (Y)	
	Tiempo (min) X <sub>1</sub>	Concentración de enzima (U/g FOS) X <sub>2</sub>	Observado (Ȳ)	Estimado (Ŷ)	Observado (Ȳ)	Estimado (Ŷ)
1	85(0)	0,340(-1,41)	0,15	0,50	6,79	6,78
2	50(-1)	2(-1)	1,41	1,10	6,99	6,99
3	85(0)	11,7(1,41)	4,71	4,54	7,09	7,19
4	120(1)	2(-1)	2,08	1,85	7,16	7,15
5	50(-1)	10(1)	3,24	3,29	7,46	7,38
6	36(-1,41)	6(0)	2,15	2,29	7,36	7,40
7	85(0)	6(0)	3,41	3,30	7,67	7,47
8	85(0)	6(0)	3,26	3,30	7,41	7,47
9	120(1)	10(1)	5,23	5,36	7,44	7,35
10	85(0)	6(0)	3,24	3,30	7,44	7,47
11	85(0)	6(0)	3,36	3,30	7,41	7,47
12	85(0)	6(0)	3,27	3,30	7,42	7,47
13	134(1,41)	6(0)	4,23	4,27	7,44	7,50

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de la harina y del extracto de yacón

La harina de yacón empleada tuvo 34,9; 30,6 y 6,0 % de FOS, azúcares reductores y sacarosa (en base seca, b.s.), respectivamente. Los valores fueron muy próximos a los reportados por Mejía<sup>13</sup> con 38,8 y 30,3 % en b.s. de FOS y azúcares reductores, respectivamente. Valores mayores de FOS (55,3 %, b.s.) y menores de azúcares reductores (22 %, b.s.) han sido reportado por Lobo *et al.*<sup>14</sup> también en harina de yacón. El contenido de FOS del yacón puede variar significativamente debido a diferentes factores como: el cultivo (genotipo o cultivar), manejo del cultivo, la época de siembra y condiciones de manejo poscosecha. El extracto de yacón obtenido presentó contenidos de FOS, fructosa, glucosa y sacarosa de 24,0, 15,2, 8,3 y 4,1 %, respectivamente. Este extracto fue llevado a la concentración de 1% de FOS para las pruebas de optimización de la hidrólisis química y enzimática.

### Optimización de la hidrólisis química del extracto de yacón

Los valores promedio del rendimiento de fructosa (g fructosa/L extracto de yacón) observados ( $\bar{Y}$ ) y estimados ( $\hat{Y}$ ) para las 17 corridas generadas del DBB, para el ácido sulfúrico y fosfórico, se presentan en la tabla 1. De los resultados, se observa que para el ácido sulfúrico se obtuvo un rendimiento de fructosa entre 0 y 7,84, el mayor valor se obtuvo a pH 2, tiempo 20 min y temperatura 98°C; mientras que para el ácido fosfórico, el rendimiento estuvo en el rango entre 0 y 6,94; donde el mayor valor se dio a pH 1, tiempo 45 min y temperatura 98°C. Los modelos matemáticos de segundo orden (cuadrático) obtenidos para este diseño fueron:

Para el ácido sulfúrico:  $Y = -13,0365 - 8,44642X_1 + 0,439742X_2 + 0,41429X_3 - 0,54485X_1^2 + 0,02843X_1X_2 + 0,0849474X_1X_3 - 0,00340416X_2^2 - 0,00232263X_2X_3 - 0,00231122X_3^2$  (ecuación 1)

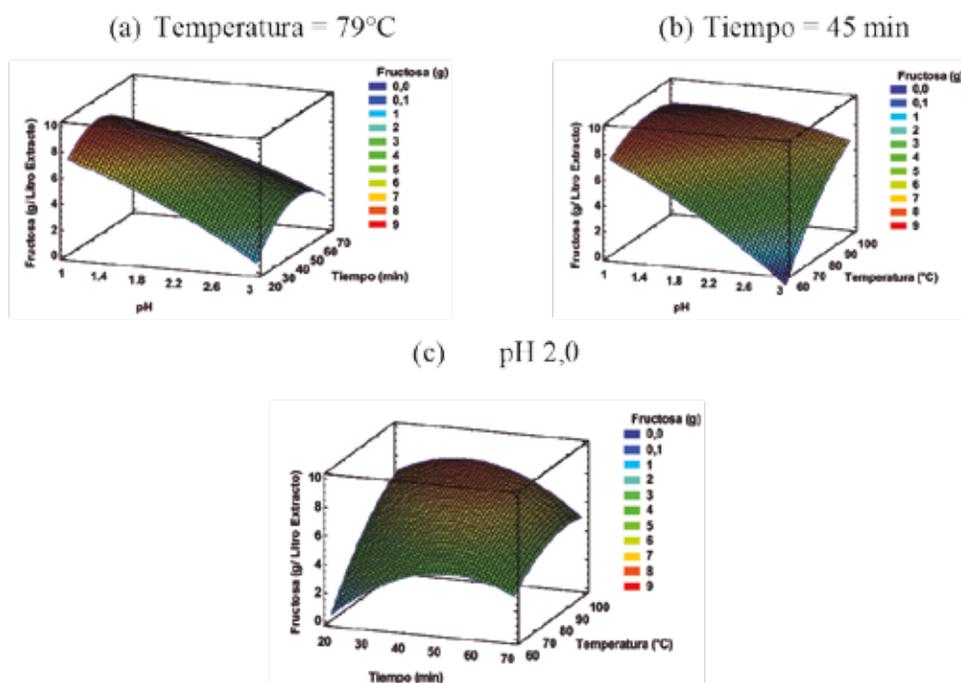
Para el ácido fosfórico:  $Y = -4,67908 - 7,51003X_1 + 0,165062X_2 + 0,2919X_3 - 0,3626X_1^2 + 0,03026X_1X_2 + 0,0696184X_1X_3 - 0,00207136X_2^2 - 0,000224737X_2X_3 - 0,00195526X_3^2$  (ecuación 2)

Los modelos cuadráticos fueron evaluados estadísticamente para ver el grado de ajuste a los datos experimentales. El análisis de varianza, de ambos modelos cuadráticos, indicaron que los factores: pH ( $X_1$ ) y temperatura ( $X_3$ ), fueron significativos ( $p < 0,05$ ), mientras que el tiempo ( $X_2$ ) no resultó significativo. La suma de cuadrados del error puro resultó pequeña con respecto a la suma de cuadrados del total, indicando ello una buena reproducibilidad en el punto central<sup>15</sup>. Finalmente, respecto al coeficiente de determinación ( $R^2$ ), se pudo establecer que el 96,3 y el 93,8% de la variabilidad de los resultados, para la optimización con ácido sulfúrico y fosfórico, respectivamente, es explicado por el modelo cuadrático obtenido. Además, existió una buena correlación entre los valores experimentales y estimados ( $R^2 = 0,96$  y el  $R^2_{\text{ajustado}} = 0,91$ , y  $R^2 = 0,96$  y  $R^2_{\text{ajustado}} = 0,86$ , para el ácido sulfúrico y fosfórico, respectivamente).

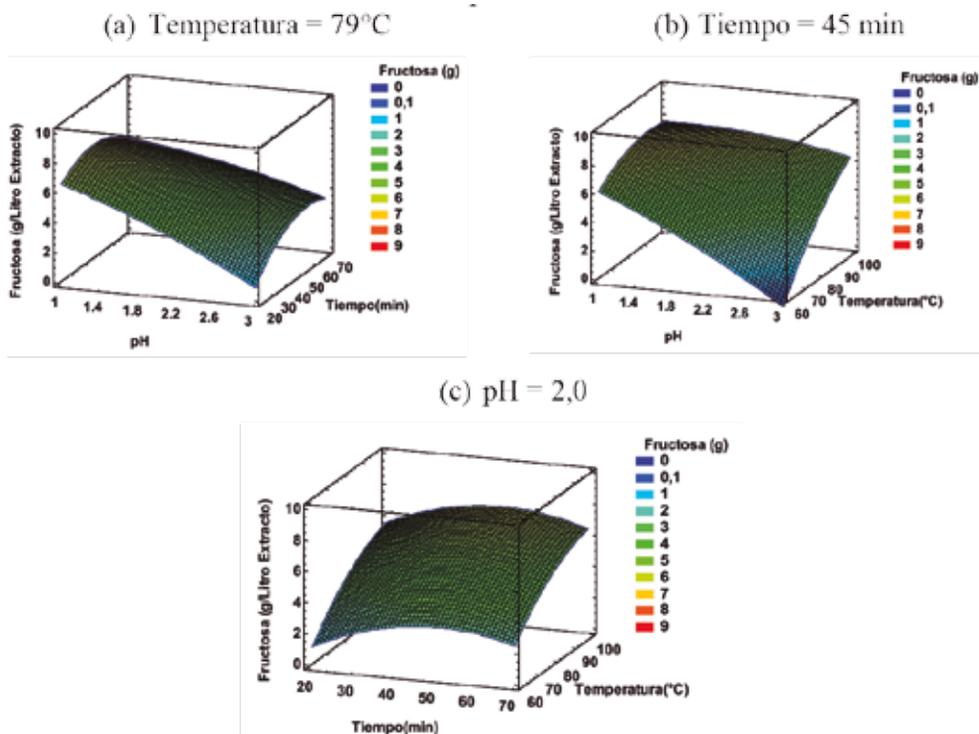
Las figuras 1 y 2 muestran las relaciones entre los diferentes factores para las hidrólisis con ácido sulfúrico y fosfórico, respectivamente. En ambos casos se observa, que en la relación del pH con el tiempo (figuras 1a y 2a) y el pH y la temperatura (figuras 1b y 2b), el pH presenta un efecto con tendencia lineal de pendiente negativa, de donde se observa que el mayor rendimiento de fructosa se obtiene a valores bajos de pH (~pH 1), mientras que el tiempo y la temperatura presentaron efectos cuadráticos, lo que se evidencia cuando se relacionaron las variables tiempo y temperatura (figuras 1c y 2c), encontrándose los óptimos hacia los valores medios de los rangos evaluados para la temperatura y tiempo. En las figuras 1b y 2b y, 1c y 2c; se puede observar que la temperatura presenta un comportamiento cuadrático con tendencia a obtener mayores valores de la variable respuesta entre 85 a 95°C. Por otro lado, con respecto al tiempo se puede observar en las figuras 1a y 2a y, 1c y 2c que este factor muestra un comportamiento cuadrático obteniendo mejores respuestas entre 40 a 55 min.

De acuerdo a los resultados obtenidos las condiciones óptimas, utilizando ácido sulfúrico, correspondieron a pH 1, 38,7 min y 88,4°C, obteniéndose un rendimiento en fructosa de 9,11 g/L de extracto de yacón; mientras que con los ensayos de validación del modelo se obtuvo 9,00 g/L, cercano al valor estimado. De otro lado, las condiciones óptimas con el ácido fosfórico fueron pH de 1, tiempo de 42,2 min y temperatura de 89,9°C, obteniéndose una conversión de 7,84 g/L y la validación dio un valor experimental bastante cercano (7,53 g/L).

Los mejores resultados se obtuvieron con ácido sulfúrico. Al respecto, Sarchami y Rehmann<sup>7</sup> obtuvieron 98,5% de hidrólisis de la inulina usando ácido sulfúrico a pH 2, durante 35 min y a 97°C; mientras que con el ácido fosfórico obtuvieron 94% de hidrólisis a pH 2, durante 39 min y a 95°C, atribuyendo esta diferencia a que el ácido fosfórico tiende a producir mayor cantidad furfurales a bajos valores de pH y altas temperaturas, en comparación con el sulfúrico y clorhídrico. Esto afecta el rendimiento en fructosa. También Szambelan y Nowak<sup>8</sup> encontraron que con ácido sulfúrico se libera de 6 a 13% más de azúcares reductores que con ácido fosfórico.



**Figura 1.** Gráfica de la superficie de respuesta del rendimiento de fructosa obtenido con ácido sulfúrico, para los efectos: (a) pH-tiempo, (b) pH-temperatura y (c) tiempo-temperatura



**Figura 2.** Gráfica de la superficie de respuesta del rendimiento de fructosa obtenido con ácido fosfórico, para los efectos: (a) pH-tiempo, (b) pH-temperatura y (c) tiempo-temperatura

De otro lado, es conocido que los azúcares se pueden degradar cuando son sometidos a condiciones drásticas de temperatura y pH, produciendo compuestos tóxicos como furfurales<sup>5</sup>; siendo por tanto una alternativa la hidrólisis enzimática.

### Optimización de la hidrólisis enzimática del extracto de yacón

Los resultados promedio del rendimiento en fructosa (g/L de extracto de yacón) observados ( $\bar{Y}$ ) y estimados ( $Y$ ) obtenidos con inulinasa e invertasa, se presentan en la tabla 2. Se observa que los valores obtenidos con inulinasa e invertasa estuvieron entre 0,15 - 5,23 y 6,79 - 7,67 g/L, respectivamente; los mayores valores se obtuvieron bajo las siguientes condiciones: 10 U inulinasa/g FOS por 120 min y de  $6 \times 10^{-1}$  U invertasa/g FOS por 85 min.

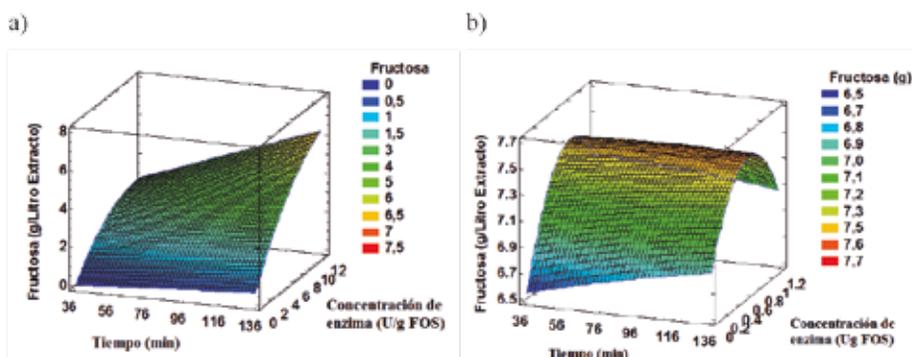
Los modelos matemáticos de segundo orden obtenidos para este diseño fueron:

Para la inulinasa:  $Y = -0,295841 + 0,00765898 X_1 + 0,450906 X_2 - 0,00000979331 X_1^2 + 0,00235536 X_1 X_2 - 0,0245293 X_2^2$  (ecuación 3)

Para la invertasa:  $Y = 6,39784 + 0,00432489 X_1 + 2,47059 X_2 - 0,0000077251 X_1^2 - 0,00345179 X_1 X_2 - 1,50936 X_2^2$  (ecuación 4)

El modelo cuadrático, derivado del diseño DCC, fue evaluado estadísticamente para ver el grado de ajuste con los datos experimentales. El análisis de varianza de los modelos cuadráticos (ecuaciones 3 y 4), indican que los factores tiempo y concentración de enzima fueron significativos para la inulinasa; mientras que para la invertasa, solo la concentración de enzima fue significativo. También en función a los valores obtenidos de la suma de cuadrados del error puro y la suma de cuadrados del total, se presentó una buena reproducibilidad en el punto central. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ), para las enzimas inulinasa e invertasa, indican que el 98,3% y el 88,0% de la variabilidad de los resultados, es explicado por el modelo cuadrático respectivo; mientras que altos grados de correlación, entre los valores experimentales y estimados, también fueron encontrados ( $R^2 = 0,98$  y  $R^2_{ajustado} = 0,97$ , y  $R^2 = 0,88$  y el  $R^2_{ajustado} = 0,80$ ), para la inulinasa e invertasa, respectivamente.

Las figuras 3a y 3b muestran las relaciones obtenidas entre los factores tiempo y concentración de enzima para inulinasa e invertasa, respectivamente. Se observa que, en ambos casos, el factor tiempo tiene un efecto lineal con pendiente positiva, obteniéndose los mayores valores de rendimiento en fructosa a los mayores tiempos de hidrólisis, mientras que para el caso de la concentración de enzima se observa un efecto curvatura bastante marcado cuando se emplea invertasa, respecto al empleo de la inulinasa. Las condiciones óptimas de hidrólisis con inulinasa e invertasa se obtuvieron con 11,7 U/g FOS y 134 min con un rendimiento en fructosa de 6,16 g/L de extracto y, de 6,74 x 10<sup>-1</sup> U/g FOS y 127,5 min, con un rendimiento de 7,50 g/L de extracto, respectivamente. Se encontró que los valores experimentales (6,14 y 7,46 g/L de extracto, para inulinasa e invertasa, respectivamente) obtenidos son muy cercanos a los valores estimados.



**Figura 3.** Gráfica de la superficie de respuesta para los efectos tiempo - concentración de enzima en el rendimiento de fructosa con inulinasa (a) e invertasa (b)

Los resultados muestran que con la invertasa se obtiene un mayor rendimiento en fructosa. Debemos indicar que, la inulinasa utilizada es del tipo endoenzima, cuya característica principal es hidrolizar los enlaces glucosídicos al interior de la molécula. En diversos estudios se ha observado que este tipo de enzima es inhibida por los productos de la reacción, dando una baja actividad cuando en el medio se encuentran FOS de bajo grado de polimerización<sup>16,17</sup>. Por lo tanto, resulta evidente que es necesario mayor cantidad de inulinasa para hidrolizar los

FOS de yacón que son de bajo grado de polimerización. Montañez *et al.*<sup>16</sup> y Li *et al.*<sup>18</sup>, han demostrado que la invertasa proveniente de *S. cerevisiae* es una enzima capaz de hidrolizar los enlaces  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 2) de los FOS, aun siendo estos de bajo grado de polimerización. Por otra parte, con respecto a la inulinasa del tipo endo, Montañez *et al.*<sup>16</sup> y Liu *et al.*<sup>17</sup> afirman que esta enzima hidroliza mejor los FOS de mayor grado de polimerización y que es inhibida por los FOS de grado de polimerización. Por lo tanto, de lo mencionado, se deduce que las actividades de ambas enzimas están influenciadas por el grado de polimerización de los FOS. Szambelan y Nowak<sup>8</sup> compararon la actividad de la inulinasa e invertasa para la hidrólisis de la inulina, en donde se observó que el rendimiento en fructosa usando invertasa es 45 por ciento menor al valor obtenido usando inulinasa comercial. Sin embargo, en este estudio, al utilizar invertasa, se obtiene 1,34 g de fructosa/L de extracto más que con la inulinasa. La diferencia entre ambos comportamientos se debe al grado de polimerización del sustrato.

### Rendimiento en fructosa

En la tabla 3 se presenta los rendimientos obtenidos bajo las condiciones óptimas de hidrólisis expresados en fructosa liberada a partir de la FOS, la sacarosa y fructosa total (liberada + inicial). De la tabla se observa que el más alto rendimiento alcanzado correspondió a la hidrólisis con ácido sulfúrico; mientras que para la hidrólisis enzimática el mayor rendimiento se obtuvo con invertasa. Es importante recalcar que las condiciones drásticas a las que están sometidos los azúcares en la hidrólisis química producen la deshidratación de estos, formando furfurales<sup>5,6</sup> así como otros productos químicos derivados, siendo por ello recomendable realizar la hidrólisis enzimática.

**Tabla 3.** Rendimiento en fructosa de las hidrólisis química y enzimática realizadas bajo las condiciones óptimas en extracto de yacón

Condiciones óptimas de hidrólisis	Rendimiento en fructosa (fructosa liberada) (g/L de extracto)	Rendimiento en fructosa (fructosa total)* (g/L de extracto)
Ácido sulfúrico: pH 1,0; 88,4 min; 38,7°C	9,11	15,52
Ácido fosfórico: pH 1,0; 89,9 min; 42,2°C	7,84	14,24
Inulinasa: 134 min; 11,7 U/g FOS	6,16	12,56
Invertasa: 127,5; 6.74x10 <sup>-1</sup> U/g FOS	7,50	13,91

Representa la suma de fructosa inicial y fructosa liberada con la hidrólisis

## CONCLUSIONES

El proceso de optimización de superficie respuesta para la hidrólisis química, utilizando el diseño Box Behnken, indicó que los factores pH y temperatura influyeron significativamente en el rendimiento en fructosa a partir de un extracto de yacón con 1% de FOS, mientras que el factor tiempo no fue significativo; adicionalmente el tipo de ácido también influye en el rendimiento en fructosa obtenida, así, bajo las condiciones óptimas encontradas por los modelos cuadráticos, el ácido sulfúrico produjo un mayor rendimiento en fructosa (9,11 g/L de extracto de yacón) en comparación al ácido fosfórico (7,84 g fructosa/ L de extracto de yacón).

