



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
Mérida - Venezuela

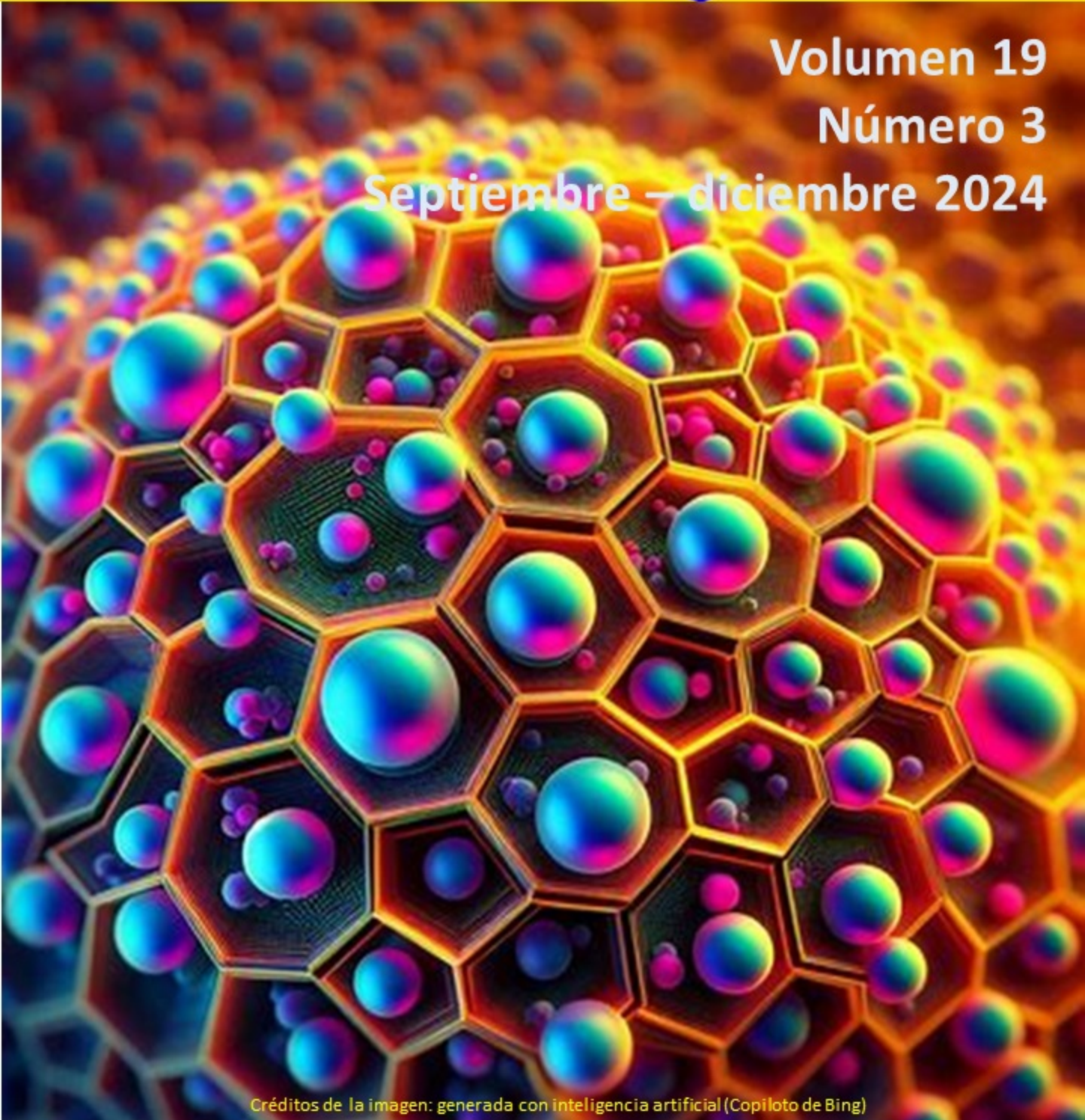
ISSN: 1856-5301

Avances en Química

Volumen 19

Número 3

Septiembre – diciembre 2024



Créditos de la imagen: generada con inteligencia artificial (Copiloto de Bing)



Avances en Química

Contenido

Volumen 19, número 3, Cuatrimestres septiembre – diciembre 2024

Página

Artículos científicos

Evaluación del proceso de oxidación avanzada Fenton homogéneo para el tratamiento del efluente (licor negro) de una empresa papelera	85
Josimar Reyes, Guillermo Centeno-Bordones*	Venezuela
Estudio cristalográfico de sales oxalato de aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos	95
Yennifer Leal, Luciana Caringi, Asiló J. Mora, Teresa González, Gerzon E. Delgado*	Venezuela
Desarrollo de metodología para la determinación de mercurio en suelos afectados por la actividad minera en las minas inactivas de El Arenal y Puente Roto, del Estado Bolívar, Venezuela	101
Fernando Méndez Pereira*, Carlos Rondón, Carlos Ayala Montilla, Jorge Manrique, Luisana Miliari, Antonella Baldeón	Ecuador
A synthetic approach toward symmetrically substituted 1,4-bis(cinnamyl)piperazines	109
Gheorghe Roman*, Mihaela Balan-Porcărașu	Romania

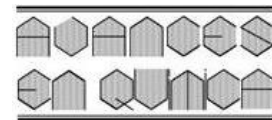
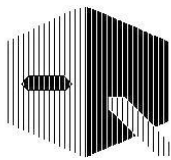
Avances en Química

Consejo Editorial

Comité Editorial	Editor Jefe
Dra. Marcela Pascu de Burguera, pascu@ula.ve Dr. Issa Katime, issakatime@ehu.es Dr. Wilmer Olivares, wilmer@ula.ve Dr. Jairo Márquez, jamar@ula.ve Dr. Enrique Millán Barrios, ejmb@ula.ve	Dr. Cristóbal Lárez Velásquez, clarez@ula.ve

Consejo de Editores por Área

Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas	Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas
Análítica	Froylan Contreras	fcontrer@ula.ve	Productos Naturales	Juan M. Amaro	jamaro@ula.ve
	Alexis Zambrano	alexisz@ula.ve		Carmelo Rosquete	carmelor@ula.ve
Electroquímica	Enrique Millán B.	ejmb@ula.ve	Cinética y Catálisis	Freddy Imbert	imberty@ula.ve
	Yris Martínez	ymartin@ula.ve		Pedro Rodríguez	pedrojrs@ula.ve
Orgánica	Alí Bahsas	bahsas@ula.ve	Química Ecológica	María P. Calcagno	mariapia@ula.ve
	Andrés Abad	abadjos@ula.ve		Alberto Oliveros	aloliver@ula.ve
Polímeros	Hugo Martínez P.	hmartin@ula.ve	Espectroscopia Analítica	Xiomara de Navarro	roxio@ula.ve
	Cristóbal Lárez V.	clarez@ula.ve		María A. Sánchez	angelisa@ula.ve
Inorgánica y Organometálicos	Bernardo Fontal	fontal@ula.ve	Espectroscopia Molecular	Pablo Carrero	pcarrero@ula.ve
	Ricardo Contreras	ricardo@ula.ve		Carlos Rondón	crondon@ula.ve
Química Teórica	Wilmer Olivares	wilmer@ula.ve	Cristalografía	Graciela Díaz	diaz@ula.ve
	Luis Rincón	lrincon@ula.ve		Gerzon Delgado	gerzon@ula.ve
Farmacia	Alfredo Usubillaga	usubilla@ula.ve			
	Sabino Menolasina	sabino@ula.ve			



Evaluación del proceso de oxidación avanzada Fenton homogéneo para el tratamiento del efluente (licor negro) de una empresa papelera

Josimar Reyes¹, Guillermo Centeno-Bordones^{2*}

¹) Analista de gestión de la calidad de la Industria Papeles Venezolanos, Valencia, Venezuela.

²) Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela.

(*) gcenteno1@uc.edu.ve; centeno.guillermo@gmail.com

Recibido: 05/07/2024

Revisado: 12/09/2024

Aceptado: 20/09/2024

Resumen

Se estudió la aplicación del método Fenton homogéneo para el tratamiento del efluente licor negro de una industria papelera, con la finalidad de mejorar las condiciones fisicoquímicas de descarga. Se aplicó para ello la reacción Fenton mediante un diseño de experimentos factorial 2² con tres replicas. Luego del tratamiento se obtuvo una reducción en las variables de contaminación de 99,86% para el color, 91,84% para la DQO y la DBO 86,67%. Los resultados mostraron la eficiencia que tienen los procesos de oxidación avanzada para la reducción de contaminación de los efluentes complejos de la industria papelera.

Palabras claves: oxidación avanzada; efluentes papeleros; lignina; Fenton; diseño de experimentos

Abstract

Evaluation of the homogeneous Fenton advanced oxidation process for the treatment of the effluent (black liquor) of a paper company. The application of the Homogeneous Fenton method was studied for the treatment of black liquor effluent from a paper industry, with the aim of improving the physicochemical discharge conditions. For this purpose, the Fenton reaction was applied through a factorial 2² design of experiments with three replications. After treatment, a reduction in the contamination variables of 99.86% for color, 91.84% for COD and 86.67% for BOD was obtained. The results show the efficiency of advanced oxidation processes in reducing pollution of complex effluents from the paper industry.

Keywords: Advanced oxidation; Paper effluents; Lignin; Fenton; Design of experiments

Introducción

El desarrollo de la industria ha marcado un importante impacto en el equilibrio de los ecosistemas, puesto que cada proceso implica un deterioro del medio ambiente, como es el caso de las fuentes de agua (ríos, acuíferos, lagos, mares, entre otros) los cuales han sido incapaces por sí mismos de absorber y neutralizar la carga contaminante que reciben constantemente, por ello han perdido sus condiciones naturales de apariencia física y su capacidad para sustentar una vida acuática que responda al equilibrio ecológico que de ellas se espera para preservar los cuerpos de agua¹.

Las aguas de desecho industrial dispuestas en una corriente superficial sin ningún tratamiento ocasionan graves inconvenientes de contaminación que afectan la flora y la fauna¹. Estas aguas residuales, antes de ser vertidas en las masas receptoras, deben recibir un tratamiento adecuado, capaz de modificar sus condiciones bio-fisicoquímicas, para evitar que su disposición cause los problemas antes mencionados. Es por ello, que el grado de tratamiento requerido para las aguas residuales debe responder a las condiciones que tengan los receptores para el vertido, así como la proveniencia de los efluentes a descartar.

De acuerdo con el Decreto N° 883 del estado venezolano², según los constituyentes del efluente que se genera en una empresa papelera corresponden a aguas del Grupo II: sustancias o parámetros que aun cuando no se conozca su efecto tóxico, agudo o crónico, generan condiciones en el cuerpo receptor que afectan la biota o perjudican cualquier uso potencial de sus aguas². Por otro lado, teniendo en cuenta que el vertido del efluente se realiza en las inmediaciones del lago de Valencia, se deben cumplir con los límites establecidos en el Decreto Nacional N° 3219, donde se describen las condiciones bio-fisicoquímicas de los efluentes vertidos por las industrias en dicho lago.

La industria papelera se caracteriza por consumir grandes cantidades de agua para la producción de pulpa y papel, la cual debe ser de calidad. Según el tipo de pulpeo y blanqueo con el que trabaje una planta papelera, los efluentes generados tienen un alto contenido de contaminantes, entre los cuales se pueden mencionar: compuestos con alto peso molecular (lignina), compuesto ácidos (grasos, aromáticos, resinas, entre otros), y compuestos fenólicos³. Específicamente, el contaminante principal de las aguas residuales es la lignina, causante del color marrón oscuro característico de los efluentes producidos por las

plantas de pulpa. Por otro lado, se tienen otros contaminantes originados a partir de la materia prima usada en planta de desintado (papel reciclado), debido a que ésta contiene las sustancias asociadas al ciclo de vida útil del papel, como: tintas, adhesivos, arenas, entre otros. Así mismo, los aditivos que se utilizan para el tratamiento de la pulpa se vuelven contaminantes cuando se introducen nuevamente al proceso mediante las fibras recicladas⁴. Este problema de contaminación ha predominado desde hace mucho tiempo en la empresa papelera nacional. Es por ello que, con la finalidad de solventar dicha situación, se han buscado diferentes métodos que ayuden a disminuir la materia orgánica contaminante.

En la actualidad, una de las técnicas más versátiles aplicadas para el tratamiento de aguas residuales es la reacción Fenton, el cual es un proceso de oxidación avanzada donde el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) reacciona con una sal divalente de hierro (sulfato ferroso heptahidratado) (catalizador) para generar el radical hidroxilo ($OH\bullet$), que por su alto potencial de oxidación ($E^\circ = 2,80V$) es capaz de degradar la materia orgánica presente⁵.

Desde el punto de vista de impacto ambiental, la industria de pulpa y papel se encuentra en una situación paradójica. Por un lado, sus productos cumplen la mayoría de los criterios ambientales de los productos manufacturados, ya que se producen con materias primas recicladas (papel recuperado) y renovables (madera); además son biodegradables, en gran medida reciclables y pueden destruirse sin demasiados efectos adversos. Pero, por otra parte, dicha industria es una gran consumidora de agua y energía, que emplea productos químicos nocivos, contribuyendo significativamente a la contaminación del aire y del agua⁶.

Es por ello, que esta investigación tiene gran relevancia a nivel ambiental, ya que se estudiará la factibilidad de la aplicación de un método que logre reducir la mayor parte de la materia orgánica contaminante que contienen los efluentes complejos de la empresa papelera nacional, que sea sustentable económicamente en el tiempo. Consiguiendo así, una mejora en la calidad de lo vertido de las aguas en las inmediaciones del lago de Valencia.

De acuerdo con el Decreto N° 3219 del 13 de enero de 1999, publicado en la Gaceta Oficial N° 5305 del mismo año, el cual contiene las Normas para la clasificación y el control de la calidad de las aguas de la cuenca del lago de Valencia⁷, el vertido de las aguas que son depositadas en éste debe cumplir ciertos parámetros para garantizar una vida acuática sustentable. Actualmente, en la empresa se estima que este fuera de norma en varios de esos parámetros, entre los más relevantes tenemos la Demanda Química de Oxígeno (DQO), siendo su límite permitido 350mgO₂/L, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) 60mgO₂/L, Nitrógeno (10mgN/L), Fósforo (1mgP/L), sólidos suspendidos (80mg/L) y sólidos sedimentables (1mL/L)⁷.

La producción de pulpa y papel se obtiene a partir de fibras de celulosa extraída de materias primas como la madera, o del mismo papel ya fabricado. Para entender de dónde provienen

los contaminantes del efluente residual de la industria papelera, es importante conocer los componentes que constituyen la madera principalmente, ya que es a partir de su procesamiento que se originan las cargas contaminantes más elevadas y de mayor impacto ambiental.

La madera está constituida por polímeros como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, además de compuestos extraíbles, representados como grasas, aceites, terpenoides, resinas, entre otros⁶. Los primeros dos polímeros son los que se necesitan para producir la pulpa de papel. Mientras que la lignina, agente cementante que le da rigidez a la madera, es el contaminante con mayor concentración que se encuentra en el efluente residual, la cual se extrae en el proceso de blanqueo debido a su coloración marrón característico⁸.

La lignina es un residuo químico del proceso de manufactura que se une a los lixiviados de cada parte del proceso, conformando los componentes principales del llamado licor negro. Este es el desecho más característico generado en la industria papelera, producido específicamente en plantas de pulpa, los cuales presentan problemas en cuanto a tratamiento y vertido, ya que son cantidades considerables de licores que no son recuperables, presentan una intensa coloración marrón, tienen una alta temperatura y disminuyen el oxígeno disuelto debido a la materia orgánica que contienen. Por lo cual son difíciles de degradar químicamente, ocasionando un deterioro en los cuerpos de aguas donde son descargados y provocando así la disminución de la vida acuática. También, se encuentran en este tipo de efluentes extractivos, ácidos resínicos e incluso pequeñas concentraciones de metales procedentes de la madera almacenada, compuestos nitrogenados y fosforados⁹.

Los desechos líquidos generados por las pulpas procedentes del papel recuperado dependen en gran medida de la materia prima con la que se está trabajando, debido a que es la principal fuente de contaminación en este tipo de proceso. El papel luego de ser fabricado y que haya cumplido con su tiempo de vida útil, tiene ciertas sustancias adheridas a él que es necesario separarlas, es de allí que se derivan todos los contaminantes, además de los propios usados en el proceso de manufactura. Aunque no son tan significativos como los producidos por planta de pulpa, también tiene gran efecto a nivel ambiental¹⁰.

El contenido contaminante de las aguas residuales que producen las industrias es una de las fuentes que causa mayor preocupación, puesto que, es responsabilidad de éstas contribuir con el equilibrio de los ecosistemas y garantizar el cumplimiento de ciertas normas y seguimientos necesarios para realizar el vertido en diferentes cuerpos de agua. De ahí, se originan diversas investigaciones en torno al tratamiento de efluentes industriales. Entre los más relevantes se encuentran los Procesos de Oxidación Avanzados (PAO's), los cuales implican la oxidación provocada con peróxido de hidrógeno u ozono, en presencia de catalizadores como: radiación UV, oxígeno y/o metales de transición como el hierro. En tal sentido, se describen a continuación algunos trabajos que hacen referencia al tratamiento de

aguas residuales industriales empleando la reacción Fenton.

En el 2020, Centeno-Bordones *et al.*¹¹ realizaron un diseño de experimento factorial 2³, aplicando una reacción Fenton heterogénea, donde los iones de hierro requeridos para la reacción provienen de lodos rojos, además éstos, cuenta con la presencia de titanio, el cual ayuda en la fotocatalisis. Los factores considerados fueron: (A) Cantidad de lodo rojo salmuera (g/L), (B) Cantidad de peróxido de hidrógeno (g/L) y (C) Ajuste de pH. En cuanto a la metodología, construyeron un sistema reactor Bach donde trataron 100mL de fenol con una concentración de 2000 ppm en un tiempo de reacción de 4 horas. Según los resultados obtenidos, el mejor tratamiento fue con 6g/L de catalizador y 27g/L de H₂O₂ a pH = 2, con lo cual alcanzaron un 94,16% y un 99,17% de reducción de DQO y fenol respectivamente. Con la técnica HPLC identificaron que los productos generados fueron ácido oxálico y ácido fórmico. Esta investigación aporta información relevante en cuanto a la relación DQO: H₂O₂ con la que se debe trabajar para establecer la dosis de peróxido de hidrógeno.

Por su parte, Figueroa *et al.*¹² tomaron una muestra compuesta de agua residual antes de su tratamiento, con ésta evaluaron diferentes dosis de aplicación y observaron que con una dosificación de 5 ppm de sulfato ferroso y 33,3 ppm de peróxido de hidrógeno alcanzaban la mejor reducción de los parámetros estudiados, en este caso: color (99,18%), Turbidez (99,91%) y DQO (98,55%). Este estudio da un gran aporte para la presente investigación, ya que proporciona una metodología que puede ser aplicada al tratamiento del efluente residual de una empresa papelera.

El presente trabajo está dirigido a evaluar la aplicación del proceso de oxidación avanzada Fenton homogéneo como alternativa para el tratamiento del efluente licor negro proveniente de la planta de pulpa de una empresa papelera nacional.

Materiales y métodos

Reactivos

En la tabla 1 se muestran los reactivos que se emplearon para la aplicación del proceso de oxidación, y el estudio de su efecto sobre el efluente licor negro de una empresa papelera nacional.

Equipos

En la tabla 2 se presentan los equipos necesarios para dar cumplimiento a la aplicación de la reacción Fenton y su posterior análisis, tanto a nivel de laboratorio, como a escala industrial.

Caracterización fisicoquímica del efluente

La caracterización, se realizó la determinación de los parámetros mostrados en la tabla 3, siguiendo como referencia los procedimientos descritos¹³, cuyos códigos se enlistan para cada parámetro.

Del mismo modo, la temperatura es otro de los parámetros considerado para caracterizar el efluente, el cual se midió inmediatamente al tomar la muestra. Los procedimientos seleccionados

Tabla 1. Reactivos necesarios para la aplicación del proceso de oxidación utilizando la reacción Fenton y para la determinación de los parámetros con que se caracterizará el efluente.

Reactivos	Grados químicos	Marca	Pureza (%)	Uso
Ácido sulfúrico	Analítico	Fermont	97,1	DQO y Fosforo
	Industrial	-	92,0	Reacción Fenton
Ácido nítrico	Analítico	Merck	65,0	Fosforo
Cloruro de amonio	Analítico	Allied chemical	99,8	DBO
Cloruro de calcio	Analítico	Allied chemical	93,8	DBO
Cloruro de hierro III	Analítico	Analab	99,0	DBO
Dicromato de potasio	Analítico	J.T Baker	99,9	DQO
Ftalato ácido de potasio	Analítico	Allied chemical	99,5	DQO
Fenoltaleína	Analítico	Labar	-	Fosforo
Fosfato dibásico de sodio	Analítico	Allied chemical	99,5	DBO
Fosfato monobásico de sodio	Analítico	Allied chemical	99,0	DBO
Hidróxido de sodio	Analítico	Allied chemical	99,0	fosfato
Peróxido de hierro	Industrial	-	60,0	Reacción Fenton
Soda caustica	Industrial	-	60,0	Reacción Fenton
Sulfato de hierro II heptahidratado	Analítico	Fermont	99,9	Reacción Fenton
Sulfato de magnesio	Analítico	Riedel de Haen	99,0	DBO
Sulfato de mercurio	Analítico	Riedel de Haen	98,0	DQO
Sulfato de plata	Analítico	Riedel de Haen	99,5	DQO
Clorhidrato de <u>hidroxilamina</u>	Analítico	J.T Baker	99,0	Hierro total

Tabla 2. Equipos empleados en la aplicación y análisis del proceso de oxidación avanzada.

