

## TABLA DE CONTENIDO

Eucalipto ( <i>Eucalyptus Globulus</i> ) y Stevia ( <i>Rebaudiana Bertoni</i> ) antioxidantes naturales en la síntesis de nanopartículas de plata .....	2
Extractos vegetales de Moringa y Caléndula en la síntesis de nanopartículas de plata. Actividad bactericida frente <i>Escherichia Coli</i> Y <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	8
Reacciones tándem Knoevenagel-Michael, aplicando criterios de Química Verde.....	14
Reciclado de pilas y baterías III. Recuperación de metales y manejo sustentable .....	18
Síntesis del 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol, con potencial actividad anticarcinógena mediante un protocolo con acercamiento verde .....	25
<i>Lactobacillus Bulgaricus</i> , un Modelo Experimental Verde para la Obtención de Moléculas con Potencial Actividad Anticarcinogénica.....	30
A novel green one-pot synthesis of biodiesel from seeds using heterogeneous direct transesterification .....	35

## EUCALIPTO (*Eucalyptus Globulus*) Y STEVIA (*Rebaudiana Bertoni*) ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

**Guadalupe Ramírez Ramírez**<sup>1</sup>, Lidia Meléndez Balbuena<sup>1</sup>, Eric Reyes Cervantes<sup>1</sup>, Alejandro Cesar Ruiz Tagle<sup>1</sup>, Armando Ramírez Monroy<sup>1</sup>, Sandra Luz Maribel Arroyo Carranza<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Contacto: lmbalbuena@hotmail.com

### Resumen

El presente trabajo describe una ruta de síntesis eco-amigable para obtener nanopartículas de oro y plata, usando los extractos de las hojas de Eucalipto y Stevia como agentes reductores. Las mediciones con espectroscopia UV-Vis de la solución acuosa de ion Au<sup>3+</sup> y Ag<sup>1+</sup> después de entrar en contacto con los extractos mostraron una banda intensa de absorción alrededor de 540 nm, característica del plasmón de resonancia de nanopartículas de oro y para el caso de la plata una banda intensa alrededor de los 400-450 nm característica de las nanopartículas de plata. La Microscopía de Fuerza Atómica muestran la presencia de agregados de las nano partículas. Fue probada su capacidad antimicrobiana contra cepas de referencias de bacterias grampositivas y gramnegativas.

### Introducción

La síntesis de nanopartículas de metales nobles ha cobrado gran importancia hoy en día debido a sus múltiples aplicaciones, como en planos médicos, tecnológicos y sus aplicaciones en nanotecnología, A escala nanométrica las propiedades físicas y químicas, como la conductividad eléctrica, la reactividad, etc., de los materiales cambian con respecto a los materiales macroscópicos. Las nanopartículas, como las de oro y la plata, se diferencian de los materiales a granel debido a la respuesta óptica de la excitación de la resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR). Esta fenomenal propiedad es una actividad de electrones de conducción en la superficie del metal excitado debido a la interacción con la radiación electromagnética. Estas oscilaciones proporcionan una banda de extinción en el rango del espectro infrarrojo, visible y ultravioleta. La posición espectral (longitud de onda) de estos fenómenos es muy sensible al tipo de metal, tamaño y forma (Jain et al., 2008).

El oro ha sido uno de los materiales más preciados por el hombre desde la antigüedad por sus excelentes propiedades, entre las que destaca su hermoso color y brillo, su maleabilidad y su estabilidad química. En las últimas décadas, el interés por este material se ha incrementado al encontrar que el oro en forma de nanopartículas presenta fenómenos físicos nuevos que incrementan su potencial tecnológico (P. Ghosh et al, 2008). Por otro lado, las nanopartículas de plata han sido objeto de una variedad de estudios, principalmente debido a la relación que existe entre su tamaño con las propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas. En la escala nanométrica (10-100 nm), las AgNPs presentan un comportamiento de las

propiedades físicas, químicas y biológicas que es inusual con relación a las mismas partículas de mayor escala, además de su sorprendente actividad antimicrobiana (Monge, 2009)

En la actualidad han surgido diversos métodos para la síntesis de estos materiales a escala nanométrica con un control sobre la forma y tamaño de las nanopartículas suficientemente bueno para ser empleadas en diversas aplicaciones, sin embargo, la mayoría de los métodos de síntesis son costosos y/o agresivos con el medio ambiente, por lo que se han buscado su síntesis con agentes reductores eco-amigables como los extractos vegetales (García, 2001). Es por ello por lo que en este trabajo se presenta una alternativa de síntesis económica, sencilla y amigable con el medio ambiente, ya que no requiere de agentes reductores fuertes y tóxicos, ni de disolventes orgánicos. En este trabajo, las nanopartículas de oro y plata fueron sintetizadas por medio de un procedimiento sencillo empleando extracto de hojas de *Eucalyptus globulus* Labill y *Stevia rebaudiana* como agentes reductores del oro y la Plata.

### **Sección experimental**

Las plantas utilizadas en este experimento fueron las hojas de Eucalipto y Stevia. El  $\text{HAuCl}_4$  y el  $\text{AgNO}_3$  que se utilizaron fueron del proveedor Sigma-Aldrich, con una pureza de 99.99 %. Se utilizó agua desionizada. Todo el material de vidrio se lavó con agua corriente y posteriormente con agua doblemente desionizada.

### **Preparación de los extractos acuosos de Stevia y Eucalipto**

Los extractos vegetales fueron preparados utilizando 1 g de cada uno de los vegetales, hojas de Stevia y Eucalipto, en 100 mL de agua destilada en ebullición, hasta obtener un volumen de 70 mL. Esta infusión se filtra y se deja enfriar. Se utilizó agua porque tiene una elevada capacidad de extracción de polifenoles y no presenta toxicidad (Naczki, et al., 2006; Naczki, et al., 2011). Los extractos se almacenaron a 4°C. La Figura 2, muestra la imagen de los extractos, a los cuales se adiciono NaOH, hasta llegar a pH=8.

### **Síntesis de Nanopartículas AgNPs y AuNPs**

*Nanopartículas de plata.* Para la síntesis de las nanopartículas de plata, la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, adicionando 10 mL de la solución de  $\text{AgNO}_3$  0.001 Molar a una dilución de (agua/ extracto) de 29.5: 5 (30 mL) de Stevia y Eucalipto a un pH=8, las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente y bajo agitación constante por 15 minutos. Estas soluciones se dejaron reposar y se almacenaron para posteriores análisis.

*Nanopartículas de oro.* Para su síntesis se partió de una solución acuosa de  $\text{HAuCl}_4$  0.001 M a temperatura ambiente se adicionaron 10 mL a una dilución de (agua/ extracto) de 29.5: 5 (30 mL) de Stevia y Eucalipto a un pH=8, las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente y bajo agitación constante por 15 minutos. Estas soluciones se dejaron reposar y se almacenaron para posteriores análisis.

### **Caracterización de las nanopartículas de AgNPs y AuNPs.**

La síntesis de nanopartículas de oro y plata se verificó mediante el análisis de cambio de color de la solución (lo cual se debe al fenómeno de resonancia de plasmones superficiales) (Monge, 2009) y

mediante mediciones de espectrofotometría UV-visible (Cruz, 2012). Para el caso de las nanopartículas de plata fue posible realizar el estudio de su superficie por medio de la espectroscopia de Fuerza Atómica utilizando el equipo el equipo JSPM-5200.

### Capacidad antimicrobiana

Para determinar la actividad antimicrobiana contra cepas de referencias de bacterias grampositivas y gramnegativas, se empleó el método de difusión en pozos y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando diferentes diluciones de las nanopartículas en microplacas inoculadas con cepas de referencia, *E. coli* (ATCC 25922) y *S. aureus* (ATCC 29213) a partir de suspensiones en solución salina ajustadas a la turbidez del estándar 0.5 McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/ml).

### Resultados

En el momento en que se agregaron los extractos de Eucalipto y Stevia, las soluciones de oro y plata cambiaron de color, la solución de oro cambio de amarillo claro a rosa, azul-grisáceo y violeta pálido según la concentración de extracto utilizado. En el caso de la solución de plata, este cambio de incolora a amarillo dorado con los dos extractos. En ambos casos estos cambios de color están reportados en la bibliografía como evidencia de la formación de nanopartículas de oro y plata (Monge, 2009). Imagen 1.

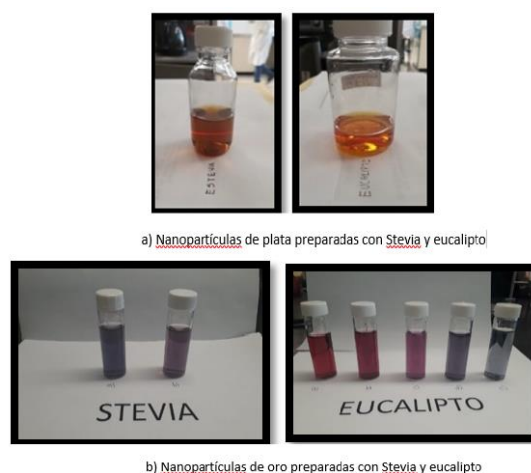


Imagen 1. Nanopartículas de plata y oro preparadas con Stevia y Eucalipto

Estas soluciones se analizaron por Espectroscopia UV-Vis a partir del momento en que se agregó el volumen definido de extracto. Las mediciones con espectroscopia UV-Vis de la solución acuosa de ion  $\text{Au}^{3+}$  y  $\text{Ag}^{1+}$  después de entrar en contacto con diferentes volúmenes de los extractos de Eucalipto y Stevia mostraron una intensa banda de absorción alrededor de 540 nm, característica del plasmón de resonancia de nanopartículas de oro y para el caso de la plata una banda intensa alrededor de los 400-450 nm característica del plasmón de las nanopartículas de plata. (Cruz, et al., 2012). En el gráfico 1, se muestra el espectro UV-vis de la Stevia con un máximo de absorción de 417 nm para el caso de la plata

y Eucalipto con un máximo de absorción de 532 nm, confirmándose la formación de nanopartículas en ambos casos.

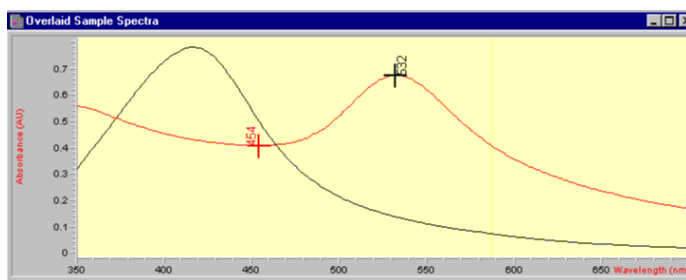


Gráfico 1. Espectro UV-VIS de la Stevia para NpsAg y NpsAu.

Para el caso de las NpsAg y NpsAu preparadas con el extracto de Eucalipto, los espectros UV-vis de absorbancia revelan la formación de las nanopartículas de oro y de plata. El espectro UV-vis muestra una banda de absorbancia a una longitud de onda de a 409 nm, corroborando la formación de las NpsAg, y una banda a 525 nm correspondiente a la formación de las NpsAu. Gráfico 2.

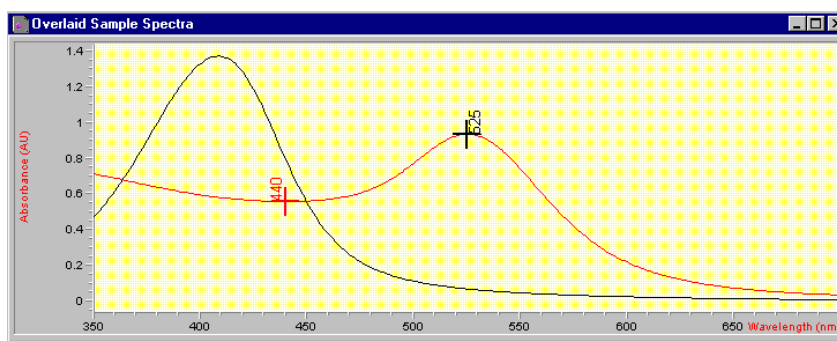


Gráfico 2. Espectro UV-VIS del Eucalipto para NpsAg y NpsAu.

Por otra parte, también se muestra el espectro de UV-vis de las nanopartículas de oro obtenidas con el extracto de Eucalipto a diferentes concentraciones (0.25, 0.5 y 1 mL) con 10 ml de HAuCl<sub>4</sub>, se observa la banda de plasmón a una longitud de onda de 545, 526 y 530 nm, Mostrando que la banda se ve afectada por la concentración del extracto utilizado. Gráfico 3.

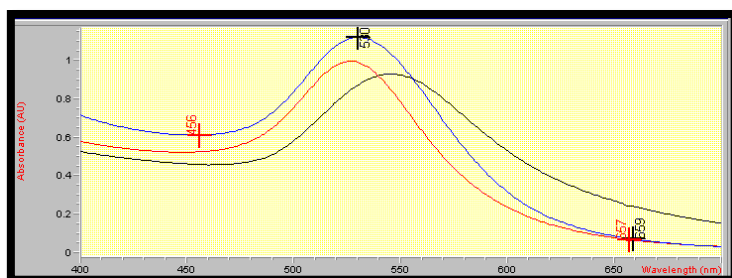
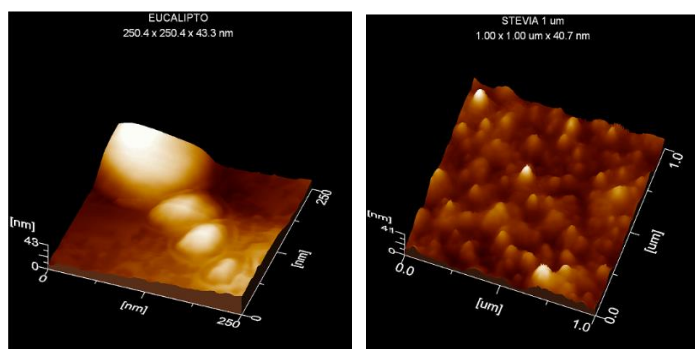


Gráfico 3. Espectro UV-VIS del Eucalipto a diferentes concentraciones.