El proceso de optimización de superficie respuesta para la hidrólisis enzimática, utilizando el diseño central compuesto, indicó que el factor, concentración de enzima, influyó significativamente en el rendimiento en fructosa; mientras que factor tiempo resultó significativo para inulinasa pero no para invertasa. Con invertasa se obtuvo mayor rendimiento en fructosa (7,50 g fructosa/L de extracto de yacón) en comparación a la inulinasa (6,16 g fructosa/ L de extracto de yacón).

## AGRADECIMIENTO

Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación como parte del proyecto “Optimización del proceso de extracción de los fructooligosacáridos de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y de su purificación mediante técnicas cromatográficas y de biotransformación enzimática” (Contrato N° 142-FINCYT-IA-2013)

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hermann M, Freire I, Pazos C. Compositional diversity of the yacón storage root. Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP); 1999.
2. Campos D, Aguilar A, Pedreschi R. Stability of fructooligosaccharides, sugars and color of yacón (*Smallanthus sonchifolius*) roots during blanching and drying. Int J Food Sci Tech. 2016; 51: 1177-1185.
3. Vaňková K, Polakovič M. Optimization of single-colum chromatographic separation of fructooligosaccharides. Process Biochem. 2010; 45: 1325-1329.
4. Seminario J, Valderrama M, Manrique I. El yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE); 2003.
5. Pekic B, Slavica Z, Lepojevic Z, Petrovic S. Effect of the Acid Hydrolysis of Jerusalem Artichoke Inulin. Food Chem. 1984; 17: 169-173.
6. Blecker C, Fougny C, Van Herck J, Chevalier J, Paquot M. Kinetic Study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples. J Agric Food Chem. 2002; 50: 1602-1607.

7. Sarchami T, Rehmann L. Optimizing enzymatic hydrolysis of inulin from Jerusalem artichoke tubers for fermentative butanol production. *Biomass and Bioenergy*. 2014; 69: 175- 182.
8. Szambelan K, Nowak J. Acid and enzymatic hydrolysis of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers for further ethanol production. *EJPAU*. 2006; 9: 36.
9. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Methods of Analysis*. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists;1995.
10. Miller G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*. 1959; 31: 426-428.
11. Pedreschi R, Campos D, Noratto G, Chirinos R, Cisneros-Zevallos L. Andean Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) Fructooligosaccharides as a Potential Novel Source of Prebiotics. *J Agric Food Chem*. 2003; 51: 5278- 5284.
12. Inga M, Betalleluz I, Kina M, Campos D. Optimización del proceso de extracción de los fructooligosacaridos de yacón (*Smallantus sonchifolius*). *Rev Soc Quím Perú*. 2015; 81: 263-272.
13. Mejía R. Impregnación al vacío de fructooligosacáridos de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) en manzana. [Tesis Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015.
14. Lobo A, Colli C, Alvares E, Filisetti T. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *Br J Nutr*. 2007; 97: 776–785.
15. Ayala J, Pardo R. Optimización por diseños experimentales con aplicaciones en ingeniería. Lima: CONCYTEC; 1995.
16. Montañez S JL, Venegas GJ, Bernardino NA, Ramos REG. Enzymatic production of high fructose syrup from Agave tequilana fructans and its physicochemical characterization. *African J Biotech*. 2011; 10: 19137- 19143.
17. Liu Y, Zhou SH, Cheng YR, Chi Z, Chi ZM, Liu GL. Synergistic effect between the recombinant exo- inulinase and endo- inulinase on inulin hydrolysis. *J Mol Catal B: Enzym*. 2016; 120: 27- 38.
18. Li Y, Fu WJ, Liu NN, Tan MJ, Liu GL, Chi ZM. Role of SUC2 gene and invertase of *Saccharomyces* sp. W0 in inulin hydrolysis. *J Mol Catal B: Enzym*. 2015; 111: 71- 78.

## **USO DE EDULCORANTES COMERCIALES COMO UNA ALTERNATIVA A LA REDUCCIÓN DE 5-HIDROXIMETIL-2-FURFURAL (HMF) EN GALLETAS MODELO**

Nils Huamán Castilla<sup>a</sup>, Erik Allcca<sup>a</sup>, Nilton León<sup>a</sup>, Gladys Yupanqui<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

El presente estudio tuvo por objetivo evaluar la influencia del uso de edulcorantes comerciales tales como estevia y sucralosa para reducir la formación de 5-hidroxi metil-2-furfural (HMF) en galletas modelo, para tal efecto se prepararon tres muestras con sacarosa, stevia y sucralosa. Los resultados muestran que la adición de sacarosa promueve la formación de HMF con valores promedio de  $15,29 \pm 0,34$  mg/kg, mientras que la adición de estevia mitigó la formación de HMF en  $\sim 60\%$  con valores promedio de  $6,49 \pm 0,5$  mg/kg. No obstante, la adición de sucralosa, contrariamente al comportamiento de la stevia, promueve la formación HMF en niveles  $55,9 \pm 2,99$  mg/kg. Estos resultados nos indican que el uso de estevia reduce el contenido de HMF en galletas modelo, promoviendo la obtención de alimentos inocuos y seguros para consumo humano.

**Palabras clave:** sacarosa, sucralosa, estevia, HMF.

## **USE OF COMMERCIAL SWEETENERS AS AN ALTERNATIVE TO THE REDUCTION OF 5-HYDROXYMETHYL-2-FURFURAL (HMF) IN MODEL COOKIES**

### **ABSTRACT**

The present study aimed to evaluate the influence of commercial sweeteners such as stevia and sucralose to reduce formation of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) in model cookies. Three samples were prepared with sucrose, stevia and sucralose. The results show that the addition of sucrose promotes the formation of HMF with mean values of  $15,29 \pm 0,34$  mg / kg, while the addition of stevia mitigates the formation of HMF in  $\sim 60\%$  with mean values of  $6,49 \pm 0,5$  mg / kg. However, the addition of sucralose contrary to stevia behavior promotes

---

<sup>a</sup> Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Moquegua (UNAM), Av. Ancash s/n, Moquegua, Perú, b. Escuela de Posgrado Universidad Nacional Agraria La Molina, e-mail: nilefox@gmail.com; Teléfono: +51-958890808

HMF formation at levels of  $55,9 \pm 2,99$  mg / kg. These results indicate that the use of stevia reduces the HMF content in model cookies, promoting the obtaining of safe foods for human consumption.

**Key words:** sacarosa, sucralosa, stevia, HMF.

## INTRODUCCIÓN

Los productos de panificación, tales como galletas y panes, son definidos como la transformación de la harina con la adición de agua y otros agentes, tales como levaduras y edulcorantes que promueven, además de la textura, características sensoriales particulares; pues, en general, el aspecto del color en la superficie es el primer parámetro de calidad evaluado por el consumidor y es crítico en la aceptación del producto, también es asociado con el aroma y el nivel de satisfacción<sup>1</sup>.

La formación del color amarillo dorado en galletas es debido al pardeamiento no enzimático, el mismo que es una reacción química que se produce durante el proceso de horneado, conocido como la reacción de Maillard, cuyos productos finales de este mecanismo de reacción son conocidos como melanoidinas. Cuando los sistemas alimenticios contienen azúcares reductores y aminoácidos, y son tratados a altos niveles de temperatura ( $> 120^{\circ}\text{C}$ ) la reacción de Maillard es promovida, pero esta reacción también depende de la actividad de agua y pH<sup>2</sup>. Un reciente estudio evaluó el tipo de harina, temperatura y pH en la formación de melanoidinas en la superficie del pan, encontrando que tal comportamiento puede ser explicado por un modelo de primer orden<sup>3</sup>.

La interacción de azúcares reductores (glucosa y fructosa) y aminoácidos u otros grupos de compuestos que contengan nitrógeno, durante el proceso de horneado, es asociado a la formación de 5-hidroximetil-2-furfural (HMF) vía reacción de Maillard y degradación de azúcares, el cual es altamente dependiente del nivel de actividad de agua, mostrando reacciones altas a niveles superiores de 0,4; lo que trae como consecuencia la formación de HMF<sup>4</sup>. No obstante, el HMF es un compuesto químico considerado como un contaminante tóxico que recientemente ha traído mucho interés debido a su alta toxicidad, y ha sido reconocido como posible compuesto mutagénico y carcinogénico en alimentos<sup>5</sup>. Los productos horneados, como las galletas, pueden contener HMF en niveles de 11,8 a 87,7 mg/kg<sup>6</sup>. Ha sido demostrado que una ingesta oral de 0,08 a 500 mg/kg de peso corporal es rápidamente absorbido por el sistema digestivo en ratas y ratones, estas concentraciones son citotóxicas, dañan la mucosidad de las membranas celulares, seguido de la aparición de células cancerosas<sup>7</sup>. Por ello, el objetivo de este trabajo de investigación es evaluar la influencia del uso de edulcorantes comerciales para mitigar la formación de HFM en galletas modelo.

## PARTE EXPERIMENTAL

Tres muestras de galleta modelo y un control fueron preparadas con 70g de almidón (95% de pureza); 0,5 g de gluten y 15 g de mantequilla (98% grasa); para la primera muestra (M1) se añadieron 25 g de sacarosa, para la segunda muestra (M2) se sustituyó parcialmente el contenido de sacarosa con 12,5 g y 1,18 g de estevia, de la misma forma, para la tercera muestra (M3) se añadieron 12,5 g de sacarosa y 1,18 g de sucralosa, un control fue preparado sin la adición de edulcorantes. Las masas fueron preparadas en una laminadora de masas (modelo malta 1000) cuyo espesor de cada muestra fue de 2,75 cm. El horneado se realizó en un horno convector eléctrico marca Moretti modelo ML-4, la temperatura de horneado fue de 180°C por un tiempo de 20 min; las galletas horneadas fueron enfriadas y envasadas en bolsas de polipropileno de alta densidad para su conservación y posterior análisis.

Análisis de HMF: la metodología de análisis es según lo propuesto por Toker et al (2013)<sup>8</sup>; se pesó 1 g de muestra previamente molida, la cual se colocó en un tubo de centrifuga de 50 mL, se adicionó 20 mL de agua destilada, se agregaron 1,5 mL de carrez I (15g de  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  en 100 mL de agua); se agitó por 2 min, posteriormente se agregó 1,5 mL de carrez II (30g de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  en 100 mL de agua), luego se centrifugó por 15 min a 6000 rpm. Una vez finalizada esta etapa se tomó 2 mL del sobrenadante y se filtró por un filtro de 0,22  $\mu m$  (nylon), la muestra filtrada fue depositada en un vial de 3 mL para su posterior análisis por HPLC-DAD. Las condiciones de análisis cromatográfico, mediante HPLC DAD, fueron fase móvil: ácido acético al 1% y acetonitrilo (proporción 95/5%); el flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min, longitud de onda del detector = 284 nm; Inyección de 20  $\mu L$ ; Columna Acclaim™ 120, C-18, 5  $\mu m$ , 120 Å y 4,6 x 150 mm.

Análisis sensorial: la aceptabilidad general (color, sabor y apariencia) de las galletas modelo se realizaron mediante la metodología propuesta por Bala (2015)<sup>9</sup> en una escala de 5 puntos. El panel sensorial involucrado (jueces semi-entrenados) pertenecen a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAM. Las muestras se calificaron sobre una escala de 5 puntos, donde: 5 significa altamente aceptable y 0 completamente inaceptable.

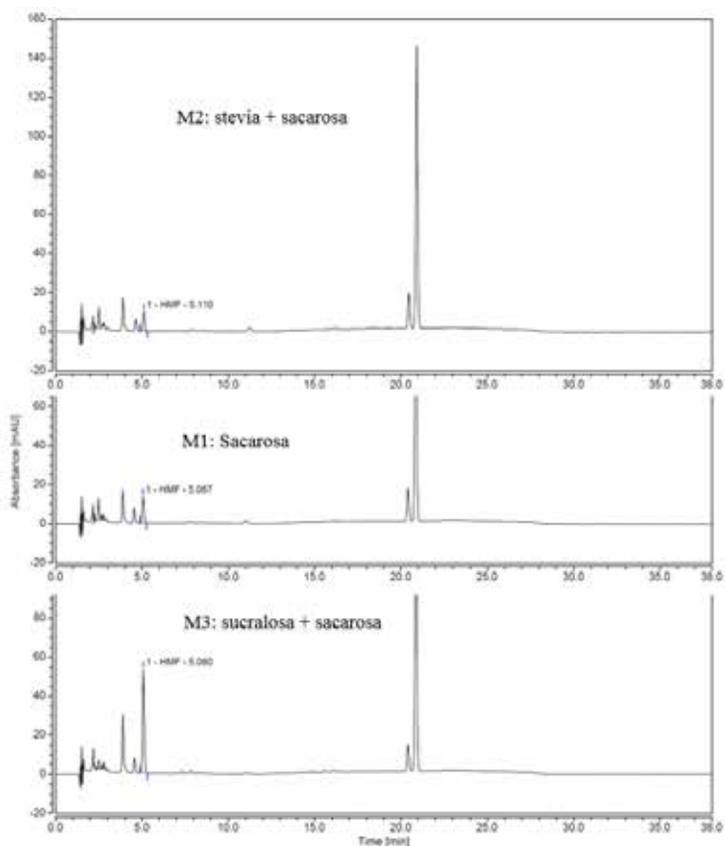
Para el análisis estadístico fue usado el programa Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Herndon, VA, USA). Para estudiar los efectos de la adición de edulcorantes sobre la reducción de HMF, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias significativas en las variables de respuesta se evaluaron con un nivel de significancia de  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un reciente estudio evaluó las condiciones óptimas en la medición de HMF mediante HPLC-DAD, dicho trabajo indica que el tiempo de retención para este compuesto es de ~5 min usando una columna C 18. Adicionalmente, los resultados al usar un HPLC-DAD tienen una confiabilidad del 98%, cuyo margen de error se debe en demasía a la azeotropía

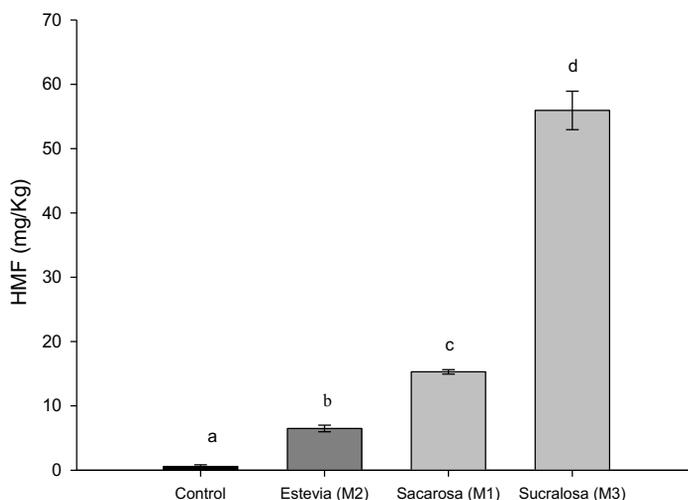
propia del alimento<sup>8</sup>. La figura 1 muestra el análisis cromatográfico de HMF en las galletas modelo usando un HPLC-DAD con columna C 18, se puede observar que las tres muestras de sacarosa (M1), stevia (M2) y sucralosa (M3) tienen el mismo tiempo de retención, pero diferentes picos de absorbancia, esto es debido a la diferente concentración de HMF presente en cada muestra.

La figura 2 muestra las concentraciones de HMF en sacarosa (M1), stevia (M2) y sucralosa (M3). El contenido de HMF en la muestra de sacarosa (M1) varía de 14,9 a 15,6 mg/kg, al respecto, la estructura química de este compuesto no es la de un azúcar reductor (figura 3). Sin embargo, diversos estudios demostraron que las altas temperaturas (>120°C) promueven la ruptura del enlace glucósido liberando azúcares reductores, tales como glucosa y fructosa, los mismos que interactúan con los grupos amino de las proteínas para formar HMF vía reacción de Maillard<sup>10</sup>. No obstante, debido a las altas temperaturas de horneado (180°C) es posible que la sacarosa también se haya degradado vía la ruta de la caramelización o deshidratación de azúcares para formar HMF.



**Figura 1.** Cromatograma de absorbancia de HMF en las tres muestras de galleta modelo.

El contenido de HMF en la muestra de estevia (M2) varía de 6,49 a 7 mg/kg (figura 2), al respecto es importante mencionar que la estructura química de este compuesto no es la de un azúcar reductor tales (figura 3), por ende no interactúa con los grupos amino de las proteínas para formar HMF vía reacción de Maillard<sup>10</sup>. Por otro lado, la muestra de estevia (M2), debido a la sustitución parcial, contiene un 12,5 g de sacarosa, esto explicaría la concentración de HMF detectada en esta muestra<sup>6,11</sup>.



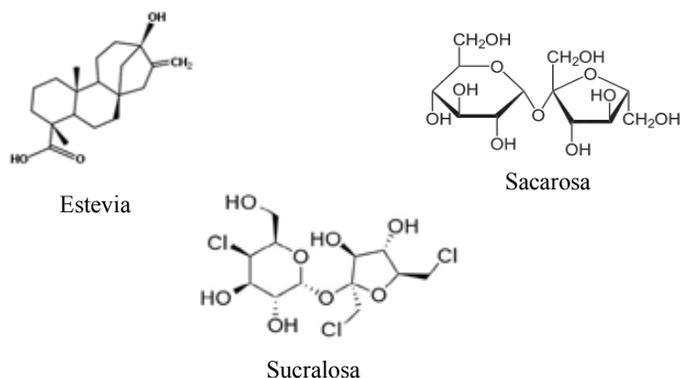
**Figura 2.** Contenido de HMF en galletas modelo.

\* Los resultados analíticos están expresados en miligramos de HMF por gramo de galleta modelo y son el promedio de tres repeticiones,  $\pm$ SD: desviación estándar (n=3) \*\*Los valores con letras diferentes muestran diferencias significativas entre sí (P<0,05)

El contenido de HMF en la muestra de sucralosa (M3) varía de 52,9 a 58,9 mg/kg, dicho contenido fue mayor en comparación con las muestras M2 y M1 (figura 2). Al respecto, es importante mencionar que la sucralosa es el nombre común de un edulcorante artificial cuyo nombre químico es 1,6-dicloro-1,6-dideoxi-B-fructofuranosil-4-cloro-4deoxi-x-d-galactopiranososa o 4,1',6'-triclorogalactosucrosa (figura 3). Este compuesto es sintetizado a partir de la sucrosa (sacarosa), cuya conformación es diferente a la estructura molecular de la sacarosa, pues tiene unidos átomos de cloro en su estructura química, esto hace que la sucralosa sea un compuesto termoestable<sup>12</sup>.

Sin embargo, un estudio demostró que en temperaturas más allá de los 119°C ocurría una descomposición térmica de dos etapas en la sucralosa<sup>13</sup>. Esta reactividad de la sucralosa se debe a los tres átomos de cloro que están presentes en su estructura (C-Cl); La primera etapa se da alrededor de los 130°C donde los átomos de cloro son liberados y por cada átomo de cloro se liberan dos moléculas de agua; la segunda etapa ocurre entre los 140 – 160°C, consiste en la reacción del cloro con la molécula de agua, donde forma cloruro de hidrógeno<sup>13</sup>.

La formación de cloruro de hidrógeno hace que el pH del medio baje hasta niveles de 3 a 4, sumado a las altas temperaturas promueven que el enlace glicósido se rompa liberando fructopiranosil (fructosa) y galactopiranosil (glucosa) que son azúcares reductores<sup>14</sup>. Este tipo de hidrólisis explicaría la formación de HMF en las galletas modelo a partir de sucralosa.