Equipos	Marca	Modelo
Balanza analítica	OHAUS	AR2140
Bomba de vacío	McEd (1/4 HP)	2Z-1-5C
Espectrofotómetro	HACH	DR2800
Estufa	Memmert	781 382
Digestor	HACH	45600-00 COD
Medidor portátil y sonda de oxígeno disuelto (LOD)	HACH	HQ20d LDBO101
pH-metro	OHAUS	Starter 2100
Plancha de calentamiento	Fisher Scientific	11-500-125H

Tabla 3. Parámetros considerados para la caracterización del efluente licor negro

Ensayo	Código del método
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	2120 C
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	5210 B
Fosforo Total	4500-PB y 4500-PE
pH	4500 H
Solidos Sedimentables (SS)	2540 F
Solidos Suspendidos Totales (SST)	2540 D

para medir cada uno de los parámetros anteriormente expuestos, se basan en lo siguiente:

Color: se determinó por espectrofotometría a una longitud de onda de 455nm, expresada en términos de unidades de Platino-Cobalto (Pt/Co), para lo cual se pasó la muestra a evaluar a través de un filtro de microfibra de vidrio, eliminando así las partículas suspendidas y coloidales que interfieren con el color real del agua.

DBO: el método consistió en inocular una muestra con agua diluida en una botella hermética e incubarla a 20°C durante 5

días. El oxígeno disuelto (OD) se midió antes y después de la incubación, y la DBO fue obtenida mediante la diferencia entre el OD inicial y final, el cual se determinó por un método luminiscente con una sonda y/o sensor medidor de oxígeno disuelto, expresando la DBO resultante en términos de mg O₂/L.

DQO: se determinó por colorimetría sometiendo inicialmente la muestra a una digestión por sistema de reacción a reflujo cerrado, en solución fuertemente ácida con un exceso de dicromato de potasio, durante 2 horas a 150°C. Una vez culminado el tiempo de reacción, se dejó reposar hasta temperatura ambiente, y se midió la absorbancia resultante a una longitud de onda de 600nm. La DQO se calculó mediante una curva de calibración de soluciones estándar de ftalato de potasio y se expresó en mg O₂/L.

Fósforo total: en primer lugar, se realizó la digestión de la muestra con ácido sulfúrico y ácido nítrico, para hidrolizar el fósforo presente a ortofosfato disuelto. Seguidamente, se determinó por colorimetría la concentración del ortofosfato disuelto a una longitud de onda de 880nm, mediante la reacción entre molibdato de amonio y tartrato de antimonio y potasio en medio ácido, que formó un heteropoliácido – ácido fosfomolibdico – que es reducido a un complejo de molibdeno de color azul intenso por acción del ácido ascórbico. El fósforo total se calculó mediante una curva de calibración de soluciones estándar de fosfato monobásico de potasio y se expresó en términos de mg P/L.

pH: fue medido directamente con un pH-metro, mediante el uso de un electrodo de Plata-Cloruro de plata.

Sólidos sedimentables: para su determinación se tomó un litro de muestra bien homogenizada y se vertió en un cono Imhoff, se dejó sedimentar durante una hora, se observó el volumen ocupado por los sólidos sedimentados, y se expresó finalmente en ml/L.

Sólidos suspendidos totales: la muestra bien homogenizada se filtró a través de un filtro estándar (Whatman N°40) previamente pesado y el residuo depositado en él se secó a 105°C hasta un peso constante. El aumento de peso del filtro representó el total de sólidos suspendidos, donde la unidad de medida resultante fue en partes por millón (ppm).

Una vez culminada la caracterización de cada muestra, cumpliendo los procedimientos descritos anteriormente, se expresaron los resultados de cada parámetro en función del promedio de las réplicas y su respectiva desviación estándar ($\bar{x} \pm Sx$), a partir del cual se determinaron los datos con los que se delimitaron los valores de los factores en estudio del diseño de experimento a ejecutar.

Diseño experimental

Se aplicó un diseño de experimento factorial 2² con tres réplicas, donde los dos factores que intervienen en el estudio son la dosis de peróxido de hidrógeno (factor 1) y la relación H₂O₂/Fe²⁺ (factor 2), los cuales se trabajaron con dos niveles (1,

-1), (ver tabla 4), manteniendo la temperatura, el pH y el tiempo de reacción constantes, ya que son variables que influyen en el desarrollo de la reacción Fenton, pero no se pueden modificar a escala industrial.

Tabla 4. Factores experimentales niveles y códigos

Factor	Código y nivel
A: Cantidad de peróxido al 30%	1 (81,8 g/L) -1 (67,7 g/L)
B: Relación peróxido/catalizador	1 (1:0,08) -1 (1:0,06)
Variables de respuestas	DQO DBO Color

Para mantener constantes dichos valores en los tratamientos a nivel de laboratorio, el procedimiento de la reacción de oxidación Fenton fue el siguiente: se trató inicialmente la muestra con ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado industrial hasta llegar a un pH=3 medido con un pH-metro, seguidamente se filtró la muestra por una malla de MESH 200 para separar los sólidos de fibras y astillas remanentes en el efluente, posteriormente se aplicaron los reactivos necesarios para llevar a cabo la reacción de Fenton con H₂O₂ al 30% como agente oxidante y sulfato ferroso heptahidratado que es el catalizador homogéneo (Fe²⁺), se agitaron para mezclarlo y se dejó reaccionar en reposo dentro de un baño termostataado a 55 °C durante tres horas, al finalizar la reacción se llevó a un pH de aproximadamente 8 con soda cáustica.

Una vez realizada la evaluación de las 12 corridas experimentales (ver tabla 5), se evaluaron cada uno estadísticamente mediante el uso del programa Statgraphics Centurion 16, versión libre. En el caso de la DQO, partiendo del promedio y sus límites de confianza (a un 95%), se definieron las dosis de peróxido de hidrógeno se obtiene por estequiometría la cantidad de DQO (ver tabla 4). Así mismo, tomando como referencia lo expuesto por Centeno-Bordones *et al.*¹¹. La caracterización del licor negro oxidado se realizó mediante la determinación de los siguientes parámetros (variables respuesta): color, DQO y DBO, los cuales indican el grado de contaminación del efluente tratado.

Adicionalmente, se determinó la concentración remanente tanto de peróxido de hidrógeno, así como de hierro, ya que éste último es un parámetro considerado por el Decreto N° 3219 para las descargas de efluentes en el lago de Valencia. Para ello, se realizaron los siguientes procedimientos:

- Peróxido de hidrógeno: Se determinó mediante el método de Yodometría indirecta, la cual consistió en titular la muestra con tiosulfato de sodio, a la cual previamente se le agrega ácido sulfúrico y yoduro de potasio, una vez alcanzado un color amarillo se agrega almidón (indicador) y se continuó la titulación hasta obtener un color transparente.
- Hierro total: Su metodología consistió en generar un complejo rojo-naranja con la 1,10-Fenantrolina, para ello se trata la muestra de manera tal que todo el hierro presente quede en su

Tabla 5.- Matriz de diseño experimental 2² con tres réplicas aleatorizadas para la aplicación de la reacción Fenton.

Corridas experimentales	Código de la dosis de peróxido de hidrógeno al 30%	Código de la dosis de peróxido de hidrógeno/catalizador
A1	-1	-1
B1	-1	1
C1	1	-1
D1	1	1
A2	-1	-1
B2	-1	1
C2	1	-1
D2	1	1
A3	-1	-1
B3	-1	1
C3	1	-1
D3	1	1

Los factores experimentales fijos son: pH = 3, Temperatura = 55 °C, Tiempo de reacción = 3h

forma ferrosa (Fe²⁺) por acción de la hidroxilamina en medio ácido (buffer).

Resultados y discusión

Las evaluaciones del efluente respecto a la frecuencia de muestreo junto con el promedio de cada parámetro pueden observarse en la tabla 6.

De acuerdo con los valores obtenidos, se evidencia una elevada desviación estándar para cada parámetro. Esto se debe a las continuas fluctuaciones en las condiciones de operatividad de planta de pulpa y la materia prima empleada. En el caso del parámetro color, esta observación se hace mucho más evidente.

Se demuestra que las variables estudiadas sobrepasan los límites permisibles por la norma venezolana de aguas, Decreto N° 883², específicamente el Decreto N° 3219⁷, que establece las condiciones de descargas para efluentes en el lago de Valencia. La demanda química de oxígeno (DQO) nos proporciona información sobre la concentración de contaminantes presentes en el agua que son susceptibles de ser oxidados. Por otro lado, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) nos indica los contaminantes que pueden ser biodegradados, pero no necesariamente todos los que pueden ser oxidados, como afirma Centeno-Bordones *et al.*, 2021¹⁴. En el caso de las muestras de aguas analizadas se observa en la tabla 6 que los valores de DQO son 20 veces superiores a los permitidos por los organismos gubernamentales para la descarga por tuberías. De la misma manera se observa que la DBO presenta un valor promedio que se encuentra 15,6 veces superior a lo permitido por la normativa venezolana expuesta. Igualmente, los valores de color que se determinaron en las muestras es uno de los datos preocupantes en la caracterización, debido a que el color es que la característica principal de este efluente industrial, por lo tanto, es de esperarse que la cantidad de color sea alta en los efluentes papeleros, de-

bido a los componentes principales del licor negro¹⁵. El valor determinado de este parámetro se incrementó en un 51,5 veces los valores permitidos por las normas reguladoras. La cantidad de sólidos suspendidos en las muestras del efluente son también un factor para tomar en cuenta en la caracterización del efluente debido a que los valores detectados son superiores a los requeridos por la normativa y hace referencia al material particulado que se mantiene en suspensión en las corrientes de agua residual siendo este un parámetro que puede intervenir en los procesos catalíticos homogéneos como son la oxidación avanzada utilizando la reacción de Fenton. Y es que los sólidos suspendidos pueden afectar negativamente la catálisis homogénea al bloquear la superficie catalítica, dificultar la difusión de los reactivos y absorber los reactivos, lo que reduce la eficiencia global de la catálisis¹⁶⁻¹⁸.

Evaluación de la reacción Fenton mediante el diseño de experimento

El color tuvo un porcentaje máximo de remoción del 99,86% en la primera réplica en el punto de diseño C1 como se observa en la tabla 7. Por su parte, la DQO tuvo 91,84% en la segunda réplica y la DBO 86,67% igualmente en la segunda réplica en el punto C2 (Figura 1), superando los valores obtenidos por diferentes autores para estos parámetros¹⁹⁻²². Esto evidencia que la reacción de oxidación avanzada por reacción Fenton homogénea es una alternativa de tratamiento efectivo al efluente licor negro de la planta de pulpa de papel, ya que la oxidación generada por los radicales hidroxilos rompe las cadenas fenólicas correspondientes a la estructura de la lignina (componente principal del efluente), reduciendo su característica contaminante.

Por su parte, es importante tener en cuenta el remanente de hierro total obtenido al finalizar la reacción Fenton, ya que éste es un parámetro de control dispuesto en el Decreto N° 3219⁷, el cual expone que el límite máximo permisible es de 10 mg/L. De acuerdo con la tabla 7, en la mayoría de los tratamientos se obtuvieron remanentes por debajo del límite permitido por las normas venezolanas, lo que indica que, en la última etapa del proceso, la neutralización, ocurre la precipitación del hierro en forma de oxihidróxido ferrico¹³, siendo el lodo pardo que se observa en la figura 1. Con respecto al remanente de H₂O₂ obte-



Fig. 1: Aplicación del proceso Fenton a una muestra del efluente residual proveniente de planta de pulpa.

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos obtenidos en las corridas experimentales luego de la aplicación de la reacción Fenton.

Corrida	Réplica	Color Pt/Co	Reducción Color (%)	DQO mg O ₂ /L	Reducción DQO (%)	DBO mg O ₂ /L	Reducción DBO (%)	Hierro mg/L	H ₂ O ₂ remanente mg/L
Inicial		44200	-	9018	-	1978	-	-	-
A1		370	99,16	936	90,16	472	81,18	18,35	6,78
B1	1	125	99,72	941	90,10	630	74,90	6,58	3,39
C1		62	99,86	924	90,29	394	84,31	7,42	3,39
D1		143	99,68	936	90,16	433	82,75	8,89	3,39
Inicial		29600	-	8033	-	1801	-	-	-
A2		418	99,46	850	91,06	394	84,31	8,05	3,39
B2	2	509	98,28	867	90,88	472	81,18	21,29	6,78
C2		163	99,48	776	91,84	335	86,67	7,21	3,39
D2		159	99,46	803	91,55	472	81,18	16,46	6,78
Inicial		39300	-	9807	-	2165	-	-	-
A3		212	99,46	1079	89,00	524	79,12	3,01	13,56
B3	3	292	99,26	1133	88,44	541	78,43	8,47	13,56
C3		93	99,76	951	90,30	445	82,25	2,80	13,56
D3		122	99,69	1035	89,45	458	81,76	1,96	13,56

nido, se puede detallar que su consumo se da casi completamente, debido al poco remanente del agente oxidante con respecto a la dosis inicial aplicada, lo cual indica una estabilización en el proceso de degradación²². Por otro lado, el remanente de peróxido de hidrógeno ayuda a que la reacción continúe, garantizando una mayor degradación de la materia orgánica luego del tiempo de reacción¹⁹.

De la tabla 7 se puede destacar que los valores de los parámetros estudiados reducen considerablemente, para la DQO la reducción en porcentaje luego de la aplicación del proceso de oxidación avanzada arrojó valores del 90% en promedio y del 80 % para la DBO. Es importante decir que los parámetros de DQO y la DBO aún presentan valores elevados con respecto a lo estipulado por los decretos nacionales N° 3219 y 883. En cuanto al color los valores oscilan entre el 99% de reducción luego de la reacción, encontrándose todos por debajo de los límites permisibles para ellos.

En cuanto al diagrama de Pareto del análisis de varianza (ANOVA) aplicado al DDE para las tres variables de respuesta estudiadas, se puede notar en la Figura 2a que, para el color, el factor A (H₂O₂) ejerce un efecto significativo (valor-p= 0,02) mientras el factor B (relación peróxido/catalizador) y la interacción doble de los factores no resultó significativa para la variable de respuesta color. Esto se debe a que, en la reacción de oxidación con una alta concentración de peróxido de hidrógeno promueve la formación de los radicales hidroxilos, los cuales causan la ruptura de los grupos cromóforos conjugados que le dan el color característico de la lignina (principal componente de efluentes licor negro de la pulpa de papel), produciendo compuestos orgánicos oxidados menos tóxicos e incoloros, entre los que destacan los aldehídos, ácidos carboxílicos, entre otros²³⁻²⁶.

En cuanto al análisis estadístico de la DQO (ver figura 2b) el

factor A tiene un efecto significativo sobre dicho parámetro, siendo su valor-p = 0,02; y el factor B y su interacción no resultaron significativos para el ANOVA. Y es que las dosis de H₂O₂ utilizadas tienen su efecto en el porcentaje de reducción de la DQO y esto se debe a que esta adición del agente oxidante

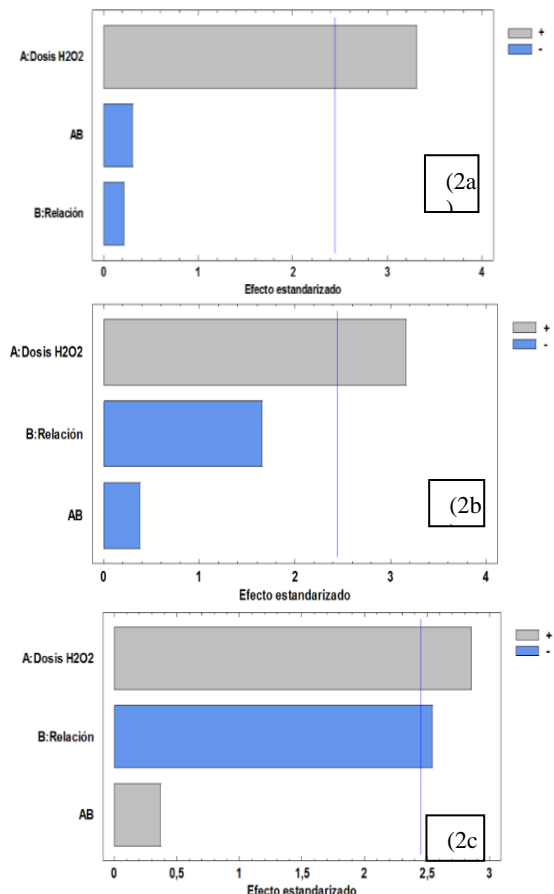
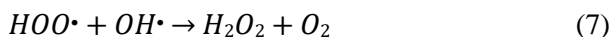
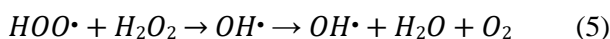
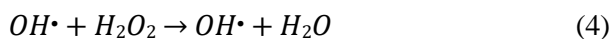
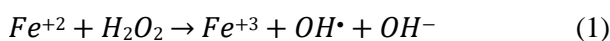


Fig. 2: Diagrama de Pareto de las variables de respuestas obtenidos del DDE: (a) variable de respuesta remoción de color, (b) remoción de DQO, (c) remoción de DBO.

forma los radicales oxidrilos necesarios para la reducción de la materia orgánica presente en el efluente licor negro, esta reducción fue importante desde el punto de vista porcentual, tal como se puede observar en la tabla 7.

La DQO es un parámetro utilizado en los análisis de agua como un parámetro determinante que indica el nivel de contaminación de los cuerpos de agua, por lo que cobra importancia la reducción porcentual de esta variable de respuesta y su estrecha relación con la concentración de peróxido de hidrógeno en las reacciones de oxidación avanzada²⁷. Para la variable DBO los factores influyentes en su comportamiento fueron ambos factores (A y B) tuvieron un efecto significativo sobre esta variable de respuesta (figura 2c). También se puede observar que la dosis de peróxido de hidrógeno aporta una significancia mayor sobre la DBO que la dada por la relación H_2O_2/Fe^{2+} , aunque ambos efectos resulten con valor-p menor a 0,05. En la figura 2c se puede también notar que la interacción estadística doble no resultó significativa para esta variable de respuesta, resultando con un valor-p mayor a 0,05.

Es importante destacar que para las tres variables de respuesta (color, DQO y DBO) un aumento en la dosis de peróxido de hidrógeno favorecerá la disminución de estos parámetros, ya que se puede potenciar la generación de radicales perhidroxilos en presencia de los iones férricos (2), que a sus vez reproducirá iones ferrosos (3) y radicales hidroxilos (1)^{28,29}, siempre y cuando no se agregue en exceso del agente oxidante, para así evitar la formación de las reacciones competitivas e inhibitorias de los radicales libres de oxígeno que se forman (4 a 7)^{29,30}.



En el análisis estadístico, la interacción doble AB no tiene efecto significativo para ninguna variable de respuesta, debido a que no hay relación lineal entre la dosis de peróxido y la relación H_2O_2/Fe^{2+} , pues en este tipo de proceso Fenton homogéneo, la producción de radicales se da directamente (1).

Por otro lado, se observó que la R-cuadrada ajustada, la cual compara modelos con diferentes números de variables independientes, para el color fue de 61,35%; para la DQO fue de 86,75% y para la DBO fue de 57,41%, lo que explica el ajuste matemático al modelo usado para el análisis de datos. Del mismo modo, para verificar la adecuación del modelo en el análisis estadístico realizado, se determinaron los supuestos del ANOVA. La normalidad se verificó que los datos se distribuyen de forma normal. La independencia de los datos se evaluó

mediante la prueba de Durbin-Watson, con la que se rechaza la idea de que existe correlación de los datos con un nivel de confianza del 95%. Por último, la varianza constante se determinó mediante las gráficas de residuos vs supuestos, en las que se puede observar que, para las tres variables de respuestas estudiadas, los residuos se distribuyen aleatoriamente alrededor de cero, sin un patrón particular obvio, por lo que los resultados obtenidos son confiables³⁰.

Del DDE factorial 2^2 con tres replicas aplicado para el tratamiento de efluente papelerero licor negro se obtuvo la superficie de respuesta de la remoción del color, siendo la variable de respuesta experimental donde se obtuvo la mayor eficiencia del tratamiento de oxidación avanzada de tipo homogéneo con la reacción de Fenton. La región experimental resultó planal típica de los diseños de experimentos del tipo aplicado en la que se evidencia una pequeña inclinación en los vértices mayores para los dos factores A y B estudiados, indicando el vértice superior la mayor disminución de las variables en cuestión, siendo para el factor A: 81,8 g/L dosis de H_2O_2 (nivel alto) y para el factor B: la relación H_2O_2/Fe^{2+} de 1:0,06 (nivel bajo), resultando estos los mejores niveles aplicados para alcanzar la máxima reducción de la cantidad de color (M_{RC}) en el efluente tratado. La ecuación 8, representa el modelo matemático que describe el comportamiento de la variable de respuesta.

$$M_{RC} = 94,459 + 0,06738 * \text{Dosis } H_2O_2 + 26,441 * \text{Relación } H_2O_2/Fe^{2+} - 0,3783 * \text{Dosis } H_2O_2 * \text{Relación } H_2O_2/Fe^{2+} \quad (8)$$

Es importante resaltar que la superficie de respuesta de cada factor indica que aún se está fuera de la región óptima, debido a que no se aprecia alguna tendencia hacia la curvatura (cambio de concavidad en la superficie), punto en el cual se tendría teóricamente la mejor condición para la reducción de cada variable de respuesta. Para explorar una región fuera del rango experimental, se hace uso de la trayectoria de máximo descenso. Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales^{29,31}.