Se observa también que los parámetros que controlan el tamaño y la forma de las nanopartículas de oro, son la concentración de iones  $\text{Au}^{+3}$  en la solución precursora y el tiempo de reducción, aunque el volumen del agente reductor empleado es el parámetro que ejerce una mayor influencia sobre las características de las nanopartículas de oro.

El estudio topográfico realizado a las muestras de nanopartículas de plata (NpsAg) con la Microscopía de Fuerza Atómica (Equipo JSPM-5200) muestra la presencia de las nanopartículas en forma de agregados, en la figura 4 se puede apreciar la morfología y las zonas donde se encuentran agregadas las nanopartículas, así como sus variados tamaños.



a) Eucalipto

b) Stevia

Imagen 2. Imagen de AFM correspondiente a las muestras de AgNPs, a) Eucalipto b) Stevia. En ella se observan los agregados de diferentes tamaños de nanopartículas de plata (AgNPs).

Las pruebas para la determinación de la actividad antimicrobiana de las AgNPs y AuNPs contra cepas de referencias de bacterias grampositivas y gramnegativas, por el método de difusión en pozos, reveló que las AgNps preparadas con el extracto de Stevia, mostraron actividad antimicrobiana. Cabe señalar que se requiere un estudio más profundo considerando el incremento de la concentración de las AgNPs y AuNPs obtenidas con los extractos de Eucalipto y Stevia. Imagen 3.

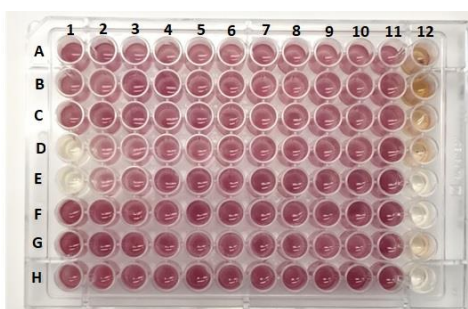


Imagen 3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria en microplaca con *E. coli*. Diluciones de las nanopartículas pozos 1-10. Controles positivo y negativo 11 y 12. Pozos A. NpAu-Eucalipto; B. NpAg-Eucalipto; C. NpAu-Stevia; D. NpAg-Stevia; E. Disolución  $\text{AgNO}_3$ ; F. Disolución de extracto Eucalipto; G. Disolución de extracto Stevia; H. Disolución Au

## **Conclusiones**

Mediante este método se observa la reducción de los iones de plata en solo 15 minutos mediante el cambio de color de la solución a un dorado/amarillo para el caso de la plata. La suspensión de nanopartículas de plata (Ag NPs) obtenida fue estable por más de un mes al no mostrar precipitación ni cambio de color. En cambio, para la reducción de los iones de oro se llevó al menos 30 minutos para el cambio de color de la solución grisáceo/morado/lila/rosa/rosa intenso.

La espectroscopia de UV-vis mostró picos de absorbancia (plasmón) característicos de las nanopartículas de plata, así como también característicos de la formación de las nanopartículas de oro.

La Microscopía de Fuerza Atómica permitió observar en forma de agregados la presencia de las nanopartículas de plata.

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que es viable sintetizar nanopartículas a partir del extracto de Stevia y Eucalipto, reduciendo los costos de manufactura y el impacto negativo al medio ambiente debido a que el agente reductor usado es de carácter natural. Cabe resaltar la necesidad de un estudio posterior donde se evalúen de manera más exhaustiva la capacidad antimicrobial de las nanopartículas obtenidas y los efectos de cada uno de los parámetros de reacción, para así poder conocer el efecto de estos en el tamaño, la morfología de las partículas obtenidas y su efecto antimicrobiano. Así como de realizar más pruebas de caracterización y conocer con exactitud su tamaño y morfología.

## **Bibliografía**

- Cruz D A, Rodríguez M, López J, Herrera V. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*: 3(2), 67-78.
- García L.V., Rojo D. M., Sánchez E. (2001). "Plantas con propiedades antioxidantes". *Revista Cubana de Investigación Biomédica* 20(3): 231-235 (2001).
- Jain, P.K., Huang, X., El-Sayed, I.H. & El-Sayed, M.A. (2008) Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology and medicine. *Accounts of Chemical Research*. 41 (12): 1578-1586.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*, 105, 33-41.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed. Anal.*, 41: 1523-1542.
- P Ghosh, Gang Han, Mrinmoy De, Chae Kyu Kim, Vincent M. Rotello. Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1307–1315. ELSEVIER

## EXTRACTOS VEGETALES DE MORINGA Y CALÉNDULA EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA. ACTIVIDAD BACTERICIDA FRENTE *Escherichia Coli* Y *Staphylococcus Aureus*

Diana Sandoval Silverio<sup>1</sup>, Jesús Iván Lucas Benites<sup>1</sup>, **Guadalupe Ramírez Ramírez<sup>1</sup>**, Lidia Meléndez Balbuena<sup>1</sup>, Eric Reyes Cervantes<sup>1</sup>, Alejandro Cesar Ruiz Tagle<sup>1</sup>, Blanca Martha Cabrera Vivas<sup>1</sup>, Ismael Soto López<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Contacto: lmbalbuena@hotmail.com

### Resumen

Se presentan los resultados de la síntesis de nanopartículas de plata, preparadas utilizando como agentes reductores de la plata iónica extractos vegetales de hojas de Moringa y Caléndula. Caracterizadas por los métodos espectroscópicos de UV-vis y Fuerza atómica. Con la espectroscopia UV-Visible se determinó la formación de las partículas en estado cero de oxidación mediante la banda de absorción característica de la plata (plasmones de resonancia) entre 400 y 450 nm. El estudio topográfico de las muestras realizado con la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) mostro la presencia de las nanopartículas en forma de agregados. Finalmente se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs de plata en presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, dando resultados positivos.

### Introducción

Las nanopartículas de plata han atraído la atención de muchos investigadores, esto es debido a sus propiedades que dan origen a diferentes aplicaciones biotecnológicas y biomédicas tales como aditivos en la industria textil, embalaje de alimentos, inmovilización de proteínas, y desarrollo de materiales optoelectrónicos, etc., mostrando así un auge investigativo en cuanto a su síntesis e inserción en diferentes tipos de materiales. (Han, 2012). Se consideran de gran interés debido a sus propiedades antibacteriales, lo que hace que esta sea un material muy atractivo para crear nanopartículas enfocadas al tratamiento de varias enfermedades causadas por virus o bacterias. (Ravindran, Chandran, & Khan, 2013). Por su amplio campo de aplicación existe un creciente interés en desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente que eviten el uso de productos químicos tóxicos, por lo que los extractos vegetales acuosos resultan una opción promisoriosa dado que contienen entre sus componentes agentes reductores como compuestos polifenólicos y flavonoides con bajos potenciales redox, aptos para la síntesis de las nanopartículas de plata (García, 2012). Por todo lo anterior el propósito de este trabajo fue realizar la síntesis de nanopartículas de plata utilizando como agentes reductores extractos acuosos de las hojas de Caléndula y de Moringa, vegetales elegidos por su bajo costo y amplia disponibilidad. Su formación su comprobada en primera por el color amarillo dorado característico de las nanopartículas. Con la espectroscopia UV-Visible se determinó la formación de las partículas en estado cero de oxidación mediante la banda de absorción característica de la plata (plasmones de resonancia) entre 400 y 450 nm.



Por otra parte, el estudio topográfico de las muestras realizado con la espectroscopia de Fuerza atómica mostró la presencia de las nanopartículas en forma de agregados y finalmente se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs de plata en presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

### **Metodología**

Para la preparación de las nanopartículas de plata se partió de una disolución acuosa de  $10^{-3}$  Molar, de  $\text{AgNO}_3$  (Aldrich), se emplearon vegetales procedentes de la región: hojas de Caléndula y Moringa.

### **Preparación de los extractos**

Se llevó a cabo para cada especie mediante un proceso de extracción sólido-líquido, en las mismas condiciones de temperatura ( $80^\circ\text{C}$ ), tiempo de contacto y proporción biomasa-disolvente. Las hojas fueron previamente lavadas, desecadas y trituradas, los extractos vegetales fueron preparados utilizando 1.0 g de cada uno de ellos, (caléndula y moringa) en 100 mL de agua destilada en ebullición, hasta obtener un volumen de 70 mL, esta infusión se filtra y se deja enfriar. Se utilizó agua debido a que tiene una elevada capacidad de extracción de polifenoles y no presenta toxicidad (Naczki, et al., 2006).

### **Síntesis de nanopartículas**

Para la síntesis de nanopartículas con las diferentes soluciones, la reacción se llevó a cabo adicionando a 30 mL de los extractos de Moringa y Caléndula 10 mL de la disolución de nitrato de plata 0.001M con agitación constante por 10 minutos a temperatura ambiente a un  $\text{pH}=8$ . Estas soluciones se dejaron reposar a temperatura ambiente y se almacenaron en un enfriador para posteriores análisis.

### **Caracterización de las nanopartículas**

La síntesis de nanopartículas con cada una de las soluciones de los extractos se verificó mediante el análisis de cambio de color de la solución (lo cual se debe al fenómeno de resonancia de plasmones superficiales) (Monge, 2009), mediante mediciones de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) ((López y Solares, 2014),) y espectrofotometría UV-visible.

### **Actividad antimicrobiana**

Se evaluó la actividad antibacteriana de las AgNPs de plata en presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Las cepas fueron proporcionadas por el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas.

Con solución salina isotónica, se realizaron caldos de cultivos, midiendo con un densímetro que marcara un 0.5 UNT, se realizó un caldo por cada cepa. En placas de agar *Müller-Hinton*, se realizó un masivo de cada muestra, y se procedió a poner los discos de papel filtro sobre cada placa. Se enumeraron 5 puntos en cada placa, cuidando su distribución. En cada punto se colocó un disco de papel filtro. A cada disco se

les pusieron 10µl, de cada muestra a utilizar. Siguiendo el orden de acuerdo con la numeración (Picazo, 2000) Ver tabla 1.

Tabla1. Muestras utilizadas en cada disco.

Número	Muestra
1	AgNO <sub>3</sub>
2	Extracto de Moringa
3	Extracto de Caléndula
4	Extracto de moringa + nanopartículas de plata
5	Extracto de caléndula + nanopartículas de plata

Pasando las 24 horas se verificó el halo de inhibición que se había creado para cada uno de los discos.

### Resultados y discusión

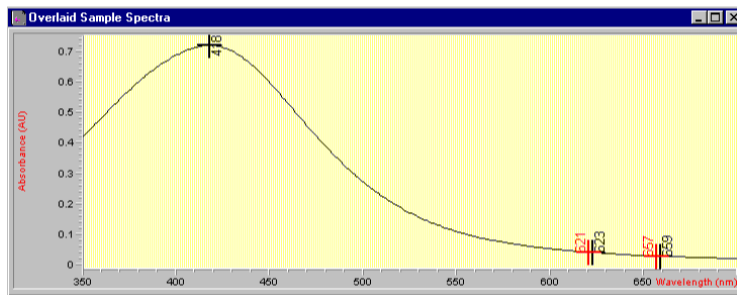
La adición de los extractos acuosos de la Moringa y la Caléndula a la disolución de nitrato de plata 0.001 M, dio como resultados en ambos casos disoluciones de color amarillo dorado, color característico de las nanopartículas de plata, como se ha evidenciado por otros autores (Ananth, et al., 2011). Imagen 1.



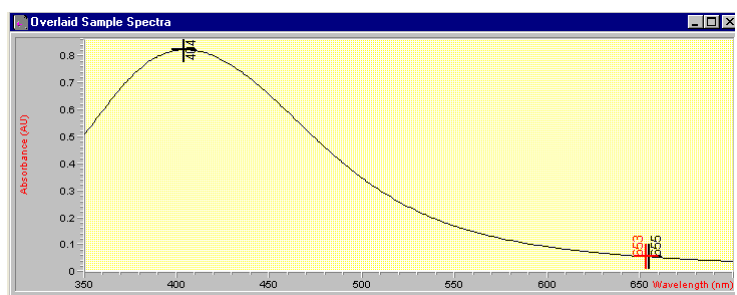
Imagen 1. Disoluciones obtenidas del Moringa y Caléndula más la adición de nitrato de plata.

Con la espectroscopia UV-Visible se determinó la formación de las partículas de plata en estado cero de oxidación mediante la aparición de la banda de absorción característica de la plata (plasmones de resonancia), el pico de plasmón aparece a una longitud de onda alrededor entre 400 y 450 nm, y su posición exacta depende de la forma y distribución de tamaños de las partículas (Cruz, 2012).

Para el caso de la Caléndula se observa un pico de absorbancia (plasmón) a de 418 nm, longitud de onda que se encuentra dentro del rango estimado para la presencia de nanopartículas de plata y para el caso de la Moringa se aprecia el plasmón a una longitud de onda de 404 nm. La figura 2 muestra el espectro UV-vis de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso de la Caléndula y la gráfica 3 el UV-vis el de las nanopartículas de plata obtenidas utilizando el extracto acuoso de la Moringa. (Monge, 2009).



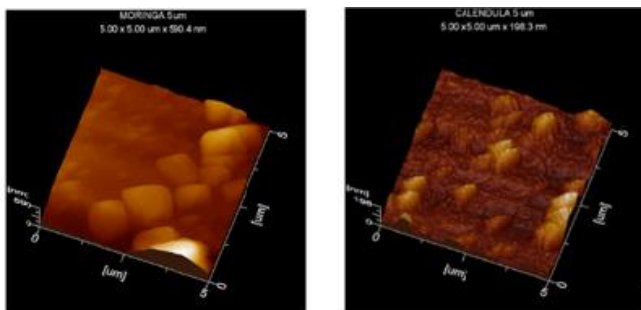
**Gráfica 1.** Espectro UV-vis de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso de la Caléndula mostrando su punto más alto de absorbancia en 414 nm.