**Figura 3.** Estructuras químicas de edulcorantes comerciales.

Los parámetros cinéticos de los azúcares reductores en la reacción de Maillard fueron determinados por un estudio que estableció un orden jerárquico de la preferencia de la reacción Maillard por estos azúcares, estando en orden de mayor a menor la fructosa, ribosa, xilosa, arabinosa y glucosa, respectivamente, esta afinidad por la reacción se explica por la unión que realizan estos azúcares con el grupo amino de la lisina ( $\text{NH}_2$ ), la preferencia radica en el peso molecular y la mayor afinidad al grupo aldehído libre para reaccionar de las aldosas (xilosa, ribosa y ribosa), a diferencia de la fructosa que presenta un grupo cetónico el cual es más reactivo<sup>10</sup>.

Del panel de jueces semi-entrenados (tabla 1), muestra que las galletas modelo preparadas con sacarosa, estevia y sucralosa no presentan diferencias significadas entre sí ( $P < 0,05$ ) demostrando que la sustitución parcial de edulcorantes tales como estevia y sucralosa por sacarosa en un margen del 14% permiten conservar la aceptabilidad general en galletas modelo. Similares resultados fueron reportados en diversos estudios, donde mencionan a edulcorantes tales como estevia, inulina, xilitol, maltitol y sucralosa, que gracias a su poder edulcorante permiten sustituir parcialmente el contenido de sacarosa en productos de panificación, evitando alterar la percepción sensorial de dichos productos<sup>15</sup>.

**Tabla 1.** Puntaje sensorial en las muestras de galletas modelo

Descripción	Apariencia física	Color	Sabor
Control	3,2 ± 0,18 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,16 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,15 <sup>a</sup>
M1	4,7 ± 0,15 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,12 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,18 <sup>b</sup>
M2	4,6 ± 0,11 <sup>b</sup>	4,6 ± 0,14 <sup>b</sup>	4,7 ± 0,10 <sup>b</sup>
M3	4,7 ± 0,09 <sup>b</sup>	4,7 ± 0,16 <sup>b</sup>	4,7 ± 0,12 <sup>b</sup>

\* Los resultados de la evaluación sensorial son el promedio de 20 análisis por parte de los jueces semi-entrenados,  $\pm$ SD: desviación estándar (n=20).

\*\*Los valores con letras diferentes en columna muestran diferencias significativas entre sí (P < 0,05).

## CONCLUSIONES

El uso de edulcorantes como la estevia mitiga la formación de HMF en galletas modelo debido a su estructura química particular, la sacarosa promueve la formación de HMF por dos vías alternas de caramelización y reacción de Maillard por hidrólisis parcial de su estructura. Sin embargo, la sucralosa contrariamente al comportamiento de la estevia promueve la formación HMF en niveles superiores al de la sacarosa, debido a las altas temperaturas del proceso de horneado y la liberación de cloruro de hidrógeno que promueven la hidrólisis de este compuesto.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al PhD. Franco Pedreschi Plasencia, del Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pedreschi F, León J, Mery D, Moyano P, Pedreschi R, Kaack K, *et al.* Color development and acrylamide content of pre-dried potato chips. *J Food Eng.* 2007; 79 (3): 786–93.
2. Purlis E, Salvadori VO. Modelling the browning of bread during baking. *Food Res Int.* 2009; 42 (7): 865–70.
3. Broyart B, Trystram G, Duquenoy A. Predicting colour kinetics during cracker baking. *J Food Eng.* 1998; 35 (3):351–68.
4. Ameer LA, Trystram G, Birlouez-Aragon I. Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. *Food Chem.* 2006; 98 (4): 790–6.
5. Ulbricht RJ, Northup SJ, Thomas JA. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Toxicol Sci.* 1984; 4 (5): 843–53.

6. Ramírez-Jiménez A, García-Villanova B, Guerra-Hernández E. Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Res Int.* 2000; 33 (10): 833–8.
7. Archer MC, Bruce WR, Chan CC, Corpet DE, Medline A, Roncucci L. Aberrant crypt foci and microadenoma as markers for colon cancer. *Environ Health Perspect.* 1992; 98:195-197.
8. Toker OS, Dogan M, Ersoz NB, Yilmaz MT. Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Ind Crops Prod.* 2013; 50: 137–44.
9. Bala A, Gul K, Riar CS, Yildiz F. Functional and sensory properties of cookies prepared from wheat flour supplemented with cassava and water chestnut flours. *Cogent Food Agric.* 2015; 1 (1): 101-109.
10. Laroque D, Inisan C, Berger C, Vouland É, Dufossé L, Guérard F. Kinetic study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity. *Food Chem.* 2008; 111 (4): 1032–42.
11. Capuano E, Fogliano V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Sci Technol.* 2011; 44 (4): 793–810.
12. Linden A, Muhammad Sofian AS, Lee CK. 4,1',6'-Trichloro-4,1',6'-trideoxysucrose monohydrate. *Acta Crystallogr Sect C Cryst Struct Commun.* 2002; 58 (12): 711–714.
13. Bannach G, Almeida RR, Lacerda LG, Schnitzler E, Ionashiro M. Thermal stability and thermal decomposition of sucralose. *Eclat Quim.* 2009; 34 (4): 21–6.
14. Rahn A, Yaylayan VA. Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chem.* 2010; 118 (1): 56–61.
15. Struck S, Jaros D, Brennan CS, Rohm H. Sugar replacement in sweetened bakery goods. *Int J Food Sci Technol.* 2014; 49 (9): 1963–76

## DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN TEÓRICA DE MATERIALES FOTOACTIVOS EFICIENTES BASADOS EN DERIVADOS DE ANTRA[2,3-c]PIRROL Y ANTRA[2,3-c]TIOFENO PARA CELDAS SOLARES ORGÁNICAS

Walter Cuadro Bautista<sup>a</sup>, Adolfo Ensuncho Muñoz<sup>a</sup>, Juana R. Robles<sup>a</sup>

### RESUMEN

En este estudio, hemos diseñado una serie de electrodonadores del tipo D- $\pi$ -A que contienen dos diferentes fragmentos  $\pi$  enlazadores para obtener los derivados del antrapirrol (*D-APR-A*) y el antratofeno (*D-ATF-A*), que podrían ser utilizados en celdas solares orgánicas (OSCs) de heterounión de volumen (BHJ). Estos derivados fueron diseñados y caracterizados usando cálculos DFT and TDDFT. El fragmento aceptor de anclaje fue el 2-metilenmalononitrilo para todos los electrodonadores mientras que el fragmento cromóforo permutaba entre tiofeno, trifenilamina, difenilamina. La estimación de la energía de los orbitales HOMO-LUMO fue discutida. Las propiedades que afectan el fotovoltaje de circuito abierto (VOC) y la densidad de fotocorriente de corto circuito (JSC) de los derivados D- $\pi$ -A fueron investigadas, tales como estructura geométrica, energía de la fuerza motriz del excitón, energía del gap y espectros de absorción. Los cálculos teóricos de TDDFT utilizando el Método de Atenuación de Coulomb CAM-B3LYP fue capaz de predecir las propiedades del estado excitado. Los electrodonadores D- $\pi$ -A muestran una eficiencia estimada de conversión fotoeléctrica (PCE) superior al 10%. Los derivados del antrapirrol mezclados con el éster metílico del ácido [6,6]-fenil-C61-butírico (PC61BM) son los complejos con mejores propiedades fotoeléctricas, siendo el derivado *D<sub>a</sub>-APR-A* el de mejor proyección con una PCE del 13,39%, por tanto, estos complejos son propuestos como material fotoactivo en la construcción de celdas solares orgánicas de heterounión de volumen.

**Palabras clave:** celda solar orgánica, derivados D-APR-A, derivados D-ATF-A, métodos DFT, eficiencia de conversión fotoeléctrica.

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Química Computacional (GQC), Universidad de Córdoba, Cra. 6ª N° 76-108, Montería, Colombia, wjcuadro@gmail.com

## THEORETICAL CHARACTERIZATION AND DESIGN OF EFFICIENT PHOTOACTIVE MATERIALS BASED ON ANTHRA[2,3-c]PYRROLE AND ANTHRA[2,3-c]THIOPHENE DERIVATIVES AIMED TOWARDS ORGANIC SOLAR CELLS

### ABSTRACT

In this research we have designed electron donors D- $\pi$ -A type containing two different  $\pi$  fragments to obtain anthrapyrrole (D-APR-A) and anthrathiophene (D-ATF-A) derivatives, proposed for the use in organic bulk hetero-junction (BHJ) solar cells (OSCs). These derivatives were characterized by DFT and TD-DFT calculations. For all the electron donors the anchorage fragment was 2-methylenemalononitrile, while the chromophore fragment was spanned between diphenylamine, triphenylamine, thiophene. Estimation of the energy from HOMO and LUMO orbitals was discussed. Properties affecting open-circuit photovoltage (VOC) and short-circuit photocurrent (JSC) from D- $\pi$ -A type derivatives were investigated, such as geometric structure, exciton driving force energy, energy gap and absorption spectra. Theoretical calculations from TD-DFT within Coulomb Attenuation Method CAM-B3LYP were able to predict excited state properties. The electron donors D- $\pi$ -A type exhibit an estimated photoelectric conversion efficiency (PCE) above 10%. The anthrapyrrole derivatives along with the [6,6]-phenyl-C61-butyric acid methyl ester (PC61BM) are the complexes with higher photoelectric properties, being the Da-APR-A derivative the best projection with a PCE of 13,39%, therefore, these complexes are proposed as photoactive materials in the construction of organic bulk hetero-junction solar cells.

**Key words:** organic solar cell, D-APR-A derivatives, D-ATF-A derivatives, DFT methods, photoelectric conversion efficiency.

### INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento de la demanda de energía a nivel mundial, combinado con el agotamiento de los recursos derivados del petróleo y los riesgos de calentamiento global, se ilustra la necesidad urgente de fuentes alternativas de energía renovable. Siendo las celdas solares orgánicas (OSCs) una potencial alternativa "verde" para la generación de energía eléctrica, ya que estas son comercialmente atractivas por su bajo costo de fabricación, semitransparentes, bajo peso, flexibilidad física, fácil integración, y su buen desempeño en presencia de luz solar difusa, además este tipo de celdas son sostenibles y amigables con el ambiente<sup>1-3</sup>.

Recientemente, las celdas solares orgánicas (OSC) han surgido como una nueva tecnología emergente para competir con las celdas solares tradicionales basadas en Silicio<sup>2-4</sup>. Para llevar esta tecnología a una gran escala y hacerla comercialmente viable es necesario alcanzar una eficiencia de conversión fotoeléctrica (PCE) superior al 10% y garantizar un tiempo de vida útil de 10 años<sup>5-7</sup>.

La capa fotoactiva de las OSCs, generalmente, está constituida por dos componentes, uno electrodonador (D) y otro electroceptor (A), ensamblados en una estructura bi-capa o en forma de mezcla, conocida como heterounión de volumen (BHJ)<sup>1,8</sup>. Las OSCs del tipo BHJ han mostrado una mayor eficiencia respecto a los dispositivos convencionales en forma de bi-capas<sup>2</sup>.

El éster metílico del ácido [6,6]-fenil-C61-butírico (PC61BM) es uno de los componentes electroceptores con mejores propiedades semiconductoras, por su capacidad de capturar electrones, amigable con el ambiente e incrementa la estabilidad de la capa fotoactiva, por tanto, mejora las propiedades fotovoltaicas de las OSCs del tipo BHJ<sup>2,8-10</sup>.

La molécula electrodonadora está conformada por un fragmento cromóforo, un fragmento enlazador  $\pi$ -conjugado y un fragmento aceptor de anclaje, denotado como sistema electrodonador [D- $\pi$ -A] y esta configuración permite una mayor captura de luz del espectro solar<sup>3,5,6,9,11,12</sup>. Una gran variedad de cromóforos se han estudiado como trifenilmetanos, azulenos, indolinas, perilenos, cumarinas, cianinas, hemicianinas, carotenoides, fenotiazinas, fenoxazinas, etc.<sup>3,4,11,12</sup>. Respecto a los enlazadores o puentes  $\pi$ -conjugados, generalmente se utilizan grupos heterocíclicos, por su mayor estabilidad ambiental y como fragmentos aceptores de anclaje se tienen funciones de ácido carboxílico, ácido malónico o ácido cianoacrílico<sup>3,6,11,12</sup>. En el desarrollo de las OSCs los grupos cromóforos trifenilamina, difenilamina y derivados de tiofeno exhiben excelentes propiedades ópticas y fotovoltaicas, como también los derivados del ácido malónico en el fragmento aceptor<sup>8,6,11,12</sup>.

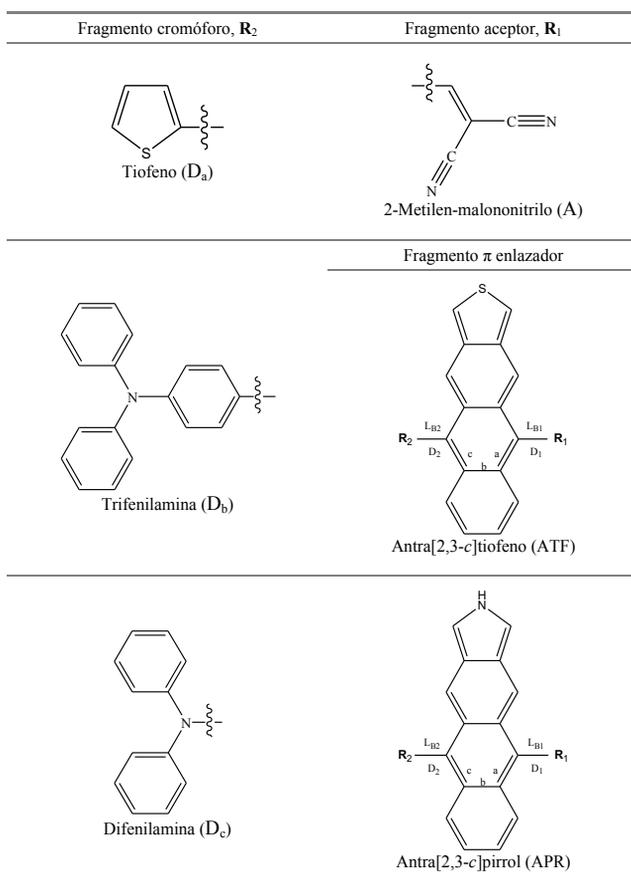
Paralelamente a los estudios experimentales sobre estos materiales orgánicos fotoactivos, las investigaciones teóricas han comenzado a constituir una importante fuente de información que complementa los datos experimentales, contribuyendo así en el diseño racional y en la predicción de propiedades ópticas, electrónicas y fotovoltaicas en los sistemas captadores de luz a nivel molecular y a su vez reduce el grado de empirismo en estas investigaciones<sup>1,9</sup>.

La química computacional ha permitido publicar numerosos estudios, utilizando diferentes metodologías como la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) y la Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo (TD-DFT) para diseñar, evaluar y predecir propiedades fotovoltaicas de los materiales fotoactivos utilizados en OSCs<sup>1,3,5,6,9,11-14</sup>. Por tal razón, muchos investigadores sugieren que los métodos de química cuántica podrían ilustrar moléculas electrodonadoras eficientes y así estudiar las propiedades que afectan el rendimiento del dispositivo fotovoltaico, minimizando costos y ahorrando esfuerzos de síntesis<sup>6</sup>.

En 2006, Scharber *et al.*<sup>8</sup> proponen un modelo empírico que describe cómo estimar la PCE de las celdas solares orgánicas de BHJ, y para ello requiere la energía de los orbitales frontera HOMO-LUMO de los componentes electrodonador y electroceptor del material fotoactivo. El modelo Scharber predice claramente algunas propiedades fotovoltaicas, tales como energía del gap ( $\Delta E_{H-L}$ ), densidad de fotocorriente de corto circuito ( $J_{SC}$ ), fotovoltaje de circuito abierto ( $V_{OC}$ ) y la PCE cuando se utiliza en conjunto con la metodología DFT<sup>2,10,13,14</sup>. Sin embargo, Bérubé *et al.*<sup>7</sup> observaron una sobrestimación en las propiedades electrónicas

y fotovoltaicas de algunos componentes fotoactivos, que fueron estudiadas con la DFT y se analizaron con los datos experimentales, por tanto, en esta investigación se tiene en cuenta la estimación ajustada de la energía de los orbitales HOMO-LUMO.

En el presente estudio, hemos investigado teóricamente el éster metílico del ácido [6,6]-fenil-C61-butírico (PC<sub>61</sub>BM) como componente electroaceptor y cuatro componentes electrodonadores del tipo D- $\pi$ -A utilizando la DFT y la TD-DFT, señalando los siguientes derivados D<sub>a</sub>-APR-A, D<sub>b</sub>-APR-A, D<sub>c</sub>-APR-A y D<sub>c</sub>-ATF-A que pueden ser considerados moléculas D- $\pi$ -A, donde los grupos tiofeno (D<sub>a</sub>), trifenilamina (D<sub>b</sub>) y difenilamina (D<sub>c</sub>) son utilizados como fragmento cromóforo (R<sub>2</sub>); el antra[2,3-*c*]pirrol (APR) y el antra[2,3-*c*]tiofeno (ATF) son utilizados como fragmento  $\pi$  enlazador; y el 2-metilen-malononitrilo (A) es utilizado como fragmento aceptor de anclaje (R<sub>1</sub>) (figura 1).



**Figura 1.** Fragmentos para la construcción de los derivados D- $\pi$ -A de los componentes electrodonadores D-APR-A y D-ATF-A.

## FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El modelo Scharber<sup>2,8</sup> es un modelo empírico para predecir PCE de las celdas solares orgánicas (OSCs) con una arquitectura de heterounión de volumen (BHJ), donde se estiman teóricamente las propiedades fotovoltaicas de estos dispositivos a partir de la energía de los orbitales frontera HOMO-LUMO.

La eficiencia de conversión fotoeléctrica (PCE) de una celda fotovoltaica bajo irradiación solar (por ejemplo AM 1.5G) puede ser determinada por la densidad de fotocorriente de corto circuito ( $J_{sc}$ ) y el fotovoltaje de circuito abierto ( $V_{oc}$ ). La PCE puede ser expresada por la siguiente ecuación<sup>5</sup>:

$$PCE = FF \frac{V_{oc} J_{sc}}{P_{inc}} \quad (1)$$

donde, FF es el factor de forma o de relleno eléctrico, el cual es proporcional a la potencia máxima de la celda solar y  $P_{inc}$  es la potencia de luz incidente. La relación entre  $J_{sc}$ ,  $V_{oc}$ , FF y las estructuras electrónicas de los componentes fotoactivos es todavía desconocida.

Generalmente, la densidad de fotocorriente de corto circuito  $J_{sc}$  puede ser determinada como<sup>15</sup>:

$$J_{sc} = q \int_{\lambda_{min}}^{\lambda_{max}} EQE \times \phi_{ph}^{AM1.5G}(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

donde, q es la carga elemental, EQE es la eficiencia cuántica externa y  $\phi_{ph}^{AM1.5G}$  es el flujo de fotones asociado al espectro de irradiancia solar AM 1.5G.

El fotovoltaje de circuito abierto VOC puede ser determinado por:

$$eV_{oc} = LUMO_{aceptor} - HOMO_{donador} - 0.3 \text{ eV} \quad (3)$$

donde, e es la carga elemental,  $LUMO_{aceptor}$  y  $HOMO_{donador}$  es la energía del orbital frontera del  $PC_{61}BM$  y los electrodonadores tipo D- $\pi$ -A respectivamente y el valor de 0.3 eV es un factor empírico asociado a las interfaces de los componentes que constituyen el material fotoactivo<sup>2,7,8</sup>.