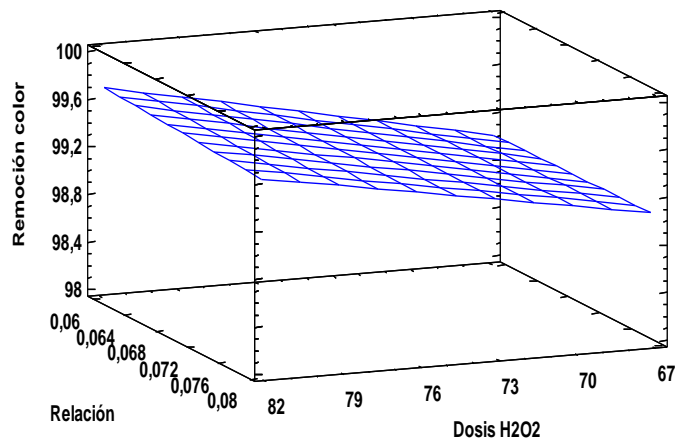


Fig. 3: Superficie de respuesta para la variable de respuesta remoción de color.

Conclusiones

La caracterización fisicoquímica realizada al efluente papelerero arrojó como resultado que los parámetros evaluados sobrepasan los límites permisibles por las normas venezolanas de vertidos de aguas. Así mismo, se observó que presentan una elevada desviación estándar debido a las fluctuaciones en la operatividad de la planta. Con el proceso de oxidación Fenton homogéneo es posible degradar la materia orgánica contaminante presente en un efluente residual complejo como el que proviene de una planta papelerera de extracción de pulpa de celulosa derivado de la madera. Los valores de reducción para las variables de respuestas quedaron: para el color un 99,86%, para la DQO un 91,84% y para la DBO un 86,67%, los cuales se alcanzaron con una dosis de peróxido de hidrógeno de 81,8g/L, empleando una relación H_2O_2/Fe^{2+} de 1:0,06; lo que indica una alta eficiencia del proceso de oxidación aplicado. En el caso de la variable color del efluente se obtuvo una disminución con valores inferiores a los límites establecidos por los decretos N° 883 y N° 3219. El remanente de H_2O_2 y de hierro total obtenidos una vez finalizado el proceso de oxidación Fenton, señalan que la reacción se ha cumplido satisfactoriamente. El hierro remanente indica que la mayoría de esta especie precipita en forma de oxihidróxido férrico, lodo color pardo, mientras que el peróxido de hidrógeno restante ayuda a que la reacción continúe, dando así una oxidación posterior al tiempo estimado de reacción. Por ende, si se realiza un cambio en la dosificación hay que tener en cuenta estos parámetros.

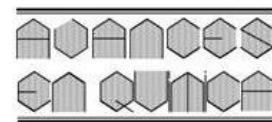
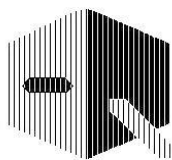
Para el diseño de experimento factorial 2^2 con tres replicas donde las variables de respuesta fueron el color, la DQO y la DBO se obtuvo que el factor con mayor significancia fue el peróxido de hidrógeno, por lo que un aumento de este parámetro disminuiría las variables dependientes. Así mismo, se observó que los alcanzados son resultados confiables, ya que se cumplen todos los supuestos del ANOVA. En cuanto a la optimización del diseño de experimento, se obtuvo que el mejor punto de diseño para las tres variables de respuesta resulta cuando se aplica una dosis de peróxido de hidrógeno de 81,8g/L, empleando una relación H_2O_2/Fe^{2+} de 1:0,06. La superficie de respuesta obtenida para cada variable estudiada, como para la optimización, señala que aún no se está dentro del punto óptimo real del diseño de experimento, pues no hay tendencia hacia la curvatura, para encontrarla, se debería realizar una trayectoria de máximo descenso.

Referencias

- G Vázquez-Rodríguez, A Gallo-González. Uso de zeolitas para el control de fuentes no puntuales de contaminación del agua: revisión. **Ingeniería del agua**, **25(4)**, 241-255. (2021)
- Normas para la Clasificación y el Control de la Calidad de los Cuerpos de Agua y Vertidos o Efluentes Líquidos (Decreto N° 883). Gaceta Oficial No 5021 (1995).
- G Peso-Hernández. Tratamiento de aguas residuales industriales mediante un sistema continuo sono-Fenton. Trabajo especial de grado para Ingeniero Químico. Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España (2009).
- R Miranda. Caracterización y eliminación de la materia disuelta y coloidal en la fabricación de papel reciclado. Trabajo especial de grado para Doctor en Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España (2016).
- A Rubio-Clemente, E Chica, G Peñuela. Aplicación del proceso Fenton en el tratamiento de aguas residuales de origen petroquímico. **Ingeniería y Competitividad**, **16**, 211–223 (2014).
- X Doldán-García, M Chas-Amil. La contaminación de la industria de pasta-papel en Galicia: un análisis de flujos de materiales y energía. **Estudios de Economía Aplicada**, **18**, 143–158 (2001).
- Normas para la clasificación y el control de la calidad de las aguas de la cuenca del Lago de Valencia. Gaceta Oficial No 5305, Decreto No 3219 (1999).
- K Kringstad, K Lindström. Spend liquors from pulp bleaching. **Environmental Science & Technology**, **18**, 2403–2410 (1984).
- E Libby. Ciencia y Tecnología sobre pulpa y papel. Tomo I: Pulpa. 6ta edición. México: Editorial Continental, S.A. (1980).
- J Brun, T Delagoutte, B Carré. Origins and effects of dissolved and colloidal materials. **Progress in Paper Recycling**, **17**, 12–21 (2007).
- G Centeno-Bordones, L Pernía, L, Y Jiménez, J García. Phenol degradation and HPLC identification of products generated using. **Ingeniería UC**, **27**, No 2, 150 – 164 (2020).
- F Figueroa, G Zambrano. Tratamiento por oxidación avanzada (Reacción de Fenton) en aguas residuales de una industria cartenera. Trabajo especial de grado para Ingeniero Químico. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador (2018).
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (APHA, AWWA, WPCF). United States of America, (2005). Disponible en: https://www.standardmethods.org/doi/book/10.2105/SMWW.2882?gclid=EAlaIQobChMlPmv_o6yZgAMVx6RaBR1cYALCEAAAYASAAEgLX8PD_BwE
- G Centeno-Bordones, H Labrador, G Lara, G, Y Jiménez. Eficiencia en la reducción de materia orgánica petrolera combinando procesos de oxidación avanzada solar y el reactor biológico de una PTAR. **Ingeniería del agua**, **25(4)**, 257- 270 (2021).
- G Buftia, E Rosales, M Pazos, G Lazar, M Sanromán. Electro-Fenton process for implementation of acid black liquor waste treatment. **Science of The Total Environment**, **635**, 397–404 (2018).
- A Fouda, S Hassan, M Abdel-Rahman, M Farag, A Shehal-Deen, A Mohamed, *et al.* Catalytic degradation of wastewater from the textile and tannery industries by green synthesized hematite (α - Fe_2O_3) and magnesium oxide (MgO) nanoparticles. **Current Research in Biotechnology**, **3**, 29-41 (2021).
- I Krivtsov, D Mitoraj, C Adler, M Ilkaeva, M Sardo, L Mafra, *et al.* Water-soluble polymeric carbon nitride colloidal nanoparticles for highly selective quasi-homogeneous photocatalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, **59(1)**, 487-495 (2020).
- C Rekhate, J Srivastava. Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater-A review.

Chemical Engineering Journal Advances, 3, 100031 (2020).

19. N Maza. Aplicación del proceso Fenton para la reducción de la materia orgánica presente en el agua de bombeo de la industria pesquera, Callao, 2019. Trabajo especial de grado para Ingeniero Ambiental. Universidad César Vallejo, Lima, Perú, (2019).
20. V Díaz, K Ñaupari. Optimización del proceso Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) para la reducción de la carga orgánica en el tratamiento de efluentes de la industria pesquera Conservas Ricofres S.R.L., 2019. Trabajo especial de grado para Ingeniero Ambiental. Universidad César Vallejo, Lima, Perú (2019).
21. W Hoyos, C Sosa. Determinación de las concentraciones óptimas de peróxido de hidrógeno e iones Fe^{2+} en la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en Vinazas mediante el proceso Fenton. Trabajo especial de grado para Ingeniero Químico. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú (2016).
22. O Makhotkina, S Preis, E Parkhomchuk. Water delignification by advanced oxidation processes: homogeneous and heterogeneous Fenton and H_2O_2 photo-assisted reactions. **Applied Catalysis B Environmental**, **84**, 821–826 (2008).
23. A Suárez, J Bullón. Lignina: Generalidades, Métodos de obtención y Aplicaciones. Cuaderno FIRP S315-B vol. 2 (2020). Disponible en: <https://es.firp-ula.org/lignina-generalidades-metodos-de-obtencion-y-aplicaciones/> Consultado: 30/02/2024
24. J Olivo. Efecto en la degradación de lignina mediante el proceso Fenton empleando una zeolita modificada con hierro. Trabajo de grado de Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México (2016).
25. B Moodley, D Mulholland, H Brookes. The chemical oxidation of lignin found in Sappi Saiccor dissolving pulp mill effluent. **African Journal Online/Water SA**, **38(1)**, 1-8 (2012).
26. M Infante, F Ysambertt, M Hernández, B Martínez, N Delgado, B Bravo, *et al.* Degradación oxidativa asistida por microondas de lignina con peróxido de hidrógeno y sus propiedades tensoactivas. **Revista Técnica de Ingeniería de la Universidad del Zulia**, **30(Especial)**, 108-117 (2007).
27. Y González-Roche, M Pérez-Villar, P Martínez-Nodal, J Pedrozo-Alfonso. Comportamiento de un humedal subsuperficial en la depuración de aguas oleosas. Cinética de remoción de DQO. **Revista Cubana de Química**, **31(3)**, 452-462 (2019).
28. G Centeno-Bordones, Y Jiménez. Uso de Lodos Rojos como catalizador en los procesos de oxidación avanzada: una aproximación al estado del arte. **Tekhné**, **21**, 26–40 (2018).
29. K Ramos. Evaluación de procesos de oxidación avanzados: Foto-Fenton con luz solar para la degradación de sustancias y desechos tóxicos. Trabajo especial de grado de Doctor en Ingeniería Ambiental. Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela (2018).
30. G Centeno-Bordones, H Labrador-Sánchez. Tratamiento de efluente petrolero mediante oxidación no fotoquímica y fotoquímica solar, empleando lodos rojos como catalizador. **Revista Boliviana de Química**, **38(5)**, 40-41 (2021).
31. C Medina-Valderrama, W Uriarte-Tirado, E Cardenas-Vásquez, S Orrego-Zapo, S. Tratamiento de aguas residuales de camales mediante tecnologías avanzadas de oxidación: proceso fenton. **Revista Ingeniería UC**, **27(2)**, 165-174. (2020)



Estudio cristalográfico de sales oxalato de aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos

Yennifer Leal¹, Luciana Caringi¹, Asiloé J. Mora¹, Teresa González², Gerzon E. Delgado^{1*}

¹Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

²Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela

(*) gerzon@ula.ve

Recibido: 03/09/2024

Revisado: 14/10/2024

Aceptado: 22/11/2024

Resumen

En este trabajo se presenta la preparación y caracterización por difracción de rayos-X de oxalatos de los aminoácidos 1-amino-1-ciclobutano, y 1-amino-1-ciclohexano carboxílico. Los puntos de fusión medidos tanto de los reactantes como de los productos indican la formación de nuevos compuestos, lo cual se confirma por el análisis de los patrones de difracción de rayos-X en muestras policristalinas. El estudio estructural realizado por difracción de rayos-X en monocristal indica que la sal $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ cristaliza en una celda monoclinica con grupo espacial $C2/c$, mientras la sal $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ cristaliza en el grupo espacial triclínico $P-1$. El empaquetamiento cristalino de ambas estructuras se estabiliza, principalmente, mediante la formación de interacciones intermoleculares del tipo de enlace de hidrógeno $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ y $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$. En el caso del compuesto $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ se observan interacciones aminoácido-ácido oxálico y aminoácido-agua que generan cadenas en forma de *zig-zag* con grafos $C(5)$ y cadenas lineales con grafos $C^2_1(7)$. Para el compuesto $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ se generan cadenas de oxalatos rodeados de aminoácidos, con grafos $D^1_1(2)$, que califican a esta sal como un compuesto de inclusión.

Palabras claves: Aminoácidos; sales moleculares; difracción de rayos-X

Abstract

Crystallographic studies of amino acids 1-amino-1-cycloalkane carboxylic oxalate salts. This work presents the preparation and X-ray diffraction characterization of 1-amino-1-cyclobutane, and 1-amino-1-cyclohexane carboxylic acid, oxalates. The measured melting points of reactants and products indicate the formation of new compounds, confirmed by the powder X-ray diffraction patterns analysis. The structural study by single crystal diffractometry indicates that the $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ salt crystallizes in a monoclinic cell with space group $C2/c$, while the $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ salt crystallizes in the triclinic space group $P-1$. The crystalline packing of both structures is stabilized, mainly, through the formation of intermolecular interactions of the hydrogen bond type $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ and $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$. In the case of the $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ compound, amino acid-oxalic acid and amino acid-water interactions are observed that generate *zig-zag* chains with $C(5)$ graphs, and linear chains with $C^2_1(7)$ graphs. For the $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ compound, oxalate chains surrounded by amino acids are generated, with $D^1_1(2)$ graphs qualifying this salt as an inclusion compound.

Keywords: Amino acids, molecular salts, X-ray diffraction

Introducción

Desde el punto de vista de la Química Supramolecular, los aminoácidos son bloques de construcción útiles para el diseño de nuevos materiales¹. A partir de aminoácidos se puede obtener una gran variedad de motivos supramoleculares, que están constituidos principalmente por estas moléculas unidas a través de enlaces de hidrógeno $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}^2$. Esto se debe a la capacidad de las moléculas de aminoácidos de actuar simultáneamente como donador de hidrógeno, a través de su grupo amino primario, secundario o terciario, así como aceptor de hidrógeno, a través de su grupo ácido carboxílico o carboxilato. Además, se observa que las redes de enlaces de hidrógeno se estabilizan mediante efectos cooperativos, propios de

sistemas complejos, como péptidos y proteínas, lo que explica la notable estabilidad de estas estructuras supramoleculares³.

Por otra parte, los aminoácidos pueden ser utilizados en la preparación de cristales multi-componente los cuales son agregados supramoleculares formados entre diferentes moléculas dentro de un mismo arreglo cristalino y se basan en las interacciones intermoleculares antes mencionadas². Dentro de la familia que conforman los cristales multi-componente se encuentran las sales, co-cristales, solvatos y compuestos de inclusión. De estos los más comúnmente encontrados son los co-cristales, en que los componentes en el cristal se encuentran en su forma neutra, o las sales, en donde los compo-

mentes son especies iónicas cargadas⁴. Precisamente, una de las reacciones más importantes en química y bioquímica es la transferencia de protones entre el donante y el aceptor para la formación de sales moleculares⁵.

En los últimos años nos hemos interesado en el estudio sistemático de aminoácidos cíclicos, dirigido a comprender la influencia en el empaquetamiento cristalino de la posición del grupo amino dentro del anillo cicloalcano, como en el ácido 2-piperidincarboxílico⁶ y el ácido 4-piperidincarboxílico⁷⁻⁹, y fuera del anillo cicloalcano como en el ácido 4-amino-clohexanocarboxílico^{10,11}. Además, también se han estudiado los aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos del tipo Acc^n , con $n = 3, 4, 5, 6$, donde n representa el tamaño del anillo cicloalcano¹²⁻¹⁴.

Las estructuras cristalinas de los aminoácidos no-proteinogénicos 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico (Acc^3)¹⁵, 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico (Acc^4)¹⁶, 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (Acc^5)¹⁴, y 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (Acc^6)¹⁷ proporcionan información sobre sus conformaciones moleculares zwitteriónicas en el estado sólido y los motivos de enlaces de hidrógeno adoptados en sus fases cristalinas. La formación de cristales multi-componente de los aminoácidos Acc^n con ácidos dicarboxílicos como el ácido oxálico proporciona una manera de obtener los aminoácidos en su forma iónica como ha sido el caso, por ejemplo, de los oxalatos de los aminoácidos L-cisteína¹⁸, DL-cisteína¹⁹, glicina²⁰, DL-alanina²¹ y el propio oxalato de 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico $\text{Acc}^5\text{-Ox}$ ¹³. Es por ello que, en este trabajo, reportamos la síntesis y caracterización cristalográfica de los oxalatos de aminoácidos 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico $\text{Acc}^4\text{-Ox}$, y 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico $\text{Acc}^6\text{-Ox}$, y se comparan los resultados con aquellos obtenidos para el $\text{Acc}^5\text{-Ox}$ ¹³.

Parte experimental

Los cristales multi-componente $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ y $\text{Acc}^6\text{-Ox}$ se prepararon utilizando el procedimiento empleado en la síntesis del $\text{Acc}^5\text{-Ox}$ ¹³. Se mezclaron, en 5 mL de agua, cantidades estequiométricas, 2,0 mmol, de los aminoácidos 1-aminociclobutano carboxílico Acc^4 (Aldrich 97%), y 1-aminociclohexano carboxílico Acc^6 (Aldrich 98%), con 2,0 mmol de ácido oxálico (Aldrich 99%), en relación molar 1:1. Las soluciones resultantes se mezclaron con un agitador magnético por una hora. Mediante evaporación lenta del solvente se obtuvieron cristales adecuados al cabo de un mes. Los cristales formados son incoloros con forma de pequeñas laminas rectangulares.

Los puntos de fusión se midieron en un equipo Electrothermal 9100. Los datos de difracción de rayos-X en muestra policristalina se obtuvieron en un difractómetro Siemens D5005 utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), y cuarzo como estándar externo. Los datos se colectaron en un rango entre $5\text{-}60^\circ$ en 2θ con pasos de $0,02^\circ$ y un tiempo de 10 segundos por paso. Los datos de difracción de rayos-X de cristal único para

el $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ y $\text{Acc}^6\text{-Ox}$, se midieron en un difractómetro Rigaku AFC-7S equipado con radiación de $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) y un detector Mercury-CCD. Los datos se corrigieron por efectos de absorción y polarización.

Resultados y discusión

Se midieron los puntos de fusión tanto de los reactivos como de los productos. Los valores obtenidos fueron: Reactivos: ácido oxálico $187\text{-}189^\circ\text{C}$, aminoácido Acc^4 $260\text{-}262^\circ\text{C}$, aminoácido Acc^6 $298\text{-}300^\circ\text{C}$. Productos $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ $170\text{-}172^\circ\text{C}$, $\text{Acc}^6\text{-Ox}$ $231\text{-}233^\circ\text{C}$. La diferencia en los puntos de fusión supone, en principio, la formación de nuevos compuestos.

Difracción de rayos-X en monocristal (XRD)

La estructura cristalina de los oxalatos $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ y $\text{Acc}^6\text{-Ox}$ se determinó por métodos directos empleando el programa *SHELXS*²² y se refinó mediante cálculos de mínimos cuadrados de matriz completa utilizando el programa *SHELXL*²³. Los átomos de hidrógeno unidos al nitrógeno y los oxígenos se ubicaron en el mapa de diferencias de Fourier. Los demás átomos de H unidos a los carbonos se colocaron en posiciones calculadas y tratados usando un modelo rígido con distancias C-H $0,96\text{-}0,98 \text{ \AA}$ y $\text{Uiso}(\text{H}) = 1,2 \text{ Ueq}(\text{C})$. Los datos cristalográficos aquí reportados se depositaron en la base de datos Cambridge Crystallographic Data Centre²⁴, con códigos 2401922 y 2401923.

En la tabla 1 se muestran los datos cristalográficos obtenidos para los diferentes oxalatos de 1-amino-1-cicloalcanocarboxílicos. La información del $\text{Acc}^5\text{-Ox}$ se obtuvo del estudio reciente reportado¹³. La figura 1 muestra las unidades asimétricas de cada una de las estructuras. Todas las moléculas se presentan como especies iónicas. La forma catiónica de los aminoácidos se corrobora, en cada caso, por la presencia en el mapa de diferencias de Fourier de tres átomos de hidrógeno enlazados al átomo de nitrógeno N1. Además, las distancias de enlace C1-O1 son mayores que las distancias C1-O2 lo que indica que se trata de grupos carboxilo con el átomo O1 protonado (tabla 2). Todas las distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos de torsión se ajustan al rango de valores normalmente esperados para moléculas orgánicas²⁵ y concuerdan muy bien con los reportados en la base de datos de Cambridge (versión 5.45, septiembre 2024)²⁴ para estructuras similares.

El oxalato de 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico $\text{Acc}^4\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}$ cristaliza en el sistema monoclinico, con grupo espacial $C2/c$. La unidad asimétrica está conformada por una molécula del aminoácido en forma catiónica, una molécula de ácido oxálico que actúa como semi-anión y una molécula de agua con desorden posicional (figura 1a). El oxalato de 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico $\text{Acc}^5\text{-Ox}$ cristaliza en el sistema monoclinico, grupo espacial $P2_1/n$, y su unidad asimétrica está conformada por una molécula del aminoácido en forma de zwitterión, una molécula en forma catiónica, una molécula de ácido oxálico como semi-anión y una molécula de agua (figura 1b)¹³. Por

Tabla 1. Datos cristalográficos de los oxalatos de ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos Accⁿ-Ox obtenidos por difracción de rayos-X de monocristal. * Este trabajo.