**Gráfica 2:** Espectro UV-vis de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso de la Moringa muestra su punto más alto de absorbancia en 404 nm.

En ambos casos la presencia del plasmón en la región de 400 nm a 450 nm da evidencia de la reducción de la plata iónica a plata cero, así como también por la forma del gráfico se puede inferir que las nanopartículas obtenidas son polidispersas.

El estudio topográfico de las muestras realizado con la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) se llevó a cabo con el equipo modelo JSPM-5200, muestra la presencia de las nanopartículas en forma de agregados, en la imagen 2, se aprecia la morfología y las zonas donde se encuentran agregadas las nanopartículas, así como sus variados tamaños.



a) Moringa

b) Caléndula

Imagen 2. Resultados de AFM utilizando las nanopartículas sintetizadas con el extracto de a) Moringa. b) Caléndula.

**Actividad antimicrobiana**

Las pruebas de la actividad antibacteriana de las AgNPs de plata preparadas con el extracto acuoso de las hojas de Calendula y Moringa en presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, arrojaron resultados interesantes, de la imagen 3 se observan los halos de inhibición en los puntos 4 y 5, puntos en donde fueron sembradas las bacterias y las nanopartículas de plata. Imagen 3.

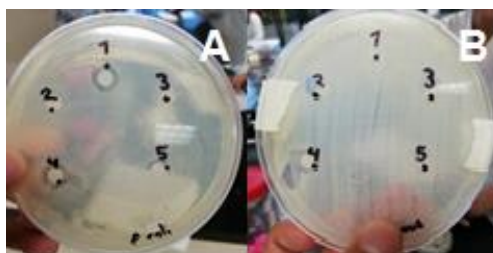


Imagen 3. A: Placa con *E.coli*, B: Placa con *S. aureus* halos en 4 y 5.

En la tabla 2 aparecen las medidas de los halos de inhibición para las muestras utilizadas en las placas con *E.coli* y con *S. aureus*.

Tabla 2. Diámetros de inhibición presentados

Número	Diámetro de inhibición en <i>E. coli</i> .	Diámetro de inhibición en <i>S. aureus</i> .
1	1cm	0.7
2	-	1cm
3	-	1.2 cm
4	1.2	Valor no medible pero comprobable por la fotografía si había inhibición
5	1cm	0.6 cm

Esta prueba revela que las nanopartículas preparadas con los extractos acuosos de caléndula y moringa presentan propiedades bactericidas.

**Conclusiones**

Se desarrolló la síntesis de nanopartículas de plata aplicando un método amigable para el medio ambiente, comparado con los métodos químicos, que originan subproductos no deseados. Por tal motivo, este método resulta económico y menos perjudicial para el medio ambiente, y con resultados acertados para la síntesis de nanopartículas.

El análisis por el UV-vis, permitió corroborar la formación de nanopartículas de plata en estado de oxidación cero mediante la respuesta de absorción en la región azul-violeta (400 nm-490 nm) que caracteriza a este metal.

Por medio de Microscopia de Fuerza atómica (AFM), se observó la morfología y las zonas donde se encuentran agregadas las Nanopartículas.

La medición de la actividad bactericida de las nanopartículas de plata obtenidas con el extracto acuoso de la Caléndula y Moringa se evidenció con los halos de inhibición para el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

### **Bibliografía**

- Ananth, A. N., Daniel, S. C. G. K., Sironmani, T. A., & Umapathi, S. (2011). PVA and BSA stabilized silver nanoparticles-based surface-enhanced plasmon resonance probes for protein detection. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85, 138-144.
- Cruz D A, Rodríguez M, López J, Herrera V. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*: 3(2), 67-78.
- García L.V., Rojo D. M., Sánchez E. (2001). "Plantas con propiedades antioxidantes". *Revista Cubana de Investigación Biomédica* 20(3): 231-235 (2001).
- Han R. M., Zhang, J.P., Skibsted, L. H. (2012). Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules.*, 17: 2140-2160.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*, 105, 33-41.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed. Anal.*, 41: 1523-1542.
- Picazo J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* Editor: Juan J. Picazo
- Ravindran. A., Chandran. P & Kham. S.S. (2013). Biofunctionalized silver nanopart: Advances and prospects. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 105: 342-352.

## REACCIONES TÁNDEM KNOEVENAGEL-MICHAEL, APLICANDO CRITERIOS DE QUÍMICA VERDE

**Ramón Gudiño García**, Jesús Arias Sánchez, Ana Adela Sánchez Mendoza y María del Consuelo Socorro Sandoval García<sup>1</sup>. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México 04510, D.F. <sup>1</sup>chelosg@unam.mx ó sandovalgarcia@icloud.com

### Resumen

Las reacciones tándem o en cascada han emergido como un método de síntesis muy atractivo dado que permiten el acceso a moléculas complejas en una manera fácil y eficiente. Tal es el caso de la reacción Knoevenagel-Michael. La reacción de Knoevenagel se lleva a cabo, de forma tradicional en una mezcla agua, o etanol-agua, empleando como catalizador básico piridina o la mezcla piridina-piperidina, a reflujo, durante 60 minutos o más, dependiendo del sustrato empleado.

La reacción en cascada de Knoevenagel-Michael aquí descrita, es un modelo de enseñanza que ilustra la importancia del uso de organocatalizadores y disolventes amigables con el medio ambiente dentro del campo de la síntesis orgánica. Se basa en la síntesis de un derivado de la 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (dimedona) utilizando el polietilenglicol (PEG-400) como un disolvente benigno y de un organocatalizador biodegradable, prolina, a temperatura ambiente. Los resultados mostrados presentan, en contraste a una reacción tradicional, un medio de reacción amigable con el medio ambiente, una base biodegradable y una reacción, que, si bien tarda también 60 minutos, no requiere de calentamiento o de gasto energético mayor a la de un sistema con agitación constante.

### Introducción

El desarrollo de métodos de síntesis orgánica que permitan la formación de nuevos enlaces C-C para dar moléculas más complejas y que al mismo tiempo sigan los principios de la química verde, han cobrado una gran relevancia debido a los problemas ambientales y de salud a los que hoy nos enfrentamos [1].

Entre los principios de la química verde que deben de cumplir estas nuevas metodologías se encuentran el uso de disolventes poco dañinos para el ser humano y el ambiente, el uso de catalizadores, la reducción de consumo energético y la disminución en la generación de productos y residuos tóxicos [2].

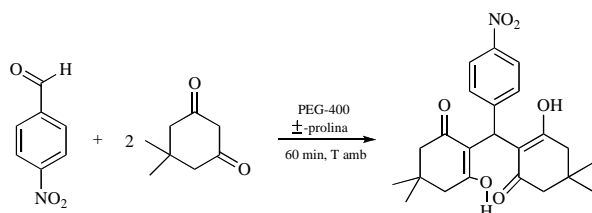
Las reacciones tándem o en cascada han emergido como un método de síntesis muy atractivo dado a que permiten el acceso a moléculas complejas en una manera fácil y eficiente [3]. Tal es el caso de la reacción Knoevenagel-Michael que ha sido empleada para la generación de diferentes compuestos, algunos de los cuales presentan diferentes actividades biológicas [4].

### Exposición

La reacción de Knoevenagel se lleva a cabo, de forma tradicional en una mezcla agua, o etanol-agua, empleando como catalizador básico piridina o la mezcla piridina-piperidina, a reflujo, durante 60 minutos o más, dependiendo del sustrato empleado.

La reacción en cascada de Knoevenagel-Michael [5] aquí descrita, es un modelo de enseñanza que ilustra la importancia del uso de organocatalizadores y disolventes amigables con el medio ambiente dentro del campo de la síntesis orgánica. Se basa en la síntesis de un derivado de la 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (dimedona) utilizando el polietilenglicol (PEG-400) como un disolvente benigno y de un organocatalizador biodegradable, prolina, a temperatura ambiente.

### Reacción



### Materiales

Balanza analítica	Espátula	Matraz Erlenmeyer de 25 mL	Pipeta graduada de 2 mL
Cámara de elución	Kitasato c / manguera	Parrilla de agitación c/ barra magnética 0.5"	Probeta de 10 mL
Embudo buchner c / alargadera	Lámpara de UV	Pinza de tres dedos c/ nuez	Vaso de pp de 25mL
Embudo para sólidos	Matraz balón de 10 mL de fondo plano	Pinza de punta roma	Vidrio de reloj

### Reactivos

Acetato de etilo	Cromatofolios	Dimedona	Etanol absoluto
Hexano	PEG-400	(±)-Prolina	4-nitrobenzaldehído

### Metodología

En un matraz balón de fondo plano de 10 mL provisto de una barra magnética, se colocan 2 mL de PEG-400 (5.64 mmol) y con agitación, a T amb, se añaden, finamente pulverizados, en estricto orden:

0.1564 g de 4-nitrobenzaldehído (1.035 mmol), 0.0521 g (±)-prolina (0.45 mmol) y 0.2816 g dimedona (2.01 mmol).


El tiempo de reacción es de 1 h, monitoreando a los 30 y 60 min por cromatografía en capa fina, empleando como referencia a la dimedona y al 4-nitrobenzaldehído. La reacción se vierte sobre hielo, observándose la formación de un sólido blanco. Se agita por 10 min más para completar la formación del producto. Se filtra al vacío y el sólido crudo se recristaliza con un máximo de 5 mL de etanol<sup>§</sup>.

\*A los 30 min, el color del medio de reacción se torna a un amarillo oscuro y se observa que los reactivos están casi disueltos en su totalidad. A los 40 min se observa un color amarillo claro y la mezcla aumenta su viscosidad.

§ Trasvasar el remanente de los cristales del matraz donde se llevó a cabo la recrystalización al Buchner, con 2 mL de hexano.

### Resultados

En la tabla 1 se indica la cantidad de materia prima, así como la de producto para cada uno de los registros.

Registro	4-nitrobenzaldehído (g)	Producto (g)	R.f.	Rendimiento (%)	
1	0.302	0.2908	0.7	35	
2	0.1513	0.1692	0.7	41	
3	0.1500	0.2203	0.7	54	
4	0.1564	0.2517	0.7	59	

\*Eluyente Hex 60: AcOEt 40

Tabla 1

En la tabla 2 se presentan las materias primas (carril 1-3), productos (4 y 6) y el filtrado obtenido al finalizar la reacción (5).

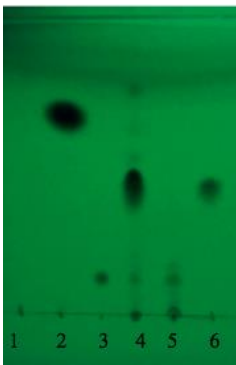
Carril	Sustrato	Rf	
1	PEG	0.02	
2	4-nitrobenzaldehído	0.84	
3	Dimedona	0.23	
4	Producto crudo	0.02	
		0.23	
		0.7	
5	Filtrado (fase acuosa)	0.02	
		0.23	
6	Producto	0.70	

Tabla 2

### Espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN y <sup>13</sup>C RMN

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz); □ (ppm): 11.797 (enol OH, s), 8.133 (2H, d, J = 9 Hz), 7.249 (2H, d, J = 9 Hz), 5.545 (1H, s), 2.529-2.299 (8H, m), 1.238 (6H, s), 1.115 (6H, s).



$^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz);  $\delta$  (ppm): 190.908, 189.543, 146.509, 146.096, 127.612, 123.486, 114.880, 46.953, 46.372, 33.223, 31.438, 29.477, 27.418.

## Discusión

La reacción de Knoevenagel-Michael mostrada en el presente trabajo procede de manera adecuada a temperatura ambiente, generando una microemulsión PEG-400/prolina como medio de reacción y a la vez catalizador. El orden de adición de los reactivos ya antes mencionado en el método se propone de dicha manera con el fin de favorecer la formación del producto intermedio imina, formado por la prolina y el 4-nitrobenzaldehído, mostrado en el mecanismo de reacción [6]. El propósito de dicha secuencia en la adición es evitar reacciones en competencia, lo que disminuiría el rendimiento de la reacción y la formación de subproductos que puedan dificultar la purificación del producto.

El rendimiento de la reacción se optimizó hasta lograr casi un 60%, ya que se observó que éste variaba según se modificaba el trabajo de reacción mas no las condiciones. Se comprobó que el problema se da al utilizar etanol a T ambiente, por lo cual, se empleó hexano o bien etanol helado. Para facilitar el trabajo experimental, se decidió emplear hexano para trasvasar el producto crudo al Buchner, con el fin de no afectar el rendimiento de la reacción por solubilidad.

## Conclusiones

El producto de condensación Knoevenagel-Michael se da mediante la formación de una microemulsión (PEG-400 y  $(\pm)$ -prolina).

Los resultados mostrados para la modificación a la reacción de Knoevenagel presentan, en contraste a una metodología tradicional, una reacción que procede sin gasto energético, con un medio de reacción amigable con el medio ambiente y una base biodegradable.

Se obtuvo la [(4-Nitrofenil)metan-bis-2,2'-(3-hidroxi-5,5-dimetil-2-ciclohexen-1-ona)] con un rendimiento cercano al 60%

## Bibliografía

- 1.- Mohammed A. et al. Tandem Knoevenagel-Michael reactions in aqueous diethylamine medium: A greener and efficient approach toward bis-dimedone derivatives. *Arab. J. Chem.* **2014**, *10* (2), 185-193.
- 2.- Anastas P. & Eghbali N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301-312.
- 3.- Elinson M. N. et al. Catalyst-free tandem Knoevenagel-Michael reaction of aldehydes and pyrazolin-5-one: fast and convenient approach to medicinally relevant 4,4'-(arylmethylene)bis(1H-pyrazol-5-ols). *Heterocycl. Commun.* **2015**, *21* (2), 97-101.
- 4.- Ghosh, A.; Khan, A. T. Synthesis of dihydrochromeno[4,3-b]pyrazolo[4,3-e]pyridine-6(7H)-ones involving one-pot three-component tandem Knoevenagel-Michael reaction catalyzed by n-tetrabutylammonium tribromide (TBATB). *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2006-2009.
- 5.- Stacey, J., Dicks, A., Goodwin A., Rush, B. & Nigam, M. Green Carbonyl Condensation Reactions Demonstrating Solvent and Organocatalyst Recyclability. *J. Chem. Educ.* **2013**, *90*, 1067-1070.
- 6.- Bermúdez et al. Mechanism of the organocatalyzed decarboxylate Knoevenagel-Doebner reaction. A theoretical study. *J. Phys. Chem. A*, **2010**, *114*, 13086-13092

## RECICLADO DE PILAS Y BATERÍAS III. RECUPERACIÓN DE METALES Y MANEJO SUSTENTABLE

**Juan Parra Degante**<sup>1</sup>, Jessica Hernández Cortes<sup>1</sup>, Dra. Gabriela Mendoza Sarmiento<sup>1</sup>, Dr. José Antonio Guevara García<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Tlaxcala. Licenciatura en Química Industrial. Facultad de Ciencias Básicas, Ingeniería y Tecnología.

lm10cr7ai6xh8@gmail.com. jh361027@gmail.com. gy\_mar88@hotmail.com.

joseantonio.guevara@uatx.mx.

