

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL  
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA**

**Tesis**

**Presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del  
Litoral, para la obtención del Grado Académico de:**

**Doctor en Ingeniería Química**

**En el campo de:**

**Química Orgánica**

**Título de Tesis**

**“DISEÑO DE SENSORES QUÍMICOS ANCLADOS SOBRE  
MATERIALES NANO Y MESOPOROSOS DERIVADOS DE  
MOLÉCULAS SIMPLES”**

Laboratorio Fester – Química Orgánica, Instituto de Química Aplicada del  
Litoral (IQAL), dependiente de la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y del  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

**Autora**

**Ing. Vanina Alejandra Guntero**

**Directora de Tesis: Dra. María N. Kneeteman**

**Co-Director de Tesis: Dr. Cristián A. Ferretti**

**Año de presentación**

**2019**



## **MIEMBROS DEL JURADO**

### **Titulares**

**Dr. Ernesto C. Martínez (Inv. Principal -CONICET /Prof. Titular –UTN)**

**Dra. Griselda Eimer (Inv. Principal-CONICET/ Prof. Adjunto UTN)**

**Dra. María A. Ulla (Inv. Principal -CONICET /Prof. Asociado -UNL)**

### **Suplentes**

**Dra. Verónica Elías (Inv. Adjunto -CONICET/ Prof. Adjunto -UTN)**

**Dr. Andrés Trasarti (Inv. Adjunto -CONICET/ Prof. Adjunto –UNL)**



*A la memoria de mi abuela*

*A mi marido, padres y hermanos*



*“La tragedia de la vida no reside en no alcanzar tu objetivo. La tragedia está en no tener algún objetivo por alcanzar. No es una calamidad morir con sueños sin completar, pero es una calamidad no soñar. No es una desgracia no alcanzar las estrellas, pero es una desgracia no tener estrellas para alcanzar.”*

*-Benjamin E. Mays (American educator, Clergyman, 1895-1984)-*





## **AGRADECIMIENTOS**

*En este momento, al mirar el camino recorrido durante tanto tiempo, el mismo trae consigo el balance del cambio a nivel personal y profesional que produjo el comienzo del Doctorado, por lo que quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los doctores María Kneeteman y Cristián Ferretti, bajo cuya dirección se ha llevado a cabo este trabajo, por su constante apoyo y guía a lo largo de estos años. Gracias María por abrirme las puertas del laboratorio Fester y permitirme formar parte de esta gran familia y equipo de trabajo. Por brindarme de forma incondicional su sabiduría y espertiz. Gracias Cristián por brindarme todo tu conocimiento y porque quizás sin saberlo me aportaste esa dosis de energía que en algunos momentos parecía faltarme producto de tantos viajes y esfuerzos ininterrumpidos. Muchas gracias a ambos, por trabajar a mi lado tantos fines de semanas, por hacer que todo parezca fácil y solucionarlo en un abrir y cerrar de ojos. Ha sido un honor y un placer para mí haber trabajado con ustedes. No podría haber tenido mejores profesores.*

*Al Dr. Pedro Mancini mi más profundo agradecimiento por su confianza, paciencia y dedicación durante estos años. Por estar siempre pendiente de mis avances y proponerme nuevos desafíos.*

*A todos mis colegas y amigos del laboratorio Fester, por su paciencia y acompañamiento. Han sido cómplices y colaboradores en el trabajo, mañanas, aprendizajes y vivencias. Por todos esos momentos que vivimos juntos. Por hacer de esos largos días en el laboratorio un segundo hogar. Un agradecimiento especial a Matías por colaborar en el desarrollo de esta tesis.*

*A UTN por el apoyo económico. A las becarias de la Facultad Regional San Francisco por sumarse en este gran desafío de la investigación, por acoplarse con entusiasmo a todas las propuestas de trabajo planteadas, por su excelente predisposición a aprender y superarse.*

*A los directores y colegas del IPEA, por acompañarme, apoyarme y darme oportunidades para que pueda cumplir con ambos trabajos.*

*A mi familia. A mis padres por los valores que me han inculcado en la vida, por privarse de tantas cosas para asegurarme un estudio. A mis hermanos por entender mi ausencia en pos de mis estudios. A mi marido por ser mi compañero durante tanto tiempo y en especial en estos últimos 5 años, por comprender en silencio tantos días y noches que me ausenté de casa, por ser mi sostén en momentos difíciles, por su paciencia, por celebrar mis alegrías y hacer amenos mis tristezas. A mi tía y mi tío por su apoyo incondicional y sus palabras de aliento constantes.*

*A mi abuela. Porque en su desconocimiento de las implicancias de realizar una carrera universitaria siempre me incentivó a estudiar. Fue necesario que pase mucho tiempo para que pueda entender sus palabras.*

*A Tobeto. Porque desde jovencita me guió en el camino del esfuerzo, dedicación y superación personal. Sus enseñanzas han quedado ancladas fuertemente en mi personalidad y se han trasladado a mi vida profesional.*

*Finalmente agradezco a todas las personas que han sido parte de esta hermosa etapa en mi vida, llena de desafíos y sueños por cumplir.*





## RESUMEN

En este trabajo de tesis se estudia la síntesis de ligandos químicos con propiedades antioxidantes y sensoras de cationes inorgánicos en medios líquidos, y su posibilidad de soportarlos sobre materiales mesoporosos y nanoparticulados.

Los sistemas moleculares capaces de actuar como antioxidantes y detectar iones son de gran interés, debido a su presencia en diversos sistemas biológicos, así como también en el medio ambiente. Por estos motivos, es de singular importancia disponer de sistemas que cuenten con capacidad de actuar como antioxidantes y/o quimiosensores selectivos ante determinados cationes inorgánicos.

Los compuestos derivados de productos naturales provenientes de la biomasa son candidatos atractivos para su transformación en moléculas activas. En este sentido, se extrajeron de diferentes fuentes vegetales, vainillina, eugenol y cinamaldehído, y a partir de los mismos se sintetizaron compuestos bicíclicos y/o hidrazonas/semicarbazonas. Estos compuestos fueron caracterizados por diferentes técnicas de manera de evaluar sus propiedades antioxidantes y/o cromogénicas-fluorogénicas.

Entre los compuestos sintetizados, *bis*-vainillina, *bis*-eugenol y nicotino hidrazona derivada del cinamaldehído, presentaron una destacable actividad antioxidante, del orden al presentado por el antioxidante comercial butilhidroxitolueno.

De los demás compuestos sintetizados, tres de ellos presentaron destacada actividad sensora de cationes: la nicotino hidrazida doble derivada de *bis*-vainillina actúa como sensor cromogénico frente a cationes  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$  y  $Fe^{3+}$ , y como sensor fluorogénico para  $Cr^{3+}$  y  $Fe^{3+}$ ; la benzotiazol hidrazona doble derivada de *bis*-vainillina actúa como sensor cromogénico frente a cationes  $Cu^{2+}$ ; y la hidralazona doble derivada de *bis*-vainillina es capaz de actuar como sensor cromogénico de los cationes  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$  y  $Fe^{3+}$ , y como sensor fluorogénico del  $Cr^{3+}$ . En los tres sensores, la estequiometría metal-ligando fue 1:1.

En una segunda etapa se sintetizaron compositos por anclaje de estos ligandos químicos sobre sílice, alúmina y magnetita, utilizando un proceso de impregnación asistido por microondas. En todos los casos, la actividad antioxidante y sensora de estos compositos fue superior a la observada por los ligandos libres, lo cual se justifica por la interacción química de los ligandos con los soportes.



## **OBJETIVOS**

Seguidamente se detallan los objetivos de este trabajo de tesis.

1. Obtener las moléculas plataforma (vainillina, eugenol, cinamaldehído) que serán utilizadas en la síntesis de moléculas activas con propiedades antioxidantes y/o sensora ante determinados cationes, a partir del residuo de la industria maderera y a partir de biomasa de origen vegetal.
2. Evaluar distintos métodos de extracción para obtener aceites esenciales, de los cuales se aislará su componente mayoritario (eugenol o cinamaldehído dependiendo de la matriz vegetal), de manera de encontrar las mejores condiciones operatorias. Los métodos a aplicar serán: destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, extracción sólido-líquido, extracción asistida por microondas.
3. Evaluar distintas técnicas de aislación del compuesto de interés: vainillina, eugenol, cinamaldehído, para garantizar la obtención del mayor rendimiento de los mismos. Las técnicas a aplicar serán: cromatografía en columna, condensación bisulfítica y extracción química.
4. Sintetizar moléculas activas a partir de las moléculas plataformas aisladas:
  - Mediante reacciones de acoplamiento radicalario para la vainillina y el eugenol.
  - Mediante reacciones de condensación con compuestos nitrogenados para la vainillina y el cinamaldehído.
5. Obtener ligandos químicos con propiedades antioxidantes a partir de las moléculas activas sintetizadas. Evaluar dichas propiedades mediante el método del fosfomolibdeno.
6. Obtener ligandos químicos con propiedades sensoras cromogénicas y/o fluorogénicas a partir de las moléculas activas sintetizadas. Evaluar dichas propiedades mediante espectrometría UV-Vis y de fluorescencia.
7. Sintetizar materiales mesoporosos y nanoparticulados (sílice, alúmina, magnetita) a partir de métodos de referencia, para utilizarlos como soporte de los ligandos químicos obtenidos.

8. A partir de los ligandos químicos y soportes sintetizados previamente, desarrollar materiales compuestos (compositos) que presenten propiedades antioxidantes y/o sensoras de iones contaminantes.
9. Estudiar diversas rutas de anclaje de los ligandos químicos al material de soporte: impregnación a humedad incipiente, fusión, impregnación asistida por microondas.
10. Caracterizar los materiales sintetizados mediante diversas técnicas: espectroscopía de infrarrojo, difracción de rayos X, análisis elemental, microscopía electrónica de transmisión, sortometría, resonancia magnética nuclear, difracción de rayos X a bajo ángulo, espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X, resonancia magnética nuclear.

## **ÍNDICE**

---





## ÍNDICE

### **CAPÍTULO I: Introducción y objetivos**

I.1. Introducción .....	I-3
I.2. Química Supramolecular .....	I-3
I.3. Química Verde .....	I-4
I.4. Biomasa vegetal .....	I-5
I.5. Aceites esenciales.....	I-6
I.6. Valorización de la biomasa vegetal.....	I-7
I.6.1. Vainillina.....	I-8
I.6.2. Eugenol .....	I-10
I.6.3. Cinamaldehído.....	I-11
I.7. Valorización de las moléculas plataforma.....	I-12
I.8. Referencias.....	I-13

### **CAPÍTULO II: Obtención de las moléculas plataforma**

II.1. Introducción.....	II-3
II.2. Preparación de la matriz vegetal .....	II-4
II.3. Obtención de vainillina .....	II-4
II.3.1. Recuperación de la vainillina cruda.....	II-4
II.3.2. Aislamiento de la vainillina cruda .....	II-5
II.4. Obtención de eugenol.....	II-6
II.4.1. Aislación de eugenol.....	II-8
II.5. Obtención de cinamaldehído .....	II-9
II.6. Técnicas de caracterización.....	II-10
II.6.1. Punto de Fusión (PF) .....	II-10
II.6.2. Cromatografía de Capa Delgada (TLC).....	II-10
II.6.3. Cromatografía Gaseosa (GC) .....	II-10
II.6.4. Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa (GC-MS).....	II-11
II.6.5. Espectroscopia de Irradiación Infrarroja (FTIR).....	II-11
II.6.6. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	II-11
II.7. Cálculos de rendimientos.....	II-11
II.8. Resultados .....	II-12
II.8.1. Obtención de vainillina a partir de aserrín .....	II-12
II.8.2. Caracterización química de vainillina.....	II-12
II.8.3. Eugenol aislado del AE de clavo de olor .....	II-12
II.8.4. Eugenol aislado del AE de pimienta de Jamaica.....	II-13
II.8.5. Eugenol aislado de la cáscara de banana .....	II-14

II.8.6. Caracterización química del eugenol.....	II-15
II.8.7. Cinamaldehído aislado del AE de canela.....	II-15
II.8.8. Caracterización química del cinamaldehído .....	II-16
II.9. Conclusiones.....	II-16
II.10. Referencias .....	II-17

### **CAPÍTULO III: Ligandos Químicos**

III.1. Introducción.....	III-3
III.2. Introducción a la química supramolecular .....	III-3
III.3. Sensores químicos.....	III-4
III.4. Sensores fluorescentes.....	III-7
III.4.1. Rendimiento cuántico .....	III-9
III.4.2. Mecanismos de actuación .....	III-10
III.5. Sensores cromogénicos .....	III-13
III.6. Antioxidantes.....	III-14
III.6.1. Estrés oxidativo .....	III-16
III.6.2. Radicales libres.....	III-16
III.7. Conclusión .....	III-17
III.8. Referencias .....	III-17

### **CAPÍTULO IV: Síntesis y caracterización de ligandos químicos**

IV.1. Introducción .....	IV-3
IV.2. Síntesis de las moléculas activas .....	IV-4
IV.2.1. Síntesis de 5,5'- <i>bis</i> -vainillina (BVA) .....	IV-4
IV.2.1.1. Descripción de la síntesis de BVA.....	IV-4
IV.2.2. Síntesis de 5,5'- <i>bis</i> -eugenol (BEG).....	IV-5
IV.2.2.1. Descripción de la síntesis de BEG .....	IV-5
IV.2.3. Reacciones de condensación con compuestos nitrogenados.....	IV-6
IV.2.3.1. Síntesis de nicotino hidrazona de cinamaldehído (HCH).....	IV-7
IV.2.3.1.1. Descripción de la síntesis de HCH.....	IV-7
IV.2.4. Síntesis de las hidrazonas y semicarbazonas de BVA.....	IV-7
IV.2.4.1. Descripción de la síntesis de las hidrazonas y semicarbazonas de BVA ...	IV-8
IV.3. Caracterización de las moléculas activas sintetizadas .....	IV-8
IV.4. Estudio de la actividad antioxidante de las MA .....	IV-15
IV.4.1. Descripción de la evaluación de AAO de las MA.....	IV-16
IV.4.2. Resultados de la evaluación de AAO de las MA .....	IV-16
IV.5. Estudio de propiedades fotoquímicas de las MA .....	IV-18
IV.5.1. Estudio de las MA como sensores cromogénicos .....	IV-18

IV.5.1.1. Selectividad de las MA frente a diferentes cationes .....	IV-21
IV.5.1.2. Cálculo de las constante de complejación .....	IV-23
IV.5.1.3. Límite de detección (LDD).....	IV-32
IV.5.1.4. Estudio por <sup>1</sup> H RMN .....	IV-34
IV.5.2. Estudio de las MA como sensores fluorogénicos .....	IV-35
IV.6. Conclusiones.....	IV-38
IV.7. Referencias.....	IV-38

## **CAPÍTULO V: Síntesis y caracterización de los soportes inorgánicos**

V.1. Introducción.....	V-3
V.2. Materiales mesoporosos .....	V-3
V.2.1. Sílice mesoporosa.....	V-4
V.2.2. Alúmina .....	V-5
V.3. Síntesis de materiales mesoporosos .....	V-5
V.3.1. Síntesis de sílice mesoporosa .....	V-8
V.3.1.1. Descripción de síntesis de la SBA-15.....	V-10
V.3.2. Síntesis de alúmina mesoporosa.....	V-10
V.3.2.1. Descripción de la síntesis de Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> mesoporosa.....	V-11
V.4. Nanomateriales .....	V-11
V.4.1. Magnetita .....	V-12
V.4.1.1. Formación de magnetita por co-precipitación.....	V-14
V.4.1.2. Descripción de la síntesis de magnetita .....	V-16
V.5. Caracterización fisicoquímica de los soportes.....	V-16
V.6. Resultados de la caracterización fisicoquímica .....	V-17
V.6.1. Evaluación de las propiedades texturales .....	V-17
V.6.2. Evaluación de las propiedades estructurales .....	V-20
V.6.3. Evaluación de las propiedades químicas estructurales y superficiales .....	V-22
V.6.3.1. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la SBA-15.....	V-22
V.6.3.2. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la Alúmina .....	V-24
V.6.3.3. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la Magnetita.....	V-25
V.7. Conclusiones.....	V-26
V.8. Referencias .....	V-26

## **CAPÍTULO VI: Ligandos químicos soportados en materiales porosos**

VI.1. Introducción.....	VI-3
VI.2. Anclaje de los soportes sólidos: fundamentos.....	VI-3
VI.2.1. Impregnación.....	VI-3
VI.2.2. Fusión.....	VI-5
VI.2.3. Impregnación asistida por microondas .....	VI-5

VI.3. Descripción experimental de métodos de anclaje de los soportes .....	VI-5
VI.4. Fundamentos de la eficiencia de anclaje (EA) .....	VI-6
VI.4.1. Descripción experimental de la eficiencia de anclaje.....	VI-7
VI.5. Anclaje de ligandos químicos con propiedades antioxidantes .....	VI-7
VI.5.1. Selección del método de anclaje .....	VI-8
VI.5.1.1. Evaluación de las propiedades texturales .....	VI-8
VI.5.1.2. Evaluación de las propiedades estructurales.....	VI-9
VI.5.1.3. Evaluación de la eficiencia de anclaje.....	VI-10
VI.5.1.4. Evaluación de la liberación de BVA y BEG de los compositos .....	VI-11
VI.5.1.5. Evaluación estructural de los materiales .....	VI-13
VI.5.1.6. Actividad antioxidante de los ligandos químicos anclados sobre SBA ....	VI-17
VI.6. Evaluación del uso de diferentes soportes.....	VI-18
VI.7. Anclaje de un ligando con propiedad quimiosensora sobre SBA.....	VI-22
VI.8. Conclusiones.....	VI-25
VI.9. Referencias .....	VI-25

## **CAPÍTULO VII: Conclusiones finales**

VII.1 Conclusiones.....	VII-3
-------------------------	-------

## **CAPÍTULO VIII: Proyecciones**

VIII.1 Proyecciones.....	VIII-3
--------------------------	--------

## **ANEXO A**

A.1. Introducción.....	A-3
A.2. Métodos de extracción .....	A-3
A.2.1. Destilación.....	A-3
A.2.2. Extracción Sólido-Líquido .....	A-5
A.2.3. Extracción Asistida por Microondas.....	A-7
A.3. Técnicas de caracterización .....	A-7
A.3.1. Punto de Fusión (PF) .....	A-7
A.3.2. Cromatografía de Capa Delgada (TLC).....	A-8
A.3.3. Cromatografía en Columna (CC) .....	A-8
A.3.4. Cromatografía Gaseosa (GC) .....	A-9
A.3.5. Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) .....	A-9
A.3.6. Espectroscopia Infrarroja (FTIR) .....	A-10
A.3.7. Espectroscopia UV-Visible .....	A-10
A.3.8. Límite de Detección (LDD) .....	A-11
A.3.9. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	A-12
A.3.10. Difracción de Rayos X.....	A-12
A.3.11. Difracción de Rayos X a bajos ángulos (SAXS).....	A-13
A.3.12. Espectroscopia electrónica de rayos X (XPS).....	A-13

A.4. Referencias .....	A-14
------------------------	------

## **ANEXO B**

B.1. Introducción.....	B-3
B.2. Eugenol aislado del AE de clavo de olor .....	B-3



## ABREVIATURAS

$^{13}\text{C}$ RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
$^1\text{H}$ RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
AAO	Actividad antioxidante
ACN	Acetonitrilo
AcOEt	Acetato de etilo
AE	Aceite esencial
AIES	Autoensamblaje inducido por evaporación de solvente
AM	Alúmina mesoporosa
AO	Antioxidante
BEG	<i>bis</i> -eugenol
BET	Brunauer, Emmet, Teller
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
BJH	Barret-Joyner-Halenda
BVA	<i>bis</i> -vainillina
CH	Cinamaldehído
DAV	Destilación por arrastre de vapor
DI	Diámetro interno
DMSO	Dimetilsulfóxido
E	Eugenol
EAM	Extracción asistida por microondas
EET	Transferencia de energía electrónica
EF	Espectroscopía de Fluorescencia
ESL	Extracción sólido-líquido
EtOH	Etanol
FA	Fase acuosa
FE	Fase estacionaria
FM	Fase móvil
FO	Fase orgánica
FRET	Transferencia de energía de resonancia fluorescente
FTIR	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier
GC	Cromatografía Gaseosa
GC-MS	Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa
HCH	Nicotino hidrazona del cinamaldehído
HD	Hidrodestilación
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
IEP	Punto isoeléctrico de la sílice



LDD	Límite de detección
M	Metal
MA1	( <i>N',N'''E,N',N'''E</i> )- <i>N',N'''</i> -{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}di(nicotino hidrazida)
MA2	5,5'- <i>bis(E)</i> -[2-(benzo[ <i>d</i> ]tiazol-2-il)hidrazonometil]-3,3'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol
MA3	3,3'-dimetoxi-5,5'- <i>bis[(E)</i> -(2-(ftalazina-1-il)hidrazonometil)]-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol
MA4	(2 <i>E</i> ,2' <i>E</i> )-2,2'-{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}bis(hidrazina carboxamida)
MA5	(2 <i>E</i> ,2' <i>E</i> )-2,2'-{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}bis(hidrazina carboximidamida)
MA6	3,3'-dimetoxi-5,5'- <i>bis[(E)</i> -[2-(2-nitrofenil)hidrazono]metil]]-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol
MA7	( <i>N',N'''E,N',N'''E</i> )- <i>N',N'''</i> -{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}di(hidrazida isonicotínica)
MA8	3,3'-dimetoxi-5,5'- <i>bis[(E)</i> -(2-fenilhidrazono)metil]]-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol
MA9	( <i>E</i> )- <i>N'</i> -[( <i>E</i> )-3-penilalilideno]nicotino hidrazida
MFM	Método del fosfomolibdeno
M-L	Metal-ligando
MLCT	Transferencia de carga metal-ligando
MP	Moléculas plataforma
MSD	Desviación estándar cuadrática media
NC	Número de coordinación
NPM	Nanopartículas de magnetita
NPs	Nanopartículas magnéticas
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCT	Transferencia de carga fotoinducida
PET	Transferencia electrónica fotoinducida
PF	Punto de fusión
RL	Radical libre
ROS	Especies reactivas de oxígeno
S/N	Relación señal a ruido
SAXS	Dispersión de rayos X a bajo ángulo
SDE	Extracción por destilación simultánea
SFE	Extracción con fluido supercrítico
SPME	Microextracción en fase sólida
TC	Transferencia de carga
TDE	Transferencia de energía
TE	Transferencia electrónica
TEM	Microscopía Electrónica de Transmisión

TEOS	Tetraetilortosilicato
TICT	Transferencia de carga intramolecular trenzada
TLC	Cromatografía de Capa Delgada
TMOS	Ortosilicato de tetraetilo
V	Vainillina
XPS	Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X
XRD	Difracción de rayos X

## **CAPÍTULO I**

---

### **Introducción**



## I.1 Introducción

Los ligandos químicos, moléculas objeto en este trabajo, fueron sintetizados a partir de compuestos orgánicos provenientes de aceites esenciales de recursos vegetales. Una vez sintetizados los mismos, fueron soportados en materiales nanométricos y mesoporosos. En el presente capítulo se describen los conceptos introductorios relacionados a la química supramolecular; los aceites esenciales, las plantas aromáticas de las que provienen, se citan los datos de producción a nivel mundial y nacional, sus componentes principales, propiedades y posibles rutas de valorización de los mismos.

A continuación, se describen los conceptos generales relacionados al tema de investigación, de manera de guiar la lectura hacia lo que se desarrollará en los sucesivos capítulos.

## I.2. Química Supramolecular

El Dr. Lehn, ganador del premio Nobel en 1987, definió la química supramolecular como la química detrás de la molécula. De esta manera, se definió como supermolécula a una entidad organizada y compleja que se crea a partir de la asociación de dos o más especies químicas unidas por fuerzas intermoleculares<sup>1</sup>. Lo atractivo de este campo, es que implica un diseño, ya sea usando moléculas existentes o sintetizando otras nuevas, para preparar ensamblajes moleculares que tienen cualidades particularmente deseables. Tales cualidades pueden incluir la detección de especies biológicamente importantes en un entorno hospitalario, el monitoreo de agroquímicos en cursos de agua, la liberación controlada de productos farmacéuticos en un paciente o incluso la capacidad de una interacción supramolecular para actuar como un “bit” de información en un chip de computadora química. Un buen ejemplo del impacto de la investigación supramolecular está en el diseño y síntesis de moléculas que responden a un analito particular. Para dirigirse exitosamente a una especie química específica, es necesario que coincida su tamaño y sus preferencias de unión con la molécula receptora, la cual unirá el analito de interés con preferencia respecto a otros<sup>2</sup>.

La naturaleza, tal como la conocemos, tiene la capacidad de autoensamblar precursores moleculares pequeños en biomoléculas mucho más complejas. Estos ensamblajes supramoleculares son muy importantes para los procesos biológicos<sup>3</sup>. Dichas estructuras pueden permanecer unidas de diversas maneras, por ejemplo, mediante enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o enlaces coordinados. Es por ello que el principal desafío de la química supramolecular es el de dilucidar y conseguir el control del

enlace intermolecular<sup>4</sup>. En el desarrollo de ésta tesis se aplica dicha disciplina en la construcción de moléculas soportadas con capacidades tales como sensores químicos y antioxidantes<sup>5-8</sup>.

### I.3. Química Verde

Hace tiempo se reconoce que existe una creciente necesidad de procesos más aceptables para el medio ambiente en la industria química. Esta tendencia hacia lo que se conoce como Química Verde o Tecnología Sostenible requiere un cambio de paradigma de los conceptos tradicionales de eficiencia de procesos, que se centran principalmente en el rendimiento químico, a uno que asigna valor económico a la eliminación de residuos y evita el uso de sustancias tóxicas y/o peligrosas. Así, el término Química Verde se define como la química que utiliza de manera eficiente las materias primas preferiblemente renovables, elimina los desechos y evita el uso de reactivos y solventes tóxicos y/o peligrosos en la fabricación y aplicación de productos químicos. Nació alrededor del año 1990, pero fue en 1992, con la invención del factor E por Roger Sheldon, que por primera vez los químicos tuvieron una métrica para evaluar el impacto ambiental de sus procesos. El factor E se definió como la relación de masa de residuo respecto a la masa del producto deseado (Ecuación I.1)<sup>9</sup>.

$$\text{Factor E} = \frac{\text{masa de residuo}}{\text{masa de producto}} \quad (\text{Ecuación I.1})$$

El término alternativo, Tecnologías Sostenibles, actualmente favorecido por la industria química se definió como la satisfacción de las necesidades de la generación actual sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras<sup>9</sup>.

El concepto de Química Verde se materializa en los 12 principios establecidos:

- Prevención de residuos en lugar de remediación.
- Eficiencia atómica.
- Productos químicos menos peligrosos/tóxicos.
- Diseño de productos más seguros.
- Disolventes y auxiliares inocuos.
- Disminución del consumo energético.
- Utilización de materias primas renovables.
- Síntesis más cortas (evitar derivatización).
- Reactivos catalíticos en lugar de estequiométricos.

- Diseño de productos biodegradables.
- Metodologías analíticas para la prevención de la contaminación.
- Procesos inherentemente más seguros<sup>10</sup>.

#### **I.4. Biomasa vegetal**

En concordancia con los principios de la Química Verde, los compuestos derivados de productos naturales provenientes de la biomasa son candidatos atractivos para su transformación en moléculas activas.

Se entiende por biomasa a un conjunto de materia orgánica, plantas terrestres y acuáticas junto con sus residuos o derivados y subproductos de origen animal, que pueden ser aprovechados para obtener energía en distintas presentaciones a través de distintos procesos tecnológicos. Actualmente, se considera biomasa a un grupo de productos energéticos y materias primas de tipo renovable que se originan a partir de materia orgánica formada por vía biológica. Siendo la biomasa vegetal aquella biomasa de origen vegetal.

La misma se encuentra en abundancia en Argentina y especialmente en Santa Fe, a partir de residuos de recursos agrícolas y forestales tales como cereales, madera y frutos. El polo más productivo de harina y aceite de soja del país se ubica en la provincia de Santa Fe, lo cual genera una gran producción de biomasa vegetal de descarte junto con los provenientes de las industrias madereras y citro-hortícolas, de gran desarrollo regional. Por estos motivos, existe un interés creciente en el reciclaje de biomásas de origen agroindustrial a través de los procesos de extracción de los componentes activos procedentes de tales recursos renovables y su aplicación potencial en nuevos usos.

Los mayores componentes activos de los residuos vegetales están formados por polímeros tales como celulosa, hemicelulosa, lignina, peptina y moléculas simples con carácter estructural alifático y/o aromático conteniendo las funciones alcohol, aldehído, cetona y ácido carboxílico. Lo expresado motiva a buscar nuevas aplicaciones para transformar los desechos generados en estos procesamientos e industrias en productos de mayor valor agregado. En este contexto, en la presente tesis se estudió, desde una aproximación basada en química orgánica, el desarrollo de nuevos materiales funcionales a partir de moléculas simples derivadas de la biomasa vegetal residual local.

Los productos naturales presentan las ventajas de ser biodegradables, biocompatibles, de fácil disponibilidad y extracción. En este sentido, se extraen compuestos de diferentes

tipos de biomasa vegetal a saber, aserrín, canela, clavo de olor, pimienta de Jamaica, cáscara de banana.

La biomasa cubre un amplio espectro de materiales orgánicos, y por tal motivo, es considerada una mezcla compleja de polímeros de carbohidratos conocidos como celulosa, hemicelulosa, lignina y pequeñas cantidades de otras sustancias contenidas en la pared celular de las plantas<sup>11,12</sup>.

La calidad de los extractos naturales, relacionada con la composición y la actividad biológica, está fuertemente asociada al proceso de extracción, el solvente utilizado, las características de la matriz vegetal, su condición de almacenamiento y el tratamiento previo aplicado. Las técnicas de extracción y los disolventes utilizados deben elegirse cuidadosamente para optimizar el equilibrio entre maximizar los rendimientos y la selectividad<sup>13</sup>.

### **I.5. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales (AE) son una mezcla líquida de compuestos volátiles obtenidos preferentemente de plantas aromáticas<sup>14</sup>, los cuales son muy complejos y se caracterizan por tener dos o tres componentes mayoritarios de relativamente altas concentraciones en relación a otros componentes presentes en cantidades traza<sup>15</sup>. Los AE están compuestos por una mezcla de terpenos, terpenoides (principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos), alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, cetonas, óxidos, fenoles, que determinan el aroma característico de la planta<sup>16</sup>. Estos componentes son insolubles en agua, y pueden ser degradados fácilmente por la luz, el oxígeno, altas temperaturas y pH extremos<sup>17,18</sup>.

En las plantas, los AE están presentes en diferentes áreas, tales como, hojas, cortezas, tallos, raíces, flores y frutos<sup>19</sup>. La presencia de terpenoides en las plantas les proporciona un método de defensa contra plagas de insectos herbívoros y hongos patógenos<sup>20</sup>.

Las plantas aromáticas y sus aceites esenciales han sido usados desde la antigüedad por sus olores y sabores, como condimentos o especias; en medicina, como agentes antimicrobianos e insecticidas; para repeler insectos y para proteger productos almacenados<sup>20</sup>. Actualmente han ganado un renovado interés en varias áreas, tales como en la industria cosmética, alimenticia, farmacéutica y en aromaterapia. También se utilizan en la industria textil para otorgar fragancias más duraderas. Como productos naturales, tienen características fisicoquímicas con alto valor agregado<sup>21-24</sup>. En especial, es de destacar el poder antioxidante que presentan los AE extraídos de plantas aromáticas<sup>17</sup>.

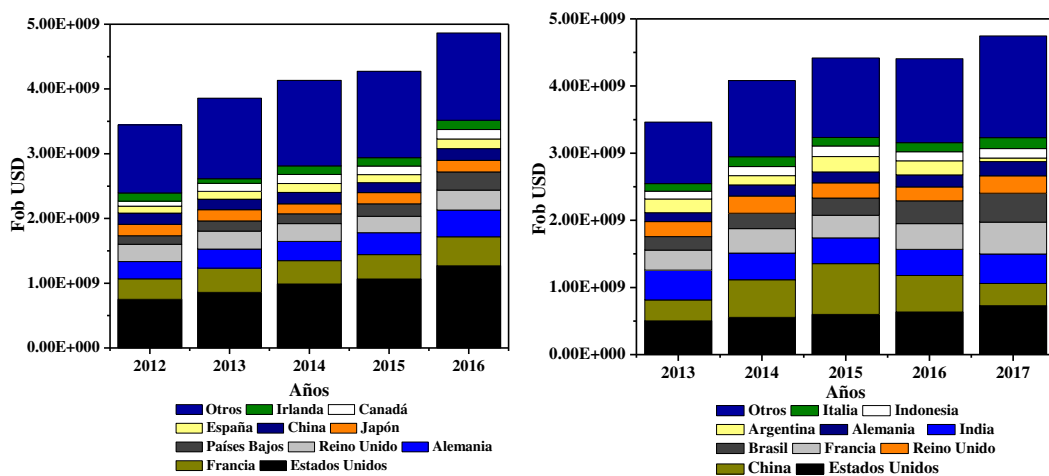


Las tecnologías tradicionales relacionadas con el procesamiento del AE son de gran importancia y aún se utilizan en muchas partes del mundo. La hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, la maceración, extracción con solventes y el enfleurage son los métodos tradicionales más comúnmente utilizados. Entre estos métodos, el método económico más popular para extraer y aislar la fracción valiosa es la destilación por arrastre de vapor. Con el avance tecnológico, se han desarrollado nuevas técnicas que no necesariamente se usan ampliamente para la producción comercial de aceites esenciales, pero se consideran valiosas en ciertas situaciones, como la producción de aceites esenciales costosos en estado natural sin ninguna alteración de sus componentes termosensibles. Algunas de estas técnicas son la extracción con fluido supercrítico (SFE) y la extracción asistida por microondas<sup>25</sup>.

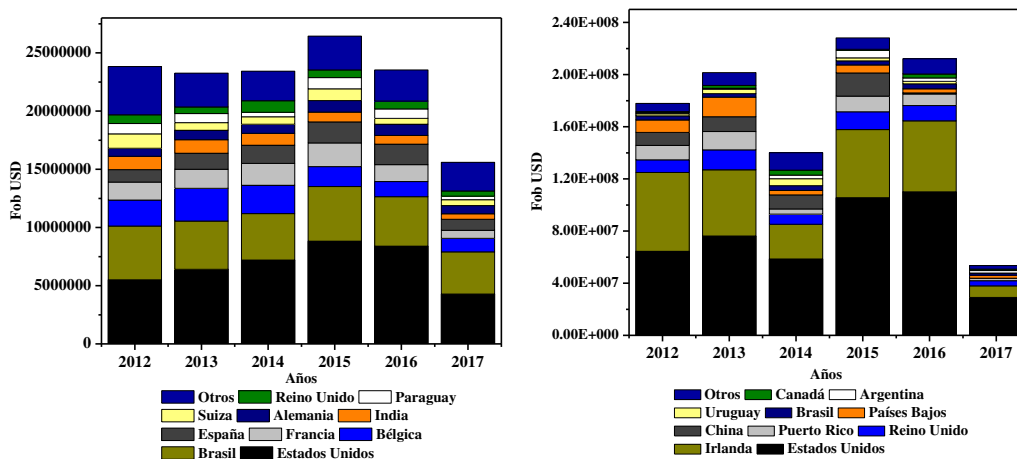
En la Figura I.1, se muestran los datos de importación y exportación mundial de AE. La mayor importación de AE en los últimos 4 años fue por Estados Unidos por un valor 1.300 millones de USD. Mientras que la mayor exportación también fue por Estados Unidos (729 millones de USD), siendo la de Argentina de 530 millones de USD. Además, Argentina exportó en el 2017 aceites esenciales por un valor 54 millones de USD e importó por 16 millones de USD (Figura I.2). Estos datos reflejan que los AE son fuentes naturales altamente consumidas a nivel mundial, y que Argentina es un gran productor de los mismos<sup>26</sup>.

## I.6. Valorización de la biomasa vegetal

Como se describió previamente, la biomasa vegetal es fuente de diferentes moléculas orgánicas, las cuales pueden aislarse y ser utilizadas para obtener productos de mayor valor



**Figura I.1. Izquierda:** importación; **Derecha:** exportación mundial de AE.



**Figura I.2. Izquierda:** importación; **Derecha:** exportación de AE en Argentina.

agregado. En esta tesis, se seleccionaron diferentes moléculas simples derivadas de la biomasa vegetal, las cuales son: vainillina, eugenol y cinamaldehído. Estas moléculas simples serán denominadas moléculas plataforma (MP) y a continuación se describen sus propiedades químicas, origen, métodos de extracción y demás datos importantes a tener en cuenta para considerar su importancia como moléculas plataforma, para el desarrollo de los ligandos que se describen en los siguientes capítulos.

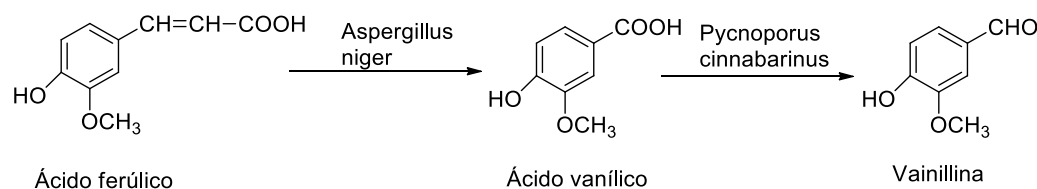
### I.6.1. Vainillina

La vainillina, cuyo nombre IUPAC es 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído, es un sólido blanco o ligeramente amarillento, generalmente de forma de agujas. Su masa molar es de 152,15 g/mol; presenta un punto de fusión de 80 °C y un punto de ebullición de 285 °C. La planta de vainillina (*Vanilla planifolia*) se cultiva en áreas tropicales y subtropicales<sup>27</sup> (Figura I.3), cuyo componente mayoritario es la vainillina (V). La vainillina se encuentra mayormente en las vainas de las flores de la planta<sup>28</sup>, y en menor proporción en la remolacha azucarera, cáscara de papa y en la canela<sup>29</sup>. También está presente en la lignina, cuya principal fuente es la industria de pulpa y papel<sup>30,31</sup>. Es uno de los saborizantes más utilizados en confitería, bebidas, industrias de helados, entre otras industrias alimenticias, así como en la industria cosmética por su fragancia<sup>32</sup>. También se usa como intermediario químico en la producción de productos farmacéuticos y química fina, tal como biocidas, debido a su carácter fenólico<sup>33,34</sup>. Este grupo fenólico le otorga también actividad antioxidante<sup>35,36</sup>.



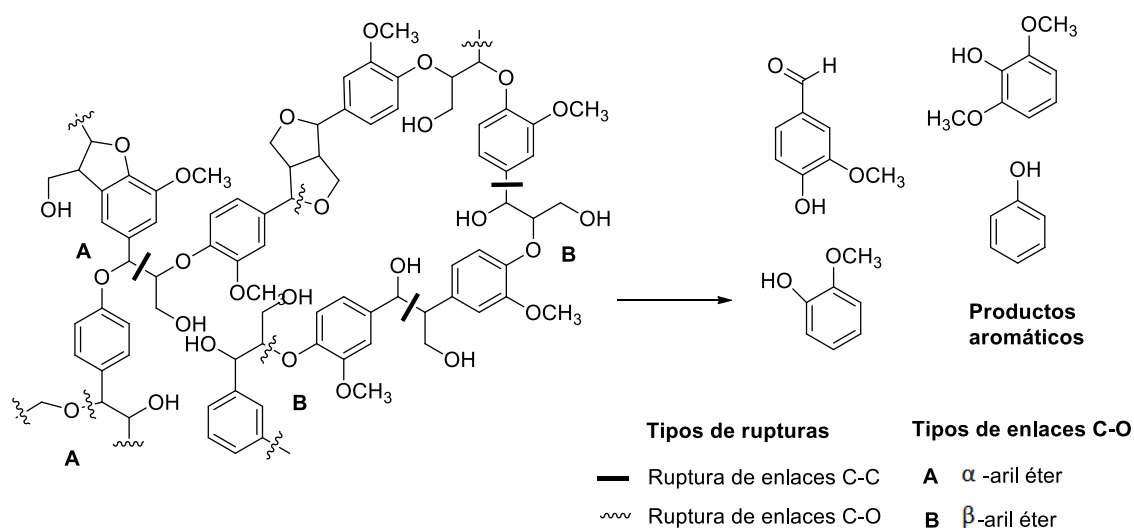
**Figura I.3. Izquierda:** representación estructural de la molécula de vainillina;  
**Derecha:** flor correspondiente a la planta de vainillina.

A pesar de que anualmente se producen más de 12000 toneladas de vainillina, solo el 1 % se obtiene de su fuente natural<sup>27,37,38</sup>. En la actualidad, la producción por esta vía no satisface la demanda mundial por lo que se explotan otras vías tales como la síntesis química a partir del guayacol o lignina, lo cual conduce a un producto más barato pero de menor calidad. También por producción biotecnológica a partir de sustratos seleccionados como por ejemplo el ácido ferúlico, el cual es un compuesto fenólico que se puede obtener de subproductos agroindustriales tal como del salvado de trigo<sup>39</sup>. Un ejemplo de ellos es la utilización de la cepa *Aspergillus niger* para convertir el ácido ferúlico en ácido vanílico, con posterior reducción a vainillina por la cepa *Pycnoporus cinnabarinus*<sup>40</sup>, cuyo esquema de síntesis se presenta en la Esquema I.1.



**Esquema I.1.** Proceso de dos pasos para obtener vainillina a partir de ácido ferúlico utilizando los hongos filamentosos *Aspergillus niger* y *Pycnoporus cinnabarinus*.

Otras alternativas de síntesis de vainillina son la oxidación alcalina del bagazo de caña de azúcar<sup>41</sup> y el tratamiento térmico de la lignina<sup>42</sup>. En relación a la lignina, ésta representa una fuente renovable y potencialmente valiosa para la obtención de compuestos químicos fundamentalmente de tipo aromáticos. Los enlaces tipo éter presentes en su estructura conectan los diferentes monómeros formados por unidades ácidos y alcoholes fenilpropílicos, desempeñando un papel fundamental en el mecanismo de ruptura pirolítica. Los enlaces éter más comunes encontrados son del tipo  $\alpha$ -O-4,  $\beta$ -O-4 y  $\alpha$ -hidroxi- $\beta$ -O-4<sup>43</sup>. Las principales rupturas que se producen durante el tratamiento térmico de la lignina se esquematizan en la Esquema I.2.



**Esquema I.2.** Principales rupturas de enlaces en la lignina durante su despolimerización y conversión en monómeros de tipo aromático.

### I.6.2. Eugenol

El eugenol (E) es un compuesto fenólico, que es específicamente un miembro de los compuestos de la clase alilbencenos<sup>44</sup>. El eugenol cuyo nombre IUPAC es 4-alil-2-metoxifenol, es un líquido oleoso de color amarillo pálido, cuya masa molar es 164,20 g/mol, con punto de fusión de -7 °C y punto de ebullición 254 °C (Figura I.4). Es también un agente saborizante importante en cosmética y productos alimenticios<sup>45</sup>. Interesa debido a sus propiedades antioxidantes<sup>46</sup> y antimicrobianas<sup>47</sup>. Otros compuestos principales presentes en el AE de clavo de olor (*Eugenia caryophyllata*) son el acetato de eugenol y el β-cariofileno.

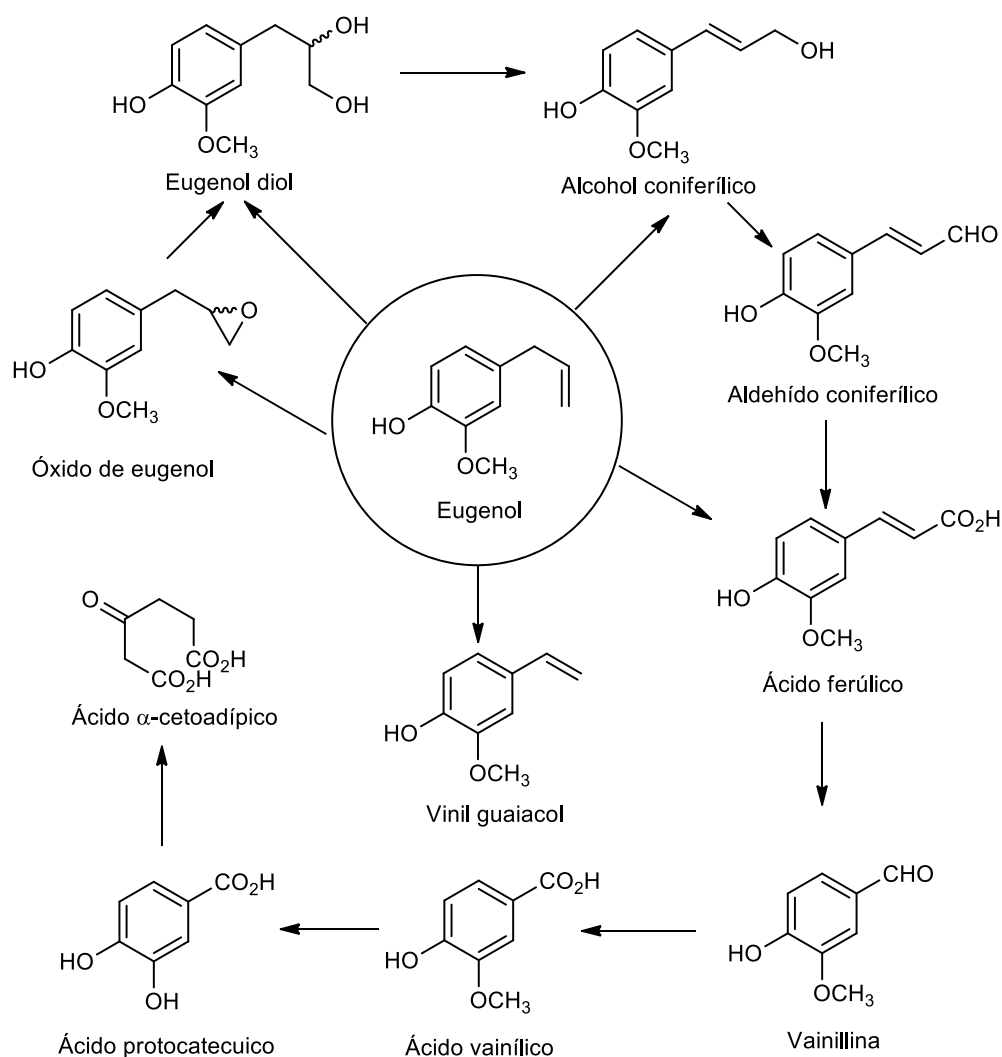
El eugenol es una fragancia familiar en muchos consultorios dentales, ya que es a menudo utilizado en odontología como antiséptico y anestésico local. Es un aceite pálido de color amarillo con un aroma cálido, picante, pero agradable. La concentración de E en el aceite de clavo puede llegar a ser hasta del 90 %, dependiendo de la especie. También se



**Figura I.4.** Izquierda: representación estructural de la molécula de eugenol; Derecha, botones florales del clavo olor.

encuentra en las hojas de laurel, la pimienta de Jamaica, la albahaca, y la canela pero en concentraciones más bajas respecto a la encontrada en el clavo de olor<sup>29,48,49</sup>.

El eugenol se obtiene principalmente del clavo de olor mediante la aplicación de diferentes técnicas de extracción<sup>50,51</sup>. Desde un punto de vista químico, se ha descrito al E como uno de los materiales de partida más adecuados para la síntesis total de productos naturales complejos, como se muestra en el Esquema I.3.



**Esquema I.3.** Transformaciones químicas del eugenol.

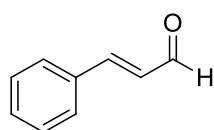
### I.6.3. Cinamaldehído

El cinamaldehído (C) cuyo nombre IUPAC es 3-fenil-2-propenal, es un líquido oleoso cuya tonalidad varía de amarillo claro a amarillo verdoso, presenta olor a canela con sabor dulce (Figura I.5). Su masa molar es 132,16 g/mol, con un punto de fusión de  $-7,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y punto de ebullición  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este aldehído se clasifica dentro de los arilpropanoides<sup>52</sup>. Está

formado por un grupo fenilo enlazado a un aldehído insaturado. De forma natural, existe solo en forma de trans-cinamaldehído.

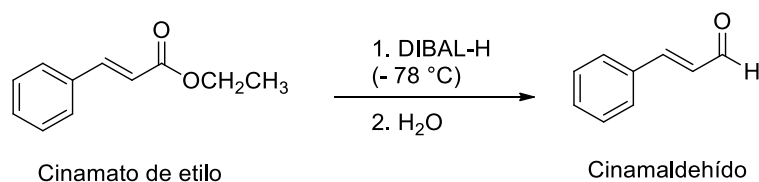
Desde hace mucho tiempo, se ha utilizado como agente saborizante en chicles, helados, dulces, bebidas y dulces. Además, se ha utilizado ampliamente para dar un sabor de canela a productos médicos, cosméticos y perfumes<sup>53</sup>.

El cinamaldehído es el componente principal de los aceites esenciales de la canela (alrededor de un 80 %), el cual se encuentra junto con el ácido cinámico, cinamato y eugenol presentes en menores cantidades<sup>54,55</sup>. El cinamaldehído también se encuentra naturalmente en arándanos<sup>56</sup>. Su AE es un líquido oleoso amarillento. Se usa para impartir sabor a los alimentos, bebidas, medicamentos, cosméticos, perfumes<sup>57</sup>, en detergentes y productos de limpieza para el hogar, y en perspectiva industrial es un material de alto volumen de producción, con un costo estimado de consumo de 1000 toneladas métricas por año<sup>54</sup>. Además tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes<sup>53,58</sup>.



**Figura I.5. Izquierda:** representación estructural de la molécula de cinamaldehído;  
**Derecha,** corteza y hojas del árbol de canela.

El cinamaldehído se sintetiza comúnmente en uno o más pasos mediante la reacción de Wittig, condensación aldólica cruzada<sup>59</sup>, o por reducción de ésteres mediante el hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H), Esquema I.4<sup>60</sup>. Otra alternativa es la obtención del AE de canela del árbol mediante distintos métodos de extracción y su posterior aislación<sup>61,62</sup>.



**Esquema I.4.** Reducción de ésteres mediante DIBAL-H.

## I.7. Valorización de las moléculas plataforma

A lo largo del tiempo, se han aislado y caracterizado miles de sustancias químicas pertenecientes a diferentes familias de metabolitos secundarios tales como alcaloides,

terpenoides, esteroides, péptidos, entre otros, según sus características estructurales<sup>63</sup>. Sin embargo, continúan siendo una fuente invaluable de estructuras activas novedosas con amplias posibilidades de expansión en cuanto a su uso como materias primas<sup>64</sup>.

El hecho de que la vainillina, el eugenol y el cinamaldehído deriven de productos naturales, con la posibilidad de que sean biodegradables y sus propiedades antioxidantes, los convierte en materiales de partida interesantes para la síntesis de moléculas activas tales con propiedades antioxidantes y de sensores químicos de contaminantes, en estado libre y soportados sobre sistemas sólidos y/o particulados.

El uso de estos compuestos que contienen grupos carbonílicos (como es el caso de la vainillina y el cinamaldehído) o un grupo potencialmente transformable en éste último (eugenol) permite que sean utilizadas como moléculas plataforma para obtener productos de mayor valor agregado. En especial estos compuestos son de interés en la región, debido a que no existen antecedentes bibliográficos que reporten el desarrollo de estos sistemas de interés en el país. En los capítulos posteriores serán presentados los datos recopilados sobre el desarrollo de estos sistemas químicos compuestos.