	Acc ⁴ -Ox·H ₂ O *	Acc ⁵ -Ox·H ₂ O ¹³	Acc ⁶ -½Ox *
Código depósito CSD	2401922	-	2401923
Código CSD	-	ACOQER	-
Formula Química	C ₇ H ₁₁ NO ₆ ·H ₂ O	C ₁₆ H ₂₇ N ₂ O ₁₄ ·H ₂ O	C ₈ H ₁₄ NO ₄
Peso fórmula	213,17	366,37	188,20
Difractómetro	Rigaku AFC-7S	Rigaku AFC	Rigaku AFC-7S
Temperatura (K)	293(2)	291(2)	293(2)
Radiación	MoKα (λ= 0.71073 Å)	MoKα	MoKα
Sistema cristalino	monoclínico	monoclínico	triclínico
Grupo espacial	C2/c (Nº15)	P2 ₁ /n (Nº14)	P-1 (Nº2)
a (Å)	20,401(2)	17,283(3)	6,743(2)
b (Å)	5,680(4)	5,7371(8)	7,266(2)
c (Å)	16,155(2)	18,561(3)	9,718(2)
α (°)	-	-	84,97(2)
β (°)	124,27(2)	108,27(1)	73,34(2)
γ (°)	-	-	87,58(2)
V (Å ³)	1850,0(3)	1747,6(5)	454,3(2)
Z	4	4	2
Z'	1	1	1
Dcalc (g/cm ³)	1,531	1,393	1,376
μ (mm ⁻¹)	0,13	0,12	0,11
F(000)	864	784	196
Theta Min-Max (°)	2.0, 27.9	1.4, 28.1	2.2, 28.1
Indice $\leq h \leq$; $\leq k \leq$; $\leq l \leq$	-27: 28; -6: 5; -18: 18	-20: 20; -7: 5; -22: 22	-8: 8; -8: 8; -11: 9
Datos Tot., Úni, R(int)	8758, 1750, 0,109	19530, 3558, 0,062	5189, 1735, 0,053
R(F ²) [I > 2σ(I)]	0,1297	0,1161	0,0732
wR(F ²) [I > 2σ(I)]	0,2997	0,2066	0,2104
ΔρMx, ΔρMin. (eÅ ⁻³)	0,68; -0.50	0,29; -0.22	0,51; -0.26

Tabla 2. Distancias de enlace en los oxalatos aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos Accⁿ-Ox (Å). [*] Este trabajo.

	Acc ⁴ -Ox·H ₂ O*	Acc ⁵ -Ox·H ₂ O ¹³	Acc ⁶ -½Ox *
O1-C1	1,307(1)	1,280(2)	1,309(2)
O2-C1	1,209(1)	1,211(2)	1,211(2)
C2-N1	1,469(1)	1,495(2)	1,506(3)
C1-C2	1,508(2)	1,526(2)	1,512(2)
C6-C7	1,544(1)	1,540(2)	1,535(4)
C6-O3	1,289(1)	1,320(2)	1,252(2)
C6-O4	1,179(2)	1,198(2)	1,242(2)

su parte, el oxalato de 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico Acc⁶-½Ox cristaliza en el sistema triclínico, con grupo espacial P-1 y su unidad asimétrica consiste de una molécula del aminoácido en forma catiónica y media molécula de ácido oxálico que actúa como anión y se reproduce por simetría.

La estructura cristalina del Acc⁴-Ox·H₂O, está estabilizada por 14 enlaces de hidrógeno de los cuales 8 son intermoleculares del tipo N--H···O y O--H···O, 2 enlaces del tipo C--H···O y 4 enlaces no convencionales C--H···Ow. La disposición espacial de las moléculas de Acc⁴:ox:H₂O, permite que

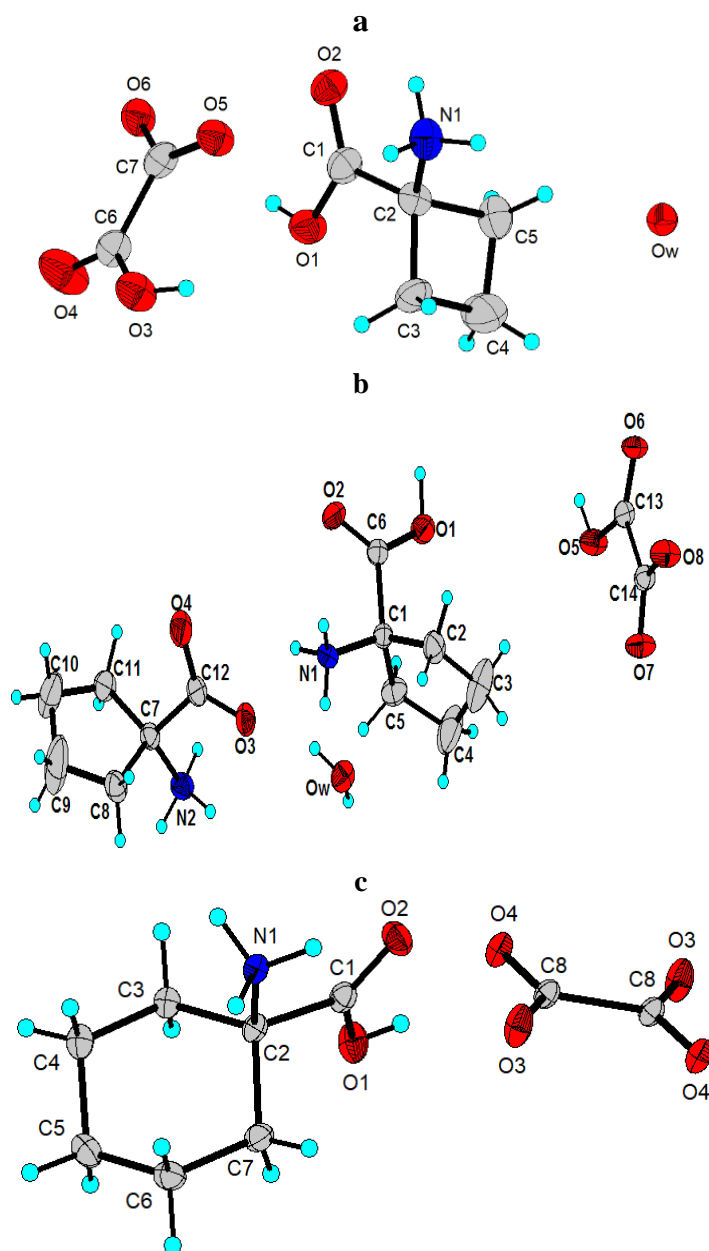


Fig. 1: Unidades asimétricas para los diferentes oxalatos de $\text{Acc}^4\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{Acc}^5\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}^{13}$ y $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$. Los elipsoides se dibujaron con una probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno se muestran como esferas con radio arbitrario.

el aminoácido se una a moléculas vecinas de aminoácido a través de interacciones de enlaces de hidrógeno del tipo $\text{N1-H1C}\cdots\text{O1}$ descritas por el grafo $\text{C}(5)^{26}$. Estas cadenas se extienden a lo largo del eje c , formando cadenas de aminoácidos en forma de *zig-zag* (ver figura 2a). Además, se observan interacciones de moléculas de aminoácidos con ácido oxálico a través de enlaces de hidrógeno del tipo $\text{N1-H1C}\cdots\text{O4}$, $\text{N1-H1B}\cdots\text{O3}$ y $\text{O2-H2}\cdots\text{O4}$ formando cadenas extendidas descritas por el grafo $\text{C}^2_1(7)^{26}$, donde participan dos átomos donadores y un átomo aceptor, por la unión de siete átomos.

En la estructura del $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ se presentan varios enlaces de hidrógeno intermoleculares que se encuentran esencialmen-

te gobernados por interacciones fuertes que involucran enlaces del tipo $\text{N}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ y $\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$. En estas interacciones se observa la formación de un enlace clásico bifurcado que involucra los átomos $\text{N1-H1}\cdots\text{O2}$ y $\text{N1-H1}\cdots\text{O3}$. El empaquetamiento en este caso se rige por la formación de dímeros con grafos del tipo $\text{D}^1_1(2)^{26}$, generando cadenas de moléculas de oxalatos rodeadas de moléculas del aminoácido (ver figura 3c) que definen este tipo de materiales como compuestos de inclusión. Este tipo de arreglo molecular también ha sido reportado en los oxalatos de los DL-arginina²⁷ y DL-alanina²⁸.

Tabla 3. Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en las estructuras del $\text{Acc}^4\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$.

Enlace de hidrógeno	D-H (Å)	H \cdots A (Å)	D \cdots A (Å)	D-H \cdots A (°)	Simetría
Acc⁴-Ox					
$\text{N1-H1A}\cdots\text{O1}$	0,890	2,340	2,67(1)	102,0	-
$\text{N1-H1A}\cdots\text{O5}$	0,890	2,600	2,97(2)	106,0	-
$\text{N1-H1B}\cdots\text{O3}$	0,890	1,980	2,87(1)	174,0	-
$\text{N1-H1B}\cdots\text{O5}$	0,890	2,580	2,97(2)	108,0	-
$\text{N1-H1C}\cdots\text{O4}$	0,890	2,220	2,95(1)	139,0	$1-x, -y, 2-z$
$\text{N1-H1C}\cdots\text{O1}$	0,890	2,270	2,95(1)	134,0	$\frac{1}{2}-x, -\frac{1}{2}+y, \frac{3}{2}-z$
$\text{O6-H6}\cdots\text{O3}$	0,820	1,830	2,64(1)	176,0	$x, 1+y, z$
$\text{O2-H2}\cdots\text{O4}$	0,820	1,780	2,57(1)	163,0	$-\frac{1}{2}+x, \frac{1}{2}-y, -\frac{1}{2}+z$
$\text{C3-H3A}\cdots\text{O2}$	0,970	2,460	2,80(2)	100,0	-
$\text{C3-H3B}\cdots\text{O5}$	0,970	2,370	3,32(2)	165,0	$x, -1+y, z$
$\text{C5-H5B}\cdots\text{O1w}$	0,970	2,420	3,16(3)	132,0	$\frac{1}{2}-x, \frac{1}{2}-y, 1-z$
$\text{C5-H5B}\cdots\text{O1w}$	0,970	2,420	3,16(3)	132,0	$\frac{1}{2}+x, \frac{1}{2}-y, \frac{1}{2}+z$
$\text{C4-H4A}\cdots\text{O1w}$	0,970	2,550	3,21(4)	125,0	$\frac{1}{2}-x, \frac{1}{2}-y, 1-z$
$\text{C4-H4A}\cdots\text{O1w}$	0,970	2,550	3,21(4)	125,0	$\frac{1}{2}+x, \frac{1}{2}-y, \frac{1}{2}+z$
Acc⁶-$\frac{1}{2}$Ox					
$\text{N1-H1}\cdots\text{O2}$	0,92(4)	2,13(4)	2,593(3)	110(3)	x, y, z
$\text{N1-H1}\cdots\text{O3}$	0,92(4)	2,46(5)	2,849(4)	106(3)	$1-x, 1-y, -z$
$\text{O1-H1A}\cdots\text{O3}$	0,96(4)	1,64(4)	2,562(3)	160(4)	$x, y, -1+z$
$\text{N1-H2}\cdots\text{O4}$	0,94(4)	1,88(4)	2,796(4)	164(3)	$-x, 1-y, -z$
$\text{N1-H3}\cdots\text{O4}$	0,92(5)	1,95(5)	2,828(3)	161(4)	x, y, z
$\text{N1-H3}\cdots\text{O3}$	0,92(5)	2,39(5)	2,849(4)	111(3)	$1-x, 1-y, -z$

Difracción de rayos-X en muestras policristalinas (XRPD)

En la figura 3 se muestran los patrones de difracción de rayos X en de los aminoácidos puros y el ácido oxálico en comparación con los patrones medidos de los oxalatos sintetizados, observándose una gran diferencia entre los reactivos y productos lo que evidencia la formación de nuevos compuestos. Los patrones de difracción de los oxalatos sintetizados se indexaron utilizando el programa *Dicvol06*²⁹. El oxalato $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ cristaliza en una celda monoclinica con parámetros de celda $a = 20,400(5)$ Å, $b = 5,675(5)$ Å, $c = 16,160(5)$ Å, $\beta = 124,0(5)^\circ$, $V = 1852,0(5)$ Å³, mientras el producto $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ cristaliza en una celda triclínica con parámetros de celda $a = 6,742(1)$ Å, $b = 7,265(1)$ Å, $c = 9,716(3)$ Å, $\alpha = 84,99^\circ$, $\beta = 73,3^\circ$, $\gamma = 87,58^\circ$, $V = 454,2$ Å³.

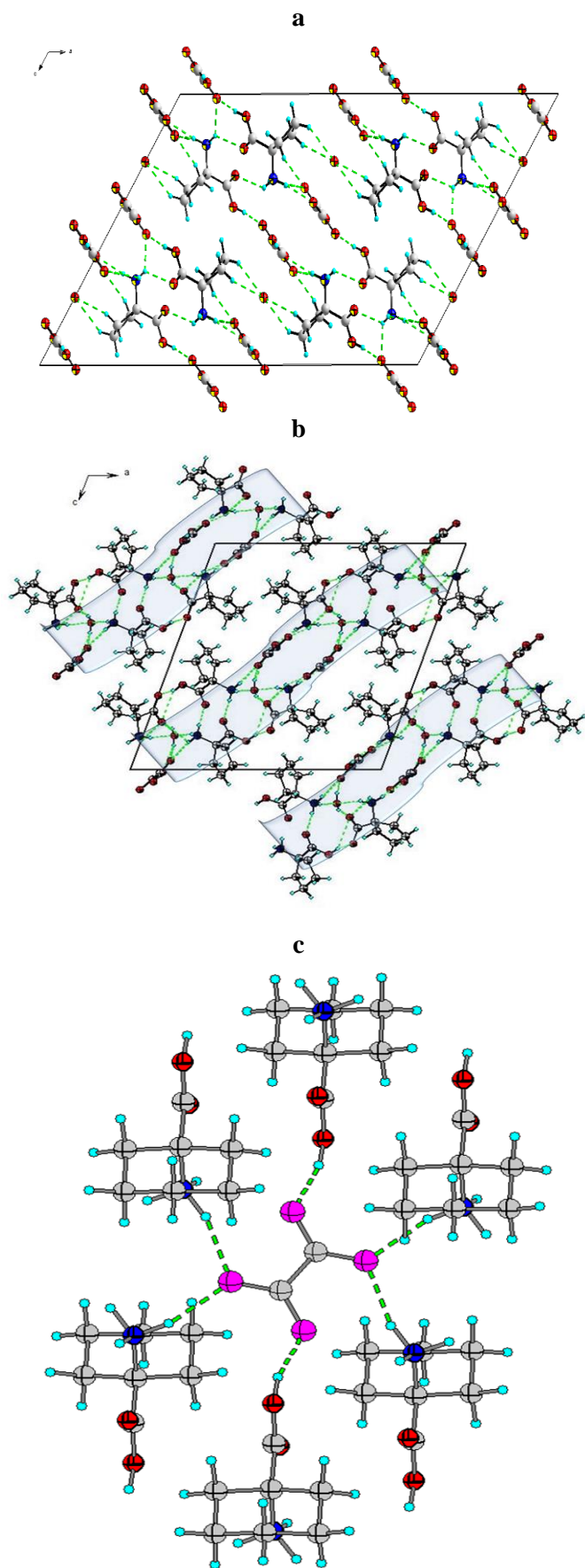


Fig. 2: Empaquetamientos cristalinos observados en a) $\text{Acc}^4\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}$, b) $\text{Acc}^5\text{-Ox}\cdot\text{H}_2\text{O}^{13}$ y c) $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$. Los elipsoides se dibujaron con una probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno se muestran como esferas con radio arbitrario.

Los parámetros de celda concuerdan muy bien con los encontrados con difracción de cristal único lo cual es un indicativo de la homogeneidad de las muestras cristalizadas.

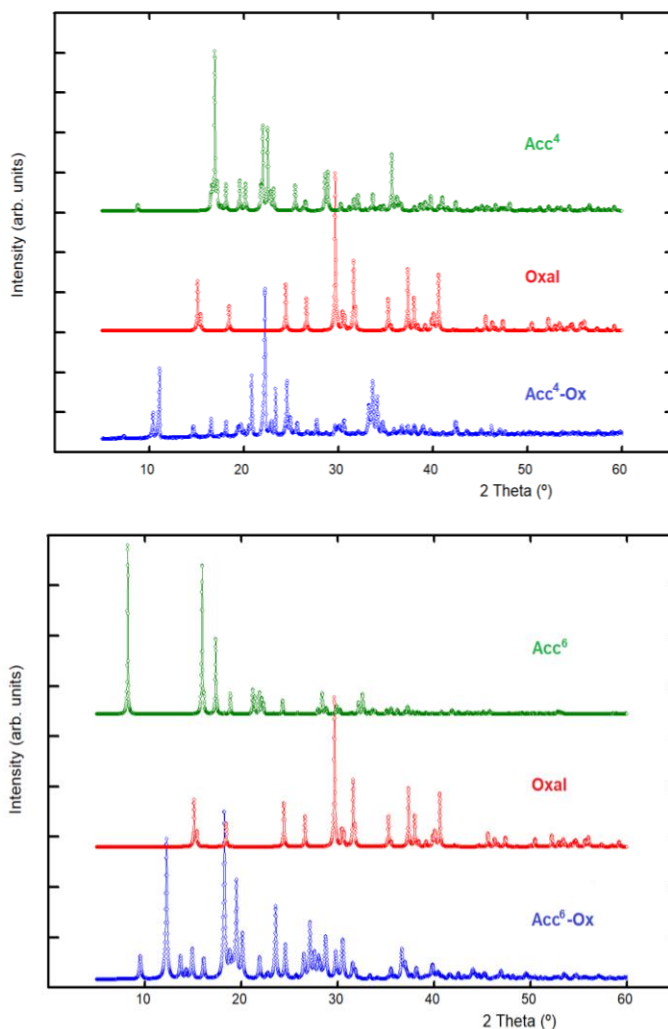


Fig. 3: Patrones de difracción de rayos-X en polvo de cada uno de los reactivos Acc^4 , Acc^6 , y Oxal, comparados con los oxalatos sintetizados (a) $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ y (b) $\text{Acc}^6\text{-Ox}$.

Conclusiones

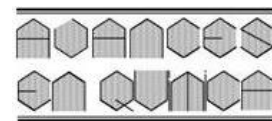
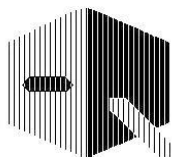
Se prepararon las sales de oxalato de los aminoácidos 1-amino-1-ciclobutano, y 1-amino-1-ciclohexano carboxílico. La formación de los nuevos compuestos se confirmó mediante los puntos de fusión medidos y los patrones de difracción de rayos-X en muestras policristalinas. La determinación estructural por difracción de cristal-único permitió establecer que la sal $\text{Acc}^4\text{-Ox}$ cristaliza en una celda monoclinica con grupo espacial $C2/c$, y la sal $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ cristaliza en el grupo espacial triclinico $P-1$. El empaquetamiento cristalino de ambas estructuras se estabiliza mediante la formación de interacciones intermoleculares del tipo de enlace de hidrógeno $\text{N}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ y $\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$. En la sal $\text{Acc}^4\text{-Ox}$, las interacciones aminoácido-ácido oxálico y aminoácido-agua generan cadenas en forma de *zig-zag* con grafos $C(5)$ y cadenas lineales con grafos $C_2^1(7)$. En la sal $\text{Acc}^6\text{-}\frac{1}{2}\text{Ox}$ se forman cadenas de oxalatos rodeados de aminoácidos, con grafos $D_1^1(2)$, que distinguen a esta sal como un compuesto de inclusión.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al CDCHT-ULA, Venezuela.