### Resumen

Se utilizaron baterías de ion-Li descartadas para la recuperación de carbonato de litio. Este procedimiento sirvió de base para una estimación del costo de producción a partir de baterías usadas y compararlo con el costo comercial. Además de esto, se calculó el ahorro de emisiones de CO<sub>2eq</sub> al utilizar litio recuperado en lugar del proveniente del mineral y el impacto que esto tiene como huella ecológica. Se discute también sobre el ciclo de vida que puede implementarse para estas baterías.

**Palabras clave:** baterías ion-Li, recuperación de Li, emisiones CO<sub>2eq</sub>, huella ecológica, ciclo de vida.

### Introducción

Ilya Prigogine ganó el Premio Nobel en Química en 1977 por sus trabajos sobre la Termodinámica del no equilibrio (Nobel 2019). El principal concepto creado por Prigogine es el de estructuras disipativas, aquellas entidades desarrolladas por la evolución y consolidados por la dialéctica entre el azar y la necesidad que la aleja de la evolución entrópica única, permitiendo que sistemas complejos no caigan, como pudiera parecer, en el caos. Prigogine bautizó los sistemas físicos no aislados con el nombre de disipativos para vincularlos directamente con la segunda Ley (Prigogine y Stengers 2004). Un sistema disipativo es aquel que requiere de un constante insumo de energía e información para perpetuarse. Así, las sociedades pueden definirse como un conjunto de formas energéticas alejadas del equilibrio. Los sistemas procuran integrar cada vez más energía en sus ciclos. Sin embargo, esto se paga con más desorden en el medio e inseguridad (Tyrantia 2009).

En las sociedades modernas, el desarrollo tecnológico requiere esa enorme cantidad de energía e información, de la que hablaba Prigogine, que permite que, en este instante, usted revise en su dispositivo portátil sus mensajes o las redes sociales; ¿adónde se disipa el desorden? En el Congo la mayoría de niños no van a la escuela, en cambio, en el 2012 la UNICEF estimó que unos 40,000 niños y niñas trabajan en las minas de cobalto (UNICEF 2012). El cobalto es la materia prima más cara dentro de una batería de ion-litio, la que provee de energía a su dispositivo portátil; su precio fluctuó en el 2017-18 de \$20,000 a \$26,000 USD/ton (Washington Post 2019a). Aquí, el desorden o entropía se manifiesta en las condiciones caóticas en que se da la extracción del mineral y las condiciones de vida infra-humanas de los trabajadores, que no se llaman a ellos mismos “mineros” sino “recolectores”, quizás en alusión a que

realizan su labor “a mano” –sin herramientas adecuadas (ver los videos del sitio de The Washington Post).

En el caso del litio, el sitio de disipación se desplaza a América Latina; el triángulo del “oro blanco” se encuentra entre Bolivia, Perú y Argentina. Aunque se estima que las reservas de litio son suficientes teóricamente para los siguientes 300 años (Moreau 2019), las condiciones en las que se extrae el mineral son apenas menos grotescas que el cobalto, pero iguales en términos de la explotación de la gente que realiza esta labor; las compañías mineras obtienen estratosféricas sumas de dinero por la comercialización del litio que extraen de la región, pero las comunidades que poseen la tierra se empobrecen rápidamente, luchan para pagar los sistemas de alcantarillado, agua potable y calefacción para las escuelas. El asunto del agua es crítico aquí: las plantas de extracción de litio, que utilizan grandes cantidades de este recurso, profundizarán la escasez existente en la región, que recibe menos de cuatro pulgadas de lluvia al año; todas las comunidades de la zona sufren escases de agua y muchas de ellas ya se abastecen únicamente de los camiones cisterna (Washington Post 2019b).

Otro componente indispensable de las baterías de litio es el grafito. El grafito cumple la función de soporte electrolítico entre los electrodos y no puede ser reemplazado por sus propiedades y precio. La mayor parte de este material proviene de China. Ahí la historia se repite: las grandes compañías realizan la extracción del mineral explotando la mano de obra, casi regalada, de las poblaciones de la región y a costa de la alta entropía en forma de aire casi irrespirable, cultivos dañados, hogares y pertenencias cubiertas de hollín, agua potable contaminada. Mientras que los funcionarios gubernamentales miran hacia otro lado para beneficiar a un empleador importante (Washington Post 2019c).

¿Cuál debe ser la postura de los consumidores de estos dispositivos? Se ha remarcado que la sociedad necesita de la regulación a través de marcos legales, con leyes ecológicamente orientadas, libres de presiones de parte de los grupos de poder económico, empresas comprometidas con el medio ambiente y bajo el esquema de responsabilidad extendida del productor. Es decir, empresas que no privatizen las ganancias económicas y socialicen el impacto ecológico, sino que se responsabilicen de que cada producto comercial tenga un tratamiento de fin de vida que, a su vez, contemple su reúso o reciclado. Por otra parte, es necesario que la sociedad se organice, por ejemplo, en esquemas de ONG's, para monitorear el comportamiento ambiental de gobiernos y de compañías, y para participar activamente en la discusión de leyes ambientales. Pero, fundamentalmente, el paradigma de la educación debe cambiarse de forma que no se formen más individuos consumidores devastadores, sino ciudadanos profundamente conscientes del ecosistema del que son parte y con una sólida cultura de reciclaje (Montiel-Corona y Guevara-García 2018).

## **Materiales**

Pilas (recaudadas en la campaña de recolección en la FCBIyT de la Uatx, durante el semestre Primavera 2019), multímetro (STEREN MUL-010), ácido acético (3.5M), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (pureza 28%), NaOH (10M), NH<sub>4</sub>OH (pureza 28%), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Parrilla de agitación magnética con termómetro, potenciómetro con termómetro, tanque de N<sub>2</sub>, bomba de vacío, micropipetas, recirculador. Bureta graduada de 50 mL, matraz aforado 100 mL y 50 mL, soporte universal, vaso de precipitado 500 mL, 200 mL y 50 mL, probeta

50 mL, matraz de 3 bocas de 500 mL, refrigerante, matraz kitasato 500 mL, embudo Buchner, agitador magnético, pipeta de 10 mL, espátula, mortero, pistilo y tamizador 0.25 mm.

### Métodos

Se separaron las baterías de iones litio que cumplieran con las características de 0 V (para evitar un cortocircuito), así como que no estuvieran infladas. Posteriormente se abrieron y separaron sus partes, para poder extraer el cátodo y ánodo de manera manual, raspando hasta obtener un polvo de color gris oscuro (grafito), el cual contiene los diferentes iones (Al, Co, Mn, Ni, Li).

Se llevó a cabo un proceso de lixiviación, con 20 g de grafito en 100 mL de ácido acético 3.5 M y 68.97 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, llevando a un volumen final de 500 mL, se reflujo por 1 hora a 65°C. Una vez finalizado, se filtró y dejó secar el precipitado por 24 h a 80°C, la solución se ajustó a pH 6.45 para precipitar aluminio, se volvió a filtrar y secar por 24 h a 80°C. A continuación, la solución restante se ajustó a un pH de 11 a través de la adición de NaOH 10 M y NH<sub>4</sub>OH 10 M, con una velocidad de bombeo de 2 mL/min bajo protección del N<sub>2</sub> a 65°C y agitación de 1300 rpm. Con ello se obtiene la precipitación de los siguientes iones metálicos en forma de hidróxidos; Co (OH)<sub>2</sub>, Ni (OH)<sub>2</sub> y Mn (OH)<sub>2</sub>, se realizó nuevamente la filtración, lavando el precipitado con H<sub>2</sub>O ultra-pura y secado a 80°C por 24 h. De nuevo a la solución restante, se neutraliza agregando ácido acético. Más adelante se adicionó Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para precipitar Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a temperatura de 20-60°C. Una vez más se filtró, lavando con H<sub>2</sub>O ultra-pura hirviendo para poder finalmente secar a 80°C por 12 h.

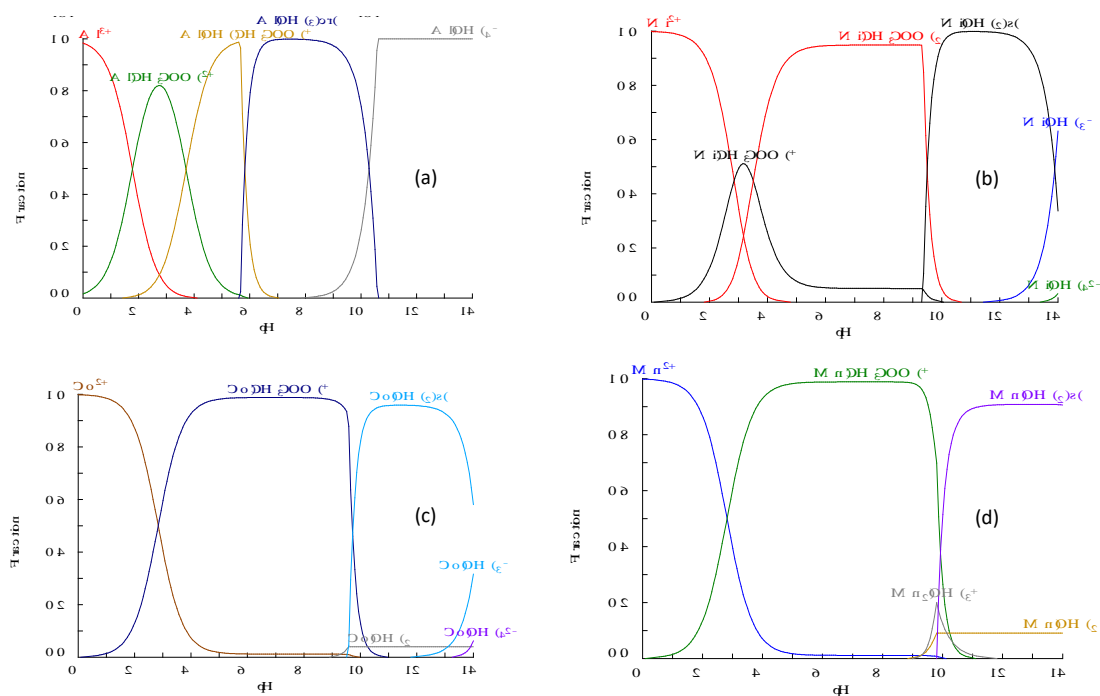
### Resultados y Discusión

Se abrieron un total de 14 baterías (todas provenientes de celulares), separándolas en sus componentes, de los cuales se obtuvieron cobre (laminas), aluminio (laminas), membranas, y finalmente grafito, el cual contiene el ánodo y cátodo (Tabla 1).

**Tabla 1.** Componentes obtenidos de las baterías de ion-Litio (14 baterías)

Componente	Masa (g)	Composición (%)
Cobre	28.5	11.67
Aluminio (Laminas)	100.1	40.98
Grafito + metales	100.3	41.06
Membrana	7.68	3.14
Residuos Varios	7.7	3.15

Después del reflujo y separar el grafito de la fase líquida, que contiene los iones, se llevó a pH de 6.45 para la precipitación de aluminio, como se observa en el Diagrama de Distribución de Especies de Aluminio, la especie de Al (OH)<sub>3</sub> insoluble y predomina casi al 100% en esas condiciones, por arriba de 6.45 la especie soluble de Al (OH)<sub>4</sub> empieza a predominar, por lo cual es importante controlar el pH en esta etapa. Figura 1(a).



**Figura 1.** Diagrama de distribución de especies para: (a) Aluminio; (b) Níquel (II); (c) Cobalto; y, (d) Mn (II) en medio  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ , en las condiciones apuntadas en texto. Los diagramas fueron obtenidos con el software XXX.

Para obtener los hidróxidos de cobalto, níquel y manganeso, fue necesario llevar la solución a pH de 11. Como se puede observar en las Figuras 1(b), 1 (c) y 1(d), ha dicho pH se encuentran las especies insolubles en una fracción mayoritaria. En este caso se logró extraer aproximadamente 34%, esta cifra está por debajo de lo reportado (Tabla 2), sin embargo, se espera optimizar las condiciones para obtener los porcentajes esperados en futuros trabajos.

**Tabla 2.** Componentes obtenidos de 20 g de material mezclados en el soporte electrolítico.

Componente	Masa (g)	Rendimiento Experimental (%)	Rendimiento Reportado (%)	Kg $\text{CO}_2$ -eq/Kg material (minería) <sup>1</sup>	Ahorro Kg $\text{CO}_2$ -eq/Kg material (reciclado) <sup>2</sup>
Primer filtrado (grafito)	4.99	---	---	2.5	0.012475
Segundo Filtrado, Aluminio ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ )	0.540	2.70	7.86	8	0.00432
Tercer Filtrado, Cobalto, Níquel, Manganeso ( $\text{Co}(\text{OH})_2$ , $\text{Ni}(\text{OH})_2$ y $\text{Mn}(\text{OH})_2$ )	6. 869	34.35	54.54	34	0.233546
Litio ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ )	0.080	0.40	6.15	4	0.00032

<sup>1</sup> Tabla 14 de Romare y Dahllöf (2017).