## I.9. Referencias

1. Ariga, K., Kunitake, T. *Supramolecular Chemistry — Fundamentals and Applications*, Springer, 2006.
2. Cragg, P. J. *A Practical Guide to Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, 2005.
3. Wu, J., Kwon, B., Liu, W., Anslyn, E. V., Wang, P., Kim, J. S. *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 7893–7943.
4. Lehn, J. *Angew. Chemie Int. Ed. English*, 1988, **27**, 89–112.
5. Thakura, A., Bhatta, S. R., Mondal, B., Kakash, D., Chawla, P. *Sensors Actuators B. Chem.*, 2018, **267**, 617–626.
6. Lo-Presti, M., El-Sayed, S., Martínez-Mañez, R., Costero, A. M., Gil, S., Parra, M., Sancenón, F. *New J. Chem.*, 2016, **11**, 14–17.
7. He, Y., Guo, J., Yang, J., Liu, H., Liu, Y., Zhai, Q., Shen, Q. *Polyhedron*, 2015, **99**, 156–169.
8. Liu, J., Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 12298–12305.
9. Sheldon, R. A., Arends, I., Hanefeld, U. *Green Chemistry and Catalysis*, Wiley-VCH, 2007.
10. Serrano, C. D. *Educ. Química*, 2009, 412–420.
11. Bustamante García, V., Carrillo Parra, A., Prieto Ruíz, J. Á., Corral-Rivas, J. J., Hernández Díaz, J. C. *Rev. Mex. ciencias For.*, 2016, **7**, 5–23.
12. Manals-Cutiño, E. M., Salas-Tort, D., Penedo-Medina, M. *Tecnol. Química*, 2018, **38**, 198–213.
13. Andrade, K. S., Poncelet, D., Ferreira, S. R. S. *J. Food Eng.*, 2017, **204**, 38–45.
14. Amorati, R., Foti, M. C., Valgimigli, L. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 10835–10847.
15. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46**, 446–475.
16. Ali, B., Al-wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., Anwar, F. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2015, **5**, 1–11.
17. Kavooosi, G., Derakhshan, M., Salehi, M., Rahmati, L. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*,

- 2018, **45**, 418–425.
18. Jemaa, M. Ben, Falleh, H., Serairi, R., Neves, M. A., Snoussi, M., Isoda, H., Nakajima, M., Ksourri, R. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2018, **45**, 92–97.
  19. Calo, J. R., Crandall, P. G., Bryan, C. A. O., Ricke, S. C. *Food Control*, 2015, **54**, 111–119.
  20. Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S. *For. Ecol. Manage.*, 2008, **256**, 2166–2174.
  21. Asbahani, A. El, Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., Elaissari, A., Lyon, C. B. *Int. J. Pharm.*, 2015, **483**, 220–243.
  22. Burt, S. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **94**, 223–253.
  23. Cerutti, M., Neumayer, F. *Invenio*, 2004, **7**, 149–155.
  24. Chamorro, E. R., Zambón, S. N., Morales, W. G., Sequeira, A. F., Velasco, G. A. *Gas Chromatogr. Plant Sci. Wine Technol. Toxicol. Some Specif. Appl.*, 18.
  25. Kamaliroosta, L., Gharachorloo, M., Kamaliroosta, Z., H, A. Z. K. *J. Med. Plants Res.*, 2012, **6**, 609–614.
  26. Comex Comex Trade Nosis. (accessed .
  27. Dong, Z., Gu, F., Xu, F., Wang, Q. *Food Chem.*, 2014, **149**, 54–61.
  28. Boddeker, K. W., Gatfield, I. L., Jähnig, J., Schorm, C. *J. Memb. Sci.*, 1997, **137**, 155–158.
  29. Klejdus, B., Kovácik, J. *Ind. Crop. Prod.*, 2016, **83**, 774–780.
  30. Araújo, J. D. P., Grande, C. A., Rodrigues, A. E. *Chem. Eng. Res. Des.*, 2010, **88**, 1024–1032.
  31. Borges da Silva, E. A., Zabkova, M., Araújo, J. D., Cateto, C. A., Barreiro, M. F., Belgacem, M. N., Rodrigues, A. E. *Chem. Eng. Res. Des.*, 2009, **87**, 1276–1292.
  32. Jadhav, D., Rekha, B. N., Gogate, P. R., Rathod, V. K. *J. Food Eng.*, 2009, **93**, 421–426.
  33. Cláudio, A. F. M., Freire, M. G., Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Coutinho, J. A. P. *Sep. Purif. Technol.*, 2010, **75**, 39–47.
  34. Rattanapitigorn, P., Arakawa, M., Tsuru, M. *Int. J. Aromather.*, 2006, **16**, 193–198.
  35. Shakeel, F., Haq, N., Siddiqui, N. A. *FOOD Chem.*, 2015, **180**, 244–248.
  36. Mourtzinos, I., Konteles, S., Kalogeropoulos, N., Karathanos, V. T. *Food Chem.*, 2009, **114**, 791–797.
  37. Ruiz-Terán, F., Perez-Amador, I., López-Munguía, A. *J. Agric. Chem. Soc*, 2001, **49**, 5207–5209.
  38. Barghini, P., Gioia, D. Di, Fava, F., Ruzzi, M. *Microb. Cell Fact.*, 2007, **11**, 1–11.
  39. Gioia, D. Di, Sciubba, L., Ruzzi, M., Fava, F. *Wiley InterSci.*, 2009, **84**, 1441–1448.
  40. Walton, N. J., Narbad, A., Faulds, C. B., Williamson, G. *Food Biotechnol.*, 2000, 490–496.
  41. Cobos, D. D., Solís, J. R., Caero, L. C., Nochebuena, E. R. *Tecnol. Cienc. Ed.*, 1990, **6**, 32–38.
  42. Constant, S., Robitzer, M., Quignard, F., Renzo, F. Di *Catal. Today*, 2012, **189**, 123–128.
  43. Chávez-Sifontes, M., Domine, M. E. *Av. en Ciencias e Ing.*, 2013, **4**, 15–46.
  44. Kaufman, T. S. *J. Brazilian Chem. Soc.*, 2015, **26**, 1055–1085.
  45. Geng, Y., Liu, J., Lv, R., Yuan, J., Lin, Y., Wang, X. *Sep. Purif. Technol.*, 2007, **57**, 237–241.
  46. Ogata, M., Hoshi, M., Shiro, U., Toyoshige, E. *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, **48**, 1467–1469.
  47. Park, T., Papaefthymiou, G. C., Viescas, A. J., Moodenbaugh, A. R., Wong, S. S. 2007.
  48. Lv, J., Huang, H., Yu, L., Whent, M., Niu, Y., Shi, H., Wang, T. T. Y., Luthria, D., Charles, D., Lucy, L. *Food Chem.*, 2012, **132**, 1442–1450.
  49. Lv, J., Huang, H., Yu, L., Whent, M., Niu, Y., Shi, H., Wang, T. T. Y., Luthria, D., Charles, D., Lucy, L. *FOOD Chem.*, 2012, **132**, 1442–1450.
  50. Wenqiang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., Shaokun, T., Can, Q. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1558–1564.
  51. Lee, K., Shibamoto, T. 2001, **74**, 443–448.
  52. Singh, G., Maurya, S., P, M., Catalan, C. A. N. *Food Chem.*, 2007, **45**, 1650–1661.
  53. Shreaz, S., Wani, W. A., Behbehani, J. M., Raja, V., Karched, M., Irshad, M., Kar, M., Ali, I., Siddiqi, W. A., Ting, L. *Fitoterapia*, 2016, **112**, 116–131.
  54. Autelitano, A., Minassi, A., Pagani, A., Tagliatalata-scafati, O., Appendino, G., Farmacia,



- D., Federico, N., Montesano, V. *Acta Pharm. Sin. B*, 2017, **7**, 523–526.
55. Li, Y., Kong, D., Wu, H. *Ind. Crop. Prod.*, 2013, **41**, 269–278.
56. Hancı, D., Altun, H., Cetinkaya, E. A., Muluk, N. B., Cengiz, B. P., Cingi, C. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 2016, **84**, 81–87.
57. Hooth, M. J., Sills, R. C., Burka, L. T., Haseman, J. K., Witt, K. L., Orzech, D. P., Fuciarelli, A. F., Graves, S. W., Johnson, J. D., Bucher, J. R. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, **42**, 1757–1768.
58. Xie, Y., Huang, Q., Wang, Z., Cao, H., Zhang, D. *Ind. Crop. Prod.*, 2017, **97**, 388–394.
59. Nordqvist, A., Bj, C., Andaloussi, M., Jansson, A. M., Mowbray, S. L., Karl, A., Larhed, M. *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 8986–8998.
60. Wade, L. G. *Organic Chemistry*, Pearson, eighth., 2013.
61. Sun, L., Liu, L., Li, J., Lv, Y., Zong, S., Zhou, J., Wang, Z., Kou, J., Xiao, W. *J. Ethnopharmacol.*, 2017, **206**, 107–114.
62. Muhammad, D. R. A., Praseptiangga, D., Van de Walle, D., Dewettinck, K. *Food Chem.*, 2017, **231**, 356–364.
63. Thomson, R. H., Ed. *The Chemistry of Natural Products*, Springer Science+Business Media Dordrecht, Second Edi., 1993.
64. Pomilio, A. B. *bioquímica Clínica*, 2012, **46**, 73–82.



## **CAPÍTULO II**

---

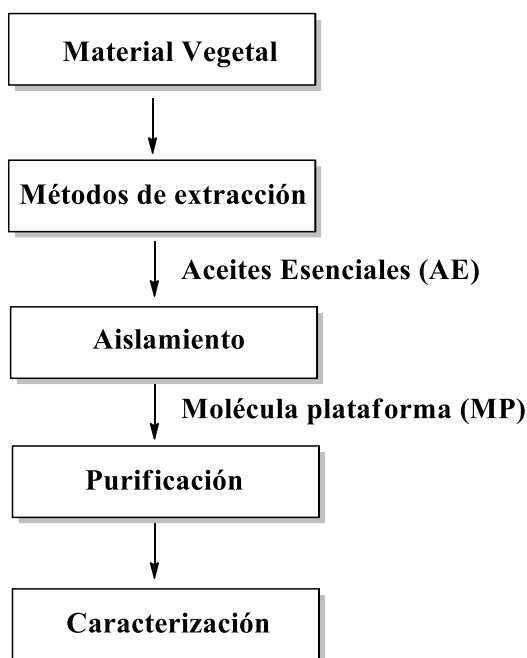
### **Obtención de las moléculas plataforma**



## II.1. Introducción

En este capítulo se describen los métodos aplicados para obtener las moléculas de inicio, que fueron utilizadas en la síntesis de los antioxidantes y los sensores químicos. Estas moléculas de inicio son vainillina, eugenol y cinamaldehído; y como se dijo previamente se denominaran moléculas plataforma (MP).

En la Esquema II.1 se esquematiza de forma general los pasos necesarios para obtener estos compuestos a partir de diversas matrices vegetales, cuyas etapas son: a) extracción de los aceites esenciales; b) aislamiento del compuesto constituyente mayoritario; c) purificación y caracterización de las moléculas plataforma.



**Esquema II.1.** Etapas para la obtención de las moléculas plataforma.

Se aclara que la obtención de los aceites esenciales se realizó por métodos de extracción convencionales y no convencionales. Dentro de los métodos convencionales se utilizó: destilación por arrastre de vapor (DAV), hidrodestilación (HD), extracción sólido-líquido (ESL); mientras que el método no convencional evaluado fue la extracción asistida por microondas (EAM).

Se detallará a continuación el método aplicado según la molécula plataforma deseada a ser aislada. Los fundamentos de dichas técnicas y los procesos generales de funcionamiento de los equipos utilizados para llevar a cabo estas extracciones se describen en el Anexo A.

De esta manera, en la primera parte de este capítulo se describe la metodología implementada en la obtención de las MP, para luego detallar los resultados y conclusiones obtenidos.

## **II.2. Preparación de la matriz vegetal**

Las MP serán aisladas de diferentes matrices vegetales. En especial como fuente de vainillina se seleccionó aserrín de cedro; como fuente de eugenol se seleccionaron: clavo de olor, pimienta de Jamaica, cáscara de banana y canela; mientras que como fuente de cinamaldehído se utilizó canela. Para cada especie, las matrices vegetales utilizadas correspondieron a un mismo origen de procedencia para disminuir así la diferencia en los resultados debido a las características climáticas, de siembra, recolección, especie, entre otros factores. Al aserrín no se le realizó ningún tratamiento previo; mientras que el resto de las matrices vegetales se secaron en estufa a 40 °C hasta peso constante, se molieron en mortero y se almacenaron en bolsas de plástico protegidas de la luz.

## **II.3. Obtención de vainillina**

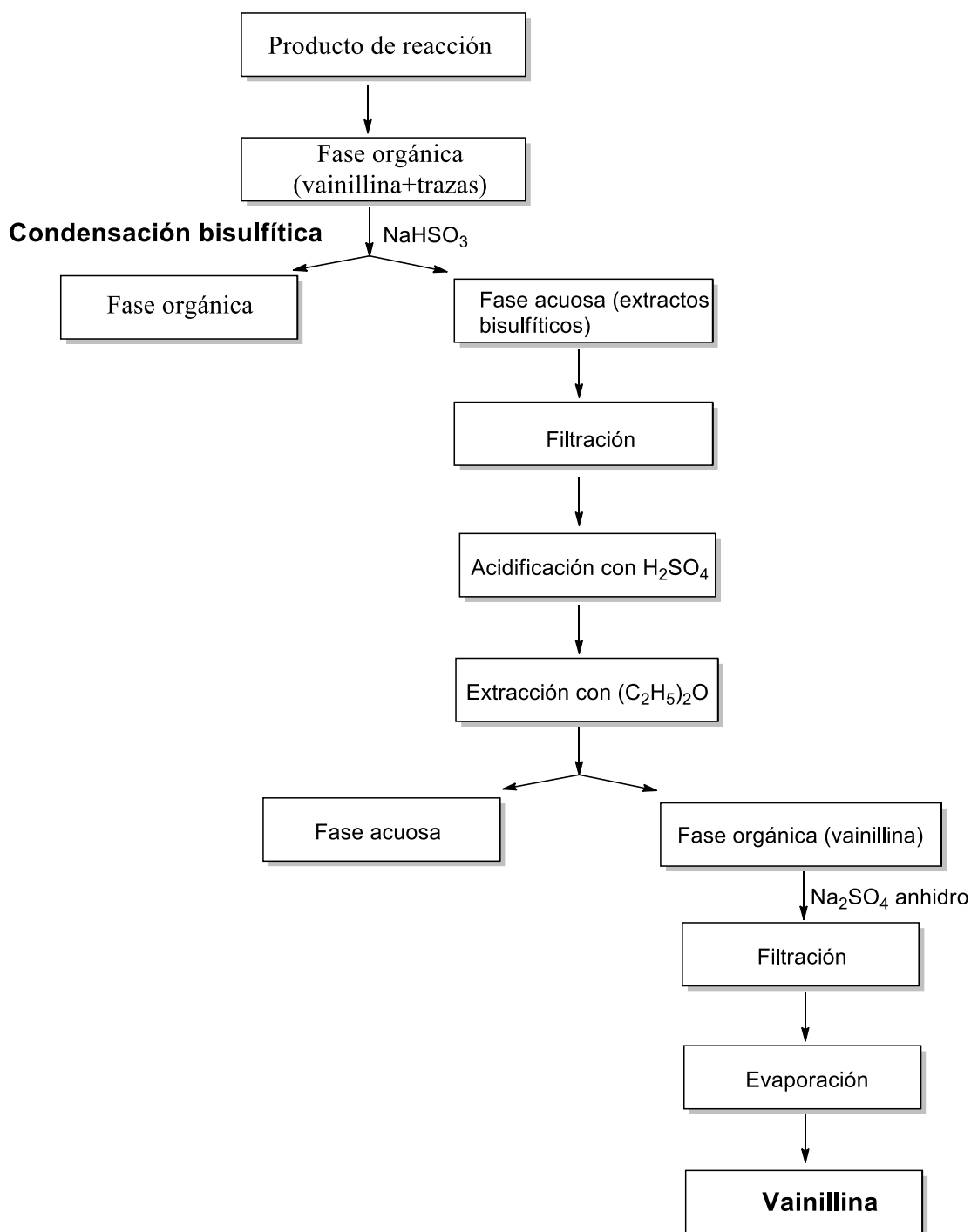
A continuación se detalla la metodología aplicada para la obtención de vainillina cruda.

### **II.3.1. Recuperación de la vainillina cruda**

La vainillina (V) cruda fue obtenida a partir de aserrín de cedro siguiendo la metodología propuesta por Lampman et al.<sup>1</sup>, la cual consiste en una hidrodestilación modificada. El aserrín se calienta con una solución de dioxano en un medio básico a reflujo. Bajo las condiciones de reacción, las ligninas presentes en la madera son degradadas de las estructuras poliméricas en las que se encuentran, a compuestos de menor masa molecular por reacciones de condensación aldólica reversa y reacciones de eliminación. Los compuestos de baja masa molecular luego son oxidados a vainillina. Si bien otros aldehídos son producidos durante la recuperación de V, estos son removidos durante la purificación.

La técnica consistió en colocar en un balón 50 g de KOH, 20 g de aserrín y 500 mL de solución HCl-Dioxano:Agua (9:1). La reacción se realizó a reflujo durante 2 h. A la mezcla de reacción obtenida se la diluyó con 450 mL de agua destilada, y se acidificó con HCl diluido hasta alcanzar un pH de 3, a dicha solución se le realizaron extracciones con éter etílico de manera de recuperar la vainillina cruda.





**Esquema II.3.** Aislación de vainillina por condensación bisulfítica.

#### II.4. Obtención de eugenol

El eugenol crudo fue obtenido a partir de clavo de olor, pimienta de Jamaica y cáscara de banana. Según la matriz vegetal se evaluaron diferentes metodologías de extracción. Para el clavo de olor fueron evaluados como métodos de extracción: destilación por



arrastre de vapor, hidrodestilación, extracción sólido-líquido y extracción asistida por microondas; mientras que para pimienta de Jamaica y cáscara de banana: extracción sólido-líquido. También se evaluó la presencia del mismo en la canela por extracción sólido-líquido. En todos los casos, se realizaron ensayos previos para determinar las condiciones óptimas de extracción a aplicar. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

#### **a) Destilación por Arrastre de Vapor (DAV)**

Este método se aplicó al clavo de olor, y para lo cual se utilizó 30 g del mismo. Se evaluaron como tiempos de extracción: 2, 4 y 6 h (Ver Anexo A).

#### **b) Hidrodestilación (HD)**

La matriz vegetal estudiada por este método fue el clavo de olor (30 g). Las extracciones se realizaron por duplicado a 2, 4 y 6 h (Ver Anexo A).

#### **c) Extracción Sólido-Líquido (ELS)**

Las matrices vegetales estudiadas fueron: clavo de olor, pimienta de Jamaica y cáscara de banana. Se utilizaron dos equipos: a) extractor Soxhlet y b) extractor Twisselman. En a) inicialmente las experiencias se realizaron con solventes de distinta polaridad (agua, *n*-hexano y etanol) durante el mismo tiempo, a los fines de comparar los rendimientos de los compuestos de interés y elegir así el solvente que permitía obtener un mayor rendimiento.

Una vez identificado el solvente óptimo se procedió a analizar los distintos tiempos de extracción (2 h, 4 h, y 6 h). Mientras que en b) se partió de la misma cantidad de materia vegetal que el caso anterior, empleando como solvente etanol (150 ml). El procedimiento se realizó durante 2, 4 y 6 h, y solo se aplicó al clavo de olor.

#### **d) Extracción Asistida por Microondas (EAM)**

Los experimentos se realizaron para el clavo de olor de acuerdo con un diseño experimental de Taguchi, considerando 5 niveles y 5 factores ( $L_{25}$ ) (Anexo B), el cual proporciona un conocimiento completo de cada factor y su efecto en los rendimientos. Dicha metodología analiza el resultado utilizando un indicador estadístico denominado relación señal/ruido (S/N) que traduce la información experimental en un solo valor que muestra la presencia de disparidad<sup>2</sup>. A los resultados obtenidos en cada una de las experiencias, se les calculó la desviación estándar cuadrática media (MSD) y también la

relación señal a ruido (S/N). Luego, se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) para encontrar los factores más y menos influyentes en el proceso a fin de poder tomar decisiones según los objetivos planteados. También se calculó el estadístico F; un mayor valor de F indica un mayor efecto en los rendimientos debido a los cambios en los parámetros del proceso.

El microondas de laboratorio que se utilizó fue un Anton Paar Monowave 300. Debido a que el microondas no puede controlar simultáneamente la potencia y temperatura en un experimento, solo fue analizada la temperatura. El rango de variación de la misma fue desde 30 a 70 °C, debido a que temperaturas más altas favorecen la degradación de los compuestos extraídos. Con el fin de evitar el riesgo de degradación térmica y oxidación, el tiempo de extracción EAM generalmente varía desde unos minutos hasta media hora para la extracción de AE. De manera que el mismo fue establecido entre 5 y 25 minutos. Otro de los parámetros estudiados fue la agitación. Los valores establecidos en los niveles corresponden a 20, 40, 60, 80 y 100% del valor máximo que puede alcanzar el equipo que es de 1200 rpm. El solvente usado fue etanol (78°) en relaciones etanol:agua de 20:80, 40:60, 60:40, 80:20, 100. La elección del mismo se debió a que es un buen absorbedor de ondas microondas. El volumen de solvente se seleccionó de acuerdo a la capacidad volumétrica de las celdas de reacción, las cuales varían entre 6 y 20 mL. La relación solvente/sólido es importante porque asegura un calentamiento homogéneo y efectivo. Para optimizar los parámetros de éste proceso se evaluaron los resultados obtenidos del diseño experimental de Taguchi.

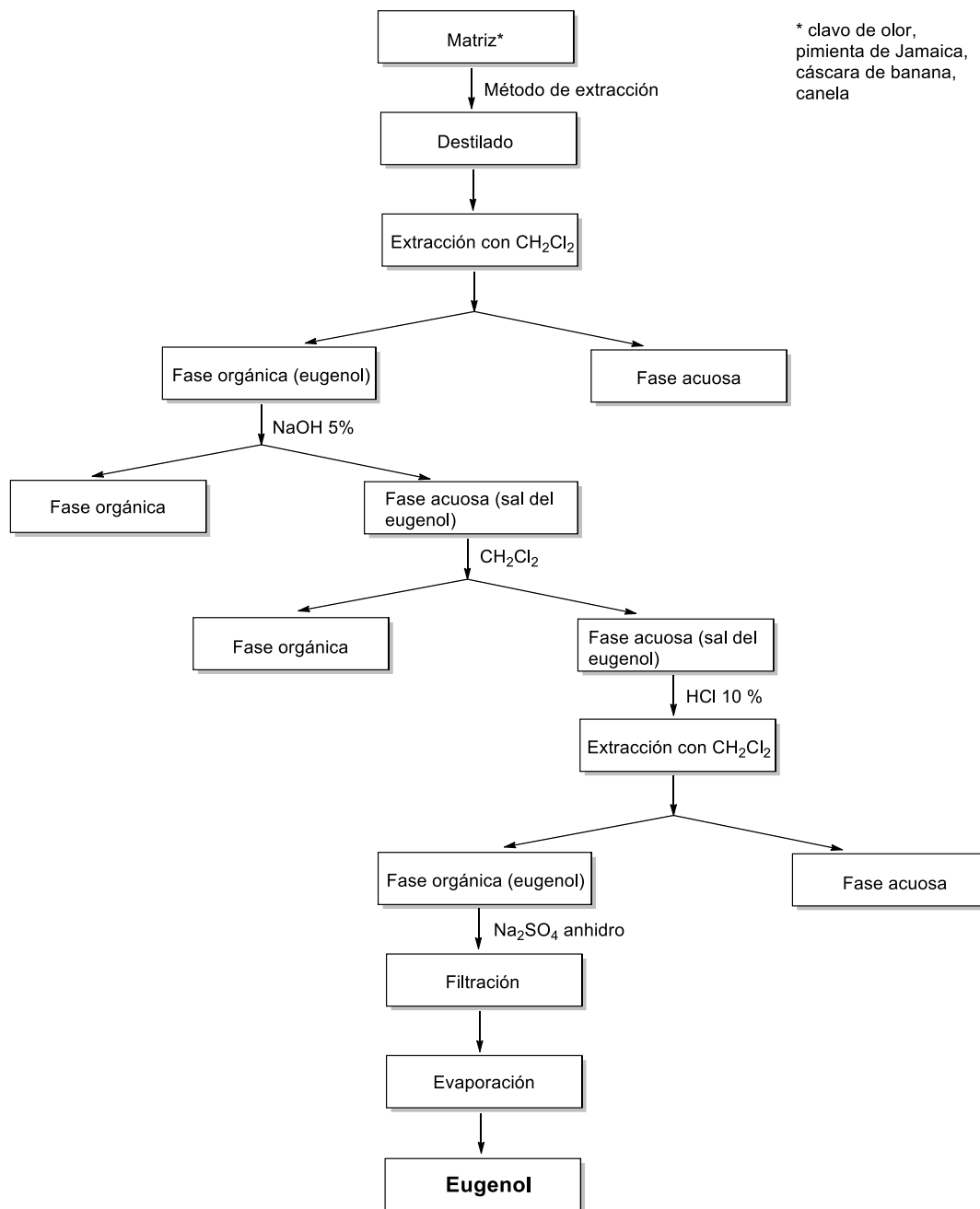
#### **II.4.1. Aislación de eugenol**

El eugenol fue extraído de los aceites esenciales por medio de dos procedimientos: extracción química y por cromatografía en columna.

##### **a) Extracción química (mediante adición de una base)**

A la mezcla obtenida en los métodos de extracción (AE + agua) se le realizaron extracciones con diclorometano y luego a la fase orgánica se la trató con hidróxido de sodio al 5 %. De este modo, el eugenol se encontró bajo la forma de su sal fenólica, la cual es soluble en medio acuoso. El posterior lavado de la fase acuosa básica con diclorometano extrajo los posibles componentes orgánicos en dicha fase. Seguidamente, se la trató con HCl diluido para obtener el fenol extrayéndose con un solvente orgánico. Esta fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se llevó a evaporador

rotatorio para eliminar el solvente. La separación y purificación de los productos obtenidos se controlaron por medio de cromatografía de capa fina (Esquema II.4).



**Esquema II.4.** Aislación de eugenol mediante adición de una base.

#### b) Aislación de eugenol mediante cromatografía en columna

Se realizó el mismo procedimiento utilizado en la vainillina.

#### II.5. Obtención del cinamaldehído

La canela se utilizó como materia vegetal para obtener cinamaldehído debido a su alto contenido de este componente. El método utilizado fue la extracción sólido-líquido por

medio de un equipo Soxhlet, empleándose el mismo procedimiento que se detalló para el eugenol.

## **II.6. Técnicas de caracterización**

A continuación, se citan las técnicas analíticas que se utilizaron para analizar los extractos vegetales, los aceites esenciales y las moléculas plataformas finalmente recuperadas, indicándose las condiciones de análisis.

### **II.6.1. Punto de Fusión (PF)**

La determinación se realizó en un medidor de punto de fusión digital Electrothermal, serie IA9000. Para lo cual se colocó una pequeña cantidad de muestra (aproximadamente 1 mg) en un tubo capilar de vidrio de 12 mm de diámetro. Dicho tubo se insertó en el aparato y se comenzó el calentamiento previa programación de la rampa de temperatura. Se observó y registró la temperatura a la cual comenzó a fundir la sustancia.

### **II.6.2. Cromatografía de Capa Delgada (TLC)**

Tanto los extractos vegetales como los AE obtenidos fueron analizados primeramente por TLC en placas de sílica gel, usando como fase móvil hexano:acetato de etilo 1:1. Las muestras se corrieron usando como patrón de referencia vainillina (Sigma Aldrich), eugenol (Sigma Aldrich) o cinamaldehído (Sigma Aldrich), según correspondía. Las placas cromatográficas fueron analizadas y reveladas con permanganato de potasio y con lámpara UV.

### **II.6.3. Cromatografía Gaseosa (GC)**

Los aceites esenciales fueron analizados por un cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer equipado con inyector, detector de ionización de flama (FID), y columna capilar PE-5% (DF: 0,53  $\mu$ m, DI: 0,55  $\mu$ m, L: 30 m), usando nitrógeno como gas carrier a un caudal de 24 ml/min. La temperatura del horno se programó a 80 °C durante 2 minutos, luego se calentó desde 80 °C a 230 °C a una velocidad de 6 °C/min, y a 230 °C durante 2 minutos. La temperatura del inyector y del detector fueron ambas de 230 °C. Para el análisis de los AE se usó como patrón interno salicilato de metilo<sup>3</sup>.

#### II.6.4. Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de masa (GC-MS)

Los análisis de GC-MS se realizaron en un equipo de cromatografía gaseosa-espectrómetro de masa Shimadzu GC-QP5000, equipado con una columna capilar no polar estándar (DF: 0,25  $\mu\text{m}$ , ID: 0,25 mm, L: 30 m). El gas carrier, helio, se ajustó a una velocidad linear de 1 ml/min. El programa de calentamiento fue el mismo que el del GC. Las muestras se corrieron en diferentes soluciones de etanol. La identificación de los compuestos de los extractos se realizó en base a los patrones de fragmentación junto con los espectros de masa que se obtuvieron de cada muestra y se compararon con los de la biblioteca de espectros de masa del NIST<sup>4</sup>.

#### II.6.5. Espectroscopia de Irradiación Infrarroja (FTIR)

Los espectros de FTIR se realizaron en un espectrofotómetro Shimadzu FTIR-8000 Prestige-21. El registro del espectro IR se realizó en términos de transmitancia en el rango de número de ondas de 500-4000  $\text{cm}^{-1}$ , colectándose 50 barridos con una resolución espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### II.6.6. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se realizaron en un equipo Bruker DPX-300 empleando acetona deuterada como solvente. El procesamiento de los espectros se realizó con el software libre iNMR<sup>5</sup>.

#### II.7. Cálculos de rendimientos

De los resultados obtenidos de las extracciones y el análisis de GC, el rendimiento de AE se calculó mediante la Ecuación II.1, mientras que el rendimiento de la molécula plataforma y el rendimiento del proceso global por las Ecuaciones II.2 y II.3 respectivamente.

$$\text{Rendimiento de AE (\%)} = \frac{\text{masa de AE (g)}}{\text{masa de materia vegetal (g)}} \cdot 100 \% \quad (\text{Ecuación II.1})$$

$$\text{Rendimiento del analito (\%)} = \frac{\text{masa de la molécula plataforma (g)}}{\text{masa del AE (g)}} \cdot 100 \% \quad (\text{Ecuación II.2})$$

$$\text{Rendimiento del proceso (\%)} = \frac{\text{masa de la molécula plataforma (g)}}{\text{masa de materia vegetal (g)}} \cdot 100 \% \quad (\text{Ecuación II.3})$$

## II.8. Resultados

Seguidamente se detallan los resultados de la obtención de cada una de las moléculas plataforma.

### II.8.1. Obtención de vainillina a partir de aserrín

Debido a que la V fue obtenida directamente como vainillina cruda, solo fue calculado el rendimiento del proceso, es cual fue de 35 %.

### II.8.2. Caracterización química de vainillina

La caracterización de vainillina se realizó mediante espectrometría FTIR y  $^1\text{H}$  RMN. Además se determinó el punto de fusión como criterio de pureza. Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

- PF: 80 °C.
- IR (KBr)  $\bar{\nu}_{max}$ : 3235 (OH), 2845 (-OCH<sub>3</sub>), 1676 (-CHO), 1606 (C=C<sub>Ar</sub>), 1462 (C=C<sub>Ar</sub>), 1292 (C=C<sub>Ar</sub>).
- $^1\text{H}$  RMN (300 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>): 4 (s, OCH<sub>3</sub>); 6,3 (b, OH); 7,1 (m, 1H<sub>Ar</sub>); 7,4 (m, 1H<sub>Ar</sub>); 9,8 (s, CHO).

Cabe destacar que los resultados obtenidos concuerdan con los datos reportados en bases de datos y en la bibliografía<sup>1,6</sup>.

### II.8.3. Eugenol aislado del AE de clavo de olor

En la Figura II.1 se presentan los mejores rendimientos de E obtenidos por los métodos: HD, DAV, ES (Extracción Soxhlet), ET (Extracción Twisselman) y EAM. Estos valores están acompañados también de los rendimientos de AE y del proceso. Debido a que se buscaba la metodología que brinde el mayor porcentaje de E, este parámetro fue el que definió la elección de la misma para la obtención de la molécula plataforma. En el caso de la HD, los resultados mostrados en la Figura II.1 corresponden a un tiempo de 6 h, mientras que los de la DAV corresponden a 4 h, y los de ES y ET a 2 h. En la DAV, el mayor rendimiento de AE se obtuvo a las 6 h, sin embargo, interesa el mejor rendimiento de E, por lo que en esta metodología se alcanza a las 4 h. Mientras que, en la ES y ET, como era de esperar se obtuvieron resultados similares. En ambos casos, los mayores rendimientos fueron a las 2 h.

Los resultados completos se presentan en el Anexo B. En el mismo se muestran los rendimientos de AE, eugenol y del proceso para los diferentes tiempos estudiados (2 h, 4 h

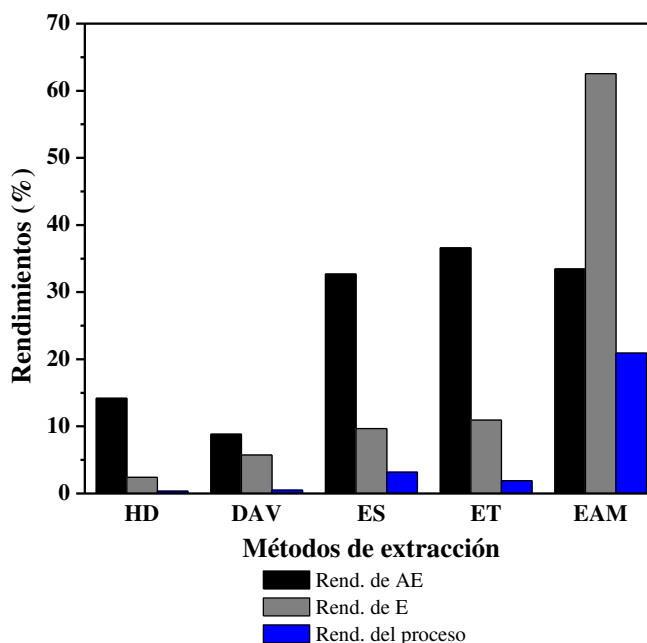
y 6 h) en cada una de las metodologías.

Los extractos obtenidos por HD y DAV tenían una coloración amarillo pálido, mientras que la de los extractos de ES y ET presentaron una coloración amarilla amarronada más oscura. Todos presentaron un fuerte aroma a eugenol.

A partir de los resultados obtenidos, la selección del método de extracción y sus parámetros se basó en mejores rendimientos, seguridad e impacto ambiental. Así se observó que el rendimiento de AE y eugenol, en el proceso por HD fue el más bajo, mientras que con EAM se obtuvieron los mayores valores, situando así a la EAM como una alternativa interesante que ofrece algunas ventajas tales como reducción del tiempo y solventes por lo que se elige éste para obtener la materia prima eugenol.

#### II.8.4. Eugenol aislado del AE de pimienta de Jamaica

En todos los ensayos se utilizó la misma cantidad de muestra de partida (30 g). Primeramente, se realizó la ES de la pimienta de Jamaica con distintos solventes (etanol, agua y *n*-hexano) durante 2 h. Cada producto se analizó por CG para determinar las condiciones con el que se obtenía un mayor contenido de eugenol. Como puede observarse en la Tabla II.1, los mayores rendimientos fueron obtenidos con etanol, con lo cual este fue seleccionado como solvente de extracción. Luego, se realizaron extracciones con etanol a 2 h, 4 h y 6 h para evaluar el rendimiento de E.



**Figura II.1** Comparación de los rendimientos de los distintos métodos aplicados para el clavo de olor.

**Tabla II.1.** Resultados obtenidos por ES de la pimienta de Jamaica

<b>Solvente</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Rend. de AE (%)</b>
Etanol	2	<b>24,22,±0,04</b>
Agua	2	16,41±0,06
<i>n</i> -hexano	2	10,56±0,02

Como se puede observar en la Tabla II.2, donde se presentan los resultados obtenidos, el mayor rendimiento de eugenol se obtuvo en un tiempo de 4 h.

**Tabla II.2.** Resultados obtenidos por ES con etanol de la pimienta de Jamaica

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Rend. de E (%)</b>
2	9,65±0,09
4	<b>18,79±0,03</b>
6	11,70±0,04

### II.8.5. Eugenol aislado de la cáscara de banana

Las Tablas II.3 y II.4 muestran los resultados obtenidos por ES de la cáscara de banana. En ellos se observa que si bien el rendimiento de AE es elevado, el rendimiento de eugenol es de apenas del 0,40 %, por lo cual se descarta su uso para obtener la materia prima.

**Tabla II.3.** Resultados obtenidos por ES de la cáscara de banana

<b>Solvente</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Rend. de AE (%)</b>
Etanol	2	<b>70,40±0,05</b>
Agua	2	33,88±0,09
<i>n</i> -hexano	2	18,60±0,03

**Tabla II.4.** Resultados obtenidos por ES con etanol de la cáscara de banana

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Rend. de E (%)</b>
2	0,14±0,02
4	<b>0,40±0,01</b>
6	0,30±0,01



### II.8.6. Caracterización química del eugenol

La caracterización fisicoquímica del EU arrojó los siguientes resultados:

- IR (KBr)  $\bar{\nu}_{max}$ : 3500 (OH), 2885 (C=CH), 2880 (-CH<sub>2</sub>), 2850 (-OCH<sub>3</sub>), 1640 (C=C), 1590 (C=CH), 1470 (C=CH), 1370 (C=CH).
- <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>): 3,30 (d, 2H), 3,81 (s, 3H), 5,00 (d, 1H), 5,04 (d, 1H), 5,97 (m, 1H), 6,67 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,80 (d, 1H).

Los resultados obtenidos concuerdan con los datos reportados en bases de datos y en la bibliografía<sup>7</sup>.

### II.8.7. Cinamaldehído aislado del AE de canela

En las Tablas II.5 y II.6 se presentan los resultados correspondientes a la extracción de cinamaldehído (C) a partir de canela ESL. En primer lugar, se analizó el rendimiento de C. Como se observa en la Tabla II.5, el mayor rendimiento a C fue obtenido con etanol. Por tal motivo, en la segunda etapa se analizó el tiempo de extracción con etanol, obteniendo un óptimo rendimiento a las 4 h de proceso.

**Tabla II.5.** Resultados obtenidos por ES de la canela con distintos solventes

Solvente	Tiempo (h)	Rend. de AE (%)	Rend. de C (%)
Etanol	2	11,86±0,02	<b>31,87±0,02</b>
Agua	2	7,76±0,02	10,75±0,03
<i>n</i> -hexano	2	5,83±0,03	10,26±0,03

**Tabla II.6.** Rendimiento de cinamaldehído obtenido de la canela por ES con etanol

Tiempo (h)	Rend. de C (%)
2	30,98±0,03
4	<b>65,86±0,04</b>
6	61,35±0,02

Del análisis de los resultados obtenidos se concluye que las mejores condiciones para realizar la ESL es utilizando etanol como solvente, durante 4 h, ya que estas condiciones brindan el mayor rendimiento a cinamaldehído.

Por otro lado, debido a que estudios previos informaron que el aceite de canela puede contener también eugenol<sup>8</sup>, se evaluó en esta matriz el contenido del mismo. Los

resultados se muestran en la Tabla II.7. El valor obtenido del rendimiento a E es muy bajo respecto a los obtenidos del clavo de olor, por lo que se descartó como fuente de obtención de E.

**Tabla II.7.** Resultados obtenidos por ES con etanol de la canela

Tiempo (h)	Rend. de E (%)
2	0,67±0,03
4	<b>6,14±0,74</b>
6	2,27±0,02

El aislamiento del cinamaldehído del AE se realizó mediante cromatografía en columna, con un rendimiento del proceso del 75 %.

### II.8.8. Caracterización química del cinamaldehído

La caracterización química del C arrojó los siguientes resultados, los cuales concuerdan con datos reportados en la bibliografía y en bases de datos<sup>9,10</sup>:

- IR (KBr)  $\bar{\nu}_{max}$ : 2978 (C-H<sub>Ar</sub>), 2959 (C=CH), 2894 (C-H<sub>Ar</sub>), 1670 (-CHO), 1627 (C=C), 1451 (C=C), 1045 (C-H<sub>Ar</sub>).
- <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>): 7,62 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,36 (m, 1H), 9,68 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 6,65 (d, 1H).

### II.9. Conclusiones

La recuperación de compuestos valiosos de fuentes naturales es de interés para el desarrollo económico y humano. Con esta mirada, la vainillina se obtuvo a partir del aserrín (residuo de la industria maderera) y se aisló mediante cromatografía en columna.

También se evaluaron distintos métodos de extracción convencionales y no convencionales para obtener aceites esenciales, a partir de los cuales se aislaron las moléculas plataforma a utilizarse en la síntesis de las moléculas activas.

En función de los resultados expresados anteriormente se aplicó la extracción asistida por microondas al clavo de olor bajo las condiciones de 30 °C, 480 rpm, 25 min, 100 % solución de etanol y 16 ml/mg para la obtención del eugenol. Al AE de clavo de olor se le realizó una cromatografía en columna para aislar el eugenol. Mientras que el AE de canela se obtuvo por extracción sólido-líquido (durante 4 h y usando como solvente etanol) y del mismo se procedió a aislar el cinamaldehído mediante cromatografía en columna.

**II.10. Referencias**

1. Lampman, G. M., Andrews, J., Bratz, W., Hanssen, O., Kelley, K., Perry, D., Ridgeway, A. *J. Chem. Educ.*, 1976, 776–778.
2. Kohli, H. P., Gupta, S., Chakraborty, M. *Colloids Surfaces A*, 2018, **539**, 371–381.
3. Wenqiang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., Shaokun, T., Can, Q. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1558–1564.
4. Katata-Seru, L., Lebepe, T. C., Aremu, O. S., Bahadur, I. *J. Mol. Liq.*, 2017, **244**, 279–284.
5. 2016.
6. Nel, M. Y. P., Alexander, R. E. J., César, D. T. P. *Sci. Tech.*, 2011, **16**, 305–309.
7. Thirukumaran, P., Parveen, A. S., Sarojadevi, M. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2014, **2**, 2790–2801.
8. Wang, R., Wang, R., Yang, B. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 289–292.
9. Al-bayati, F. A., Mohammed, M. J., Al-bayati, F. A., Mohammed, M. J. *Pharm. Biol.*, 2009, **47**, 61–66.
10. Bilbao-Sainz, C., Chiou, B.-S., Du, W.-X., Gregorsky, K. S., Orts, W. J. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2013, **90**, 233–241.



## **CAPÍTULO III**

---

### **Ligandos Químicos**



### III.1. Introducción

En el presente capítulo se describen los ligandos químicos que fueron sintetizados. Se define como ligandos químicos: a los productos sintetizados a partir de las moléculas plataforma y que pueden presentar propiedades antioxidantes o de sensores químicos para determinar cationes de interés mediambiental. En esta línea se comienza describiendo los ensamblajes supramoleculares, sus aplicaciones, la definición y clasificación de sensores químicos, y algunos de sus mecanismos de actuación. Luego se continúa con las propiedades antioxidantes. Los conceptos que se presentan son generales y servirán de base para la comprensión de los capítulos siguientes.

### III.2. Introducción a la química supramolecular

Como se dijo previamente, la naturaleza, tal como la conocemos, tiene la capacidad de autoensamblar precursores moleculares pequeños en biomoléculas mucho más complejas. Estos ensamblajes supramoleculares son muy importantes para los procesos biológicos<sup>1</sup>. Dichas estructuras pueden permanecer unidas de diversas maneras, por ejemplo, mediante enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o enlaces coordinados. Es por ello que el principal desafío de la Química Supramolecular es el de dilucidar y conseguir el control del enlace intermolecular<sup>2</sup>.

Una de las aplicaciones de esta disciplina es el desarrollo de sensores químicos para la detección de cationes metálicos<sup>3-6</sup>. Su importancia radica en que los organismos vivos poseen metales que intervienen en procesos bioquímicos específicos. La concentración puede variar dentro de ciertos límites mediante procesos biológicos de asimilación y excreción. Cuando las concentraciones de los cationes se encuentran fuera del rango considerado normal, se producen disfunciones que pueden llegar a ser graves e incluso causar la muerte del organismo en cuestión<sup>7</sup>.

El efecto contaminante de los metales radica en que pueden reemplazar metales de características similares de las proteínas y enzimas, o generar estrés oxidativo. La competencia entre los metales contaminantes y los metales esenciales se debe a que comparten los sistemas de transporte, disminuyen la concentración efectiva del metal esencial, activan receptores de membrana provocando reacciones en cadena, reemplazan a metales esenciales o reaccionan con grupos funcionales en biomoléculas, alterando así su funcionamiento. Todos estos efectos son potenciales premutagénicos. Los metales afectan la fidelidad de la replicación porque inhiben las enzimas involucradas en dicho proceso<sup>8,9</sup>.

Sólo por citar algunos ejemplos de la importancia de cationes metálicos, se conoce que

una exposición excesiva del cuerpo humano al catión  $\text{Al}^{3+}$  conduce a una amplia gama de enfermedades, tales como la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, encefalopatía, y osteoporosis<sup>10,11</sup>. Una vez ingresado al organismo, el aluminio es conducido a través del torrente sanguíneo por la misma proteína que transporta hierro, la transferrina y acumulado en distintos órganos y tejidos. El aluminio natural se encuentra en el suelo, principalmente en forma de aluminosilicatos cuyas partículas de polvo están en el ambiente como consecuencia de la erosión de la corteza terrestre. Además, la acción del hombre contribuye al aumento de concentración del mismo en suelos donde las industrias desechan residuos, tales como los provenientes de refinerías, fundiciones y minas<sup>12,13</sup>. En el caso del  $\text{Cu}^{2+}$ , éste es un metal esencial en todos los organismos vivos debido a sus propiedades catalíticas y oxidativas. Sin embargo, en exceso causa estrés oxidativo, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas<sup>14</sup>. La concentración promedio en sangre humana está en el rango de 15,7 a 23,6  $\mu\text{M}$ . La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que el nivel máximo permisible del mismo en agua potable sea de 30  $\mu\text{M}$  y que el consumo medio poblacional no debe exceder 10-12 mg por día para adultos. Por su parte, el catión  $\text{Fe}^{3+}$  desempeña un papel crucial en los procesos bioquímicos y en reacciones enzimáticas. En condiciones fisiológicas, el hierro siempre está unido a una proteína ya que su presencia aislada, como en los casos de intoxicación por el metal, produce daños graves en los tejidos. Esta toxicidad se debe a la habilidad del hierro libre de generar, en conjunción con el oxígeno, radicales hidroxilos que pueden causar peroxidación de las membranas lipídicas y otros constituyentes celulares<sup>15</sup>. De manera que, tanto su deficiencia como exceso induce a trastornos biológicos como anemia, daño hepático y renal, insuficiencia cardíaca y diabetes<sup>16-18</sup>.

Se conoce también que los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  son esenciales para la transmisión de impulsos nerviosos, contracción muscular, regulación de la actividad celular, entre otros<sup>19</sup>.

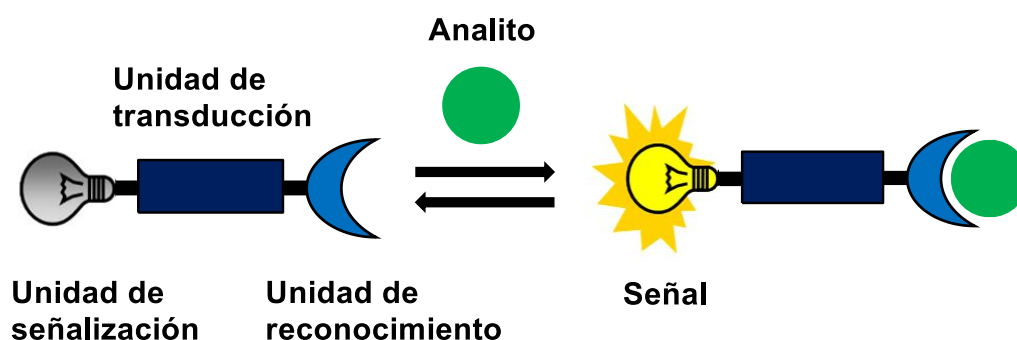
De esta manera, es de interés el análisis rápido de trazas de cationes metálicos en aplicaciones medioambientales y biomédicas, lo cual requiere de un reconocimiento específico de un elemento particular cuando está presente junto con otras especies<sup>20</sup>. Una forma de detectar cualitativamente y cuantitativamente iones es mediante sensores químicos, los cuales se describen a continuación.

### III.3. Sensores químicos

Un sensor químico se define como un dispositivo que responde de forma selectiva a un



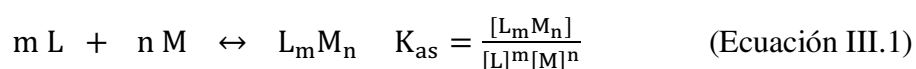
analito de interés particular a través de una interacción física o química, y puede utilizarse para la determinación cualitativa o cuantitativa del analito. Por consiguiente en esta definición confluyen dos conceptos: el de reconocimiento y el de señalización de ese reconocimiento. Dicho sensor molecular está formado por dos unidades: una llamada receptor y la otra transductor. El receptor es un grupo capaz de reaccionar o combinarse con los analitos, acompañado por un cambio en sus propiedades físicas o químicas. El transductor es la otra fracción que transforma y amplifica los cambios en una señal de salida cualitativa o cuantitativa relacionada con las propiedades del analito<sup>21</sup>, según se muestra en Figura III.1. Esta interacción se basa en eventos de coordinación<sup>22</sup>.



**Figura III.1.** Reconocimiento y detección de un analito por un sensor químico.

El proceso de complejación se caracteriza por su estabilidad, selectividad termodinámica y cinética, es decir, por la cantidad de energía e información puesta en funcionamiento<sup>23</sup>. El reconocimiento estructural en la complejación molecular entre unidades orgánicas depende de la ubicación complementaria de los sitios de unión y las barreras estéricas entre los receptores y los huéspedes<sup>24</sup>. De esta manera es un verdadero desafío diseñar sistemas moleculares capaces de formar complejos estables y selectivos.

La determinación de la estabilidad de la especie receptor-analito, se basa en la medida de la constante de asociación ( $K_{as}$ ) entre ambas especies, que en definitiva, es la constante correspondiente al equilibrio termodinámico para el proceso de unión entre el receptor (L) y el analito (M)<sup>25</sup>, Ecuación III.1:



Por otro lado, la selectividad está determinada por el límite de detección que se define como: la concentración mínima de analito que puede ser detectada con fiabilidad a través de un método analítico determinado y cuya señal es significativamente diferente a la señal del ruido de fondo<sup>26</sup>.



coordinantes capaces de interactuar con ciertos grupos funcionales presentes en el huésped. En la segunda aproximación la unidad de reconocimiento forma un complejo con un colorante o fluoróforo que es desplazado al añadir el analito<sup>30</sup>.

Dichos receptores moleculares se denominan quimiosensores. Se unen con el analito objetivo a través de interacciones no covalentes para producir señales ópticas medibles con una respuesta en tiempo real, generalmente menos de unos pocos segundos. De hecho, tales interacciones son típicamente reversibles cuando cualquier cambio en la concentración del analito se relaciona con el cambio en las cantidades del quimiosensor libre y el unido<sup>31</sup>.

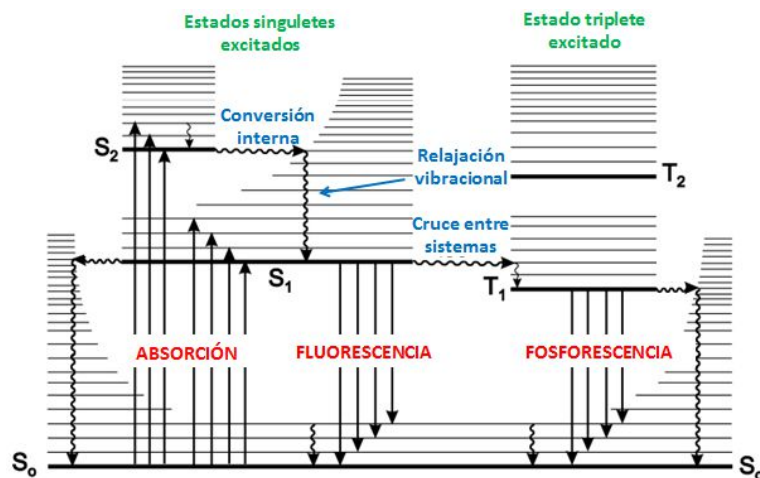
La tercera aproximación corresponde a un dosímetro químico. Los quimiosímetros son dispositivos del tamaño de una molécula o más grandes que utilizan receptores abióticos para lograr el reconocimiento del analito con la transducción irreversible concomitante de una señal observable en humanos. Este enfoque implica la reacción del analito objetivo con la sonda molecular y se asocia con una transformación química significativa que implica la ruptura y la formación de los enlaces covalentes. Este proceso resulta en la formación de productos que difiere del quimiosímetro de partida acompañado con propiedades ópticas diferentes, por lo que es un proceso no reversible<sup>31-33</sup>.