References

1. B Moulton, M Zaworotko. From molecules to crystal engineering: Supramolecular isomerism and polymorphism in network solids. **Chem. Rev.**, **101**(6), 1629-1658 (2001).
2. GR Desiraju. Crystal Engineering: From Molecule to Crystal. **J. Am. Chem. Soc.**, **135**, 9952-9967 (2013).
3. R Wieczorec, JJ Dannenberg. H-bonding cooperativity and energetics of α -helix formation of five 17 amino-acids peptides. **J. Am. Chem. Soc.**, **125**, 8124-8129 (2003).
4. SL Morissette, Ö Almarsson, M Peterson, R Remenar, M Read, A Lemmo. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, **56**, 275-300 (2004).
5. A Migliore, NF Polizzi, MJ Therien, DN Beratan. Biochemistry and theory of proton-coupled electron transfer. **Chem. Rev.**, **114**(7), 3381-3465 (2014).
6. J Cuervo, L Rincón, R Almeida, AJ Mora, GE Delgado, A Bahsas. On the energetic and structure of 2-piperidinic acid. **J. Mol. Struct.**, **615**, 191-199 (2002)
7. GE Delgado, AJ Mora, A Bahsas. Zwitterionic 4-piperidine-carboxylic acid monohydrate. **Acta Cryst.**, **C57**, 965-967 (2001).
8. AJ Mora, GE Delgado, BM Ramírez, L Rincón, R Almeida, J Cuervo, A Bahsas. The role of H-bonding in the structure of the isonipecotic acid monohydrate. **J. Mol. Struct.**, **615**, 201-208 (2002).
9. AJ Mora, EE Ávila, GE Delgado, AN Fitch, M Brunelli. Temperature effects on the hydrogen bond patterns in 4-piperidine-carboxylic acid. **Acta Cryst.**, **B61**, 96-102 (2005).
10. EE Ávila, AJ Mora, GE Delgado, BM Ramírez, A Bahsas, S Koteich. Hydrogen bonding patterns in cis-4-ammoniocyclohexane-carboxylate hemihydrate. **Acta Cryst.**, **C60**, o759-o761 (2004).
11. AJ Mora, LM Belandria, EE Ávila, LE Seijas, GE Delgado, A Miró, R Almeida, M Brunelli, AN Fitch. Investigating the stability of double head to tail dimers and ribbons in multicomponent crystals of cis-4-aminecyclohexane carboxylic acid with water and oxalic acids. **Cryst. Growth Des.**, **13**, 1849-1860 (2013).
12. LM Belandria, GE Delgado, AJ Mora, LE Seijas, T González. Redetermination of 1-carboxycyclohexan-1-aminium acid chloride. **Acta Cryst.**, **E65**(2), o245 (2009).
13. AJ Mora, LM Belandria, GE Delgado, LE Seijas, A Lunar, R Almeida. Non-covalent interactions in the multicomponent crystal of 1-aminocyclopentane carboxylic acid, oxalic acid and water: A crystallographic and theoretical approach. **Acta Cryst.**, **B73**(10), 968-980 (2017).
14. P Tirado, AJ Mora, T González, JE Contreras, GE Delgado. Caracterización estructural de aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos. **Av. Quím.**, **18**(3), 83-90 (2023).
15. MC Pirrung. Ethylene biosynthesis. 8. Structural and theoretical studies. **J. Org. Chem.**, **52**(19), 4179-4184 (1987).
16. RJ Butcher, G. Brewer, A.S. Burton, J.P. Dworkin. 1-Azaniumcyclobutane-1-carboxylate monohydrate. **Acta Cryst.**, **E70**, o217-o218 (2014).
17. G Valle, M Crisma, C Toniolo, N Sen, M Sukumar, P Balaran. Crystallographic characterization of the conformation of the 1-aminocyclohexane-1-carboxylic acid residue in simple derivatives and peptides. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2**(3), 393-398 (1988).
18. VS Minkov, EV Boldyreva. L-cysteinium semioxalate. **Acta Cryst.**, **C64**, o344-o348 (2008).
19. TN Drebushchak, SN Bizyaev, EV Boldyreva. Bis(DL-cysteinium) oxalate. **Acta Cryst.**, **C64**, o313-o315 (2008).
20. NA Tumanov, EV Boldyreva, NE Shikina. Glycinium hydrogen oxalate. **Acta Cryst.**, **C66**, o279. (2010)
21. BA Zakharov, EV Boldyreva. DL-alaninium semi-oxalate monohydrate. **Acta Cryst.** **C67**, o47-o51 (2011).
22. GM Sheldrick. A short history of SHELX. **Acta Cryst.**, **A64**, 112-122 (2008).
23. G. M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, **Acta Cryst.**, **C71**(1), 3-8 (2015).
24. FH Allen, O Kennard, DG Watson, L Brammer, AG Orpen, R Taylor. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. **J. Chem. Soc., Perkin Trans.**, **2**(12) S1-S19 (1987).
25. C.R. Groom, I.J. Bruno, M.P. Lightfoot, S.C. Ward. The Cambridge structural database. **Acta Cryst.** **B72**, 171-179 (2016).
26. M.C. Etter, J.C. MacDonald, J. Bernstein, Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. **Acta Cryst.**, **B46**(2), 256-262 (1990).
27. N. Chandra, M. Prabu, J. Venkatraman, S. Suresh, M. Vijayan, X-ray Studies on crystalline complexes involving amino acids and peptides. XXXIII. Crystal structures of L- and DL-Arginine complexed with oxalic acid and a comparative study of amino acid-oxalic acid complexes. **Acta Cryst.**, **B54**, 257-263 (1998).
28. S. Nandhini, R. Krishnakumar, S. Natarajan, DL-Alaninium oxalate. **Acta Cryst.**, **E57**, 666-668 (2001).
29. A Boultif, D Löuer. Powder pattern indexing with the dichotomy method. **J. Appl., Cryst.**, **37**, 724-731 (2004).



Desarrollo de metodología para la determinación de mercurio en suelos afectados por la actividad minera en las minas inactivas de El Arenal y Puente Roto, del Estado Bolívar, Venezuela

Fernando José Méndez Pereira^{1*}, Carlos Enrique Rondón¹, Carlos Daniel Ayala Montilla¹,
Jorge Manrique², Luisana Miliari¹, Antonella Baldeón Ruiz¹

¹) Laboratorio de Espectroscopia Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela

²) Laboratorio de Química Agrícola, Instituto de Investigaciones Agropecuarias,
Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela

(* mendezpfj@gmail.com)

Recibido: 08/09/2024

Revisado: 15/11/2024

Aceptado: 30/12/2024

Resumen

La actividad minera ha provocado la contaminación por mercurio en los suelos. Para evaluar esta contaminación, se implementó una metodología para medir el mercurio a profundidades de 0-15 cm y 15-30 cm en las minas inactivas El Arenal y Puente Roto. Se utilizó el método de generación de vapor frío y detección por espectroscopia de absorción atómica (CV-AAS). Las características analíticas incluyeron un límite de detección de 0,15 µg/L, un límite de cuantificación de 0,5 µg/L y un rango lineal de (0,5-8) µg/L. Se examinaron tres áreas entre la mina inactiva de El Arenal y Puente Roto, encontrándose concentraciones de mercurio que oscilaban entre 156,8 µg/Kg y 1720,0 µg/Kg, niveles considerados contaminantes según el Programa de Protección Ambiental de las Naciones Unidas.

Palabras claves: absorción atómica; suelos; contaminación; mercurio

Abstract

Mining activity has resulted in mercury contamination in soils. To evaluate this contamination, a methodology was implemented to measure mercury at depths of 0 - 15 cm and 15 - 30 cm in the inactive mines El Arenal and Puente Roto. The cold vapor generation and atomic absorption spectroscopy detection (CV-AAS) method was used. Analytical characteristics included a detection limit of 0,15 µg/L, a quantification limit of 0,5 µg/L, and a linear range of (0,5 - 8) µg/L. Three areas between the inactive El Arenal mine and Puente Roto were examined, and mercury concentrations were found ranging from 156,8 µg/kg to 1720,0 µg/kg, levels considered contaminants according to the United Nations Environmental Protection Program.

Keywords: Atomic absorption; Soils; Contamination; Mercury

Introducción

El mercurio es uno de los metales pesados más tóxicos, y su movilidad y alta volatilidad en su forma elemental lo convierten en un grave problema medioambiental, según la Organización Mundial de la Salud¹, donde las masas de aire pueden transportar este metal tóxico, contribuyendo a su dispersión global². Además, los niveles de mercurio en el suelo pueden superar los límites establecidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con un rango de 70 a 300 microgramos por kilogramo de suelo. En vista de este hecho, a lo largo del tiempo se han hecho investigaciones sobre el proceso de su depósito y paso por el ambiente, y medir el impacto que esto tiene para la biodiversidad y la salud de los seres humanos³.

Las investigaciones sobre las fuentes del mercurio en el ambiente arrojan cifras alarmantes respecto a la cantidad de este metal pesado, que es liberado al ambiente producto de las actividades humanas relacionadas a la industria minera⁴. Una vez que el mercurio es volatilizado al momento de ser procesado para la extracción de oro y alcanza la atmósfera, este metal puede permanecer y moverse en su forma elemental de [Hg(0)], aunque al ser depositado sea en el suelo o en el agua pasa a una forma de mercurio divalente [Hg(II)]⁵.

Aun así, aunque una cantidad de mercurio presente en el ambiente proviene desde el transporte en la atmósfera, mayoritariamente las contaminaciones del mercurio en agua y suelos proviene del desecho y tratamiento inadecuado por parte de los residuos de las actividades mineras, y origina la crea-

ción de un punto localizado de contaminación con el potencial de expandirse y perjudicar su entorno⁶. Sumado a este preocupante hecho, el mercurio al ser un metal pesado, por naturaleza no puede ser degradado de forma natural por los ecosistemas, lo que involucra que debe ser tratado con un protocolo adecuado, de forma de poder retirarlo y aislarlo del ambiente en que se encuentra, y una gran vertiente de investigaciones involucra la mejora continua de los procesos de adsorción, desorción, oxidación y reducción de esta especie química en cualquiera de las formas en que se encuentre⁷.

Existen fuentes naturales de mercurio, como la actividad volcánica y la erosión de rocas superficiales. La cantidad de mercurio depositada en la superficie ha aumentado entre 2 y 10 veces en comparación con épocas pasadas, dependiendo de la región estudiada⁸. Por ello, es necesario realizar estudios para evaluar la presencia de este metal, utilizado como un indicador de contaminación medioambiental. La minería, según la demografía, puede movilizar el mercurio hacia otras áreas con mayor o menor facilidad, convirtiéndose en uno de los principales sitios de almacenamiento de este tóxico meta⁹. La interacción entre el mercurio y los seres vivos depende principalmente de si este se encuentra como “biodisponible”, este término hace referencia a todo aquel mercurio que no se encuentra vinculado de forma irreversible a algunos de los múltiples componentes que se encuentran en el suelo¹⁰⁻¹¹.

Metodología

En este trabajo se utilizó para tomar las medidas de absorbancia un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin – Elmer modelo 3100 Norwalk Ct USA, controlado mediante un programa Perkin – Elmer, modelo “3100 Enhanced Data System”. Como unidad de atomización se utilizó una celda de cuarzo en forma de ‘T’, y como fuente de radiación una lámpara de cátodo hueco de mercurio marca Perkin Elmer. La longitud de onda empleada fue de 253,7 nm para el elemento en estudio (Hg), con un ancho de rendija para todas las medidas de 0,7 nm. Los experimentos fueron realizados utilizando un sistema de flujo continuo, utilizando un separador de fases de 7 cm de longitud x 2 cm de d.i., con 22 mL de capacidad, fabricado en el laboratorio.

Todas las soluciones fueron preparadas con reactivos de la más alta pureza disponible y de grado analítico. Se utilizó ácido clorhídrico de Riedel-de Haen con un 37 % de pureza, borohidruro de sodio de Sigma con un 98 % de pureza, hidróxido de sodio de Riedel-de Haen, ácido nítrico Brian Chemical con un 70 % de pureza. El agua empleada para la preparación de soluciones y lavado de material de laboratorio fue doblemente destilada y desionizada con resistividad específica de 18 MΩ.cm, obtenida en un sistema Millipore Milli-Q plus. Se preparó una solución estándar de 1000 mg/L de Hg²⁺ a partir de óxido de mercurio (II) HgO sólido marca Merck con un 93% de pureza.

Los experimentos fueron realizados utilizando el sistema de flujo continuo mostrado en la figura 1, realizados mediante un procedimiento del Laboratorio de Espectroscopia Molecular, utilizando el sistema de flujo continuo¹². Las soluciones de los patrones o la muestra previamente procesada (flujo 6,0 mL/min) se acidifican con HCl 1M y luego esta se combina con el agente reductor NaBH₄ 0,5 % m/v y NaOH 0,25 % m/v, para pasar por los serpentines de mezclado y reacción L1 (5 cm de longitud) y L2 (5 cm de longitud), para la generación de las especies volátiles de mercurio. Luego de esto las especies metilmercurio y óxido de mercurio generadas son separadas de la fase líquida y transportadas con la ayuda del gas de arrastre (Nitrógeno, 150 mL/min) hacia la celda de cuarzo, para luego medir la absorbancia de los átomos del analito.

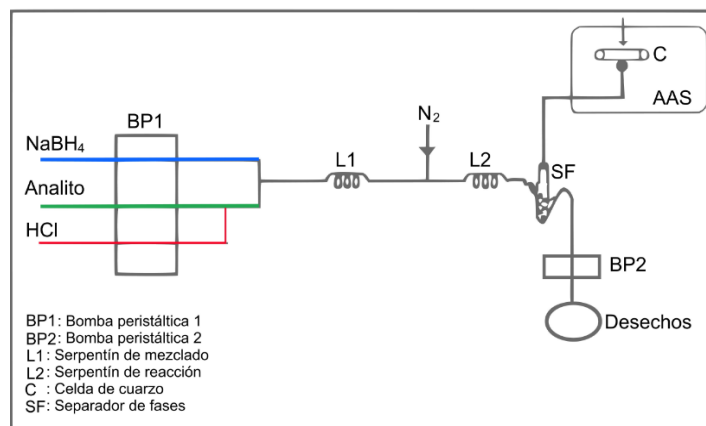


Fig. 1: Sistema de flujo continuo empleado en los experimentos realizados.

En la planificación del muestreo, se estimó el número de muestras utilizando una fórmula del tamaño de muestra para un diseño experimental de muestreo, considerando la desviación estándar y el error muestral para un intervalo de confianza del 95%. Esto indicó que, para un área de media hectárea, era necesario recolectar entre 13 y 14 muestras de suelo en cada zona estudiada¹³. Las muestras fueron recolectadas de forma estratificada para observar la distribución del mercurio en el suelo de cada estrato. Se tomaron dos estratos: de 0-15 cm y de 15-30 cm desde la superficie. Se recolectó 1 Kg de muestra con un barreno, esta fue envasada y transportada en una bolsa plástica para posteriormente ser tamizada y usada en la optimización y análisis para la determinación de mercurio en suelo, en cuanto a los mapas temáticos de distribución de concentración de mercurio se realizaron con el software ArcGIS versión 9. X y QGIS.

Resultados

Optimización de los parámetros experimentales.

El método de análisis propuesto requiere optimizar el proceso de digestión del suelo para extraer el mercurio. Para ello, se utilizó un diseño experimental multivariado, partiendo de un conjunto de muestras de suelo recolectadas en

minas inactivas. En el caso del desarrollo de esta investigación se utilizó un diseño factorial de 2 niveles con 5 factores: 2^5 , lo que significa que considera 2 niveles que serán evaluados a 5 factores cada uno, desarrollando un total de 28 experimentos. En este caso los factores que se evaluaron son: masa de la muestra (g), volumen de ácido (mL), tiempo de digestión 1 (min), temperatura de digestión ($^{\circ}\text{C}$), y tiempo de digestión 2 (min). Para construir el diseño factorial seleccionado 2^5 , se utilizó el software Statgraphics Centurion XVII.

Una vez realizado los distintos experimentos, utilizando una solución de mercurio que posee una concentración de $4\ \mu\text{g/L}$, los resultados obtenidos (absorbancias) se evaluaron mediante un análisis de varianza (tabla 1). Este estudio descompone la variabilidad de absorbancia en fragmentos separados para cada uno de los efectos comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental.

Tabla 1. Análisis de Varianza para absorbancia.

Fuente	G1	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: MASA DE MUESTRA	1	0,000152161	8,65	0,0572
B: VOLUMEN DE ÁCIDO	1	0,000391111	1,91	0,4174
C: TIEMPO DE DIGESTIÓN 1	1	0,00072425	3,53	0,2096
D: TEMPERATURA DE DIGESTIÓN	1	0,000315728	1,54	0,1022
E: TIEMPO DE DIGESTIÓN 2	1	0,000437829	2,14	0,2545
AB	1	0,0023472	11,45	0,4301
AC	1	0,0019794	9,66	0,0117
AD	1	0,0000726534	8,35	0,0171
AE	1	0,000328694	1,60	0,5703
BC	1	0,000191286	0,93	0,9524
BD	1	0,000595862	2,91	0,3662
BE	1	0,0001787	0,87	0,1320
CD	1	0,0000541702	0,26	0,4562
CE	1	0,000144571	0,71	0,6230
DE	1	0,000038343	0,19	0,4977
Error total	7	0,00020496		0,3990
Total (corr.)	27			

En este análisis se presenta un factor que tiene un valor-P menor que 0,05, indicando que es significativamente diferente de cero con un nivel de confianza del 95 %, siendo este factor la masa de la muestra. Las interacciones que resultaron significativas son: masa con tiempo de digestión y masa con temperatura de digestión, esto debido a que es necesario un mayor tiempo de digestión y una temperatura elevada para que ocurra la digestión del suelo. En la figura 2, el diagrama de Pareto permite estudiar la variación y correlaciones entre los parámetros en forma gráfica, se observa que la interacción entre masa con volumen y masa con tiempo de digestión 1 son los efectos que explican el sistema, ya que ellos son los que superan el límite

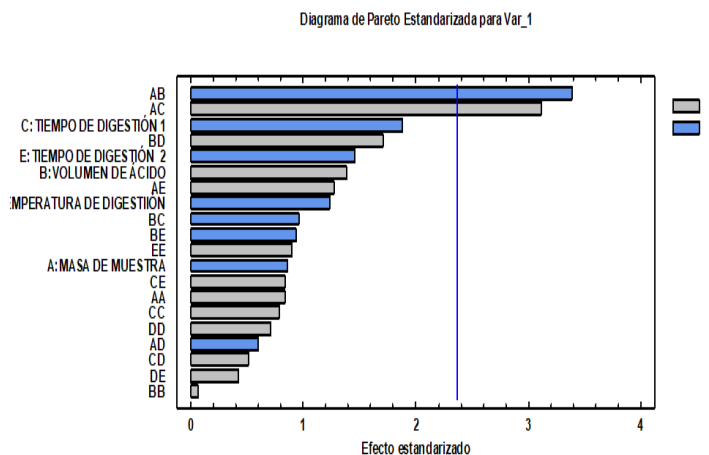


Fig. 2: Diagrama de Pareto. Diseño factorial 2^5

de tolerancia (línea azul en el Diagrama) con un 95 % de confianza.

Finalmente, los resultados arrojados por el algoritmo utilizado en cuanto a los valores observados y predichos, que permite la selección de los tratamientos adecuados para el análisis propuesto. Por ello, el procedimiento final recomendado consta en pesar una masa de muestra de $0,2503\ \text{g}$, agregar un volumen de ácido nítrico de $10\ \text{mL}$, colocar a digerir con un tiempo de $120\ \text{min}$, y temperatura para la digestión de $35\ ^{\circ}\text{C}$, seguidamente se coloca a temperatura ambiente durante un tiempo de digestión de $60\ \text{min}$.

Validación del método.

Una vez identificados todos los parámetros que influyen en el tratamiento de la muestra, se procede a establecer las figuras de mérito del método, así como los correspondientes estudios de precisión y exactitud¹⁴.

Características analíticas del método propuesto (figuras de mérito).

La curva de calibración se construyó para verificar que la respuesta instrumental del equipo se mantenga dentro de los mismos niveles de sensibilidad. Es utilizada para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, sobre todo en disoluciones. El método se basa en la relación proporcional entre la concentración y una determinada señal analítica¹⁵. Conociendo esta relación será posible conocer la concentración en una muestra dada mediante la medida de esa señal. Se realizó una curva de calibración sencilla para la determinación de mercurio, partiendo del patrón individual, para las 6 diferentes concentraciones en ppb ($0,5, 1, 2, 4, 6$ y $8\ \mu\text{g/L}$). Por otra parte, con el objetivo de minimizar los efectos de la matriz, se utiliza el método de adición de estándar el cual consiste en la adición de un volumen fijo de la muestra a las soluciones estándares diluyendo a un volumen final constante.

Bajo las condiciones experimentales descritas anteriormente se presenta una tabla 2 con las figuras de mérito del método utilizado para la determinación de mercurio en suelo.

Tabla 2. Características analíticas del método utilizado.

Parámetro	Valor establecido
Límite de detección	0,15 µg/L
Límite de cuantificación	0,5 µg/L
Intervalo lineal	(0,5-8) µg/L

En cuanto a las curvas de calibración sencilla y adición estándar se presenta la siguiente tabla 3.

Tabla 3. Resultados de curva de calibración sencilla y curva de adición estándar 1

Curva de calibración sencilla		Curva de adición estándar	
Pendiente (m)	(0,0102 ± 0,0008)	Pendiente (m)	(0,0097 ± 0,0001)
Corte (b)	(0,0010 ± 0,0003)	Corte (b)	(0,0509 ± 0,0002)
Coefficiente de Determinación Lineal (r²)	0,9996	Coefficiente de Determinación Lineal (r²)	0,9991

Se llevó a cabo un estudio estadístico con el fin de comparar la pendiente entre la curva de calibración sencilla y la curva de adición estándar. El estudio efectuado corresponde al estadístico “t” de Student, el cual consiste en la asociación de dos variables comparando dos coeficientes de regresión o pendientes para estimar con un 95 % de confianza¹⁶. Una vez aplicado la prueba estadística se tiene que la zona de aceptación (ZA) para hipótesis de igualdad de las pendientes: ZA: {0,44 < 2,12} Debido a que el valor de “t” calculado es menor que el “t” teórico, se acepta la hipótesis nula de igualdad de pendientes indicando que no existe diferencia significativa entre las pendientes bajo evaluación, asimismo se puede indicar que el método propuesto está libre de interferencias de tipo físico y químico por parte de la matriz¹⁷. Esto se ve favorecido por la técnica de Generación de Vapor Frío, que le aporta más especificidad al método propuesto, ya que son muy pocos los metales que forma este tipo de especies volátiles.

Estudios de precisión: La precisión del método se evaluó a través de la desviación estándar relativa (RSD), para ello se procedió a realizar el cálculo de los valores de una muestra de suelo certificada Standard Reference Sample S3 River Sediment N° 07, a tres distintas concentraciones 2, 4 y 6 µg/L. Se realizó el proceso de medida por triplicado con el método antes mencionado, posteriormente en la tabla 4 se pueden observar las concentraciones con su desviación estándar relativa. Los resultados de la desviación estándar relativa porcentual se encuentran en 1 %.