## DETALLES COMPUTACIONALES

Todos los cálculos en este estudio fueron desarrollados con el paquete de Software Gaussian 03<sup>16</sup>. La teoría del funcional de la densidad (DFT) con el funcional de intercambio de tres parámetros de Becke<sup>17</sup>, y el funcional de correlación Lee-Yang-Parr (B3LYP)<sup>18</sup>, y el conjunto base 6-31G(d) fue empleado para investigar la optimización geométrica del estado fundamental (S0) en fase gas de la molécula electroaceptora y las moléculas electrodonadoras

del tipo D- $\pi$ -A. Para la estimación de la energía de los orbitales frontera HOMO-LUMO de los componentes fotoactivos se tuvieron en cuenta las ecuaciones ajustadas propuestas por Bérubé *et al.*<sup>7</sup>. Las cuales pueden ser expresadas como:

$$\text{HOMO}_{\text{EST}} = 0.68 \times \text{HOMO}_{\text{DFT/B3LYP}} - 1.92 \text{ eV} \quad (4)$$

$$\text{LUMO}_{\text{EST}} = 0.68 \times \text{LUMO}_{\text{DFT/B3LYP}} - 1.59 \text{ eV} \quad (5)$$

En trabajos recientes, se ha observado que los estados de transferencia de carga en sistemas D- $\pi$ -A se describen mejor cuando se utiliza un alto porcentaje de intercambio HF en el funcional<sup>3,5,11</sup>. Por lo tanto, para la evaluación de las propiedades del estado excitado se implementaron cálculos a punto simple, utilizando un funcional con interacciones de largo alcance TD-CAM-B3LYP<sup>19</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades geométricas

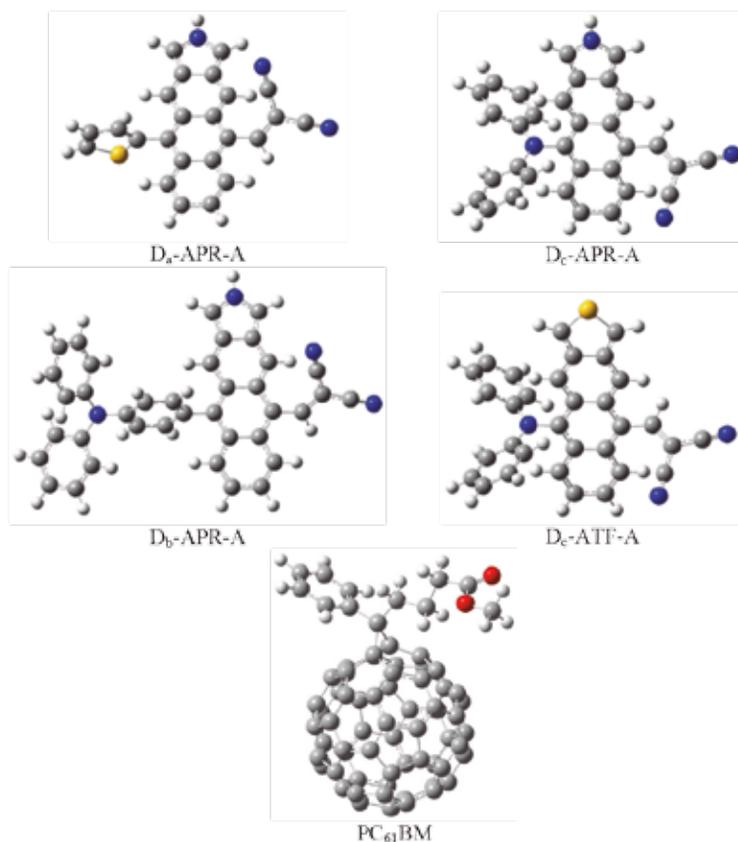
Para comprender la transferencia de carga intramolecular y las propiedades de empaquetamiento  $\pi$ - $\pi$  intermolecular en moléculas orgánicas  $\pi$ -conjugadas es necesario identificar los factores estructurales que son influenciados por la arquitectura molecular. En particular, las propiedades de transferencia de carga intramolecular pueden ser analizadas en función de las longitudes de enlace ( $L_{B1}$  y  $L_{B2}$ ), la alteración de longitud de enlace (BLA) y los ángulos diedros ( $D_1$  y  $D_2$ ) (figura 1) calculados entre el fragmento  $R_1/R_2$  y el fragmento  $\pi$ -enlazador de las moléculas D- $\pi$ -A se encuentran listados en la tabla 1.

Las estructuras optimizadas de los electrodonadores D-APR-A, D-ATF-A y el electroaceptor PC<sub>61</sub>BM se muestran en la figura 2, obtenidos con el nivel de teoría B3LYP/6-31G(d) en el vacío.

**Tabla 1.** Longitudes de enlace ( $L_{B1}$ ,  $L_{B2}$ , a, b, c en Å), alteración de longitud de enlace (BLA) y ángulos diedros ( $D_1$ ,  $D_2$  en °) para los derivados D- $\pi$ -A utilizando el método DFT/B3LYP/6-31G(d).

	D <sub>a</sub> -APR-A	D <sub>b</sub> -APR-A	D <sub>c</sub> -APR-A	D <sub>c</sub> -ATF-A
$L_{B1}$	1,455	1,451	1,455	1,456
$L_{B2}$	1,485	1,494	1,431	1,429
a	1,416	1,418	1,414	1,412
b	1,451	1,451	1,453	1,456
c	1,404	1,406	1,403	1,401
BLA	0,041	0,039	0,044	0,049
$D_1$	135,5	136,7	51,2	51,5
$D_2$	88,2	106,7	71,5	70,6

El fragmento difenilamina ( $D_c$ ) de las moléculas D-APR-A y D-ATF-A, muestran menos impedimento estérico con los fragmentos  $\pi$ -enlazadores y se observan longitudes de enlaces más cortos  $L_{B2}$  (1,431 – 1,429 Å) (tabla 1). El fragmento aceptor 2-metilen-malononitrilo (A) es el mismo para todos los derivados D- $\pi$ -A y se observa una tendencia similar en la longitud de enlace  $L_{B1}$  (1,451 – 1,456 Å) (tabla 1) entre el fragmento  $\pi$ -enlazador y el fragmento aceptor de anclaje.



**Figura 2.** Estructuras optimizadas de los derivados D-APR-A, D-ATF-A y PC61BM.

Para estimar el grado de conjugación del fragmento  $\pi$ -enlazador empleamos el parámetro de alteración de longitud de enlace (BLA)<sup>6,10</sup>, utilizando las longitudes de enlace del anillo aromático descritas en la figura 1

El BLA puede ser expresado como:

$$BLA = b \cdot \frac{a+c}{2} \quad (6)$$

Los resultados muestran que las moléculas Da-APR-A y Db-ATF-A poseen los más bajos BLA (0,041 – 0,039) (tabla 1), lo cual significa que los electrones  $\pi$  tienen buena deslocalización y redistribución, mejorando la transferencia y transporte de carga intramolecular y además garantiza un desplazamiento distintivo hacia el rojo como respuesta espectral<sup>6</sup>.

En la tabla 1, se observan los ángulos diedros ( $D_1$  y  $D_2$ ) (figura 1) de los derivados D- $\pi$ -A. Debido a los efectos estéricos entre los diferentes fragmentos que constituyen la molécula electrodonadora, estos sistemas moleculares exhiben una conformación no planar (figura 2), lo cual puede influir, en cierta medida, en la transferencia de carga intramolecular y el empaquetamiento  $\pi$ - $\pi$  en el estado sólido<sup>5,6</sup>. Y estos resultados muestran que los fragmentos tiofeno ( $D_a$ ) y difenilamina ( $D_c$ ) inducen un menor impedimento estérico en la molécula electrodonadora.

### Propiedades electrónicas

En las OSCs, la energía de los orbitales frontera HOMO-LUMO de los componentes fotoactivos tiene una estrecha relación con las propiedades fotovoltaicas<sup>7</sup>.

Por lo tanto, empleamos las ecuaciones (4) y (5) propuestas por Bérubé *et al.*<sup>7</sup>, para la estimación de la energía de los orbitales moleculares  $\text{HOMO}_{\text{EST}} - \text{LUMO}_{\text{EST}}$  respectivamente, ya que su determinación es un paso crucial en el diseño de nuevos materiales fotovoltaicos y los resultados se encuentran registrados en la tabla 2.

**Tabla 2.** Energía de los orbitales frontera de los componentes que constituyen el material fotoactivo calculados con el nivel de teoría DFT/B3LYP/6-31G(d) ( $\text{HOMO}_{\text{DFT}} - \text{LUMO}_{\text{DFT}}$ ) y su respectiva estimación ( $\text{HOMO}_{\text{EST}} - \text{LUMO}_{\text{EST}}$ ), y la energía de la fuerza motriz del excitón ( $\Delta E$ ). (Energía / eV)

Molécula	$\text{HOMO}_{\text{DFT}}$	$\text{LUMO}_{\text{DFT}}$	$\text{HOMO}_{\text{EST}}$	$\text{LUMO}_{\text{EST}}$	$\Delta E$
D <sub>a</sub> -APR-A	-4,36	-2,64	-4,89	-3,39	0,32
D <sub>b</sub> -APR-A	-4,39	-2,63	-4,90	-3,38	0,33
D <sub>c</sub> -APR-A	-4,39	-2,48	-4,90	-3,28	0,43
D <sub>c</sub> -ATF-A	-4,65	-2,67	-5,08	-3,40	0,31
PC <sub>61</sub> BM	-5,67	-3,12	-5,78	-3,71	N.A <sup>a</sup>

<sup>a</sup>No aplica para componentes electroreceptores.

En la tabla 2, se observa que la energía del orbital HOMOEST de los derivados D-APR-A posee un valor promedio de -4,90 eV y en el derivado D-ATF-A posee un valor de -5,08 eV, exhibiendo una mayor conjugación  $\pi$  en los primeros derivados debido a la mayor contribución electrónica del átomo de N del anillo pirrólico en el fragmento  $\pi$ -enlazador y esto se manifiesta con valores más bajos en la energía del gap ( $\Delta E_{\text{H-L}}$ ) y, consecuentemente, mejorando las propiedades fotovoltaicas<sup>5</sup>. En lo que respecta a la energía del orbital LUMOEST los valores son muy similares en todos los derivados D- $\pi$ -A, en promedio -3,36 eV. Wu *et al.*<sup>4</sup> reportaron la energía de los orbitales HOMO-LUMO del electroreceptor

PC<sub>61</sub>BM (-6,10 eV / -3,70, respectivamente) obtenidos de forma experimental, los cuales tienen mucha correlación con los datos teóricos registrados en la tabla 2 (-5,78 eV / -3,71 eV, respectivamente).

### Energía de la fuerza motriz del excitón

Un parámetro muy importante que ayuda a predecir el grado de transferencia de carga eficiente entre los componentes del material fotoactivo de las OSCs, es la estimación de la energía de la fuerza motriz del excitón ( $\Delta E$ ), la cual se puede calcular como una diferencia de energía de orbitales LUMOs de la molécula electrodonadora y el electroceptor (PC<sub>61</sub>BM)<sup>14</sup>. La  $\Delta E$  puede ser expresada como<sup>6</sup>:

$$BLA = b - \frac{a + c}{2} \quad (6)$$

Los resultados muestran que la energía ( $\Delta E$ ) de todos los derivados D- $\pi$ -A poseen un valor superior a 0,3 eV (tabla 2), por lo cual se puede garantizar una división eficiente de los excitones y se asegura una eficiente transferencia de electrones entre el componente electrodonador y el electroceptor y, además, se minimizan las pérdidas de energía por recombinación de los portadores de carga<sup>5,13</sup>. También se observa que la energía ( $\Delta E$ ) de los derivados D-APR-A poseen valores levemente más altos, mejorando así este parámetro, y esto se debe a la alta densidad electrónica que le aporta el átomo de N del anillo pirrólico a la molécula como un todo.

**Tabla 3.** Longitud de onda de absorción máxima ( $\lambda_{max}$ ), energía de excitación ( $E_{S1}$ ), oscilador de fuerza ( $f$ ) y la contribución de la principal transición de los derivados D- $\pi$ -A obtenidos con TD-CAM-B3LYP/6-31G(d). (H = HOMO, L = LUMO)

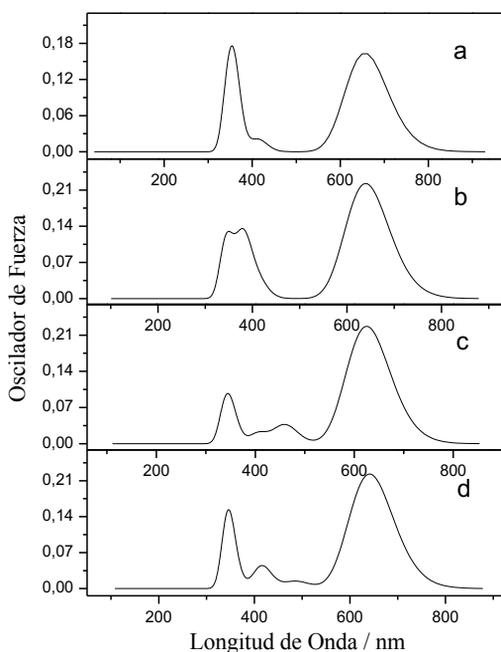
Molécula	HOMO <sub>DFT</sub>	LUMO <sub>DFT</sub>	HOMO <sub>EST</sub>	LUMO <sub>EST</sub>	$\Delta E$
D <sub>a</sub> -APR-A	-4,36	-2,64	-4,89	-3,39	0,32
D <sub>b</sub> -APR-A	-4,39	-2,63	-4,90	-3,38	0,33
D <sub>c</sub> -APR-A	-4,39	-2,48	-4,90	-3,28	0,43
D <sub>c</sub> -ATF-A	-4,65	-2,67	-5,08	-3,40	0,31
PC <sub>61</sub> BM	-5,67	-3,12	-5,78	-3,71	N.A. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> No aplica para componentes electroceptores.

### Propiedades ópticas

Para los materiales fotoactivos de las OSCs, las moléculas electrodonadoras juegan un papel importante en la absorción de luz solar, porque el electroceptor PC<sub>61</sub>BM tiene una absorción débil en la región visible y el infrarrojo cercano. Para investigar la absorción de los electrodonadores se utilizó la TDDFT con el funcional CAM-B3LYP, donde se evalúan algunas propiedades, tales como energías de excitación, osciladores de fuerza para excitaciones electrónicas, composición de las transiciones verticales y espectros de absorción UV/VIS simulados<sup>5,11</sup>. Los correspondientes parámetros espectroscópicos de los derivados D- $\pi$ -A fueron resumidos en la tabla 3 y las curvas de absorción simuladas son presentadas en la figura 3.

Los espectros muestran un perfil similar para todos los derivados, los cuales presentan una banda principal intensa entre los 540 nm y 800 nm. Esta banda corresponde a la transición dominante de electrones del orbital HOMO al LUMO, es decir, del orbital molecular  $\pi$  (fragmentos cromóforos –  $\pi$ -enlazador) al orbital  $\pi^*$  (fragmento aceptor) y este proceso puede ser adscrito a la transferencia de carga intramolecular. Los picos de absorción máximo calculados ( $\lambda_{\text{max}}$ ) también son atribuidos a la transición HOMO – LUMO, los cuales están alrededor de los 640 nm (tabla 3). En general, la posición y el ancho de la banda principal en el espectro son dos parámetros que pueden estar relacionados con la eficiencia del material electrodonador, ya que amplitudes mayores en regiones de baja energía (VIS – IR cercano) favorecen los procesos de captación de luz solar<sup>6,11</sup>. En la tabla 3 observamos que las energías de excitación ( $E_{S1}$ ) son significativamente bajas en todos los derivados D- $\pi$ -A, lo cual indica que podrían capturar más luz a longitudes de onda más altas y a su vez incrementar la PCE de la celda solar<sup>11</sup>.



**Figura 3.** Espectros de absorción simulados de los derivados D- $\pi$ -A. (a) D<sub>a</sub>-APR-A, (b) D<sub>b</sub>-APR-A, (c) D<sub>c</sub>-APR-A y (d) D<sub>c</sub>-ATF-A.

### Propiedades fotovoltaicas

Las OSCs, basadas en una estructura de BHJ, generalmente representan una mezcla de un electrodonador  $\pi$  conjugado con un electroceptor derivado del fullereno<sup>2,4-6,9</sup>. Por tanto, examinamos el comportamiento fotovoltaico de los derivados D- $\pi$ -A mezclados con el PC<sub>61</sub>BM, el cual es un electroceptor ampliamente utilizado en dispositivos relacionados con celdas solares. Los principales parámetros fotovoltaicos se relacionan en la tabla 4.

**Tabla 4.** Parámetros fotovoltaicos estimados de los derivados D- $\pi$ -A medidos bajo una irradiancia de 100 mW/cm<sup>2</sup>, simulando un espectro solar AM 1.5G.

Molécula	$\Delta E_{\text{H-L}}$ /eV	$J_{\text{sc}}$ /mAcm <sup>-2</sup>	$V_{\text{oc}}$ /V	FF	PCE/%
D <sub>a</sub> -APR-A	1,50	23,45	0,878	0,65	13,39
D <sub>b</sub> -APR-A	1,52	22,94	0,893	0,65	13,31
D <sub>c</sub> -APR-A	1,62	19,99	0,894	0,65	11,62
D <sub>c</sub> -ATF-A	1,68	18,58	1,075	0,65	12,98

Las propiedades fotovoltaicas estimadas de los derivados D-APR-A y D-ATF-A, registradas en la tabla 4, fueron determinadas teóricamente y hasta el momento no se han reportado valores experimentales. El valor de la energía del gap ( $\Delta E_{\text{H-L}}$ ) puede ser determinada como la diferencia entre la energía del orbital LUMO y el orbital HOMO del componente electrodonador D- $\pi$ -A<sup>9</sup>. Basados en la ecuación (2), en la energía  $\Delta E_{\text{H-L}}$  y el espectro de irradiancia solar AM 1.5G (ASTM G173)<sup>20</sup>, se estimó la densidad de fotocorriente de corto circuito ( $J_{\text{sc}}$ ) para todos los derivados D- $\pi$ -A, asumiendo una eficiencia cuántica externa (EQE) del 80%<sup>2</sup>. Los resultados muestran que los derivados D-APR-A poseen los valores más bajos en la energía  $\Delta E_{\text{H-L}}$  y, debido a esto, se incrementa sustancialmente la  $J_{\text{sc}}$  y la eficiencia de conversión fotoeléctrica (PCE) (tabla 4). Para calcular el fotovoltaje de circuito abierto (VOC) de los derivados D- $\pi$ -A se utilizó la ecuación (3), y se puede observar que el derivado del antratiofeno (D-ATF-A) posee el valor más alto de  $V_{\text{oc}}$ , lo cual indica una mejora en los procesos de transferencia de electrones desde la molécula electrodonadora excitada a la banda de conducción del electroaceptor (PC<sub>61</sub>BM)<sup>9</sup>, pero esto no es suficiente para reflejar una alta PCE (tabla 4). En la estimación de la eficiencia de fotoconversión de los materiales fotoactivos se utilizó la ecuación (1), donde se asume un factor de forma (FF) del 65%<sup>2</sup>, y se puede observar en la tabla 4 que los derivados del antrapirrol (D-APR-A) poseen los valores más altos de fotoconversión (PCE). Sin desconocer que los aspectos morfológicos de la capa fotoactiva juegan un papel determinante en la eficiencia real de las OSCs de BHJ<sup>2</sup>.