Otro aspecto importante es la inmovilización de los receptores sobre los transductores más adecuados, sin que unos ni otros pierdan sus características funcionales. Hay un gran espectro de posibilidades para tal inmovilización; entre las que se pueden nombrar, adsorción, retención del receptor en un gel o una matriz polimérica o por entrecruzamientos de los receptores entre sí mediante agentes bifuncionales<sup>34</sup>.

#### **III.4. Sensores fluorescentes**

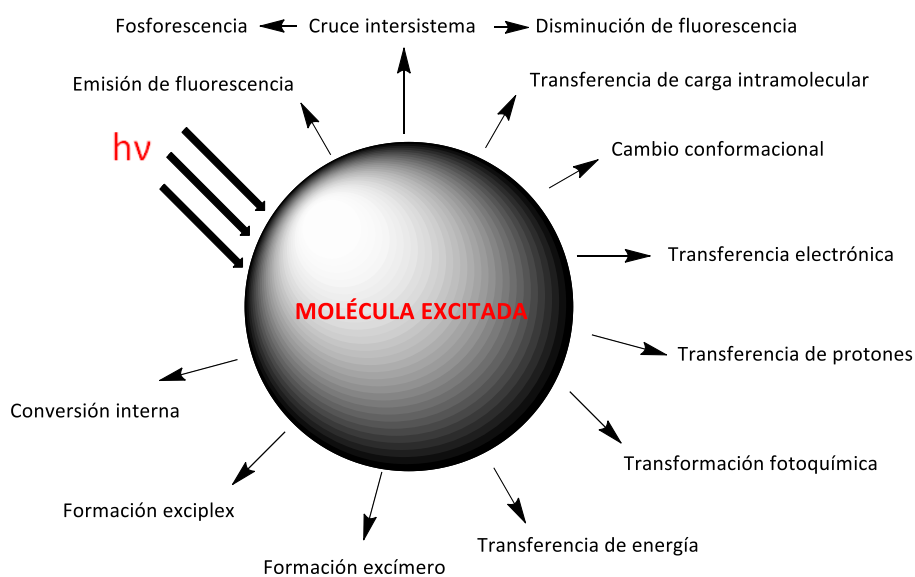
La fluorescencia es el proceso de emisión de luz por moléculas que son excitadas con radiación electromagnética. Las especies excitadas se relajan al estado fundamental, liberando su exceso de energía en forma de fotones. Normalmente, el tiempo de vida media de una especie excitada es breve porque hay diversas formas en las cuales un átomo o una molécula excitada liberan su exceso de energía y se relajan a su estado fundamental. Dos de los mecanismos de relajación más importantes son la relajación o desactivación no radiante, que incluye relajación vibracional y conversión interna, y la relajación fluorescente, comúnmente llamada fluorescencia. El diagrama de Perrin-Jablonski (Figura III.3) es conveniente para visualizar de manera sencilla los posibles procesos: absorción de fotones, conversión interna, fluorescencia, cruce entre sistemas, fosforescencia,

fluorescencia retrasada y transiciones triplete-triplete.



**Figura III.3.** Diagrama de Perrin–Jablonski.

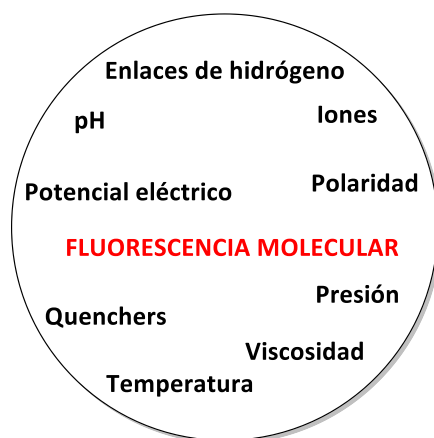
Los estados electrónicos singlete se denominan  $S_0$  (estado electrónico fundamental),  $S_1$  y  $S_2$  corresponden al primero y segundo estado singlete excitado. La línea  $T_1$  corresponde al primer estado triplete excitado. De manera que los niveles vibracionales están asociados con cada estado electrónico. Una vez que la especie ha sido excitada por absorción de un fotón, puede volver al estado fundamental con emisión de fluorescencia o mediante diferentes procesos tal como se muestra en la Figura III.4<sup>35</sup>.



**Figura III.4.** Posibles vías de des-excitación de las moléculas excitadas.

Tras las interacciones con los iones metálicos, la intensidad de fluorescencia y/o el cambio de la banda de fluorescencia de los quimiosensores cambian y los iones metálicos se pueden detectar cualitativa y cuantitativamente<sup>36</sup>.

El éxito de la fluorescencia surge de la alta sensibilidad de las técnicas fluorométricas, la especificidad de las características de fluorescencia debidas al microambiente de la molécula emisora y la capacidad de éste último para proporcionar información espacial y temporal. La Figura III.5 muestra los parámetros físicos y químicos que caracterizan el microambiente y puede así afectar las características de fluorescencia de una molécula<sup>35</sup>.



**Figura III.5.** Parámetros que influyen en la emisión de fluorescencia.

#### III.4.1. Rendimiento cuántico

El rendimiento cuántico o la eficacia cuántica de fluorescencia ( $\phi_F$ ) es la relación entre el número de moléculas que emiten luminiscencia respecto al número total de moléculas excitadas, según se expresa en la Ecuación III.2. Para moléculas altamente fluorescentes como la fluoresceína, la eficacia cuántica, bajo determinadas condiciones, se aproxima a la unidad. Las especies químicas que no presentan una fluorescencia apreciable tienen eficacias que se aproximan a cero.

$$\phi_F = \frac{n^\circ \text{ fotones emitidos}}{n^\circ \text{ fotones absorbidos}} \quad (\text{Ecuación III.2})$$

Las técnicas para estimar el rendimiento cuántico en estructuras altamente conjugadas pueden agruparse en dos: métodos absolutos y métodos relativos.

– Métodos absolutos: carecen de popularidad debido principalmente al uso de metodologías e instrumentos con requerimientos tecnológicos altos lo cual implica una

inversión económica considerable. Se aplican a especies en disolución o compuestos en fase sólida.

– Métodos relativos: son más accesibles y se basan en el empleo de sustancias patrón con rendimientos cuánticos ampliamente estudiados y conocidos<sup>37</sup>. Éstos últimos se aplican únicamente a especies en disolución y las mediciones se realizan mediante espectrómetros de absorción y emisión. Se calcula mediante la Ecuación III.3:

$$\phi_f^i = \frac{F^i f_s n_i^2}{F^s f_i n_s^2} \phi_f^s \quad (\text{Ecuación III.3})$$

Donde:

$\phi_f^i$  = Rendimiento cuántico de fotoluminiscencia de la muestra

$\phi_f^s$  = Rendimiento cuántico de fotoluminiscencia del patrón

$F^i$  = Intensidad integrada (área) del espectro de la muestra (en unidades de fotones)

$F^s$  = Intensidad integrada (área) del espectro del patrón (en unidades de fotones)

$f_i, f_s$  = Factor de absorción, es decir, la fracción de la luz incidiendo en la muestra que se absorbe ( $f_x = 1 - 10^{-A}$ ), siendo A la absorbancia

$n_i$  = índice de refracción de la muestra

$n_s$  = índice de refracción del patrón

### III.4.2. Mecanismos de actuación

Los fluoronóforos son herramientas poderosas para la medición de la concentración de iones en muestras ambientales o biológicas. Como se dijo anteriormente, una preocupación clave en el diseño de tales sensores es la conexión entre el reconocimiento del sustrato y los cambios fotofísicos en el fluoróforo informante<sup>38</sup>.

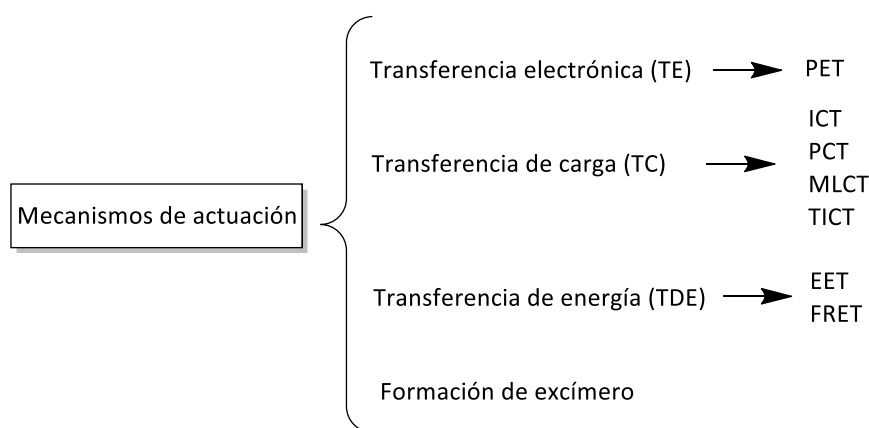
Los mecanismos de detección convencionales, basados en diferentes procesos fotofísicos se clasifican de manera simple como según se presenta en el Esquema III.1 y se describen a continuación:

i) Transferencia electrónica (TE): incluye la transferencia electrónica fotoinducida (PET, del inglés *Photoinduced Electron Transfer*).

ii) Transferencia de carga (TC): incluye la transferencia de carga intramolecular (ICT), transferencia de carga fotoinducida (PCT), transferencia de carga metal-ligando (MLCT) y la transferencia de carga intramolecular trenzada (TICT).

iii) Transferencia de energía (TDE): incluye la transferencia de energía electrónica (EET) y la transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET).

iv) Formación de excímero: un excímero se define como un complejo formado por la interacción de un fluoróforo en el estado excitado con un fluoróforo de la misma estructura en el estado fundamental. Del mismo modo, si el fluoróforo en el estado excitado es diferente del fluoróforo en el estado fundamental, el complejo resultante se denomina exciplex. El espectro de emisión de un excímero/exciplep se desplaza hacia el rojo en comparación con el del monómero, y a menudo se observa simultáneamente una emisión doble del monómero y del excímero/exciplep<sup>39</sup>.

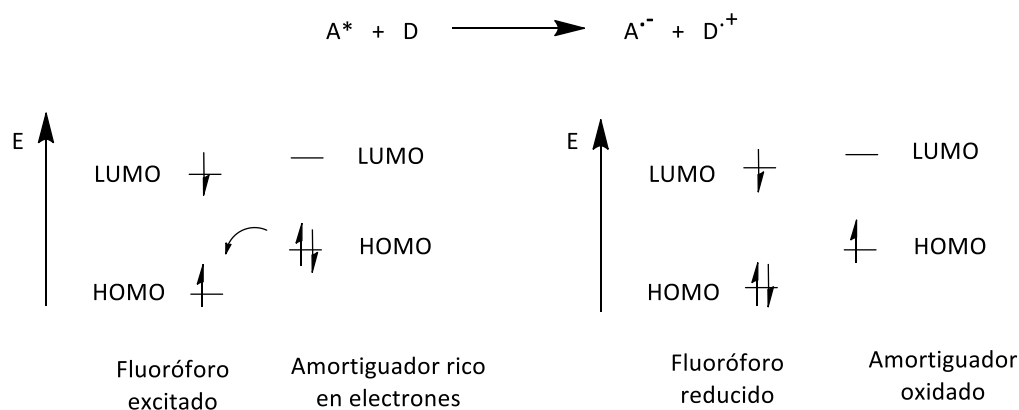


**Esquema III.1.** Mecanismos de actuación de sensores fluorescentes.

En todos estos casos, el primer paso requerido es la absorción de un fotón para alterar la distribución de carga dentro del cromóforo: mantener, amplificar o, en circunstancias menos favorables, destruir el potencial químico resultante depende de la dinámica que puede ocurrir dentro del cromóforo inmediatamente después del evento de absorción<sup>40</sup>.

La transferencia electrónica fotoinducida (PET) está implicada en muchas reacciones fotoquímicas orgánicas y suele ser la responsable del amortiguamiento de la fluorescencia en complejos metálicos con ligandos orgánicos. Para que ocurra la transferencia de un electrón de una entidad molecular a otra, o entre dos partes localizadas de una misma molécula, se requiere de la existencia de dos componentes, una entidad molecular o una parte de una misma molécula de la cual procede el electrón, llamada dador (D), y otra entidad molecular o parte de una misma molécula, la cual es receptora del electrón, llamada aceptor (A). Este método permite el diseño de sensores luminiscentes “off-on”, y además es lo suficientemente flexible como para permitir la construcción de sensores “on-off” donde la entrada del invitado desconecta o disminuye la luminiscencia, que es la intensidad de fluorescencia<sup>36,41-43</sup>.

Si el amortiguador es una especie rica en electrones (D) presenta entonces una tendencia reductora y transferirá un electrón desde su HOMO a un orbital HOMO semiocupado del fluoróforo excitado (A), formándose la especie  $A^{\cdot-}D^{\cdot+}$ . A continuación tendrá lugar una retrodonación electrónica del LUMO del fluoróforo hacia el HOMO de la especie  $D^{\cdot+}$ , semiocupado ahora, llegando así ambas partes a su estado fundamental, según se presenta en la Esquema III.2.

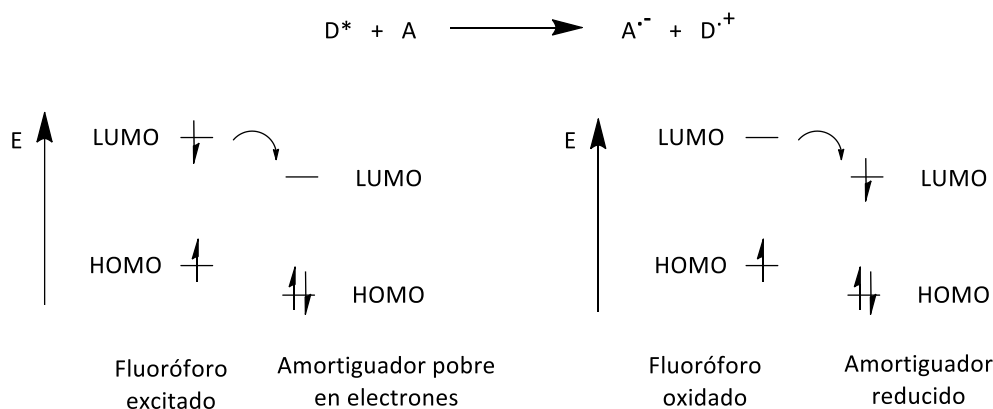


**Esquema III.2.** Esquema del orbital que ilustra el amortiguamiento de un fluoróforo fotoexcitado ( $A^*$ ) por un amortiguador reductor (D), por un proceso de transferencia electrónica (PET) de D a  $A^*$ . El par iónico que se forma ( $A^{\cdot-}$ ,  $D^{\cdot+}$ ) se recombina por un proceso de retro-donación electrónica no radiativa. Así la emisión natural de  $A^*$  queda amortiguada.

También puede ocurrir que el amortiguador presente un comportamiento oxidante siendo así la especie aceptora de electrones. Dispondrá de un orbital vacío o semiocupado de energía adecuada para que se transfiera un electrón del orbital del fluoróforo excitado ( $D^*$ ). El centro amortiguador permite desactivar la energía fotónica a través de una vía no radiativa, que genera el estado de transición  $D^+A^{\cdot-}$ , según se muestra en el Esquema III.3. Mediante el proceso de retrodonación el sistema vuelve al estado fundamental amortiguando así la fluorescencia natural.

En los sensores basados en transferencia de carga intramolecular (ICT), la transferencia de carga intramolecular es un proceso de transferencia de electrones que se produce tras la fotoexcitación en moléculas que normalmente son sistemas conjugados  $\pi$  que presentan un donador de electrones y un aceptor de electrones conectados a través de un puente conjugado  $\pi$ . Este mecanismo da como resultado una característica ratiométrica que permiten señales de relación aumentando así el rango dinámico y proporcionando una corrección incorporada para las interferencias ambientales<sup>44,45</sup>.





**Esquema III.3.** Esquema del orbital que ilustra el amortiguamiento de un fluoróforo fotoexcitado ( $D^*$ ) por un amortiguador en un proceso de transferencia electrónica (PET) de  $D^*$  a A. En este caso el amortiguador tiene tendencia a reducirse. La retro-donación electrónica no radiativa hace que la fluorescencia quede amortiguada.

En la transferencia de carga fotoinducida (PCT), un fluoróforo que contiene un grupo donador de electrones conjugado con un grupo atractor de electrones se somete a transferencia de carga intramolecular desde el donante al aceptor al ser excitado por la luz. El catión acomplejado afecta así la eficiencia de la transferencia de carga intramolecular, ya que reduce el carácter donador y esto provoca una desestabilización del momento dipolar en el estado excitado (cambio de Stokes que depende del microambiente del fluoróforo). Debido a la reducción resultante de la conjugación, se espera un desplazamiento hacia el azul del espectro de absorción junto con una disminución del coeficiente de absorción molar. Por el contrario, un catión que interactúa con el grupo aceptor aumenta el carácter atractor de electrones de este grupo estabilizando el estado excitado. El espectro de absorción se desplaza al rojo y se aumenta el coeficiente de absorción molar<sup>46</sup>.

### III.5. Sensores cromogénicos

Un cromóforo es un grupo de átomos responsables de la absorción en las regiones ultravioleta o visible. De forma general, los sistemas con electrones  $\pi$ , son cromóforos en las regiones UV-Vis y los sistemas con electrones  $\sigma$ , son cromóforos en la región del UV lejano.

Las radiaciones ultravioleta y visible tienen en común que la absorción en ambas regiones provoca la excitación de electrones a niveles de energía superiores. Para excitar a los electrones fuertemente unidos se requiere, en general, fotones energéticos de longitud

de onda corta, mientras que los electrones unidos lábilmente, es decir electrones deslocalizados, que pueden excitarse con radiación de longitud de onda más larga.

Experimentalmente, la eficiencia de absorción de luz a una longitud de onda  $\lambda$  por parte del medio absorbente se caracteriza por la absorbancia (A) (Ecuación III.4) o por la transmitancia (T) (Ecuación III.5).

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = -\log T(\lambda) \quad (\text{Ecuación III.4})$$

$$T(\lambda) = \frac{I_{\lambda}}{I_{\lambda}^0} \quad (\text{Ecuación III.5})$$

Donde  $I_{\lambda}^0$  y  $I_{\lambda}$  corresponden a la intensidad de luz del haz inicial y luego de la absorción respectivamente.

En muchos casos, la absorbancia de las muestras sigue la Ley de Lambert-Beer (Ecuación III.6):

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \varepsilon_{(\lambda)} \cdot l \cdot c \quad (\text{Ecuación III.6})$$

En donde  $\varepsilon_{(\lambda)}$  es el coeficiente de absorción molar ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ),  $c$  es la concentración de la especie absorbente ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), y  $l$  la longitud de la trayectoria de absorción (cm).

El incumplimiento de la dependencia lineal de la absorbancia con la concentración, de acuerdo con la Ley Beer-Lambert, puede deberse a la formación de agregados a altas concentraciones o a la presencia de otras especies absorbentes<sup>35</sup>.

### III.6. Antioxidantes

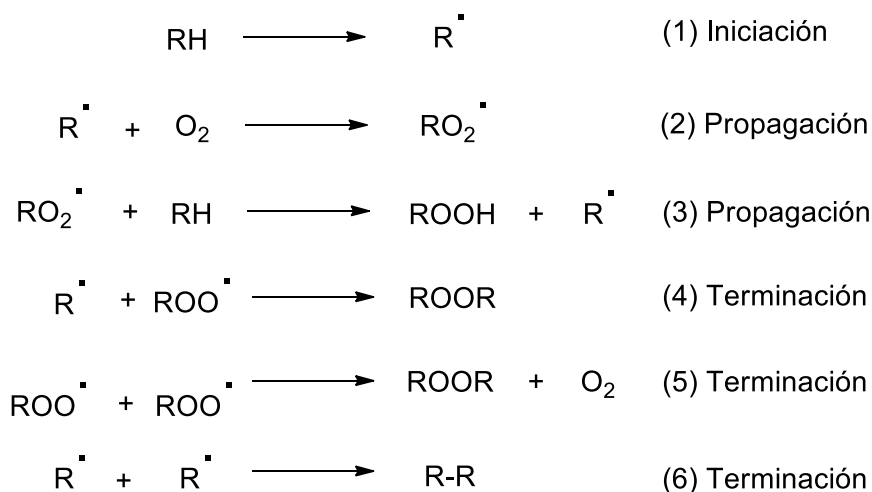
Algunos ligandos simples provenientes de las moléculas plataforma que fueron sintetizados en esta tesis presentan propiedades antioxidantes. Por tales motivos, a continuación se describen los conceptos más relevantes en relación a este tema.

Se conoce que el cuerpo humano tiene un sistema complejo de defensas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas naturales que contrarrestan los efectos nocivos de los radicales libres y otros oxidantes. A estas sustancias que componen el sistema de defensa se les conoce como antioxidantes (AO) y se definen como moléculas que previenen la formación en forma descontrolada de radicales libres (RL) o inhiben sus reacciones con estructuras biológicas<sup>47</sup>.

La función de los AO es interceptar y reaccionar con los radicales libres a un ritmo más rápido que el sustrato. La vía de oxidación en las que los antioxidantes pueden

desempeñar un papel preventivo se ilustra en el Esquema III.4, en donde la transferencia del átomo de H, se cumple para el caso de la peroxidación de ésteres grasos, aceites y grasas. En la etapa de iniciación (1) el radical lipídico, R• se forma a partir del lípido (RH), usualmente por el ataque de radicales, luz, calor, irradiaciones o por trazas de metales. El radical lipídico (R•) formado reacciona rápidamente con oxígeno (2) para dar un radical peroxilo (ROO•), el cual ataca otra molécula de lípido (RH) y sustrae un átomo de hidrógeno para formar un hidroperóxido lipídico (ROOH), y un nuevo radical lipídico, que inicia de nuevo la secuencia de propagación (3). El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación (4-6)<sup>48-50</sup>.

Una vez que se ha generado un radical libre R, entonces las reacciones 2 y 3 forman una reacción en cadena. A medida que la cadena pasa por (2) y (3), muchas moléculas de lípidos (RH) se convierten en hidroperóxido de lípidos (ROOH), dando como resultado la oxidación y la rancidez de las grasas<sup>51</sup>.



**Esquema. III.4.** Ciclo de actuación de los AO.

Los AO ofrecen resistencia contra el estrés oxidativo al atrapar los radicales libres, inhibiendo la peroxidación de ésteres grasos, aceites, grasas, previniendo así la progresión de enfermedades<sup>52</sup>.

Los AO sintéticos de mayor uso en la industria de alimentos y farmacéutica son, el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), los cuales presentan efectos secundarios como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer en células de ratas<sup>48,52</sup>. Estos hallazgos, junto al gran interés del consumidor en el uso de aditivos inocuos para la salud, ha potenciado el uso de compuestos naturales de baja toxicidad en la industria de alimentos. Además, muchos compuestos naturales como mono

y polifenoles con actividad antioxidante, tienen la capacidad de proteger células, membranas y organismos sometidos al estrés oxidativo que pueden causar envejecimiento, enfermedades degenerativas y cáncer, entre otras<sup>48</sup>.

### III.6.1. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una alteración que se produce debido a un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la actividad antioxidante (AAO) del organismo, lo que puede provocar daño<sup>53,54</sup>. La presencia de daño es producto de un aumento de los RL o una disminución de los AO. El estrés oxidativo también se describe como el resultado de una deficiencia de sustancias protectoras naturales o de una excesiva exposición a agentes generadores de RL. En otras palabras, dicho estrés se desencadena cuando los prooxidantes exceden la capacidad AO de un organismo<sup>55</sup>.

### III.6.2. Radicales Libres

Un radical libre se define como cualquier especie química que posea un electrón desapareado<sup>56</sup>. Esta especie es altamente reactiva, de corta vida y son electrofílicos<sup>57</sup>. Son ejemplo de ello, las especies reactivas de oxígeno (ROS) y los radicales superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido ( $ROO^{\cdot}$ ), alcoxilo ( $RO^{\cdot}$ ), hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ), óxido nítrico ( $NO^{\cdot}$ ), siendo los RL alcoxilo e hidroxilo más reactivos que el resto<sup>58</sup>.

Las ROS tienen diferentes roles in vivo. Por un lado, están relacionados con la producción de energía, fagocitosis, regulación del crecimiento de la célula, señalización intercelular, y con la síntesis biológica de importantes compuestos. Sin embargo, también pueden ser muy perjudiciales, ya que atacan los lípidos de las membranas celulares, proteínas en tejidos o enzimas, carbohidratos y el ADN. Este daño oxidativo provoca envejecimiento y enfermedades degenerativas. Los seres humanos tenemos sistemas antioxidantes protectores de radicales libres. Sin embargo, a pesar de estos sistemas de defensa, algunas ROS logran escapar y causar daño.

Debido a la eficiencia incompleta de nuestro sistema de defensa endógeno y a la existencia de situaciones fisiopatológicas (humo de cigarrillo, aire contaminado, radiación UV, dieta con elevados ácidos grasos poliinsaturados, inflamación, etc.) en donde las ROS son producidas en exceso, es necesario incorporar antioxidantes en la dieta para disminuir los efectos acumulativos del daño oxidativo<sup>58</sup>.

Un RL se puede originar por distintos mecanismos:

- Por la división homolítica de un enlace covalente de una molécula, donde cada fragmento retiene uno de los electrones que estaban apareados.
- Por la pérdida de un electrón de una molécula.
- Por la adición de un electrón a una molécula<sup>57,59</sup>.

### III.7. Conclusión

En este capítulo se definieron los conceptos relacionados a los ligandos químicos que fueron sintetizados en estas tesis, los cuales fueron sintetizados con la posibilidad de actuar como sensores químicos y antioxidantes. Se explicaron además algunos conceptos fundamentales de los sensores fluorescentes y cromogénicos, ya que estas propiedades serán analizadas en los capítulos siguientes.

### III.8. Referencias

1. Wu, J., Kwon, B., Liu, W., Anslyn, E. V., Wang, P., Kim, J. S. *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 7893–7943.
2. Lehn, J. *Angew. Chemie Int. Ed. English*, 1988, **27**, 89–112.
3. Thakura, A., Bhatta, S. R., Mondal, B., Kakash, D., Chawla, P. *Sensors Actuators B. Chem.*, 2018, **267**, 617–626.
4. Lo-Presti, M., El-Sayed, S., Martínez-Máñez, R., Costero, A. M., Gil, S., Parra, M., Sancenón, F. *New J. Chem.*, 2016, **11**, 14–17.
5. He, Y., Guo, J., Yang, J., Liu, H., Liu, Y., Zhai, Q., Shen, Q. *Polyhedron*, 2015, **99**, 156–169.
6. Liu, J., Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 12298–12305.
7. Jomova, K., Vondrakova, D., Lawson, M., Valko, M. *Mol Cell Biochem*, 2010, **345**, 91–104.
8. Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., Mahajan, R. T. *Curr. Neuropharmacol.*, 2009, **7**, 65–74.
9. Massaro, E. J. *Copper Pharmacology and Toxicology*, Humana Press, 2002.
10. Kim, H., Beom, K., Joo, E., Hong, I., Young, J., Kim, P., Jeong, K., Kim, C. *Inorg. Chem. Commun.*, 2013, **36**, 72–76.
11. Llopis, L. S., Díez, F. B. *Rev. Esp. Salud Pública*, 2002, **76**, 645–658.
12. Nayak, P. *Environ. Res. Sect. A*, 2002, **115**, 101–115.
13. Yokel, R. A., McNamara, P. J. *Pharmacol. Toxicol.*, 2001, **88**, 159–167.
14. Mariappan, K., Alaparathi, M., Caple, G., Balasubramanian, V., Ho, M. M., Hudspeth, M., Sykes, A. G. *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 2953–2962.
15. Klausner, R. D., Renswoude, J. Van, Ashwell, G., Kempf, C., Schechterg, A. N., Dean, A., Bridges, K. R. *J. Biol. Chem.*, 1983, **258**, 4715–4724.
16. Chen, X., Pradhan, T., Wang, F., Kim, J. S., Yoon, J. *Chem. Rev.*, 2012, **112**, 1910–1956.
17. Huang, K., Yang, H., Zhou, Z., Yu, M., Li, F., Gao, X., Yi, T., Huang, C. *Org. Lett.*, 2008, **10**, 2557–2560.
18. Ravia, J. J., Stephen, R. M., Ghishan, F. K., Collins, J. F. *J. Biol. Chem.*, 2005, **280**, 36221–36227.
19. Que, E. L., Domaille, D. W., Chang, C. J. *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 1517–1549.
20. Walkup, G. K., Imperiali, B. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 3053–3054.
21. Ming-Yan, J., Liang, F. *Chinese J. Anal. Chem.*, 2013, **41**, 795–802.
22. Martínez-Máñez, R., Sancenón, F. *J. Fluoresc.*, 2005, **15**, 267–285.

23. Lehn, J. Design of Organic Complexing Agents. Strategies towards Properties, 1973.
24. Kyba, E. P., Siegel, M. G., Kaplan, L., Cram, D. J. 1977, **42**.
25. Schalley, C. Analytical Methods in Supramolecular Chemistry, Wiley-VCH, 2007.
26. Committee, A. M. *Analyst*, 1987, **112**, 199–204.
27. Kaifer, A., Gomez-kaifer, M. Supramolecular Electrochemistry, Wiley-VCH, 1999.
28. Balamurugan, R., Liu, J., Liu, B. *Coord. Chem. Rev.*, 2018, **376**, 196–224.
29. Gavrilenko, N. A., Saranchina, N. V, Gavrilenko, M. A. *Procedia Chem.*, 2014, **10**, 97–102.
30. Wiskur, S. L., Ait-Haddou, H., Lavigne, J. J., Anslyn, E. V *Acc. Chem. Res.*, 2001, **34**, 963–972.
31. Kaur, K., Saini, R., Kumar, A., Luxami, V., Kaur, N., Singh, P., Kumar, S. *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 1992–2028.
32. Pati, P. B. *Sensors Actuators B. Chem.*, 2016, **222**, 374–390.
33. Chemodosimeter, A. L. F., Dujols, V., Ford, F., Czarnik, A. W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 7386–7387.
34. Gómez-Moliné, M. R., Alegret, S. *Educ. Quim.*, 1997, **8**, 191–196.
35. Valeur, B. Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Wiley-VCH, 2001, vol. 8.
36. Liu, S., Wang, Y.-M., Han, J. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem.*, 2017.
37. Alzate, D. M., Rodríguez, R., Sierra, C. A. *Rev. Colomb. Química*, 2010, **39**, 1–9.
38. Malashikhin, S. A., Baldrige, K. K., Finney, N. S. 2010, 1536–1539.
39. Wu, J., Liu, W., Ge, J., Zhang, H., Wang, P. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 3483–3495.
40. Mccusker, J. K. *Acc. Chem. Res.*, 2003, **36**, 876–887.
41. Desvergne, J. P. , Czarnik, A. W. Chemosensors of Ion and Molecule Recognition, 1997.
42. Weller, A. *Max-Planck-Institut für Spektrosk.*, 1968, 115–123.
43. Rehm, D., Weller, A. *Isr. J. Chem.*, 1970, **8**, 259–271.
44. Sun, W., Guo, S., Hu, C., Fan, J., Peng, X. *Chem. Rev.*, 2016, **16**, 7768–7817.
45. Udhayakumari, D. *Sensors Actuators B. Chem.*, 2017, **259**, 1022–1057.
46. Valeur, B., Leray, I. *Coord. Chem. Rev.*, 2000, **205**, 3–40.
47. Alam, N., Bristi, N. J. *Saudi Pharm. J.*, 2013, **21**, 143–152.
48. Rojano, B. A., Gaviria, C. A., Sáez, J. A. *Rev. La Fac. Química Farm.*, 2008, **15**, 212–218.
49. Corrales, L. C., María, M., Ariza, M. *Nova*, 2012, **10**, 213–225.
50. Laguerre, M., Lecomte, J., Villeneuve, P. *Prog. Lipid Res.*, 2007, **46**, 244–282.
51. Wright, J. S., Johnson, E. R., Dilabio, G. A. *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 1173–1183.
52. Sasikumar, V., Kalaisezhiyen, P. *Biochem. Anal. Biochem.*, 2014, **3**.
53. Kehrer, J. P. *Crit. Rev. Toxicol.*, 1993, **23**, 21–48.
54. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. *WAO J.*, 2012, **5**, 9–19.
55. End, J. K. M., Brzezinska-Slebodzinska, E., Madsen, F. C. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2812–2823.
56. Larkins, N. J. *J. equine Vet. Sci.*, 1999, **19**, 84–85.
57. Cheeseman, K. H., Slater, T. F. *Br. Med. Bull.*, 1993, **49**, 481–493.
58. Pietta, P. *J. Nat. Prod.*, 2000, **63**, 1035–1042.
59. Halliwell, B., Chirico, S. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2018, **57**, 715S–725S.

## **CAPÍTULO IV**

---

### **Síntesis y caracterización de ligandos químicos**





### IV.1. Introducción

Los compuestos bifenílicos consisten en dos anillos aromáticos unidos mediante un enlace covalente. Dichos compuestos interesan por dos razones: a) están compuestos por dos anillos aromáticos acoplados por un solo enlace carbono-carbono, de manera que sus niveles de energía y comportamiento dinámico pueden ser pensados en términos de interacciones<sup>1</sup>; b) la estructura y dinámica conformacional da una idea del comportamiento de moléculas no rígidas<sup>2</sup>.

Los sistemas bifenílicos son importantes intermediarios de síntesis orgánica y constituyen la estructura base de un amplio rango de compuestos con aplicaciones en la industria química<sup>3</sup>. En especial, en esta tesis se estudió su aplicación en la síntesis de moléculas activas, con propiedades antioxidantes y sensoras de cationes metálicos de interés medioambiental.

Como antioxidantes, dichos sistemas bifenílicos sustituidos presentan la capacidad de eliminar el peróxido de hidrógeno, el óxido nítrico y pueden inhibir la peroxidación lipídica<sup>4</sup>.

Teniendo en cuenta sus propiedades sensoras, el espectro de fluorescencia de bifenilos en solución es estructurado, mientras que el espectro de absorción es amplio y desestructurado. Estas formas son características de un cromóforo que en el estado fundamental tiene estructura no planar, mientras que en el primer estado excitado singulete su estructura es más plana y lineal. De un estudio del espectro de fosforescencia del bifenilo y de los estudios de acomplejamiento, Wagner concluyó que el bifenilo es planar en el estado triplete. También es necesario considerar que los sustituyentes cambiarán la conformación de cualquiera de los estados y por lo tanto alterarán sus características<sup>5</sup>. Es por esto, que el uso de estructuras tipo bifenilo en la síntesis de sensores químicos es interesante por sus características de cambios en el ángulo diedro que se forma entre los dos ciclos en presencia de acomplejamiento. Estas características conformacionales permiten que durante el proceso de complejación entre el ligando y el ión se modifique el ángulo diedro y con ello sus propiedades químicas<sup>6-9</sup>. La naturaleza de la interacción metal-ligando (M-L) es bastante fuerte y posee un carácter direccional. Así, estos ligandos, se pueden usar como receptores para el reconocimiento de sustratos que presentan tendencias de coordinación<sup>10</sup>.

## IV.2. Síntesis de las moléculas activas

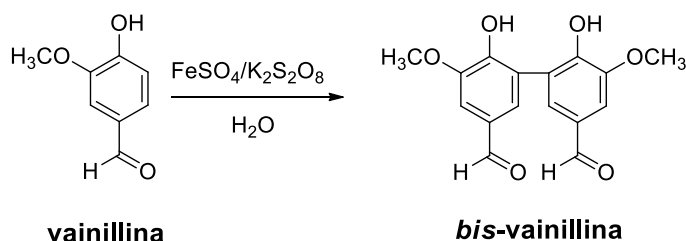
Teniendo en cuenta lo descrito en la introducción, a continuación se presentan las rutas de síntesis de las moléculas activas (MA). Definiendo como MA a todos los productos sintetizados. Aquellas MA que presenten actividad como antioxidantes o como sensores químicos se denominarán ligandos químicos.

Las moléculas activas fueron sintetizadas a partir de las moléculas plataforma vainillina, eugenol y cinamaldehído. A dichas moléculas se les evaluó su capacidad como antioxidantes (AO). Mientras que las propiedades quimiosensoras fueron evaluadas para las hidrazonas y semicarbazonas obtenidas a partir de la molécula plataforma de vainillina.

A continuación se describen las síntesis de las MA.

### IV.2.1. Síntesis de 5, 5'-bis-vainillina (BVA)

La 5,5'-bis-vainillina [6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-dicarbaldehído] fue sintetizada por acoplamiento radicalario oxidativo de la vainillina, Esquema IV.1. Dicha reacción se realizó mediante el agregado de sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ) y persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) a una solución de vainillina<sup>11</sup>. El dímero BVA posee su unión en las posiciones orto respecto a los grupos hidroxilo fenólicos de las moléculas de vainillina (V).



Esquema IV.1. Síntesis de la 5,5'-bis-vainillina.

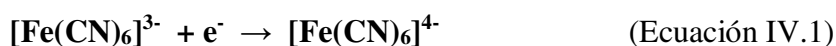
#### IV.2.1.1. Descripción de la síntesis de BVA

La preparación de bis-vainillina<sup>12</sup> se llevó a cabo en un balón conteniendo 100 mL de agua destilada. Al mismo se le agregó bajo agitación, 30,37 mmol de vainillina y 0,46 mmol de sulfato ferroso, observando una coloración violácea. Luego de mantener el sistema bajo agitación durante 15 min, se le adicionó 5,85 mmol de persulfato de potasio observándose una coloración verdosa. La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación a 70 °C durante 5 días, y con el transcurso del tiempo se formó un precipitado marrón. El progreso de la reacción fue monitoreado por TLC usando metanol como fase móvil. El producto obtenido luego de los 5 días, se filtró y se secó en estufa a baja temperatura ( $T < 40$  °C).

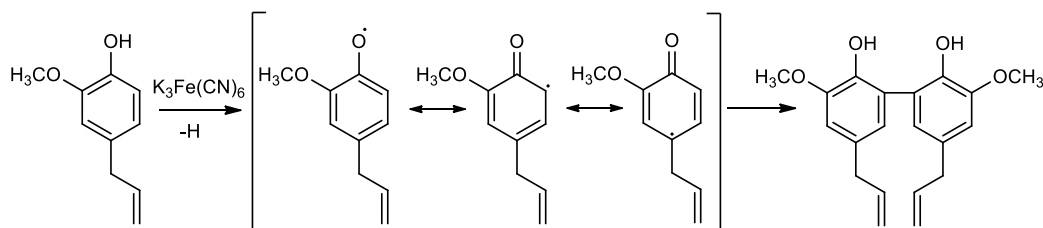
### IV.2.2. Síntesis de 5, 5'-bis-eugenol (BEG)

La molécula de eugenol posee un grupo hidroxilo fenólico que posibilita la síntesis sencilla de 5,5'-bis-eugenol [5,5'-dialil-3,3'-dimetoxi-(1,1'-difenil)-2,2'-diol] por medio de una reacción de acoplamiento oxidativo. Entre los agentes más empleados, para dicha reacción, se destacan los compuestos de hierro, como el tricloruro de hierro ( $\text{FeCl}_3$ ) o  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ .

El ferricianuro/ferrocianuro es un sistema único debido a que su potencial redox no se ve afectado por cambios en el pH. Excepto en soluciones ácidas fuertes, su capacidad oxidante es algo superior en medios alcalinos que en medios ácidos. La especie compleja ferricianuro actúa abstrayendo electrones, en un proceso similar a aquello que sucede en la cadena citocrómica de los sistemas biológicos, según la Ecuación IV.1:



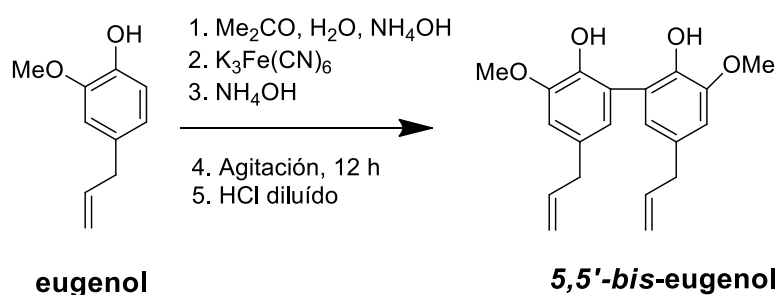
En cuanto al eugenol, el radical obtenido en el proceso sufre un acoplamiento radicalario para generar el correspondiente dímero, según el Esquema IV.2:



**Esquema IV.2.** Acoplamiento radicalario del eugenol.

#### IV.2.2.1. Descripción de la síntesis de BEG

La síntesis del 5,5'-bis-eugenol, se realizó siguiendo la técnica de Farias Dias<sup>13</sup>, según Esquema IV.3. Para ello, se disolvió eugenol (18 mmol) en 60 mL de acetona y 30 mL de agua destilada. Se agregó 40 mL de hidróxido de amonio al 28 %, agitando la mezcla durante 10 min hasta desarrollo de color verde. A esta mezcla se le agregó gota a gota, durante 5 h, una solución saturada de ferricianuro de potasio. Transcurrido este tiempo, se le agregó 40 mL de hidróxido de amonio al 28 %, se dejó la reacción a reflujo durante 12 h a temperatura ambiente y con agitación. La reacción se neutralizó con ácido clorhídrico al 10 %. El sólido obtenido se filtró, se lavó con agua destilada y se secó. Se realizó una recrystalización con etanol absoluto para purificar el producto.

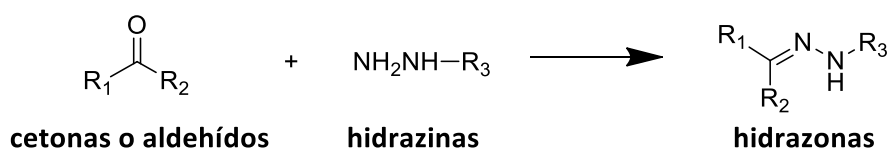


**Esquema IV.3.** Síntesis del 5,5'-bis-eugenol.

### IV.2.3. Reacciones de condensación con compuestos nitrogenados

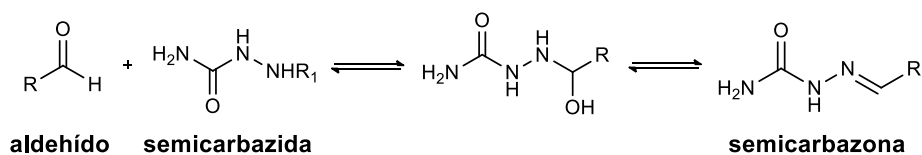
Las reacciones de condensación con compuestos nitrogenados dan como productos hidrazonas y semicarbazonas. Éstos compuestos son utilizados en el desarrollo de sensores químicos fotométricas y fluorimétricas de iones metálicos y lantánidos, debido a su capacidad para coordinar iones de metales de transición y formar complejos altamente coloreados<sup>14-16</sup>.

Las hidrazonas se pueden formar fácilmente por la condensación entre una hidracina y una cetona o aldehído<sup>17</sup>, Esquema IV.4. Esta reacción dará un producto cristalino, el cual precipita facilitando así la etapa de purificación posterior.



**Esquema IV.4.** Síntesis de hidrazonas por condensación entre hidrazinas y aldehídos/cetonas.

Por su parte, las semicarbazonas se obtienen por condensación de una semicarbazida con aldehídos o cetonas (Esquema IV.5). La capacidad de coordinación se le atribuye a la extensión de la deslocalización de la densidad de electrones sobre la cadena de semicarbazona<sup>18</sup>.

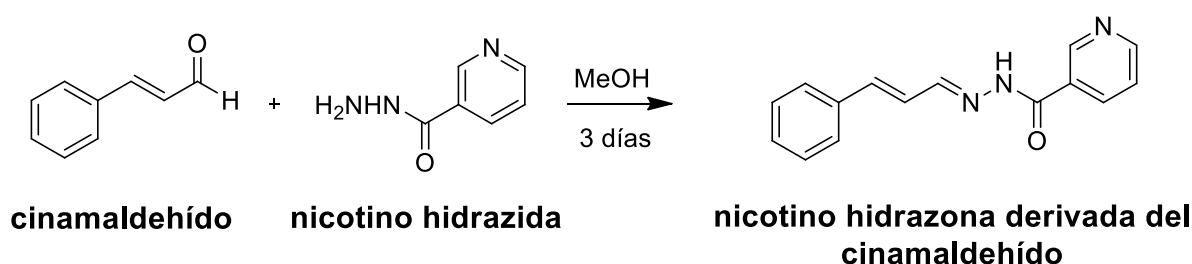


**Esquema IV.5.** Condensación de semicarbazidas con aldehídos para formar semicarbazonas.

Las reacciones de condensación planteadas implican, en una primera etapa, el ataque nucleofílico del compuesto nitrogenado al grupo carbonilo. El medio tiene que ser ligeramente ácido para asegurar la protonación del oxígeno carbonílico, pero debe ser controlado de manera de evitar la protonación de los nitrógenos amínicos. En una segunda etapa, se produce la eliminación de agua.

#### IV.2.3.1. Síntesis de nicotino hidrazona del cinamaldehído (HCH)

La nicotino hidrazona de cinamaldehído, {(E)-N'-[(E)-3-penilalilideno]nicotino hidrazida}, fue sintetizada por condensación de la nicotino hidrazida con cinamaldehído, según el esquema presentado en la Esquema IV.6.

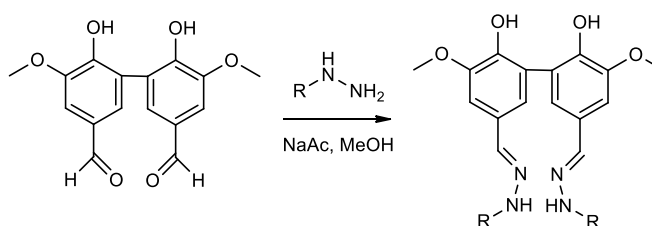


##### IV.2.3.1.1. Descripción de la síntesis de HCH

La preparación de HCH se llevó a cabo a temperatura ambiente en un balón conteniendo 50 mL de metanol, donde se agregó bajo agitación, 2,0 mmol de cinamaldehído y 2,0 mmol de nicotino hidrazida. Luego de mantener el sistema bajo agitación durante 3 días, se observó la formación de un precipitado rojizo. El producto obtenido, se filtró y se secó en estufa a 40 °C.

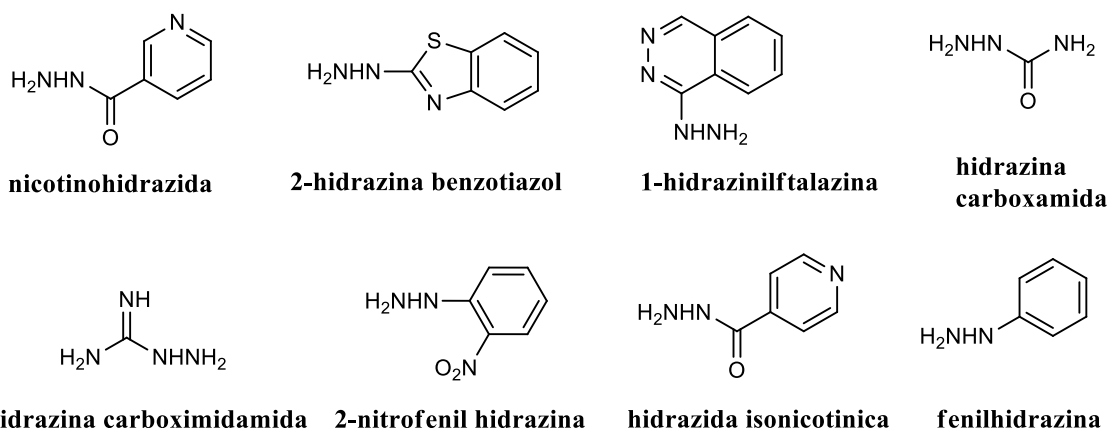
#### IV.2.4. Síntesis de las hidrazonas y semicarbazonas de BVA

La síntesis de las MA a partir de la BVA para ser utilizadas como sensores químicos, se realizaron por condensación de hidrazinas y semicarbazidas según se muestra en el Esquema IV.7.



**Esquema IV.7.** Reacción de obtención de las MA derivados de la *bis*-vainillina.

Las hidrazinas y semicarbazidas utilizadas son las detalladas en la Esquema IV.8:



**Esquema IV.8.** Hidrazinas y semicarbazidas empleadas en las síntesis de los receptores.

En la página siguiente se esquematiza la reacción de condensación correspondiente entre la *bis*-vainillina y cada una de las hidrazinas y semicarbazidas (Esquema IV.9).

#### IV.2.4.1. Descripción de la síntesis de las hidrazonas y semicarbazonas de BVA

La síntesis de las MA derivadas de la BVA se realizó colocando una pequeña cantidad de etanol absoluto en un erlenmeyer, de manera de que solubilice 0,66 mmol de BVA (Solución 1). En un balón se colocó 10 mL de agua destilada, luego se adicionó en el siguiente orden 1,32 mmol de la correspondiente hidrazina o semicarbazida y 22,55 mmol de acetato de sodio (Solución 2). Se agregó la solución 1 a la 2 bajo agitación. Este sistema se mantuvo a reflujo en un baño de glicerina durante 4 días. Los compuestos formados fueron sólidos de variados colores, los cuales fueron filtrados al vacío y purificados por recristalización. El seguimiento de las reacciones se realizó por TLC usando metanol como fase móvil. Una vez obtenidos y purificados los sólidos, se llevaron a estufa a temperatura moderada (< 35°C). Luego se secaron en pistola de secado.

#### IV.3. Caracterización de las moléculas activas sintetizadas

Las moléculas activas fueron caracterizadas por diferentes técnicas. En especial se determinó para cada compuesto sintetizado: el punto de fusión; evaluación de los grupos funcionales y composición química por FTIR y RMN, respectivamente.

Los datos obtenidos de la caracterización de los compuestos se detallan en las Tablas IV.1 a IV.11.