Adicional se realizó una medición por triplicado con la metodología anteriormente descrita durante 10 días para un total de 30 réplicas, en la tabla 05 se observa las concentraciones con su desviación estándar relativa. Los resultados de la desviación estándar relativa porcentual se encuentran en 1%.

Tabla 4. Valores de una muestra de suelo certificada Standard Reference Sample S3 River Sediment N° 07, a tres distintas concentraciones 2, 4 y 6 µg/L.

Porcentaje %	Concentración (µg/L)		
	2*	4*	6*
Réplica 1	(2,02 ± 0,02)	(4,02 ± 0,07)	(6,09 ± 0,07)
Réplica 2	(2,04 ± 0,04)	(4,06 ± 0,04)	(6,08 ± 0,08)
Réplica 3	(2,04 ± 0,04)	(4,08 ± 0,04)	(6,08 ± 0,05)
Promedio %	(2,03 ± 0,02)	(4,05 ± 0,02)	(6,08 ± 0,01)
%RDS	1	1	1

* n = 3, ($\bar{X} \pm DS$)

Tabla 5. Valores de una muestra de suelo certificada Standard Reference Sample S3 River Sediment N° 07, a tres distintas concentraciones 2, 4 y 6 µg/L de 10 réplicas durante 10 días.

Porcentaje %	Concentración (µg/L)		
	2*	4*	6*
Réplica 1	(2,01 ± 0,02)	(4,04 ± 0,06)	(6,07 ± 0,02)
Réplica 2	(2,04 ± 0,03)	(4,04 ± 0,07)	(6,08 ± 0,04)
Réplica 3	(2,03 ± 0,03)	(4,06 ± 0,05)	(6,08 ± 0,03)
Réplica 4	(2,04 ± 0,04)	(4,06 ± 0,06)	(6,07 ± 0,06)
Réplica 5	(2,04 ± 0,04)	(4,07 ± 0,04)	(6,07 ± 0,02)
Réplica 6	(2,03 ± 0,03)	(4,06 ± 0,04)	(6,08 ± 0,02)
Réplica 7	(2,04 ± 0,02)	(4,07 ± 0,05)	(6,10 ± 0,03)
Réplica 8	(2,04 ± 0,02)	(4,06 ± 0,05)	(6,05 ± 0,04)
Réplica 9	(2,05 ± 0,02)	(4,06 ± 0,06)	(6,06 ± 0,04)
Réplica 10	(2,05 ± 0,02)	(4,07 ± 0,06)	(6,07 ± 0,03)
Promedio %	(2,04 ± 0,01)	(4,06 ± 0,02)	(6,07 ± 0,02)
%RDS	1	1	1

* n = 10, ($\bar{X} \pm DS$)

En cuanto a los estudios de exactitud se procedió a realizar el cálculo de los porcentajes de recuperación a tres muestras de suelo certificado Standard Reference Sample S3 River Sediment N° 07. Así como se observa en la siguiente tabla 6. Allí el error porcentual relativo se encuentra entre 2 y 3 %, además se observa los porcentajes de recuperación los cuales se encuentran entre 102 y 104% con respecto a la muestra real.

Tabla 6. Valores de porcentajes de recuperación de muestra certificada.

Porcentaje %	Concentración (µg/L)		
	2*	4*	6*
Réplica 1	(103 ± 1)	(102 ± 1)	(102 ± 2)
Réplica 2	(102 ± 1)	(103 ± 1)	(102 ± 1)
Réplica 3	(104 ± 1)	(103 ± 1)	(104 ± 1)
Promedio %	(103 ± 1)	(103 ± 1)	(102 ± 2)
Error porcentual relativo	2	3	3

* n = 3, (% de recuperación ± DS)

Análisis del contenido de mercurio en las muestras de suelo en las minas inactivas de Puente Roto y El Arenal.

El método validado se aplicó satisfactoriamente para determinar la concentración de mercurio en suelos para las minas inactivas El Arenal y Puente Roto. A continuación, se presenta en las siguientes tablas los resultados de las determinaciones de mercurio en las muestras de suelo de la mina inactiva El Arenal, la cual fue dividida en dos zonas y evaluada en dos intervalos de profundidad, ya que se desea conocer la distribución de mercurio en los distintos perfiles de suelo y en las distintas zonas. De esta forma, las tablas con los resultados de la primera zona de la mina El Arenal son las tablas 7 y 8.

Tabla 7. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva El Arenal en el 1er sitio de (0-15) cm de profundidad.

Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MEA1IS01	(200,4 ± 9,2)	MEA1IS08	(190,8 ± 11,6)
MEA1IS02	(233,6 ± 6,8)	MEA1IS09	(228,4 ± 7,2)
MEA1IS03	(203,6 ± 6,8)	MEA1IS10	(236,4 ± 7,2)
MEA1IS04	(200,0 ± 5,2)	MEA1IS11	(154,4 ± 4,4)
MEA1IS05	(200,0 ± 5,2)	MEA1IS12	(195,2 ± 6,8)
MEA1IS06	(156,8 ± 3,8)	MEA1IS13	(182,0 ± 7,2)
MEA1IS07	(198,8 ± 8,8)		

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

Tabla 8. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva El Arenal en el 1er sitio con (15-30) cm de profundidad.

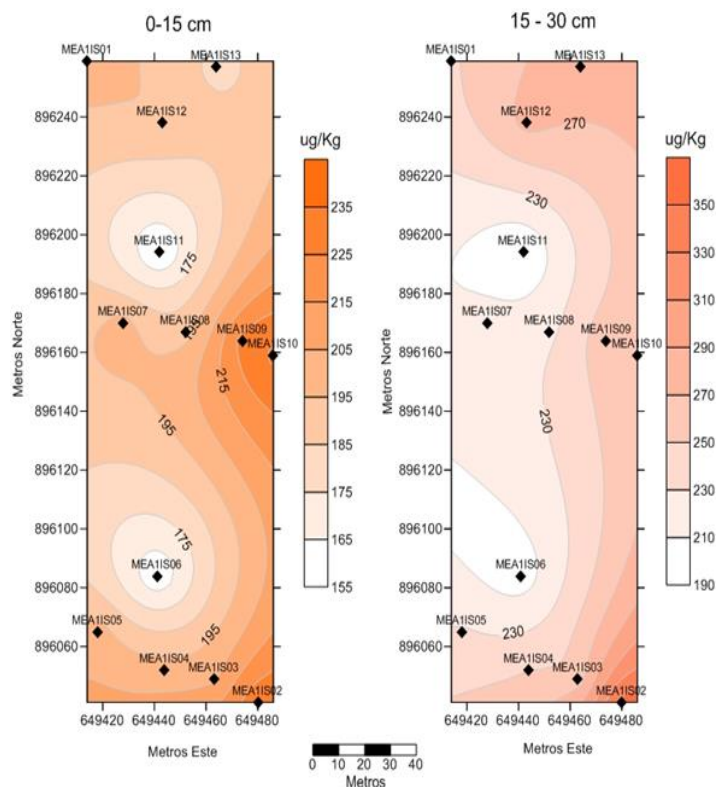
Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MEA1IIS01	(247,2 ± 5,2)	MEA1IIS08	(225,6 ± 4,4)
MEA1IIS02	(359,2 ± 5,6)	MEA1IIS09	(263,6 ± 7,2)
MEA1IIS03	(258,8 ± 6,4)	MEA1IIS10	(267,6 ± 5,6)
MEA1IIS04	(250,0 ± 11,2)	MEA1IIS11	(191,2 ± 4,8)
MEA1IIS05	(232,4 ± 5,2)	MEA1IIS12	(275,6 ± 6,4)
MEA1IIS06	(199,6 ± 8,4)	MEA1IIS13	(274,4 ± 6,4)
MEA1IIS07	(218,4 ± 4,8)		

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

Realizando una representación gráfica de los niveles de mercurio en las figuras 3 y 4 para la mina de El Arenal en la primera zona, diferenciando dos rangos de profundidad, que va de color naranja oscuro que significa concentraciones altas de mercurio a naranja claro que son concentraciones bajas de mercurio, se obtienen los mapas de las figuras 3 y 4.

Por su parte, en las tablas 9 y 10 se presentan los resultados de las determinaciones de mercurio en las muestras de suelo del segundo sitio de la mina inactiva El Arenal.

Por otro lado, al realizar una representación gráfica de los niveles de mercurio en la figura 5 y 6 para la segunda zona de la mina de El Arenal, diferenciando dos rangos de profundidad, que va de color naranja oscuro que significa concentraciones altas de mercurio a naranja claro que son concentraciones bajas



Figs. 3 y 4: Mapas temáticos para las concentraciones de mercurio en las muestras de suelo a (0-15) cm de profundidad (izquierda) y (15-30) cm de profundidad (derecha) en la primera zona de la mina El Arenal.

Tabla 9. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva El Arenal en el segundo sitio a una profundidad de (0-15) cm.

Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MEA2IS01	(326,0 ± 10,2)	MEA2IS07	(262,4 ± 16,0)
MEA2IS02	(290,0 ± 12,3)	MEA2IS08	(251,2 ± 11,4)
MEA2IS03	(296,4 ± 15,2)	MEA2IS09	(302,4 ± 14,8)
MEA2IS04	(327,2 ± 16,9)	MEA2IS10	(346,4 ± 11,6)
MEA2IS05	(256,4 ± 12,8)	MEA2IS11	(347,6 ± 12,0)
MEA2IS06	(276,4 ± 14,6)	MEA2IS12	(348,8 ± 12,8)

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

Tabla 10. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva El Arenal en el 2do sitio con (15-30) cm de profundidad.

Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MEA2IIS01	(371,6 ± 8,8)	MEA2IIS07	(300,4 ± 12,8)
MEA2IIS02	(332,4 ± 10,2)	MEA2IIS08	(304,8 ± 16,3)
MEA2IIS03	(302,4 ± 16,4)	MEA2IIS09	(342,0 ± 16,3)
MEA2IIS04	(376,8 ± 15,2)	MEA2IIS10	(374,0 ± 15,5)
MEA2IIS05	(292,8 ± 12,4)	MEA2IIS11	(383,2 ± 12,8)
MEA2IIS06	(339,6 ± 10,8)	MEA2IIS12	(386,0 ± 10,6)

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

de mercurio, se obtienen los mapas de las figuras 5 y 6.

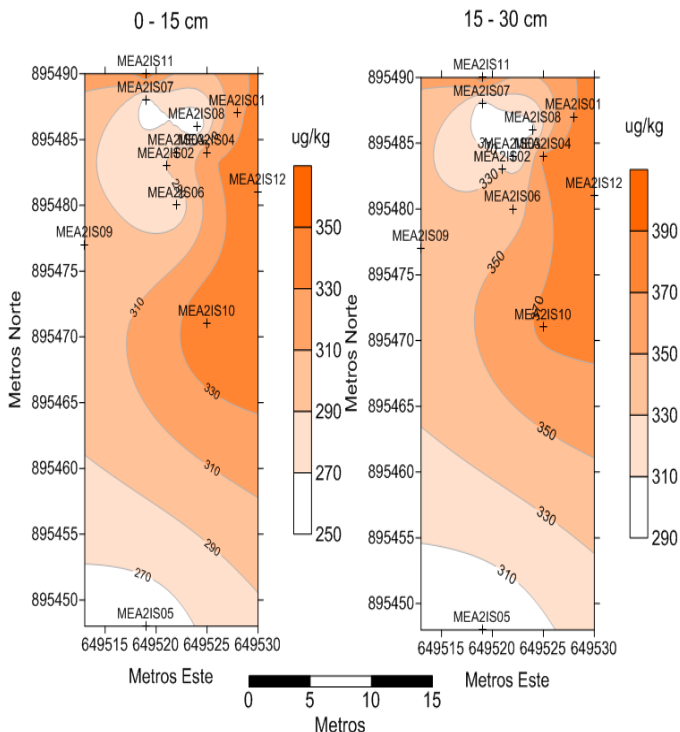


Fig. 5 y 6: Mapas temáticos para las concentraciones de mercurio en las muestras de suelo a (0-15) cm de profundidad (izquierda) y (15-30) cm de profundidad (derecha) en la segunda zona de la mina El Arenal.

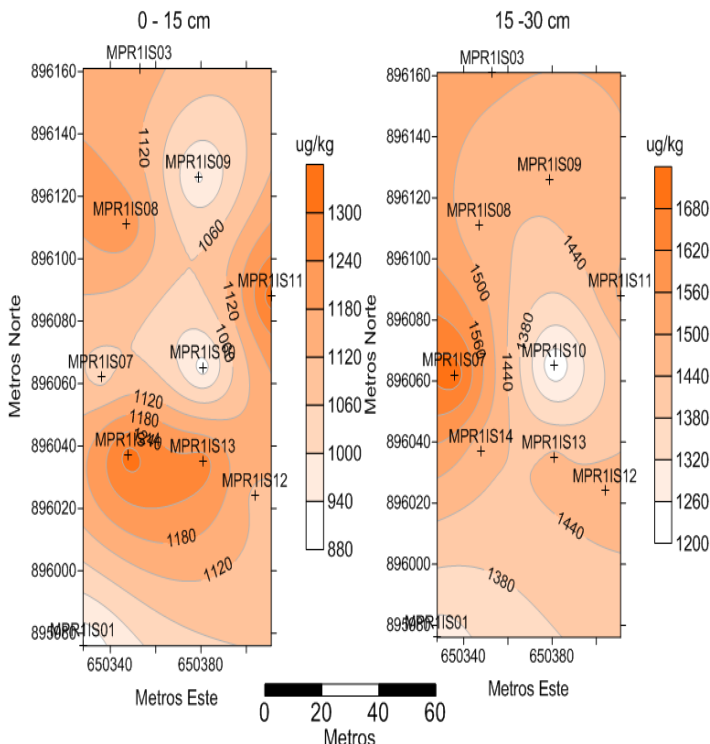


Fig. 7 y 8: Mapas temáticos para las concentraciones de mercurio en las muestras de suelo a (0-15) cm de profundidad (izquierda) y (15-30) cm de profundidad (derecha) en la zona de la mina Puente Roto.

Seguidamente se presenta en las siguientes tablas 11 y 12 los resultados de las determinaciones de mercurio en las muestras de suelo de la mina inactiva Puente Roto.

Tabla 11. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva Puente Roto a (0-15) cm de profundidad.

Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MPR1IS01	(890,4 ± 14,8)	MPR1IS08	(1231,2 ± 22,2)
MPR1IS02	(1097,6 ± 21,6)	MPR1IS09	(927,6 ± 24,6)
MPR1IS03	(1157,2 ± 20,4)	MPR1IS10	(912,4 ± 26,8)
MPR1IS04	(1223,6 ± 20,0)	MPR1IS11	(1334,8 ± 26,8)
MPR1IS05	(1401,6 ± 21,2)	MPR1IS12	(1105,2 ± 19,6)
MPR1IS06	(912,4 ± 22,4)	MPR1IS13	(1268,0 ± 20,4)
MPR1IS07	(1038,4 ± 21,2)	MPR1IS14	(1327,6 ± 20,4)

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

Tabla 12. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de suelo tomados en la mina inactiva Puente Roto con (15-30) cm de profundidad.

Código	Concentración (µg/Kg)*	Código	Concentración (µg/Kg)*
MPR1IIS01	(1290,4 ± 20,4)	MPR1IIS08	(1460,8 ± 20,2)
MPR1IIS02	(1527,6 ± 22,8)	MPR1IIS09	(1453,2 ± 24,7)
MPR1IIS03	(1512,4 ± 25,6)	MPR1IIS10	(1208,8 ± 20,8)
MPR1IIS04	(1638,4 ± 24,2)	MPR1IIS11	(1512,4 ± 26,7)
MPR1IIS05	(1720,0 ± 22,8)	MPR1IIS12	(1460,8 ± 23,5)
MPR1IIS06	(1386,8 ± 22,8)	MPR1IIS13	(1453,2 ± 24,4)
MPR1IIS07	(1720,0 ± 26,4)	MPR1IIS14	(1460,8 ± 26,6)

* n = 5, ($\bar{X} \pm DS$)

Finalmente se realiza una representación gráfica de los niveles de mercurio en las figuras 7 y 8 para la mina inactiva Puente Roto, diferenciando dos rangos de profundidad, que va de color naranja oscuro que significa concentraciones altas de mercurio a naranja claro que son concentraciones bajas de mercurio, se obtienen los siguientes mapas:

Realizando una prueba estadística ANOVA de dos factores¹⁸, para determinar si la media de concentración de mercurio es igual en cada zona en los dos intervalos de profundidad, se obtiene como resultado que la varianza en los dos intervalos de profundidad es diferente en cada una de las zonas, los resultados son presentados en la tabla 13.

Tabla 13. Resultados del estadístico ANOVA de dos factores para cada una de las zonas de suelo estudiadas a un 95% de confianza.

Zona	Valor calculado para F	Valor crítico para F	Interpretación
Zona 1 El Arenal (0-15) cm	14,72	4,26	Existe una diferencia significativa en la varianza según la profundidad.
Zona 1 El Arenal (15-30) cm			
Zona 2 El Arenal (0-15) cm	7,26	4,30	Existe una diferencia significativa en la varianza según la profundidad.
Zona 2 El Arenal (15-30) cm			
Zona Puente Roto (0-15) cm	34,77	4,23	Existe una diferencia significativa en la varianza según la profundidad.
Zona Puente Roto (15-30) cm			

Así mismo, al realizar la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales se puede observar que hay diferencia significativa entre las medias, reafirmando el análisis de los mapas temáticos, de forma que se concluye que la distribución del mercurio en la superficie no es uniforme y existen grandes gradientes de concentración entre las dos profundidades, esto es indicado en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados de prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales para las zonas de suelo en estudio.

Zona	Valor calculado para t	Valor crítico para t	Interpretación
Zona 1 El Arenal (0-15) cm	3,83	2,09	Existe una diferencia significativa en la media según la profundidad.
Zona 1 El Arenal (15-30) cm			
Zona 2 El Arenal (0-15) cm	2,69	2,07	Existe una diferencia significativa en la media según la profundidad.
Zona 2 El Arenal (15-30) cm			
Zona Puente Roto (0-15) cm	5,90	2,05	Existe una diferencia significativa en la media según la profundidad.
Zona Puente Roto (15-30) cm			

Discusión de resultados

Para el análisis propuesto se utilizó una metodología optimizada a través de un diseño experimental multivariado de 2 niveles con 5 factores. Los parámetros óptimos fueron una masa de muestra de 0,2503 g, un volumen de ácido nítrico de 10 mL, tiempo de digestión 1 de 120 min, temperatura de digestión de 35 °C y tiempo de digestión 2 de 60 min. Esta metodología fue validada y los estudios de precisión arrojaron una desviación estándar relativa porcentual del 1%. En cuanto a los estudios de exactitud, utilizando una muestra certificada (Standard Reference Sample S3 River Sediment N° 07), se observaron porcentajes de recuperación entre el 102% y el 104% con respecto a la muestra real.

Posteriormente, se realizó el análisis del contenido de mercurio en las muestras de suelo de las minas inactivas de Puente Roto y El Arenal. En el primer sitio de El Arenal, a una profundidad de (0 – 15) cm, se encontraron concentraciones entre 156,8 y 236,4 µg/Kg. Por otra parte, a una profundidad de (15 – 30) cm, se encontraron concentraciones entre 191,2 y 275,6 µg/Kg, siendo estos valores permitidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).

En cuanto al segundo sitio de la mina inactiva El Arenal, se encontraron concentraciones a una profundidad de (0 – 15) cm entre 251,2 y 348,8 µg/Kg. Por otro lado, a una profundidad de (15 – 30) cm, se encontraron valores de concentración entre 292,8 y 386,0 µg/Kg. Para finalizar, en la mina inactiva Puente Roto se encontraron concentraciones a profundidades de (0 – 15) cm entre 890,4 y 1401,6 µg/Kg. A una profundidad de (15 – 30) cm, se encontraron concentraciones entre 1290,4 y 1720,0 µg/Kg. Superando de esta manera los niveles

permitidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Como se puede observar, la mina inactiva Puente Roto presenta valores más elevados que los dos sitios de la mina inactiva El Arenal. Esto es probablemente debido a que la mina inactiva Puente Roto es de reciente inactivación con respecto a los otros dos sitios.

La mina inactiva Puente Roto, al haber cesado sus operaciones recientemente, es probable que aún contenga niveles elevados de contaminantes debido a la menor cantidad de tiempo disponible para los procesos naturales de degradación y dispersión de los residuos mineros. La reciente inactivación significa que los metales pesados y otros contaminantes no han tenido suficiente tiempo para ser transportados o diluidos en el entorno circundante.

Por otro lado, los sitios de la mina inactiva El Arenal han estado inactivos durante un período más prolongado, permitiendo que los procesos naturales, como la erosión, la lixiviación y la dispersión, reduzcan las concentraciones de contaminantes en el suelo y el agua de la región¹⁹. Además, la vegetación podría haber comenzado a recolonizar el área, lo que ayuda en la estabilización del suelo y en la absorción de algunos contaminantes.

Otro factor importante que considerar es la diferencia en las prácticas de manejo ambiental entre las dos minas. Es posible que la mina Puente Roto no haya implementado medidas de mitigación adecuadas durante y después de su operación, lo que resulta en mayores concentraciones de contaminantes en comparación con la mina El Arenal. La adecuación de las prácticas de cierre y la restauración ambiental también juegan un papel crucial en la diferencia observada en los valores de contaminación.

Con los resultados obtenidos para las muestras de suelo de las minas El Arenal y Puente Roto, se nota inmediatamente que las zonas sometidas al estudio se encuentran altamente contaminadas por mercurio con niveles superiores a los establecidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con un intervalo de 70 hasta 300 microgramos de mercurio por kilogramo de suelo²⁰, además de que todas las muestras sometidas a análisis contienen al metal pesado en una concentración cuantificable con el método empleado.