## CONCLUSIONES

Hemos diseñado una serie de electrodonadores D- $\pi$ -A que contienen diferentes fragmentos cromóforos que fueron combinados con dos fragmentos  $\pi$  enlazadores para obtener los derivados del antrapirrol (D-APR-A) y el antratiofeno (D-ATF-A). Las propiedades geométricas, electrónicas, ópticas y fotovoltaicas de los sistemas diseñados fueron investigadas mediante cálculos DFT con los niveles de teoría B3LYP/6-31G(d) y TD-CAM-B3LYP/6-31G(d). Los derivados D- $\pi$ -A exhibieron una conformación no planar, siendo los fragmentos tiofeno (D<sub>a</sub>) y difenilamina (D<sub>c</sub>) los que muestran menos efectos estéricos, reflejando así una alta conjugación y redistribución de los electrones  $\pi$ , mejorando la transferencia y transporte de carga intramolecular. La energía de la fuerza motriz del excitón ( $\Delta E$ ) de todos

los derivados D- $\pi$ -A poseen un valor superior a 0,3 eV, lo cual puede garantizar una división eficiente de los excitones. Los espectros de absorción UV/VIS simulados muestran un perfil similar para todos los electrodonadores, los cuales presentan una banda principal intensa entre los 540 nm y 800 nm. En general, los derivados del antrapirrol (D-APR-A) poseen las mejores propiedades fotovoltaicas comparado con el derivado del antratiofeno (D-ATF-A), donde se observaron valores bajos en la energía del gap ( $\Delta E_{\text{H-L}}$ ) (1,50 – 1,62 eV) y valores altos en la densidad de fotocorriente de corto circuito ( $J_{\text{SC}}$ ) (19,99 – 23,45 mAcm<sup>-2</sup>), lo cual es consecuente con una elevada eficiencia de conversión fotoeléctrica (PCE) asumiendo un factor de forma (FF) del 65%, siendo el derivado D<sub>a</sub>-APR-A el de mejor proyección con una PCE del 13,39%. Por tanto, estos derivados pueden ser potencialmente utilizados en celdas solares orgánicas (OSCs) de heterounión de volumen (BHJ) y además se evidencia la importancia del estudio teórico de los orbitales moleculares HOMO-LUMO en la predicción de propiedades fotovoltaicas en el diseño racional de materiales fotoactivos.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por el apoyo económico brindado para la realización de esta investigación.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Agnihotri N. Computational studies of charge transfer in organic solar photovoltaic cells: A review. *J Photoch Photobio C*. 2014; 18: 18.
2. Scharber M, Sariciftci N. Efficiency of bulk-heterojunction organic solar cells. *Prog Polym Sci*. 2013; 38: 1929.
3. Fu J-J, Duan Y-A, Zhang J-Z, Guo M-S, Liao Y. Theoretical investigation of novel phenothiazine-based D- $\pi$ -A conjugated organic dyes as dye-sensitizer in dye-sensitized solar cells. *Comp Theor Chem*. 2014; 1045: 145-153.
4. Wu Z, Fan B, Xue F, Adachi C, Ouyang J. Organic molecules based on dithienyl-2,1,3-benzothiadiazole as new donor materials for solution-processed organic photovoltaic cells. *Sol Energ Mat Sol C*. 2010; 94: 2230.
5. Tai C-K, Hsieh C-A, Hsiao K-L, Wang B-C, Wei Y. Novel dipolar 5,5,10,10-tetraphenyl-5,10-dihydroindeno[2,1-a]-indene derivatives for SM-OPV: A combined theoretical and experimental study. *Org Electron*. 2015; 16: 54.
6. Wang D, Zhang X, Ding W, Zhao X, Geng Z. Density functional theory design and characterization of D-A-A type electron donors with narrow band gap for smallmolecule organic solar cells. *Comp Theor Chem*. 2014; 1029: 68.
7. Bérubé N, Gosselin V, Gaudreau J, Côté M. Designing polymers for photovoltaic applications using ab Initio calculations. *J Phys Chem C*. 2013; 117: 7964.
8. Scharber M, Mühlbacher D, Koppe M, Denk P, Waldauf C, Heeger A, Brabec C. Design rules for donors in bulk-heterojunction solar cells – towards 10% energyconversion efficiency. *Adv Mater*. 2006; 18: 789.

9. Bourass M, Touimi A, Hamidi M, Benzakour M, Mcharfi M, Sfaira M *et. al.* DFT theoretical investigations of  $\pi$ -conjugated molecules based on thienopyrazine and different acceptor moieties for organic photovoltaic cells. *J Saudi Chem Soc.* 2016; 20 (S1): S415-S425.
10. Azazi A, Mabrouk A, Alimi K. Theoretical investigation on the photophysical properties of low-band-gap copolymers for photovoltaic devices. *Comp Theor Chem.* 2011; 978: 7.
11. Fitri A, Benjelloun A, Benzakour M, Mcharfi M, Hamidi M, Bouachrine M. Theoretical design of thiazolothiazole-based organic dyes with different electron donors for dye-sensitized solar cells. *Spectrochim Acta A.* 2014; 132: 232.
12. Tai C-K, Chen Y-J, Chang H-W, Yeh P-L, Wang B-C. DFT and TD-DFT investigations of metal-free dye sensitizers for solar cells: Effects of electron donors and  $\pi$ -conjugated linker. *Comp Theor Chem.* 2011; 971: 42.
13. Yu M, Zhang L, Peng Q, Zhao H, Gao J. Narrow-band gap benzodipyrrolidone (BDPD) based donor conjugated polymer: A theoretical investigation. *Comp. Theor Chem.* 2015; 1055: 88.
14. Liu X, He R, Shen W, Li M. Molecular design of donor-acceptor conjugated copolymers based on C-, Si- and N-bridged dithiophene and thienopyrroledione derivatives units for organic solar cells. *J Power Sources.* 2014; 245: 217.
15. Nayak P, Garcia-Belmonte G, Kahm A, Bisquert J, Cahen D. Photovoltaic efficiency limits and material disorder. *Energy Environ Sci.* 2012; 5: 6022.
16. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, *et. al.* Gaussian 03. Wallingford CT: Gaussian Inc.; 2004.
17. Becke AD. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys Rev B.* 1988; 38: 3098.
18. Lee C, Yang W, Parr RG. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys Rev B.* 1988; 37: 785.
19. Yanai T, Tew D, Handy N. A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chem Phys Lett.* 2004; 393: 51.
20. Reference solar spectral irradiance: Air Mass 1.5 [Internet]. 2017 [citado el 5 abril 2017]. Disponible en: <http://rredc.nrel.gov/solar/spectra/am1.5/>

## SÍNTESIS DE BISMACROMONÓMERO DE 2-OXAZOLINA Y SU POSTERIOR POLIMERIZACIÓN

Juan Carlos Rueda<sup>\*a</sup>, Jesús Tito Gutarra<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se investigó la síntesis del bismacromonómero de 2-metil-2-oxazolina (MeOXA) y 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolina (EsterOxa) y su posterior copolimerización con N-isopropilacrilamida y bisacrilamida para formar hidrogeles termosensitivos. El bismacromonómero de 2-oxazolinas fue caracterizado estructuralmente vía resonancia magnética nuclear y se determinó que tuvo un grado de polimerización de 8 unidades y el contenido de EsterOXA fue del 25% molar.

Los hidrogeles sintetizados fueron hidrolizados y luego fueron introducidos grupos tioles en su estructura. Posteriormente, mediante los grupos tioles, fueron acomplejados iones áuricos, los cuales fueron reducidos dentro de la estructura del hidrogel obteniéndose finalmente nanopartículas de oro en los hidrogeles.

Los hidrogeles fueron caracterizados por su absorción de agua y su sensibilidad a la temperatura en medio acuoso, que se evidenció por una expansión o contracción del volumen del hidrogel debido a la disminución o aumento de la temperatura, respectivamente. Las nanopartículas de oro (NP-Au) contenidas en los hidrogeles, fueron caracterizadas por su resonancia de plasmón superficial a 525 nm (UV/Vis) y por las fotografías del microscopio electrónico (CEM). Las NP-Au incrementaron la sensibilidad a la temperatura de los hidrogeles y la transición conformacional del mismo ocurrió a mayores temperaturas. Se determinó que los tamaños de las NP-Au variaron entre 5 y 250 nm.

**Palabras clave:** N-isopropilacrilamida, bismacromonómero, 2-oxazolinas, hidrogeles, sensibilidad térmica, nanopartículas de oro.

## SYNTHESIS OF 2-OXAZOLINE BISMACROMONOMER AND THEIR POLYMERIZATION

### ABSTRACT

In this research was studied the synthesis of bismacromonomer of 2-methyl-2-oxazoline (MeOXA) and 2-(2-metoxycarbonylethyl)-2-oxazoline (EsterOxa) and their polymerization

---

<sup>a</sup> Pontificia Universidad Católica del Perú, jrueda@pucc.edu.pe

with N-isopropylacrylamide and bisacrylamide for the elaboration of thermosensitive hydrogels. The 2-oxazoline bismacromonomer was structurally characterized by nuclear magnetic resonance (NMR) and was determined that it had a polymerization degree of 8 and the content of EsterOxa was 25% mol.

The hydrogels were hydrolysed and the generated carboxylic acid groups were transformed into thiol groups which were later complexed with auric ions. The auric ions were reduced and gold nanoparticles (NP-Au) were obtained in situ in hydrogels. The hydrogels were characterized by the water-absorbing capacity and their sensitivity to temperature. This sensitivity was evidenced by the expansion or contraction of hydrogel volume due to the decrease or increase of temperature, respectively. The gold nanoparticles (NP-Au) content in the hydrogel were characterized by their typical superficial plasmon resonance at 525 nm (UV/Vis) and the CEM electron microscopy showed the presence of gold nanoparticles within the hydrogels in a range of sizes from 5 to 250 nm. The NP-Au increased the temperature sensitivity of the hydrogel and the conformational transition occurred at higher temperature.

**Key words:** N-isopropylacrylamide, bismacromonomer, 2-oxazolines, hydrogels, thermoresponsive hydrogel, gold nanoparticles,

## INTRODUCCIÓN

Las 2-oxazolinas son sustancias heterocíclicas (endoiminoéteres), cuya polimerización ha recibido hasta nuestros días una intensa investigación<sup>1-10</sup>. Las polioxazolinas pueden ser elaboradas a través de una polimerización catiónica por apertura de anillo, la cual es iniciada por grupos electrófilos (ej. ácidos de Brønsted o de Lewis, tosilato y triflato de metilo). Bajo condiciones de reacción apropiadas (alta pureza de monómeros y solventes) la polimerización de las 2-oxazolinas transcurre en una forma “viva”, esto quiere decir, sin reacciones de terminación o de transferencia de cadena, y entonces se pueden predeterminedar desde el inicio de la polimerización el peso molecular del polímero y su distribución así como su funcionalidad.

Con las 2-oxazolinas se pueden elaborar diferentes arquitecturas poliméricas tales como, por ejemplo, copolímeros en bloque e injertados, macromonómeros e hidrogeles<sup>5,8-10</sup>. La polimetil-, polietil- y poliéster-oxazolina, entre otras, tienen un carácter hidrofílico y con una apropiada selección de los comonómeros se pueden elaborar polímeros anfifílicos.

Las nanopartículas de oro (NP-Au) debido a sus propiedades de inercia, biocompatibilidad, estabilidad y el fenómeno físico de resonancia de plasmón superficial, tienen potencial aplicación en muchos campos tecnológicos, tales como, por ejemplo, electrónica, óptica, biomateriales, catálisis<sup>11-13</sup>. Entre los métodos de síntesis de las NP-Au están el acomplejamiento de iones áuricos con tioles alquílicos y su posterior reducción<sup>12</sup>.

Nanocompuestos hechos a partir de nanopartículas de oro inmersas dentro de hidrogeles tienen posibles aplicaciones en óptica y electrónica. Los hidrogeles pueden posibilitar la formación de NP-Au más estables, con tamaños y morfologías controlados, con tiempos de vida más largos y mayor actividad<sup>12, 13</sup>. Langer y colaboradores del Instituto Tecnológico de Massachusetts (USA) elaboraron NP-Au dentro de un hidrogel de poliN-isopropilacrilamida, el cual contenía grupos tioles y disulfuros, los que acomplejaron los iones áuricos y luego estos fueron reducidos para formar finalmente las NP-Au<sup>12</sup>. Como resultado se obtuvo una mayor estabilidad de la NP-Au, y se pudo regular el tamaño de las mismas, mediante la variación de la composición del hidrogel. También, debido a que la poliN-isopropilacrilamida tiene la propiedad de tener una transición térmica (low critical solution temperature-LCST) a una determinada temperatura<sup>14</sup>, el hidrogel se contraía y expandía haciendo que las NP-Au se acerquen o alejen entre ellas variando sus propiedades físicas.

En esta investigación hemos sintetizado hidrogeles a partir de bismacromonómeros de 2-oxazolininas e N-isopropilacrilamida. Los hidrogeles obtenidos contenían grupos ácido carboxílicos, los cuales fueron modificados en grupos tioles para acomplejar los iones áuricos y luego de su reducción formar *in situ* las NP-Au.

## PARTE EXPERIMENTAL

Las sustancias utilizadas en esta investigación fueron obtenidas de las firmas Aldrich y Merck y fueron purificadas según métodos estandar de la literatura<sup>1,7-10</sup>. La 2-metil- y 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolina fueron sintetizadas en el laboratorio mediante los procedimientos descritos en la literatura<sup>9, 10</sup>.

### Síntesis de la 4-vinilbencil-piperazina (“terminador”)

Procedimiento: en un reactor de vidrio, bajo atmósfera de nitrógeno, se disolvieron 39,6 gramos (0,46 moles) de piperazina anhidra en 250 ml de cloroformo seco. Luego, se adicionó a esta solución, a 0°C, 4,6 gramos (0,030 mol) de clorometilestireno y trazas de hidroquinona como estabilizador. Después de 10 horas de agitación de esta mezcla a temperatura ambiente, se separaron, mediante filtración, los cristales formados de cloruro de piperazínio. La fase orgánica fue lavada con 5 porciones de 200 ml de agua destilada hasta neutralidad y luego fue secada con sulfato de sodio anhidro, filtrada y reducida en volumen. Finalmente, el producto fue separado del solvente residual mediante evaporación de este y fue obtenido un aceite amarillo-rojizo. Rendimiento 5,7 gramos (94%)<sup>4</sup>.

FTIR (KBr): 3390, 3274 (NH), 3085-3000 (CH, alifático), 2940,2810 (CH, alifático), 1628, 1510, 1460 (C=C)

<sup>1</sup>H-RMN (en CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.51 (NH); 2.40 (NCH<sub>2</sub>); 2.83 (NHCH<sub>2</sub>); 3.46 (ar-CH<sub>2</sub>); 5.20, 5.70, 6.70 (ABX, CH<sub>2</sub>=CH); 7.30 (protónes aromáticos).

### Síntesis del Bismacromonómero de 2-oxazolininas

Procedimiento: En un reactor de vidrio seco, bajo atmósfera de nitrógeno seco, se disolvieron

1,96 g (13,1 mmol) de ioduro de sodio (NaI) en 25 mL de acetonitrilo seco. Luego, manteniendo el sistema bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 3,345 g (39,3 mmol) de 2-metil-2-oxazolina (MeOXA), 2,06 g (13,1 mmol) de 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolina (Esteroxa) y finalmente 1,0 g (6,55 mmol) de clorometilestireno (CMS). El sistema fue calentado a 77 °C y agitado por siete horas. Finalizado este tiempo, el sistema fue enfriado a temperatura ambiente y se le adicionó una solución del terminador (4-vinilbencilpiperazina) en acetonitrilo y se agitó por una hora. Luego el sistema fue dejado en reposo a 5°C por un día. Se eliminaron las sales por filtración, a la solución se le adicionó 4 gramos de carbonato de potasio y se agitó por 12 horas, se filtró y se precipitó el producto polimérico dos veces en éter etílico. Rendimiento 98.5%. <sup>1</sup>H-RMN: δ: 1.9-2.2 (CH<sub>3</sub>); 2.5-2.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COO); 3.4-3.8 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3.67 (COOCH<sub>3</sub>); 4.5-4.7 (Ar-CH<sub>2</sub>); 5.6-6.0 (CH<sub>2</sub>=); 6.7-6.8 (CH=); 7.1-7.6 (H<sub>AR</sub>).

### Síntesis del hidrogel a partir del bismacromonómero de 2-oxazolina

Procedimiento típico (HG-10): en 3 ml de agua se disolvieron, a 10°C, 0,50 g (4,4x10<sup>-4</sup> mol) de bismacromonómero (TELQ-1) (no hidrolizado), 0,5 g (4,42x10<sup>-3</sup> mol) de N-isopropilacrilamida, 0,02 g (1,72x10<sup>-4</sup> mol) de catalizador tetrametilendiamina (TEMED). Luego, a esta mezcla fue adicionado 0,020 g (8,76x10<sup>-5</sup> mol) de peroxodisulfato de amonio disuelto en 1,0 ml de agua. La mezcla fue agitada y luego fue mantenida en reposo a 10°C hasta que se obtuvo el hidrogel, en aproximadamente 15 minutos.

Posteriormente el hidrogel fue purificado mediante lavados, primero con etanol y luego con agua destilada. El hidrogel fue secado hasta peso constante a 35°C. El rendimiento del hidrogel fue del 98%.

Posteriormente, los grupos ésteres contenidos en el hidrogel fueron hidrolizados *in situ* mediante una solución de NaOH 0,1 N, con un exceso del 100% molar, respecto del valor estequiométrico. El hidrogel fue embebido en esta solución y calentado a 32°C durante 72 horas. Luego, el hidrogel fue lavado con agua destilada hasta pH neutro. El hidrogel se secó y se guardó en un desecador.

### Modificación de los hidrogeles con grupos tioles

Procedimiento: 0,5 gramos del hidrogel H-HG10 hidrolizado fueron embebidos en 10 ml de agua destilada a 10°C. A esta mezcla se le agregó 0,10 gramos de EDAC, y 1,10 gramos de sal sódica de N-hidroxisulfosuccinimida (NHS-Na). Se dejó en reposo esta mezcla durante 10 horas. Luego se agregó a la mezcla anterior, 0,065 gramos de hidrocloreto de cisteamina (en exceso estequiométrico). Se dejó reaccionar esta mezcla total por cuatro días en oscuridad y a 5°C. Luego el hidrogel fue lavado con agua destilada hasta pH neutro. El hidrogel se secó y se guardó en un desecador hasta su utilización.

### Elaboración de nanopartículas de oro dentro del hidrogel modificado

Se elaboró una solución de una sal de oro, mediante la disolución de 0,020 gramos de la sal HAuCl<sub>4</sub> en 200 ml de agua destilada. 0,5 g de hidrogel (ejemplo H-HG10) se colocó en 25 ml de esta solución por dos días, al cabo de los cuales el hidrogel estaba hinchado o embebido

de esta solución y había absorbido los iones áuricos tomando una fuerte coloración amarilla. Luego, se preparó una solución de 0,30 gramos de borohidruro de sodio en 100 ml de agua. Con una porción de esta última solución fue realizada la reducción de los iones áuricos dentro del hidrogel. Como producto de este procedimiento se obtuvo nanopartículas de oro dentro de los hidrogeles y se pudo notar que el color del hidrogel cambió de amarillo a violeta oscuro. Las caracterizaciones de los hidrogeles, conteniendo las nanopartículas de oro, se realizó en forma similar a la caracterización de los hidrogeles sin NP-Au.

**Prueba de absorción de agua:** Se colocó en un vaso una porción de hidrogel hidrolizado seco (peso inicial= $W_s$ ) en 80 mL de agua de destilada a temperatura ambiente durante 24 horas. Pasado este tiempo, se obtuvo el peso del hidrogel hinchado en agua ( $W_h$ ). El grado de absorción de agua del hidrogel fue calculado mediante la ecuación:  $Q=(W_h-W_s)/W_s$ , donde  $Q$  es el grado de absorción de agua (g  $H_2O$ /g de HG seco).

**Prueba de sensibilidad a la temperatura:** Se determinó la contracción del volumen de los hidrogeles en función de su pérdida de peso y se asumió que el peso es proporcional al volumen. El peso a 25°C fue relacionado con el volumen inicial del hidrogel. El porcentaje de contracción, en respuesta al aumento de temperatura, se determinó mediante la ecuación:  $\% \text{ Contracción}=100*(W_{\text{inicial}}-W_{\text{final}})/W_{\text{inicial}}$

Procedimiento: En un vaso se colocó una porción del hidrogel en 80 mL de agua a temperatura ambiente por 24 horas. Pasado este tiempo, se sacó el hidrogel del agua y se determinó su peso ( $W_{\text{inicial}}$ ). Seguidamente, la misma porción de hidrogel se sumergió nuevamente en agua y fue colocado en la estufa a una temperatura determinada durante 40 minutos; luego, el hidrogel nuevamente se sacó del agua y se pesó ( $W_{\text{final}}$ ). Se determinó el peso remanente del hidrogel a esta temperatura mediante la ecuación:  $\text{Peso remanente (\%)}=100*(\text{Peso}_{\text{final}}/\text{Peso}_{\text{inicial}})$ . La contracción es la diferencia entre el peso inicial y el peso remanente. Para cada temperatura, se obtuvo un peso remanente (%) y estos valores fueron ploteados versus la temperatura (°C).