<sup>2</sup> Calculado en este trabajo a partir de la Tabla 14 de Romare y Dahllöf (2017).

En el último paso para la obtención de litio en forma de carbonato, se obtuvo 0.08 g, y, al igual que con los metales anteriores (Co, Ni, Mn), el porcentaje recuperado se encuentra por debajo del esperado, sin embargo, ya se puede observar un ahorro de emisiones de CO<sub>2</sub>-eq de 0.25 Kg, al obtener los metales Co, Ni, y Mn por reciclado y no extraídos de minas (Tabla 2).

En el aspecto económico, el valor comercial de los metales recuperados de las 14 baterías de ion-Li es de 0.83 USD (Tabla 3). En un ejercicio de proyección económica muy básica, tomamos los datos de reportados por el INEGI (2016), que establecen que, en México, al segundo trimestre del 2015, se estima en 77.7 millones las personas que usan teléfono celular. Ahora bien, de acuerdo a Lezama León (2017), que ratifica los cálculos de Cruz-Sotelo y col. (2013), la vida útil de los teléfonos celulares se ubica en un intervalo de 1.5 a 2 años, mientras que se aproximadamente el 60% de los usuarios hacen la renovación de equipo, de acuerdo a la estrategia de ventas que siguen las compañías de telefonía móvil. Utilizando estos datos, se realizó el cálculo cuyos resultados aparecen en la última columna de la Tabla 3, y que arroja un valor comercial de 2.8 millones de USD el contenido en los metales componentes de las baterías de ion-Li de estos equipos, estimado en base al porcentaje de recuperación logrado en este trabajo.

**Tabla 3.** Costo comercial de los metales obtenidos por reciclado de las baterías ion-litio en este trabajo y la proyección económica.

Componente	Masa (g) <sup>1</sup>	Costo comercial (USD/ton) <sup>2</sup>	Costo del producto reciclado (USD) <sup>3</sup>	Costo extrapolado al total de residuos producidos en México <sup>4</sup>
Litio	0.0800	16500.00	0.0013	4395.6
Aluminio	100.2868	1781.26	0.1787	594860.9
Cobre	28.5000	6017.90	0.1715	571128.8
Manganeso	6.3838	2060.00	0.0132	43791.4
Cobalto	13.3959	33000.00	0.4421	1472072.0
Níquel	2.2296	12016.31	0.0268	89214.8
TOTAL (USD)			0.8335	2'775,463.5

1. Calculado en base a la masa de la sal metálica recuperada de las 14 baterías de ion-Li y el contenido de cada metal puro en la sal.

2. Obtenido del sitio <https://www.metalary.com>

3. Costo calculado para 14 baterías de ion-Li

4. Se calculó que existen 46'620,000 de baterías de ion-Li en México que potencialmente pueden reciclarse. Ver texto.

Es importante mencionar que existen factores que pueden modificar, tanto al alza como a la baja, esta estimación. Por ejemplo: el costo de la infraestructura y consumibles para lograr la recuperación de metales, además del costo de lograr una recaudación 100% efectiva de equipos usados. En contraposición tenemos la posibilidad de incrementar las ganancias si se recuperan metales valiosos como el oro, plata y tierras raras, si se recicla también las tarjetas electrónicas de los celulares; aunado a esto, la demanda de baterías de iones de litio aumentará aún más: el precio del carbonato de litio subió un 47% de 2015 al 2017, y se prevé que seguirá incrementándose rápidamente. Además, se encuentra el hecho de que las baterías de ion-litio también se usan para tabletas, computadoras portátiles, otros dispositivos portátiles, y automóviles eléctricos, cuyo número seguramente aumentará.

### **Conclusiones**

Se logró recuperar 0.40% del litio, y 37.05% de otros metales en 20g de grafito del total recuperado de 14 baterías de ion-Li, todos en su forma hidroxilada, ahorrando 0.25 kg-CO<sub>2</sub> eq/Kg de emisiones. El reciclaje de baterías de ion-Li genera varios beneficios: ambiental, económico y social. En el aspecto ambiental, si extrapolamos a las baterías de ion-Li que potencialmente se pueden reciclar en México, esto nos arroja 834,701.13 kg CO<sub>2</sub>-eq/Kg de ahorro de emisiones. En el aspecto económico, el valor comercial de los metales recuperados se aproxima a 2.8 millones de USD, siendo esta la primera aproximación que se presenta hasta donde los autores pueden asegurar. En el plano social, el reciclado puede cumplir un papel adicional al de ser una fuente alterna de materias primas: el de aliviar la presión entrópica en los sitios de extracción, lo cual se traduciría, entre otras cosas, en coadyuvar a recuperar los ecosistemas y mejorar las condiciones de vida de los pobladores de los sitios donde se realiza la extracción de metales y materias primas. Además, en el contexto nacional, la generación de tecnología propia posibilita la creación de empresas, generando empleos, activando la economía y posibilitando las condiciones de independencia tecnológica, política y económica.

### **Bibliografía**

- Cruz-Sotelo S.E., Ojeda-Benítez S., Bovea Ma.D., et al. (2013). Hábitos y prácticas de consumo de teléfonos celulares en México y España. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29 (Sup. 3), 33-41.
- Gao W., Song J., Cao H., Lin X., Zhang X., Zheng X., Zhang Y., Sun Z. (2018). Selective recovery of valuable metals from spent lithium-ion batteries- Process development and kinetics evaluation. *Journal of Cleaner Production.* 178, 833-845.
- Golroudbary S.R., Calisaya-Azpilcueta D., Kraslawski A. (2019). The Life Cycle of Energy Consumption and Greenhouse Gas Emissions from Critical Minerals Recycling: Case of Lithium-ion Batteries. 26th CIRP Life Cycle Engineering (LCE) Conference. *Procedia CIRP* 80, 316–321.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) (2016). Estadísticas a propósito del día mundial del internet (17 de mayo). Disponible en el sitio [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/internet2016\\_0.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/internet2016_0.pdf)
- Lezama M., Lezama E. Strategy. (2017). Análisis del perfil del consumidor de celulares y sus hábitos de disposición. *Technology & Society.* Vol. 4, 50-66.
- Montiel-Corona V, Guevara-García J.A. Impulsando a México a una Cultura de Reciclaje, en México Contemporáneo: aspectos económicos, políticos y sociales; José Galindo (coord.) Universidad Veracruzana. Dirección Editorial. 1a edición 2018. 491 pp. ISBN 978-607-502-708-1

- Moreau V., Dos Reis P.C., Vuille F. (2019). Enough Metals? Resource Constraints to Supply a Fully Renewable Energy System. *Resources*. 8, 29; doi:10.3390/resources8010029.
- Nobel Media AB (2019). Press release. NobelPrize.org. Fri. 24 May 2019. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1977/press-release/>
- Prigogine I y Stengers I. (2004). *La nueva alianza: Metamorfosis de la ciencia*. Traducción de la nueva edición española: María Cristina Martín Sanz. Alianza Editorial. ISBN: 84-206-2368-7.
- Reddy T.B. (Editor). Linden D. (Editor Emeritus). (2011). *LINDEN'S HANDBOOK OF BATTERIES*. McGraw-Hill eBooks. New York. 1457 pp.
- Romare M., Dahllöf L. (2017). The Life Cycle Energy Consumption and Greenhouse Gas Emissions from Lithium-Ion Batteries. IVL Swedish Environmental Research Institute. ISBN 978-91-88319-60-9
- Tyrtaña L.(2009). *Evolución y Sociedad: Termodinámica de la supervivencia para una sociedad a escala humana*. Juan Pablos Editor. Universidad Autónoma Metropolitana. México. ISBN 978-607-7700-02.
- UNICEF (2012). Briefing paper No. 4. Children Working in Mines and Quarries. Evidence from West and Central Africa. Dr. Dorte Thorsen. April 2012. Disponible en: [https://www.unicef.org/wcaro/english/Briefing\\_paper\\_No\\_4\\_-\\_children\\_working\\_in\\_mines\\_and\\_quarries.pdf](https://www.unicef.org/wcaro/english/Briefing_paper_No_4_-_children_working_in_mines_and_quarries.pdf)
- Washington Post 2019a. THE COBALT PIPELINE. Tracing the path from deadly hand-dug mines in Congo to consumers' phones and laptops. Disponible en el sitio: <https://www.washingtonpost.com/graphics/business/batteries/congo-cobalt-mining-for-lithium-ion-battery/?noredirect=on>
- 2019b. TOSSED ASIDE IN THE 'WHITE GOLD' RUSH. Indigenous people are left poor as tech world takes lithium from under their feet. Disponible en el sitio: <https://www.washingtonpost.com/graphics/business/batteries/tossed-aside-in-the-lithium-rush/?tid=batteriesseriesnav>
- 2019c. IN YOUR PHONE, IN THEIR AIR. A trace of graphite is in consumer tech. In these Chinese villages, it's everywhere. Disponible en el sitio: <https://www.washingtonpost.com/graphics/business/batteries/graphite-mining-pollution-in-china/?tid=batteriesbottom>



## SÍNTESIS DEL 4-(BIS-(1H-INDOL-3-IL)METIL)-2-METOXIFENOL, CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTICARCINÓGENA MEDIANTE UN PROTOCOLO CON ACERCAMIENTO VERDE

**Juan Carlos Cañizares Margain<sup>1</sup>**, Ma. del Pilar Castañeda Arriaga<sup>1</sup>, Ma. Olivia Noguez Córdoba<sup>1</sup>, Gabriel Arturo Arroyo Razo<sup>1</sup>, René Miranda Ruvalcaba<sup>1</sup>, Roberto Arreguin Espinosa de los Monteros<sup>2</sup>, Miguel Cuevas Cruz<sup>2</sup>, Benjamín Velasco Bejarano<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM, Laboratorio de Química Verde L-122, Av. 1 de Mayo S/N Col. Sta. María las Torres, Cuautitlán Izcalli, 54740, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química-UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.

Contacto: canizaresmargain@gmail.com, qfbbevebe@gmail.com

### Resumen

Se desarrolló una metodología de síntesis basada en una reacción multicomponente con un enfoque verde, para la obtención del 4-(bis-(1*H*-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol, molécula con potencial actividad anticarcinogénica, se determinó que, a partir de una disolución de vinagre, irradiación de microondas por un tiempo de 80 minutos, a temperatura de 100 °C con una potencia de 100 Watts, es posible la obtención de la molécula de interés con un rendimiento del 80 %.

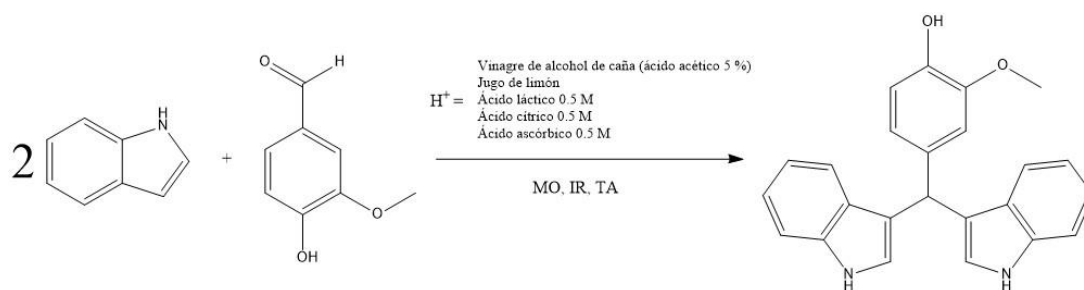
Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, mediante el proyecto PAPIME PE206119.

### Introducción

Las moléculas orgánicas conocidas como diindolilmetanos (DIMs) presentan una amplia y variada actividad farmacológica, pues se ha demostrado que poseen propiedades anticarcinógenas, antifúngicas, antimicrobianas, antibacteriales<sup>1</sup>, y recientemente se han encontrado propiedades inmunoestimulantes<sup>2</sup>. El 3,3'-diindolilmetano es el exponente más sencillo de los DIMs. Su estructura está conformada por dos moléculas indol enlazadas por medio del átomo de carbono en la posición 3 del heterociclo a un carbono sp<sup>3</sup> (de ahí el nombre de diindolilmetano). Estas moléculas están fuertemente relacionadas con la familia de vegetales crucíferos (género Brassica), tales como el brócoli, las coles de Bruselas, el repollo y la coliflor, debido a que éstos poseen la molécula indol-3-carbinol (I3C).<sup>6</sup> El I3C al estar dentro del organismo, durante el proceso de digestión, el fuerte ambiente ácido del estómago lo hace reaccionar con otras sustancias dentro de éste, transformándolo en el 3,3'-diindolilmetano<sup>4</sup>, entre otros tipos de DIMs.

La síntesis de diindolilmetanos tiene una particularidad que comparte con un listado de síntesis en específico, es una reacción multicomponente. Este tipo de procesos son los más comúnmente empleados en la Química Verde, ya que tienen una estrecha relación con varios de los principios que la conforman, destacando el principio número 2, la economía atómica. Al respecto las reacciones multicomponente son

procesos en los que tres o más componentes reaccionan entre sí, bajo condiciones de reacción constantes, para generar dos o más enlaces de tal forma, que la nueva estructura se incorpora sobre la funcionalidad introducida o generada en la etapa anterior. Por lo tanto, este tipo de reacciones tienden a dar un único producto final, construido por los componentes iniciales, pues las reacciones entre éstos se desarrollaron secuencialmente con procesos de adición o de ciclación adicionales, que aumentan en gran medida la complejidad molecular y la diversidad de los productos a obtener. El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Química Verde L-122 de la Sección de Química Orgánica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán- UNAM, en el cual se llevó a cabo la obtención del 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol mediante el desarrollo y validación de una reacción multicomponente con un acercamiento verde (Figura 1). Los reactivos empleados tanto el Indol, la Vainillina y los catalizadores ácidos son considerados en este contexto como verdes y se empleó una fuente alterna de irradiación como lo son las microondas. Adicionalmente para determinar el avance de la reacción en tiempo real se desarrolló una metodología analítica mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, empleando el tiempo de retención y su espectro de masas como indicadores, los cuales fueron determinados previamente a partir de un material de referencia.