Al realizar una representación gráfica de los niveles de mercurio para la mina de El Arenal en la primera zona y segunda zona, además de la mina Puente Roto, diferenciando dos rangos de profundidad, que va de color naranja oscuro que significa concentraciones altas de mercurio a naranja claro que son concentraciones bajas de mercurio, se puede observar una diferencia entre profundidades (0 – 15) cm y (15 - 30) cm, esto debido a que el mercurio puede moverse a través del suelo con el agua de lluvia infiltrándose a capas más profundas. Así mismo el mercurio tiende a adherirse a partículas de suelo y materia orgánica, que pueden estar más concen-

tradas en capas inferiores²¹. Además de ello en áreas con actividad minera prolongada, el mercurio puede haberse acumulado en capas más profundas con el tiempo.

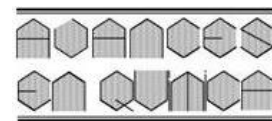
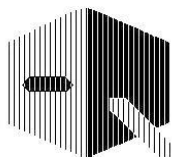
Por otra parte en cuanto al análisis de muestras de suelo en las tres zonas que estaban comprendidas entre la mina inactiva El Arenal y Puente Roto, presentes en el Municipio Padre Pedro Chien, se hizo evidente que la distribución del mercurio en las minas de El Arenal y Puente Roto varía significativamente con la profundidad resultando que estas se encuentran altamente contaminadas por mercurio con niveles superiores a los establecidos por los programas de protección ambiental de las Naciones Unidas.

Conclusiones

Se desarrolló un método para la determinación de mercurio de suelos afectados por la actividad minera, a través de un diseño experimental multivariado de dos niveles con cinco factores. El método optimizado demostró ser sensible, preciso y exacto. Se observó que hay diferencia significativa entre las medias, reafirmando el análisis de los mapas temáticos, concluyéndose que la distribución del mercurio en la superficie no es uniforme y existen grandes gradientes de concentración entre las dos profundidades estudiadas.

Referencias

- World Health Organization. Mercury. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>. Consultado: 24/10/2024.
- M López. Gestión de los residuos y suelos contaminados provenientes de la minería metálica: aspectos técnicos, problemas ambientales y marco normativo. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena, España (2016). DOI: 10.31428/10317/5397
- Convenio de Minamata sobre el mercurio. Disponible en: <https://minamataconvention.org/es/datos-clave-sobre-la-interrelacion-entre-biodiversidad-y-contaminacion-por-mercurio#:~:text=La%20contaminaci%20por%20mercurio%20puede.el%20declive%20de%20las%20poblaciones>. Consultado: 24/10/2024.
- A Salvador, A Alcaide, C Sánchez, L Salvador. Evaluación de impacto ambiental. Pearson Educación, 55-65 (2005).
- A Valenzuela, C Lucumi. Caracterización de efluentes y diques en la planta de beneficio “San Juan” del municipio de Suarez Cauca como insumo de posibles alternativas de mitigación y control de los impactos generados por el mercurio. Tesis doctoral, Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad Autónoma del Cauca, Colombia (2017).
- R Dueñas. Utilización de dragas y su impacto en la contaminación ambiental en la Unidad Minera Vasquez Oeste, provincia Manu, Región Madre de Dios—año 2020. Tesis doctoral, Universidad Andina del Cusco, Perú (2023).
- G Bigham, B Henry, B Bessinger. Mercury. **Environmental Forensics**, 1-17 (1964). DOI: 10.1016/b978-012507751-4/50023-9.
- D Streets, M Devane, Z Lu, *et al.* All-Time Releases of Mercury to the Atmosphere from Human Activities. **Environmental Science & Technology**, **45(24)**, 10485-10491 (2011). DOI: 10.1021/es202765.
- UN Environment Programme. Mercury has long poisoned gold miners. This new strategy is helping change that. Disponible en: <https://www.unep.org/news-and-stories/story/mercury-has-long-poisoned-gold-miners-new-strategy-helping-change>. Consultado: 24/10/2024.
- M Martínez. Evolución del contenido en partículas totales en suspensión y en los metales, plomo, cinc, cadmio, cobre, hierro y manganeso, en el aerosol atmosférico de Cartagena, durante el periodo 1995-2000. Tesis de grado, Universidad Politécnica de Cartagena, España (2009).
- S Cano. Mercury contamination due to mining activities. **Biomédica**, **32(3)**, 309-11, (2012). DOI: 10.1590/s0120-41572012000300001.
- Universidad Nacional Agraria de Nicaragua y Catholic Relief Services. Guía Técnica para Muestreo de Suelos (2017). DOI: <https://repositorio.una.edu.ni/3613/1/P33M539.pdf>.
- G Christian. Flow analysis and its role and importance in the analytical sciences. **Analytica Chimica Acta**, **499(1-2)**, 5-8 (2003). DOI: 10.1016/s0003-2670(03)00360-x.
- Waters. Guide to Analytical Method Validation. Disponible en: https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720001826_en.pdf.
- S Crouch, F Holler, D Skoog. Principios de análisis instrumental. Cengage Learning Editores, Ciudad de México (2018).
- JN Miller, JC Miller. Estadística y quimiometría para química analítica. Prentice Hall, Ciudad de México (2002).
- W Zhou, S Yang, P Wang. Matrix effects and application of matrix effect factor. **Bioanalysis**, **9(23)**, 1839-1844, (2017). DOI: 10.4155/bio-2017-0214.
- M Park, M Kim, Y Hong. The kinetics of mercury vaporization in soil during low-temperature thermal treatment. **Geoderma**, **363**, 114150, (2020). DOI: 10.1016/j.geoderma.2019.114150.
- UN Environment Programme. Mercury is a chemical element that is harmful to human health and the environment. Disponible en: <https://www.unep.org/topics/chemicals-and-pollution-action/pollution-and-health/heavy-metals/mercury>. Consultado: 24/10/2024
- Instrumental Analysis and Calibration. Disponible en: <https://sites.utoronto.ca/chemistry/coursenotes/analsci/stats/12tailed.html>. Consultado: 24/10/2024.
- A Vielma, P Carrero, C Rondón, M Medina. Comparación del contenido de minerales y elementos trazas en la harina de lombriz de tierra (*Eisenia foetida*) utilizando dos métodos de secado. **Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente**, **19(1)**, 83-89 (2007).



A synthetic approach toward symmetrically substituted 1,4-bis(cinnamyl)piperazines

Gheorghe Roman*, Mihaela Balan-Porcărașu

Petru Poni Institute of Macromolecular Chemistry, Iași 700847, Romania

(*): gheorghe.roman@icmpp.ro

Recibido: 05/12/2024

Revisado: 27/12/2024

Aceptado: 31/12/2024

Abstract

A three-step pathway has been designed for the preparation of symmetrically substituted 1,4-bis(cinnamyl)piperazines starting from β -amino ketones. The approach comprises the bis-*N*-alkylation of piperazine with hydrochlorides of dimethylamine-based ketone Mannich bases, reduction of the resulting piperazine-containing amino ketones with NaBH_4 , and subsequent acid-catalyzed dehydration of the intermediate secondary γ -amino alcohols. The proposed method for obtaining the title piperazines has been validated through the synthesis of four analogs having either phenyl, or 4-chlorophenyl, or 4-bromophenyl or 2-naphthalenyl moieties as the aromatic part of the cinnamyl fragment.

Keywords: Mannich bases; Reduction; Amino alcohols; Dehydration

Resumen

Un enfoque sintético para la obtención de 1,4-bis(cinamil)piperazinas sustituidas simétricamente. Se ha diseñado una vía de tres pasos para la preparación de 1,4-bis(cinamil)piperazinas sustituidas simétricamente a partir de β -aminocetonas. El enfoque comprende la bis-*N*-alquilación de piperazina con clorhidratos de bases de Mannich de cetonas basadas en dimetilamina, la reducción de las aminocetonas resultantes que contienen piperazina con NaBH_4 y la posterior deshidratación catalizada por ácido de los γ -aminoalcoholes secundarios intermedios. El método propuesto para obtener las piperazinas del título se ha validado mediante la síntesis de cuatro análogos que tienen restos fenilo, 4-clorofenilo, 4-bromofenilo o 2-naftalenilo como parte aromática del fragmento cinamilo.

Palabras claves: bases de Mannich; reducción; aminoalcoholes; deshidratación

Introduction

An important number of synthetic substances feature piperazine as part of their molecular structure, and piperazine derivatives are essential components of many industrial products (such as plastics, resins, pesticides, components for brake fluids, etc.). Many synthetic piperazine-containing compounds exhibit important pharmacological properties¹⁻⁵. Piperazine is the core structure in currently marketed drugs for the treatment of *angina pectoris* (ranolazine, trimetazidine), allergic rhinitis (levocetirizine), nausea, vomiting, and dizziness caused by motion sickness (meclizine, cinnarizine), erectile dysfunction (sildenafil, vardenafil), or various types of cancer (imatinib). In addition, several in-use antibiotics belonging to fluoroquinolones (ciprofloxacin, norfloxacin), along with macrocyclic antibiotics rifampicine and rifapentine, or oxazolidinone antibiotic ranbezolid present a piperazine moiety in their structure. More importantly, piperazine-containing drugs are used for the treatment of mental and neuropsychological disorders such as major depressive disorder, anxiety disorders or addiction (e.g., buspirone, trazodone, vortioxetine), or in medication primarily

used to manage psychosis (aripiprazole, olanzapine, prochlorperazine). While nowadays research directed to the discovery of novel antipsychotics and antidepressants still places piperazine highly amongst the scaffolds to be incorporated into the structures of drug candidates^{6,7}, piperazines have emerged as molecular fragments in a number of drug candidates developed as substances with antidiabetic activity⁸, molecules with analgesic and anti-inflammatory action⁹, antivirals and HIV-inhibitors^{10,11}, anticancer agents^{12,13}, trypanomicide compounds¹⁴, hybrids with anti-mycobacterial activity¹⁵ or antioxidant properties¹⁶. Amongst these drug candidates that feature a broad molecular diversity, examples of several *N*-cinnamylpiperazines can be encountered in libraries developed for the inhibition of proliferation of pancreatic cancer cells¹⁷, in a collection of compounds with anti-convulsant activity¹⁸, as substances that could be incorporated as tyrosinase and melanin inhibitors in depigmentation drugs with minimum side effects¹⁹, as GPR4 receptor modulators for treating angiogenesis, pain, autoimmune and inflammatory diseases²⁰, in a series of antibacterial compounds that inhibit the formation of biofilms²¹, in a study aiming at developing derivatives of Incentrom A (1-(9H-carba-

zol-9-yl)-3-(4-cinnamylpiperazin-1-yl)propan-2-ol) as small molecules that perturb the normal functioning of centromere (a specialized chromosomal structure responsible for accurate chromosome segregation) in *Saccharomyces cerevisiae*²², in libraries of derivatives of bile acid capable of inducing pro-apoptotic processes in several cancer cell lines²³, or as potential candidates for the reversal of P-gp-dependent multidrug resistance in cancer chemotherapy²⁴. On the other hand, piperazine-containing compounds have been repurposed from less effective anti-depressant agents or opioid analgesics to designer drugs meant to evade the legal restrictions of the well-known drugs of abuse²⁵. As part of the last decade's surge in synthetic non-fentanyl opioid psychoactive substances, several novel recreational drugs that have an *N*-cinnamylpiperazine fragment have been found on the illicit drug market recently. From a structural point of view, they all appear to be close analogs of bucinnazine (1-butyryl-4-cinnamylpiperazine, (*E*)-1-(4-cinnamylpiperazin-1-yl)-butan-1-one) that have at least one additional methyl group in their structure compared to the prototypical compound^{26,27}.

Several general synthetic approaches have been consistently reported in the literature for the installment of the cinnamyl fragment in the structure of *N*-cinnamylpiperazines **1** (Fig. 1). They rely on the alkylation of piperazine derivatives with cinnamyl halides^{24,28–31}, on the reductive amination of piperazines with cinnamaldehydes^{28,32–34}, and on the reduction of piperazine-containing carboxamides^{35–37}. Because piperazine itself may act as a bifunctional substrate in these reactions, the previously mentioned approaches for the synthesis of mono-substituted cinnamylpiperazines often use a piperazine derivative substituted at one nitrogen atom with a protective group (*e.g.*, *t*-butoxycarbonyl, formyl) which can be easily removed once the cinnamyl moiety is in place. In contrast to the wealth of information on *N*-cinnamylpiperazines and their derivatives, bis(*N,N'*-cinnamyl)piperazines **2** (either symmetrically or unsymmetrically substituted, Fig. 1) are under-represented in scientific literature, as demonstrated by a search that showed that only three distinct compounds **2** (Ar = Ar₁ = C₆H₅; Ar = Ar₁ = 2-H₃COC₆H₄; Ar = C₆H₅, Ar₁ = 2-O₂NC₆H₄) with this structure can be found in five sources (three articles and two patents).

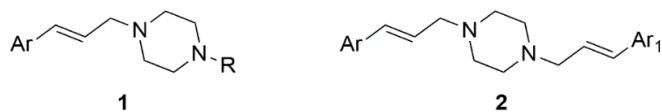


Fig. 1: General structures of *N*-cinnamylpiperazines **1** and bis(*N,N'*-cinnamyl)piperazines **2**.

On the other hand, in the century that has passed since the first report on the aminomethylation of aryl methyl ketones, a rich and diversified chemistry that relates to the Mannich reaction and its products generally known as Mannich bases has become accessible for the synthesis of compounds that could be otherwise difficult to obtain^{38–40}. The use of piperazines as amine reagents in the Mannich reaction has been reported scarcely, and not always in journals that are readily available. Starting from

piperazine-containing ketone bis-Mannich bases, the present study aims at reporting a hitherto unemployed synthetic approach for the preparation of several symmetrically substituted piperazines **2**, and to structurally characterize these compounds that belong to a scarcely known class of compounds.

Experimental

Materials and methods

Piperazine, NaBH₄, glacial acetic acid, aq. 36% HCl and the solvents used for the synthesis and purification of intermediates and final products were purchased from Merck–Sigma–Aldrich and were used without prior purification. Direct aminomethylation of the corresponding aryl methyl ketones with paraformaldehyde and dimethylamine hydrochloride using a method that was previously reported⁴¹ provided the starting ketone Mannich base hydrochlorides **3–6**, whose analysis using NMR spectroscopy confirmed their structure and purity. NMR spectra were recorded on a Bruker Avance NEO spectrometer at 400 MHz, with a 5 mm probe for direct detection of H, C, F, Si. The residual signals of the deuterated solvents were used as internal standard (DMSO-*d*₆: $\delta = 2.51$ ppm for ¹H and $\delta = 39.47$ ppm for ¹³C; CDCl₃: $\delta = 7.26$ ppm for ¹H and $\delta = 77.0$ ppm for ¹³C). The assignment of the signals in the ¹H and ¹³C NMR spectra was based on additional 2D homo- and hetero-nuclear correlation experiments (H,H-COSY, H,C-HSQC and H,C-HMBC). For NMR analysis purposes, the numbering of the carbon atoms in the structure of the compounds reported in this study is given in Scheme 1. Melting points were taken on a Mel Temp II apparatus and are uncorrected. Elemental analysis was performed on a Vario EL III CHNS analyzer.

Synthesis of piperazine-containing amino ketones 7–10

A solution of piperazine (344 mg, 4 mmol) in distilled water (10 mL) was added in one portion to the efficiently stirred solution of the ketone Mannich base hydrochloride **3–6** (8 mmol) in distilled water (50 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 24 h, then the solid material was filtered, thoroughly washed with distilled water, air-dried, and recrystallized from the appropriate solvent.

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis(1-phenylpropan-1-one) 7. Colorless crystals from 96% ethanol (1.15 g, 82%), mp 146–147 °C (literature mp 141 °C⁴²; literature mp 141.5–144 °C⁴³). ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.56 (br s, 8H, H1), 2.84 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H2), 3.19 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H3), 7.42–7.49 (m, 4H, H7), 7.52–7.59 (m, 2H, H8), 7.95 (dd, $J = 1.2$ and 8.0 Hz, 4H, H6). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 36.3 (C3), 53.1 (C2), 53.2 (C1), 128.0 (C6), 128.6 (C7), 133.1 (C8), 137.0 (C5), 199.1 (C4).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(4-chlorophenyl)propan-1-one] 8. Colorless crystals from 96% ethanol (1.29 g, 77%), mp 168–169 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.55 (br s, 8H, H1), 2.82 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H2), 3.14 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H3), 7.43 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H, H7), 7.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H, H6). ¹³C NMR

(CDCl₃, 100.6 MHz): δ 36.3 (C3), 53.0 (C2), 53.2 (C1), 129.0 (C7), 129.4 (C6), 135.2 (C5), 139.6 (C8), 197.8 (C4).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(4-bromophenyl)propan-1-one] **9**. Colorless crystals from 96% ethanol (1.42 g, 70%), mp 159–160 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.54 (br s, 8H, H1), 2.82 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H, H2), 3.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H, H3), 7.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, H7), 7.81 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, H6). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 36.3 (C3), 53.0 (C2), 53.2 (C1), 128.3 (C8), 129.5 (C6), 132.0 (C7), 135.6 (C5), 198.0 (C4).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(naphthalen-2-yl)propan-1-one] **10**. Colorless crystals from 96% ethanol–chloroform 1:1 v/v (1.12 g, 62%), mp 184–185 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.62 (br s, 8H, H1), 2.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H, H2), 3.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H, H3), 7.52–7.64 (m, 4H, H10, H11), 7.89 (m, 4H, H7, H9), 7.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H12), 8.03 (dd, $J = 2.0$ and 8.4 Hz, 2H, H6), 8.48 (s, 2H, H14). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 36.3 (C3), 53.2 (C1), 53.3 (C2), 123.8 (C6), 126.8 (C11), 127.8 (C9), 128.5 (C7, C10), 129.6 (C12), 129.7 (C14), 132.5 (C13), 134.2 (C5), 135.6 (C8), 199.1 (C4).

Reduction of piperazine-containing amino ketones **7–10**

Small portions of NaBH₄ (380 mg, 10 mmol) were added to the suspension of a ketone Mannich base **7–10** (2 mmol) in methanol (20 mL), and the resulting mixture was stirred in a stoppered flask at room temperature overnight. The solvent was removed under reduced pressure, water (50 mL) was then added to the solid material, the suspension was further stirred at room temperature for 30 min, then the solid material was filtered, washed thoroughly with water, air-dried, and recrystallized from an appropriate solvent.

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis(1-phenylpropan-1-ol) **11**. Colorless crystals from 96% ethanol (460 mg, 65%), mp 153–155 °C (literature mp 158–161 °C⁴⁴). ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 1.83–1.97 (m, 4H, H3), 1.95–3.67 (m, 12 H, H1, H2), 4.96 (dd, $J = 4.4$ and 6.8 Hz, 2H, H4), 6.59 (s, 2H, OH), 7.24–7.31 (m, 2H, H8), 7.33–7.43 (m, 8H, H6, H7). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 33.6 (C3), 53.2 (br, C1), 56.9 (C2), 75.6 (C4), 125.5 (C6), 127.0 (C8), 128.2 (C7), 144.7 (C5).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(4-chlorophenyl)propan-1-ol] **12**. Colorless crystals from 96% ethanol (675 mg, 80%), mp 179–181 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 1.72–1.92 (m, 4H, H3), 1.77–3.61 (m, 12 H, H1, H2), 4.91 (dd, $J = 4.0$ and 7.6 Hz, 2H, H4), 6.65 (s, 2H, OH), 7.30 (s, 8H, H6, H7). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 33.6 (C3), 53.1 (br, C1), 56.9 (C2), 75.0 (C4), 126.9 (C6), 128.4 (C7), 132.6 (C8), 143.3 (C5).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(4-bromophenyl)propan-1-ol] **13**. Colorless crystals from 96% ethanol–DMF (625 mg, 61%), mp 211–213 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 1.69–1.93 (m, 4H, H3), 1.80–3.60 (m, 12 H, H1, H2), 4.89 (dd, $J = 3.6$ and 7.2 Hz, 2H, H4), 6.66 (s, 2H, OH), 7.24 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, H6), 7.46 (d, $J = 8.0$ Hz, 4H, H7). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 33.5 (C3), 53.2 (br, C1), 56.9 (C2), 75.0 (C4), 120.7 (C8), 127.3 (C6), 131.3 (C7), 143.8 (C5).

3,3'-(Piperazine-1,4-diyl)bis[1-(naphthalen-2-yl)propan-1-ol] **14**. Colorless crystals from 96% ethanol–DMF (700 mg, 77%), mp 206–207 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 1.88–2.07 (m, 4H, H3), 1.95–3.55 (m, 12H, H1, H2), 5.12 (dd, $J = 4.0$ and 6.8 Hz, 2H, H4), 6.71 (br s, 2H, OH), 7.38–7.53 (m, 6H, aromatic protons), 7.77–7.94 (m, 8H, aromatic protons). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 33.6 (C3), 53.2 (br, C1), 57.0 (C2), 75.6 (C4), 123.9, 124.0, 125.5, 126.0, 127.6, 127.9 (2 carbon atoms), 132.7, 133.4, 142.2 (C5).