**Análisis UV/Visible de los hidrogeles:** Se colocó una muestra de hidrogel (0,3 g) en una celda dentro del espectrómetro Ultravioleta/Visible. Se usó un baño termostatzado con agua destilada para calentar la muestra mediante una chaqueta de calentamiento; las mediciones se iniciaron a 25°C, con incrementos de 4°C cada 20 minutos.

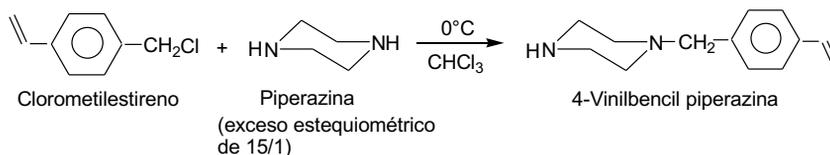
**Análisis por microscopía electrónica de barrido (CEM):** Las muestras fueron analizadas por la Ing. Kristina Schelestow, en la Universidad Tecnológica de Ilmenau en Alemania, aplicando el procedimiento estándar.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

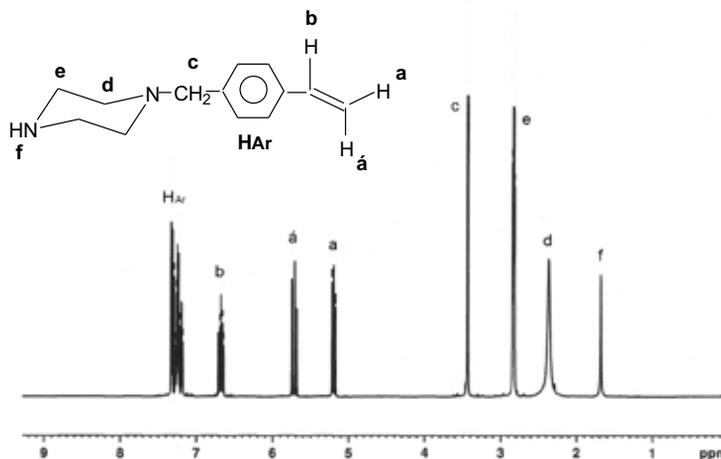
Seguidamente se presentan los resultados de la presente investigación y su análisis respectivo.

### Síntesis de la 4-vinilbencilpiperazina (“terminador”)

La 4-vinilbencilpiperazina (VBP) se obtuvo a través de la reacción de condensación del clorometilbenceno y la piperazina (esquema 1). La piperazina fue usada en la reacción con un exceso molar de 15 a 1 respecto del clorometilbenceno para evitar que ocurra la condensación en los dos grupos amina de este compuesto ya que fue necesario preservar uno de ellos para que sirva como agente terminador de la polimerización catiónica de las oxazolinas (síntesis del bismacromonómero).



**Esquema 1.** Síntesis de la 4-vinilbencilpiperazina (“terminador”).

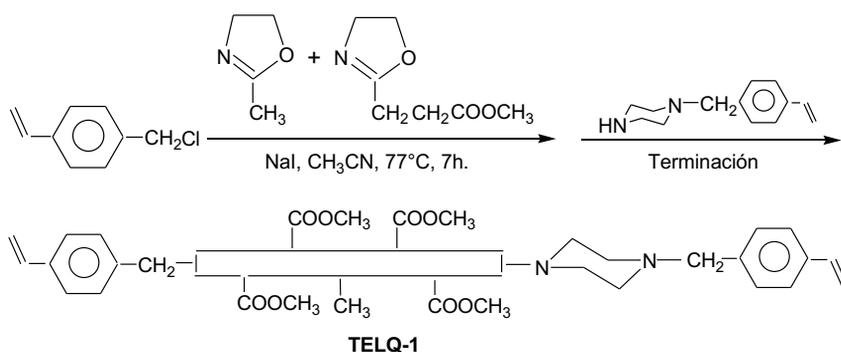


**Figura 1.** Espectro <sup>1</sup>H-RMN de la 4-vinilbencilpiperazina en cloroformo deuterado a 25°C.

La 4-vinilbencilpiperazina (VBP) se obtuvo con un rendimiento del 94%. La VBP fue caracterizada por su espectro de resonancia magnética nuclear e de infrarrojo. A través del análisis cualitativo y cuantitativo del <sup>1</sup>H-RMN se pudo confirmar la estructura del compuesto sintetizado (Fig. 1).

### Síntesis del bismacromonomero de las 2-oxazolinias

La síntesis del bismacromonomero fue realizada mediante la aplicación simultánea de los métodos del “iniciador” y del “terminador”, los cuales son métodos usuales en la síntesis de macromonomeros<sup>4</sup>. La síntesis se realizó mediante la copolimerización catiónica por apertura de anillo de la 2-metil- y de la 2-(2-metoxicarboniletil)-2-oxazolina y fue iniciada por el clorometilbenceno (CMS) en presencia del yoduro de sodio (coiniciador). De esta manera, mediante el CMS, se introdujo el grupo vinilo al inicio de la cadena polimérica. La polimerización fue terminada mediante la 4-vinilbencilpiperazina y de esta forma se introdujo el último grupo vinilo en el final de cadena del polímero, obteniéndose así el bismacromonomero (TELQ-1) de las 2-oxazolinias (Esquema 2). La polimerización transcurrió mediante el conocido mecanismo iónico de la polimerización de las 2-oxazolinias<sup>9</sup>.



**Esquema 2.** Síntesis del bismacromonomero a partir de la polimerización de las 2-oxazolinias.

En la tabla 1 se muestran las condiciones experimentales de síntesis del bismacromonomero y los resultados de la misma.

**Tabla 1.** Síntesis y caracterización del bismacromonomero TELQ-1

BISM <sup>a)</sup>	CMS <sup>b)</sup>	MeOXA <sup>c)</sup>	EsterOxa <sup>d)</sup>	NaI <sup>e)</sup>	ACN <sup>f)</sup>	VBP <sup>g)</sup>	DP <sub>ex(RMN)</sub> <sup>h)</sup>	DP <sub>teo(RMN)</sub> <sup>i)</sup>
	(mmol)	(mmol)	(mmol)	(mmol)	(mL)	(mmol)		
		(75% mol)	(25% mol)					
TELQ-1	6,55	39,3	13,1	13,1	23	13,1	7,7	8

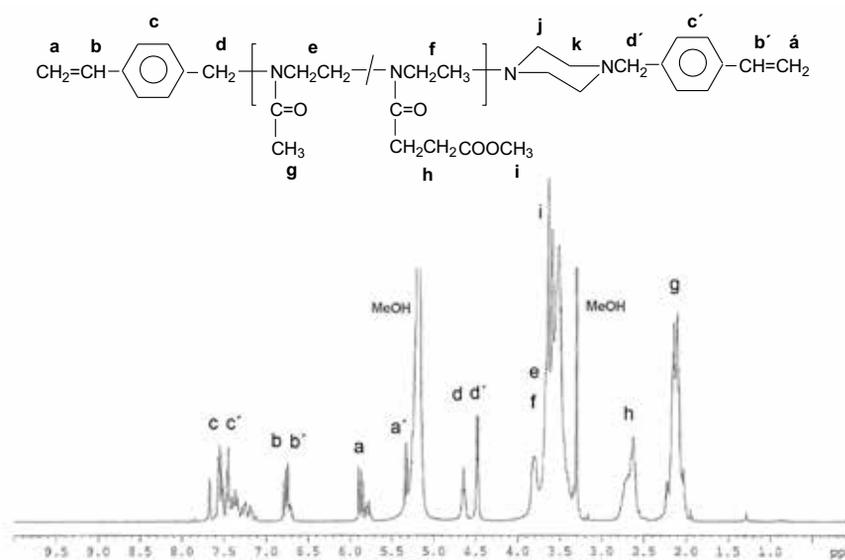
a) Bismacromonomero, b) Clorometilbenceno, c) 2-Metil-2-oxazolina, d) 2-(2-Metoxicarboniletil)-2-oxazolina, e) Ioduro de sodio, f) Acetonitrilo (solvente), g) 4-vinilbencilpiperazina, h) Grado de polimerización obtenido mediante el espectro <sup>1</sup>H-RMN, i) Grado de polimerización teórico calculado mediante la relación molar inicial [MeOXA+EsterOXA]/[CMS], j) Condiciones de reacción: temperatura: 77°C, tiempo de reacción: 7 horas.

El bismacromonómero TELQ-1 fue obtenido con un rendimiento del 98,5% y fue caracterizado mediante resonancia magnética nuclear (figura 2).

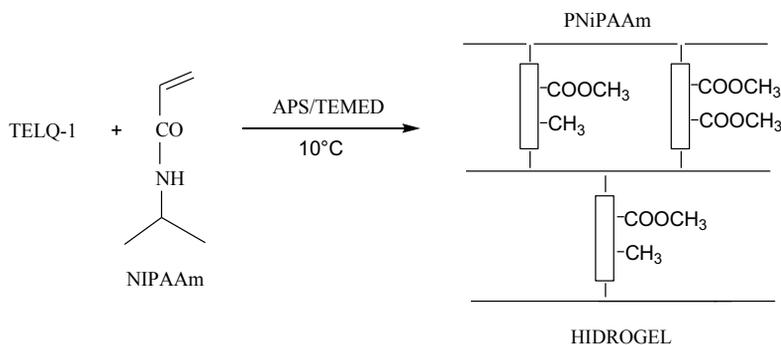
Mediante el análisis cuantitativo del espectro  $^1\text{H-RMN}$  se determinó que el grado de polimerización (PD) del bismacromonómero fue de 7,7 unidades y la concentración del mero de esteroxazolina en el mismo fue de 25% molar, lo cual está en excelente concordancia con los valores planeados (PD=8 y 25% molar Esteroxa) para esta síntesis (tabla 1). El macromonómero fue soluble en agua y metanol.

### Síntesis de los hidrogeles

Fueron sintetizados dos hidrogeles, HG-10 y HG-11 mediante la copolimerización, vía radicales libres, del bismacromonómero TELQ-1 y la N-isopropilacrilamida (NiPAAm) iniciándose la polimerización con el persulfato de amonio y el catalizador Temed a  $10^\circ\text{C}$  (esquema 3). La gelación fue rápida y ocurrió en solo 15 minutos.



**Figura 2.** Espectro  $^1\text{H-RMN}$  de bismacromonómero TELQ-1 en metanol deuterado a  $25^\circ\text{C}$



**Esquema 3.** Síntesis del hidrogel a partir de N-isopropilacrilamida y bismacromonómero de 2-oxazolina.

En la síntesis del hidrogel, el bismacromonómero TELQ-1, debido a sus dos grupos vinílicos, actuó como un agente entrecruzador en el sistema de polimerización y por esta razón ya no fue necesario usar un entrecruzador convencional como, por ejemplo, la bisacrilamida.

En la tabla 2 se muestran las condiciones de la síntesis y los resultados obtenidos.

**Tabla 2.** Elaboración del hidrogel a partir del bismacromonómero y N-isopropilacrilamida.

Hidrogel	NiPAAm <sup>a)</sup> (g)	Telq-1 <sup>b)</sup> (g)	APS <sup>c)</sup> (g)	TEMED <sup>d)</sup> (g)	Solvente <sup>e)</sup> ( mL)	Rend. <sup>f)</sup> (%)	Abs. Agua <sup>g)</sup>
HG-10	0,5	0,5	0,020	0,020	4	98	7,3
HG-11	0,5	0,30	0,020	0,020	4	96	7,4

a) N-isopropilacrilamida, b) Bismacromonómero, c) Persulfato de amonio, d) Tetrametiletilendiamina, e) El solvente fue agua destilada f) Rendimiento de la reacción, g) Absorción de agua del hidrogel, en gramos de agua/gramos de hidrogel seco, h) Temperatura de reacción: 10°C, i) Tiempo de reacción: 24 horas, aunque en 15 minutos ocurrió ya la gelación, se dejó el sistema de reacción por un tiempo de 24 horas antes de iniciar la purificación del hidrogel,

El rendimiento de los hidrogeles fue relativamente alto, de 98,5 y 97% para HG-10 e HG-11, respectivamente. Indicando esto que todos los monómeros reaccionaron cuantitativamente. Los grupos éster contenidos en los hidrogeles fueron hidrolizados selectivamente. Esto fue realizado embebiendo a los hidrogeles en una solución de hidróxido de sodio 0,1 N a 32°C, durante tres días.

La absorción de agua de los hidrogeles conteniendo grupos éster fue de alrededor del 7,3%. Sin embargo, luego de la hidrólisis completa de los grupos éster la absorción de agua aumentó hasta 13,1 y 11,9 para los hidrogeles hidrolizados, denominados H-HG-10 y H-HG-11, respectivamente. Este aumento del grado de absorción de agua es probablemente debido a que luego de la hidrólisis se generan dentro del hidrogel grupos ácido carboxílicos, más polares que los grupos éster, aumentando así la hidrofiliidad del hidrogel y por consiguiente la absorción de agua.

Los hidrogeles H-HG-10 y H-HG-11, debido a su contenido de segmentos de poliNipAAM, mostraron sensibilidad a la temperatura. Se realizó la prueba de sensibilidad térmica de estos hidrogeles variando la temperatura del agua donde estaban inmersos y se demostró que los hidrogeles se contrajeron al aumentar la temperatura (Fig. 3). Los hidrogeles H-HG-10 y H-HG-11 presentaron valores de transición conformacional a los 47 y 42°C, respectivamente y se contrajeron en un 55 y 70%, respectivamente (Fig. 3). El hidrogel H-HG-10, contiene más grupos funcionales ácido carboxílicos que el H-HG11, y por esto mayor hidrofiliidad, tiene una temperatura de transición mayor y presenta, también por este motivo, una mayor disminución de la intensidad de la transición térmica, tal como ha sido encontrado en sistemas similares<sup>5,9,15</sup>.

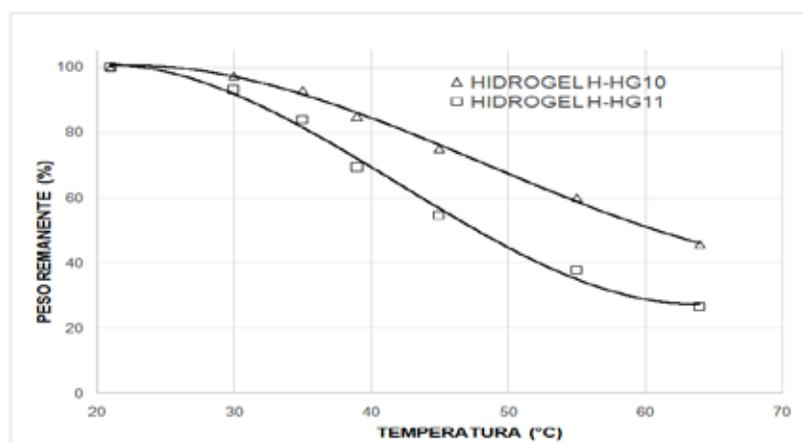
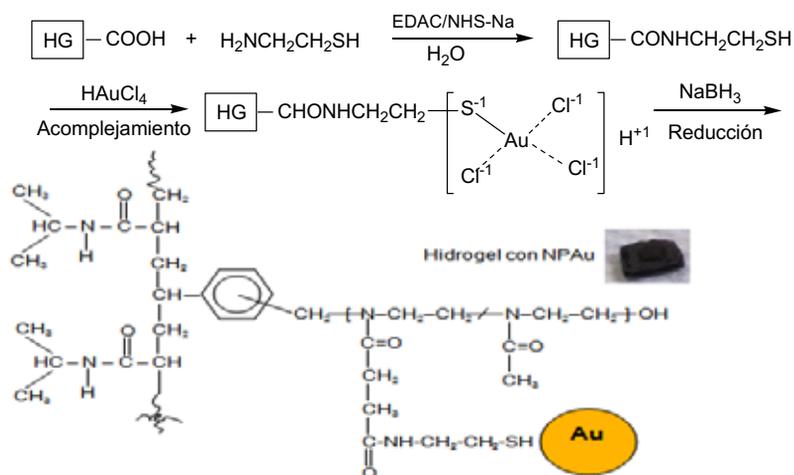


Figura 3. Gráfico de peso remanente vs temperatura para hidrogeles H-HG-10 y H-HG-11

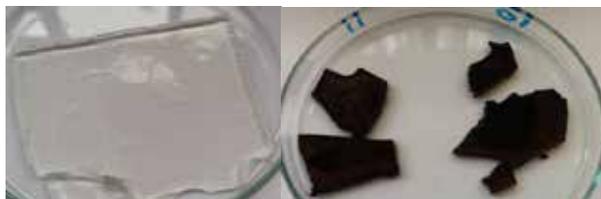
### Modificación de los hidrogeles y obtención de nanopartículas de oro en los mismos

Los hidrogeles H-HG-10 y H-HG-11 fueron modificados en su estructura química. Esto fue realizado mediante la reacción de los grupos ácido carboxílicos del hidrogel con un exceso estequiométrico del hidrocloreuro de cisteamina (esquema 4). Se promovió la reacción total del ácido y la amina a baja temperatura mediante el uso de EDAC y la sal sódica de la hidroxisuccinimida. Esta reacción se llevó a cabo en oscuridad, en un rango de pH entre 4 y 5,5 y a baja temperatura para evitar las reacciones secundarias de degradación de los grupos tioles.

Mediante esta reacción se logró incorporar los grupos tioles en el hidrogel y se asumió, por las condiciones de reacción usadas, que todos los grupos ácidos reaccionaron. Estos grupos tioles sirvieron para acomplejar los iones áuricos cuando el hidrogel se embebió en una solución de  $\text{HAuCl}_4$ . Luego, los iones áuricos fueron entonces reducidos con una solución de borohidruro de sodio para obtener finalmente las nanopartículas de oro dentro de los hidrogeles (esquemas 5 y 6).



**Esquema 4.** Modificación de los hidrogeles y obtención de nanopartículas de oro.



**Figura 4.** Fotos del hidrogel H-HG10 original sin NP-Au (izquierda) y con NP-Au (derecha).

### Caracterización de los hidrogeles conteniendo nanopartículas de oro

Las NP-Au fueron caracterizadas mediante el análisis ultravioleta/visible. Se obtuvo una curva con un máximo de absorción aproximadamente a 525 nm que podemos atribuir al típico fenómeno de plasmón superficial de las NP-Au.

Se realizaron pruebas de sensibilidad de los hidrogeles conteniendo iones áuricos y nanopartículas de oro. Los hidrogeles H-HG10 y H-HG11 conteniendo iones áuricos mostraron una mayor sensibilidad a la temperatura que los hidrogeles originales (sin estos iones). Los iones áuricos, en función de su carga eléctrica, podrían formar interacciones con los segmentos poliméricos polares de poliNIPAAm y del bismacromonómero y al ocurrir el colapso del poliNIPAAm (al alcanzarse la temperatura de transición conformacional) los iones áuricos entonces ayudarían a un colapso más eficiente o masivo de toda la masa del hidrogel (Figs. 5 y 6).

El hidrogel H-HG10 conteniendo nanopartículas de oro, al aumentar la temperatura, mostró una mayor contracción de su volumen así como su temperatura de transición conformacional fue mayor que el hidrogel original. Con el hidrogel H-HG11 se obtuvo el resultado contrario. El hidrogel H-HG11, conteniendo NP-Au, mostró una ligera menor contracción que el hidrogel original. Podemos asumir que en los hidrogeles, las nanopartículas de oro estarían localizadas cerca de las unidades de bismacromonómero (reticulador) porque fueron estos los elementos que contenían los grupos tioles y ahí se redujeron los iones áuricos para formar las NP-Au. Las NP-Au podrían ejercer el efecto de ayudar efectivamente en el colapso total del hidrogel si existen en este en una proporción relativamente alta como en el caso H-HG10 y en el caso del hidrogel H-HG11, no se alcanzaría este umbral de concentración de NP-Au para surtir el mismo efecto.