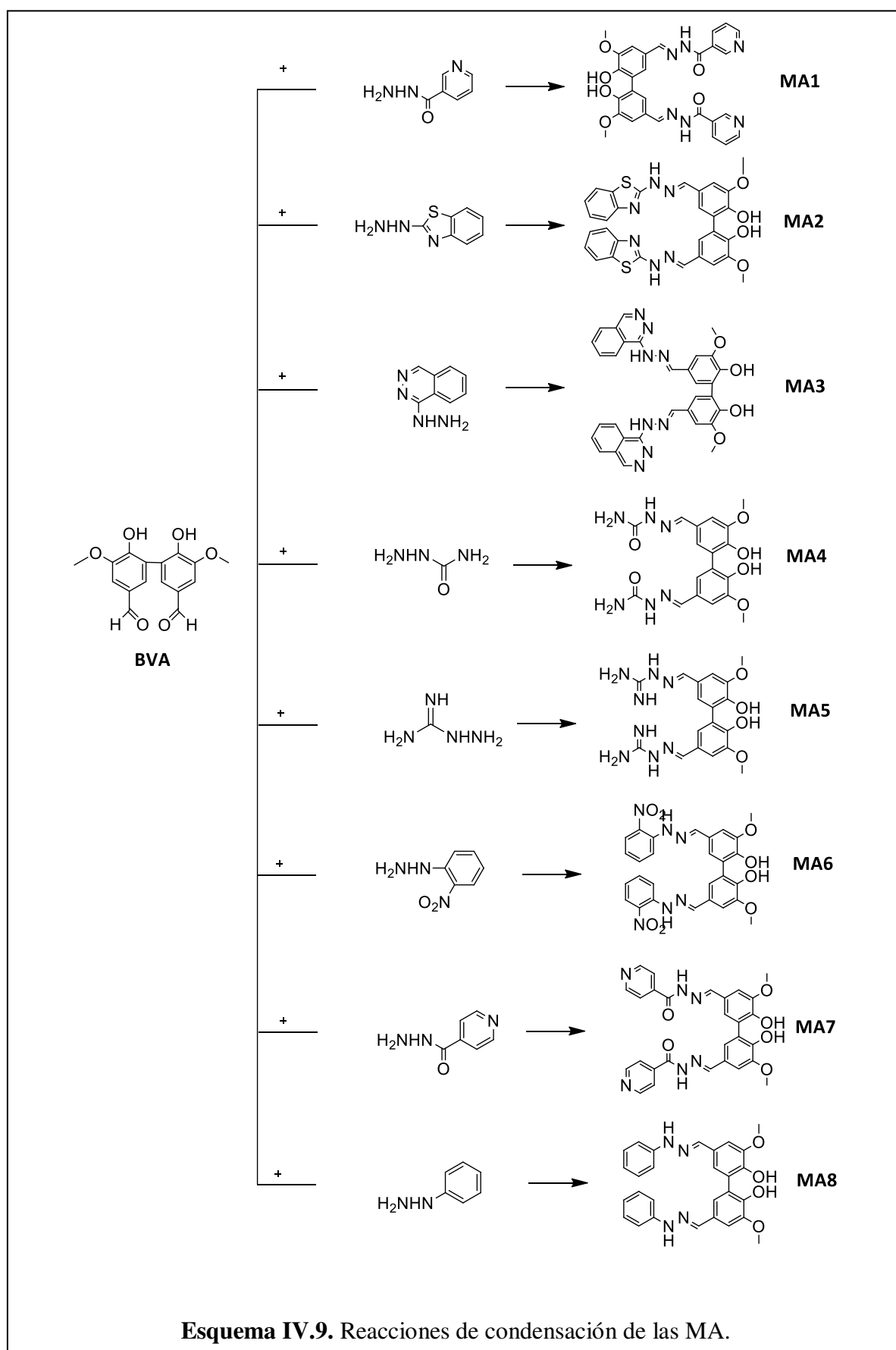


Tabla IV.1. Caracterización de la 5,5'-bis-vainillina

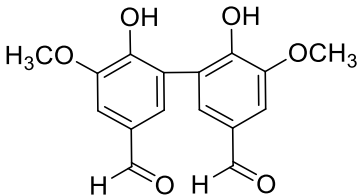

<b>Compuesto: 5,5'-bis-vainillina</b> <b>[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-dicarbaldehído]</b>	
 	
Rendimiento	88%
PF	300 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO; poco soluble en EtOH, MeOH, ACN, AcOEt, EtOEt
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3264,2 (OH), 1674,2 (C=O), 1587,4 (C=C <sub>Ar</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) $\delta$ (ppm)	9,71 (s, 2H, CHO); 7,36 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,32 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 5,21 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -OH); 3,83 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) $\delta$ (ppm)	192 (CHO); 158 (C1); 150 (C2); 110 (C3); 128 (C4); 125 (C5); 129 (C6); 56 (CH <sub>3</sub> )

Tabla IV.2. Caracterización del 5,5'-bis-eugenol

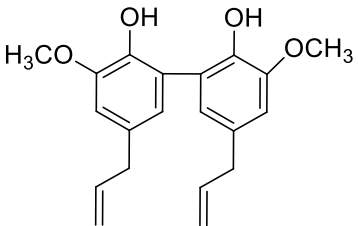

<b>Compuesto: 5,5'-bis-eugenol</b> <b>5,5'-dialil-3,3'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol</b>	
 	
Rendimiento	95%
PF	110 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO; poco soluble en EtOH, MeOH, ACN, AcOEt, EtOEt
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3530 (OH); 2885 (=CH); 2880 (-CH <sub>2</sub> -); 2850 (-OCH <sub>3</sub> ); 1665 (C=C); 1620 (C=C <sub>Ar</sub> ); 1470 (C=C <sub>Ar</sub> ); 1370 (C=C <sub>Ar</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (Acetona-d <sub>6</sub> , 300 MHz) $\delta$ (ppm)	6,82 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 6,72 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 6,01 (m, 2H, HC=C); 5,34 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -OH); 5,11 (d, 2H, HC=C); 5,02 (d, 2H, HC=C); 3,87 (s, 6H, CH <sub>3</sub> ); 3,35 (d, 4H, CH <sub>2</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) $\delta$ (ppm)	150,3 (C1); 140 (C2); 110 (C3); 132 (C4); 125 (C5); 128 (C6); 56 (OCH <sub>3</sub> ); 40 (CH <sub>2</sub> ); 136 (HC=C); 116 (HC=C)



Tabla IV.3. Caracterización de MA1

<p align="center"><b>Compuesto: MA1</b>  <b>Nicotinohidrazida doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>(N',N'''E,N',N'''E)-N',N'''-{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanilideno)}di(nicotino hidrazida)</b></p>	
	 
Rendimiento	88%
PF	280 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en EtOH, MeOH, AcOEt
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	12,00 (s, 2H, NH); 9,01 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,72 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,31 (s, 2H, HC=N); 8,22 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,55 (dd, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,39 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,10 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,90 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> ).
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 125 MHz) δ(ppm)	162 (C=O); 152 (C-4'); 150 (C-2), 149 (HC=N); 148 (C-5'); 146 (C-4); 135 (C-2'); 130 (C-5); 126 (C-1'); 125 (C-6); 124 (C-1); 123 (C-3'); 108 (C-3); 56 (OCH <sub>3</sub> ); 150 (C1).
HRMS m/z	Calculado para C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> 540,1757; hallando (M+1): 541,1863

Tabla IV.4. Caracterización de MA2

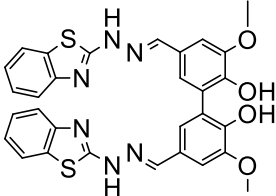

<p align="center"><b>Compuesto: MA2</b>  <b>Benzotiazol hidrazona doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>5,5'-bis(E)-[2-(benzo[d]tiazol-2-il)hidrazonometil]-3,3'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol</b></p>	
	 
Rendimiento	81%
PF	280 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en EtOH, AcOEt
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	12,10 (s, 2H, NH); 9,00 (s, 2H, OH); 8,08 (s, 2H, HC=N); 8,11 (m, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,00 (m, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,55 (dd, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,39 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,10 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,93 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	167 (C-1'); 150 (C-3); 148 (C-4); 146 (HC=N); 127 (C-2' y C-7'); 126 (C-1); 125 (C-5); 123 (C-3' and C-6'); 122 (C-6); 121 (C-2'); 109 (C-2); 56 (OCH <sub>3</sub> )
HRMS m/z	Calculado para C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub> 596,1300; hallando (M+1): 597,1379

Tabla IV.5. Caracterización de MA3

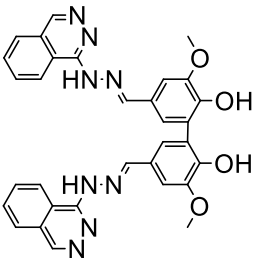

<p align="center"><b>Compuesto: MA3</b>  <b>Hidralazona doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>3,3'-dimetoxi-5,5'-bis[(E)-(2-(ftalazina-1-il)hidrazonometil)-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol</b></p>	
	
Rendimiento	90%
PF	285 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en AcOEt
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3420 (O-H); 1678 (C=N); 1615 (C=C); 1595 (C=C <sub>Ar</sub> ); 1570 (C=C <sub>Ar</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	8,77 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,23 (s, 2H, HC=N); 7,95 (m, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,88 (m, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,47 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,58 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 4,03 (s, 2H, NH); 3,41 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )

Tabla IV.6. Caracterización de MA4

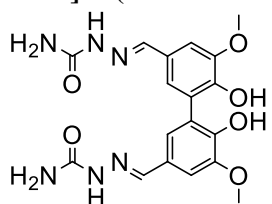

<p align="center"><b>Compuesto: MA4</b>  <b>Semicarbazida doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>(2E,2'E)-2,2'-{[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}bis(hidrazina carboxamida)</b></p>	
	
Rendimiento	97%
PF	290 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en CCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> , AcOEt Insoluble en EtOH, MeOH, CCl <sub>3</sub> H
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3499,8 y 3391,2 (NH <sub>2</sub> amida); 1673, (C=O amida); 1585,3 (C=C <sub>Ar</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	10,00 (s, 2H, NH); 8,74 (s, 2H, OH); 7,76 (s, 2H, HC=N); 7,39 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 6,97 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 6,45 (s, 4H, NH <sub>2</sub> ); 3,89 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	161 (C=O); 154 (HC=N); 151 (C-3); 144 (C-4); 125 (C-6); 124 (C-1); 121 (C-5); 114 (C-2); 56 (OCH <sub>3</sub> )
HRMS <i>m/z</i>	Calculado para C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> 416,1444; hallando (M+1): 417,1732

Tabla IV.7. Caracterización de MA5

<p align="center"><b>Compuesto: MA5</b>  <b>Aminoguanidina doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>(2E,2'E)-2,2'-[[6,6'-dihidroxi-5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}bis(hidrazina carboximidamida)</b></p>	
	
Rendimiento	93%
PF	290 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en MeOH, AcOEt
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	11,93 (s, 4H, NH <sub>2</sub> ); 9,00 (s, 2H, NH); 8,08 (s, 2H, HC=N); 7,51 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,19 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,91 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	156 (C=NH); 149 (HC=N); 148 (C-3); 147 (C-4); 126 (C-5); 125 (C-6); 124 (C-1); 114 (C-2); 57 (OCH <sub>3</sub> )
HRMS <i>m/z</i>	Calculado para C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>8</sub> O <sub>4</sub> 414,1764; hallando: (M+1): 415,1836

Tabla IV.8. Caracterización de MA6

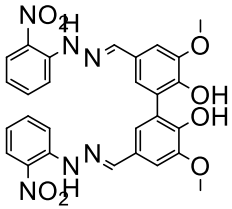

<p align="center"><b>Compuesto: MA6</b>  <b>o-nitrofenil hidrazona doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>3,3'-dimetoxi-5,5'-bis{(E)-[2-(2-nitrofenil)hidrazono]metil}-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol</b></p>	
	
Rendimiento	85%
PF	278 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en EtOH, MeOH, AcOEt, ACN, CCl <sub>3</sub> H
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	1601 (C=C <sub>Ar</sub> ); 1540 y 1470 (-NO <sub>2</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	11,5 (s, 2H, NH); 8,54 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,00 (m, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,95 (m, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,73 (d, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,45 (s, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,85 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> ); 9,00 (s, 2H, NH); 8,08 (s, 2H, HC=N); 7,51 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,19 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,91 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )

Tabla IV.9. Caracterización de MA7

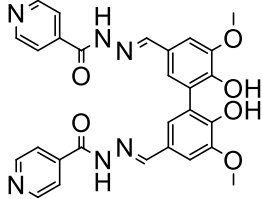

<p align="center"><b>Compuesto: MA7</b>  <b>Isoniazida doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>(N',N'''E,N',N'''E)-N',N'''-{[6,6'-dihidroxi5,5'-dimetoxi-(1,1'-bifenil)-3,3'-diilo]bis(metanililideno)}di(hidrazida isonicotínica)</b></p>	
 	
Rendimiento	85%
PF	280 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO Poco soluble en AcOEt
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	3210 (O-H); 1652 (C=N, C=O); 1594 (C=C); 1550 (C=C <sub>Ar</sub> )
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	8,77 (d, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 8,31 (s, 2H, HC=N); 7,86 (d, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,73 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,36 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,9 (s, 2H, NH); 5,66 (s, 2H, OH); 3,84 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	162,1 (C=O); 151 (C3',5'); 150 (HC=N); 148 (C3); 146 (C4); 141 (C1); 125 (C6); 124,5 (C5); 124 (C1); 122 (C2', 6'); 108 (C2); 56 (OCH <sub>3</sub> )

Tabla IV.10. Caracterización de MA8

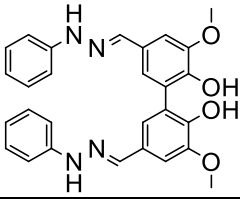

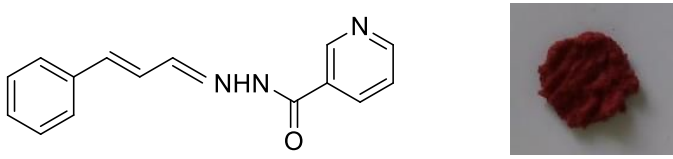
<p align="center"><b>Compuesto: MA8</b>  <b>Fenilhidrazona doble derivada de la 5,5'-bis-vainillina</b>  <b>3,3'-dimetoxi-5,5'-bis[(E)-(2-fenilhidrazono)metil]-(1,1'-bifenil)-2,2'-diol</b></p>	
 	
Rendimiento	70%
PF	185 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO, AcOEt, ACN, CCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Poco soluble en EtOH, MeOH
IR (KBr) $\bar{\nu}_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	1675 (C=N); 1259 (N-H), 1600 (C=C aromático)
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	8,88 (s, 2H, NH); 7,90 (s, 2H, HC=N); 7,65 (d, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,52 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,29 (t, 4H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,13 (s, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 7,01 (t, 2H, C <sub>Ar</sub> -H); 3,95 (s, 6H, OCH <sub>3</sub> )
<sup>13</sup> C RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	148 (HC=N); 146 (C-3), 142 (C-4); 139 (C-4'); 129 (C-3'); 126 (C-6); 125 (C-1'); 124 (C-5); 123 (C-1); 120 (C-2'); 109 (C-2); 57 (OCH <sub>3</sub> )
HRMS <i>m/z</i>	Calculado para C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> 482,1954; hallando (M+1): 483,2013

Tabla IV.11. Caracterización de HCH

<b>Compuesto HCH: Nicotino hidrazona derivada de cinamaldehído (E)-N'-[(E)-3-penilalilideno]nicotino hidrazida</b>	
	
Rendimiento	75%
PF	290 °C
Solubilidad	Soluble en DMSO; poco soluble en EtOH, MeOH, ACN, AcOEt, EtOEt
<sup>1</sup> H RMN (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz) δ(ppm)	8,99 (s, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 8,68 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 8,20 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,57 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,56 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,48 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,38 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,30 (m, H, C-H <sub>Ar</sub> ); 7,20 (d, H, HC=C); 6,98 (s, H, NH); 6,83 (d, H, HC=C)
HRMS m/z	Calculado para C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O 251,28 hallando (M+1): 251,11

#### IV.4. Estudio de la actividad antioxidante de las MA

Desde hace tiempo la industria alimentaria centró su atención en los problemas relacionados a la rancidez y el deterioro oxidativo de los alimentos. La oxidación enzimática, así como la autooxidación de lípidos durante el almacenamiento y el procesamiento, es la principal reacción responsable del deterioro en la calidad de los alimentos que afecta el sabor, el color, la textura, y el valor nutritivo de los mismos. De manera que los antioxidantes se agregan a los alimentos para prevenir las reacciones de oxidación mediante la inhibición en las etapas de inicio y propagación, conduciendo así a un retraso en el proceso de oxidación. Sin embargo, los antioxidantes sintéticos ampliamente usados tales como el BHA y el BHT están siendo cuestionados por posibles efectos tóxicos y carcinógenos. Por lo tanto, existe un interés considerable por parte de la industria y de los consumidores por los AO naturales sobre los AO sintéticos<sup>19</sup>. Debido a esto, en la presente tesis, se plantea la búsqueda de nuevas moléculas activas que presenten actividad antioxidante.

Para ello, se determinó la actividad antioxidante de las MA: 5,5'-bis-vainillina, 5,5'-bis-eugenol y nicotino hidrazona de cinamaldehído, y se las comparó con la AAO de las moléculas plataforma precursoras: vainillina, eugenol y cinamaldehído, de las cuales hay referencias<sup>20-22</sup>. Como procedimiento de análisis de la AAO se utilizó el método de fosfomolibdeno (MFM). El mismo corresponde a un método espectroscópico para la

determinación cuantitativa de la AAO, a través de la formación del complejo fosfomolibdeno.

El ensayo se basa en la reducción de Mo(VI) a Mo(V) por el analito de la muestra y la posterior formación de un complejo verde de fosfato de Mo(V) a pH ácido. La disminución de la absorbancia es directamente proporcional a la AAO de la muestra. La AAO se calcula como el porcentaje de inhibición relativo al control<sup>23,24</sup> a través de la Ecuación IV.2:

$$\%I = \left[ 1 - \left( \frac{A_S - A_{S120}}{A_C - A_{C120}} \right) \right] \cdot 100\% \quad (\text{Ecuación IV.2})$$

Donde:

$A_S$  = absorbancia inicial de la muestra

$A_{S120}$  = absorbancia de la muestra a los 120 min

$A_C$  = absorbancia inicial del control

$A_{C120}$  = absorbancia del control a los 120 min

#### IV.4.1. Descripción de la evaluación de AAO de las MA

Inicialmente, se prepararon las soluciones de las moléculas en etanol a cuatro niveles de concentración molar: 2 mM, 4 mM, 6 mM, 8 mM. Luego, se agregó a un tubo de ensayo en el siguiente orden: 1 ml de la solución de muestra (V, BVA, E, BEG, C, HCH) y 9 ml de solución reactiva (0,6 M ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sodio, 4 mM de molibdato de amonio). Posteriormente las muestras se incubaron a 95 °C durante 90 min. Completado ese tiempo, se enfriaron a temperatura ambiente, y se midió la absorbancia a 695 nm contra un blanco. El blanco, formado por 1 ml de la solución reactiva y 9 ml de etanol, se incubó en las mismas condiciones que el resto de las muestras. También se midió la AAO del antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) a los fines de poder comparar dicha actividad entre un AO natural y un AO sintético. Los ensayos se realizaron por duplicado y se calculó su desviación estándar.

#### IV.4.2. Resultados de la evaluación de AAO de las MA

Gran número de investigaciones realizadas a nivel mundial sustentan que las propiedades antioxidantes y cardioprotectoras de los polifenoles se deben principalmente a que sus propiedades óxido–reductoras les permiten actuar como agentes donadores de hidrógeno y estabilizadores de radicales libres, implicados en la cadena de peroxidación lipídica, además de sus propiedades de quelación de hierro y metales de transición<sup>25</sup>. En

este sentido, los resultados obtenidos de las moléculas evaluadas respecto a su propiedad antioxidante se presentan en la Tabla IV.12 y Figura IV.1.

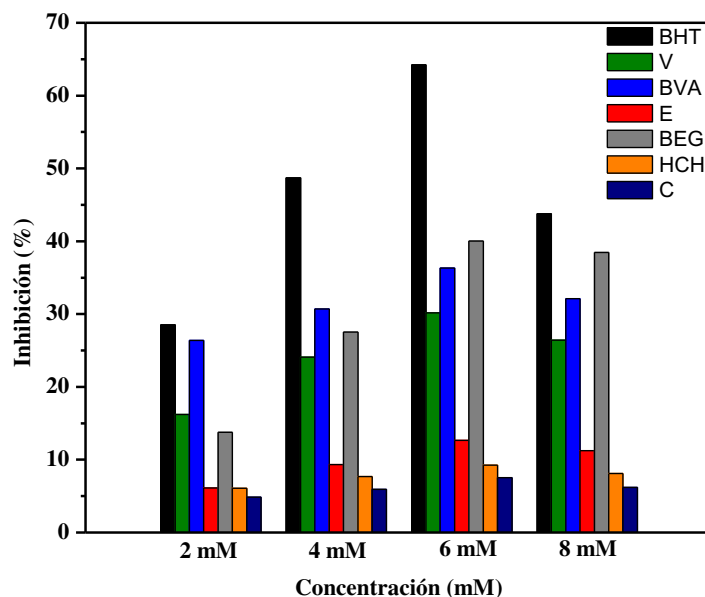
Al comparar la AAO de las MA estudiadas con la del estándar de referencia seleccionado, BHT, se observa que si bien la AAO del BHT es superior a la del resto, se obtuvieron muy buenos resultados con la BVA y el BEG.

Para la vainillina, *bis*-vainillina y BHT, la actividad antioxidante disminuyó en el siguiente orden: BHT > BVA > V. El efecto inhibitor de la vainillina dimerizada es mayor que el de la vainillina monomérica y corresponde a un 36,30% a una concentración de 6 mM. Resultados similares se obtuvieron para el eugenol y *bis*-eugenol, disminuyendo la AAO en el siguiente orden: BHT > BEG > E, mostrando así un efecto inhibitorio del dímero del eugenol de 40,04 %, el cual es mucho mayor que el de su correspondiente monómero<sup>20</sup>. En ambos casos, los resultados obtenidos son coherentes con la presencia de un grupo OH adicional en los compuestos bifenílicos.

En el caso del cinamaldehído, resultados previos mostraron que puede actuar como AO<sup>21</sup>, de hecho se considera como seguro y está aprobado para su uso en alimentos<sup>26,27</sup>. Respecto a HCH, éste solo presentó una actividad levemente mayor a la del cinamaldehído. El mayor porcentaje de AAO del cinamaldehído se encontró a una concentración de 6 mM siendo éste de apenas el 7,54%. La actividad antioxidante del mismo puede deberse a su grupo -CHO que, al reaccionar con oxígeno, forma -COOH, es decir, ácido cinámico<sup>28</sup>. En comparación con el BHT, se observa que éste último presenta una notable mayor AAO (BHT > cinamaldehído), lo cual coincide con estudios previos<sup>21</sup>.

**Tabla IV.12.** AAO de las MA por el método del fosfomolibdeno

Muestra	2 mM	4 mM	6 mM	8 mM
BHT	28,53±0,01	48,70±0,02	<b>64,24±0,01</b>	43,79±0,02
V	16,22±0,01	24,09±0,01	<b>30,17±0,02</b>	26,42±0,02
BVA	26,39±0,02	30,69±0,02	<b>36,30±0,02</b>	32,13±0,01
E	6,11±0,01	9,32±0,01	<b>12,67±0,01</b>	11,25±0,01
BEG	13,78±0,02	27,52±0,01	<b>40,04±0,02</b>	38,47±0,01
C	4,87±0,02	5,91±0,02	<b>7,54±0,01</b>	6,21±0,02
HCH	6,08±0,04	7,70±0,03	<b>9,24±0,02</b>	8,10±0,01



**Figura IV.1.** Actividad antioxidante de las MA obtenida por el MFM.

De esta manera se concluye que todas las MA sintetizadas presentan AAO, siendo notables y similares los valores encontrados para la *bis*-vainillina y el *bis*-eugenol. Por lo que, éstas moléculas activas de ahora en adelante serán consideradas ligandos químicos con propiedades antioxidantes, según la definición establecida al inicio del capítulo.

#### IV.5. Estudio de propiedades fotoquímicas de las MA

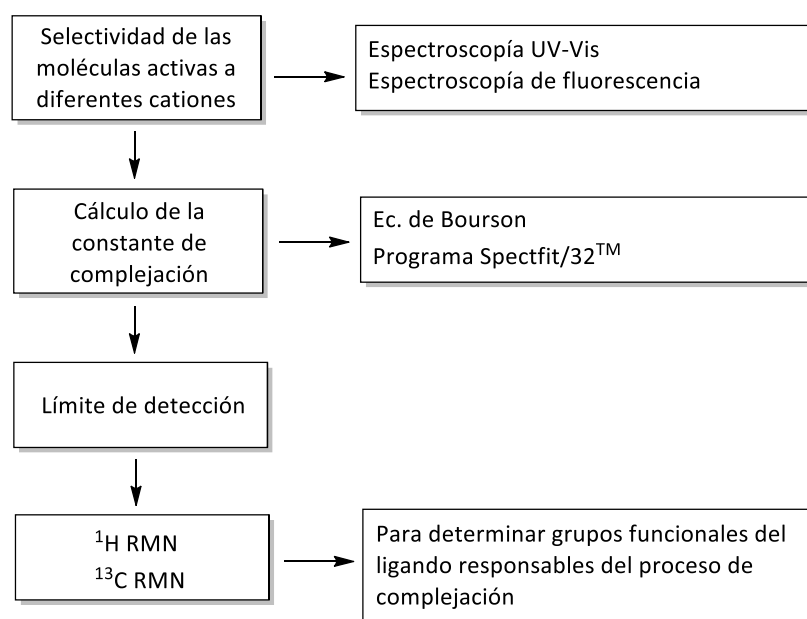
A los fines de estudiar la selectividad de las moléculas activas sintetizadas como sensores químicos de diversos cationes metálicos, se emplearon las técnicas de espectroscopia UV-Visible y fluorescencia molecular, para determinar cuáles MA eran útiles como sensores químicos cromogénicos y cuales capaces de actuar como sensores químicos fluorogénicos.

En la Figura IV.2 se detallan los pasos de manera general seguidos para evaluar las propiedades fotoquímicas de las MA.

##### IV.5.1. Estudio de las MA como sensores cromogénicos

En una primera etapa se analizaron los espectros de absorción UV-Vis de cada una de las MA a partir de soluciones de las mismas preparadas en dimetilsulfóxido (DMSO) y de concentración  $10^{-5}$  M. El objetivo de ello radicó en estudiar dichos espectros a los fines de evaluar en la próxima etapa si se producía algún cambio en éste frente al agregado de soluciones de sales. También se evaluó el espectro de la BVA obteniendo como resultado que no presentó absorbancia en la región UV-Vis.





**Figura IV.2.** Etapas para evaluar las MA como sensores químicos.

En las Figuras IV.3 se presentan los espectros de absorción obtenidos para cada uno de las soluciones de las MA, registrados contra blanco de solvente.

A partir de los espectros obtenidos se registró la longitud de onda de absorción máxima para cada una de las MA, las cuales se detallan en la Tabla IV.13. A su vez, mediante la ecuación de Lambert-Beer (Ecuación IV.3), se calcularon las absortividades molares las cuales se presentan también en la misma tabla.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (\text{Ecuación IV.3})$$

Donde:

A = absorbancia

$\varepsilon$  = absortividad molar ( $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ )

c = concentración (moles/L)

b = longitud de la cubeta (cm)

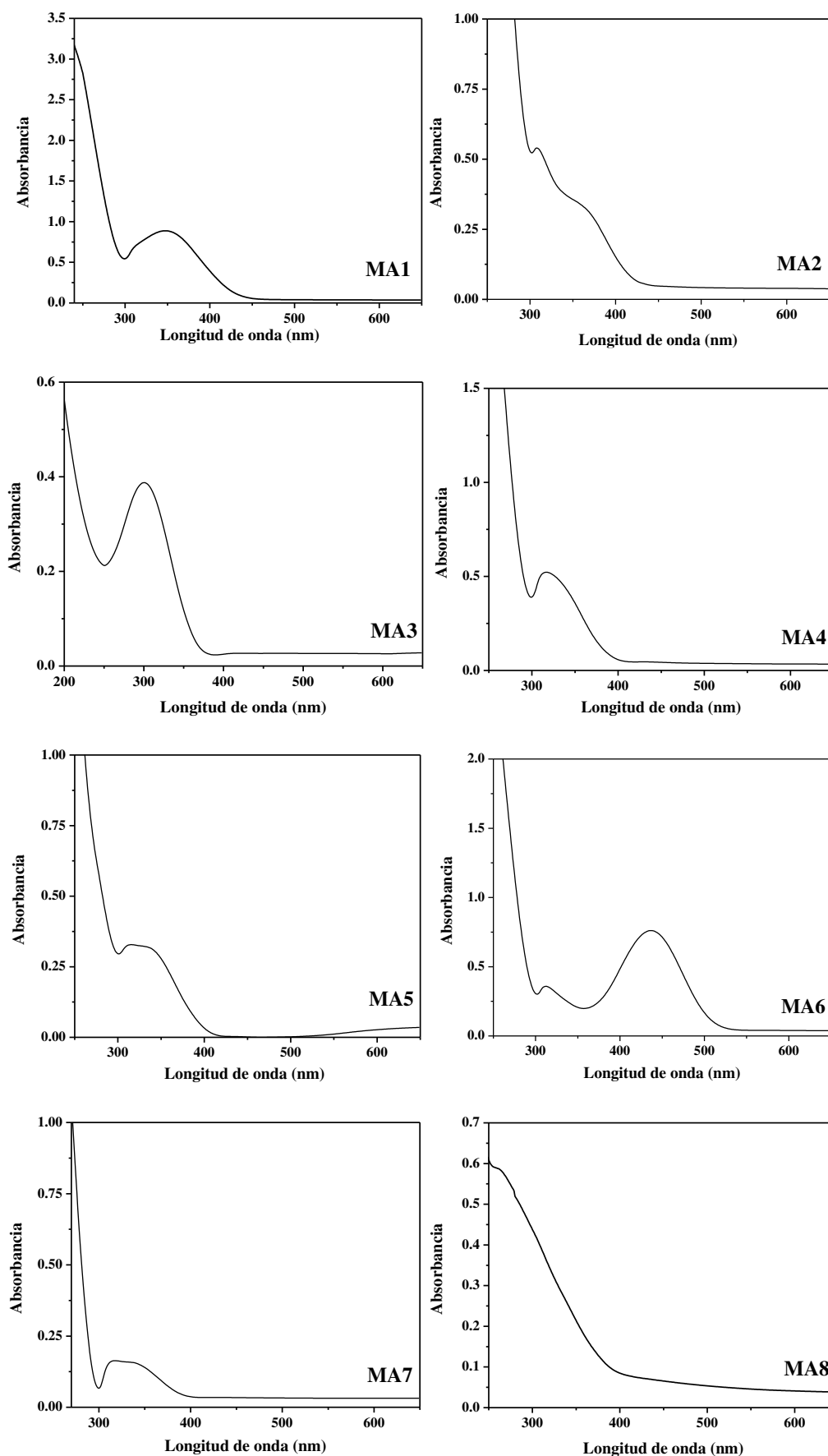


Figura IV.3. Espectros de absorción UV-Vis de las MA.

**Tabla IV.13** Parámetros de absorción de UV en DMSO

Receptor	$\lambda_{\text{máx}}$	$\varepsilon$ (cm <sup>-1</sup> M <sup>-1</sup> )
BVA	308	19259,3
MA1	347	85712,7
MA2	364	35863,1
MA3	378	39134,5
MA4	325	51876,9
MA5	315	49958,3
MA6	437	78956,8
MA7	321	18735,2
MA8	263	57932,1

#### IV.5.1.1. Selectividad de las MA frente a diferentes cationes

Como se dijo en los capítulos anteriores, la detección de cationes interesa en muchos campos tales como medicina, medioambiente, procesos biológicos, entre otros. Por ello, en esta etapa se evaluó las propiedades sensoras de las MA frente a diferentes soluciones de sales (Sn<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>). Las soluciones de las MA se prepararon en DMSO, mientras que en las de las sales se utilizó acetonitrilo (ACN), todas en concentraciones de 10<sup>-5</sup> M. Se verificó primeramente que dichas soluciones no presentaban color haciendo lecturas en la región UV-Vis. La técnica consistió en agregar la solución salina a la solución de MA, de manera tal que la concentración de las soluciones de MA permanezca aproximadamente constante, y registrar el espectro de absorción UV-Vis.

En la Figura IV.4 se presentan los espectros obtenidos para cada una de las MA frente al agregado de las diferentes sales. De las mismas se realizan las siguientes observaciones:

- El espectro de absorción de luz en el UV-Visible de MA1 en DMSO, mostró absorbancia en la región de UV, centrada a 347 nm. Tal como se observa, la banda característica de absorción mostró modificaciones frente al agregado de las sales de Al<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>. Por lo que se decide continuar con su estudio.
- El estudio UV-Vis de MA2 mostró la aparición de una nueva banda de absorción a 490 nm en presencia de Cu<sup>2+</sup>. Dicho cambio se visualizó de manera inmediata al agregar la solución de sal cúprica a la solución de la MA, adquiriendo éste último una coloración rosa intensa. Debido a ello, se decidió continuar con los estudios para evaluar la MA como sensor cromogénico.

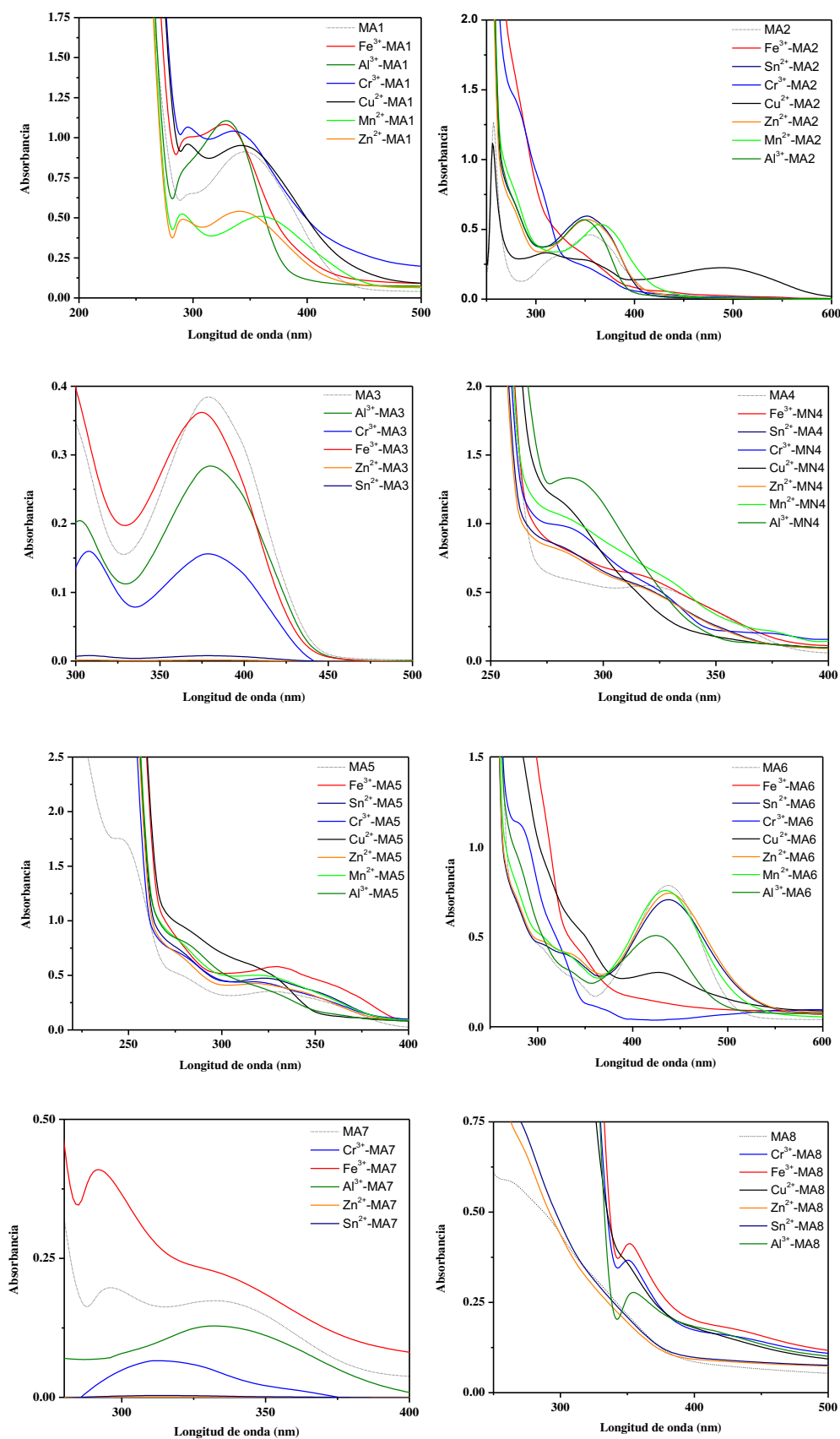


Figura IV.4. Espectros de absorción de las moléculas activas con el agregado de diferentes sales.

- La MA3 presenta una banda de absorción característica a 378 nm, la cual sufre una disminución frente al agregado de los cationes  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , por lo que se decidió continuar con los estudios para evaluar dicha MA como sensor cromogénico.
- Los cambios en el espectro UV-Vis que se observan al agregar los cationes a MA4 no se consideraron significativos como para continuar con los estudios de las propiedades fotoquímicas.
- Para la MA5 el agregado de las distintas soluciones metálicas no produjo cambios apreciables en el espectro de absorción.
- Al adicionar las sales de  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  a MA6 no se apreciaron cambios. Respecto al agregado de los cationes trivalentes y el catión  $\text{Cu}^{2+}$ , se observó una disminución de absorbancia. Con el  $\text{Al}^{3+}$  se observó además un desplazamiento hipsocrómico. Sin embargo, estos cambios en el espectro de absorción no fueron lo suficientemente significativos como para calcular la constante de complejación.
- Los espectros de absorción de MA7 muestran que en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  se produce un aumento en la intensidad de absorbancia mientras que con  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  disminuye. Sin embargo, estos cambios no se consideran como significativos como para continuar con su estudio.
- Por último, MA8 no presentó variaciones importantes en sus bandas de absorción, por lo que no se continúa con su estudio.

En la siguiente tabla se detalla a modo de resumen las moléculas activas capaces de actuar como sensores cromogénicos y los cationes que detectan, por lo que de ahora en adelante a dichas moléculas activas se las llamará ligandos químicos.

**Tabla IV.14** Moléculas activas capaces de actuar como sensores cromogénicos

Molécula Activa	Cationes
MA1	$\text{Al}^{3+}$ , $\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Fe}^{3+}$
MA2	$\text{Cu}^{2+}$
MA3	$\text{Al}^{3+}$ , $\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Fe}^{3+}$

#### IV.5.1.2. Cálculo de las constantes de complejación

Los métodos experimentales para la determinación de constantes de complejación se pueden clasificar según sean sistemas de una fase (homogéneos) o sistemas de dos fases

(heterogéneo). Dentro del primer caso se encuentran espectrofotometría, cinéticas de reacción y potenciometría. Mientras que en el segundo se pueden nombrar métodos de solubilidad, extracción líquido-líquido y cromatografía. Según la bibliografía consultada, el método espectroscópico es uno de los más ampliamente utilizados para el estudio de las constantes de equilibrio. El requisito esencial para la aplicación del mismo es que debe haber un cambio espectral considerable como consecuencia de la formación del complejo<sup>29</sup>.

Para determinar la estequiometría y constante de complejación se realizaron valoraciones fotométricas de las MA con los cationes metálicos. Los datos obtenidos se analizaron por dos métodos: a) el software SPECTFIT/32<sup>TM30</sup> y b) ajuste directo a la ecuación.

a) El programa SPECTFIT/32<sup>TM</sup> Global Analysis System se aplica al análisis de datos multivariados<sup>30</sup>. Está especializado para modelar y ajustar la cinética química y una variedad de conjuntos de datos de titulación en equilibrio 3D que se obtienen a partir de mediciones espectrofotométricas (RMN, UV-Vis y fluorescencia) de múltiples longitudes de onda. Quizás la principal ventaja de este software es que modeliza la respuesta de cada una de las especies presentes en el medio a lo largo de la valoración. De esta manera, un ajuste bueno del modelo a los datos, permite conocer con alto grado de confianza, el espectro de emisión de cada uno de los complejos<sup>30</sup>. Una vez obtenido el modelo, se ajustan los puntos del espectro obtenido experimentalmente al modelo realizado y se determina así la constante de complejación.

b) En el caso de aplicar un ajuste directo es necesario tener en cuenta que, en el caso de la formación de un complejo con estequiometría M-L 1:1, el equilibrio está controlado por una constante de estabilidad dada por<sup>31</sup>:



$$K = \frac{[ML]}{[L][M]} \quad (\text{Ecuación IV.5})$$

Si las mediciones cumplen la Ley de Beer-Lambert, es posible afirmar que la absorbancia del ligando libre ( $A_o$ ) es proporcional a la concentración del mismo ( $C_o$ ):

$$A_o = a C_o \quad (\text{Ecuación IV.6})$$

Luego de la adición de una cierta cantidad de sal inorgánica de concentración  $C_M$ , la

absorbancia A (Ley de Beer de sistemas multicomponentes) está dada por:

$$A = a [L] + b [ML] \quad (\text{Ecuación IV.7})$$

Donde:

$$C_o = [L] + [ML] \quad (\text{Ecuación IV.8})$$

$$C_M = [M] + [ML] \quad (\text{Ecuación IV.9})$$

En presencia de un exceso de sal es correcto considerar que todas las moléculas de los ligandos están acomplejando los cationes, entonces, la absorbancia adopta un valor límite  $A_{lim}$ :

$$A_{lim} = b C_o \quad (\text{Ecuación IV.10})$$

De las ecuaciones anteriores se deriva la siguiente relación:

$$\frac{A_o - A}{A - A_{lim}} = K [M] \quad (\text{Ecuación IV.11})$$

Si se considera que la concentración total del metal en el medio  $C_M$  es aproximadamente igual a  $[M]$ , entonces representando  $(A_o - A)/(A - A_{lim})$  en función de  $C_M$  es posible determinar la constante K a partir de la pendiente de la recta obtenida aplicando el método de los mínimos cuadrados. Sin embargo, en muchos casos esta aproximación no es válida y debe emplearse un modelo más complejo para determinar la constante de equilibrio.

Uno de los modelos utilizados para la formación de complejos 1:1 es el de Bourson<sup>32</sup>, quien propuso un modelo que permite determinar la constante K mediante un ajuste no lineal de mínimos cuadrados de la absorbancia A en función de la concentración de sal agregada (Ecuación IV.12).

$$A = A_o + \frac{A_{lim} - A_o}{2C_o} \left[ C_o + C_M + \frac{1}{K} - \sqrt{\left( C_o + C_M + \frac{1}{K} \right)^2 - 4C_o C_M} \right] \quad (\text{Ecuación IV.12})$$

De esta manera, la constante K puede ser determinada mediante un ajuste no lineal de mínimos cuadrados de la absorbancia A en función de la concentración de la sal agregada.

Seguidamente se explicará el procedimiento experimental realizado para calcular las constantes de complejación de: MA1, MA2 y MA3.

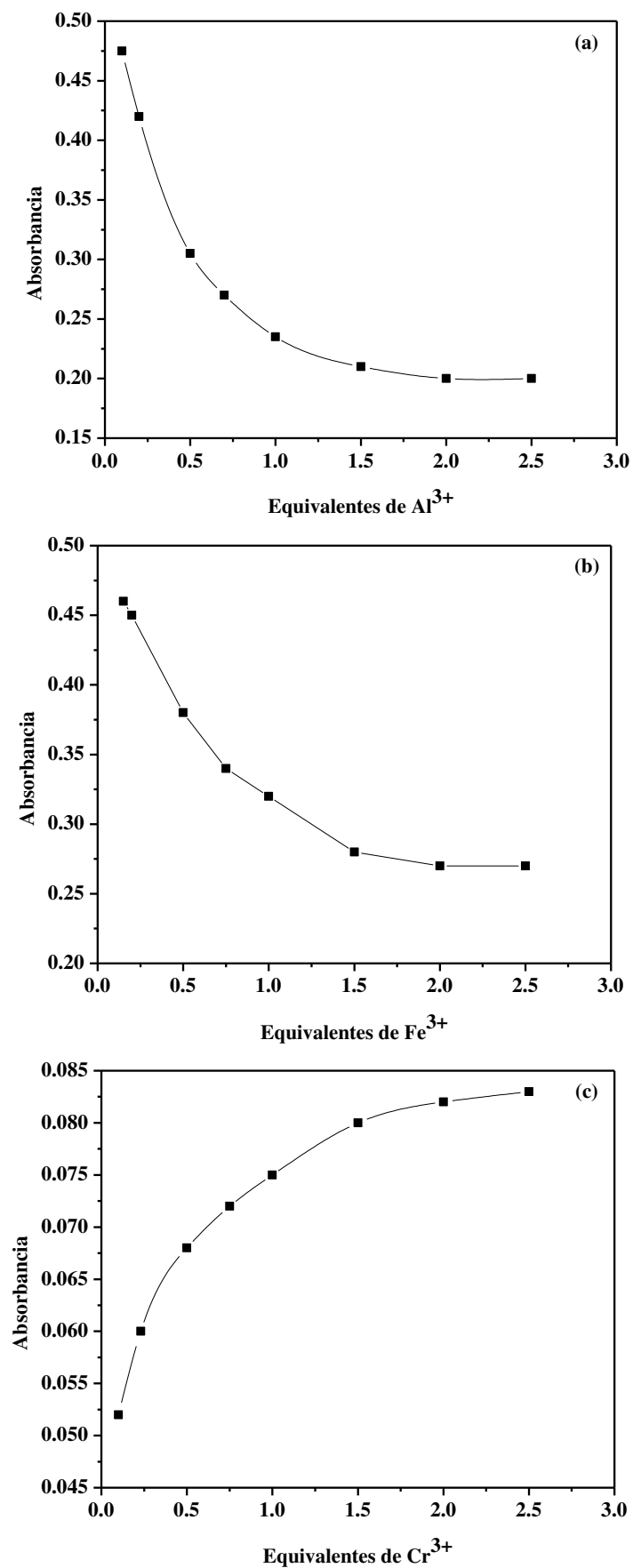
**a) Cálculo de la constante de complejación de MA1**

El procedimiento se realizó por espectroscopía UV-Vis y consistió en colocar un volumen fijo de solución del ligando químico  $10^{-5}$  M en DMSO y adicionarle alícuotas de la solución de sal correspondiente ( $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ ) preparada cada una en ACN y de concentración  $10^{-5}$  M. A medida que se añadían las alícuotas se registraba el espectro de absorción. Se continuó la valoración hasta que no se apreciaron variaciones significativas en las bandas. En la Figura IV.5 se muestran las valoraciones de MA1 con los cationes. En el caso de  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , la disminución de la absorbancia continuó hasta el agregado de 2,5 equivalentes de los correspondientes cationes. En el caso del  $\text{Cr}^{3+}$  se produjo un aumento de la absorbancia hasta el agregado de 2,5 equivalentes. Estos datos se incluyeron en el software *SPECFIT/32M*, el cual generó un modelo de complejación con diferentes estequiometrías M-L (1:1, 1:2, 2:1, etc.) y los ajustó a los puntos de los espectros obtenidos en la valoración. Así para este caso se obtuvo complejos de estequiometría 1:1, cuyos resultados se muestran en la Tabla IV.15, y fueron obtenidos con error inferior al 5 %.

**Tabla IV.15** Constantes de formación de los complejos con MA1 y los cationes trivalentes estudiados

Catión	Log K $\text{M}^{3+}$ -MA1
$\text{Fe}^{3+}$	$4,5 \pm 0,4$
$\text{Cr}^{3+}$	$5,2 \pm 0,4$
$\text{Al}^{3+}$	$4,4 \pm 0,5$

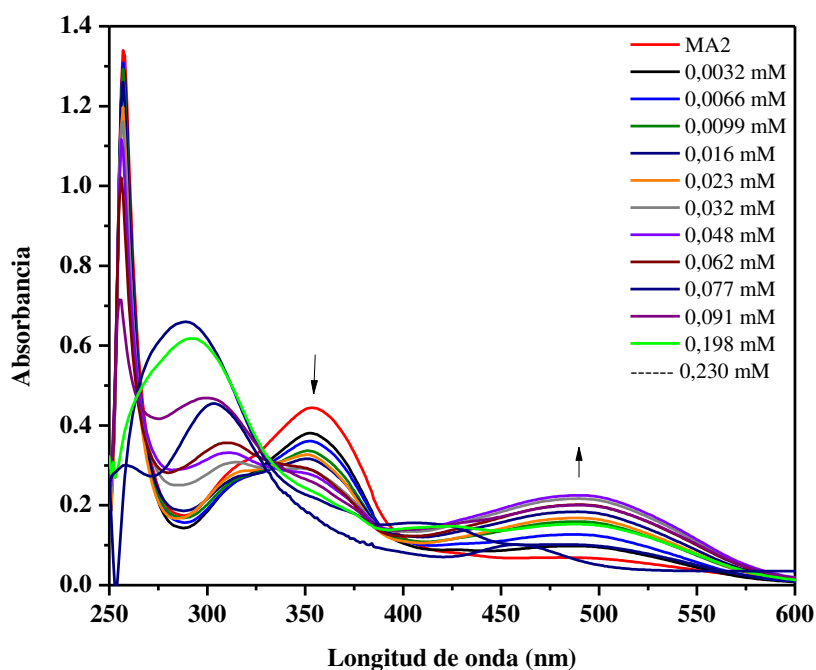




**Figura IV.5** Valoración fotométrica de MA1 con: **a)**  $Al^{3+}$ , **b)**  $Fe^{3+}$ , **c)**  $Cr^{3+}$ .

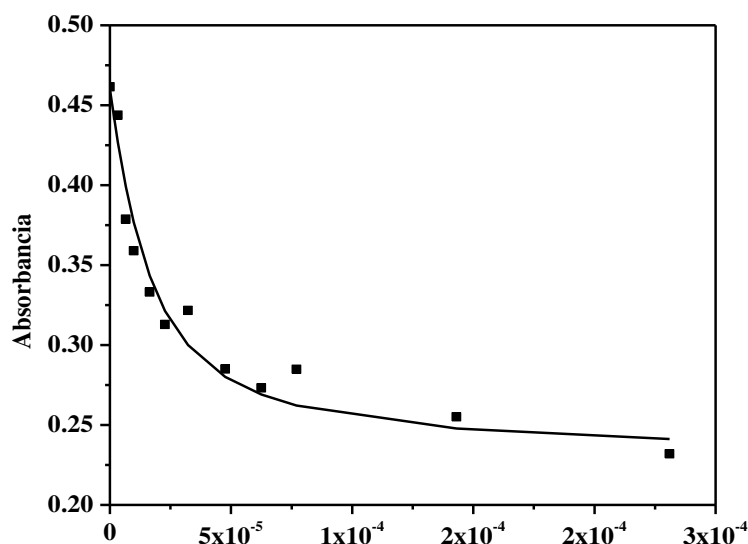
**b) Cálculo de la constante de complejación de MA2**

Con objeto de explorar las propiedades sensoras de MA2 con  $\text{Cu}^{2+}$  se realizó una valoración de absorción. La Figura IV.6 describe el espectro de absorción de MA2 con diferentes concentraciones de  $\text{Cu}^{2+}$  variando de 0 a 0,23 mM. Se observa que la banda de absorción a 360 nm de MA2 fue disminuyendo a medida que se fue aumentando la concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  añadida, mientras que una nueva banda a 490 nm, probablemente la responsable del color rosa, fue aumentando gradualmente en intensidad con el agregado. También se puede observar dos puntos isobésticos, uno a aproximadamente 325 nm y otro a 380 nm. Generalmente la presencia de los mismos indica que se está en presencia de un equilibrio de coordinación que da lugar a la formación de un complejo de estequiometría ligando-metal de tipo 1:1, y cuya constante de formación puede ser determinada por métodos analíticos<sup>33</sup>.



**Figura IV.6** Curvas de valoración de MA2 con distintos agregados de  $\text{Cu}^{2+}$ .

A fin de determinar la estequiometría de unión del complejo  $\text{Cu}^{2+}$ -MA2, el perfil de titulación UV-Vis se representó en la Figura IV.7. El perfil se realizó a una  $\lambda_{\text{máx}}$  de 355 nm correspondiente a la longitud de onda que presentaba mayores variaciones con los agregados de  $\text{Cu}^{2+}$ . Con los valores obtenidos y el software *SPECFIT/32M*, la constante de complejación fue de  $\log K = 5,17 \pm 0,06$  ( $r^2 = 0,96$ ) en una solución de DMSO:ACN.



**Figura IV.7** Ajuste de MA2  $10^{-5}$  M en DMSO con  $\text{Cu}^{2+}$ .

#### b) Cálculo de la constante de complejación de MA3

Para calcular la constante de complejación de MA3 con los cationes,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ , se realizó una valoración en espectroscopía UV-Vis. Se siguió el mismo procedimiento que el comentado para la MA1. A partir de los resultados obtenidos se representó la variación de la absorbancia de MA3 frente a la concentración molar de  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Los valores obtenidos se ajustaron al modelo no lineal (Ecuación IV.12) mediante el software Microcal OriginPro 8 (Figura IV.8). Los resultados obtenidos se ajustaron a un modelo M-L 1:1. Las constantes calculadas se muestran en la Tabla IV.16.