**Figura 1.-** Metodología genera de síntesis para la obtención de 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol.

### Metodología

Reactivos, materiales y equipo: Los reactivos utilizados fueron: Indol  $\geq 99\%$ , Vainillina  $\geq 97\%$  ambos distribuidos por Sigma-Aldrich, los catalizadores ácidos empleados fueron: jugo de limón, vinagre de alcohol de caña Barrilito 5%, agua mineral Peñafiel, Lactobacillus bulgaricus, Ácido Cítrico RA  $\geq 99.5$  MERCK, Ácido Láctico RA  $\geq 85\%$  J.T. Baker y Ácido Ascórbico RA  $\geq 99.9\%$  J.T. Baker.

Para el proceso de purificación del producto de interés, se utilizó cromatografía preparativa, (placa de vidrio de 20 cm X 20 cm como soporte, recubierta con gel de sílice G/UV254 (Macherey-Nagel)). Como fuente de irradiación se empleó un microondas químico CEM Discover. Para la identificación y seguimiento de las reacciones se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies G1530N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5973 invert Mass Selective Detector y una columna cromatográfica capilar Agilent 19091B-101 Ultra 2 (fenilmetilsiloxano al 5%), longitud de 12 m y un diámetro 0.33 mm, se empleó difenilamina como estándar interno. Así mismo se sintetizó y se caracterizó espectroscópicamente el 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol para ser usado como material de referencia.

Metodología general de síntesis: En un matraz de bola se colocaron aproximadamente 0.21 mMoles de Indol y 0.16 mMoles Vainillina, y se adicionaron 5 mL del catalizador ácido a emplear (Jugo de Limón, Vinagre de caña, disolución de Ácido Láctico 0.5 M, disolución de Ácido Ascórbico 0.5 M, disolución de Ácido Cítrico 0.5 M) y se colocó un refrigerante. Posteriormente la mezcla de reacción se irradia en un microondas químico por un lapso de 60 mins. El avance de la reacción y la identificación del compuesto de interés se siguió cada 5 minutos empleando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas por medio de su tiempo de retención y su espectro de masas.

Estudio cinético: A partir de la determinación del catalizador ácido, así como de la energía de irradiación que promovió un mejor rendimiento de reacción, se procedió a determinar las condiciones óptimas de reacción para lo cual se realizó un estudio cinético empleando irradiación de microondas y se modificó la potencia, el voltaje y tiempo de irradiación.

## Resultados

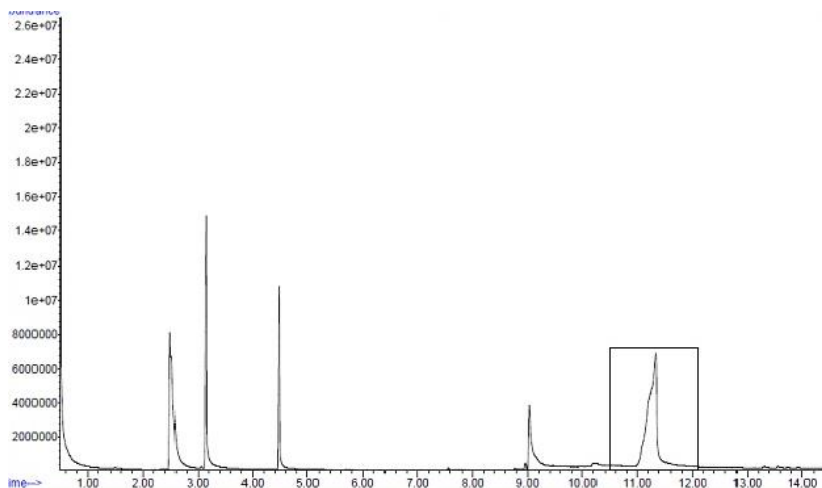
A continuación, en la Tabla 1, se presentan algunos de los resultados obtenidos del tamizaje inicial empleando diferentes catalizadores con características ácidas los cuales fueron irradiados por microondas.

Tabla 1.- Porcentaje de rendimiento obtenido mediante CG-EM empleando diferentes catalizadores ácidos.

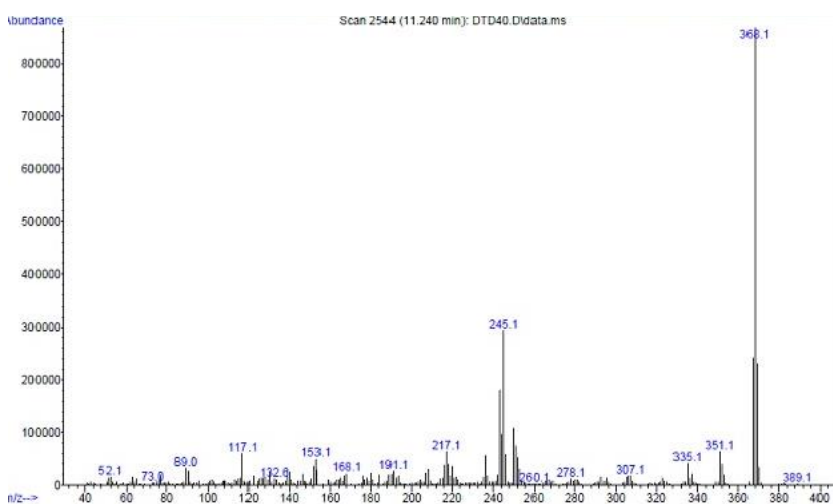
CATALIZADOR	PORCENTAJES DE RENDIMIENTO ( <i>n</i> =3)		
	MO	IR	TA
Jugo de limón	27.5	31.0	10.3
Vinagre de alcohol de caña	43.4	33.4	12.4
Ácido láctico (0.5 M)	20.6	30.5	16.1
Ácido cítrico (0.5 M)	33.4	45.2	28.3
Ácido ascórbico (0.5)	41.9	36.9	16.5

El porcentaje de rendimiento de reacción se incrementó hasta un 80%, al emplear las condiciones óptimas de reacción obtenidas del estudio cinético en donde se modularon el voltaje, la temperatura y el tiempo de irradiación.

A manera de ejemplo se presenta el cromatograma de gases (Figura 1) así como el espectro de masas (Figura 2) de la mezcla de reacción, en donde se empleó vinagre de caña como catalizador ácido e irradiación de microondas, como parte de la evaluación del avance de reacción.

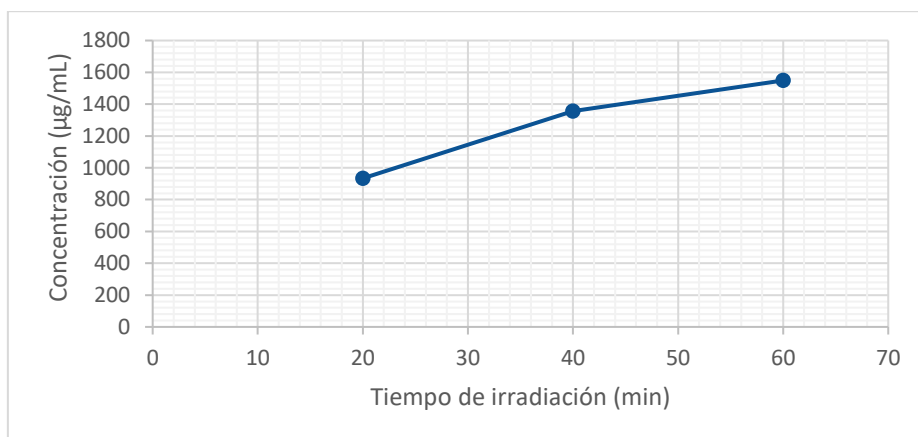


**Figura 1.-** Cromatograma de gases obtenido de la mezcla de reacción irradiada por microondas y catalizada por vinagre de alcohol de caña.



**Figura 2.-** Espectro de masas del 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol adquirido obtenido por IE del pico cromatográfico al tiempo de retención de 11.2 minutos.

Como parte del estudio cinético para determinar las condiciones óptimas de reacción para la obtención de la molécula objetivo, se presenta a continuación y a manera de ejemplo una gráfica de tiempo en minutos de irradiación de microondas vs Concentración de la molécula de interés. (Figura 3).



**Figura 3.-** Cinética de irradiación de microondas (min) vs concentración del 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol (n=3) .

El total de los resultados obtenido de este trabajo, así como una discusión más amplia de los mismos se realizará durante la presentación en el congreso.

### Conclusiones

Se desarrolló una metodología de síntesis basada en una reacción multicomponente con un enfoque verde, para la obtención del 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol, molécula con potencial anticarcinogénica, en donde se determinó que a partir de vinagre de alcohol de caña, Vainillina, Indol, así como irradiación de microondas por un tiempo de 80 minutos, temperatura de 100 °C a una potencia de 100 Watts, es posible la obtención de la molécula de interés con un rendimiento del 80 %.

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, mediante el proyecto PAPIME PE206119.

### Bibliografía

- Azizian, J., Teimouri, F. & Mohammadzadeh, M. (2007) Ammonium chloride catalyzed one-pot synthesis of diindolylmethanes under solvent-free conditions. *Catalysis communication*, 8, 1117-1121.
- Pillaiyamar, T., Dawood, M., Irum, H. & Müller C. (2018) A rapid, efficient and versatile green synthesis of 3,3'-diindolylmethanes. *Arkivoc*, 3, 1-19.
- Velasco, B., Sánchez, L., García, J., Trujillo, J., Miranda, R., Álvarez, C. & Penieres, J. (2008) Diindolylmethane derivatives as apoptosis inducers in L5178 cells. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 52, 224-228.
- Arrollo, G., Hernández, E., Martínez, J., Miranda, R., Noguez, M., Penieres, J., Rivero, C., Velasco, B., Vilchis, M. & Gómez, C. (2010) Síntesis de diindolilmetanos en Prácticas de laboratorio de química orgánica verde, 135-139. Costa Rica: Tecnológica de Costa Rica.
- Bharate, S., Bharate, J., Khan, S., Tekwani, B., Jacob, M., Mudududla, R., Yadav, R., Singh, B., Sharma, P., Maity, S., Singh, B., Khan, I. & Vishwakarma, R. (2013) Discovery of 3,3'-diindolylmethanes as potent antileishmanial agents. *European journal of medicinal chemistry*, 63, 435-443.
- Higdon, J., Delage, B., Williams, D. & Dashwood, R. (2007) Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological research*, 55, 224-236.
- Tejedor, D. & García-Tellado, F. (2011) Transformando reacciones bimoleculares en reacciones multicomponente. Del concepto al laboratorio: Reacciones ABB' quimio-diferenciantes. *Anales de química*, 107, 154-162.
- Akalai, K. (2016) Resumen en Reacciones multicomponentes en la búsqueda de nuevos fármacos, 4. Sevilla: Universidad de Sevilla.

## *Lactobacillus Bulgaricus*, UN MODELO EXPERIMENTAL VERDE PARA LA OBTENCIÓN DE MOLÉCULAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTICARCINOGÉNICA

**Damaris Saron Toral**<sup>1</sup>, Oscar F. Medellín Mejía<sup>1</sup>, Juan Carlos Cañizares Margain<sup>1</sup>, Ma. Olivia Noguez Córdova<sup>1</sup>, Raquel Gómez Pliego<sup>1</sup>, Eva Hernández Godínez<sup>1</sup>, Roberto Arreguin Espinosa de los Monteros<sup>2</sup>, Benjamín Velasco Bejarano<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM, Laboratorio de Química Verde L-122, Av. 1 de Mayo S/N Col. Sta. María las Torres, Cuautitlán Izcalli, 54740, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química-UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.

Contacto: damarisaron0902@hotmail.com, qfbbevebe@gmail.com

### Resumen

Se desarrolló una metodología de síntesis basada en una reacción multicomponente promovida por *Lactobacillus bulgaricus*, para la obtención de una familia de Diindolilmetanos, moléculas con potencial actividad anticarcinogénica. Las condiciones de reacción fueron establecidas a partir de estudios cinéticos, en donde se evaluó el efecto de la temperatura, el tiempo, pH así como cantidad de catalizador. El rendimiento del proceso promovido por *L. bulgaricus* fue de 65%.

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, mediante el proyecto PAPIME PE206119.

### Introducción

La química es una de las ciencias que ha generado un mayor número de satisfactores a la sociedad y es la que por su mal manejo ha causado los mayores daños al medio ambiente. La filosofía de la Química Verde promueve la búsqueda de alternativas que prevengan la generación o disminución de residuos dañinos al medio ambiente a la par de contar con procesos más eficientes y seguros.

En el presente trabajo en una ruta alternativa para la síntesis de moléculas con potencial actividad anticancerígena como lo son los diindolilmetanos.

El diindolilmetano (DIM) son moléculas que han demostrado tener una amplia variedad de propiedades farmacológicas entre las que se encuentran anticarcinogénicas<sup>1</sup>, inductoras de apoptosis<sup>2</sup>, antileismaniasicos<sup>3</sup>, etc y más recientemente sus derivados han sido utilizados como suplementos dietéticos, ya que ha demostrado promover el metabolismo del estrógeno en los seres humanos al convertir tanto la estrona como el estradiol en sus respectivos derivados). Existen numerosos informes que demuestran que el DIM es un inhibidor eficaz de cáncer de la próstata humana. Recientemente se demostró que el DIM y el metoxi diindolilmetano poseen potencial actividad para la eliminación de radicales asociadas con las células cancerosas. También se está estudiando una formulación patentada

altamente absorbible de diindolilmetano para la displasia cervical, el dolor de las mamas y las afecciones relacionadas con el virus del papiloma humano. Dada la enorme cantidad de aplicaciones farmacológicas que poseen este grupo de moléculas, es natural que la búsqueda de métodos alternativos<sup>4,5,6</sup> para su síntesis, sea de interés para la comunidad científica.