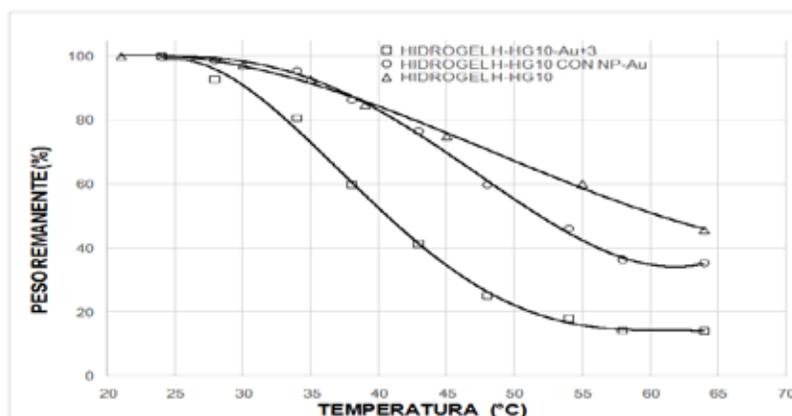
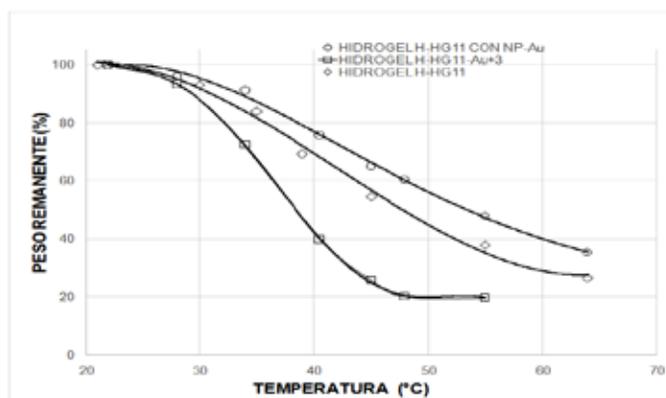


Figura 5. Gráfico de peso remanente vs temperatura para H-HG-G10, H-HG10+Au<sup>3+</sup>, e H-HG-10-NP-Au (Au<sup>3+</sup> reducido con BH<sub>3</sub>).

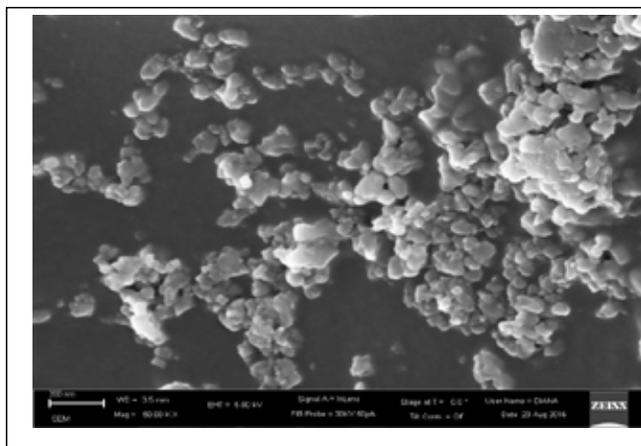
Por otro lado, se determinó, mediante medición por el microscopio electrónico de barrido CEM de la Universidad Tecnológica de Ilmenau, que efectivamente se formaron nanopartículas de oro y que su rango de tamaños fue de 5 a 250 nm (figura 7).

El objetivo principal de obtener un hidrogel termosensitivo en base a bismacromonomero de 2-oxazolininas funcionalizadas y que pueda contener nanopartículas de oro se ha cumplido. La variación del volumen del hidrogel podría variar las propiedades físicas de las nanopartículas de oro mediante su acercamiento (contracción del hidrogel) o alejamiento (expansión del hidrogel).

La investigación de la variación de las propiedades físicas será materia de un estudio posterior.



**Figura 6.** Gráfico de peso remanente vs temperatura para H-HG-G11, H-HG11+Au<sup>3+</sup>, e H-HG-11-NP-Au (Au<sup>3+</sup> reducido con BH<sub>3</sub>).



**Figura 7.** Microfotografías del hidrogel H-HG-10 conteniendo nanopartículas de oro mediante el microscopio electrónico de barrido (Universidad Tecnológica de Ilmenau, Alemania)

## CONCLUSIONES

Es factible la síntesis del bismacromonómero de 2-oxazolinas mediante la polimerización catiónica por apertura de anillo de estos monómeros, iniciada por el clorometilostireno y terminada por la 4-vinilbencilpiperazina.

Es factible la elaboración de un hidrogel mediante la polimerización de la N-isopropilacrilamida y utilizando el bismacromonómero de 2-oxazolinas como un elemento entrecruzador.

Las nanopartículas de oro generadas dentro de los hidrogeles aumentan la sensibilidad térmica del hidrogel respecto del hidrogel sin NP-Au. Se observó una contracción y expansión del hidrogel conteniendo las nanopartículas de oro, lo que podría hacer variar las propiedades ópticas y eléctricas de estas.

Los iones áuricos, cuando están acomplejados dentro de hidrogeles de poliNIPAAm, provocan el aumento de la sensibilidad térmica del hidrogel y también un aumento de la intensidad del fenómeno de transición conformacional.

## AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP) por el financiamiento de esta investigación, al Dr. Hartmut Komber, del Instituto Leibniz de Investigaciones en Polímeros de Dresden, Alemania, por los análisis de resonancia magnética nuclear y a la Ing. Kristina Schelestow por los análisis de microscopía electrónica CEM en la Universidad Tecnológica de Ilmenau, Alemania.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bloksma M, Weber C, Perevyazko I, Kuse A, Hoogenboom R, Schubert U. Poly(2-cyclopropyl-2-oxazoline): From Rate Acceleration by Cyclopropyl to Thermoresponsive Properties. *Macromolecules*. 2011; 44, 4057-4064.
2. Bloksma M, Schubert U, Hoogenboom R. Poly(cyclic imino ether)s Beyond 2-Substituted-2-oxazolines. *Macromol Rapid Commun*. 2011; 32: 1419-1441.
3. Hoogenboom R, Fitjen MWM, Schubert US. Parallel kinetic investigation of 2-oxazoline polymerizations with different initiators as basis for designed copolymer synthesis. *J Polym Sci. Part A: Polym Chem*. 2004; 42: 1830-1840.
4. Rueda JC, Komber H, Cedrón JC, Voit B, Shevtsova G. Synthesis of New Hydrogels by Copolymerization of Poly(2-methyl-2-oxazoline) Bis(macromonomers) and N-Vinylpyrrolidone. *Macromol Chem Phys*. 2003, 204: 947-953.
5. Rueda JC, Zschoche S, Komber H, Schmaljohann D, Voit B. Synthesis and Characterization of Thermoresponsive Graft Copolymers of NIPAAm and 2-Alkyl-2-oxazolines by the "Grafting from" Method. *Macromolecules*. 2005; 38: 7330-7336.

6. Rueda JC, Zschoche S, Komber H, Krahl F, Arndt K-F, Voit B. New Thermo-Sensitive Graft Copolymers Based on a Poly(N-isopropylacrylamide) Backbone and Functional Polyoxazoline Grafts with Random and Diblock Structure. *Macromol Chem Phys.* 2010; 211: 706-711.
7. Zschoche S, Rueda JC, Binner M, Komber H, Janke A, Arndt K-F, Voit B. *Macromol Chem Physic.* Reversibly Switchable pH- and Thermoresponsive Core-Shell Nanogels Based on Poly(NiPAAm)-graft-poly(2-carboxyethyl-2-oxazoline)s. 2012; 213: 215-226.
8. Zarka T, Nuyken O, Weberskirch R. Amphiphilic Polymer Supports for the Asymmetric Hydrogenation of Amino Acid Precursors in Water. *Chem Eur J.* 2003; 9: 3228-3234.
9. Rueda JC, Campos E, Komber H, Zschoche S, Häussler L, Voit B. Synthesis and Characterization of New pH- and Thermoresponsive Hydrogels Base on N-Isopropylacrylamide and 2-Oxazolines. *Des Monomers Polym.* . 2014; 17: 208-216.
10. Zschoche S, Rueda JC, Binner M, Komber H, Janke A, Appelhans D, Voit B. Temperature- and pH-dependent aggregation behaviour of hydrophilic dual-sensitive poly(2-oxazoline)s block copolymers as latent amphiphilic macromolecules. *European Polymer Journal.* 2017; 88: 623-635.
11. Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev.* 2004; 104: 293-346.
12. Wang C, Flynn N, Langer R. Controlled structure and properties of thermoresponsive nanoparticle-hydrogel composites. *Advanced Materials.* 2004; 16: 1074-1079.
13. Pong FY, Lee M, Bell JR, Flynn NT. Thermoresponsive Behavior of Poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogels Containing Gold Nanostructures. *Langmuir.* 2006; 22: 3851-3857.
14. Schild HG. Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application. *Prog Polym Sci.* 1992; 17: 163-249.
15. Dimitrov I, Trzebicka B, Müller A, Dworak A, Tsvetanov C. Thermosensitive water-soluble copolymers with doubly responsive reversibly interacting entities. *Prog Polym Sci.* 2007; 32: 1275-1343

## ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA

# ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO RMN BIDIMENSIONAL DE BASES DE SCHIFF DERIVADAS DE LA 4-AMINOANTIPIRINA

Sergio Zamorano<sup>1\*</sup>, Juan Camus<sup>1</sup>, Mariana Zavala<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se ha realizado el análisis estructural de seis derivados de la 4-aminoantipirina (4AAP) mediante dos técnicas de RMN bidimensional, la HSQC y la HMBC, las que ayudaron a dilucidar la estructura de los cuatro derivados utilizando los datos suministrados por la interacción entre los átomos de carbono e hidrógeno presentes en las diferentes moléculas.

**Palabras clave:** derivados de la 4- aminoantipirina, espectroscopía RMN 2D

## TWO-DIMENSIONAL NMR SPECTROSCOPIC STUDY OF SCHIFF BASES DERIVED FROM 4-AMINOANTIPYRINE

### ABSTRACT

There has been the structural analysis of six derivatives of the 4- aminoantipyrine(4AAP) by means of two techniques of two-dimensional NMR, the HSQC and HMBC, which helped to elucidate the structure of four derivatives using the data provided by the interaction between the atoms of carbon and hydrogen present in the different molecules.

**Key words:** 4-aminoantipyrine derivatives, 2D NMR spectroscopy

### INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores hemos determinado la estructura de bases de Schiff derivadas del 2-aminofenol<sup>1,2</sup> utilizando técnicas de RMN 1D y 2D. Numerosos investigadores han sintetizado bases de Schiff hexadentadas, que podrían utilizarse en la síntesis de numerosos compuestos complejos que presentan actividad óptica<sup>3,4</sup>, y también para compuestos complejos tetradentados transportadores de oxígeno de tipo Co-Salen y sus derivados sustituidos en el ciclo, que tienen propiedades de fijar el oxígeno cuando se encuentran en estado sólido<sup>5</sup>. Las bases de Schiff (iminas) son, en general, el producto de condensación del amoníaco o una

---

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Carvallo N°270. Universidad de Playa Ancha. Valparaíso. Chile

\* szamoran@upla.cl

amina primaria con una cetona o un aldehído. En nuestro caso hemos utilizado la reacción de condensación de la 4-amino antipirina (4AAP) con diversos aldehídos (2-metilbenzaldehído<sup>6</sup>, p-nitrobenzaldehído<sup>7</sup>, 2-hidroxibenzaldehído<sup>8</sup>, p-dimetilaminobenzenaldehído<sup>9</sup>, 4-bromobenzenaldehído, 2-nitrobenzenaldehído). La reacción es reversible y se favorece en un medio ligeramente ácido, que permite la protonación del oxígeno del grupo carbonilo para favorecer el ataque nucleófilo<sup>10</sup> por la amina de la 4AAP, lo que da como resultado la sustitución del enlace C=O por C=N. Todos estos derivados de la 4 AAP estudiados en este trabajo, han sido sintetizados por diversos investigadores<sup>11-21</sup> y se han ensayado para sintetizar compuestos de coordinación, actividad biológica (antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngicos, anticancerígena, analgésico, antipirético), inhibidores de corrosión, sensores fluorescentes, etc., información que se encuentra muy bien recopilada en los reviews de Deshmukh *et al*<sup>22</sup> y Raman *et al*<sup>23</sup>. La 4-aminoantipirina se utiliza para la determinación cuantitativa de fenoles, porque estos reaccionan con la 4AAP en medio alcalino en presencia de ferrocianuro de potasio generando un compuesto rosado, que permite la determinación fotométrica cuantitativa de los fenoles<sup>24,25</sup>. Sin embargo, los estudios de RMN bidimensionales de estos derivados no han sido publicados y constituyen un interesante aporte a la información estructural de estos compuestos.

La RMN bidimensional ha resultado ser una excelente técnica para dilucidar la estructura de las moléculas orgánicas, así por ejemplo, utilizando la técnica bidimensional heteronuclear HMBC permite la detección de protones, que muestra los carbonos que se encuentran a 2 o 3 enlaces de distancia de los protones y el experimento HSQC, que permite la detección de protones (<sup>1</sup>H) que muestra los carbonos (<sup>13</sup>C) directamente conectados, en otras palabras, estos experimentos permiten observar los protones enlazados directamente o remotamente, hasta 4 enlaces<sup>26,27</sup>. En este trabajo utilizaremos las técnicas HSQC y HMBC para dilucidar la estructura de seis diferentes bases de Schiff derivadas de la 4AAP.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y métodos

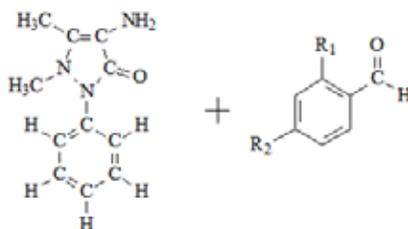
La síntesis de las correspondientes bases de Schiff fue producto de la reacción de condensación entre la 4-aminoantipirina y los siguientes aldehídos:

4-bromobenzenaldehído, 2-hidroxibenzenaldehído, 2-metilbenzenaldehído, 2-nitrobenzenaldehído, 4-dimetilaminobenzenaldehído y 4-nitrobenzenaldehído.

El procedimiento consistió en disolver 1,2 mmol de la 4AAP en 100 ml de etanol, en un balón de 200 ml provisto de sistema de reflujo, al que se añadieron 1,2 mmol del aldehído correspondiente, en relación 1:1. Las soluciones resultantes se sometieron a reflujo durante una hora, bajo constante agitación. Terminado este proceso, las soluciones de color amarillo se mantuvieron bajo refrigeración durante una semana para obtener cristales aciculares de color amarillo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reacción entre la 4-aminoantipirina y el aldehído respectivo se produce de acuerdo a una reacción de condensación similar en los seis derivados utilizados; de manera que podemos generalizar, esquematizando las moléculas resultantes de acuerdo a la figura 1.



**Figura 1.** Reacción de condensación entre la 4AAP y los diversos aldehídos

Donde:

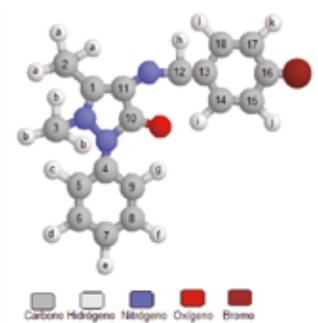
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Formula condensada BS
-H	-Br	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub> O
-OH	-H	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
-CH <sub>3</sub>	-H	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O
-H	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O
-NO <sub>2</sub>	-H	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
-H	-NO <sub>2</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>

En los espectros HSQC se obtienen las señales que entregan información acerca de la relación existente entre los núcleos de <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H que se encuentran unidos directamente.

En los espectros bidimensionales HMBC se obtienen las señales que entregan información acerca de la relación existente entre los núcleos de <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H que se encuentran a una distancia de 2 a 3 enlaces, y en casos especiales hasta 4 enlaces.

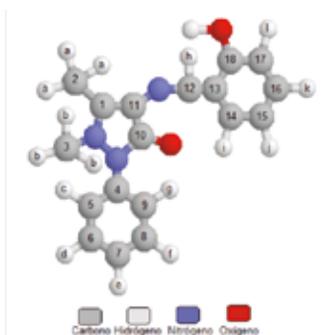
Con la información de los espectros HSQC y HMBC, y apoyados con técnicas de espectroscopia IR, se pueden determinar las estructuras de las seis bases de Schiff sintetizadas, siguiendo la metodología tradicional que se inicia marcando los carbonos, de manera correlativa con números del **1** al **20**, según corresponda; y a los hidrógenos se les asignan letras minúsculas de la “a” a la “n”, según corresponda.

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff 4AAP-Br se observa en la figura 2.



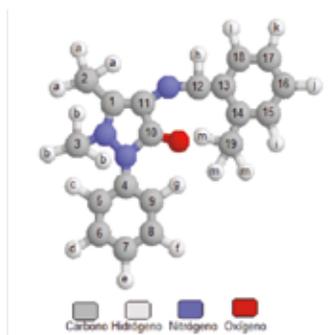
**Figura 2.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff 4AAP-Br

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-OH** se observa en la figura 3.



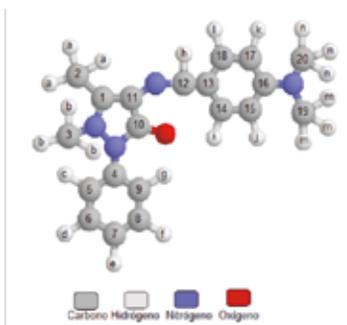
**Figura 3.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff 4AAP-OH

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-Me** se observa en la figura 4.



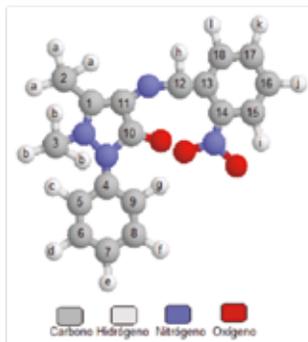
**Figura 4.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff 4AAP-Me

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-DMA** se observa en la figura 5.



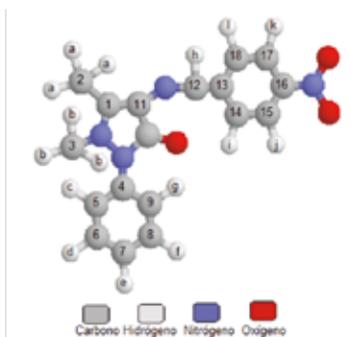
**Figura 5.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-DMA**

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-2NO<sub>2</sub>** se observa en la figura 6.



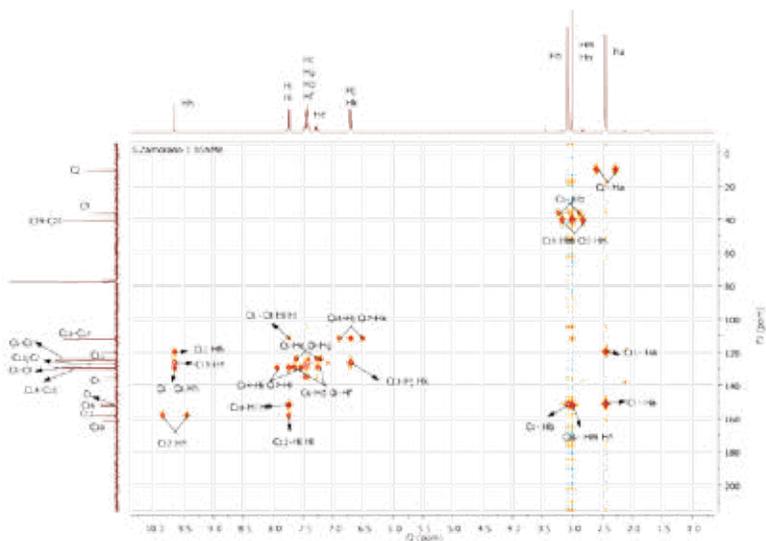
**Figura 6.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-2NO<sub>2</sub>**

La asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-4NO<sub>2</sub>** se observa en la figura 7.