**Tabla IV.16** Constantes de formación de los complejos con MA3 y los cationes trivalentes estudiados

Catión	Log K $\text{M}^{3+}$ -MA3
$\text{Fe}^{3+}$	4,19
$\text{Cr}^{3+}$	2,74
$\text{Al}^{3+}$	2,73

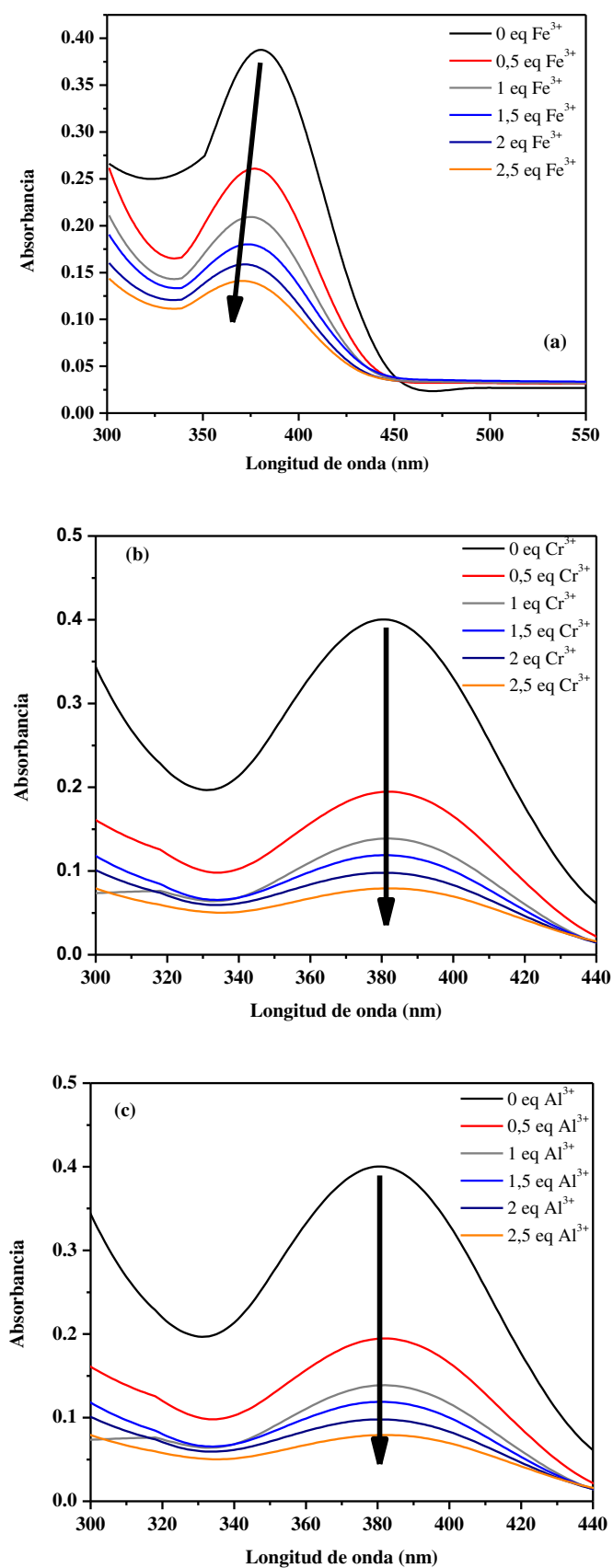


Figura IV.8 Curva de valoración de MA3 con: a)  $\text{Fe}^{3+}$ , b)  $\text{Cr}^{3+}$ , c)  $\text{Al}^{3+}$ .

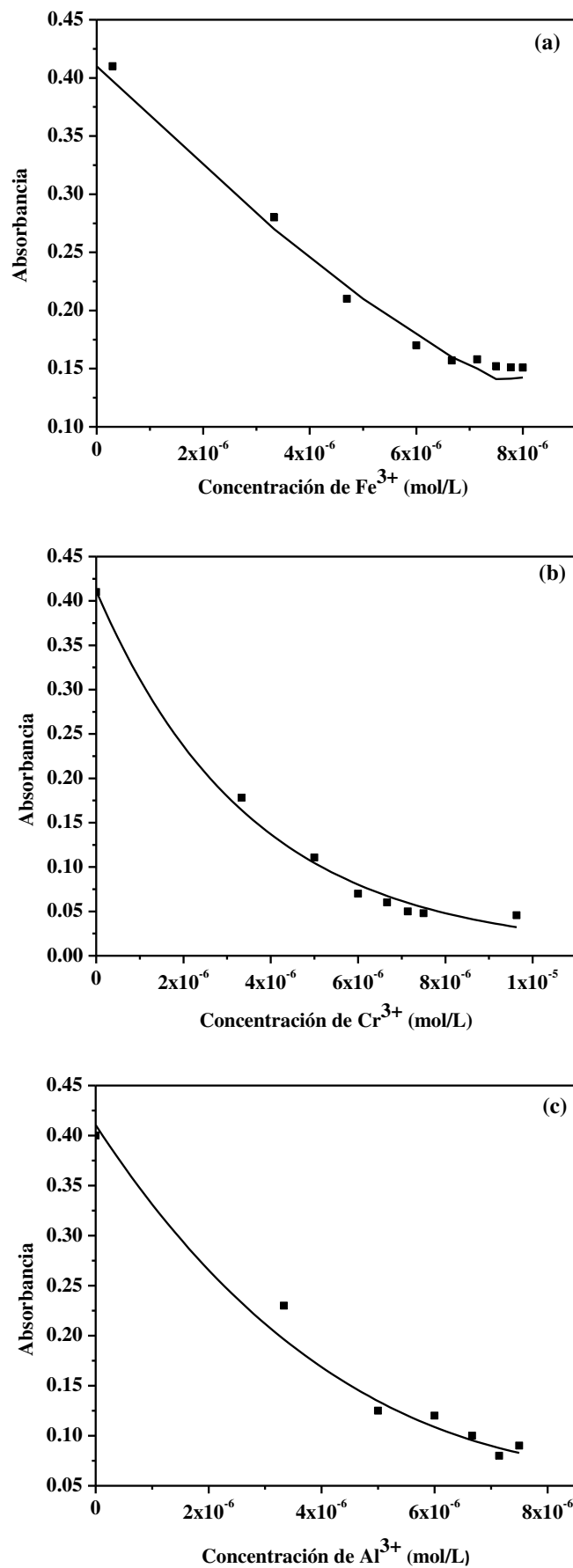


Figura IV.9 Curva de ajuste de MA3 con: a)  $\text{Fe}^{3+}$ , b)  $\text{Cr}^{3+}$ , c)  $\text{Al}^{3+}$ .

### IV.5.1.3. Límite de detección (LDD)

El cálculo del LDD se realizó para algunos casos con objeto de determinar la menor concentración de analito que podremos detectar con el método de análisis elegido. Detalles de esta técnica se encuentran en el Anexo A.

En base a los valores obtenidos por valoración UV-Vis, el LDD se obtuvo a partir del gráfico de absorbancia en función de la concentración de los cationes. Se empleó la Ecuación IV.13 para calcular dicho límite.

$$\text{LDD} = \frac{(y_L - \bar{y}_B)}{m} \quad \text{Ecuación IV.13}$$

#### a) Límite de detección de MA1

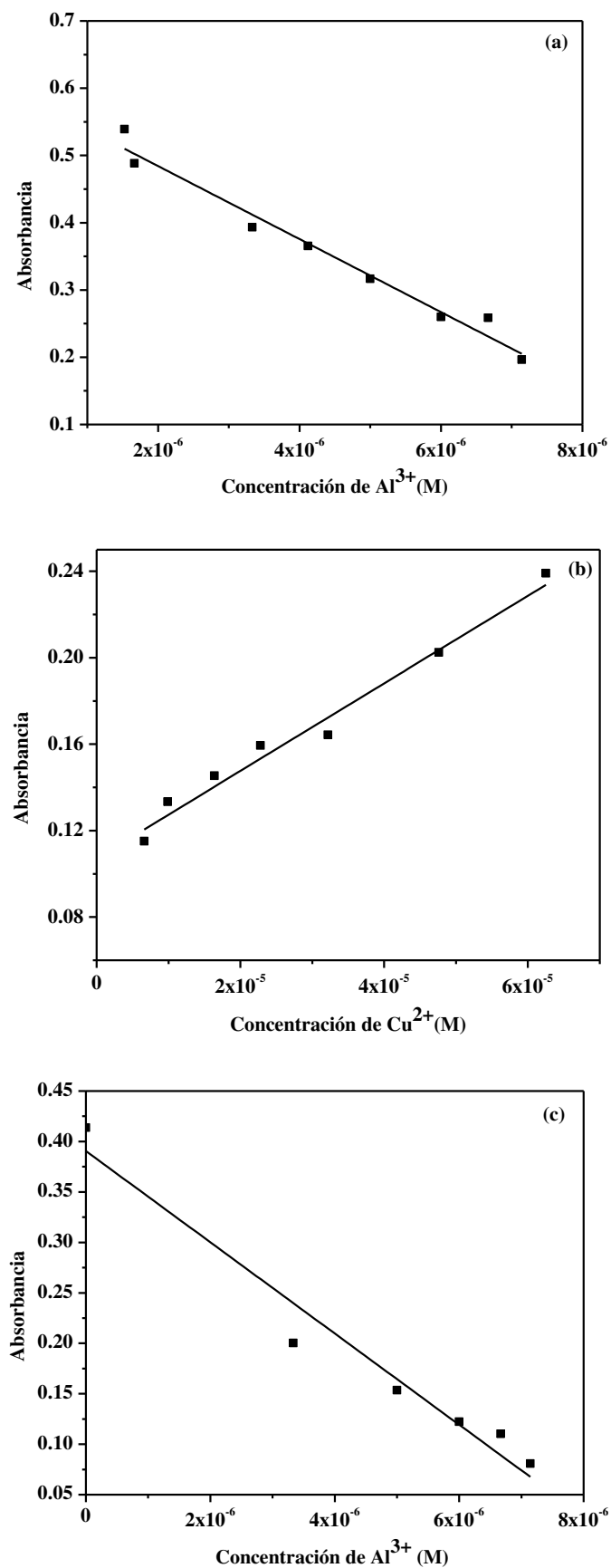
La evaluación de la concentración de  $\text{Al}^{3+}$  que puede ser detectada por MA1 se muestra en la Figura IV.10.a. De la misma se observa que la concentración mínima corresponde a  $7,15 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ .

#### b) Límite de detección de MA2

Se determinó el LDD de  $\text{Cu}^{2+}$  del sensor cromogénico MA2, de la curva b de la Figura IV.10, dando como resultado un valor de  $3,22 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .

#### b) Límite de detección de MA3

El límite de detección por MA3 se determinó para el catión  $\text{Al}^{3+}$ , de la curva c de la Figura IV.10, mediante la metodología descrita anteriormente siendo éste de  $7 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ .



**Figura IV.10.** Límite de detección de: **a)** MA1 para el catión Al<sup>3+</sup>, **b)** MA2 para el catión Cu<sup>2+</sup>, **c)** MA3 para el catión Al<sup>3+</sup>.

#### IV.5.1.4. Estudio por $^1\text{H}$ RMN

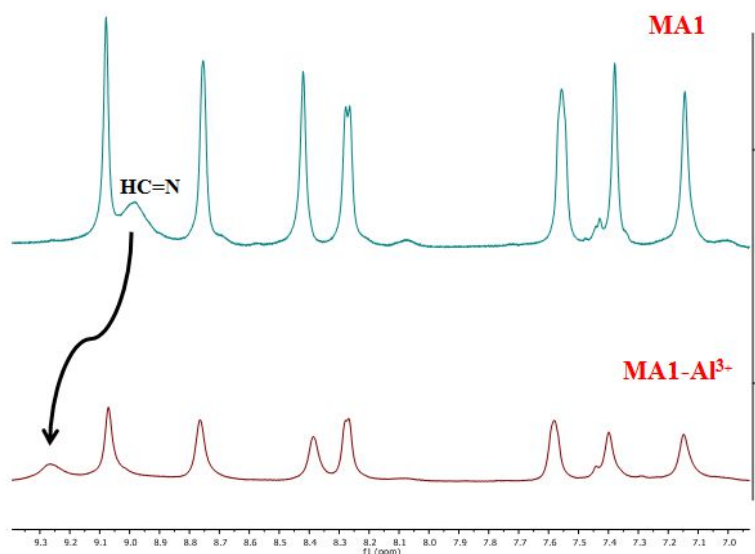
El estudio por RMN se realizó para explorar los grupos funcionales de las MA responsables de la formación del complejo. Para ello se registró el espectro  $^1\text{H}$  RMN del ligando químico en ausencia y presencia del catión y se analizaron los mismos.

##### a) Estudios de $\text{Al}^{3+}$ -MA1 por $^1\text{H}$ RMN

Los estudios por  $^1\text{H}$  RMN se realizaron a los fines de determinar los grupos funcionales involucrados en el proceso de complejación.

El MA1 disuelto en DMSO- $d_6$  presentó una señal a 8,95 ppm correspondiente al H del grupo imina ( $\text{HC}=\text{N}$ ), mientras que en la zona aromática se distinguen las señales de los protones del sistema biarílico a 7,15 ppm y 7,35 ppm, y los protones de los sustituyentes piridínicos a 7,6, 8,3 y 9,1 ppm.

Con el agregado de 1 equivalente de  $\text{Al}^{3+}$ , se observa un importante corrimiento hacia campos más bajos del protón del grupo imina. Este desplazamiento indicaría que la complejación con el aluminio se realiza a través de estos nitrógenos por medio de sus pares de electrones libres.



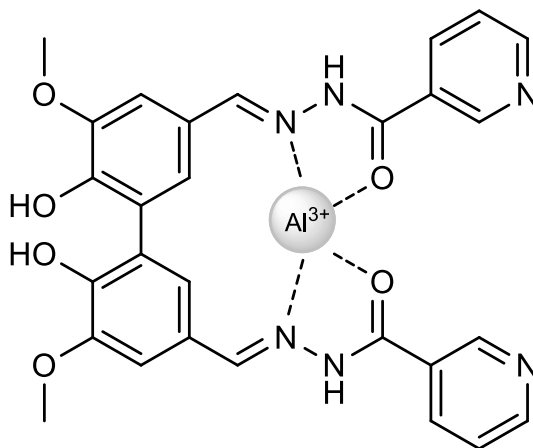
**Figura IV.13.** Espectro  $^1\text{H}$ RMN de MA1 (arriba) y de MA1- $\text{Al}^{3+}$  (abajo).

Por otra parte, el número de coordinación (NC) se define como la cantidad de enlaces coordinados que presenta el ligando con un ión atómico central (catión)<sup>35</sup>. Dada la estequiometría del tipo 1:1 propuesta para los complejos de MA1 con los cationes trivalentes, este sistema bifenílico resulta ser un *agente quelante polidentado*, esto es, un



ligando capaz de establecer dos o más uniones en simultáneo con el núcleo de coordinación.

En base a las medidas espectroscópicas analizadas por  $^1\text{H}$  RMN, el modelo de complejo para el ligando MA1 se presenta en la Figura IV.14, el cual sugiere la formación de un complejo con un NC igual a 4.



**Figura IV.14.** Modelo de complejo propuesto para  $\text{Al}^{3+}$ -MA1.

#### IV.5.2. Estudio de las MA como sensores fluorogénicos

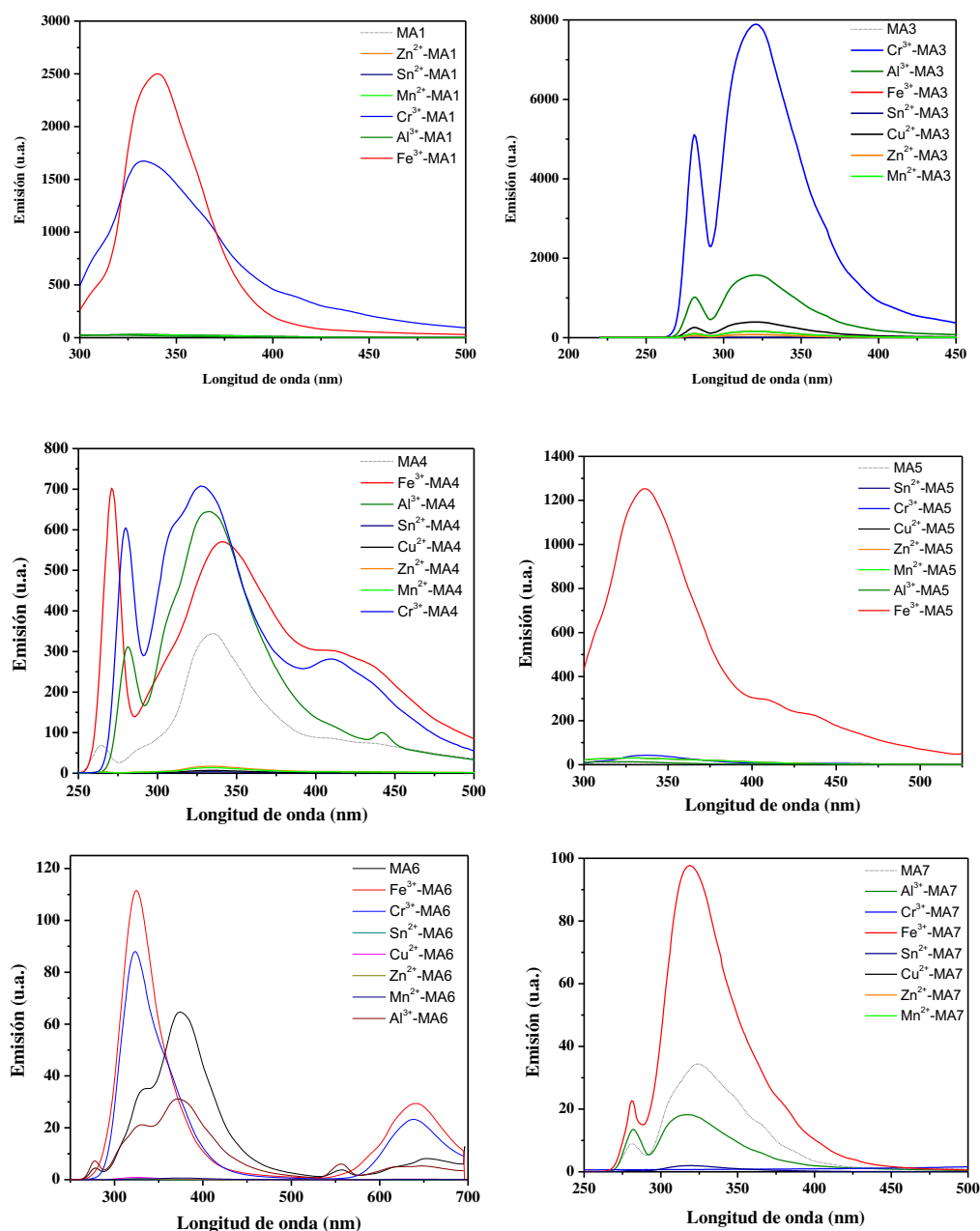
En esta etapa se evaluaron las propiedades como detectores fluorogénicos de algunas de las MA sintetizadas.

En la Figura IV.15 se muestran los espectros de emisión de las MA con el agregado de diferentes sales. De los mismos se observan:

- Para MA1 se observa un gran aumento de intensidad de fluorescencia al formarse el complejo de  $\text{Cr}^{3+}$ -MA1 y  $\text{Fe}^{3+}$ -MA1.
- El espectro de emisión de MA3 presentó un notable aumento de intensidad con el agregado de  $\text{Cr}^{3+}$ .
- Del estudio de MA4 se observa un realce de la misma en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ . Sin embargo, los cambios no son notorios.
- El espectro de emisión de MA5 mostró un fuerte incremento de fluorescencia en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ . Los estudios correspondientes al mismo se plantearon como una etapa posterior a la presentación de la tesis.
- MA6: Respecto a los espectros de emisión se obtuvo un aumento de la intensidad de fluorescencia con la sal de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Cr}^{3+}$ , y una disminución de la misma con la sal de  $\text{Al}^{3+}$ . Sin embargo, dichos cambios no se consideraron lo suficientemente significativos como para continuar con su estudio.

- El estudio de las propiedades fluorescentes de MA7 muestra que la intensidad de fluorescencia aumenta con el catión  $\text{Fe}^{3+}$ , de manera que se podría utilizar para detectar dicho catión. Los estudios correspondientes al mismo se plantearon como una etapa posterior a la presentación de la tesis

De esta manera, en la siguiente tabla se detalla a modo de resumen las moléculas activas capaces de actuar como sensores fluorogénicos y los cationes que detectan, por lo que de ahora en adelante a dichas moléculas activas se las llamará sensores químicos.



**Figura IV.15.** Espectros de emisión de las moléculas activas con el agregado de diferentes sales a) MA1, b) MA3, c) MA4, d) MA5, e) MA6, f) MA7.

**Tabla IV.18.** Moléculas activas capaces de actuar como sensores fluorogénicos

Molécula Activa	Cationes
MA1	Cr <sup>3+</sup> , Fe <sup>3+</sup>
MA3	Cr <sup>3+</sup>
MA5	Fe <sup>3+</sup>
MA7	Fe <sup>3+</sup>

#### IV.6. Conclusiones

En base a lo expresado anteriormente, la primera etapa de este capítulo consistió en evaluar las propiedades antioxidantes de las MA. De las mismas se obtuvo que las moléculas sintetizadas *bis-vainillina*, *bis-eugenol* y nicotino hidrazona de cinamaldehído tienen propiedades antioxidantes.

Luego se evaluaron las propiedades sensoras de las moléculas activas derivadas de la *bis-vainillina*. Se encontró así que MA1 es capaz de actuar como un sensor fluorescente dando una señal TURN-ON en respuesta a la presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Cr}^{3+}$ . Por su parte, MA3 también actúa como ligando químico fluorescente para la detección de  $\text{Cr}^{3+}$ . También se obtuvieron respuestas fluorogénicas de MA5 y MA7 con  $\text{Fe}^{3+}$ . Mientras que MA2 resultó ser un sensor cromogénico altamente selectivo y sensible al catión  $\text{Cu}^{2+}$ . Los ligandos químicos MA1 y MA3 dieron respuestas cromogénicas frente a  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ .

Por lo que, a partir de estos estudios fue posible obtener ligandos químicos con muy buenas respuestas antioxidantes, colorimétricas y/o fluorescentes.

#### IV.7. Referencias

1. Imamura, A., Hoffmann, R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 5379–5385.
2. Im, H. S., Bernstein, E. R. *J. Chem. Phys.*, 1988, **88**, 7337–7347.
3. Campo, M. A., Larock, R. C. *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 5616–5620.
4. Shashikumar, N. D., Krishnamurthy, G. *J. Chem. Sci.*, 2014, **126**, 205–212.
5. Berlman, I. B. *J. Chem. Phys.*, 1970, **52**, 5616.
6. Martínez, J. S. Universitat de Valencia, 2006.
7. Gomes, P. J. S., Serpa, C., Arnaut, L. G. *J. Photochem. Photobiol.*, 2006, **184**, 228–233.
8. Reyheller, C., Kubik, S., Chemie, F., Chemie, O., V, T. U. *Org. Lett.*, 2007, **9**, 5271–5274.
9. Waissbluth, O. L., Morales, M. C., Bohne, C. *Photochem. Photobiol.*, 2006, **82**, 1030–1038.
10. Desvergne, J. P. ., Czarnik, A. W. *Chemosensors of Ion and Molecule Recognition*, 1997.
11. Thyagarajan, B. S. *Chem. Rev.*, 1957, **58**, 439–460.
12. Bedos-Belval, F., Duran, H. *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 3171–3181.
13. Farias Dias, A. *Phytochem. Lett.*, 1988, **27**, 3008–3009.
14. El-Sherif, A. A., Fetoh, A., Abdulhamed, Y. K., El-reash, G. M. A. *Inorganica Chim. Acta*, 2018, **480**, 1–15.
15. Venkatachalam, T. K., Bernhardt, P. V., Noble, C. J., Fletcher, N., Pierens, G. K., Thurecht, K. J., Reutens, D. C. *J. Inorg. Biochem.*, 2016, **162**, 295–308.
16. Kunnath, R. J., Sithambaresan, M., Aravindakshan, A. A., Natarajan, A., Kurup, M. R. P. *Polyhedron*, 2016, **113**, 73–80.
17. Sonawane, S. J., Kalhapure, R. S., Govender, T. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2017, **99**, 45–65.
18. Layana, S. R., Saritha, S. R., Anitha, L., Sithambaresan, M., Sudarsanakumar, M. R., Suma, S. *J. Mol. Struct.*, 2018, **1157**, 579–586.
19. Abdille, H., Singh, R. P., Jayaprakasha, G. K., Jena, B. S. 2005, **90**, 891–896.
20. Ogata, M., Hoshi, M., Shiro, U., Toyoshige, E. *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, **48**, 1467–1469.
21. Singh, G., Maurya, S., P, M., Catalan, C. A. N. *Food Chem.*, 2007, **45**, 1650–1661.
22. Sinha, A. K., Sharma, U. K., Sharma, N. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2008, **59**, 299–326.
23. Alam, N., Bristi, N. *J. Saudi Pharm. J.*, 2013, **21**, 143–152.
24. Marwah, R. G., Fatope, M. O., Mahrooqi, R. Al, Varma, G. B., Abadi, H. Al, Al-Burtamani, S. K. S. *Food Chem.*, 2007, **101**, 465–470.

25. Rosales-Castro, M., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Peralta-Cruz, J., Karchesy, J. J. *Madera y Bosques*, 2009, **15**, 87–105.
26. Naveena, B. M., Muthukumar, M., Sen, A. R., Kumar, Y. P., Kiran, M. *J. Food Process. Preserv.*, 2014, **38**, 1911–1917.
27. Rahman, S., Fukamiya, N., Okano, M., Tagahara, K., Lee, K.-H. *Chem. Pharm. Bull.*, 1997, **45**, 1527–1529.
28. Pound, A. W., Pound, J. R. *J. Phys. Chem.*, 1934, **38**, 1045–1049.
29. Connors, K. A. Binding-constants. The Measurement of Molecular Complex Stability, John Wiley & Sons, 1987.
30. Associates, S., SPECFIT/32TM Global analysis system v.3.0.
31. Le, S. F. M., Guetté, B. J., Valeur, B., Appliquée, P. O., National, C., Martin, S. *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 6233–6237.
32. Bourson, J., Valeur, B. *J. Phys. Chem.*, 1989, **93**, 3871–3876.
33. Quindt, M. I., Gutierrez, L. G., Kneeteman, M. N., Mancini, P. M. E., Parra, M., Gil, S., Costero, A. M. *Lett. Org. Chem.*, 2017, **15**, 659–664.
34. Rathinam, B., Chien, C., Chen, B., Liu, J. *Tetrahedron*, 2013, **69**, 235–241.
35. McCleverty, J. A., Meyer, T. J. *Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier Pergamon, Second., 2003.



## **CAPÍTULO V**

---

### **Síntesis y caracterización de los soportes inorgánicos**





## V.1. Introducción

En este capítulo se mencionan los materiales inorgánicos utilizados como soportes de los ligandos químicos obtenidos en el capítulo anterior, indicándose las características de los mismos y la forma en que fueron sintetizados en el laboratorio. Posteriormente se describen las técnicas utilizadas para su caracterización fisicoquímica, y los resultados obtenidos del análisis de dichos materiales.

Los materiales inorgánicos seleccionados en este trabajo fueron materiales mesoporosos y nanoparticulados. En especial se seleccionaron como materiales mesoporosos sílice SBA-15 y alúmina; mientras que como material nanoparticulado se escogió magnetita. Estos materiales presentan la ventaja que debido a sus propiedades específicas permitirían transportar en su superficie a los ligandos químicos.

## V.2. Materiales Mesoporosos

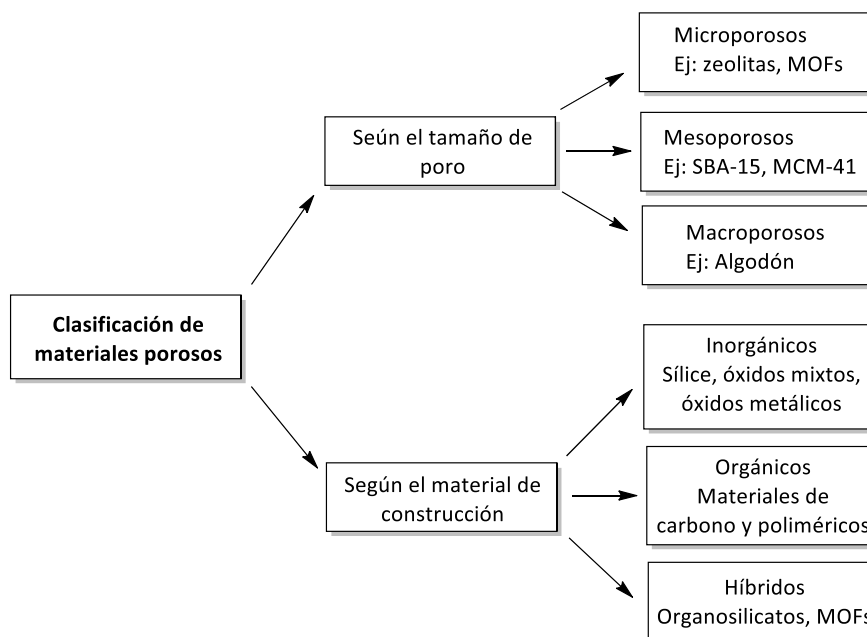
De acuerdo a la definición de la IUPAC, los materiales porosos se clasifican en función del tamaño del poro de la siguiente manera<sup>1</sup>:

- Materiales microporosos: presentan un diámetro de poro inferior a 20 Å.
- Materiales mesoporosos: presentan un diámetro de poro comprendido entre 20 y 500 Å.
- Materiales macroporosos: presentan un diámetro de poro superior a 500 Å.

También se clasifican según el material de construcción, lo cual se detalla en el Esquema V.1.

El interés en trabajar con éste tipo de materiales se debe a sus potenciales aplicaciones en medio ambiente, industria química, biotecnología, ciencia de materiales y medicina.

A principio de la década de 1990, investigadores de Mobil Research and Development Corporation desarrollaron una nueva familia de materiales de silicato y aluminosilicato, llamada M41S, que tenían poros mucho más grandes que las zeolitas convencionales. Los poros en estos materiales se encuentran en el rango de 20-500 Å, y dan lugar al nombre de sólidos mesoporosos<sup>2</sup>. Los materiales pertenecientes a esta familia se obtuvieron mediante síntesis asistida por surfactantes, llamada templado de cristal líquido<sup>2,3</sup>. La formación de estos materiales de tamiz molecular se basa en el concepto de un agente o plantilla de dirección estructural. La plantilla es una estructura alrededor de la cual un material, generalmente inorgánico, se nuclea y crece, de modo que al eliminar la estructura de la plantilla, sus características geométricas y electrónicas se replican por la estructura de los materiales inorgánicos<sup>4</sup>.



**Esquema V.1.** Diagrama de clasificación de materiales porosos de acuerdo a la IUPAC.

De manera que, en este campo de investigación, se aspira a controlar el tamaño, forma, uniformidad y periodicidad de los tamaños de los espacios porosos, así como también a los átomos, moléculas e iones que los constituyen. El control y el ajuste preciso de estas propiedades permiten que puedan conseguirse diferentes materiales para el desempeño de una función deseada en una aplicación particular<sup>5</sup>.

Su elevada superficie y gran volumen de poro permite una elevada carga de componentes, tales como fármacos, sensores o proteínas, los cuales dotan de funcionalidad los soportes inorgánicos. En relación a ello, investigaciones recientes han logrado la inmovilización de grupos quelantes orgánicos en materiales nano y mesoporosos generando así un especial interés en el área de los sensores químicos<sup>6</sup>.

### V.2.1. Sílice mesoporosa

En 1998, una investigación destacada produjo un tipo de matriz hexagonal de poros denominada Santa Barbara Amorphous nº 15 (SBA-15). El tamaño de poro de la SBA-15 varía entre 46 a 300 Å. Este material mesoporoso tiene propiedades de resistencia térmica, mecánica y química<sup>4</sup>. Exhibe, además, una serie de características estructurales atractivas, tales como, una superficie específica grande (600-1000 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>), tamices moleculares bidimensionales con simetría hexagonal  $P6mm$ , paredes gruesas (3-6 nm), canales cilíndricos distribuidos uniformemente (5-10 nm) y alta estabilidad hidrotérmica. La formación de SBA-15 hexagonal ordenada con poros uniformes de hasta 300 Å se sintetiza

utilizando copolímeros de bloques anfifílicos Pluronic P123 en medio ácido fuerte. El agente director de estructura Pluronic P123 empleado es de bajo costo, biodegradable y no tóxico<sup>5</sup>.

La propiedad de la SBA-15 de disponer de una superficie específica grande hace que se pueda utilizar como soporte de sensores químicos, ya que el área superficial está cubierta por una capa de grupos funcionales capaces de actuar como sitios de unión. Además este material mantiene su estructura ordenada luego de la oclusión de las moléculas huésped<sup>6</sup>.

### V.2.2. Alúmina

La alúmina es un material muy interesante con una amplia aplicabilidad como soporte para varias fases catalíticamente activas, que se emplean en la industria en un gran número de procesos tecnológicos a gran escala. Por lo general, las alúminas convencionales con áreas de superficie de 50–300 m<sup>2</sup>/g se fabrican por precipitación. Varias alúminas de transición ( $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\eta$ ,  $\Theta$ ) pueden ser preparadas por tratamiento térmico a partir de diferentes precursores de óxido y/o hidróxido de aluminio tales como, bohemita, pseudobohemita, bayerita, nordstrandita<sup>7</sup>. A diferencia de las alúminas convencionales, las alúminas mesoporosas organizadas exhiben superficies específicas mucho más grandes y una distribución de tamaño de poros más estrecha<sup>7</sup>. Entre ellos, la  $\gamma$ -alúmina se usa ampliamente como catalizador, soporte o adsorbente, debido a su gran área de superficie, su rica porosidad y pared de poro bien cristalizada, así como sus propiedades adecuadas de superficie ácido-base<sup>8</sup>.

Las propiedades de la alúmina y por lo tanto sus potenciales aplicaciones dependen de diferentes aspectos de su estructura (volumen, defectos, superficie), los métodos de fabricación, la posibilidad de dopaje para modificar sus propiedades y caracterización de su estructura y su composición, ya sea homogénea u heterogénea si está dopada<sup>9</sup>.

### V.3. Síntesis de materiales mesoporosos

Para la síntesis de materiales mesoporosos existen distintas vías de preparación. El procedimiento original implicó la síntesis de sílice mesoporosa empleando una base fuerte con moléculas de agente tensioactivo catiónico (CTAB) que dieron como resultado las denominadas MCM (Mobil Composition of Matter)<sup>10</sup>. Siguiendo la síntesis original se desarrollaron una variedad de protocolos para materiales mesoestructurados. Modificaciones de la síntesis se relacionan con la elección de la molécula molde que puede

ser aniónica (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio), catiónica (por ejemplo, haluros de alquiltrimetilamonio), o neutros (por ejemplo, aminas, polióxidos de etileno, alquil polióxidos de etileno, o copolímeros de ambos oxidos que son solubles en agua). Es decir que, la fuente del material inorgánico a ser sintetizado y la naturaleza del surfactante deciden la naturaleza de la interacción. El mecanismo de reacción depende en gran medida de la elección del surfactante y los contraiones, del tipo de interacción entre la plantilla y la fuente inorgánica, el pH, la concentración de los precursores y las relaciones molares de los componentes<sup>10</sup>.

Con respecto a los surfactantes o tensoactivos, éstos son moléculas anfifílicas. Las mismas se caracterizan por poseer en su estructura una parte lipofílica que puede estar constituida por uno o más cuerpos hidrocarbonados (cola hidrocarbonada), fluorcarbonados o silanos, y otra que es hidrofílica, unida a uno o varios grupos polares (cabeza) que se pueden disociar o no en iones y que. Al poner en contacto un surfactante con agua, las cadenas hidrofóbicas se ubican en el interior formando micelas, mientras que los grupos polares se disponen hacia la superficie en contacto con el medio acuoso. La geometría esférica es la forma mayoritariamente favorable de las micelas porque en esta geometría la energía de la superficie se minimiza de manera más eficiente<sup>11</sup>.

La parte hidrofóbica presenta miscibilidad en diferentes fases, por ello se utiliza en la síntesis de materiales mesoporosos. La parte hidrofílica es la que clasifica al surfactante y se dividen en:

- Aniónicos: presentan una superficie activa que está cargada negativamente cuando se encuentra en solución. Por ejemplo: dodecilsulfato de sodio, dodecibencen sulfonato de sodio.
- Catiónicos: son compatibles con los surfactantes no iónicos y zwitterionicos. Tienen una carga positiva, por lo tanto, se adsorben fuertemente sobre la mayoría de las superficies sólidas que están cargadas negativamente. Por ejemplo: bromuro de cetil amonio.
- Zwitterionicos: presentan baja toxicidad y, tienen la facilidad de ser adsorbidos en diferentes superficies cargadas positiva o negativamente, su único inconveniente es no ser solubles en solventes orgánicos.
- No iónicos: Son compatibles con otros tensoactivos aniónicos, catiónicos. Al contener una baja conductividad, no se ionizan en agua y no forman sales con los iones metálicos. Ejemplo de ellos son las aminas, polióxidos de etileno y alquil

polióxidos de etileno.

De las distintas interacciones entre el formador de red inorgánico y la molécula plantilla surgen distintos criterios de formación de estructuras mesoporosas inorgánicas de acuerdo a su carga.

- Interacción iónica S-I<sup>-</sup>: Esta ruta implica atracciones electrostáticas entre surfactantes catiónicos y especies inorgánicas aniónicas. En procedimientos de síntesis básicos, el precursor inorgánico es aniónico (I<sup>-</sup>), mientras que el surfactante es una sal de amonio cuaternaria catiónica (S<sup>+</sup>).
- Interacción iónica S-I<sup>+</sup>: Esta ruta implica fuerzas electrostáticas entre surfactantes aniónicos y especies inorgánicas catiónicas. El punto isoeléctrico de la sílice, es decir, el pH en el que su carga es cero es 2. Al emplear un pH inferior, el precursor inorgánico es catiónico (I<sup>+</sup>), por lo que el surfactante empleado suele ser un anión sulfónico (X<sup>-</sup>).
- Interacción iónica S+X-I<sup>+</sup> y S-X-I<sup>-</sup>: Ambas rutas implican interacciones mediadas por contraiones para poder permitir el ensamblaje de especies catiónicas o aniónicas inorgánicas mediante aniones halogenuro (S+X-I<sup>+</sup>) o cationes alcalinos (S-X-I<sup>-</sup>), respectivamente. De esta manera, la síntesis de los materiales M41S es posible tanto bajo condiciones básicas como ácidas. Si se opera a pH por debajo del punto isoeléctrico de la sílice (pH = 2), las especies silícicas son catiónicas (I<sup>+</sup>). El mismo surfactante catiónico (S<sup>+</sup>) puede ser empleado como agente director, pero en este caso, el contraión haluro (X<sup>-</sup>) sirve para moderar la repulsión entre el silicato catiónico (I<sup>+</sup>) y el surfactante (S<sup>+</sup>) por medio de fuerzas de enlace de hidrógeno débiles. Además, surfactantes cargados negativamente, tales como los fosfatos o los sulfonatos alquilo (S<sup>-</sup>), pueden ser usados como “templates” en medio básico si la interacción con las especies de sílice cargadas negativamente (I<sup>-</sup>) implica la participación de un contraión catiónico (M<sup>+</sup>)<sup>12</sup>.

Uno de los métodos de síntesis de materiales mesoporosos es el de sol-gel. Generalmente para alcanzar una estructura mesoporosa ordenada es conveniente partir de una solución homogénea del surfactante en un medio acuoso. Dicho proceso es una ruta de síntesis muy versátil. Se caracteriza por las bajas temperaturas a las que se sintetizan los materiales inorgánicos e híbridos orgánico-inorgánico permitiendo la incorporación de especies orgánicas o biológicas. Permite obtener materiales de gran pureza y homogeneidad a escala molecular así como controlar a escala nanométrica las superficies, interfases y porosidad de los mismos<sup>10,13-15</sup>. Por otro lado, el control del método de

procesado permite variar la morfología de los materiales sintetizados y así obtener partículas, películas, monolitos o fibras. Todas estas características permiten obtener materiales con alto valor agregado.

Otra técnica aplicada a la obtención de estos materiales es la síntesis solvotérmica e hidrotérmica. En un proceso solvotérmico se recristaliza o sintetiza químicamente un material a partir de la solución en un recipiente sellado por encima de la temperatura y presión ambiente. A menudo el nombre solvotérmico se reemplaza con un término para referirse más estrechamente al solvente utilizado. Así, dicho término se convierte en hidrotérmico si se usa una solución acuosa como solvente. De esta manera, la síntesis hidrotérmica se produce por calentamiento de una solución acuosa de los reactivos en un reactor cerrado, bajo presión autogenerada a la temperatura de trabajo. El agua cumple la función de solvente y de medio transmisor de la presión. La presión aumenta y el agua permanece líquida por encima de su temperatura de ebullición normal. Las temperaturas son inferiores a las necesarias en los procesos cerámico y sol-gel. Se aplica usualmente a la preparación de óxidos. Se cree que la síntesis de óxidos metálicos en condiciones hidrotérmicas ocurre en un proceso de dos pasos. En la primera etapa, hay una hidrólisis rápida de una solución de sal metálica para dar los hidróxidos metálicos. Durante la segunda etapa, el hidróxido se deshidrata, produciendo el óxido metálico deseado<sup>16</sup>.

Por otro lado, se encuentra la síntesis asistida por microondas. El uso de calentamiento microondas para realizar las síntesis de materiales inorgánicos reduce los tiempos de reacción, las reacciones secundarias son menos problemáticas, mejorando así el rendimiento y reproducibilidad<sup>9</sup>. Proporciona una nucleación uniforme y una distribución estrecha del tamaño de partículas. En general, la interacción de las microondas con los materiales durante la reacción se basa en dos mecanismos importantes: interacciones dipolo y conducción iónica. Los mismos pueden funcionar eficazmente cuando el acoplamiento tiene lugar entre los componentes del compuesto objetivo y el campo eléctrico oscilante del microondas. En el rango de frecuencia de microondas, las moléculas de agua intentan orientarse con el campo eléctrico y los dos extremos polares intentan reorientarse con respecto al campo eléctrico oscilante, como resultado pierden energía en forma de calor por colisión molecular y fricción<sup>13</sup>.

### **V.3.1. Síntesis de sílice mesoporosa**

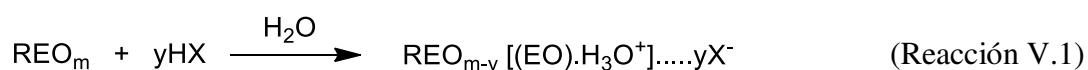
Una gran cantidad de estudios se han realizado para evaluar el mecanismo de síntesis de sílice mesoporosa SBA-15. Estos estudios se han centrado en las interacciones entre

los surfactantes y las especies de sílice para preparar sílices mesoporosas específicas, de los cuales se concluyó que los tensioactivos y la sílice se ensamblan espontáneamente mediante la interacción de los componentes orgánicos e inorgánicos. Además de la termodinámica del conjunto surfactante-sílice, las morfologías y dimensiones de los materiales resultantes son particularmente dependientes de la cinética de la química sol-gel, así como también la temperatura de reacción, el contenido de agua y el valor de pH de la solución de reacción<sup>17</sup>.

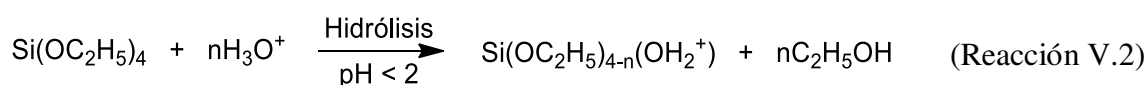
El mecanismo de síntesis de SBA-15 fue propuesto por Stucky et al.<sup>18</sup>, los cuales postularon el autoensamblaje cooperativo de la sílice alrededor del agente director de la estructura por vía (S<sup>0</sup>H<sup>+</sup>)(X<sup>-</sup>I<sup>-</sup>). Emplearon como copolímero no iónico Pluronic P123 que comprende unidades hidrófilas (PEO) e hidrófobas (PPO) como agente director de la estructura. Además, propusieron que la solubilización del surfactante en los medios acuosos se debe a la asociación de moléculas de agua con el grupo principal de óxido de polietileno hidrofílico (PEO) en un surfactante no iónico (S<sup>0</sup>) a través de puentes de hidrógeno. La solubilización se puede mejorar en medios ácidos (HX), donde los iones hidronio (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>), en lugar de la molécula de agua, están asociados con el óxido de etileno, lo que produce interacciones coulombianas de largo alcance. Además, la disminución del pH por debajo del punto isoelectrónico de la sílice (IEP ~ 2) puede aumentar la densidad de carga catiónica y aumentar la velocidad de hidrólisis de los alcoxisilanos como el tetraetil ortosilicato (TEOS) y el ortosilicato de tetrametilo (TMOS) en la interfaz del surfactante o template.

La reacción implica un mecanismo en dos pasos:

(1) La solubilización del copolímero que se produce por la asociación de iones H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> del medio ácido y restos de óxido de etileno (OE) de surfactante, según la reacción V.1:



2) Hidrólisis de especies de alcoxisilano seguida de oligomerización parcial en la interfaz del surfactante, según la reacción V.2:



Donde R y X representan el óxido de polipropileno hidrofóbico (PPO) e iones haluro

(Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> e I<sup>-</sup>) respectivamente. Los restos de OE del copolímero se asocian con la especie catiónica de sílice (paso 1) a través de puentes de hidrógeno, interacción electrostática e interacción de Van der Waals a través de la vía (Si<sup>0</sup>H<sup>+</sup>)(X<sup>-</sup>I<sup>-</sup>). La expansión de la esfera se produce a través de la coordinación entre X<sup>-</sup> y Si-OH<sup>+</sup> y la polimerización de la sílice alrededor del agente director de la estructura (Paso 2), seguida de la condensación, que resulta en la formación de especies de sílice organizadas alrededor del surfactante. Los canales mesoporosos se forman después de la eliminación del surfactante. Los poros son generados a través de la oclusión de las cadenas OE dentro de la red estructural de la sílice. Los microcanales proporcionan estabilidad a la red estructural de la sílice y facilitan la transferencia de masa durante las reacciones controladas por difusión<sup>5</sup>.

### V.3.1.1. Descripción de síntesis de la SBA-15

La síntesis de sílice mesoporosa SBA-15 se llevó a cabo mediante el uso de Pluronic P123 como plantilla en medio ácido<sup>19</sup>. Para tal fin, se disolvieron 4 g de Pluronic P123 en 350 ml de solución de HCl acuosa 3,1 M bajo agitación. Luego, se añadió polietilenglicol 400 (10 g) y la solución resultante se agitó lentamente a 35 °C hasta que la solución se hizo clara. A continuación, se añadió ortosilicato de tetraetilo (TEOS, 22,5 ml) gota a gota a la solución a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 40 °C durante 24 h. Posteriormente, el contenedor se transfirió a un horno microondas (ETHOS UP) y se mantuvo a 100 °C durante 12 h en condiciones estáticas. El precipitado resultante se filtró, se lavó cuidadosamente con agua destilada, y se secó a 80 °C overnight. Finalmente, el surfactante se eliminó por calcinación en mufla a 550 °C durante 5 h para obtener el producto final SBA-15.

### V.3.2. Síntesis de alúmina mesoporosa

La síntesis de alúmina mesoposa es más compleja que la síntesis de sílice mesoporosa, debido a las rápidas tasas de hidrólisis y condensación de los alcóxidos de aluminio. La primer síntesis exitosa de alúmina mesoporosa (AM) a partir del secbutóxido de aluminio fue lograda por Vaundry<sup>20</sup>, utilizando ácidos carboxílicos de cadena larga como agente director de la estructura en solventes alcohólicos de bajo peso molecular. Muchas de las síntesis para obtener AM se basan en los procesos de autoensamblaje sol-gel en presencia de plantillas blandas (surfactantes catiónicos, aniónicos y no iónicos) y duras (polímeros y moldes de carbono).



Una forma notable de lograr el crecimiento de estructuras AM ordenadas es el autoensamblaje inducido por evaporación de solvente (AIES) que permite el ajuste fino de las propiedades estructurales de estos materiales. La estrategia AIES puede reemplazar de manera competente el proceso de ensamblaje cooperativo de precursores y surfactante, que normalmente se utiliza para la preparación de materiales mesoporosos, especialmente en el caso de materiales mesoporosos no silíceos<sup>21</sup>.

El autoensamblaje inducido por evaporación de solvente es un método de síntesis en el que se coloca una gota de solvente en los componentes que se ensamblan y se dejan secar libremente en aire. La evaporación del solvente causa la asociación espontánea de componentes individuales en una estructura o patrón organizado. El procesamiento de materiales nanoestructurados por AIES es altamente eficiente porque permite el control de la estructura final ajustando parámetros químicos (composición sol inicial, pH, tiempo de envejecimiento) y el procesamiento (presión parcial de vapor, convección, temperatura)<sup>22</sup>.

#### V.3.2.1. Descripción de la síntesis de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mesoporosa

Para realizar la síntesis de alúmina mesoporosa, se siguió la metodología indicada por Cai et al.<sup>21</sup> con algunas modificaciones mediante AIES. Se agregó 3 g de Pluronic y 0,402 g de tricloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) a 60 mL de etanol. La mezcla resultante se mantuvo bajo agitación vigorosa a 40 °C durante 70 min. Luego a la solución anterior se le añadió lentamente 6 g de isopropóxido de aluminio (Al(OC<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)<sub>3</sub>) y se agitó a 40 °C durante 6 h. La solución final se llevó a estufa a 40 °C durante 2 h. Durante este proceso, el etanol se evaporó gradualmente y el gel húmedo se convirtió en xerogel. El xerogel resultante se calcinó a 400 °C durante 4 h para eliminar el template.

#### V.4. Nanomateriales

La síntesis de nanomateriales con tamaño de partícula uniforme es un tema de investigación intensiva en los últimos tiempos debido al interés científico y tecnológico de sus aplicaciones. Estos nanomateriales exhiben propiedades eléctricas, ópticas, magnéticas y químicas muy interesantes. Entre las diversas aplicaciones tecnológicas en las que se puede utilizar se encuentran, sistemas de refrigeración, imágenes médicas, liberación de drogas, catálisis entre otras<sup>23-26</sup>.

Los óxidos e hidróxidos de hierro son de especial importancia debido a sus amplias aplicaciones en dispositivos magnéticos, agentes anticorrosivos, catálisis, y como material de partida para la fabricación de cerámicas estructurales avanzadas<sup>23</sup>.

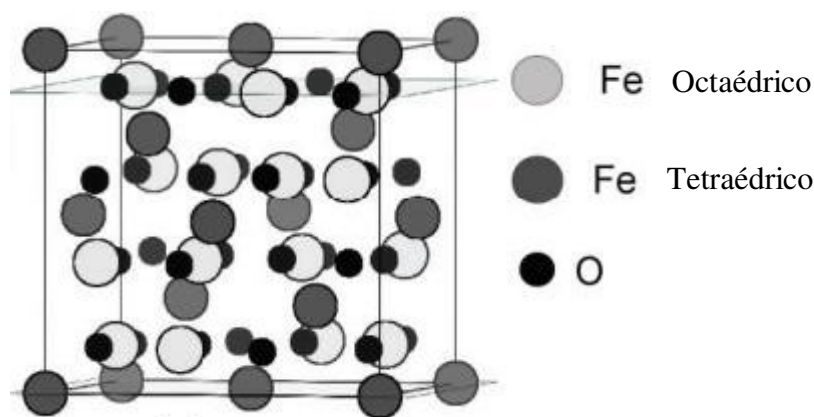
### V.4.1. Magnetita

Las nanopartículas magnéticas (NPs) de óxido de hierro se caracterizan por ser biocompatibles, superparamagnéticas y presentar estabilidad térmica. Su nanoestructura se basa en un núcleo inorgánico de óxido de hierro, tal como magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) y maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ). Las nanopartículas superparamagnéticas pueden ser manipuladas por un campo magnético externo para conducirla hacia un determinado objetivo<sup>27</sup>.

La magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) tiene una estructura cristalina de espinela inversa con una célula unidad cúbica centrada en la cara donde los iones de oxígeno se colocan regularmente en posiciones cúbicas cerradas a lo largo del eje  $[111]$ <sup>28</sup>. La celda unitaria está compuesta por 56 átomos: 32 aniones de  $\text{O}^{2-}$ , 16 cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y 8 cationes  $\text{Fe}^{2+}$ . Se compone de iones  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  en relación molar 1:2,  $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ , donde la mitad de los iones  $\text{Fe}^{3+}$  están coordinados tetraédricamente y la otra mitad están coordinados octaédricamente, todos los iones  $\text{Fe}^{2+}$  están coordinados octaédricamente<sup>29</sup>, según se presenta en la Figura V.1. Su fórmula es:



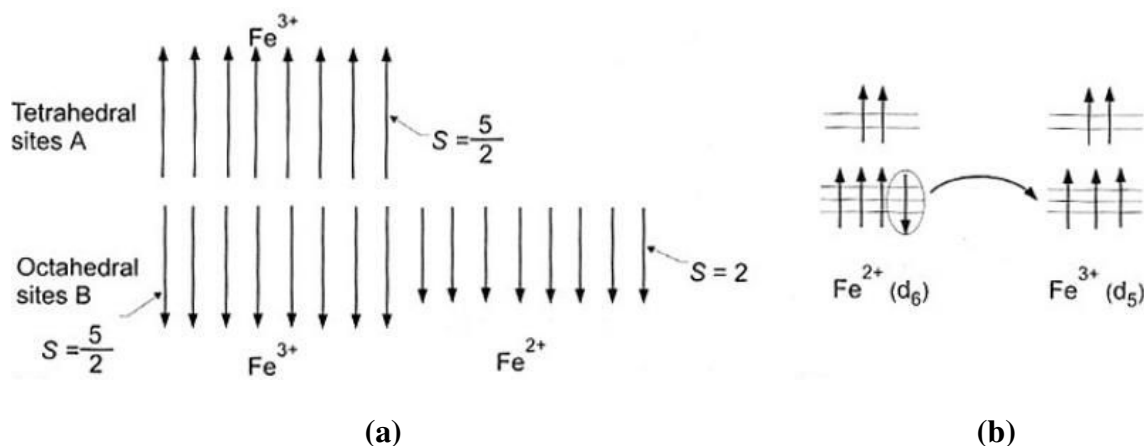
donde  $X = \text{Fe}^{2+}$ ,  $Y = \text{Fe}^{3+}$  y los paréntesis indican los sitios octaédricos. Su temperatura Curie es lo suficientemente alta (850 K), lo que le confiere la posibilidad de ser utilizada en una variedad de aplicaciones de respuesta magnética<sup>30</sup>.