En este sentido uno de los principios de la Química Verde plantea el uso de catalizadores de origen natural por lo que, el utilizar *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido de reacciones es una opción viable. Lo anterior debido a la capacidad que tiene de biotransformar a la lactosa presente en la leche en ácido láctico como un producto secundario de su respiración anaerobia. Por lo que, en este trabajo se desarrolló una metodología biocatalítica para la obtención de una familia de DIM's utilizando Indol y grupo de aldehídos así como *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido.

Este trabajo se desarrolló en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM), en el laboratorio de Química Verde L-122 de la sección de Química Orgánica, bajo la dirección del Dr. Benjamin Velasco Bejarano.

### **Planteamiento del problema**

El Diindolilmetano es una molécula orgánica que presenta una amplia y variada actividad farmacológica, por lo que la búsqueda de nuevas rutas sintéticas para estas especies químicas es muy apreciada. Al respecto, se propone desarrollar una metodología analítica acorde a los principios de la Química Verde, empleando *Lactobacillus bulgaricus* como un catalizador alternativo para la síntesis de las moléculas objetivo.

### **Hipótesis**

La generación de nuevas rutas de síntesis de moléculas con potencial actividad farmacológica mediante la filosofía de la Química Verde ha sido altamente beneficiosa para la industria farmoquímica. Por lo que, si emplea *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido en una reacción multicomponente entonces se podrá obtener la familia de moléculas objetivo.

### **Objetivo general**

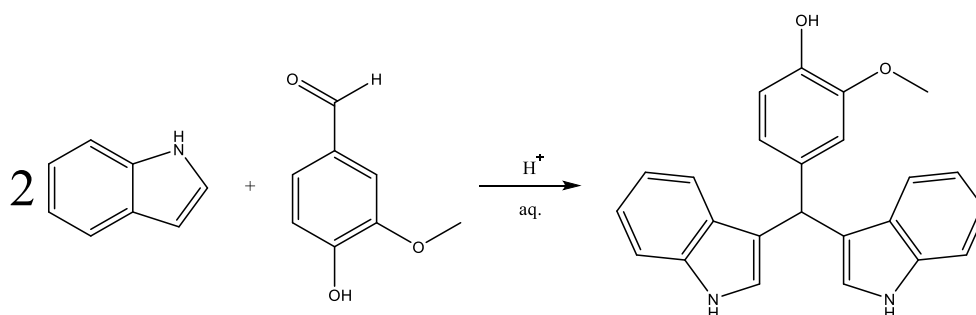
Proponer una metodología multicomponente acorde con los principios de la Química Verde, para la obtención de diindolilmetanos con potencial actividad anticarcinogénica, mediante el uso de *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido.

### **Objetivos particulares**

- Determinar las condiciones cinéticas para la obtención de una familia de diindolilmetanos empleando *Lactobacillus bulgaricus*.
- Evaluar en tiempo real el avance de la reacción.

- Determinar el rendimiento del proceso, para la obtención de las moléculas objetivo mediante el uso de *Lactobacillus bulgaricus*.
- Caracterizar por cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas el producto obtenido.
- Evaluar la viabilidad biocatalítica del uso de *L. bulgaricus*, para la obtención de diindolilmetanos.

### Metodología



**Figura 1.** Reacción general para la obtención de 4-(bis-(1H-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol.

A continuación, se presenta la metodología general empleada para la obtención de una de las moléculas de interés, así como algunos datos cromatográficos para su identificación.

1. Se pesaron 20 mg de Vainillina (RA) y 32 mg de Indol (RA) y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 25 mL con tapón.
2. Se agregaron 10 mL de una disolución de leche al 10 % en agua MilliQ y 10 gramos (peso humedo) de *Lactobacillus bulgaricus*.
3. Se colocó una barra magnética y se agito a 10 RPM durante 24 horas a temperatura ambiente, protegida de la luz. La reacción se monitoreo cada dos horas por *ccf*, utilizando una fase móvil consistente en una mezcla hexano/acetato de etilo 70:30. La placa se reveló con luz UV-Vis y vapores de I<sub>2</sub>.
4. Una vez finalizado el tiempo de reacción, se separó el sobrenadante por decantación y se agregaron 10 mL de agua MilliQ para lavar. Posteriormente la fase acuosa se colocó en un embudo de extracción y se extrajo con 10 mL de acetona (3x10 mL). Los lactobacilus empleados en la reacción se colocaron en disolución de leche al 10 % en agua MilliQ para su conservación.
5. La fase orgánica se secó Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida.
6. El extracto se purifico mediante cromatografía preparativa bajo las condiciones previamente descritas.
7. Una vez purificado el producto, se obtuvo el punto de fusión experimental y se cuantifico el rendimiento.

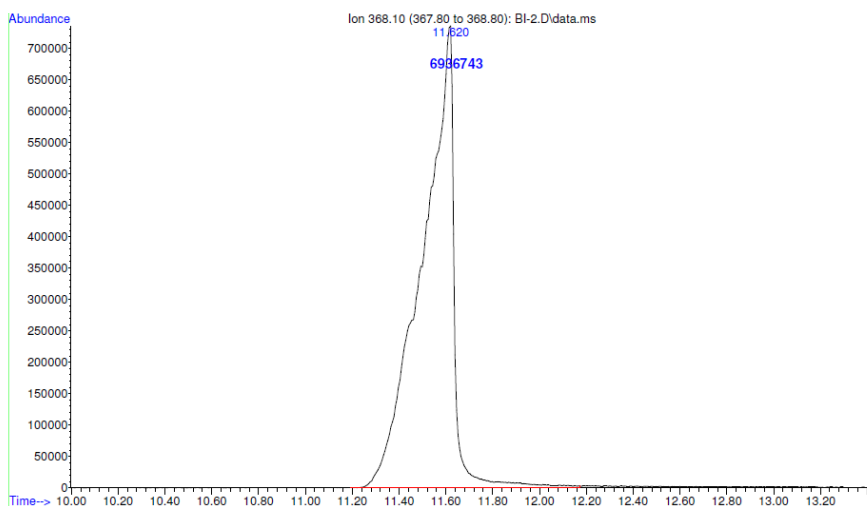


8. Mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas se determinó la pureza y se determinó el peso molecular del producto obtenido.
9. Para el proceso de purificación del producto de interés, se utilizó cromatografía preparativa, (placa de vidrio de 20 cm X 20 cm como soporte, recubierta con gel de sílice G/UV254 (Macherey-Nagel)). Para la identificación y seguimiento de las reacciones se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies G1530N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5973 invert Mass Selective Detector y una columna cromatográfica capilar Agilent 19091B-101 Ultra 2 (fenilmetilsiloxano al 5 %), longitud de 12 m y un diámetro 0.33 mm, se empleó difenilamina como estándar interno. Así mismo se sintetizó y se caracterizó espectroscópicamente el 4-(bis-(1*H*-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol para ser usado como material de referencia.
10. Esta misma metodología se siguió para la síntesis de la familia de DIM propuesta.

## Resultados

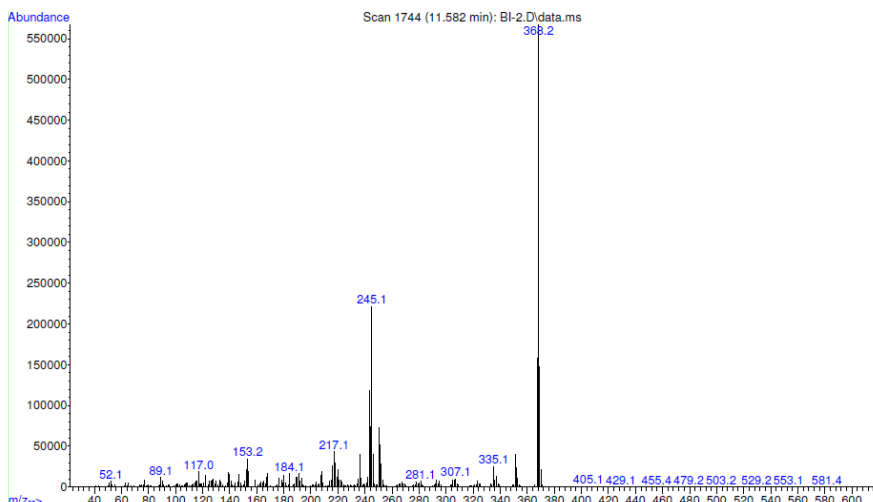
A continuación se muestran algunos de los resultados obtenidos para la obtención del 4-(bis-(1*H*-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol, empleando *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido.

En la **Figura 1**, se muestra el cromatograma del producto obtenido en donde a un tiempo de retención de 11.620 min se observa un pico asociado al compuesto objetivo, la Vanillina y el Indol aparecieron a un tiempo de retención aproximadamente de 3.2 min y 2.6 min respectivamente.



**Figura 1.-** Pico cromatográfico asociado al compuesto 4-(bis-(1*H*-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol, presente en la mezcla de reacción promovida por *L. bulgaricus*.

En la **Figura 2** se presenta el Espectro de Masas por IE obtenido del pico a 11.62 min, en donde se observa un fragmento de  $m/z$  368, que corresponde al ion molecular de 4-(bis-(1*H*-indol-3-il)metil)-2-metoxifenol.



Una discusión más amplia y detallada de todos los resultados obtenidos de este trabajo, se presentará durante el congreso.

### Conclusiones

Se desarrollo una nueva propuesta metodológica basada en los principios de la Química Verde, para la obtención de una familia de DIM, promovida por *Lactobacillus bulgaricus* como catalizador ácido. Esta metodología es fácil de implementar, no peligrosa y genera rendimientos cercanos al 65 %.

### Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero otorgado para la realización de este trabajo al proyecto PAPIME PE206119, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### Bibliografía

- 1 Higdon, J., Delage, B., Williams, D. & Dashwood, R. (2007) Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research*, 55, 224-236.
- 2 Velasco, B., Sánchez, L., García, J., Trujillo, J., Miranda, R., Álvarez, C. & Penieres, J. (2008) Diindolylmethane derivatives as apoptosis inducers in L5178 cells. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 52, 224-228.
- 3 Bharate, S., Bharate, J., Khan, S., Tekwani, B., Jacob, M., Mudududla, R., Yadav, R., Singh, B., Sharma, P., Maity, S., Singh, B., Khan, I. & Vishwakarma, R. (2013) Discovery of 3,3'-diindolylmethanes as potent antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 435-443.
- 4 Azizian, J., Teimouri, F. & Mohammadzadeh, M. (2007) Ammonium chloride catalyzed one-pot synthesis of diindolylmethanes under solvent-free conditions. *Catalysis Communication*, 8, 1117-1121.
- 5 Pillaiyamar, T., Dawood, M., Irum, H. & Müller C. (2018) A rapid, efficient and versatile green synthesis of 3,3'-diindolylmethanes. *Arkivoc*, 3, 1-19.
- 6 Arrollo, G., Hernández, E., Martínez, J., Miranda, R., Noguez, M., Penieres, J., Rivero, C., Velasco, B., Vilchis, M. & Gómez, C. (2010) Síntesis de diindolilmetanos en Prácticas de laboratorio de química orgánica verde, 135-139. Costa Rica: Tecnológica de Costa Rica.

## A NOVEL GREEN ONE-POT SYNTHESIS OF BIODIESEL FROM SEEDS USING HETEROGENEOUS DIRECT TRANSESTERIFICATION

Issis C. Romero Ibarra <sup>1\*</sup>, Gabriela E. Mijangos Zúñiga <sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria en Ingeniería y Tecnologías Avanzadas del Instituto Politécnico Nacional, Av. Instituto Politécnico Nacional 2580, La Laguna Ticomán, C.P. 07340, CDMX

\*iromero@ipn.mx

### Abstract

The production of biofuels from renewable biomass resources is an attractive way to mitigate CO<sub>2</sub> emissions and alleviate the shortage of fossil fuels. A green one-pot synthesis, heterogeneous direct transesterification, of biodiesel from biomass was evaluated. The maximum FAME yield was 99.9% at 4h of reaction time and 5wt% of Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub> catalyst. No n-hexane is required for oil extraction. Thus, methanol as a reactant and as a solvent increased the greenness of the heterogeneous process. Green Metrics Parameters of biodiesel showed that heterogeneous direct transesterification resulted in a seven times greener and ten times less hazardous synthesis compared to conventional process. Direct transesterification is a promising alternative for more sustainable biofuels production.

### Introduction

It is well known that the biodiesel is consider as sustainable alternative fuel and can be a substitute form petroleum-based diesel fuel. Due to biodiesel being a renewable, biodegradable, non-toxic, not contribute to a rise in the level of carbon dioxide in the atmosphere, sulphur-free and consequently mitigates the greenhouse gases compared to diesel fuel. Both animal and vegetable feedstocks are promising renewable alternative diesel fuels in the view of energy security and environmental protection with great potential for carbon dioxide reduction from the entire cycle of biodiesel production.

The biodiesel production from the conventional transesterification of several oils has been extensively studied, and large-scale industrial production has been achieved using homogeneous catalyst. The most widely used method for the commercial production of biodiesel from vegetable oils/fats is a base catalyzed transesterification process using KOH or NaOH as the homogeneous catalyst and MeOH. However, this conventional transesterification has drawbacks as long timespans, large amount of solvent for the oil extraction and large amount of water to neutralize the methyl esters to eliminate the catalyst, emulsions and soaps. Additionally, it causes an alkaline wastewater stream, which produces high corrosion on the equipment. Moreover, this process consists in two-steps: first, the oil extraction and then subsequently transesterification of triglycerides in presence of the catalyst.

On the other hand, the use of heterogeneous catalysts for the synthesis of biodiesel has many advantages over the homogeneous routes [1-4].

Therefore, this work reports a novel green one-pot synthesis of biodiesel from *Ricinus communis* seeds. Additionally, the influence of the heterogeneous catalyst (Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub>) on the direct (one-step process) catalytic evaluation was analyzed. In particular, the main interest in using *Ricinus communis* seeds for biodiesel production is because this oil is not suitable for human consumption.