**Figura 7.** Asignación de números y letras a los carbonos e hidrógenos de la base de Schiff **4AAP-4NO<sub>2</sub>**

Los espectros HMBC o también llamados “diagramas de contorno” de estas seis bases de Schiff, se presentan en las figuras 8-14. Estos espectros han permitido identificar cada uno de los carbonos y la conectividad que tienen con los protones que se encuentran a 2, 3 y 4 enlaces de distancia para poder determinar, en definitiva, la estructura de la molécula.



**Figura 8.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-DMA

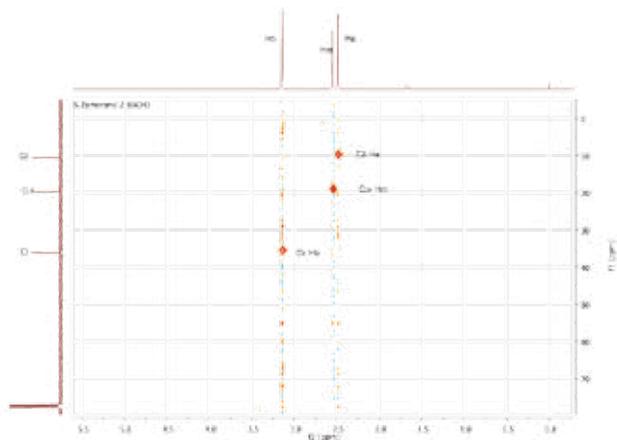
En este diagrama es posible observar el acoplamiento de la señal del  $C_2$  con el  $H_a$ , y además el  $H_a$  interacciona con los  $C_{11}$  y  $C_1$ . También se observa el acoplamiento de los  $C_{19}$  y  $C_{20}$  con los  $H_m$  y  $H_n$ , y la interacción de estos protones con el  $C_{16}$ . Se observa otro acoplamiento del  $C_{12}$  con el  $H_j$ , y la interacción del  $H_k$  con este carbono. Y además de otra interacción del  $H_n$  con el  $C_{13}$  y  $C_{11}$ .

Los  $H_j$  y  $H_k$  se acoplan con los  $C_{15}$  y  $C_{17}$ , pero en la señal se observa una interacción de los protones con el  $C_{16}$ . Además otra interacción con el  $C_{12}$  con el  $H_k$

El acoplamiento entre los  $C_{14}$  y  $C_{18}$  con los  $H_i$  y  $H_i$  se observa, y los protones de esta señal tienen una interacción con el  $C_{13}$ .

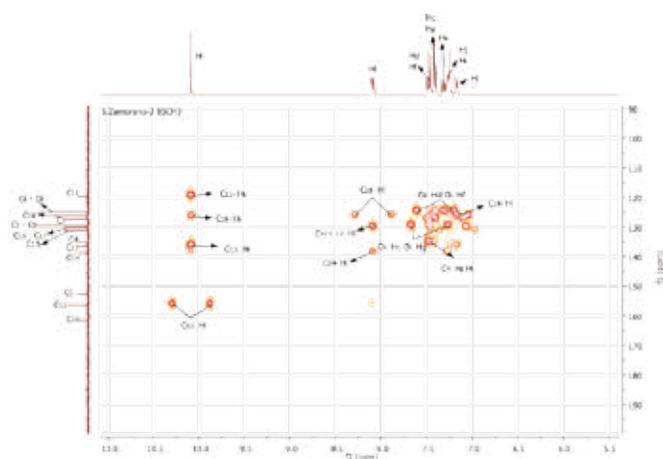
Los  $C_5$  y  $C_9$  se acoplan con los  $H_c$  y  $H_g$ , y los protones de esta señal interactúan con los  $C_4$  y  $C_7$ .

En la señal se observa otro acoplamiento entre los  $C_6$  y  $C_8$  con los  $H_d$  y  $H_p$ , y una interacción de los protones con el  $C_7$ .



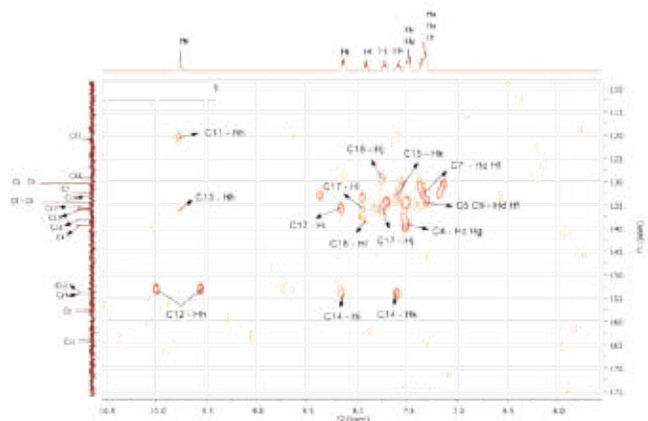
**Figura 9.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-M, para carbonos de los grupos metilo 2, 3, 19 y sus protones a, b y m.

Este espectro muestra aquellas señales que corresponden a las interacciones entre los  $C_{2,3}$ ,  $C_{19}$  y los protones  $H_a$ ,  $H_b$  y  $H_m$ , respectivamente.



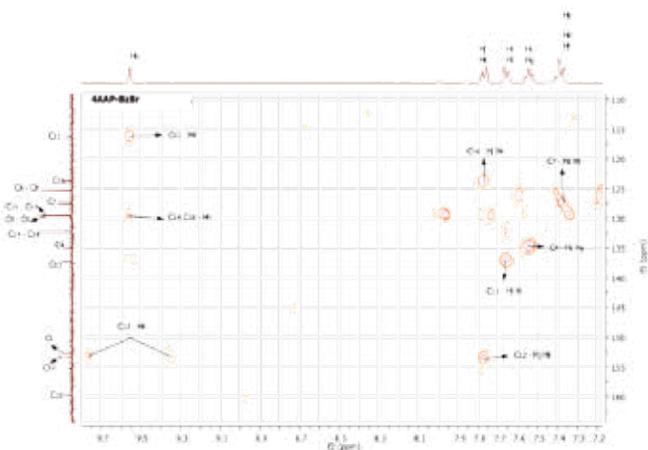
**Figura 10.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-M para la zona aromática.

Este espectro nos muestra la interacción del  $C_{11}$  cuaternario con el  $H_h$  a tres enlaces. El  $C_{18}$  está unido directamente con el  $H_i$ , interacciona con el  $H_i$  y  $H_h$  a **3** y **2** enlaces, respectivamente. El  $C_{12}$  está unido con el  $H_n$ , e interacciona con los protones a tres enlaces.



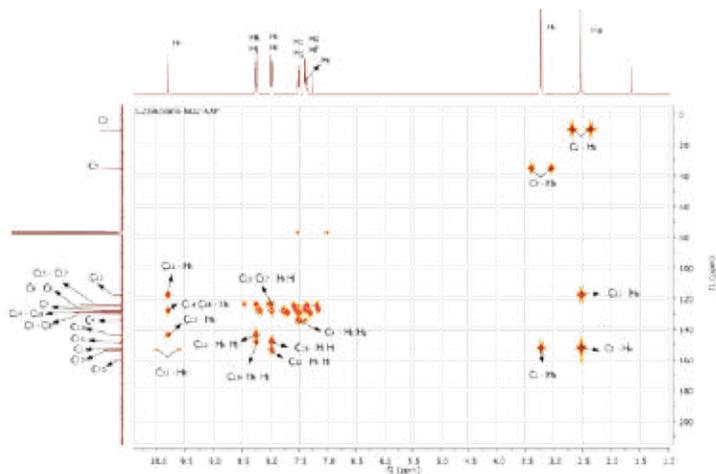
**Figura 11.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-2NO<sub>2</sub> para la zona aromática.

Se aprecia, en el espectro de la fig. 11, las interacciones del C<sub>11</sub> y C<sub>13</sub> con el protón imínico. A su vez, se observa la interacción del C<sub>14</sub> con el H<sub>i</sub>, y la interacción del C<sub>4</sub> con los H<sub>c</sub> y H<sub>g</sub>. También se aprecia las interacciones del C<sub>17</sub> con los H<sub>i</sub> y H<sub>j</sub> y H<sub>k</sub>; del C<sub>16</sub> con el H<sub>i</sub>; del C<sub>18</sub> con el H<sub>j</sub>; y del C<sub>15</sub> con el H<sub>k</sub>.



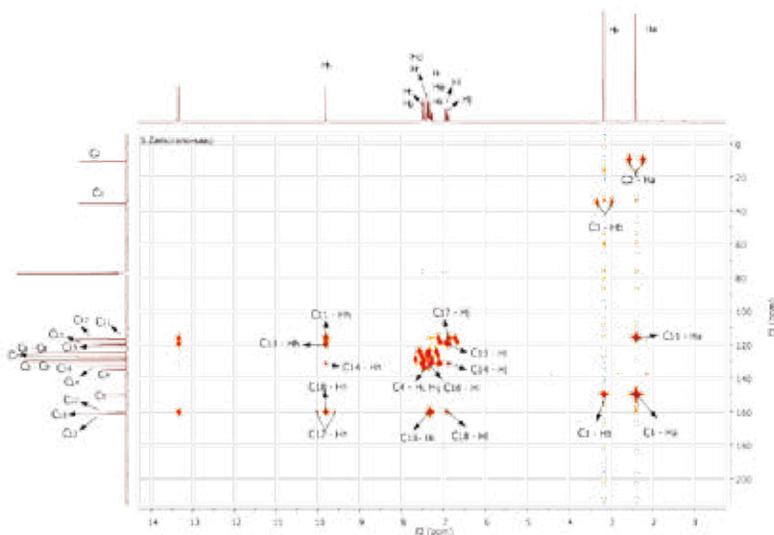
**Figura 12.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-Br para la zona aromática.

En el espectro se observa la interacción de los C<sub>11</sub>, C<sub>14</sub> y C<sub>18</sub> con el protón imínico. También se aprecia la interacción de los carbonos cuaternarios C<sub>16</sub>, C<sub>13</sub> y C<sub>4</sub> con los H<sub>j</sub> y H<sub>k</sub>, con los H<sub>i</sub> y H<sub>j</sub>; y con los H<sub>c</sub> y H<sub>g</sub>, respectivamente.



**Figura 13.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-4NO<sub>2</sub>

Este espectro muestra la interacción de los C<sub>11</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>18</sub> y C<sub>13</sub> con el protón imínico; la interacción del C<sub>16</sub> con los H<sub>k</sub>, H<sub>l</sub>, H<sub>i</sub> y H<sub>j</sub>; la interacción del C<sub>13</sub> con los H<sub>k</sub> y H<sub>j</sub>; la interacción C<sub>12</sub> con los H<sub>i</sub> y H<sub>l</sub>; y la interacción de los carbonos C<sub>15</sub> y C<sub>17</sub> con los H<sub>1</sub> y H<sub>l</sub>.



**Figura 14.** Espectro de RMN HMBC de la Base de Schiff 4AAP-OH

En este espectro se puede observar la interacción del  $C_{11}$ ,  $C_{13}$ ,  $C_{14}$  y  $C_{18}$  con el  $H_b$ ; la interacción del  $C_{18}$  con los  $H_i$  y  $H_j$ ; la interacción del  $C_{17}$  con el  $H_j$ ; la interacción del  $C_{13}$  con el  $H_i$ ; la interacción del  $C_{14}$  con el  $H_j$ ; la interacción del  $C_{16}$  con el  $H_i$ ; y la interacción del  $C_4$  con los  $H_c$  y  $H_g$ . A campo alto, también se aprecian las interacción del  $C_1$  con el  $H_a$  y el  $H_b$ , y la interacción del  $C_{11}$  con el  $H_a$ .

## CONCLUSIONES

Se sintetizaron seis bases de Schiff, mediante reacciones de condensación, derivadas de la 4 aminoantipirina que contienen átomos donores de oxígeno y nitrógeno y que potencialmente pueden ser utilizadas para sintetizar compuestos de coordinación. Estos seis compuestos fueron caracterizados por técnicas de RMN bidimensional heteronuclear HSQC y HMBC, que permitió dilucidar la estructura de las citadas moléculas y observar la influencia de los diversos grupos funcionales en el entorno N-C-C=O.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Zamorano S, Camus J. Caracterización de bases de Schiff derivadas de 2-aminofenol, usando RMN 1D y 2D. *Rev Soc Quím Perú*. 2010; 76 (2):187-193.
2. Zamorano S, Camus J. Determinación de la estructura de bases de Schiff derivadas 2-aminofenol nitro y flúor sustituidas, utilizando la RMN 1D y 2D. *Rev Soc Quím. Perú*. 2011; 77 (1): 27-34.
3. Collins J, Dwyer FP, Lions F. Sexadentate Chelate Compounds IV. *J Am Chem Soc*. 1954; 74: 3134-3136.
4. Dwyer FP, Gill NS, Gyrfas EC, Lions F. Sexadentate Chelate Compounds. IIII. *J Am Chem Soc*. 1952; 74: 4188-4193.
5. Floriani C, Calderazzo F. Oxygen adducts of Schiff's base complexes of cobalt prepared in solution. *J Chem Soc A*. 1969; A: 946-953.
6. Maulen R. Síntesis y caracterización de la condensación de 2-metilbenzaldehído con 4-aminoantipirina. Estudios en resonancia magnética nuclear 1D y 2D. [Tesis de Licenciatura]. Valparaíso: Universidad de Playa Ancha; 2016.
7. Martínez M. Estudio RMN 1D y 2D del producto obtenido de la condensación de 4-aminoantipirina con p-nitrobenzaldehído. [Tesis de Licenciatura]. Valparaíso: Universidad de Playa Ancha; 2012.
8. Astargo G, Encina M. Síntesis y caracterización de la condensación de la base de Schiff salicilal-4-aminoantipirina y su complejo con cobre (II). Estudios de RMN en 1D y 2D. [Tesis de Licenciatura]. Valparaíso: Universidad de Playa Ancha; 2012.
9. Aracena F. Condensación de la 4AAP con dimetilaminobenzaldehído. Estudio RMN 1D y 2D. [Tesis de Licenciatura]. Valparaíso: Universidad de Playa Ancha; 2015.
10. Hart H, Hart DJ, Craine LE. *Química Orgánica*. México: McGraw-Hill; 1995.
11. Cascaval A, Stoica GhZ, Berdan I. Antipyrine derivatives and process for their preparation. 1993; RO 106403 B1 19930430.

12. Moharram HH. Synthesis of some new 4-substituted antipyrines of anticipated biological activity. *Pakistan J Sci Ind Res.* 1985; 28(5): 300-303.
13. Shmidt EV, Prishcep TP, Chernova NA. Azomethine derivatives 4-aminoantipyrine and their anti-inflammatory activity. *IzvTomsk Politekhn In-ta.* 1975; 250: 156-158.
14. Asiri AM, Khan SA, Marwani HM, Sharma K. Synthesis, spectroscopic and physicochemical investigations of environmentally benign heterocyclic Schiff base derivatives as antibacterial agents on the bases of in vitro and density functional theory. *J Photochem Photobio B: Biology.* 2013; 120: 82-89.
15. El-Ajaily MM, El-Ferjani RM, Maihub AA. Preparation and physical investigation of complexes derived from 4-dimethylaminobenzaldehyde and 4- aminoantipyrine Schiff base with Ni(II), Cu(II), Rh(III) and Pt(IV) ions. *Jordan J Chem.* 2007; 2(3): 287-296.
16. Al-Khamees HA, Bayomi SM, Kandil HA, El-Tajir KE. Synthesis and pharmacological screening of a new series of 3-(4-antipyryl)-2-arylthiazolidin-4-ones. *Eur J Med Chem.* 1990; 25(2):103-106.
17. Junaedi S, Al-Almiery AA, Kadhum AA, Mohamad AB. Inhibition effects of a synthesized novel 4-aminoantipyrine derivative on the corrosion of mild steel in hydrochloric acid solution together with quantum chemical studies. *Int J Molec Sci.* 2013; 14(6): 11915-11928.
18. Gupta VK, Singh AK, Kumawat LK. A turn-on fluorescent chemosensor for Zn<sup>2+</sup> ions based on antipyrine Schiff base. *Sensor and Actuators B.* 2014; 204: 507-514.
19. Sobha S, Raman N. Transition metal based biologically active compounds as selective antifungal agents. *Int J Phar Bio Sci.* 2012; 3(2): 116-123.
20. Baluja S, Patel A, Chanda S. Schiff bases-synthesis, characterization and antibacterial activity. *Res J Pharm Bio Chem Sci.* 2011; 2(4): 296-304.
21. Letunov VI. Reaction of Schiff bases, obtained from 4-aminoantipyrine and 4-amino-1,2, 4-triazole, with ketones. *Zhur Org Khim.* 1984; 20(1): 162-166.
22. Deshmukh P, Kumar P, Kankoriya A, Halve AK, Dixit R. 4-Aminoantipyrine: A Significant Tool for the Synthesis of Biologically Active Schiff Bases and Metal Complexes. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2015; 34(1): 162-170.
23. Raman N, Raja SJ, Sakthivel A. Transition metal complexes with Schiff-base ligands: 4-aminoantipyrine based derivatives—a review. *J Coord Chem.* 2009; 62(5): 691-709.
24. GT Lab. Fenoles [Internet] AQAssay; 2017. [citado el 8 de Jun. 2017]. Disponible en [http://www.gtlab.com.ar/UserFiles/mediaManager/1/6ae042ec744b042008f4d9ac-0425403fb42efd8\\_ee5a0f4776a312447575d0173691b22c8bba7dcc.pdf](http://www.gtlab.com.ar/UserFiles/mediaManager/1/6ae042ec744b042008f4d9ac-0425403fb42efd8_ee5a0f4776a312447575d0173691b22c8bba7dcc.pdf).
25. PNT N°5. Determinación colorimétrica de fenoles en agua por el método de la 4-aminoantipirina. [Internet] MNCN; 2017. [citado el 8 de Jun. 2017]. Disponible en: [http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES//investigacion/cromatografia/fenolfe\\_por\\_colorimetria.pdf](http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_ES//investigacion/cromatografia/fenolfe_por_colorimetria.pdf).
26. Quiored. Elucidación estructural: Resonancia Magnética Nuclear (Desplazamiento de 13C) [Internet]. Granada: Universidad de Granada, Facultad de Ciencias Dpto. Química Orgánica; 2004. [citado el 8 de Jun. 2017]. Disponible en: <http://www.ugr.es/~quiorred/espec/crmn.htm>.
27. Espectroscopia RMN 2D [Internet]. Weebly; 2017. [citado el 8 de Jun. 2017]. Disponible en: [http://espectroscopico.weebly.com/uploads/1/7/6/6/17662713/2d\\_nmr.pdf](http://espectroscopico.weebly.com/uploads/1/7/6/6/17662713/2d_nmr.pdf).

## INFORMACIONES

### TARDES CIENTÍFICAS

El miércoles 31 de mayo del 2017 se llevó a cabo, en el auditorio de la Sociedad Química del Perú, la conferencia:

#### “Síntesis verde en productos innovadores hechos en el Perú”

La conferencia estuvo centrada en describir innovadores métodos de síntesis y caracterización de diversos productos de interés, como suavizantes de textiles, detergentes, adhesivos, hidrogeles y otros hechos en el país, bajo los principios de la química verde, utilizando insumos de origen natural en la mayoría de los casos.

**Expositor:** Quím. Daniel Rosales Intti.

Químico de la Universidad Nacional Federico Villarreal, con amplia experiencia en Química de Polímeros, Biopolímeros, Productos Naturales, Alimentos, Química Coloidal y Síntesis Orgánica.

#### **Obituario:**

Con sumo pesar comunicamos que el día sábado 20 de mayo del presente año, partió a los brazos del Señor nuestro amigo y gran colaborador de la SQP, el señor Daniel Mamani Cruz. Desde aquí nuestras más profundas condolencias a toda su familia.



***ESERGRAF***  
mig5548@yahoo.com  
998 513 545 / 464 3717