**Figura V.1.** Estructura cristalina de espinela inversa de magnetita.

La configuración electrónica de magnetita consiste en electrones 3d desapareados, que imparten momentos magnéticos. En la Figura V.2.a, los espines del tetraedro A coordinan el  $\text{Fe}^{3+}$  y los espines del octaedro B coordinan el  $\text{Fe}^{3+}$  y el  $\text{Fe}^{2+}$  que son antiparalelos y de magnitud desigual. Por debajo de la temperatura de Curie, estas subredes interpenetrantes

alineadas antiparalelamente con momentos desiguales dan lugar al ferrimagnetismo observado. Las disposiciones de espín de las dos subredes interpenetrantes del  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  coordinados octaédricamente se acoplan ferromagnéticamente a través de un mecanismo de doble intercambio asociado con la transferencia de electrones entre los iones<sup>31</sup>, Figura V.2.b.



**Figura V.2.** a) Disposiciones de espín en magnetita, b) interacción de doble intercambio con la transferencia de electrones entre iones.

Al considerar las propiedades y la aplicación de las nanopartículas magnéticas, las propiedades de la superficie y la química son de gran importancia. Los átomos de Fe de la superficie, que no están unidos a los átomos de oxígeno en la superficie, actúan como ácidos de Lewis y, por lo tanto, se coordinan con las moléculas que donan pares de electrones solitarios, las bases de Lewis. Por lo tanto, en los sistemas acuosos, los átomos de Fe se coordinan con el agua, que se disocia fácilmente para dejar la superficie de óxido de hierro funcionalizada con hidroxilo. Los grupos hidroxilo superficiales son anfóteros y, por lo tanto, pueden reaccionar con ácidos o bases.

En dispersiones acuosas, la superficie de magnetita será positiva o negativa, dependiendo del pH de la solución. El punto isoeléctrico es el pH donde la superficie muestra un número igual de cargas superficiales negativas y positivas, en la magnetita se observa a un pH de 6,8. La estabilización de las nanopartículas de magnetita se puede lograr mediante doble capa electrostática, estabilización estérica o modificando el punto isoeléctrico con un recubrimiento de citrato o sílice<sup>32,33</sup>.

Sintéticamente, la magnetita se forma por dos procesos fundamentales: reducción de tamaño y precipitación acuosa. Los métodos de precipitación acuosa para la formación de nanopartículas de magnetita (NPM) incluyen: oxidación de  $\text{Fe}^{2+}$ <sup>32</sup>, formación en microemulsiones de agua en aceite<sup>34,35</sup>, y en presencia de polímeros<sup>36</sup>. Sin embargo, la ruta sintética más común hacia la magnetita es la co-precipitación de sales de hierro divalentes y trivalentes hidratadas en presencia de una base fuerte<sup>30</sup>.

Los métodos para preparar NPM de óxido de hierro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) incluyen microemulsión, descomposición térmica y co-precipitación química. El método de co-precipitación ofrece una alternativa de baja temperatura a las técnicas convencionales de síntesis de polvo en la producción de nanopartículas, cuyos tamaños pueden controlarse bien mediante un agente tensioactivo. Puede producir también partículas estequiométricas de óxidos metálicos simples y multicomponentes, finas y de elevada pureza<sup>27</sup>.

#### V.4.1.1. Formación de magnetita por co-precipitación

Varios investigadores determinaron que el logro de la estructura cristalina de espinela inversa cúbica se rige por los mecanismos de nucleación y crecimiento del cristal<sup>32,37</sup>. La nucleación de los iones en solución debe ser un primer paso discreto seguido por el crecimiento de cristales para obtener partículas monodispersas<sup>28</sup>. La etapa de nucleación depende de la formación de grupos de iones en solución en el punto donde la sobresaturación de los iones supera un valor crítico. Las condiciones de solución experimental gobiernan los procesos de la etapa de crecimiento del cristal<sup>32</sup>.

Los parámetros que influyen en la formación de magnetita son:

- **Pureza de los reactivos:** La pureza de los reactivos es un parámetro sintético importante en la formación de magnetita. Los reactivos de sal de hierro divalentes reportados en la literatura para co-precipitación son comúnmente  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  o  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Las sales de  $\text{Fe}^{2+}$  son oxidativamente inestables<sup>32</sup>. En el aire, se oxidan a formas de kaganeita ( $\beta\text{-FeOOH}$ ) según lo indicado por el cambio de color ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  desarrolla un color naranja). Las sales de hierro trivalentes pueden ser  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  o  $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . La sal de  $\text{Fe}^{3+}$  clorada es higroscópica; sin embargo, algunas sales de hierro trivalentes pueden deshidratarse, lo que altera las estequiometrias esperadas. El almacenamiento de los reactivos bajo nitrógeno y la desoxigenación cuidadosa de todas las soluciones antes de su uso previenen estas inestabilidades. Finalmente, cuando se prepara magnetita por el método de co-precipitación, las sales de hierro di- y trivalentes disueltas deben usarse

inmediatamente para prevenir la oxidación o reacciones secundarias.

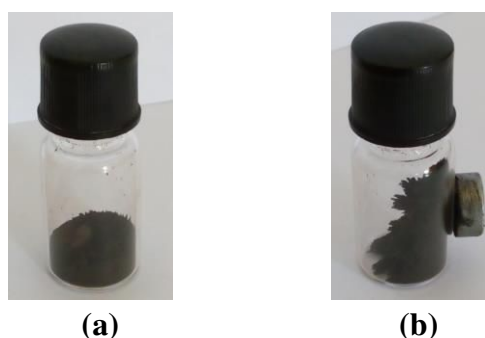
- **Relación estequiométrica y fuerza iónica:** La fórmula de magnetita es  $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ , por lo tanto, la reacción requiere 1 mol de  $\text{Fe}^{2+}$  y 2 moles de  $\text{Fe}^{3+}$  para la conversión estequiométrica. La inestabilidad oxidativa del ion  $\text{Fe}^{2+}$  ha llevado a algunos investigadores a utilizar las proporciones molares de  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} > 0,5$ <sup>38,39</sup>. Se predice que el  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  promedia una mezcla de reactivos estequiométricos, porque la sal de  $\text{Fe}^{2+}$  hidratada se oxida a especies  $\text{Fe}^{3+}$ .
- **Naturaleza del catión de la base:** El efecto de la naturaleza del catión de la base de hidróxido utilizada para formar magnetita se ha investigado en términos de propiedades magnéticas y estructuras cristalinas<sup>37</sup>. La magnetización de saturación aumenta en el orden de las siguientes bases:  $\text{KOH} < \text{NaOH} < \text{LiOH} < \text{NH}_4\text{OH}$ . El análisis de rayos X demuestra la presencia de especies no magnéticas, cuando se utilizan bases alcalinas fuertes como  $\text{KOH}$  y  $\text{NaOH}$ , lo que sugiere que los álcalis fuertes cambian el pH de la mezcla a  $\text{pH} \sim 14$ , creando complejos de hidrato de hierro que son incapaces de formar magnetita. Estudios demostraron que las preparaciones de magnetita que usan hidróxido de amonio en el rango de pH de 8,5 a 10 no producen ninguna de las formas no magnéticas de óxido de hierro<sup>37</sup> y que concentraciones de  $\text{NH}_4\text{OH}$  de 0,25-2,0 M son adecuadas para mantener las propiedades magnéticas de las partículas<sup>40</sup>.
- **Concentración de soluciones de sales de hierro hidratadas y orden de adición:** Las concentraciones de las sales de hierro utilizadas en la coprecipitación de magnetita varían ampliamente en la literatura. En preparaciones a escala de laboratorio, el orden de adición sigue donde la base se introduce en la solución de sal de hierro mezclada hasta que se forma la magnetita en un rango de pH de 9-14. Sin embargo, en los procedimientos a escala industrial, el orden de adición se invierte y las sales de hierro acuosas se agregan a la base. Griбанov et al.<sup>37</sup> demostró, que la respuesta magnética aumentaba a medida que la concentración molar del reactivo aumentaba hasta un límite de  $\sim 0.1$  M. Además se demostró, que si los reactivos están demasiado concentrados durante la formación de magnetita, el agua no puede participar en la hidrólisis y limita la movilidad de las especies de iones de hierro di y trivalentes y, por lo tanto, su capacidad de policondensar<sup>37</sup>. La velocidad de adición de la base debe ser rápida (1-2 s) con agitación intensa. Una adición de base lenta crea regiones

no homogéneas de las especies de hierro hidratado, lo que conduce a compuestos de hierro no magnéticos<sup>37</sup>.

- **Efecto de la temperatura:** La cinética de la formación en función de la temperatura sugiere una dependencia tiempo-temperatura de la tasa de formación de especies magnéticas. El período de inducción para la formación de partículas magnéticas disminuye con un aumento de la temperatura. Los resultados indican que la temperatura no debe superar los 343 K, ya que por encima de ella la calidad de la partícula se ve afectada negativamente<sup>30,37</sup>.

#### V.4.1.2. Descripción de la síntesis de magnetita

Las nanopartículas de magnetita se prepararon por el método de coprecipitación<sup>27</sup>, para lo cual se colocó en un balón los reactivos en el orden: 150 mL de agua desionizada, 0,046 mol de tricloruro de hierro hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) y 0,0115 mol de sulfato de hierro heptahidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). La mezcla se mantuvo a reflujo durante 2 h, bajo un flujo de nitrógeno para evitar que la magnetita se oxide en el aire a maghemita. Durante el proceso se observó la formación de una coloración negra asociada a la formación de magnetita. Finalizado se agregó  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta alcanzar un  $\text{pH} = 11$ . El producto se llevó a un vaso de precipitados, debajo del cual se colocó un imán de neodimio para realizar la separación. Posteriormente se realizaron lavados con agua desionizada y etanol y se secó en pistola de secado con  $\text{CaCl}_2$  durante 4 h. Se obtuvo nanopartículas magnéticas de color negro brillantes, según se muestra en la Figura V.3.



**Figura V.3.** Nanopartículas superparamagnéticas **a)** sin aplicación de un campo magnético, **b)** con aplicación de un campo magnético externo.

#### V.5. Caracterización físicoquímica de los soportes

Los materiales fueron caracterizados por diferentes técnicas físicoquímicas. La determinación de propiedades texturales: superficie específica, volumen de poro y distribución de tamaño de poros fue realizada por adsorción física de  $\text{N}_2$  mediante un

equipo NOVA-1000 Quantachrome perteneciente al SECEGRIN; el análisis estructural se realizó mediante: difracción de rayos X (XRD) en un equipo marca SHIMADZU modelo XD-D1 equipado con monocromador perteneciente a CENACA; dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS) en un equipo XEUSS 1.0 (XENOCs), con un detector de rayos X Pilatus100K (DECTRIS, Suiza) y una fuente de RX de Cu K $\alpha$  1,2 ( $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$ ), en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA-CONICET-UNLP); y microscopía electrónica de transmitancia (TEM) en un equipo JEM-2100Plus perteneciente a SECEGRIN; la identificación de las especies químicas superficiales por espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) se realizó en un equipo Multitécnica Specs equipado con una fuente de rayos X dual Mg/Al y un analizador hemiesférico PHOIBOS 150 en el modo transmisión analizador fijo (FAT) perteneciente a INCAPE-CONICET, CENACA-UNL; la existencia de grupos funcionales y su naturaleza química por espectroscopía infrarroja (FTIR) en un espectrofotómetro Shimadzu FTIR Prestige-21 perteneciente a CENACA-UNL. Además, para el caso de la SBA-15, la estructura química fue analizada por resonancia magnética nuclear (RMN) de sólidos en un espectrofotómetro Bruker Avance II-300 (59,6 MHz) perteneciente a LaNAIS-UNC-CONICET. Mayores detalles de estas técnicas se describen en el Anexo A.

## V.6. Resultados de la caracterización fisicoquímica

La caracterización fisicoquímica de los materiales sintetizados consistió en evaluar las propiedades texturales, estructurales y superficiales, las cuales se detallan a continuación.

### V.6.1. Evaluación de las propiedades texturales

La caracterización textural de los productos sintetizados se realizó por fisisorción. En la Figura V.4 se presentan las isothermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub> y la distribución de tamaño de poro, para cada muestra. Las superficies específicas determinadas por el método BET ( $S_{\text{BET}}$ ) se realizaron en un rango de presiones relativas comprendidas entre 0,05 y 0,35. Las distribuciones de tamaños de poro fueron calculadas de las correspondientes ramas de adsorción de las isothermas de N<sub>2</sub> usando el método Barret-Joyner-Halenda (BJH). Los volúmenes de poros fueron determinados a partir de las ramas de adsorción de las isothermas a una presión parcial de 0,99. Los valores obtenidos de los parámetros texturales de los soportes son presentados en la Tabla V.1.

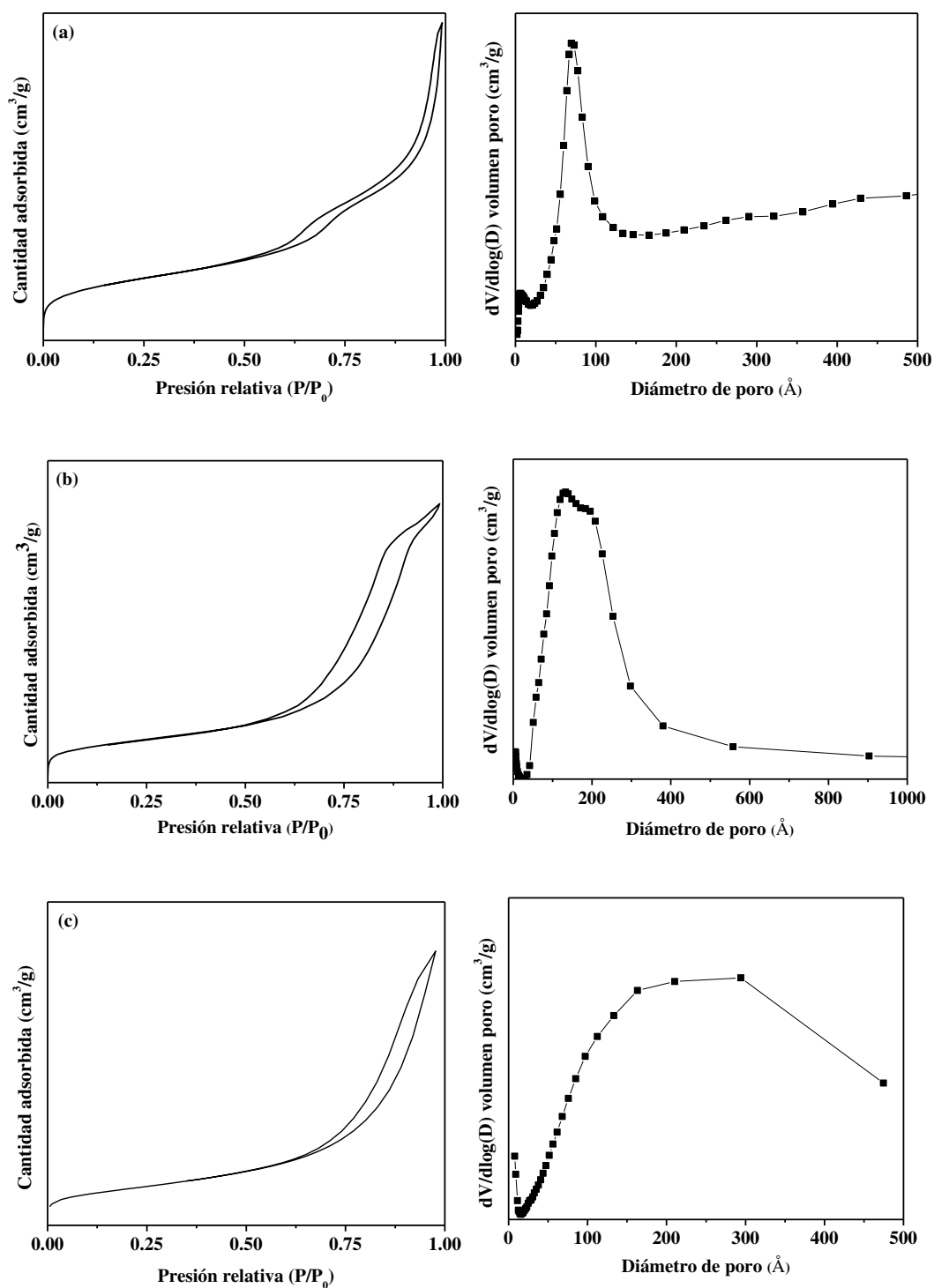
**Tabla V.1.** Parámetros texturales de los soportes determinados a partir de las isothermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub>

Muestra	S <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	V <sub>P</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	D <sub>P</sub> (Å)
SBA-15	578	1,68	117
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	266	0,90	136
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	52	0,18	90

Como puede observarse en la Figura V.4.a izquierda, la isoterma de adsorción-desorción de SBA-15 es del tipo IV con loop de histéresis tipo H1 a presión relativa (P/P<sub>0</sub>) desde 0,45 a 0,98 lo cual es representativo de un material mesoporoso de canales cilindricos<sup>18</sup>.

Los valores de superficie específica, volumen de poro y diámetro de poro medio de la SBA-15 concuerdan con los reportados en la literatura<sup>41-44</sup>.





**Figura V.4.** Isothermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub> (**izquierda**) y Perfiles de distribución de tamaño de poro (**derecha**), correspondientes a: **a)** SBA-15, **b)** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y **c)** Magnetita.

Además, como se observa en la Figura V.4.a derecha, la SBA-15 presenta poros con diámetros de entre 10-500 Å, existiendo un máximo en la curva de distribución de tamaños a diámetros de poro de 60-90 Å.

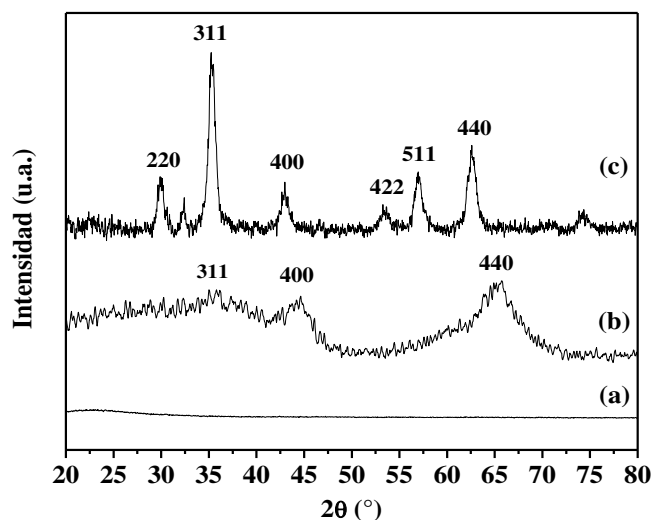
La isoterma de adsorción-desorción de  $N_2$  correspondientes a la alúmina se presenta en la Figura V.4.b izquierda. Al igual que como se observó con SBA-15, la isoterma es del tipo IV con loop de histéresis H1 a presión relativa ( $P/P_0$ ) entre 0,50 y 0,98, característico de los materiales mesoporosos. El loop correspondiente a la condensación capilar se desplazan ligeramente a presiones relativas mayores, lo que refleja un aumento en el tamaño de los mesoporos<sup>21</sup>. La correspondiente curva de distribución de tamaño de poros (Figura V.4.b derecha) indica un rango de poros entre 10-800 Å, con baja proporción de microporos<sup>21</sup>. El máximo en la curva de distribución de tamaños a diámetros de poro se presenta entre 100-200 Å.

De igual manera que como fue observado para los otros materiales, la magnetita presentó una isoterma de adsorción-desorción de  $N_2$  del tipo IV (Figura V.4.c izquierda). La histéresis que presenta dicha isoterma es tipo H3, característica de poros con forma de hendidura y/o tamaño o forma no uniforme<sup>45</sup>. La curva de distribución de tamaño de poros muestra que el rango de poros sería en el rango de mesoporos (50-500 Å). Similares valores de propiedades texturales son reportados en la bibliografía, para este material<sup>46</sup>.

### V.6.2. Evaluación de las propiedades estructurales

Las propiedades estructurales de los materiales se determinaron mediante la técnica de difracción de rayos X (XRD) y/o dispersión de rayos X de bajo ángulo (SAXS), luego de ser estabilizados térmicamente a la temperatura de calcinación establecida en la síntesis. La misma brinda información acerca del ordenamiento de los átomos en materiales cristalinos<sup>47</sup>.

Inicialmente, mediante XRD se identificó y caracterizó el ordenamiento estructural presente en los soportes. La identificación se realizó por medio de bases de datos cristalográficos de polvos. En la Figura V.5 se muestra los difractogramas obtenidos para los diferentes soportes. Las muestras de SBA-15 y Alúmina produjeron patrones de difracción identificados como fase  $SiO_2$  amorfa y  $\gamma-Al_2O_3$  amorfa<sup>48,49</sup>, respectivamente. El patrón de sílice observado corresponde a  $2\theta = 23^\circ$ , mientras que el patrón de la alúmina muestra tres picos principales que corresponden a las reflexiones  $d_{311}$ ,  $d_{400}$  y  $d_{440}$  de la fase  $\gamma-Al_2O_3$ <sup>50</sup> (los cuales aparecen a  $2\theta = 36,8; 45,6; 66,7$  respectivamente). La Magnetita produjo patrones de difracción identificados como  $Fe_3O_4$  y  $\alpha-Fe_3O_4$ <sup>51,52</sup>. Los picos fuertes que aparecen a  $2\theta = 30,2^\circ, 35,7^\circ, 43,8^\circ, 54,5^\circ, 57,3^\circ$  y  $63,8^\circ$  están indexados a la estructura de espinela cúbica cristalina de las NPM<sup>53,54</sup>.

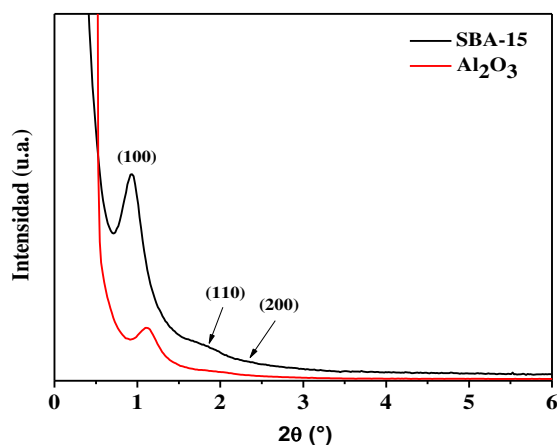


**Figura V.5.** Difractogramas DRX de a) SBA-15, b)  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

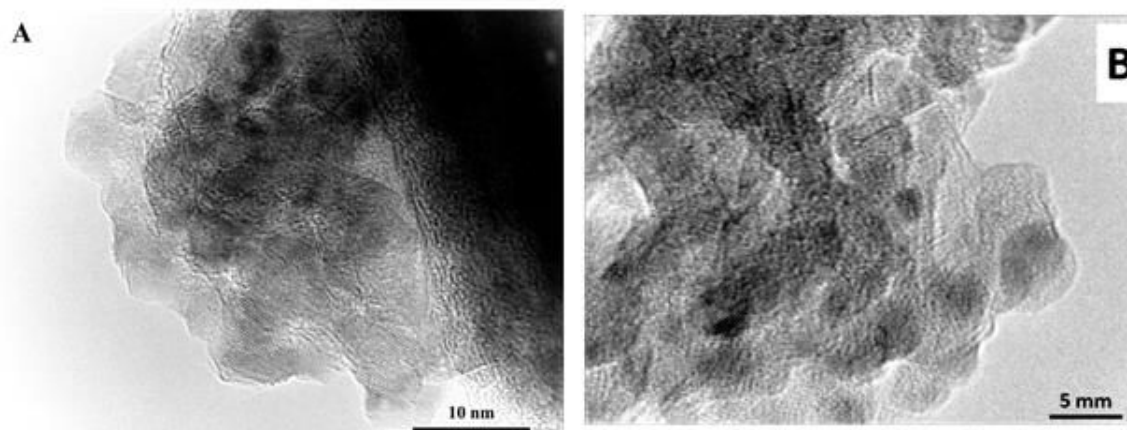
Posteriormente a partir de los estudios de SAXS se determinó el ordenamiento estructural de SBA-15 y Alúmina, cuyos patrones de difracción se muestran en la Figura V.6. Como puede observarse a simple vista, ambos materiales presentan picos a bajos ángulos de difracción<sup>55,56</sup>.

Por su parte, la SBA-15 presentó una señal de pico fuerte correspondiente al plano de simetría (100) y dos picos débiles, correspondientes a los planos de simetría (110) y (200), lo que sugiere un grado de ordenamiento de los mesoporos<sup>57</sup>.

A su vez, la Alúmina solo presentó la señal de pico fuerte correspondiente al plano de simetría (100). Si bien la bibliografía reporta la existencia de los planos de simetría (100), (110) y (200) como patrones SAXS para una alúmina mesoporosa bien ordenada<sup>58</sup>; en los resultados obtenidos no se dilucidaron en el difractograma los planos de simetría (110) y (200), por lo que habría una cierta aleatoriedad en el empaquetamiento de los canales, lo que se denomina canales del tipo worm-like<sup>59</sup>.



**Figura V.6.** Perfil de SAXS de SBA-15 y Alúmina.



**Figure V. 7.** Micrografías de TEM correspondiente a SBA-15(A) y Alúmina (B).

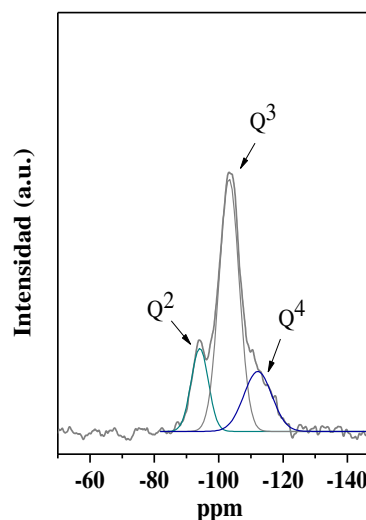
Por medio de microscopía electrónica de transmitancia (TEM) fueron evaluadas también las estructuras de los soportes SBA-15 y Alúmina. En el caso de la SBA-15, en la vista lateral (perpendicular al eje de los canales) se alcanza a ver canales rectos unidimensionales mientras que en la vista frontal se observa el arreglo hexagonal<sup>43</sup>. En la vista lateral de la imagen TEM obtenida para la alúmina se observan canales rectos, y a su vez parece haber un sistema de poros más o menos aleatorio (worm-like), lo cual concuerda con lo informado por otros investigadores<sup>60</sup> y los resultados obtenidos por SAXS.

### V.6.3. Evaluación de las propiedades químicas estructurales y superficiales

A continuación se evalúan las propiedades químicas estructurales y superficiales de los materiales: SBA-15, Alúmina y Magnetita.

#### V.6.3.1. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la SBA-15

Utilizando la técnica <sup>29</sup>Si-RMN, fue posible evaluar la composición estructural de la sílice que compone la SBA-15. Como puede observarse en la Figura V.8, el espectro <sup>29</sup>Si-RMN de SBA-15 mostró tres picos de resonancia atribuidos a estructuras de enlaces de silicio caracterizados por la ausencia de grupos oxhidrilo [(SiO)<sub>4</sub>Si], la presencia de



**Figura V.8.** Espectro <sup>29</sup>Si-RMN de SBA-15.

grupos silanol aislados  $[(\text{SiO})_3\text{Si}(\text{OH})]$ , y grupos de silanol terminal  $[(\text{SiO})_2\text{Si}(\text{OH})_2]$  identificados como  $Q_4$  ( $d=-111\text{ppm}$ ),  $Q_3$  ( $d=-103\text{ ppm}$ ) y  $Q_2$  ( $d=-93\text{ ppm}$ ) respectivamente<sup>44</sup>. Estos resultados concuerdan con la naturaleza de especies químicas del tipo Si-O reportadas para SBA-15 en la bibliografía<sup>42</sup>.

Por medio de FTIR es posible obtener información de los grupos químicos presentes en la superficie de los materiales. En la Figura V.9 se muestra el espectro FTIR correspondiente a la SBA-15, el cual muestra una banda ancha alrededor de  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la superposición de las bandas de estiramiento de O-H unidas al H de moléculas de agua (H-O-H) y al estiramiento SiO-H de los silanoles de la superficie unidos al agua molecular ( $\text{SiO-H}---\text{OH}_2$ ). El modo de vibración de O-H de las moléculas de agua adsorbidas es responsable de la banda centrada a  $1627\text{ cm}^{-1}$ . Además, las vibraciones de estiramiento en el plano Si-O de los grupos silanol Si-OH aparecen a  $956\text{ cm}^{-1}$ , cuya intensidad razonablemente alta explica el grado de polimerización relativamente bajo de las matrices de sílice. Las intensas vibraciones del enlace covalente Si-O-Si que aparecen en el rango de  $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  indican la existencia de una red de sílice, donde los átomos de oxígeno desempeñan el papel de puentes entre dos átomos de silicio. Además, la vibración de estiramiento simétrico de Si-O-Si y su modo de flexión aparecen a  $798$  y  $470\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. La banda de baja energía a  $555\text{ cm}^{-1}$  se asigna al estiramiento Si-O de los defectos de la red de sílice. También se distinguen varias bandas en el rango  $2924\text{-}2835\text{ cm}^{-1}$  asignadas a las vibraciones de estiramiento simétricas y anti-simétricas de las vibraciones de estiramiento de grupos  $-\text{CH}_2-$  del surfactante residual. Hay varias bandas de vibración atribuidas a las vibraciones de flexión de los grupos  $-\text{CH}_2-$  de la plantilla en el rango de  $1496\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ <sup>44</sup>.

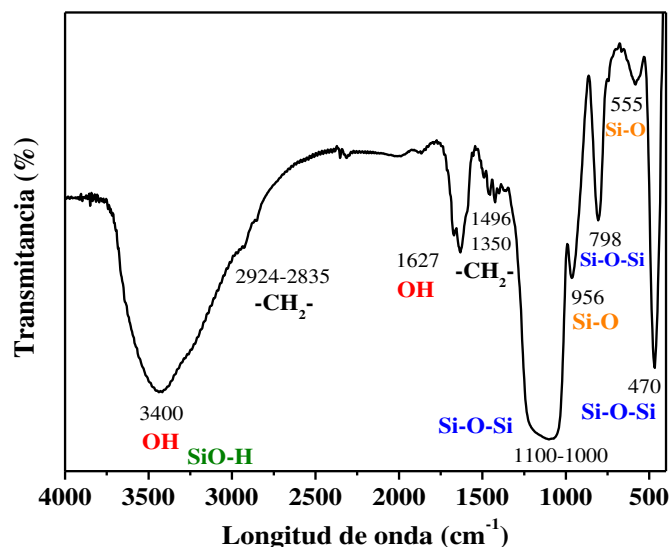


Figura V.9. Espectro FTIR de SBA-15.

Además, se utilizó la espectroscopia electrónica de rayos X para investigar la estructura electrónica superficial de este material. En la Figura V.10 se encuentra el espectro correspondiente a la SBA-15. Del mismo se observan los picos característicos de Si2p (104 eV), Si2s (155 eV), C1s (288 eV) y O1s (534 eV), los cuales son coincidentes con los reportados en la bibliografía<sup>61</sup>.

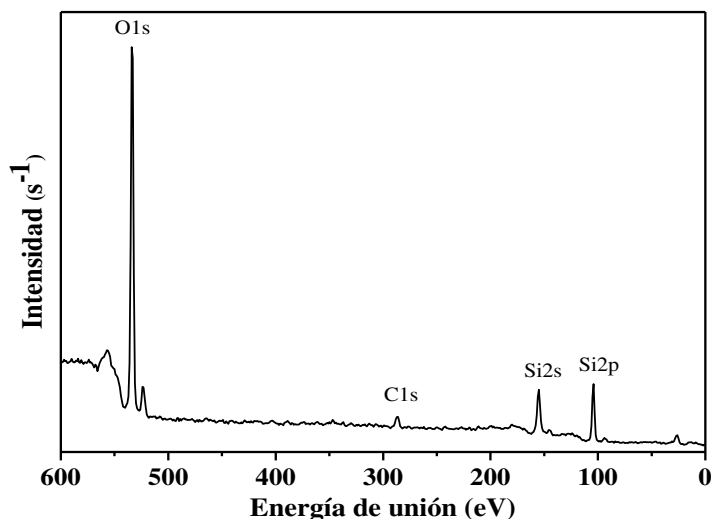
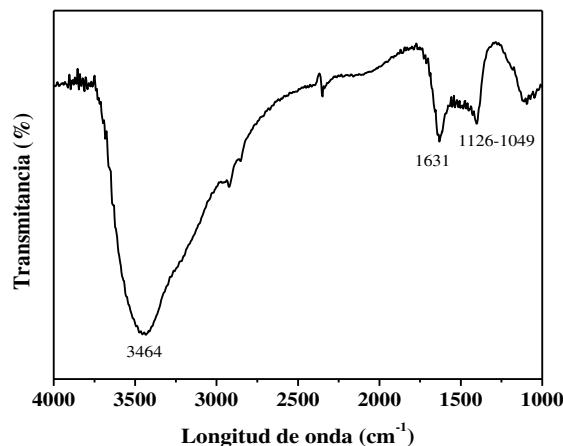


Figura V.10. Espectro de XPS de SBA-15.

### V.6.3.2. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la Alúmina

En la Figura V.11 se muestra el espectro FTIR obtenido de la alúmina sintetizada. Las bandas a 3464, 1631 y 1126-1049  $\text{cm}^{-1}$  pueden resultar de las vibraciones del estiramiento

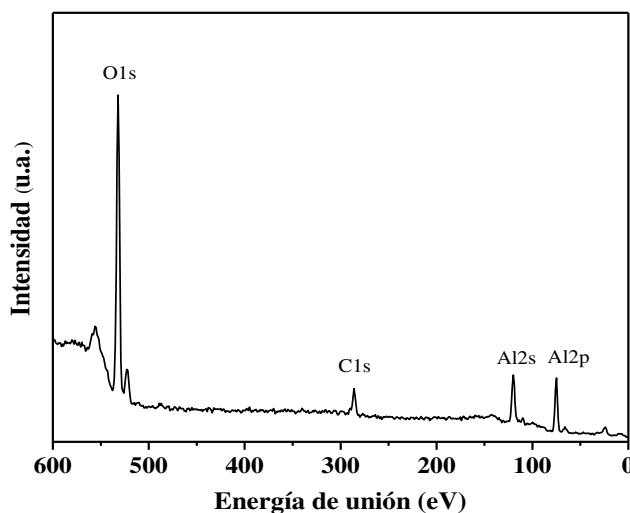
y flexión de  $\text{-OH}$  en la superficie compuesta de alúmina hidratada-Pluronic P123<sup>55</sup>. La amplitud de la banda en  $3464\text{ cm}^{-1}$  surge de enlaces de hidrógeno intermolecular<sup>21,56</sup>.



**Figura V.11.** Espectro FTIR de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Como puede observarse las diferentes morfologías de la  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  tienen un espectro similar a la región de los OHs<sup>62</sup>.

La Figura V.12 muestra la presencia de las especies de Al y O en la alúmina. Los picos característicos de Al2p, Al2s, C1s, O1s están presentes en una energía de unión de 75, 120, 285, 532 eV respectivamente. La posición de energía de Al2p corresponde a la formación de la fase  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Estos datos coincidieron con los reportados en la literatura<sup>63</sup>.



**Figura V.12.** Espectro de XPS de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

### V.6.3.3. Propiedades químicas estructurales y superficiales de la Magnetita

El espectro correspondiente a la magnetita se muestra en la Figura V.13. El pico que se encuentra entre  $500$  y  $600\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración Fe-O y está relacionado a la

fase magnetita<sup>54,64</sup>. La banda a  $1630\text{ cm}^{-1}$  corresponde al modo bending de las vibraciones  $-\text{OH}^{65}$ . Las bandas entre  $3000\text{--}3400$ ,  $2000\text{--}2400$ ,  $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  probablemente se deban a agua adsorbida.

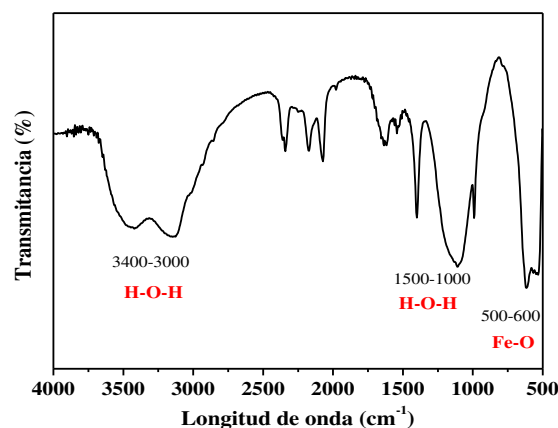


Figura V.13. Espectro FTIR de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

## V.7. Conclusiones

En base a los resultados presentados en este capítulo, es posible concluir que los materiales SBA-15, alúmina y magnetita a ser utilizados como soportes en esta tesis, pudieron ser sintetizados adecuadamente a partir de los métodos de referencia.

La caracterización fisicoquímica realizada teniendo en cuenta las propiedades texturales, estructurales y químicas de estos materiales, reportó similares resultados a los informados en la bibliografía por los procedimientos de síntesis seleccionados.

## V.8. Referencias

1. Cychosz, K. A., Guillet-Nicolas, R., García-Martínez, J., Thommes, M. *Chem. Soc. Rev.*, 2017, **46**, 389–414.
2. Kresge, C. T., Roth, W. J. *Chem. Rev.*, 2013, **42**, 3663–3670.
3. Beck, J. S., Vartuli, J. C., Roth, W. J., Leonowicz, M. E., Kresge, C. T., Schmitt, K. D., Chu, C. T.-W., Olson, D. H., Sheppard, E. W., McCullen, S. B., Higgins, J. B., Schlenker, J. L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 10834–10843.
4. Althman, Z. A. *Materials (Basel)*, 2012, **5**, 2874–2902.
5. Singh, S., Kumar, R., Setiabudi, H. D., Nanda, S., Vo, D. N. *Appl. Catal. A, Gen.*, 2018, **559**, 57–74.
6. Lashgari, N., Badii, A., Ziarani, G. M. 2016, **1**, 127–141.
7. Cejka, J., Zilková, N., Rathousky, J., Zúkal, A. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2001, **3**, 5076–5081.
8. Zou, X., Wang, P., Wang, Z., Chen, S., Liao, S., Lu, M., Zou, X., Wang, P., Wang, Z., Fan, G. *Ceram. Int.*, 2018, **44**, 10847–10851.
9. West, A. R. *Solid State Chemistry and Its Applications*, Wiley, UK, Second., 2014.
10. Gómez-Romero, P., Sanchez, C. *Functional Hybrid Materials*, Wiley-VCH, 2003.
11. Rath, D., Rana, S., Parida, K. M. *RSC Adv.*, 2014, **4**, 57111–57124.
12. Rosen, M. J., Kunjappu, J. T. *Phenomena surfactants and phenomena*, Wiley and Sons, Fourth., 2012.



13. Rao, B. G., Mukherjee, D., Reddy, B. M. Chapter 1 - Novel approaches for preparation of nanoparticles, Elsevier Inc., 2017.
14. Ellerby, L. M., Nishida, C. R., Nishida, F., Yamanaka, S. A., Valentine, J. S., Zink, J. I., Yamanaka, S. A., Dunn, B., Valentine, J. S., Zink, J. I. *Am. Assoc. Adv. Sci. Stable*, 2016, **255**, 1113–1115.
15. Lee, J., Ko, K., Park, B. *J. Cryst. Growth*, 2003, **247**, 119–125.
16. Lalena, J. N., Cleary, D. A., Carpenter, E. E., Dean, N. F. Inorganic materials synthesis and fabrication, Wiley-Interscience, 2008.
17. Wu, S.-H., Mou, C.-Y., Lin, H.-P. *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 3862–3875.
18. Zhao, D., Sun, J., Li, Q., Stucky, G. D. *Chem. Mater.*, 2000, **12**, 275–279.
19. Wang, A., Ji, Y., Yin, H., Liu, S. *New J. Chem.*, 2016, **40**, 9781–9787.
20. Vaundry, F., Khodabandeh, S., Davis, M. E. *Chem. Mater.*, 1996, **8**, 1451–1464.
21. Cai, W., Yu, J., Anand, C., Vinu, A., Jaroniec, M. *Chem. Mater.*, 2011, **23**, 1147–1157.
22. Grosso, B. D., Cagnol, F., Soler-Illia, G. J. de A. A., Crepaldi, E. L., Amenitsch, H., Brunet-Bruneau, A., Bourgeois, A., Sanchez, C. *Adv. Funct. Mater.*, 2004, **14**, 309–322.
23. Sreeram, K. J., Nidhin, M., Indumathy, R., Nair, B. U. *Bull. Mater. Sci.*, 2008, **31**, 93–96.
24. Zhang, L., Webster, T. J. *Nano Today*, 2009, **4**, 66–80.
25. Thomas, A., Tapia-Torres, E., Ramirez, A., Zehe, A. *Nanociencia et Moletrónica*, 2015, **13**, 2315–2326.
26. Luiz de Oliveira, J., Ramos-Campos, E. V., Bakshi, M., Abhilash, P. C., Fernandes-Fraceto, L. *Biotechnol. Adv.*, 2014, **32**, 1550–1561.
27. Mahdavi, M., Ahmad, M. Bin, Haron, J., Namvar, F., Nadi, B., Zaki, M., Rahman, A., Amin, J. *Molecules*, 2013, **18**, 7533–7548.
28. Cornell, R. M., Schwertmann, U. The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses, Wiley-VCH, 2003.
29. Tozini, D., Forti, M., Gargano, P., Alonso, P. R., Rubiolo, G. H. *Procedia Mater. Sci.*, 2015, **9**, 612–618.
30. Harris, L. A. Polymer Stabilized Magnetite Nanoparticles and Poly (propylene oxide) Modified Styrene-Dimethacrylate Networks Polymer Stabilized Magnetite Nanoparticles, 2002.
31. Elliott, S. R. The Physics and Chemistry of Solids, John Wiley & Sons, 1998.
32. Schwertmann, U., Cornell, R. M. Iron Oxides in the Laboratory, Wiley-VCH, Second., 2000.
33. Akhter, H., Murshed, J., Rashed, M. A., Oshima, Y., Nagao, Y., Rahman, M. M., Asiri, A. M., Hasnat, M. A., Uddin, M. N., Siddiquey, I. A. *J. Alloys Compd.*, 2017, **698**, 921–929.
34. Lee, K. M., Sorensen, C. H., Klabunde, K. J. 1992, 66506.
35. Dresco, P. A., Zaitsev, V. S., Gambino, R. J., Chu, B. *Langmuir*, 1999, **15**, 1945–1951.
36. McBain, S. C., Jon, H. H. Y., Dobson, J. *Int. J. Nanomedicine*, 2008, **3**, 169–180.
37. GRIBANOV, N. M., BIBIK, E. E., BUZUNOV, O. V., NAUMOV, V. N. *J. Magn. Magn. Mater.*, 1990, **85**, 7–10.
38. Pardoe, H., Chua-anusorn, W., Pierre, T. G. S., Dobson, J. *J. Magn. Magn. Mater.*, 2001, **225**, 41–46.
39. Khalafalla, S. E., Reimers, G. W. *IEEE Trans. Magn.*, 1980, **MAG-16**, 178–183.
40. Babes, L., Jacques, J., Jeune, L., Jallet, P. *J. Colloid Interface Sci.*, 1999, **482**, 474–482.
41. Vallet-Regí, M., Balas, F., Colilla, M., Manzano, M. *Prog. Solid State Chem.*, 2008, **36**, 163–191.
42. Stanzione, M., Gargiulo, N., Caputo, D., Liguori, B., Cerruti, P., Amendola, E., Lavorgna, M., Buonocore, G. G. *Eur. Polym. J.*, 2017, **89**, 88–100.
43. Li, L.-L., Sun, H., Fang, C.-J., Xu, J., Jin, J.-Y., Yan, C.-H. *J. Mater. Chem.*, 2007, **17**, 4492–4498.
44. Colilla, M., Martínez-Carmona, M., Sánchez-Salcedo, S., Ruiz-González, M. L., González-Calbet, J. M., Vallet-Regí, M. *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**.
45. Leofanti, G., Padovan, M., Tozzola, G., Venturelli, B. *Catal. Today*, 1998, **41**, 207–219.
46. Huang, Z., Tang, F. *J. Colloid Interface Sci.*, 2005, **281**, 432–436.
47. Pecharsky, V. K., Zavalij, P. Y. Fundamentals of powder diffraction and structural

- characterization of materials, Springer, 2005.
48. Kui, Z., Changming, L., Jian, Y., Shiqiu, G., Guangwen, X. *Chinese J. Chem. Eng.*, 2016, **25**, 137–141.
  49. Fedorov, A. V., Gulyaeva, Y. K. *Powder Technol.*, 2019, **343**, 783–791.
  50. Aguado, J., Escola, J. M., Castro, M. C., Paredes, B. *Microporous Mesoporous Mater.*, 2005, **83**, 181–192.
  51. Smith, D. K., Jenkins, R. *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, 1996, **101**, 259–271.
  52. Galindo-Quezada, J., Quintana-Melgoza, J. M., Flores-Sánchez, L. A., Moreno-Armenta, M. G., Galvan, D. H., Cornejo-Bravo, J. M. *Rev. Aristas Investig. Básica y Apl.*, 2016, **5**, 102–105.
  53. Yang, T., Shen, C., Li, Z., Zhang, H., Xiao, C., Chen, S., Xu, Z., Shi, D., Li, J., Gao, H. *J. Phys. Chem.*, 2005, **109**, 23233–23236.
  54. Mahdavi, M., Ahmad, M. Bin, Haron, M. J., Gharayebi, Y., Shameli, K., Nadi, B. *J Inorg Organomet Polym*, 2013, **23**, 599–607.
  55. Lu, C. L., Lv, J. G., Xu, L., Guo, X. F., Hou, W. H., Hu, Y., Huang, H. *Nanotechnology*, 2009, **20**, 215604.
  56. Liu, C., Wei, L., Li, F. *J Soils Sediments*, 2012, **12**, 724–733.
  57. Wang, Y., Noguchi, M., Takahashi, Y., Ohtsuka, Y. *Catal. Today*, 2001, **68**, 3–9.
  58. Niesz, K., Yang, P., Somorjai, G. A. *Chem. Commun.*, 2005, 1986–1987.
  59. Geckeler, K. E., Nishide, H. *Advanced Nanomaterials*, Wiley-VCH, 2010.
  60. Williams, T. M. L., Soc, J. C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1996, **35**, 1102–1105.
  61. Chang, A. C. C., Chuang, S. S. C., Gray, M., Soong, Y. *Energy and Fuels*, 2003, **17**, 468–473.
  62. Busca, G. *Catal. Today*, 2014, **226**, 2–13.
  63. Reddy, N., Bera, P., Reddy, V. R., Sridhara, N., Dey, A., Anandan, C., Kumar, A. *Ceram. Int.*, 2014, **40**, 11099–11107.
  64. Mukhopadhyay, A., Joshi, N., Chattopadhyay, K., De, G. *Appl. Mater. Interfaces*, 2012, **4**, 142–149.
  65. Wang, Y., Peng, X., Shi, J., Tang, X., Jiang, J., Liu, W. 2012, 1–13.



## **CAPÍTULO VI**

---

### **Ligandos químicos soportados en materiales porosos**



## VI.1. Introducción

En este capítulo se describen los avances realizados sobre la preparación y caracterización de los materiales desarrollados al soportar los ligandos químicos sintetizados sobre distintos materiales preparados en el capítulo V. A estos sistemas se los denomina comúnmente **compositos** o **materiales compuestos**, ya que están formados por materiales de origen orgánico e inorgánico<sup>1,2</sup>.

Los ligandos químicos seleccionados para esta etapa fueron los que presentaron propiedades antioxidantes: BVA, BEG, y propiedad sensora cromogénica: MA2. Como soportes se seleccionaron: SBA-15, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

## VI.2. Anclaje de los soportes sólidos: fundamentos

Para anclar los ligandos químicos sobre los soportes se evaluaron tres procedimientos: impregnación, fusión e impregnación asistida por microondas, los cuales se describen a continuación.

### VI.2.1. Impregnación

La impregnación es el procedimiento mediante el cual un cierto volumen de solución que contiene el ligando químico se pone en contacto con el soporte sólido, el cual en una etapa posterior se seca para eliminar el disolvente embebido. Se pueden distinguir dos métodos de contacto, dependiendo del volumen de solución: impregnación húmeda e impregnación a humedad incipiente. En la impregnación húmeda el espacio de los poros del soporte se llena primero con el mismo solvente que se usa en la solución del ligando químico (LQ) y en una segunda etapa, el soporte humedecido se trata luego con la solución del LQ. La impregnación real tiene lugar cuando el soporte lleno de solvente se sumerge en la solución del ligando. Durante esta etapa el LQ migra progresivamente de la solución a los poros del soporte, siendo la fuerza impulsora el gradiente de concentración entre la solución a granel del LQ y la solución dentro de los poros<sup>3</sup>. Después de un cierto tiempo, se elimina el exceso de solvente por secado. Este tipo de impregnación debe evitarse cuando la interacción entre los LQ y el soporte es demasiado débil como para garantizar la deposición del primero<sup>4,5</sup>. En la impregnación a humedad incipiente, el volumen de la solución del ligando químico de concentración apropiada es igual o ligeramente menor que el volumen de poros del soporte. El control de la operación debe ser preciso, y puede ser necesario realizar el proceso de impregnación en forma repetida, para lograr de este modo la completa impregnación del LQ sobre el soporte. La carga máxima está limitada por la

solubilidad del LQ en la solución. Para ambos métodos, la variable operativa es la temperatura, que influye tanto en la solubilidad del LQ como en la viscosidad de la solución y, como consecuencia, en el tiempo de humectación. La concentración del LQ impregnado sobre el soporte depende de las condiciones de transferencia de masa dentro de los poros durante la impregnación y el secado<sup>4</sup>.

Uno de los inconvenientes que puede presentar el método de impregnación a humedad incipiente es que, al emplearse pequeñas cantidades de soporte se necesite un volumen de solución del LQ muy pequeño que podría ser insuficiente para mojar todo el soporte, en consecuencia se obtendría una distribución heterogénea del precursor y el método resultaría casi impracticable.

Para evitar este inconveniente, se recurre a un método que permite determinar el volumen necesario de solución impregnante del LQ a emplear, de manera tal que dicho volumen logre mojar completamente el soporte a impregnar.

Este método presenta una serie de etapas a cumplir que se detallan a continuación:

1. Etapa 1: determinar el volumen de mojado del soporte. Para ello se pesa una cierta masa de soporte ( $W_0$ ; en g), y se agrega sobre el mismo, gota a gota, el solvente mientras se agita hasta que el sólido adquiera una consistencia de pasta, lo cual indicaría que los poros del soporte han sido llenados con el solvente. Se registra el volumen de solución necesario para mojar completamente el soporte ( $V_0$ ; en mL) y se calcula la relación  $V_0/W_0$ , denominada volumen de mojado del soporte ( $V_M$ ; en ml/g).

2. Etapa 2: Una vez que se conoce el volumen de mojado, se pesa la masa de soporte que se quiere impregnar ( $W$ ; en g) y se determina el volumen de solución impregnante del LQ necesario a emplear ( $V$ ; en ml) mediante la siguiente ecuación:

$$V = \frac{W \cdot V_0}{W_0} = W \cdot V_M \quad (\text{Ecuación VI.1})$$

3. En base a la carga del precursor requerida sobre el soporte ( $C_p$ ) se determina la masa del ligando químico ( $W_p$ ; en g) mediante la ecuación VI.2:

$$W_p = \frac{W \cdot C_p}{100} \quad (\text{Ecuación VI.2})$$

Donde:

$C_p$ : g del LQ/100 g de soporte.