## Experimental Section

### Materials and Methods

Sodium zirconate ( $\text{Na}_2\text{ZrO}_3$ ) was evaluated as the heterogeneous catalyst.  $\text{Na}_2\text{ZrO}_3$  was synthesized via a solid-state reaction [1]. Sodium carbonate (98 %) and zirconium oxide (powder, 5  $\mu\text{m}$ , %) were used for the catalyst preparation, and they were purchased from Alfa Aesar and Aldrich Chemical Co., respectively. Ricinus communis seeds were provided by the State of Morelos in Mexico.

The Free Fatty Acid (FFA) of the oil extracted from Ricinus communis seeds was determined by American Oil Chemists' Society - AOCS Official Method. All samples were analyzed using infrared spectroscopy (FT-IR) Perkin Elmer Frontier MIR FT-IR spectrometer fitted with a Frontier Universal Diamond/ZnSe ATR with single reflection top-plate and pressure arm. Several proton nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H-NMR}$ ) analyses were performed using a Bruker Ascend 750 spectrometer equipped with a CryoProbe at 400 MHz (1H). The chemical shifts are provided in parts per million from  $\text{SiMe}_4$  (1H) as an internal reference. The oil conversion to FAME was determined using  $^1\text{H-NMR}$  analysis. Finally, the sample spectra using electrospray coupled with mass spectrometry (ESI-MS) analysis were acquired either in the positive or negative ion mode using a microOTOF-Q II (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) instrument. Samples were injected directly to the spectrometer. Triglycerides (TAG) and FAME-related peaks were found in positive ion mode (ESI (+)-MS).

### Procedure for the direct transesterification of *Ricinus communis* seeds using heterogeneous catalysts

The seeds of *Ricinus communis* were ground and mixed with methanol directly. Then, the  $\text{Na}_2\text{ZrO}_3$  catalyst was added under vigorous magnetic stirring at 65 °C. The reaction was conducted by conventional reflux. The reaction time was evaluated by a kinetic reaction between 0.50 to 24 h. The reaction mixture was separated by filtration without more solvent or water. The products were characterized using FT-IR,  $^1\text{H-NMR}$ , and ESI-MS techniques. In addition, the yield was calculated using  $^1\text{H-NMR}$  to corroborate the value obtained and the purity quality.

$$\text{FAME yield} = \frac{\text{weight of biodiesel}}{\text{weight of oil sample}} \times 100\%$$

## Results and Discussion

### Heterogeneous Direct Transesterification Reactions

The heterogeneous direct transesterification of *Ricinus communis* seeds was performed with  $\text{Na}_2\text{ZrO}_3$  in presence of methanol. The amount of catalyst was varied between 1 and 10 % w/w (catalyst/oil weight ratio). Figure 1 shows the biodiesel produced with 1, 3, 5, 6 and 10 % w/w of the  $\text{Na}_2\text{ZrO}_3$  catalyst during 4 h at 65 °C. The conversion increased as the amount of catalyst increased from 1 to 5 % varying from 20 to ~98 %, respectively. Then, the maximum yield reached an equilibrium. The optimum catalyst amount was at 5 % w/w of catalyst and the FAME yield was ~98.5 % w/w. Polar solvents as methanol helps the

catalyst's activity to obtained high ~99 % yields. It is important to notice that these results suggest the substitution of the conventional solvents as hexane or dichloromethane by methanol to carry out the transesterification reaction. Methanol is a solvent more benign and environmentally friendly.

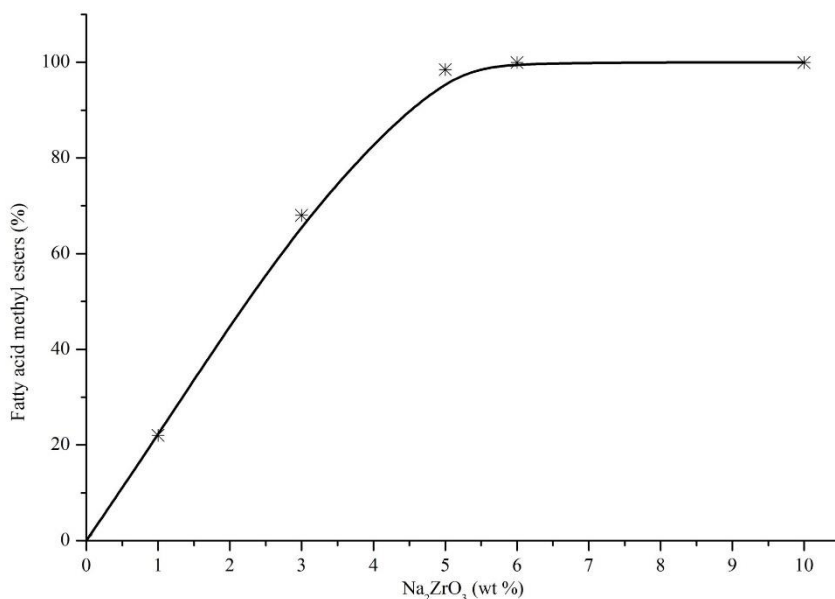


Figure 1. Direct transesterification of *Ricinus communis* seed using different catalysts ratios.

The optimum heterogeneous direct transesterification of *Ricinus communis* oil to FAME from seeds using the Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub> catalyst and methanol was characterized using the FT-IR and <sup>1</sup>H-NMR techniques (Figure 2 and 3). Figure 2 shows the infrared spectrum of the FAME. The characteristic peaks at 1200 cm<sup>-1</sup> and 1170 cm<sup>-1</sup> correspond to vibrations of the ester group C-C(=O)-O and the asymmetric stretching vibration of the O-C-C bonds. The strong peak at 1740 cm<sup>-1</sup> corresponds to the ester carbonyl bond (C=O). The stretching vibration of hydroxyl O-H bond is observed around 3445 cm<sup>-1</sup> that corresponds to the hydroxyl group of the ricinoleic methyl ester. Besides, the spectrum do not show the sodium carboxylate group characteristic of the saponification reaction.

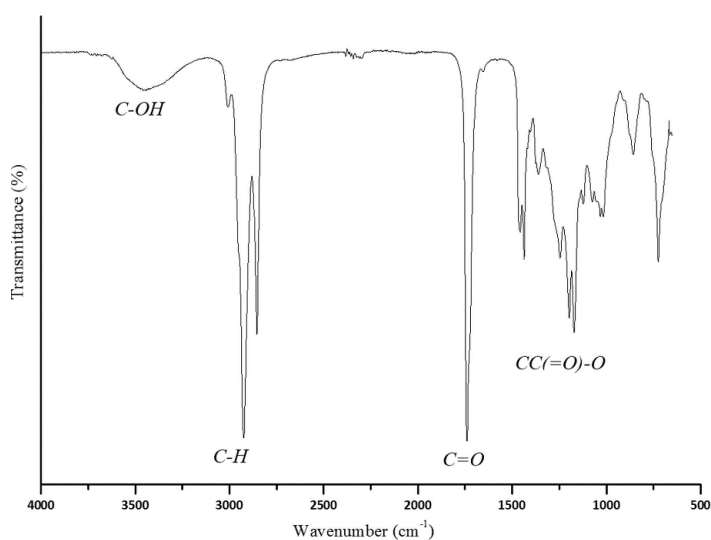


Figure 2. FT-IR spectrum of biodiesel obtained from *Ricinus communis* seeds using heterogeneous direct transesterification.

Figure 3 shows the <sup>1</sup>H-NMR spectra of the biodiesel production with the direct transesterification of *Ricinus communis* seeds catalyzed by Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub> in function of reaction time. The signals in 4.32 and 4.2 ppm of the pure *Ricinus communis* oil spectrum fits very well with previously oil characterized by <sup>1</sup>H-NMR spectra. The transformation of oil from seeds into biodiesel (FAME) could then be determined by the appearance of a signal at 3.66 ppm, corresponding to the methylenic -CH<sub>3</sub> protons, and the disappearance of the pure oil signal with the progress of the reaction as a function of time. The signal at 3.66 corresponds to the protons of CH<sub>3</sub>-O group and increases with the methyl ester formation. The shoulder is assigned to the -OH of the ricinoleic methyl ester. The reaction is completed after 4 hours to give ~99 % w/w of the FAME. According to <sup>1</sup>H-NMR quantification, the percentage conversion of triglycerides to FAME based in reaction time was ~99 % w/w. The total conversion of oil to FAME using the heterogeneous basic catalyst, is achieved to catalyst/oil concentration equal to 5 % w/w in presence of methanol as solvent.

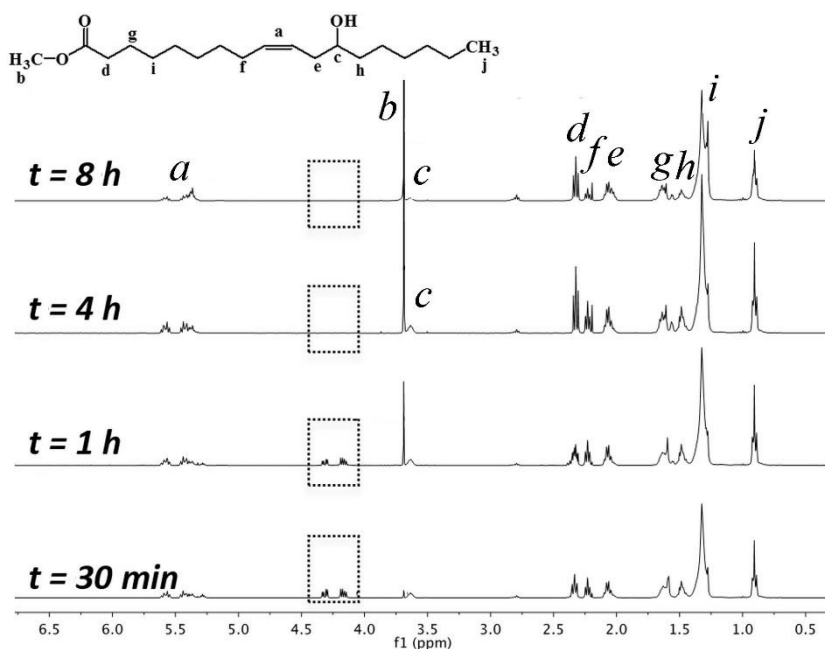


Figure 3. Kinetics of the direct transesterification of *Ricinus communis* seed catalyzed by Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub>.

Finally, the biodiesel *Ricinus communis* sample was characterized using the ESI (+)-MS. Table 1 shows the FAME profiles that corresponds to: Linoleic methyl ester ( $m/z = 317$ , C18:2), Oleic methyl ester ( $m/z = 319$ , C18:1), Stearic methyl ester ( $m/z = 321$ , C18:0), Eicosanoic methyl ester ( $m/z = 349$ , C20:0), Ricinoleic methyl ester ( $m/z = 335$ , C18:1-OH) and Dihydroxystearic methyl ester ( $m/z = 353$ , C18:0-(OH)<sub>2</sub>). The composition and yield of biodiesel *Ricinus communis* sample determined by ESI (+)-MS, indicated that main FAME was the ricinoleic methyl ester with yield of 91.5 %.

Table 1. FAME composition of biodiesel obtained from *Ricinus communis* seeds.

No.	FAME <sup>a</sup> (g/mol)	[FAME+Na] <sup>+</sup> b (m/z)	<i>Ricinus communis</i> <sup>c</sup> (%)	Fatty acid methyl ester <sup>c</sup>
1	294	317	3.30	 Linoleic methyl ester (C18:2)
2	296	319	2.50	 Oleic methyl ester (C18:1)
3	298	321	1.40	 Stearic methyl ester (C18:0)
4	326	349	0.90	 Eicosanoic methyl ester (C20:0)
5	312	335	91.50	 Ricinoleic methyl ester (C18:1)-OH
6	330	353	0.30	 Dihydroxystearic methyl ester (C18:0)-(OH) <sub>2</sub>

<sup>a</sup> Molar mass of FAME.

<sup>b</sup> FAME profiles were identified as [FAME + Na]<sup>+</sup> ions.

<sup>c</sup> Composition and yields of FAMEs.

## Conclusions

Biodiesel produced by the heterogeneous direct transesterification reaction (one-pot process) from *Ricinus communis* seeds and methanol was successfully evaluated using Na<sub>2</sub>ZrO<sub>3</sub> as heterogeneous catalyst. The maximum yield of the FAMEs was ~99.9 %, 5 wt % of catalyst and 4 h at 65 °C. The chemo-selective interaction between the catalyst, methyl esters and the methanol shows a remarkable catalytic performance, reducing the reaction time and increasing the yields. Thus, methanol as a reactant and as a solvent increased the greenness composition. Finally, the heterogeneous direct transesterification resulted in a ten times greener process compared to the conventional process. Environmental benefits are directly related to the zero demand of n -hexane or dichloromethane as solvents, which are more toxic than methanol. The methanol acts as reactant and as solvent in the reaction. Thus, heterogeneous direct transesterification is a promising alternative for cleaner, efficient and cost-effective biodiesel production.

## Acknowledgements

Financial support is greatly appreciated from the SIP-IPN Project 20196708, “Red Temática de Almacenamiento de Energía no. 279966 - CONACyT” and SECITI-CDMX project. Authors are grateful to Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnología del Instituto Politécnico Nacional (IPN) for their assistance in ESI-MS and 1H-NMR analyses.

## References

- [1] N. Santiago-Torres, I. C. Romero-Ibarra, H. Pfeiffer, Fuel Process Technol., 120 (2014) 34.
- [2] D.A. Torres-Rodríguez, I. C. Romero-Ibarra, I. Ibarra, H. Pfeiffer, Renewable Energy 93 (2016) 323.
- [3] A. Martínez, G. E. Mijangos, I. C. Romero-Ibarra, R. Hernández-Altamirano, V. Y. Mena-Cervantes, Fuel 235 (2019) 277.
- [4] A. Martínez, G. E. Mijangos, I. C. Romero-Ibarra, R. Hernández-Altamirano, V. Y. Mena-Cervantes, S. Gutiérrez, Journal of Cleaner Production 196 (2018) 340.