4. Se prepara la solución del LQ de concentración  $C$  (g/ml) dada por la Ecuación IV.3:

$$C = \frac{V_P}{V} \quad (\text{Ecuación IV.3})$$

5. Finalmente se agrega gota a gota el volumen V (ml) de solución del LQ sobre la masa W (g) del soporte<sup>6</sup>.

Teniendo en cuenta lo expuesto previamente, se optó por utilizar el método de impregnación a humedad incipiente.

### **VI.2.2. Fusión**

Esta técnica consiste en poner en contacto el ligando químico con el soporte, para luego llevar la mezcla a la temperatura de fusión del LQ para que funda y de este modo penetre sobre los poros del soporte<sup>7</sup>. Este procedimiento se lleva a cabo generalmente sobre un crisol, de modo de poder llevarlo a una mufla, la cual permite trabajar a altas temperaturas en forma controlada. Luego, la mezcla obtenida se enfría y se muele para obtener homogeneidad en la preparación.

### **VI.2.3. Impregnación asistida por microondas**

Este procedimiento es similar al descrito en impregnación solo que se produce a temperaturas controladas bajo condiciones de horno microondas, por lo cual comúnmente se lo nombra en la bibliografía como impregnación asistida por microondas<sup>8</sup>. En este procedimiento el ligando químico se disuelve o dispersa en una mínima cantidad de solvente, junto con el soporte. Posteriormente la mezcla se lleva a horno microondas bajo temperaturas controladas y agitación. La mezcla obtenida se seca en estufa de manera de lograr la total evaporación del solvente. Las condiciones controladas de trabajo, permiten realizar el proceso de impregnación y evaporación del solvente en poco tiempo, preservando de este modo la integridad del ligando químico.

## **VI.3. Descripción experimental de métodos de anclaje de los soportes**

Los métodos de preparación explicados previamente se utilizaron para anclar los ligandos químicos sobre los soportes, con una concentración teórica de aproximadamente 10,0 g de LQ/100 g de soporte, utilizando los procedimientos descriptos a continuación:

### **a) Anclaje de los soportes por humedad incipiente**

Inicialmente se calculó el volumen de mojado. Para lo cual se pesó 2,05 g del soporte y se agregó 13,3 mL del solvente para obtener la consistencia pastosa. Con estos datos se



calculó el volumen de mojado ( $V_M$ ), cuyo valor fue de 4,5 mL/g. Considerando que se quiere impregnar el ligando químico en 1,5 g del soporte y que el  $V_M$  es de 4,5 mL, mediante la Ecuación VI.1 se determinó que el volumen de solución impregnante a utilizar la cual fue de 6,75 mL.

Luego se colocó la masa del soporte (1,5 g) en un vaso de precipitado y con una bureta se agregó gota a gota el volumen necesario de la solución impregnante del LQ (6,75 mL de etanol), homogeneizando el sólido con una espátula. Por último, el solvente se removió en un evaporador rotatorio y se secó en estufa a 80 °C toda la noche.

### **b) Anclaje de los soportes por fusión**

Esta técnica consistió en mezclar 0,15 g del ligando químico con 1,5 g del soporte en un crisol con tapa. Luego se llevó a una mufla a 350 °C durante 60 min. Transcurrido este tiempo se enfrió lentamente en atmósfera controlada. Posteriormente el material obtenido se homogeneizó en mortero.

### **c) Anclaje de los soportes por impregnación asistida por microondas**

Los ligandos se soportaron en los materiales por impregnación asistida por microondas, en un microondas Anton Paar Monowave 300. Para tal propósito, se colocó 0,15 g del ligando en un vial de 30 mL de capacidad, y se agregó 1,5 g del soporte. Luego se añadió 18 mL de una solución de etanol:agua (50:50 v/v). La reacción se realizó a 70 °C, 1200 rpm, durante 20 min. Posteriormente, se dejó enfriar, y el material resultante se secó a 80 °C durante 5 h.

## **VI.4 Fundamentos de la eficiencia de anclaje (EA)**

El anclaje se define como el recubrimiento o atrapamiento de un compuesto de interés, dentro de una matriz sólida o líquida<sup>9</sup>. En el caso de las preparaciones realizadas en este trabajo de tesis, es importante conocer la cantidad del ligando químico que se ha anclado sobre el soporte, por lo cual se determinó la eficiencia de anclaje. La eficiencia de anclaje da una idea del porcentaje de ligando químico que fue atrapado/adsorbido con éxito en el soporte poroso. La EA se define por medio de la Ecuación VI.4 siguiente manera<sup>10</sup>:

$$EA (\%) = \frac{\text{cantidad real del LQ}}{\text{cantidad inicial del LQ}} \cdot 100\% \quad (\text{Ecuación VI.4})$$

La cantidad real de ligando químico se determina por extracción y cuantificación del LQ del composito sintetizado, mientras que la cantidad inicial es considerada la cantidad del LQ de la cual se partió para producir el anclaje (masa inicial del LQ).

#### VI.4.1. Descripción experimental de la eficiencia de anclaje

El ligando químico anclado en el soporte fue removido usando una mezcla de acetona:DMSO (50:50 v/v). Para éste propósito, 0,1 g del composito sintetizado se mezcló con 20 ml de la mezcla de solventes, agitándose durante 20 min y posteriormente se sonicó durante 30 min. Luego, la suspensión se filtró y la masa del ligando químico se determinó por espectroscopía UV usando una curva de calibración obtenida a partir de soluciones estándar de los ligandos.

#### VI.5. Anclaje de ligandos químicos con propiedades antioxidantes

Los ligandos químicos con propiedades antioxidantes que se eligieron para soportar fueron: BVA y BEG. Ambos se soportaron inicialmente sobre SBA-15 por los métodos de humedad incipiente, fusión e impregnación asistida por microondas, con el objetivo de determinar el método de anclaje más adecuado. Para una mejor comprensión de lo que se describe a continuación se adapta la nomenclatura que se presenta en la Tabla VI.1.

**Tabla VI.1.** Nomenclatura de asignación de muestras evaluadas en la selección de métodos de anclaje

Soporte	Ligando Químico	Método de anclaje	Nomenclatura
SBA-15	-	-	SBA
	<i>bis</i> -vainillina (BVA)	Humedad Incipiente (HI)	BVA/SBA(HI)
		Fusión (F)	BVA/SBA(F)
		Impregnación asistida por microondas (MW)	BVA/SBA(MW)
	<i>bis</i> -eugenol (BEG)	Humedad Incipiente (HI)	BEG/SBA(HI)
		Fusión (F)	BEG/SBA(F)
		Impregnación asistida por microondas (MW)	BEG/SBA(MW)

Posteriormente, en base a los resultados obtenidos en esta etapa inicial, se seleccionó un método de referencia que fue utilizado para soportar BVA y/o BEG sobre los soportes Alúmina y la Magnetita.

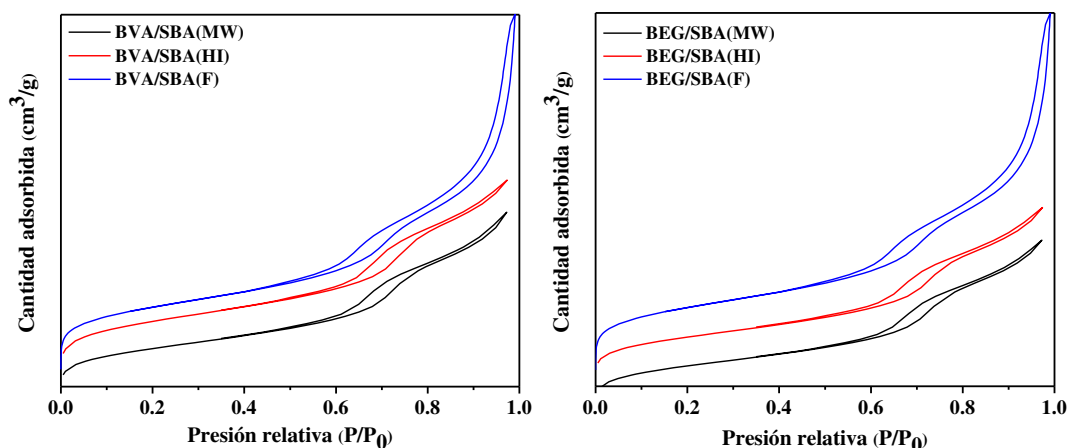
### **VI.5.1. Selección del método de anclaje**

Para evaluar los métodos de anclaje propuestos, los materiales sintetizados según Tabla VI.1, fueron caracterizados por diferentes técnicas fisicoquímicas. En especial se centró el estudio en la determinación de propiedades texturales: superficie específica, volumen de poro y distribución de tamaños de poros por adsorción física de N<sub>2</sub>; la determinación de la estructura cristalina por difracción de rayos X (DRX); la determinación de la Eficiencia de Anclaje (EA%); y pruebas de liberación de los LQ. A continuación se presentan los resultados obtenidos de las caracterizaciones realizadas.

#### **VI.5.1.1. Evaluación de las propiedades texturales**

La caracterización textural de los materiales se realizó mediante fisorción de nitrógeno. A partir de las correspondientes ramas de adsorción de las isothermas de adsorción/desorción de N<sub>2</sub> (Figura VI.1), se determinó la superficie específica ( $S_{BET}$ ), el volumen de poro ( $V_P$ ) y la distribución de diámetro de poros ( $D_P$ ) para cada muestra, cuyos valores obtenidos se presentan en la Tabla VI.2. En todos los casos se comparó con los valores obtenidos para el soporte SBA libre, cuyos valores fueron reportados en el capítulo V.

Como puede observarse en la Figura VI.1, las isothermas de los materiales sintetizados son de tipo IV con loop de histéresis H1 a presión relativa ( $P/P_0$ ) desde 0,45 a 0,98 lo cual es representativo de mesoporos cilíndricos. Independientemente del método, el anclaje de BVA y BEG sobre SBA causó reducción en la superficie BET, el volumen de los poros y en el diámetro medio de los poros, lo cual es atribuido a que las moléculas de los ligandos químicos se encontrarían dentro de los poros de la sílice, lo que reducen la adsorción de nitrógeno y por consiguiente la disminución de los parámetros texturales, en relación a los valores obtenidos para SBA.



**Figura VI.1.** Isothermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub> de las muestras de BVA/SBA (**izquierda**) y BEG/SBA (**derecha**) obtenidos por diferentes métodos de anclaje.

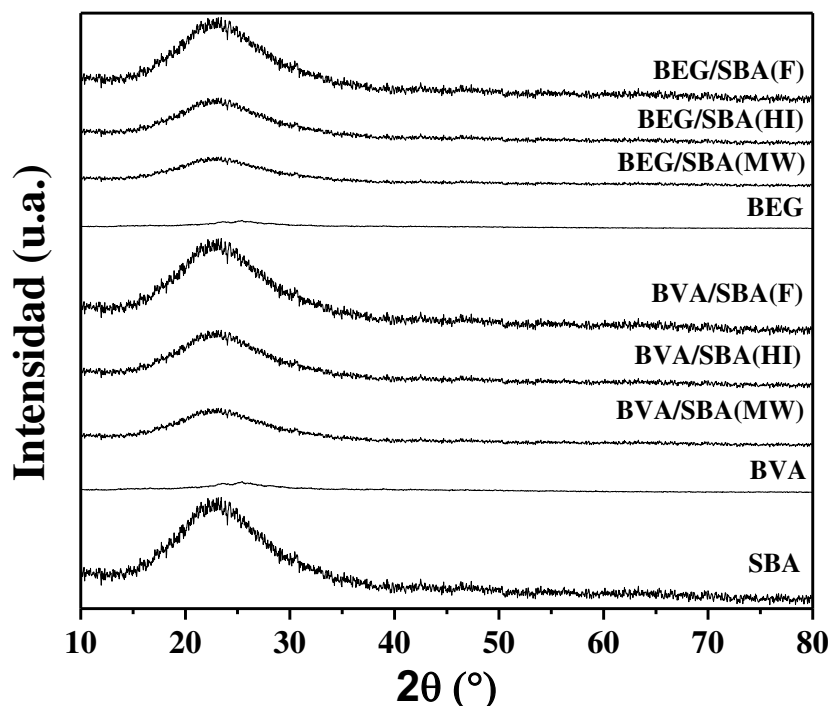
**Tabla VI.2.** Parámetros texturales de materiales, medidos por isothermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub>

Muestra	S <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	V <sub>P</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	D <sub>P</sub> (Å)
SBA	578	1,68	117
BVA/SBA(HI)	492	0,77	70
BVA/SBA(F)	474	0,82	62
BVA/SBA(MW)	388	0,78	89
BEG/SBA(HI)	496	0,79	68
BEG/SBA(F)	489	0,72	67
BEG/SBA(MW)	264	0,61	100

### VI.5.1.2. Evaluación de las propiedades estructurales

Las propiedades estructurales de los materiales se determinaron por DRX, comparando el difractograma obtenido para el soporte SBA (Figura V.5), con los obtenidos para las muestras de BVA, BEG, BVA/SBA(MW), BVA/SBA(HI), BVA/SBA(F), BEG/SBA(MW), BEG/SBA(HI) y BEG/SBA(F). De la Figura VI.2 se observa que, si bien los ligandos químicos son sólidos y presentan alto grado de estructura amorfa, ambos presentaron un patrón de difracción. El patrón DRX observado a  $2\theta = 23^\circ$  corresponde a la sílice amorfa tal como se indicó anteriormente (Capítulo V). También se observó un patrón DRX similar al de la sílice para los composites BVA/SBA y BEG/SBA obtenidos por los distintos procedimientos de anclaje estudiados, lo que indicaría que los ligandos químicos

se encuentran ampliamente dispersos en la superficie del soporte, sin formar ninguna nueva fase agregada<sup>11</sup>.



**Figura VI.2.** Difractogramas obtenidos de las muestras BVA/SBA y BEG/SBA obtenidas por diferentes procedimientos de impregnación, en comparación con el difractograma del soporte SBA.

### VI.5.1.3. Evaluación de la eficiencia de anclaje

El contenido de BVA y BEG en los materiales sintetizados fue determinado por extracción con acetona:DMSO y cuantificado por espectroscopia UV, cuyos valores son presentados en la Tabla VI.3. Considerando los contenidos iniciales de los ligandos químicos utilizados en la preparación de los composites, se determinó la eficiencia de anclaje según la Ecuación VI.4. Como puede analizarse de los valores reportados en la Tabla VI.3, los mayores valores de EA % fueron obtenidos para los procedimientos de Impregnación Incipiente e Impregnación Asistida por Microondas. Los bajos valores de EA % obtenidos con los métodos de fusión pueden deberse a que durante el proceso de fusión existe un alto grado de degradación de las moléculas de los ligandos químicos a ser anclados.

Con el objetivo de evaluar los resultados presentados en la Tabla VI.3, se determinó por análisis elemental el porcentaje de carbono en todas las muestras y, de este modo, se verificó el resultado obtenido por extracción y análisis por UV. En base a la cantidad de carbono en las muestras, por estequiometría se determinó el contenido correspondiente de

**Tabla VI.3.** Evaluación de la eficiencia de anclaje de los materiales

Muestra	Contenido de LQ determinado (g %)	Contenido de LQ inicial (g %)	EA %
BVA/SBA(HI)	8,39	9,42	89,08
BVA/SBA(F)	6,27	10,22	61,35
BVA/SBA(MW)	8,72	9,54	91,44
BEG/SBA(HI)	7,92	9,41	84,19
BEG/SBA(F)	5,83	10,09	57,81
BEG/SBA(MW)	9,07	9,98	90,88

BVA o BEG. El contenido de estos ligandos químicos presentes en los compositos, en todos los casos fueron del orden a los contenidos obtenidos por análisis UV, verificando de esta manera los resultados reportados en la Tabla VI.3.

#### VI.5.1.4. Evaluación de la liberación de BVA y BEG de los compositos

Se realizaron pruebas de liberación de los ligandos químicos BVA y BEG en diferentes medios líquidos, para investigar el efecto de la incorporación de estas moléculas en SBA sobre los procesos de anclaje de los ligandos.

En la Figura VI.3 se muestran los resultados de la liberación de BVA y BEG en diferentes medios en relación con el contenido total presente en los compositos a distintos tiempos. Estos resultados muestran que un medio con un alto porcentaje de disolventes orgánicos favorece la liberación de los ligandos, mientras que los disolventes acuosos no favorecen su liberación de la matriz de SBA.

No hay cambios importantes en la liberación de los ligandos en medios acuosos en diferentes tiempos de prueba, mientras que hay una diferencia sustancial cuando las pruebas se realizaron en medios ricos en solventes orgánicos. La mayor liberación de BVA y BEG a partir de SBA que se observó en estos medios líquidos, no solo se atribuiría a la mayor solubilización de los ligandos químicos en los disolventes orgánicos probados, sino

también a la facilidad de su difusión desde la matriz de sílice al medio. El menor porcentaje de liberación observado en las muestras obtenidas por el procedimiento de fusión, podría deberse a la baja incorporación de BVA y BEG en el soporte SBA, lo cual puede atribuirse a que parte de los compuestos BVA y BEG se degradaron durante el proceso de anclaje, según fue observado al evaluar la efectividad del anclaje.

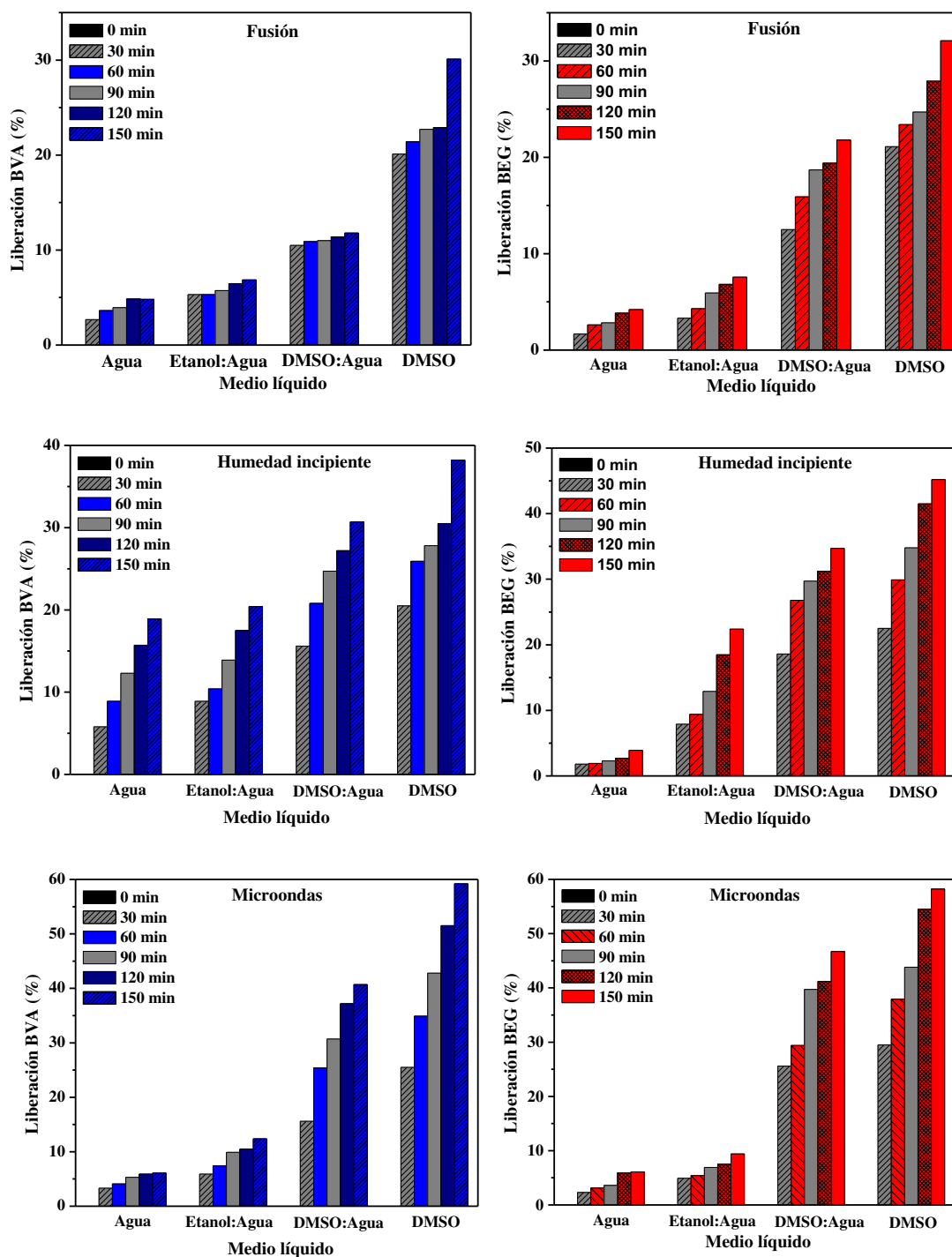


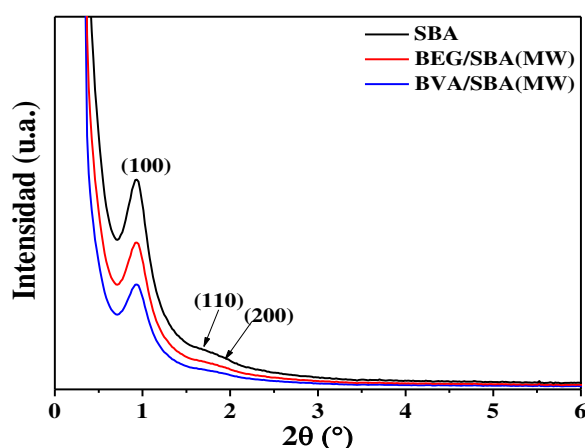
Figura VI.3. Ensayos de liberación de BVA y BEG de los materiales en diferentes medios.

En base a los resultados obtenidos es posible concluir que tanto los procedimientos de impregnación a humedad incipiente como el de impregnación asistida por microondas, serían adecuados para soportar los ligandos químicos sobre SBA. Sin embargo, teniendo en cuenta las ventajas tecnológicas y los mejores resultados obtenidos con el procedimiento de impregnación asistida por microondas (MW), se selecciona dicho método de anclaje de los ligandos para los demás materiales y ligandos químicos a evaluar.

Para una mejor comprensión de los fenómenos de interacción de los ligandos químicos con el soporte SBA, se sometieron las muestras preparadas por el procedimiento de impregnación asistida por microondas BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW), a otras técnicas de caracterización. En especial se evaluaron las propiedades estructurales por RMN, SAXS y TEM; las propiedades químicas superficiales por FTIR, XPS y por espectroscopía de fluorescencia; así como también las propiedades antioxidantes de estos compositos.

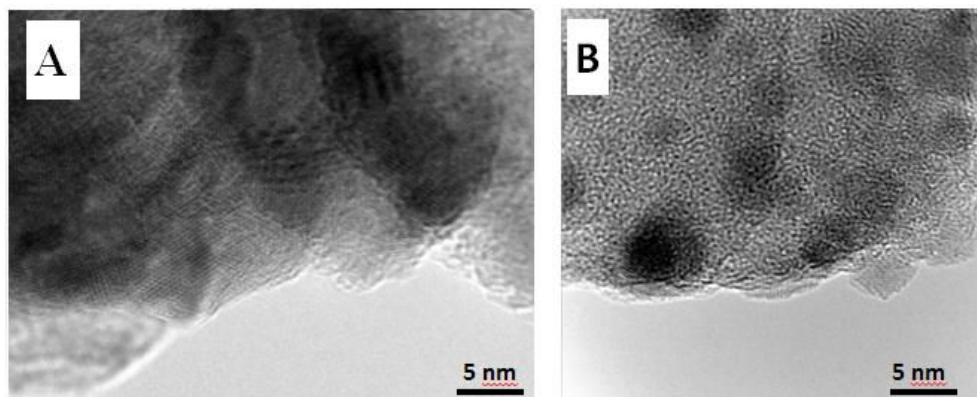
#### VI.5.1.5. Evaluación estructural de los materiales

Por medio de estudios de difracción por SAXS se evaluó el ordenamiento estructural de los materiales BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW), en relación con el soporte SBA. Los patrones de difracción a bajo ángulo ( $2\theta = 0-6^\circ$ ) de estos materiales junto con el correspondiente al soporte SBA se muestran en la Figura VI.4. Como puede observarse estos materiales presentan picos de difracción correspondientes a los planos de simetría (100), (110) y (200) presentes en la SBA, pero con menor intensidad, lo que indica que el anclaje de BVA y BEG en SBA no afecta el orden estructural de la sílice<sup>12</sup>. Como se dijo en el capítulo V, la presencia de estos picos sugiere un grado de ordenamiento de los mesoporos<sup>13,14</sup>. La disminución de la intensidad de las bandas de difracción características indicaría que BVA y BEG ocuparían los canales de la SBA, sin destrucción de la estructura ordenada del soporte<sup>15</sup>. Resultados similares se han observado en otro caso donde se ancló a la estructura mesoporosa, vainillina<sup>16</sup>.



**Figura VI.4.** Patrones de difracción de SAXS de las muestras SBA, BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW).



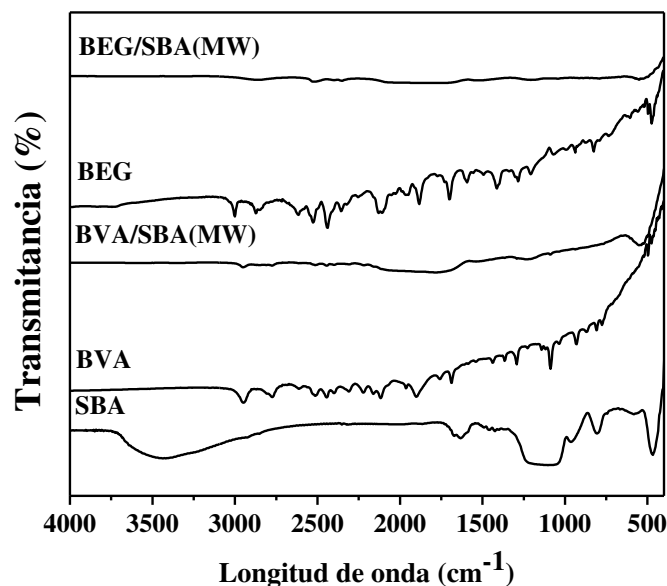


**Figura VI.5.** Micrografías de TEM correspondientes a (A) BVA/SBA(MW) y (B) BEG/SBA(MW).

Por microscopía electrónica de transmitancia fueron evaluadas también las estructuras de las muestras, cuyas micrografías se muestran en la Figura VI.5. En las mismas, se observan canales rectos en las vistas laterales, mientras que en las vistas frontales no se observan mesoporos con arreglo hexagonal.

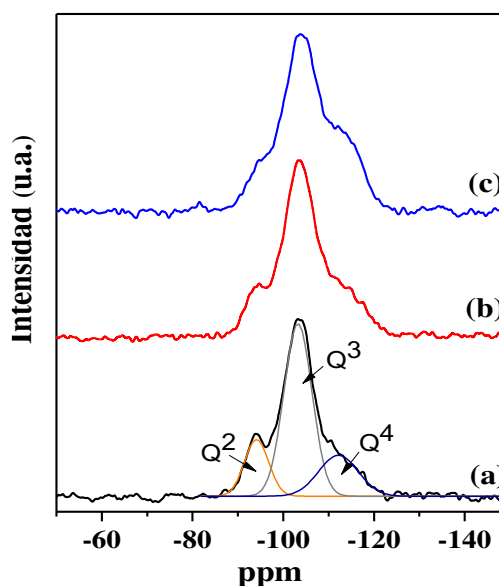
Para evaluar el tipo de interacción superficial de los ligandos BVA y BEG sobre SBA en las muestras preparadas por impregnación asistida por microondas, se utilizaron como técnicas espectroscópicas FTIR, RMN, XPS y Espectroscopía de Fluorescencia (EF).

El espectro FTIR del soporte SBA, de los ligandos BVA y BEG, y de los composites BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW) se muestran en la Figura VI.6. Las bandas características presentadas en los espectros de los ligandos BVA y BEG, respectivamente, concuerdan con las asignaciones reportadas en el capítulo V. En el espectro de SBA, se observa una banda cercana a  $1635\text{ cm}^{-1}$ , principalmente como resultado de la vibración de flexión del  $\text{H}_2\text{O}$  absorbida; y las tres bandas características de los grupos Si-O-Si, en la región de flexión de OH: un pico ancho y fuerte centrado en  $1084\text{ cm}^{-1}$ ; dos picos estrechos y relativamente débiles cerca de  $798$  y  $470\text{ cm}^{-1}$ , asociados con la red de sílice condensada, según lo reportado en el capítulo V. Además, se observa la banda característica a  $956\text{ cm}^{-1}$  indicativa de la presencia de grupos silanoles de la SBA. Luego del anclaje de BVA sobre SBA y BEG sobre SBA, se puede observar que el pico correspondiente al grupo silanol desaparece, lo que indicaría que los grupos silanol de la SBA interaccionarían con la BVA y el BEG, lo cual coincide con resultados obtenidos previamente<sup>15</sup>. Sin embargo, la desaparición de las vibraciones Si-O-Si podrían deberse a que el equipamiento utilizado para realizarlo no tiene buena resolución debajo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , también puede haber influenciado la dilución al momento de preparación de la pastilla.



**Figura VI.6.** Espectro FTIR de: SBA, BVA, BEG, BVA-SBA(MW), BEG-SBA(MW).

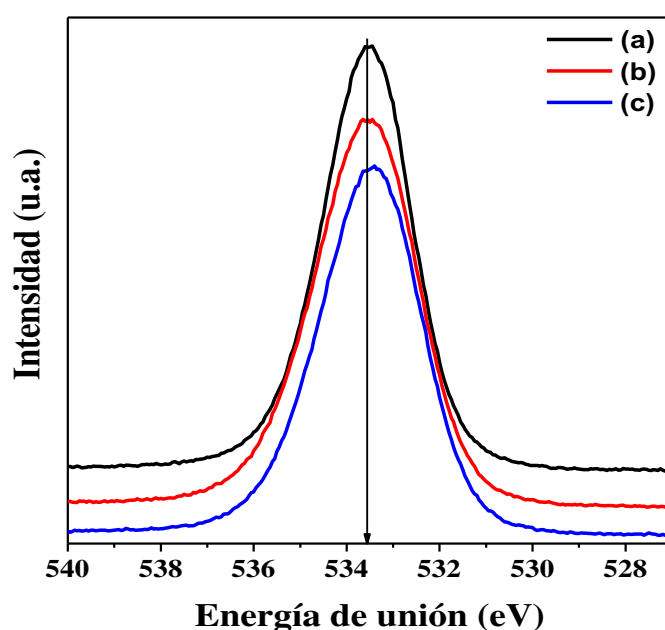
El análisis por RMN correspondiente a  $^{29}\text{Si}$  ( $^{29}\text{Si}$ -RMN) fue llevado a cabo para confirmar el recubrimiento de SBA con BVA y BEG. Los espectros  $^{29}\text{Si}$ -RMN de las muestras se muestran en la Figura VI.7. Como fue descrito en el capítulo V, el espectro de SBA mostró tres picos atribuidos a las estructuras de enlaces del silicio caracterizados por la ausencia de grupos oxhidrilo  $[(\text{SiO})_4\text{Si}]$ , y la presencia de grupos silanol aislados  $[(\text{SiO})_3\text{Si}(\text{OH})]$ , y de grupos de silanol terminal  $[(\text{SiO})_2\text{Si}(\text{OH})_2]$  identificados como  $\text{Q}_4$  ( $\delta = -111 \text{ ppm}$ ),  $\text{Q}_3$  ( $\delta = -103 \text{ ppm}$ ) y  $\text{Q}_2$  ( $\delta = -93 \text{ ppm}$ ) respectivamente<sup>16</sup>. Espectros similares se obtuvieron para los compositos BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW). Los espectros correspondientes a estas muestras presentaron un ligero aumento en la proporción de las especies  $\text{Q}_4$  asignadas a la ausencia de grupos OH unidos a estructuras del silicio, es decir que aumenta la proporción de las estructuras  $[(\text{SiO})_4\text{Si}]$ , debido a la interacción de las moléculas de



**Figura VI.7.** Espectros  $^{29}\text{Si}$  RMN de (a) SBA-15, (b) BEG/SBA(MW) y (c) BVA/SBA(MW).

BVA y BEG con los grupos OH de los silanoles del soporte SBA. Además, la interacción entre estos grupos serían no covalente, de naturaleza electrostática<sup>16</sup>.

Los espectros de XPS se realizaron de manera de evaluar la composición química superficial de estos materiales. En especial, al analizarse la banda correspondiente a la región del O 1s de las muestras BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW) y compararla con el espectro del soporte SBA, Figura VI.8, se observa un leve corrimiento del máximo de dicha banda (533,5 eV) hacia menores energías de enlaces. Este corrimiento es atribuido a interacciones del tipo electrostática (puentes de hidrógeno) entre los ligandos BVA y BEG y los grupos OH con el soporte<sup>17</sup>.

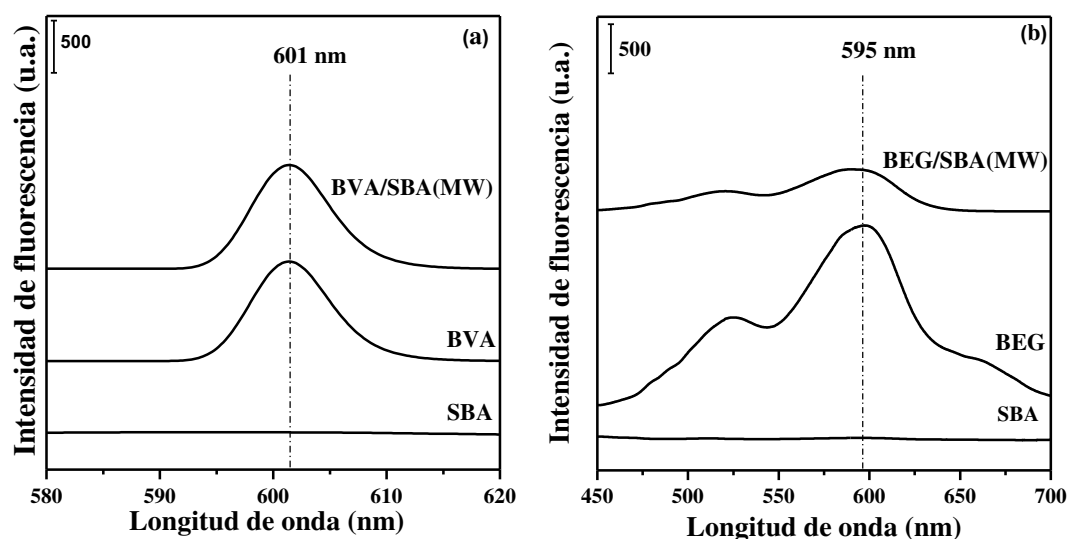


**Figura VI.8.** Espectro XPS de a) SBA-15, b) BVA/SBA-15 MW, c) BEG/SBA-15

Para explorar el comportamiento químico de los ligandos al ser soportados en el soporte SBA, se realizó un estudio de espectroscopia de fluorescencia. El espectro de fluorescencia de los materiales de SBA con BVA y BEG analizados se muestra en la Figura VI.9. La sílica mesoporosa SBA no mostró fluorescencia, mientras que la BVA mostró una banda de excitación a 601 nm ( $\lambda_{EM} = 400$  nm) y el BEG a 595 nm ( $\lambda_{EM} = 420$  nm). El fenómeno de luminiscencia de BVA y BEG es producido por el sistema de electrones  $\pi$  conjugados de dichas moléculas.

Los materiales BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW) dieron una respuesta de fluorescencia sensible a la misma longitud de onda que los ligandos BVA y BEG libres. En estos casos, la fluorescencia de los compuestos aparece en una longitud de excitación definida debido a la fluorescencia de las moléculas de *bis-vainillina* y *bis-eugenol* que se

soporta en los poros de la sílice mesoporosa. Sin embargo, se observa que la intensidad de fluorescencia de los composites disminuye debido a la interacción de las moléculas BVA y BEG con el soporte<sup>18</sup>.



**Figura VI.9.** Espectros de fluorescencia de SBA con a) BVA, b) BEG.

En bases a los resultados previamente analizados, es posible concluir que en los composites sintetizados existen interacciones débiles de naturaleza electrostática, posiblemente a través de puentes de hidrógeno, que conectan las moléculas BVA y BEG con los grupos Si-OH presentes en la pared del soporte SBA.

#### VI.5.1.6. Actividad antioxidante de los ligandos químicos anclados sobre SBA

Se evaluó la actividad antioxidante de los composites BVA/SBA(MW) y BEG/SBA(MW) utilizando el método de fosfomolibdeno, a dos niveles de concentración molar: 2 mM, 6 mM. La actividad antioxidante de las muestras se comparó con la del butilhidroxitolueno (BHT) y con el correspondiente ligando libre. Los ensayos se realizaron por duplicado mostrando los resultados de los mismos en la Tabla VI.4.

**Tabla VI.4.** AAO de los composites por el método del fosfomolibdeno

Muestra	2 mM	6 mM
BHT	28,53±0,01	<b>64,24±0,01</b>
BVA	26,39±0,02	<b>36,30±0,02</b>
BVA/SBA(MW)	31,05±0,01	<b>94,80±0,02</b>
BEG	13,78±0,02	<b>40,04±0,02</b>
BEG/SBA(MW)	19,82±0,03	<b>45,65±0,03</b>

Los datos obtenidos experimentalmente muestran que a una concentración de 6 mM se obtiene la mayor AAO. De la comparación de AAO entre el ligando libre y el ligando soportado se observa que, a un mismo nivel de concentración, BVA anclada en SBA presentó una mayor actividad antioxidante que la BVA libre. Lo mismo ocurrió con el BEG anclado en SBA y el BEG libre. Este efecto puede ser justificado teniendo en cuenta el tipo de interacciones que existe entre las moléculas de BVA y BEG y el soporte SBA mesoporoso. Las moléculas de BVA y BEG se encuentran altamente dispersas sobre la superficie de la SBA, manteniéndose unidas por interacciones débiles, lo cual favorece la formación de las especies reactivas.

A continuación, se evaluó el uso de diferentes soportes y el empleo de diferentes moléculas a ser soportada, utilizándose la impregnación asistida por microondas (MW) como método de preparación.

#### VI.6. Evaluación del uso de diferentes soportes

De manera de evaluar el método de impregnación asistida por microondas sobre diferentes soportes, en esta etapa se propuso anclar el ligando *bis-vainillina* (BVA) sobre los materiales Alúmina y Magnetita.

El composito obtenido al anclar BVA sobre Alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) se identificará como BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ (MW); mientras que al composito obtenido al anclar BVA sobre Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), como BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (MW). El contenido teórico de BVA en el composito BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ (MW) es de 10 g %; mientras que el contenido teórico de BVA en el composito BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (MW) es de 5 g %.

Los materiales sintetizados fueron caracterizados por diferentes técnicas y se compararon con los soportes libres. En la Tabla VI.5 se describen las principales propiedades texturales y estructurales de los compositos sintetizados. Como se ha observado con las impregnaciones sobre el soporte SBA, la incorporación de BVA sobre los soportes  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  produce disminución de las superficies específicas ( $S_{\text{BET}}$ ) y de los volúmenes de poro ( $V_{\text{P}}$ ), ocasionando que los valores de los diámetros de poro medio ( $D_{\text{P}}$ ) cambien en relación a los valores obtenidos para el soporte libre. La reducción de los parámetros texturales de los compositos, indica que la BVA cubriría los poros de los soportes. Al analizar los valores de  $D_{\text{P}}$  de los compositos sobre las curvas de distribución de tamaño de poro de los soportes  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  libres presentadas en la Figura V.4 del capítulo V, se observa que dichos valores corresponden a poros de menor diámetro. Esto

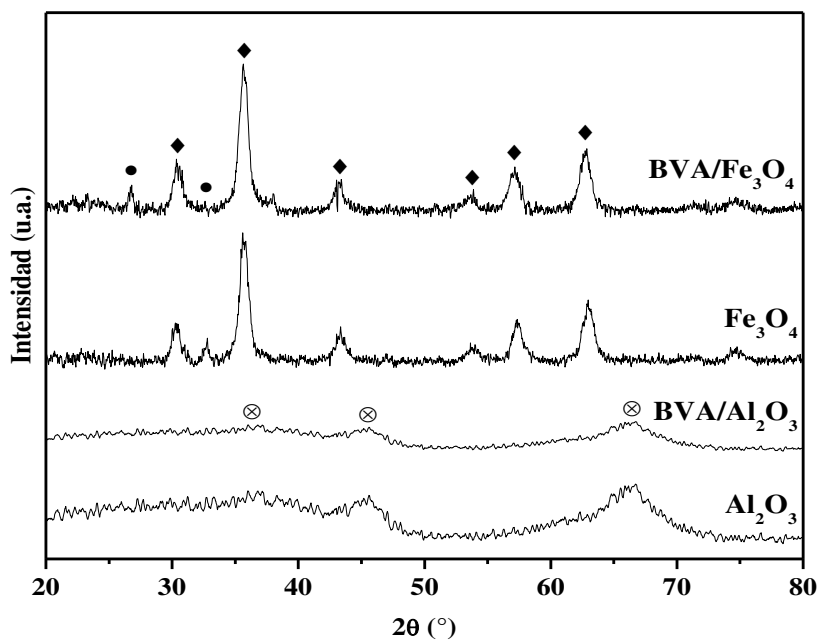
indicaría que la BVA ha recubierto los poros de mayor diámetro en el soporte, originando materiales con diámetros de poro menores.

**Tabla VI.5.** Parámetros texturales de materiales, medidos por isotermas de adsorción-desorción de  $N_2$

Material	$S_{BET}$ ( $m^2/g$ )	$V_P$ ( $cm^3/g$ )	$D_P$ ( $\text{Å}$ )	Fases cristalinas
$Al_2O_3$	266	0,90	136	$\gamma$ - $Al_2O_3$
BVA/ $Al_2O_3$ (MW)	180	0,10	22	$\gamma$ - $Al_2O_3$
$Fe_3O_4$	52	0,18	104	$\gamma$ - $Fe_3O_4$ ; $\alpha$ - $Fe_3O_4$
BVA/ $Fe_3O_4$ (MW)	35	0,09	90	$\gamma$ - $Fe_3O_4$ ; $\alpha$ - $Fe_3O_4$

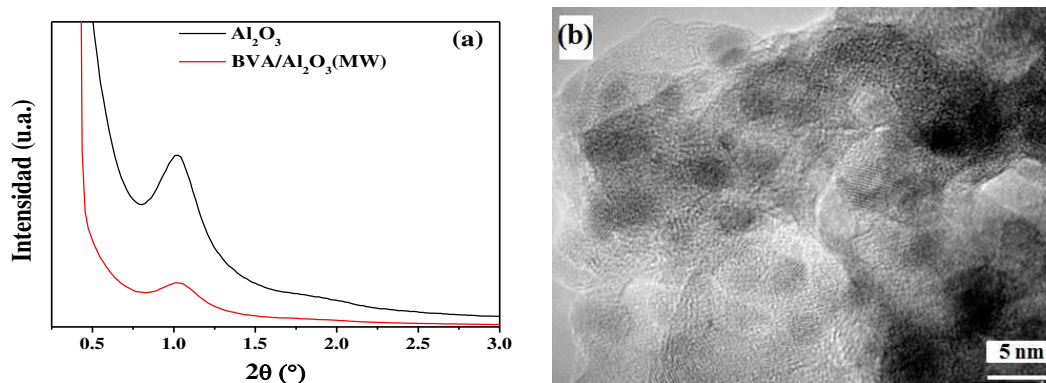
En la Figura VI.10 se muestran los patrones de difracción de las muestras correspondientes a:  $\gamma$ - $Al_2O_3$  para alúmina<sup>19</sup>;  $\gamma$ - $Fe_3O_4$  y  $\alpha$ - $Fe_3O_4$  para magnetita<sup>20,21</sup>. La presencia de la banda de difracción a  $26,8^\circ$  en la muestra BVA/ $Fe_3O_4$ (MW) corresponde a  $\alpha$ - $Fe_3O_4$  no evidenciable fácilmente en el soporte inicial. De igual manera que con los composites de BVA y BEG de SBA, en estas muestras se concluye que no existe cambio de fases cristalina en el soporte al anclar BVA sobre dichos soportes.

El análisis cristalográfico por SAXS para la muestra BVA/ $Al_2O_3$ (MW), Figura



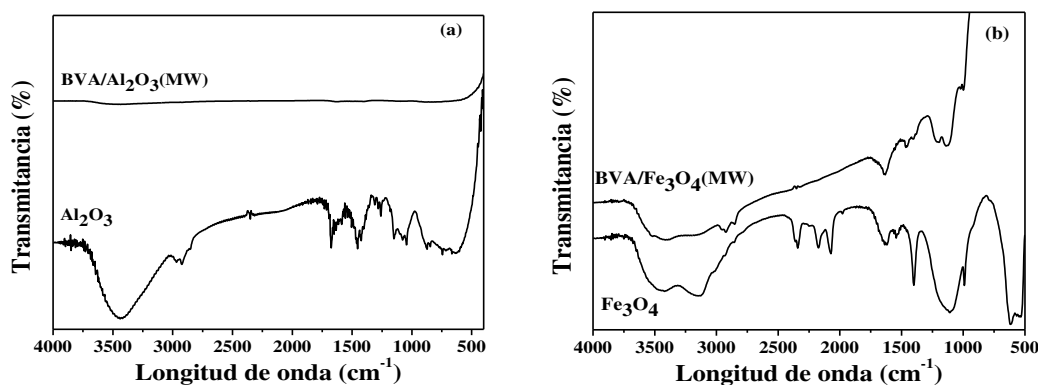
**Figura VI.10.** Difractogramas obtenidos de las muestras de: a)  $Al_2O_3$ , b) BVA/ $Al_2O_3$ , c)  $Fe_3O_4$ , d) BVA/ $Fe_3O_4$ . [ $\blacklozenge$ : $\gamma$ - $Fe_3O_4$  ;  $\bullet$ : $\alpha$ - $Fe_3O_4$  ;  $\otimes$ : $\gamma$ - $Al_2O_3$ ]

VI.11.a, presenta reducción en el pico correspondiente al plano de simetría (100)<sup>22,23</sup>. La disminución en la intensidad de dicho pico indicaría que BVA estaría ocupando los canales del soporte, sin destrucción de su estructura ordenada. Estos resultados fueron confirmados por TEM. Como puede observarse en la micrografía presentada en la Figura VI.11.b, el compuesto presentó canales rectos (en la vista lateral), y a su vez parece haber una distribución de poros aleatoria<sup>24</sup>.



**Figura VI.11.** **a)** Difractograma SAXS de BVA/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(MW); **b)** Micrografía TEM del compuesto BVA/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(MW).

Posteriormente se evaluó por FTIR la composición química superficial de los compositos. Como puede observarse en el espectro correspondiente al composito BVA/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(MW) (Figura VI.12.a), todas las bandas a 3464, 1631 y 1126-1049 cm<sup>-1</sup> asignadas a las vibraciones del estiramiento y flexión de los grupos OH superficiales que se encuentran presentes en el espectro correspondiente al soporte alúmina, desaparecen por completo. Similares resultados se observan al evaluar el espectro correspondiente al composito BVA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>(MW) (Figura VI.12.b). En especial, en este caso las bandas a 1630 cm<sup>-1</sup> y las bandas entre 3000-3400, 2000-2400, 1000-1500 cm<sup>-1</sup> asignadas a los grupos OH y al agua superficial presentes en la magnetita, disminuyen en intensidad y/o desaparecen. Estos cambios en los espectros de los compositos, demuestran que los grupos OH superficiales presentes en los soportes interaccionarían fuertemente con las moléculas de BVA que ocupan los poros de estos materiales; de igual manera como fue observado con el composito de BVA/SBA.



**Figura VI.12.** Espectros de FTIR de los materiales: (a) basados en  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y (b) basados en  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Posteriormente se evaluó la eficacia de anclaje de BVA en los composites mediante el procedimiento descrito previamente, cuyos valores se presentan en la Tabla VI.6. En todos los casos, la EA fueron del orden del 90 %, siendo levemente inferior para el composite BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (MW).

**Tabla VI.6.** Evaluación de la eficiencia de anclaje del BVA en los diferentes soportes

Muestra	Contenido de LQ determinado (g %)	Contenido de LQ inicial (g %)	EA %
BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ (MW)	8,65	9,15	94,50
BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (MW)	4,18	4,92	84,90

La evaluación de la AAO de los composites BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  y BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se realizó por el método del fosfomolibdeno descrito anteriormente a dos niveles de concentración. En la Tabla VI.7 se muestran los resultados obtenidos, observando que si bien todas las muestras presentaron AAO, es notable el incremento de esta propiedad de los ligandos soportados comparados con sus correspondientes libres. Los resultados sugieren interacciones débiles de naturaleza electrostática (enlace de hidrógeno) que conectan los ligandos con grupos OH presentes en la pared de los soportes.

En base a los resultados obtenidos es posible concluir que los composites BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  y BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  presentan actividad antioxidante semejante a los composites BVA/SBA. El tipo respuesta encontrada se relaciona con la manifestada por los composites de SBA con BVA y BEG.



**Tabla VI.7.** AAO de los compositos por el método del fosfomolibdeno

<b>Muestra</b>	<b>2 mM</b>	<b>6 mM</b>
BHT	28,53±0,01	<b>64,24±0,01</b>
BVA	26,39±0,02	<b>36,30±0,02</b>
BVA-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	40,99±0,04	<b>83,29±0,03</b>
BVA/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	35,21±0,03	<b>78,76±0,05</b>

### VI.7. Anclaje de un ligando con propiedad quimiosensora sobre SBA

Luego de evaluar el método de impregnación asistido por microondas sobre diferentes soportes, como última etapa se propuso anclar sobre el soporte SBA, el quimioligando derivado de la *bis*-vainillina y la 2-hidrazina benzotiazol, el cual fue denominado en el capítulo IV como MA2. El composito obtenido al soportar el ligando químico MA2 sobre SBA se identificó como MA2/SBA(MW), el cual presenta un contenido teórico de MA2 en el composito de 10 g %.

Inicialmente se evaluó el contenido de MA2 presente en el composito MA2/SBA(MW) mediante el procedimiento descrito anteriormente utilizando como mezcla de solventes acetona:DMSO. La cuantificación por espectroscopía UV fue de 8,17 g %. Teniendo en cuenta que el contenido inicial de MA2 fue de 9,95 g %, la EA fue de 82,11%.

Posteriormente el composito MA2/SBA(MW) fue evaluado por las técnicas de caracterización utilizadas previamente con los demás compositos. En la Tabla VI.8 se describen las principales propiedades texturales y estructurales. Como se ha observado con las impregnaciones previas sobre SBA, el anclaje del ligando MA2 sobre SBA produce disminución de la superficie específica ( $S_{BET}$ ), el volumen de poro ( $V_P$ ), y del diámetro de poro medio ( $D_P$ ) en relación a los valores obtenidos para SBA libre. Estos resultados señalan que las moléculas de MA2 se encontrarían en los poros de la SBA.

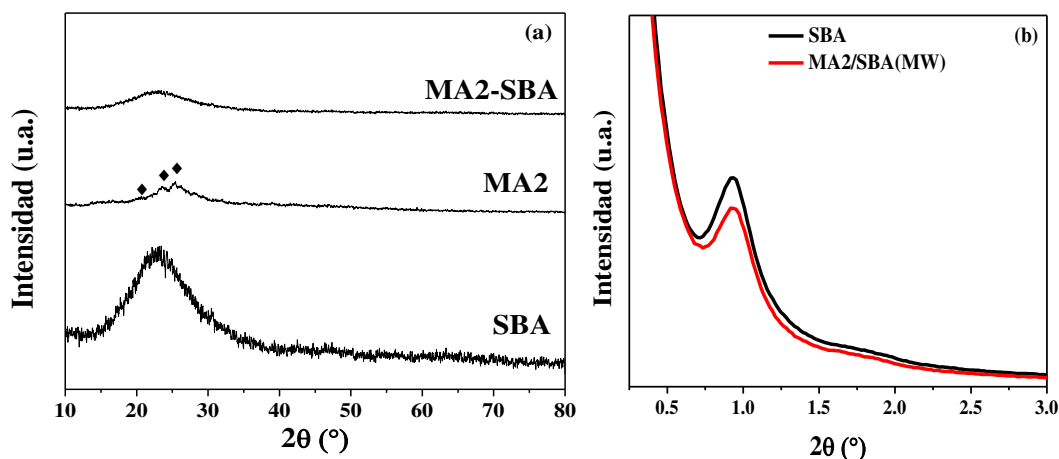
**Tabla VI.8.** Propiedades fisicoquímicas de los materiales SBA y MA2/SBA(MW)

Material	$S_{BET}$ (m <sup>2</sup> /g)	$V_P$ (cm <sup>3</sup> /g)	$D_P$ (Å)	Fases cristalinas
SBA	578	1,68	117	sílice amorfa
MA2/SBA(MW)	427	1.47	49	sílice amorfa

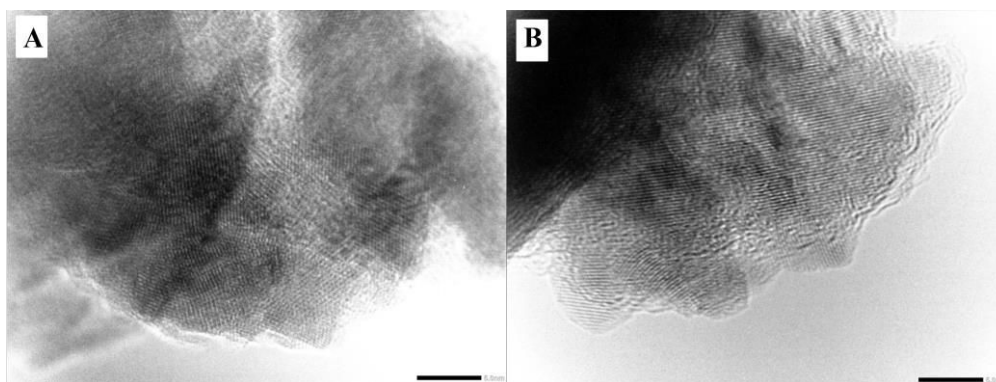
En la Figura VI.13.a se presentan los difractogramas correspondientes a: SBA, MA2 y el composito (MA2/SBA(MW)). Del mismo se puede observar que el ligando MA2,

presenta bajo grado de cristalinidad con bandas de difracción a 18,2; 24,9 y 25,5°. Sin embargo no se observan estas bandas en el difractograma del compuesto, indicando que el ligando MA2 se encontraría altamente disperso sobre el material.

El análisis cristalográfico por SAXS para la muestra BVA/SBA(MW), Figura VI.13.b, presenta de igual manera que en los compositos sintetizados previamente con SBA, reducción en el pico correspondiente al plano de simetría (100), lo que demuestra que el ligando MA2 estaría ocupando los canales del soporte, sin destrucción de su estructura ordenada. Estos resultados fueron confirmados por TEM, cuyas micrografías se presentan en la Figura VI.14. En la vista lateral de la misma se observan los canales rectos, y en la vista frontal se observa el arreglo hexagonal de los canales en los cuales parecerían estar presentes las moléculas de MA2.



**Figura VI.13.** Difractograma, a) DRX de SBA, MA2 y MA2/SBA(MW); b) SAXS de SBA y MA2/SBA(MW).

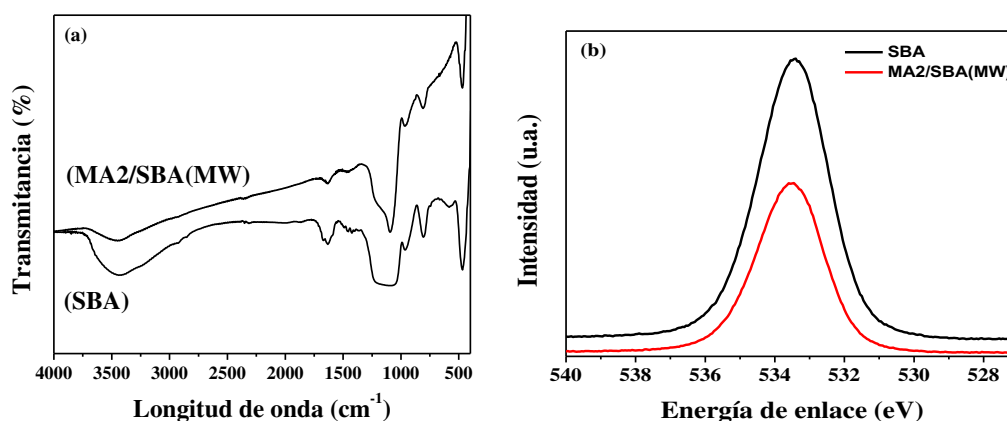


**Figura VI.14.** Micrografías TEM del compuesto MA2/SBA(MW).

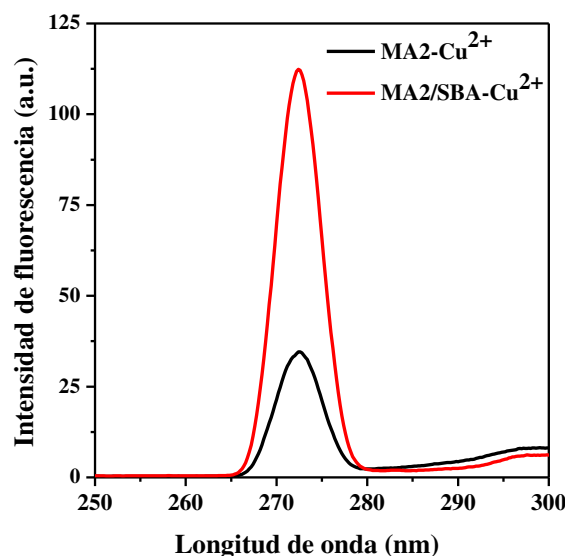
La composición química superficial del composito se evaluó por FTIR y XPS. Como se presenta en el espectro FTIR correspondiente al composito MA2/SBA(MW) (Figura VI.15.a), las bandas asignadas a las vibraciones del estiramiento y flexión de los grupos OH y los grupos Si-O-Si, han reducido su intensidad en relación con el espectro de SBA libre. Los dos picos estrechos y relativamente débiles cerca de 850 y 465  $\text{cm}^{-1}$ , asociados con la red de sílice condensada, ya no se observan en el espectro del composito. Esto indicaría que molécula de MA2 presenta interacción del soporte. El espectro de XPS de la región del O 1s del composito muestra un leve corrimiento del máximo de la banda a 533,5 eV hacia mayores energías de enlaces, en relación al soporte SBA (Figura VI.15.b), el cual es atribuido a interacciones del tipo electrostática entre moléculas de MA2 y grupos OH del soporte<sup>25</sup>. La reducción en intensidad en la banda del espectro del composito en la región del O 1s, manifiesta la disminución de especies químicas con oxígeno en la superficie, debido a la presencia del ligando MA2 anclados en la superficie.

Por otro lado, se evaluó su comportamiento quimioligando, por medio de espectroscopia de fluorescencia. El espectro de fluorescencia de los materiales de SBA con MA2 analizado se muestra en la Figura VI.16.

El composito dio una respuesta de fluorescencia sensible, a la misma longitud de onda que el ligando libre ( $\lambda_{EM} = 545 \text{ nm}$ ), pero la intensidad de fluorescencia del complejo producido por la interacción del composito con  $\text{Cu}^{2+}$  es mayor que la producida por el ligando químico con  $\text{Cu}^{2+}$ . Este comportamiento estaría relacionado con modificaciones conformacionales y electrónicas.



**Figura VI.15.** Espectros de MA2/SBA(MW): a) FTIR, b) XPS.



**Figure VI.16** Espectro de absorbancia del complejo producido por MA2 y MA2/SBA  $\text{Cu}^{2+}$ .

## VI.8 Conclusiones

Se prepararon nuevos materiales mesoporosos compuestos de *bis*-vainillina (BVA), *bis*-eugenol (BEG), nicotinhidrazida doble derivada de la *bis*-vainillina (MA2) con sílice (SBA); *bis*-vainillina con alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ); y *bis*-vainillina con magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), mediante impregnación asistida por microondas.

La caracterización fisicoquímica de estos compositos confirmó el anclaje exitoso de los ligandos químicos sobre los soportes, a través de interacciones del tipo electrostática que conectan las moléculas de los ligandos con los grupos oxhidrilos de los soportes.

Los compositos BVA/SBA, BEG/SBA, BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ , BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  presentaron una destacada actividad antioxidante de magnitud similar al antioxidante comercial butilhidroxitolueno, y superior a sus correspondientes ligandos libres. También se demostró la capacidad fluorogénica del composito de MA2/SBA para la detección del cobre (II).

## VI.9 Referencias

1. Sahay, R., Reddy, V. J., Ramakrishna, S. *Int. J. Mech. Mater. Engineering*, 2014, **9**, 1–13.
2. Liu, B., Dong, L., Xi, Q., Xu, X., Zhou, J., Li, B. *Front. Energy*, 2018, 1–15.
3. NPTEL In *Chemical Engineering – Catalyst Science and Technology Lecture* NPTEL 2014; p. 254.
4. Campanati, M., Fornasari, G., Vaccari, A. *Catal. Today*, 2003, **77**, 299–314.
5. Campelo, J. M., Luna, D., Luque, R., Marinas, J. M., Romero, A. A. *Sustainable Preparation of Supported Metal Nanoparticles and Their Applications in Catalysis*, Wiley-VCH, 2009, vol. 2.

6. Ferretti, C. A. Grupo de Investigación en Ciencias e Ingeniería Catalíticas (GICIC) Instituto de Investigaciones en Catálisis y Petroquímica (INCAPE), UNL – CONICET, 2010.
7. Eggenhuisen, T. M., Breejen, J. P. Den, Verdoes, D., Jongh, P. E. De, Jong, K. P. De *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 18318–18325.
8. Krishnamurthy, G., Jagannath, K. V *J. Chem. Sci.*, 2013, **125**, 807–811.
9. Drioli, E., Giorno, L. *Encycl. Membr.*, 2016.
10. Papadimitriou, S., Bikiaris, D. *J. Control. Release*, 2009, **138**, 177–184.
11. Ertas, Y., Uyar, T. *J. Agric. Food Chem.*, 2018, **63**, 8156–8165.
12. Zhao, L., Suib, D., Wang, Y. *RCS Adv.*, 2015, **5**, 16611–16617.
13. Wang, Y., Noguchi, M., Takahashi, Y., Ohtsuka, Y. *Catal. Today*, 2001, **68**, 3–9.
14. Hosseini, M., Kumar, V., Reza, M., Rafiei-sarmazdeh, Z. *Anal. Chim. Acta*, 2012, **715**, 80–85.
15. Wang, J., Huang, L., Xue, M., Wang, Y., Gao, L., Zhu, J. H. *J. Phys. Chem.*, 2008, **112**, 5014–5022.
16. Stanzione, M., Gargiulo, N., Caputo, D., Liguori, B., Cerruti, P., Amendola, E., Lavorgna, M., Buonocore, G. G. *Eur. Polym. J.*, 2017, **89**, 88–100.
17. Song, S., Hidajat, K., Kawi, S. *Langmuir*, 2005, **21**, 9568–9575.
18. Guntero, V. A., Ferretti, C. A., Mancini, P. M. E., Kneeteman, M. N. *Glob. J. Eng. Sci. Res.*, 2018, **5**, 32–39.
19. Lu, C. L., Lv, J. G., Xu, L., Guo, X. F., Hou, W. H., Hu, Y., Huang, H. *Nanotechnology*, 2009, **20**, 215604.
20. Huang, Z., Tang, F. *J. Colloid Interface Sci.*, 2005, **281**, 432–436.
21. Akhter, H., Murshed, J., Rashed, M. A., Oshima, Y., Nagao, Y., Rahman, M. M., Asiri, A. M., Hasnat, M. A., Uddin, M. N., Siddiquey, I. A. *J. Alloys Compd.*, 2017, **698**, 921–929.
22. Niesz, K., Yang, P., Somorjai, G. A. *Chem. Commun.*, 2005, 1986–1987.
23. Cejka, J. *Appl. Catal. A, Gen.*, 2003, **254**, 327–338.
24. Chang, A. C. C., Chuang, S. S. C., Gray, M., Soong, Y. *Energy and Fuels*, 2003, **17**, 468–473.
25. Villabril, P. 2000.

## **CAPÍTULO VII**

---

### **Conclusiones finales**



### VII.1. Conclusiones finales

Las conclusiones finales obtenidas de este trabajo de tesis son la que se citan a continuación:

1. Los resultados de la evaluación de los métodos empleados para la obtención de las moléculas plataforma: vainillina, eugenol y cinamaldehído, determinaron que:
  - La vainillina se obtuviera mediante una hidrodestilación modificada, utilizando como materia prima aserrín.
  - La obtención de eugenol se realiza mediante una extracción asistida por microondas seguida por separación en cromatografía en columna sobre clavo de olor.
  - A partir de canela, siguiendo la secuencia extracción sólido-líquido/cromatografía, se obtuviera el cinamaldehído.
2. Se sintetizaron exitosamente ligandos químicos con propiedades antioxidantes. Se obtuvieron dos sistemas bifenílicos mediante reacciones de acoplamiento radicalario: *bis*-vainillina y *bis*-eugenol. Además, se sintetizó una nicotino hidrazona derivada del cinamaldehído, por condensación entre cinamaldehído y la correspondiente nicotino hidrazina. Dichas moléculas presentaron una destacable actividad antioxidante, del orden al presentado por el antioxidante comercial diterbutil hidroxil tolueno.
3. Se realizaron reacciones de condensación, en una sola etapa y con buenos rendimientos, entre la *bis*-vainillina y diferentes hidrazinas y semicarbazidas obteniendo diferentes ligandos químicos, de las cuales tres de los mismos presentaron excelentes propiedades para actuar como quimiosensores cromogénicos y fluorogénicos de cationes. En especial, los resultados mostraron que:
  - La nicotino hidrazona doble derivada de *bis*-vainillina actúa como sensor cromogénico frente a cationes  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , y como sensor fluorogénico para  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , con estequiometría catión-ligando 1:1 en todos los casos. Con este ligando, la concentración de  $\text{Al}^{3+}$  que puede ser detectada por espectroscopía UV-Vis es de  $9 \cdot 10^{-7}$  M.
  - La benzotiazol hidrazona doble de *bis*-vainillina actúa como sensor cromogénico



- frente a cationes  $\text{Cu}^{2+}$ , con estequiometría ligando:cación 1:1 en todos los casos. La concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  que puede ser detectada por este ligando es de  $1,5 \cdot 10^{-6}$  M.
- La hidralozona doble de *bis*-vainillina es capaz de actuar como sensor cromogénico de los cationes  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , y como sensor fluorogénico del  $\text{Cr}^{3+}$ , con estequiometría ligando:cación 1:1 en todos los casos. La concentración de  $\text{Al}^{3+}$  que puede ser detectada con este ligando por espectroscopía UV-Vis es de  $7 \cdot 10^{-6}$  M.
4. A partir de métodos de referencias, se sintetizaron dos materiales mesoporosos: sílice (SBA-15) y alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), y un material nanoparticulado: magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Las propiedades texturales, estructurales y químicas de estos materiales evaluadas mediante diferentes técnicas de caracterización, demostraron que estos pueden ser utilizados como soportes de los ligandos sintetizados previamente.
  5. Se prepararon nuevos materiales mesoporosos compuestos de *bis*-vainillina (BVA), *bis*-eugenol (BEG), nicotinohidrazida doble derivada de la *bis*-vainillina (MA2) con sílice (SBA); *bis*-vainillina con alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ); y *bis*-vainillina con magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), mediante impregnación asistida por microondas. La caracterización fisicoquímica de estos compositos confirmó el anclaje exitoso de los ligandos químicos sobre los soportes, a través de interacciones débiles del tipo electrostática que conectan las moléculas de los ligandos con los soportes.
  6. Los compositos BVA/SBA, BEG/SBA, BVA/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ , BVA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  presentaron una destacada actividad antioxidante de magnitud similar al antioxidante comercial butilhidroxitolueno, y superior a sus correspondientes ligandos libres. También se demostró la capacidad fluorogénica del composito de MA2/SBA para la detección del cobre (II).

## **CAPÍTULO VIII**

---

### **Proyecciones**



### VIII.1 Proyecciones

Como continuidad de este trabajo, como futuros estudios se propone:

- Profundizar los estudios de caracterización y evaluación de los composites desarrollados, de manera de obtener un mayor conocimiento los mecanismos involucrados en su accionar. En especial, sería de suma importancia realizar estudios teóricos para evaluar las interacciones existentes entre los ligandos químicos y los soportes.
- En relación a la evaluación de los sensores químicos sintetizados en el capítulo IV, se propone realizar nuevos ensayos para evaluar su utilización como sensores fluorogénicos de cationes y de sensores cromogénicos/fluorogénicos de aniones.
- Continuar con el estudio del *bis*-eugenol como precursor de quimiosensores, sometiendo al mismo a reacciones tales como epoxidación/apertura del epóxido/oxidación u ozonólisis/reducción y posterior condensación con hidrazinas/semicarbazidas sustituidas.
- Evaluar el cinamaldehído como sensor químico a través de la síntesis de derivados nitrogenados. Al igual que en los casos anteriores se procedería a realizar reacciones de condensación con compuestos nitrogenados para obtener las correspondientes hidrazonas y semicarbazonas.
- Evaluar otras rutas de anclaje de las moléculas activas sobre los materiales utilizados como soportes, tales como: sililación superficial, recubrimiento con grupos funcionales activos, etc.



## **ANEXO A**

---



## A.1. Introducción

En este anexo se mencionan y detallan los fundamentos de las técnicas experimentales utilizadas para la realización de los ensayos especificados en la presente tesis.

## A.2. Métodos de extracción

### A.2.1. Destilación

La destilación es un método físico usado para separar y/o purificar mezclas líquidas, de las cuales se usó la destilación por arrastre de vapor y la hidrodestilación.

#### a) Destilación por arrastre de vapor (DAV) de agua

La DAV es un medio de separación y purificación de compuestos orgánicos. Esencialmente esta operación consiste en la volatilización de una sustancia mediante el paso del vapor dentro de la mezcla del compuesto y agua. Siempre que el compuesto orgánico tenga una apreciable presión de vapor (al menos entre 5 y 10 mm a 100°C) éste podrá destilar con el vapor. Dicho proceso ocurre a una temperatura inferior a la del punto de ebullición del agua y por lo tanto, muy por debajo del punto de ebullición de la sustancia orgánica. Es particularmente valiosa cuando las sustancias sufren descomposición al destilar a presión atmosférica<sup>1</sup>.

Los vapores saturados de las sustancias inmiscibles siguen la Ley de Dalton de las presiones parciales. La misma establece que cuando dos o más gases o vapores, que no son miscibles entre sí, se mezclan a temperatura constante, cada uno ejerce la misma presión como si estuviera puro, y la suma de las presiones individuales es igual a la presión total del sistema (Ecuación AI.1).

$$P_T = P_1 + P_2 + \dots + P_n \quad (\text{Ecuación AI.1})$$

También se cumple la Ley de Raoult que enuncia que la presión de vapor de una sustancia en una disolución es proporcional a su fracción molar. Así, considerando una disolución de dos componentes volátiles, A y B, la presión de vapor del componente A sería (Ecuación AI.2):

$$P_A = x_A \cdot P_A^0 \quad (\text{Ecuación AI.2})$$

$x_A$  = fracción molar del componente A en la disolución

$P_A^0$  = presión de vapor de A puro

$P_A$  = presión de vapor de A a la temperatura de ebullición de la mezcla



De igual forma se obtiene la presión de vapor del componente B, de manera que la suma de ambas da la presión de vapor total del sistema:

$$P_T = P_A + P_B = x_A \cdot P_A^0 + x_B \cdot P_B^0 \quad (\text{Ecuación A.I.3})$$

Relacionando la ley de Dalton de las mezclas gaseosas con la Ley de Raoult (Ecuación A.I.4):

$$\frac{Y_A}{Y_B} = \frac{P_A}{P_B} = \frac{x_A P_A^0}{x_B P_B^0} \quad (\text{Ecuación A.I.4})$$

$Y_A$  = fracción molar de A en la fase gaseosa

$Y_B$  = fracción molar de B en la fase gaseosa

Esta técnica se utiliza comúnmente para aislar AE a nivel comercial<sup>2</sup>. El procedimiento se describe de la siguiente manera: La materia prima vegetal se coloca en un recipiente. Su estado puede ser molido, cortado, entero o una combinación de éstos. El vapor de agua se inyecta mediante un distribuidor interno, previa generación en un hervidor o caldera. Conforme el vapor entra en contacto con la materia prima, ésta se calienta y va liberando el AE contenido. Los vapores generados ascienden hacia la cabeza del destilador y luego fluyen hacia el condensador. En el condensador, la mezcla se condensa y enfría, hasta temperatura ambiente. A la salida del condensador, se obtiene una mezcla de agua y AE, la cual, se separa en un decantador dinámico (a nivel industrial) o mediante un tubo florentino (a nivel laboratorio). El tubo florentino es un accesorio que posee un ramal lateral, por el cual, el agua se desplaza para favorecer la acumulación del aceite. El proceso termina, cuando el volumen de AE acumulado en el florentino no varíe con el tiempo. A continuación, se retira el AE del tubo florentino, se almacena en un recipiente y lugar apropiado<sup>3,4</sup>. El equipo de DAV se muestra en la Figura A.1.



**Figura A.1.** Equipo de destilación por arrastre de vapor.

Esta técnica se destaca porque requiere bajo costo de equipamiento, es segura, fácil de escalar y permite usar un solvente que no presente toxicidad, como es en este caso el agua. Además, existe menor posibilidad de dañar los componentes si estos son termosensibles<sup>4,5</sup>.

### **b) Hidrodestilación (HD)**

Es un método convencional de extracción de AE. Se diferencia de la DAV porque en la HD, la materia vegetal está en contacto directo con el agua<sup>3</sup>. Al igual que en la DAV, el condensado se separa mediante un tubo Florentino. Se debe tener especial cuidado en que el agua presente en el extractor deberá ser suficiente para llevar a cabo la destilación sin producir un sobrecalentamiento o carbonización del material vegetal.

Al igual que la DAV, se destaca por el bajo costo de equipamiento, su seguridad, fácil de escalar y amigable con el medio ambiente. Es útil cuando la materia vegetal tiende a aglomerarse cuando el vapor pasa a través de ella<sup>6</sup>. Como desventaja, la limpieza del equipo es más dificultosa debido al contacto entre el agua y la materia vegetal. El equipo utilizado se muestra en la Figura A.2.



**Figura A.2.** Equipo de hidrodestilación.

### **A.2.2. Extracción Sólido-Líquido (ESL)**

La separación de una mezcla de compuestos presentes en matrices sólidas se puede llevar a cabo aprovechando las diferencias de solubilidad de los mismos en un determinado disolvente. Clásicamente este proceso se basa en la elección correcta de solventes, la aplicación de calor y agitación para aumentar la solubilidad de los compuestos y la velocidad de transferencia de masa<sup>7</sup>.

Para la elección del solvente se realizan extracciones iniciales con éter de petróleo para remover los compuestos menos polares (ejemplo, terpenos, esteroides, etc.), se sigue con solventes más polares tales como dietil éter, acetona, etanol y finalmente con agua para

compuestos más polares (ejemplo aminoácidos, hidratos de carbono). Para la extracción continua de un sólido con solvente caliente se usa muy comúnmente el equipo de extracción Soxhlet. Otro equipo que permite realizar este tipo de extracción es el Twisselmann. Ambos se detallan seguidamente<sup>1</sup>.

#### a) Extracción Soxhlet

El extractor Soxhlet es un equipo de laboratorio inventado en 1879 por Franz Von Soxhlet. Originalmente fue diseñado para extraer un lípido de un material sólido. Sin embargo, no está limitado a la extracción de lípidos. La muestra se coloca en un cartucho (generalmente hecho de celulosa) y éste a su vez en el extractor. En el balón se coloca el solvente.

Se calienta el solvente extractante, se condensan sus vapores, cayendo gota a gota sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los compuestos solubles. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el solvente, con los compuestos disueltos, asciende por el sifón y retorna al balón de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los compuestos de la muestra y se concentran en el disolvente. Luego, el solvente se elimina mediante un evaporador rotatorio. La porción no soluble de los restos sólidos extraídos en el dedal se descartan.

En este método la muestra se pone en contacto repetidamente con porciones frescas del solvente extractante, lo que facilita el desplazamiento del equilibrio de transferencia.

El uso de solventes hace que se requiera una etapa posterior de evaporación<sup>8</sup>, y puede ocurrir descomposición térmica de las especies objetivos termolábiles debido a que las muestras se extraen en el punto de ebullición del solvente durante períodos prolongados<sup>7</sup>.

#### b) Extracción Twisselman

Este método funciona de manera similar al extractor Soxhlet y se muestra en la Figura A.4.a. La principal diferencia se basa en que el equipamiento utilizado contiene una llave de paso ubicada entre el extractor que contiene la muestra y el condensador. De manera



**Figura A.3.** Equipo Soxhlet.

que, una vez alcanzado el tiempo de extracción, el solvente se recupera al cerrar la llave de paso.



**Figura A.4.a)** Equipo Twisselmann; **b)** Microondas Anto Paar Monowave 300.

### **A.2.3. Extracción Asistida por Microondas (EAM)**

La microondas es una onda electromagnética. Consiste en una combinación de campos eléctricos y magnéticos que oscilan perpendicularmente entre sí en un rango de frecuencia de 0,3 a 300 GHz<sup>9</sup>. Opera a través de la ruptura de células, lo que facilita la entrada del solvente para solubilizar los compuestos, como consecuencia, la extracción es más rápida evitando así la degradación de los mismos<sup>10</sup>.

Aporta varios beneficios, incluyendo tiempos de extracción más cortos, extracción de los compuestos de manera eficiente y protectora, rápido calentamiento (aumenta la velocidad de transferencia de energía) y menor volumen de solvente<sup>11</sup>.

La eficiencia de este método depende en gran medida de las condiciones de operación y de los parámetros que afectan los mecanismos de extracción y rendimiento. Los factores que pueden influir en el rendimiento son: naturaleza del disolvente, relación solvente/alimentación, tiempo de extracción, potencia, temperatura, característica de la muestra y agitación<sup>12</sup>. El microondas de laboratorio utilizado se muestra en la Figura A.4.b.

## **A.3. Técnicas de caracterización**

### **A.3.1. Punto de Fusión**

El punto de fusión de un sólido cristalino es la temperatura a la cual el sólido comienza a cambiar a líquido bajo la presión de una atmósfera. Para sustancias puras, el

cambio del estado sólido al líquido es bastante agudo (dentro de 0-5°), por lo tanto, la temperatura es valiosa para fines de identificación. Además, el punto de fusión está considerablemente influenciado por la presencia de otras sustancias y, por lo tanto, es un criterio importante de pureza. Si el líquido se enfría, la solidificación se producirá a la misma temperatura, y para una sustancia pura, el punto de fusión y el punto de congelación son idénticos.

La presencia de pequeñas cantidades de impurezas miscibles o parcialmente miscibles generalmente produce un marcado incremento en el rango del punto de fusión causando que la fusión comience a una temperatura inferior a la del punto de fusión de la sustancia pura. Por lo tanto, su determinación es un indicativo de la pureza de la muestra<sup>1</sup>.

### **A.3.2. Cromatografía de Capa Delgada (TLC)**

La separación de mezclas de sustancias mediante TLC se basa en el principio de reparto entre dos fases, una fase estacionaria (gel de sílice, alúmina o papel) que actúa de soporte, con una fase móvil (disolvente o mezcla de disolventes). La FM se elige según la naturaleza de los compuestos que se desean separar. Dependiendo de la mayor o menor afinidad de los componentes de la mezcla a separar por la fase móvil utilizada, cada componente será retenido de diferente forma. La placa realizada se deja secar y se revela con un reactivo. Se determina así el  $R_f$ , que se define como la relación entre las distancias recorridas por el soluto y el eluyente desde el origen de la placa. De esta manera las sustancias se pueden identificar comparando los valores de  $R_f$  con los de la muestra patrón. Dado que los terpenos y derivados presentes en los AE absorben luz ultravioleta (254 nm), se utilizó la misma para revelar los compuestos presentes junto con el permanganato de potasio.

### **A.3.3. Cromatografía en columna (CC)**

Esta técnica se utilizó para separar el compuesto de interés del resto presente en la muestra. Para esto es necesario elegir convenientemente la fase estacionaria (FE) y la fase móvil (FM). La fase estacionaria se colocó en el interior de la columna cromatográfica la cual contiene una llave para controlar el paso de sustancias al exterior de la columna. La fase estacionaria se impregna con la fase móvil. Seguidamente la mezcla orgánica que interesa separar se deposita en la parte superior de la FE. Los compuestos disueltos en la FM son de diferente polaridad por lo que tienen distinto grado de elución. La separación se siguió mediante cromatografía de capa delgada.

#### **A.3.4. Cromatografía Gaseosa (GC)**

La cromatografía gaseosa es un método físico de separación que permite analizar compuestos que pueden evaporar sin descomponerse. La muestra se inyecta en la corriente de un gas inerte (fase móvil (FM)). Esta fase transportará las moléculas del analito a través de la columna cromatográfica (fase estacionaria (FE)). La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente (y en consecuencia su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Cada soluto presente en la muestra tiene diferente afinidad hacia la FE, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la FM, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos (en general, a mayor presión de vapor, menor tiempo de retención en la columna)<sup>13</sup>.

Las sustancias separadas salen de la columna disueltas en la fase móvil y son dirigidos hacia un sistema de detección, el cual transforma la concentración del analito en una señal eléctrica. En el registro de esta señal en función del tiempo (cromatograma), las sustancias aparecen como picos con áreas proporcionales a sus concentraciones. De manera que esta técnica se realizó para determinar la cantidad relativa de los compuestos de interés.

#### **A.3.5. Cromatografía de Gases-Espectrometría de masas (GC-MS)**

Esta técnica combina la capacidad de separación que presenta la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad. Es muy útil para determinar la masa molecular de la sustancia de interés, proporcionando así información valiosa de la estructura de la misma.

Para determinar la masa molecular es necesario ionizar la molécula. Estos iones se mueven rápidamente en presencia de un campo magnético y se separan en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ). El detector registra la señal producida, la cual es enviada a un sistema informático. El espectro de masas se representa en un sistema de coordenadas, indicándose en el eje de abscisas la relación  $m/z$  y en el eje de ordenadas la abundancia iónica relativa de cada uno de los iones detectados<sup>14</sup>.

### A.3.6. Espectroscopía infrarroja (FTIR)

La mayoría de los compuestos con enlaces covalentes, ya sea de naturaleza orgánica o inorgánica, al ser excitados, pasan a un estado de energía superior absorbiendo frecuencias de radiación electromagnética en la región infrarroja ( $\bar{\nu}$  entre 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ), permitiendo así la identificación de compuestos químicos a través de la determinación de la frecuencia a la que los distintos grupos funcionales presentan bandas de absorción en dicha región <sup>15</sup>.

Las intensidades de bandas pueden ser expresadas como transmitancia (T) o absorbancia (A). La transmitancia es la relación entre la potencia radiante transmitida por la muestra respecto a la potencia radiante incidente en la muestra. La absorbancia es el logaritmo en base 10 del recíproco de la transmitancia<sup>14</sup>.

El espectro se obtiene sometiendo la muestra a radiación infrarroja proveniente de una fuente adecuada. La luz transmitida por la muestra se analiza a determinadas frecuencias, previamente establecidas, al pasar por un prisma. El detector mide la señal analítica, la cual se amplifica dando como resultado el correspondiente espectro.

### A.3.7. Espectroscopia UV-Visible

Cuando radiación continua pasa a través de un material transparente, una porción de la misma puede ser absorbida. Si esto ocurre, la radiación residual produce el espectro de absorción. Como resultado de la energía absorbida, átomos o moléculas pasan desde un estado de baja energía (estado fundamental) a un estado de mayor energía (estado excitado).

Cuanto mayor sea el número de moléculas capaces de absorber la luz a una determinada longitud de onda, mayor será el grado de absorción. A partir de esto se formuló la Ley de Beer<sup>15</sup>:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (\text{Ecuación A.4})$$

Donde:

A = absorbancia

$\varepsilon$  = absortividad molar ( $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ )

c = concentración (moles/L)

b = longitud de la cubeta (cm)

La absortividad molar es una propiedad de la molécula que experimenta una transición electrónica y no es función de los parámetros que varían en la preparación de una muestra.

En la práctica la muestra se coloca en una celda por lo que puede haber pérdidas por reflexión y dispersión, de manera que para compensar estos efectos, la energía del haz

transmitido por la solución del analito se compara con la energía de un haz que atraviesa una celda casi idéntica que contiene sólo el disolvente del analito (blanco). De esta manera se obtiene una absorbancia experimental que se acerca mucho a la verdadera absorbancia de la solución, y se obtiene el espectro UV-Vis (absorbancia en función de longitud de onda).

### A.3.8. Límite de Detección (LDD)

La definición de la IUPAC, adoptada en 1975, afirma que el límite de detección, expresado como una concentración ( $c_L$ ) o cantidad ( $q_L$ ), se deriva de la medida más pequeña ( $x_L$ ) que se puede determinar con certeza razonable para un procedimiento analítico dado. Este concepto fue aclarado por la ACS, estableciendo que el límite de detección corresponde a la concentración más baja de un analito que un proceso analítico puede detectar de forma confiable<sup>16</sup>.

Existen distintos métodos para determinar el LDD, entre los que se pueden mencionar, i) el método de la IUPAC, en donde LDD depende de la desviación estándar ( $s_B$ ) de las señales obtenidas para diferentes blancos analíticos, ii) el método de propagación de errores (MPE), el cual es una variación del método de la IUPAC, que aparte de emplear el valor de ( $s_B$ ), adiciona la desviación estándar del intercepto de la curva de calibración; iii) el método de aproximación de Hubaux-Vos, siendo este la primera aproximación en aplicar la teoría de predicción estadística al problema de estimación de LDD, este involucra la generación de una curva de calibración cercana al valor de LDD y la inclusión de falsos positivos y negativos; iv) el método de la EPA (por sus siglas en inglés Environment Protection Agency), el cual se encuentra compuesto por dos pasos fundamentales, el primero correspondiente a la determinación del límite de detección instrumental (LDI) y finalmente el cálculo de LDD, corrigiendo el valor de LDI teniendo presente el porcentaje de recuperación de la metodología; v) método de la raíz de la suma del error cuadrático (RSME), recomendado igualmente por la EPA, permite estimar LDD a partir del cálculo de la raíz de la suma del error cuadrático y vi) el método t99, el cual estima el LDD a partir del límite crítico (LC), a través de la extracción de  $n$  muestras fortificadas al LC y un estadístico  $t$  a una cola, para  $n-1$  determinaciones usando un nivel de confianza del 99% [ $t_{99}(n-1)$ ]<sup>17</sup>.

Teniendo en cuenta la matriz de análisis y las condiciones en las que se trabajó, se optó por aplicar el método propuesto por la IUPAC. En el mismo, la probabilidad que la más pequeña señal analítica discernible,  $y_L$ , se pueda medir y no corresponda a una



fluctuación aleatoria de la medida del blanco,  $y_B$ , depende de a cuantas unidades de desviación estándar del blanco ( $s_B$ ) está  $y_L$  de  $\bar{y}_B$  (promedio de las medidas del blanco), definido por la IUPAC como:

$$y_L = \bar{y}_B + k s_B \quad (\text{Ecuación A.5})$$

Siendo  $k$  un valor que se elige según el nivel de confianza que se desee, generalmente 3.

Al ser la concentración límite,  $x_L$ , una función de  $y_L$ , se puede expresar como:

$$x_L = \frac{(y_L - \bar{y}_B)}{m} \quad (\text{Ecuación A.6})$$

Siendo  $m$  la pendiente obtenida por regresión de la curva de calibración.

Sustituyendo la ecuación (2) en (1) se obtiene:

$$LDD = x_L = \frac{k s_B}{m} \quad (\text{Ecuación A.7})$$

### A.3.9. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

El análisis y estudio de un espectro de RMN brinda información sobre la estructura de un compuesto orgánico. De manera que se utiliza para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o ambos), lo cual se da por ejemplo en los átomos de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ , y  $^{31}\text{P}$ . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir que, al aplicar un campo magnético a una muestra, ésta podrá absorber radiación electromagnética en una cierta región de frecuencias característica cambiando así la orientación del spin. En ausencia de un campo magnético dichos espines se orientan al azar.

En el espectro de RMN se grafica la intensidad en función de la frecuencia de los picos de absorción<sup>14</sup>.

### A.3.10. Difracción de Rayos X

La región de rayos X del espectro electromagnético es extremadamente útil para el estudio de estructuras, análisis y caracterización de sólidos. Hay tres formas principales en la que se usan los rayos X: difracción, espectroscopia de emisión y espectroscopia de absorción.

- Técnicas de difracción: utilizan un haz monocromático de rayos X que se difracta con la muestra y se utiliza para la determinación de la estructura cristalina y la identificación de fase.
- Técnicas de emisión: utilizan los espectros de emisión de rayos X característicos de los elementos generados por ejemplo, por bombardeo con electrones de alta

energía. Los espectros se utilizan para el análisis químico de ambas muestras a granel (Fluorescencia de rayos X) y partículas de tamaño micrométrico o submicrónico (microscopía electrónica analítica, AEM, electroforesis microanálisis de sonda tron, EPMA, etc.). También tienen algunos usos en la determinación de la estructura local y números de coordinación.

- Técnicas de absorción: miden la absorción de rayos X por muestras, especialmente a energías en la región de los límites de absorción. Son técnicas poderosas para estudiar la estructura local. Requieren de una fuente de rayos X de alta energía, como un sincrotrón<sup>18</sup>.

El fundamento de las técnicas de difracción se basan en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con una fuente de rayos X. De esta manera, dicha interacción da como resultado un patrón de difracción de rayos X cuya interpretación indica las posiciones internas de los átomos en el cristal con mucha precisión definiendo así las distancias y los ángulos interatómicos<sup>19</sup>.

#### **A.3.11. Difracción de Rayos X a bajos ángulos (SAXS)**

La dispersión de rayos X a bajos ángulos es una técnica basada en analizar la dispersión de rayos X producida por un material al paso del haz.

La muestra es irradiada con un haz de rayos X monocromático y a partir de la distribución de intensidades a muy bajo ángulo (cercanos a 0) es posible obtener información sobre tamaño o distribución de tamaños de partículas, forma de partículas y estructura interna. Donde las ondas interfieren constructivamente se tendrá un máximo, que es lo que se detecta. El máximo de la intensidad estará en la dirección de  $2\theta$  (siendo  $\theta$  el ángulo de incidencia).

Esta técnica se emplea en partículas con un tamaño comprendido entre 0,5 y 50 nm en materiales tales como: cristales líquidos, películas de polímeros, microemulsiones, catalizadores, proteínas, virus, entre otros.

#### **A.3.12. Espectroscopia electrónica de rayos X (XPS)**

Esta técnica se utiliza para el análisis de superficie. Proporciona información valiosa sobre el estado químico y cuantitativo de la superficie del material en estudio.

Por lo general, la XPS se logra al excitar una superficie de muestra con rayos X monoenergéticos de Al  $K\alpha$  que hacen que se emitan fotoelectrones desde la superficie de la muestra. Se utiliza un analizador de energía de electrones para medir la energía de los

fotoelectrones emitidos. A partir de la energía de enlace y la intensidad de un pico fotoelectrónico, se puede determinar la identidad elemental, el estado químico y la cantidad de un elemento detectado.

#### A.4. Referencias

1. Furniss, B. S., Hannaford, A. J., Smith, P. W. G., Tatchell, A. R. Vogel's: Textbook of practical organic chemistry, Longman Scientific & Technical, Fifth., 1989.
2. Burt, S. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **94**, 223–253.
3. Guenther, E. The Essential Oils, 1948.
4. Reineccius, G. Flavor Chemistry and Technology, 2006.
5. Yani, S., Gao, X., Grayling, P., Wu, H. *FUEL*, 2014, **133**, 341–349.
6. Bandoni, A. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica, CYTED., 2002.
7. Castro, M. D. L. De *J. Chromatogr. A*, 2010, **1217**, 2383–2389.
8. Etievant, P. X., Azar, M., Pham-delegue, M. H., Masson, C. J. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, **32**, 503–509.
9. Lee, K., Shibamoto, T. 2001, **74**, 443–448.
10. Li, Y., Kong, D., Wu, H. *Ind. Crop. Prod.*, 2013, **41**, 269–278.
11. Li, Y., Skouroumounis, G. K., Elsey, G. M., Taylor, D. K. *Food Chem.*, 2011, **129**, 570–576.
12. Chan, C., Yusoff, R., Ngoh, G., Kung, F. W. *J. Chromatogr. A*, 2011, **1218**, 6213–6225.
13. Gutiérrez, M. C., Droguet, M. *Boletín INTEXTER (U.p.c.)*, 2002, **122**, 35–41.
14. Silverstein, R. M., Guebster, F. X., Kiemble, D. J. 2005, 550.
15. Pavia, Lampman, K. 2001.
16. Long, G. L., Winefordner, J. D. *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 712 A-724 A.
17. Lopez, D. R., Mojica, P., Abella, J., Ahumada, D. A. .
18. West, A. R. Solid State Chemistry and Its Applications, Wiley, UK, Second., 2014.
19. Smart, L. E., Moore, E. A. Solid State Chemistry. An Introduction, Taylor and Francis, Singapore, Third., 2005.

## **ANEXO B**

---



### B.1. Introducción

En este anexo se incluyen resultados obtenidos durante la realización de la tesis y que se consideran complementarios a los presentados en los capítulos.

### B.2. Eugenol aislado del AE de clavo de olor

En la Tabla B.1 se muestran los resultados obtenidos mediante el método de hidrodestilación. En la corrida N° 3 se obtuvo los mejores rendimientos de AE, eugenol y el del proceso.

**Tabla B.1** Resultados obtenidos por HD

Corrida N°	Tiempo (h)	Rend. de AE (%)	Rend. de E (%)	Rend. del proceso (%)
1	2	9,02±0,79	1,24±0,31	0,11±0,04
2	4	7,46±0,76	0,50±0,17	0,04±0,02
3	6	<b>14,18±0,51</b>	<b>2,39±0,39</b>	<b>0,34±0,07</b>

En la Tabla B.2 se muestran los resultados obtenidos por destilación por arrastre de vapor. Se obtuvo un aceite de color amarillo con aroma característico a eugenol.

**Tabla B.2** Resultados obtenidos por DAV

Corrida N°	Tiempo (h)	Rend. de AE (%)	Rend. de E (%)	Rend. del proceso (%)
1	2	6,80±0,08	0,65±0,18	0,04±0,01
2	4	8,84±0,12	<b>5,75±0,17</b>	<b>0,51±0,02</b>
3	6	<b>49,51±0,51</b>	0,63±0,08	0,31±0,04

En la Tabla B.3 se muestran los resultados obtenidos por extracción Soxhlet con etanol a diferentes tiempos. Los mejores rendimientos se obtuvieron en un tiempo de 2 h.

**Tabla B.3** Resultados obtenidos por ES

Corrida N°	Tiempo (h)	Rend. de AE (%)	Rend. de E (%)	Rend. del proceso (%)
1	2	<b>32,67±1,10</b>	<b>9,69±0,19</b>	<b>3,16±0,12</b>
2	4	29,66±0,98	2,51±0,32	0,75±0,12
3	6	27,48±1,22	3,38±0,39	0,93±0,15

Los resultados obtenidos por extracción Twisselman se indican en la Tabla B.4. Como era de esperar se obtuvieron resultados muy similares a la ES.

**Tabla B.4** Resultados obtenidos por ET

Corrida N°	Tiempo (h)	Rend. de AE (%)	Rend. de E (%)	Rend. del proceso (%)
1	2	36,57±0,41	10,92±0,07	1,93±0,11
2	4	41,60±0,76	4,65±0,19	1,93±0,11
3	6	32,89±0,44	3,42±0,32	1,13±0,12

En la Tabla B.5 se detalla el método de Taguchi diseñado.

**Tabla B.5** Método de Taguchi de 5 factores y 5 niveles

Corrida a N°	Factor 1 Temperatura (°C)	Factor 2 Agitación (rpm)	Factor 3 Tiempo (min)	Factor 4 Concentración de etanol (%)	Factor 5 Relación líquido:sólido (mL/mg)
1	30	240	5	20	7
2		480	10	40	10
3		720	15	60	13
4		960	20	80	16
5		1200	25	100	19
6	40	240	10	60	16
7		480	15	80	19
8		720	20	100	7
9		960	25	20	10
10		1200	5	40	13
11	50	240	15	100	10
12		480	20	20	13
13		720	25	40	16
14		960	5	60	19
15		1200	10	80	7
16	60	240	20	40	19
17		480	25	60	7
18		720	5	80	10
19		960	10	100	13
20		1200	15	20	16
21	70	240	25	80	13
22		480	5	100	16
23		720	10	20	19
24		960	15	40	7
25		1200	20	60	10

**Tabla B.6** Rendimientos de AE obtenidos experimentalmente

Corrida N°	Rend. de AE (%) Experimental 1	Rend. de AE (%) Experimental 2	MSD	S/N
1	41,96	41,86	1756,45	32,45
2	45,84	45,81	2099,93	33,22
3	39,07	39,17	1530,38	31,85
4	29,27	29,31	857,90	29,33
5	31,00	31,05	962,55	29,83
6	25,26	25,32	639,59	28,06
7	19,02	18,95	360,43	25,57
8	59,65	59,75	3564,09	<b>35,52</b>
9	30,03	30,12	904,51	29,56
10	47,14	46,98	2214,65	33,45
11	55,9	56,13	3137,69	<b>34,97</b>
12	49,67	49,82	2474,57	<b>33,93</b>
13	55,66	55,89	3110,86	<b>34,93</b>
14	52,38	52,97	2774,74	<b>34,43</b>
15	56,12	56,02	3143,85	<b>34,97</b>
16	33,85	33,95	1149,21	30,60
17	44,55	44,18	1968,29	32,94
18	42,85	42,76	1832,27	32,63
19	14,32	14,64	209,70	23,22
20	47,96	48,04	2304,00	33,62
21	19,45	19,79	384,97	25,85
22	22,02	22,42	493,77	26,94
23	58,13	57,99	3370,97	<b>35,28</b>
24	56,47	56,67	3200,17	<b>35,05</b>
25	30,36	30,23	917,79	29,63

**Tabla B.7** Proporciones totales S/N correspondientes a los rendimientos de AE

Factor	Niveles					Nivel óptimo
	30	40	50	60	70	
Temperatura (°C)	30	40	50	60	70	50
	156,69	152,16	<b>173,24</b>	153,02	152,75	
Agitación (rpm)	240	480	720	960	1200	1200
	151,93	152,60	158,14	151,60	<b>161,51</b>	
Tiempo (rpm)	5	10	15	20	25	15
	159,90	154,75	<b>161,06</b>	159,02	153,12	
Etanol (%)	20	40	60	80	100	40
	164,85	<b>167,26</b>	156,91	148,36	150,47	
Relación líquido:sólido (ml/mg)	7	10	13	16	19	7
	<b>170,93</b>	160,01	148,31	152,88	155,72	



**Tabla B.8** Rendimientos de eugenol obtenidos experimentalmente

Corrida N°	Rend. de E (%) Experimental 1	Rend. de E (%) Experimental 2	MSD	S/N
1	10,4	10,91	113,59	20,55
2	12,42	12,38	153,76	21,87
3	12,67	12,54	158,89	22,01
4	30,34	30,42	922,95	29,65
5	41,52	41,75	1733,49	<b>32,39</b>
6	12,47	12,51	156,00	21,93
7	15,42	15,43	237,93	23,76
8	11,8	11,92	140,66	21,48
9	11,3	11,2	126,57	21,02
10	10	10,09	100,90	20,04
11	14,9	14,98	223,21	23,49
12	11,1	11,33	125,79	21,00
13	11,9	12,05	143,41	21,57
14	12,5	12,76	159,53	22,03
15	10,9	10,87	118,48	20,74
16	11,5	11,69	134,45	21,29
17	17,1	17,45	298,46	24,75
18	14,77	14,53	214,64	23,32
19	10,54	10,68	112,58	20,51
20	11,9	12,1	144,01	21,58
21	17,98	18	323,64	25,10
22	47,51	47,65	2263,86	<b>33,55</b>
23	12,1	12,41	150,21	21,77
24	11,1	11,29	125,34	20,98
25	17,27	17,31	298,94	24,76

**Tabla B.9** Proporciones totales S/N correspondientes a los rendimientos de eugenol

Factor	Niveles					Nivel óptimo
	30	40	50	60	70	
Temperatura (°C)	30	40	50	60	70	30
	<b>126,47</b>	108,24	108,81	111,45	126,15	
Agitación (rpm)	240	480	720	960	1200	480
	112,36	<b>124,93</b>	110,14	114,20	119,50	
Tiempo (rpm)	5	10	15	20	25	25
	119,49	106,82	111,83	118,17	<b>124,83</b>	
Etanol (%)	20	40	60	80	100	100
	105,92	105,74	115,48	122,57	<b>131,42</b>	
Relación líquido:sólido (ml/mg)	7	10	13	16	19	16
	108,50	114,45	108,66	<b>128,28</b>	121,23	

**Tabla B.10** Rendimientos del proceso global estimados

Corrida N°	Rend. del proceso (%) Experimental 1	Rend. del proceso (%) Experimental 2	MSD	S/N
1	4,36	4,57	19,93	13,00
2	5,69	5,67	32,27	15,09
3	4,95	4,91	24,31	13,86
4	8,88	8,92	79,18	18,99
5	12,87	12,96	166,84	<b>22,22</b>
6	3,15	3,17	9,98	9,99
7	2,93	2,92	8,57	9,33
8	7,04	7,12	50,14	17,00
9	3,39	3,37	11,44	10,58
10	4,71	4,74	22,33	13,49
11	8,33	8,41	70,04	18,45
12	5,51	5,64	31,11	14,93
13	6,62	6,73	44,59	16,49
14	6,55	6,76	44,29	16,46
15	6,12	6,09	37,27	15,71
16	3,89	3,97	15,44	11,89
17	7,62	7,71	58,75	17,69
18	6,33	6,21	39,34	15,95
19	1,51	1,56	2,36	3,73
20	5,71	5,81	33,20	15,21
21	3,50	3,56	12,47	10,96
22	10,46	10,68	111,77	<b>20,48</b>
23	7,03	7,20	50,61	17,04
24	6,27	6,40	40,12	16,03
25	5,24	5,23	27,42	14,38

**Tabla B.11** Proporciones totales S/N correspondientes a los rendimientos del proceso global

Factor	Niveles					Nivel óptimo
	30	40	50	60	70	
Temperatura (°C)	30	40	50	60	70	30
	<b>83,15</b>	60,39	82,05	64,47	78,90	
Agitación (rpm)	240	480	720	960	1200	1200
	64,29	77,52	80,34	65,80	<b>81,02</b>	
Tiempo (rpm)	5	10	15	20	25	5
	<b>79,38</b>	61,57	73,89	77,18	77,95	
Concentración de etanol (%)	20	40	60	80	100	100
	70,76	72,99	72,38	70,93	<b>81,90</b>	
Relación líquido:sólido (mL/mg)	7	10	13	16	19	16
	79,44	74,45	56,97	<b>81,16</b>	76,94	

**Tabla B.12** Resultados de rendimientos del ensayo realizado en las condiciones óptimas encontradas para el contenido de eugenol

<b>Factores</b>	<b>Rend. de AE</b>	<b>Rend. de E</b>	<b>Rend. del proceso global</b>
30 °C, 1200 rpm, 5 min, 100 % etanol, 16 ml/mg	33,46±0,89	62,55±0,76	20,93±0,21

**ANEXO C**

---



### C.1. Introducción

En este anexo se detalla los equipos y pertenencia institucional de los mismos.

**Tabla C.1** Equipos y pertenencia institucional

<b>Equipo</b>	<b>Marca</b>	<b>Pertenencia institucional</b>
Resonancia Magnética Nuclear	Bruker 300 MHz	INTEC - Santa Fe
Espectrofotómetro de fluorescencia	Hitachi F-7000	LAMOFIQ - UNL - FIQ
Cromatógrafo Gaseoso	PERKIN-ELMER Autosystem XL	LAMOFIQ - UNL - FIQ
Espectrofotómetro UV-VIS	PERKIN-ELMER Lambda 40	LAMOFIQ - UNL - FIQ
Espectrofotómetro de FTIR	SHIMADZU Prestige-21	CENACA - UNL - FIQ
Difracción de rayos X	SHIMADZU modelo XD-D1	CENACA - UNL - FIQ
Dispersión de rayos X a bajo ángulo	XEUSS 1.0 (XENOCs)	INIFTA-CONICET-UNLP
Microscopía electrónica de barrido	JEM-2100Plus	SECEGRIN - CONICET - Santa Fe
Sortómetro	NOVA-1000 Quantachrome	SECEGRIN - CONICET - Santa Fe
Resonancia magnética nuclear de sólidos	Bruker Avance II 300 (59,6 MHz)	LaNAIS-UNC-CONICET
Microondas	Antón Parr Monowave 300	FESTER
Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos	Multitécnica Specs	INCAPE-CONICET, CENACA-UNL