Dehydration of piperazine-containing amino alcohols **11–14**

A mixture of an amino alcohol **11–14** (1 mmol), glacial acetic acid (5 mL) and aq. 36% HCl (3 mL) was heated at reflux temperature for 3 h. The mixture was allowed to reach room temperature and was then diluted under efficient stirring with water (50 mL). The solid material was filtered and washed thoroughly with water. Its suspension in 96% ethanol (10 mL) was treated with aq. 25% ammonia (0.5 mL) and stirred in a stoppered flask at room temperature for 3 h. The mixture was gradually diluted with water (20 mL), the solid was filtered, washed thoroughly with water, air-dried, and recrystallized from an appropriate solvent.

trans-1,4-Bis[3-(phenyl)prop-2-en-1-yl]piperazine **15**. Colorless crystals from 96% ethanol (165 mg, 52%), mp 122–123 °C (literature mp 126–127 °C⁴⁵). ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.56 (br s, 8H, H1), 3.20 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H, H2), 6.29 (dt, $J = 6.9$ and 15.9 Hz, 2H, H3), 6.48 (d, $J = 16.0$ Hz, 2H, H4), 7.23 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H8), 7.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H, H7), 7.38 (d, $J = 7.8$ Hz, 4H, H6). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 53.0 (C1), 61.0 (C2), 126.2 (C3), 126.3 (C6), 127.5 (C8), 128.6 (C7), 133.3 (C4), 136.8 (C5). *Anal. Calc.* for C₂₂H₂₆N₂: C, 82.97; H, 8.23; N, 8.80. Found: C, 82.68; H, 8.05; N, 8.94.

trans-1,4-Bis[3-(4-chlorophenyl)prop-2-en-1-yl]piperazine **16**. Colorless crystals from 96% ethanol (250 mg, 64%), mp 139–140 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.60 (br s, 8H, H1), 3.16 (d, $J = 6.4$ Hz, 4H, H2), 6.19–6.30 (m, 2H, H3), 6.54 (d, $J = 16.0$ Hz, 2H, H4), 7.25–7.30 (m, 8H, H6, H7, overlapped with solvent residual peak). ¹³C NMR (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 53.2 (C1), 60.9 (C2), 127.3 (C3), 127.5 (C7), 128.7 (C6), 131.8 (C4), 133.1 (C8), 135.4 (C5). *Anal. Calc.* for C₂₂H₂₄Cl₂N₂: C, 68.22; H, 6.25; N, 7.23. Found: C, 67.96; H, 6.41; N, 7.08.

Hydrochloride 16-HCl. Yield 77%. Colorless solid, mp >280 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400.1 MHz): δ 3.26 (br s, 8H, H1), 3.85 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H, H2), 6.25 (dt, $J = 6.8$ Hz and 15.9 Hz, 2H, H3), 6.86 (d, $J = 16.0$ Hz, 2H, H4), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H, H7), 7.52 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, H6). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100.6 MHz): δ 47.7 (C1), 56.8 (C2), 119.7 (C3), 128.1 (C6), 128.4 (C7), 132.7 (C8), 134.3 (C5), 136.5 (C4).

trans-1,4-Bis[3-(4-bromophenyl)prop-2-en-1-yl]piperazine **17**. Colorless crystals from 96% ethanol (325 mg, 68%), mp 163–164 °C. ¹H NMR (CDCl₃, 400.1 MHz): δ 2.56 (br s, 8H, H1), 3.15 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H, H2), 6.21–6.32 (m, 2H, H3), 6.46 (d, $J = 15.6$ Hz, 2H, H4), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, H6), 7.42 (d,

$J = 8.4$ Hz, 4H, H7). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ 53.2 (C1), 60.9 (C2), 121.2 (C8), 127.4 (C3), 127.8 (C6), 131.6 (C7), 131.9 (C4), 135.8 (C5). *Anal. Calc.* for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_2$: C, 55.48; H, 5.08; N, 5.88. Found: C, 55.73; H, 4.98; N, 6.03.

trans-1,4-Bis[3-(naphthalen-2-yl)prop-2-en-1-yl]piperazine

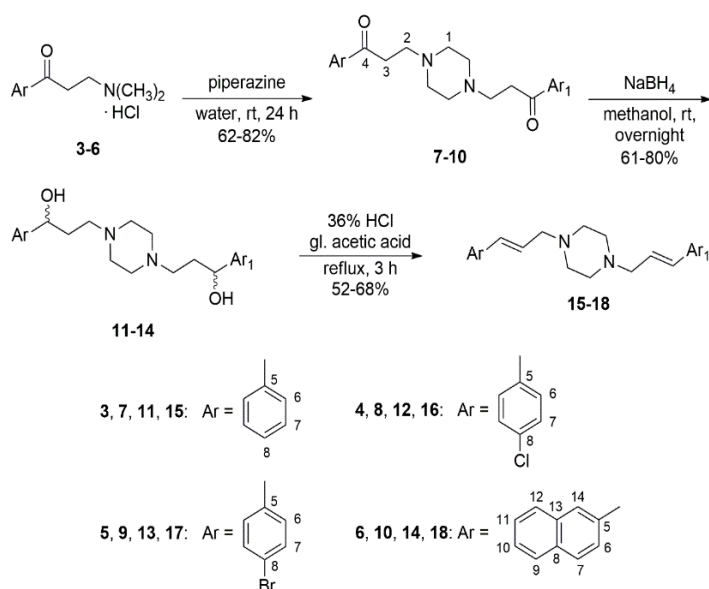
18. Colorless crystals from 96% ethanol–chloroform (225 mg, 54%), mp 189–190 °C. ^1H NMR (CDCl_3 , 400.1 MHz): δ 2.63 (br s, 8H, H1), 3.25 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H, H2), 6.42 (dt, $J = 6.8$ Hz and 15.6 Hz, 2H, H3), 6.70 (d, $J = 15.6$ Hz, 2H, H4), 7.38–7.49 (m, 4H, H10, H11), 7.61 (dd, $J = 1.6$ and 8.8 Hz, 2H, H6), 7.72 (s, 2H, H14), 7.74–7.83 (m, 6H, H7, H9, H12). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100.6 MHz): δ 53.3 (C1), 61.1 (C2), 123.5 (C6), 125.8 (either C10 or C11), 126.1 (either C10 or C11), 126.2 (C14), 127.0 (C3), 127.6 (C7 or C9), 127.9 (C12), 128.2 (C9 or C7), 132.9 (C8), 133.2 (C4), 133.6 (C13), 134.4 (C5). *Anal. Calc.* for $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_2$: C, 86.08; H, 7.22; N, 6.69. Found: C, 85.79; H, 7.01; N, 6.47.

Results and Discussion

The reaction sequence that has been devised to gain access to the target compounds involves three steps and employs ketone Mannich bases hydrochlorides **3–6** as starting materials (Scheme 1). The first step enables the incorporation of the piperazine ring in the structure of amino ketones **7–10**. Similar piperazine-containing amino ketones have been usually obtained through a direct Mannich reaction between aryl methyl ketones, paraformaldehyde and piperazine dihydrochloride, followed by the conversion of the piperazine-containing ketone Mannich base dihydrochlorides into the corresponding free bases by treatment with a base^{42,43}. This report presents the amine exchange of dimethylamine in ketone Mannich base hydrochlorides **3–6** with piperazine as an alternative way for the preparation of amino ketones **7–10**. The reaction was conducted at room temperature in water, a solvent in which both compounds **3–6** and piperazine are soluble, whereas the products **7–10** are not, thus allowing their easy separation from the reaction mixture by filtration. Piperazine should be added to the solution of the ketone Mannich base hydrochloride in the form of aqueous solution; addition of solid piperazine to the reaction mixture may result in its slow dissolution owing to the coating of the piperazine flakes with reaction product, as it was observed in an early attempt toward the synthesis of amino ketone **8**. The reaction products normally begin to precipitate from the reaction mixture in a matter of minutes after piperazine has been added. Nonetheless, complete conversion was not reached in preliminary runs toward the synthesis of amino ketone **7** for which the reaction time was short (1 h, 4 h, or 8 h), as further amounts of piperazine-containing Mannich base continue to separate from the clear filtrate separated after the isolation of the amino ketone that had formed so far. Because only minute amounts of insoluble material could still be observed in the filtrate from one of these initial runs after one day, the reaction time was finally set for 24 h. The investigated amine exchange reaction most likely proceeds through a combination of two

mechanisms. The first mechanism involves the nucleophilic substitution of the easily leaving dimethylamino group (in the form of dimethylamine hydrochloride) by piperazine, while the second mechanism entails the slow elimination of dimethylamine hydrochloride from the Mannich base hydrochloride and subsequent fast addition of piperazine to the resulting reactive vinyl ketone. The crude products isolated from this reaction presented high purity (according to their proton NMR spectra), with the exception of the material derived from 3-dimethylamino-1-(naphthalen-2-yl)propan-1-one hydrochloride **6**, whose proton NMR spectra showed signals that were assigned to the free base of compound **6** (based on the presence a singlet at 2.32 ppm that correspond to the protons in the two methyl groups of the dimethylamino moiety, and on the presence of two triplets that appear in the spectrum close and partially superimposed over the triplets associated with protons in the methylene groups of reaction products **10**). This finding suggests that, at least in this case, side reactions also occur during amine exchange. A plausible way for the formation of the free base of compound **6** is a process in which piperazine removes hydrochloric acid from the hydrochloride of Mannich base **6**, although the addition of dimethylamine (formed through the extrusion by piperazine of HCl from dimethylamine hydrochloride – the secondary product in the amine exchange) to the aforementioned reactive intermediate vinyl ketone could not be ruled out. The conversion of ketone Mannich base hydrochlorides **3–6** into amino ketones **7–10** proceeds with good to excellent yields, but the yields of the pure products are lowered to the values mentioned in Experimental through loss incurred during recrystallization. While amino ketone **7** could be recrystallized easily from 96% ethanol, recrystallization of amino ketone **8** required a rather large volume of the same solvent. Given the high purity of crude amino ketone **9** (that makes the product suitable for direct use in the next step of the reaction sequence), only a small amount (200 mg) required for analysis was recrystallized, and even this quantity necessitated a significant volume of 96% ethanol. It was found out that crude amino ketone **10** could be recrystallized without significant loss from a reasonable volume of a mixture of chloroform and ethanol, which also ensured the removal of the free base of compound **6** present as a minor impurity (approximately 8%) in the crude material isolated from the synthesis. NMR analysis of pure amino ketones **7–10** confirmed their structure through the presence in the proton spectra of these compounds of a broad singlet at approximately 2.5–2.6 ppm that integrates for eight protons and was assigned to the hydrogen atoms in the piperazine ring. Additionally, two triplets centered at approximately 2.8–2.9 ppm and 3.1–3.3 ppm that each integrate for four protons could be observed in the proton spectra of compounds **7–10**, and these signals were associated with the protons in the methylene groups in the oxopropyl fragment that links piperazine with the aryl moieties in the structure of these compounds. Three peaks, one at approximately 36 ppm and two close to one another and having a chemical shift of approximately 53 ppm,

were identified in the aliphatic region of the carbon spectra of amino ketones **7–10** as the signals corresponding to the carbon atom from the methylene group adjacent to the carbonyl group and to the two magnetically similar carbon atoms from the two distinct types of methylene groups (in the oxopropyl bridge and in the piperazine ring) adjacent to the nitrogen atom, respectively. The carbon atom of the carbonyl group was assigned the peak close to 200 ppm. The correct number of aromatic protons and aromatic carbon atoms was identified in the NMR spectra of each amino ketone **7–10**.



Scheme 1: Three-step synthetic approach to 1,4-bis(cinnamyl)piperazines from ketone Mannich bases.

Hydrogenation of the carbonyl group in amino ketones (either as free bases or as hydrochlorides) has been usually conducted using sodium borohydride in low molecular weight alcohols as solvents³⁸, although lithium aluminum hydride^{46,47} or molecular hydrogen (very often in conjunction with catalysts designed to induce stereoselectivity)^{48–50} have been also employed as reducing agents in this type of process. As both the stereoselectivity of the process and the configuration of the resulting secondary amino alcohols were not critical for the next stage of the reaction sequence leading to bis(cinnamyl)piperazines, reduction of piperazine-containing ketone Mannich bases **7–10** was conducted using an excess of sodium borohydride as reducing agent in methanol as solvent (Scheme 1). Given the low solubility of these specific amino ketones in cold methanol, the suspension of these Mannich bases was gradually treated with portions of the reducing agent over one hour. As reduction proceeded, the suspension of compound **7** gradually turned into a clear solution, whereas a solid material was present in the reaction flask throughout the reaction in the case of compounds **8–10**, indicating that the amino alcohols **12–14** are less soluble in methanol than analog **11**. In order to guarantee that the transformation of the substrate is complete, reduction was allowed to take place overnight in flask that was well-stoppered, with a view to facilitate the persistence of hydrogen in the reaction

mixture. Removal of the solvent at the end of the reaction time was preferred as the more general approach toward the isolation of the crude reaction product, although direct dilution of the reaction mixture with a five-fold volume of water and filtration of the solid also allowed the isolation of amino alcohols **13** and **14** in amounts that were comparable to those recorded for the same compounds in runs in which removal of methanol was done prior to addition of water. The yields of the crude amino alcohols **11–14** are very good (95% to 85%), but recrystallization of compound **11** from 96% ethanol and of compound **13** from a mixture of DMF and 96% ethanol could not be accomplished without moderate loss of material. On the other hand, a large volume of 96% ethanol was required to recrystallize the crude sample of amino alcohol **12**. The structure analysis of amino alcohols **11–14** by NMR spectroscopy revealed several significant changes in the proton spectra of these compounds compared to the proton spectra of the parent amino ketones **7–10**. First, the peak corresponding to the protons in piperazine ring in the spectra of amino ketones **7–10** (which was already broad) becomes nearly flat in the spectra of amino alcohols **11–14**. This very broad peak superimposes the two multiplets associated with the diastereotopic protons of the methylene group in the hydroxypropyl fragment adjacent to the secondary alcohol group, while the multiplet assigned to the protons of the methylene group in the hydroxypropyl fragment neighboring piperazine's nitrogen atom shifts up-field compared to the position of the corresponding triplet associated with the same protons in the ¹H NMR spectra of amino ketones **7–10**. The proton at the carbon atom of the secondary alcohol function appears as a doublet of doublets at approximately 4.9 ppm in amino alcohols **11–13**, while the deshielding effect of the naphthalene moiety in compound **14** brings the value of this signal at 5.1 ppm. The use of CDCl₃ as NMR solvent for the spectroscopic analysis of these compounds also allowed the identification of the hydroxyl proton as a broad signal at approximately 6.6–6.7 ppm. As for ¹³C NMR spectra of amino alcohols **11–14**, both the absence of any peak above 145 ppm and the presence of a signal at approximately 75 ppm confirm the transformation of the carbonyl group in amino ketones **7–10** into the secondary alcohol function in the aforementioned amino alcohols. Because the peaks in the aromatic region of the ¹H and 2D NMR spectra of compound **14** overlap one another to a large extent, the exact assignment of the protons and carbons from the naphthalene moiety could not be done.

Dehydration of amino alcohols obtained from ketone Mannich bases has been investigated only for a small number of substrates, and our best endeavor has identified mostly individual examples of dehydration of secondary γ -amino alcohols that are scattered over several isolated studies^{51–58}. These processes take place in the presence of strong acids (HCl, HBr, H₂SO₄), except for one report in which anhydrous CuSO₄ was employed as dehydrating agent⁵¹. An initial attempt at the dehydration of piperazine-containing amino alcohol **12** was conducted in 48% HBr according to a procedure that was used for the preparation of 3-(dimethylamino)-1-(4-fluorophenyl)propene⁵⁶. Rapid for-

mation of a copious amount of the insoluble dihydrobromide of the starting amino alcohol produced a solid mass that could no longer be rendered homogenous through stirring, and successive addition of small volumes of 48% HBr up to 5 mL did not improve the situation significantly. After workup, the crude product that was isolated was analyzed by thin layer chromatography and by proton NMR spectroscopy. Both investigations showed that the viscous oil that was isolated contained the desired compound, along with some starting material and at least two unknown impurities. Purification by crystallization with 96% ethanol and subsequent recrystallization of the obtained solid from 2-propanol allowed the isolation of the expected bis(cinnamyl)piperazine **16** in low yield (14%). To address the solubility issue during synthesis, a second attempt at obtaining compound **16** was performed in a mixture of acetic acid and 36% HCl, according to a previously reported procedure for the dehydration of tertiary amino alcohols⁵⁹ (Scheme 1). The solid substrate dissolved readily in the mixture of solvents, and reaction mixture remained homogenous for two hours, when a solid started to separate. More solid precipitated from the reaction mixture at the end of the reaction time when the mixture was slowly allowed to reach room temperature. Workup of the reaction mixture gave a solid, whose analysis by NMR proved that it was the pure dihydrochloride of the target bis(cinnamyl)piperazine **16** (yield 77%). Given its low solubility in DMSO-*d*₆, the dihydrochloride was converted into the free base by treatment of its suspension in ethanol with 25% aqueous ammonia. The procedure allowed a 94% recovery of the pure free base, whose structure was confirmed by recording its NMR spectra in CDCl₃. The same approach was then used to prepare the remaining bis(cinnamyl)piperazines **15**, **17** and **18** with high purity and in good yields (ranging from 70% to 91% for the crude product), which were further reduced by recrystallization that was performed in order to obtain the analytical samples of each compound. Analysis of their structure by proton NMR showed that the protons in the piperazine ring give a broad singlet (like the signal of the same protons in amino ketones **7–10**) at approximately 2.6 ppm, while the signal associated with the protons in the methylene group of the allyl fragment appears as a doublet close to 3.2 ppm. The signal assigned to the vinylic proton at the carbon adjacent to the methylene group presents as a partially superimposed doublet of triplets approximately in the range of 6.2–6.3 ppm (the signal is slightly deshielded in the case of naphthalene-containing derivative **18**). The remaining vinylic proton gives a doublet with a large value of the coupling constant (16 ppm), which indicates that the configuration at the double bond in these compounds is *trans*. The aliphatic region of the carbon NMR spectra of bis(cinnamyl)piperazines **15–18** presents only two peaks (one for the magnetically equivalent carbon atoms in the piperazine ring, and the second for the carbon atom of the methylene group in the allyl fragment), while correlation spectroscopy experiments allowed the identification of the two carbon atoms of the double bond at 126–127 ppm and 131–133 ppm, as well as the

correct assignment of the peaks for the aromatic carbon atoms in the structure of each target bis(cinnamyl)piperazine.

Conclusions

This study is proof-of-concept that the designed approach toward symmetrically substituted 1,4-bis(cinnamyl)piperazines allows the preparation of these compounds. The required intermediates can be obtained in a facile manner, and very often sufficiently pure to be used as such in the next step. Nonetheless, the intermediate compounds in the devised reaction sequence can be purified using recrystallization from organic solvents, without any need for chromatographic separation, although purification results in reduction of yields. Because of this, even though the yields for each of the three steps are good to very good, the total yield (calculated by considering the purification process) for a specific 1,4-bis(cinnamyl)piperazine described in this report is modest (in the range of 25% to 40%). However, this approach could be a viable alternative for the synthesis of such compounds in those cases when the appropriately substituted cinnamyl halide required for the direct alkylation of piperazine is neither available nor easily accessible through synthesis. Furthermore, the use of ketone Mannich bases derived from propiophenone and its analogs, or from benzofused cyclic ketones such as α -tetralone and similar compounds according to this approach could allow the preparation of piperazines that would be otherwise obtained only in a difficult manner.

References

1. M Faizan, R Kumar, A Mazumder, Salahuddin, N Kukreti, A Kumar, *et al.* The medicinal chemistry of piperazines: A review. **Chemical Biology & Drug Design**, **103**(6), e14537 (2024).
2. MN Romanelli, D Manetti, L Braconi, S Dei, A Gabellini, E Teodori. The piperazine scaffold for novel drug discovery efforts: the evidence to date. **Expert Opinion on Drug Discovery**, **17**(9), 969–984 (2022).
3. A Rafiq, S Aslam, NA Mohsin, M Ahmad. Synthetic routes for the development of piperazine-based acetanilides and their medicinal importance. **Polycyclic Aromatic Compounds**, **44**(7), 4979–5007 (2023).
4. AK Rathi, R Syed, HS Shin, RV Patel. Piperazine derivatives for therapeutic use: a patent review (2010–present). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, **26**(7), 777–797 (2016).
5. A Sharma, S Wakode, F Fayaz, S Khasimbi, FH Pottoo, A Kaur. An overview of piperazine scaffold as promising nucleus for different therapeutic targets. **Current Pharmaceutical Design**, **26**(35), 4373–4385 (2020).
6. A Rathore, V Asati, SK Kashaw, S Agarwal, D Parwani, S Bhattacharya, *et al.* The recent development of piperazine and piperidine derivatives as antipsychotic agents. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, **21**(3), 362–379 (2021).
7. RR Kumar, B Sahu, S Pathania, PK Singh, MJ Akhtar, B Kumar. Piperazine, a key substructure for antidepressants: Its role in developments and structure-activity relationships. **ChemMedChem**, **16**(12), 1878–1901 (2021).

8. D Zolotareva, A Zazybin, A Dauletbakov, Y Belyankova, B Giner Parache, S Tursynbek, *et al.* Morpholine, piperazine, and piperidine derivatives as antidiabetic agents. **Molecules**, **29**(13), 3043 (2024).
9. A Jain, J Chaudhary, H Khaira, B Chopra, A Dhingra. Piperazine: A promising scaffold with analgesic and anti-inflammatory potential. **Drug Research (Stuttgart, Germany)**, **71**(2), 62–72 (2021).
10. K Walayat, NA Mohsin, S Aslam, N Rasool, M Ahmad, A Rafiq, *et al.* Recent advances in the piperazine based antiviral agents: A remarkable heterocycle for antiviral research. **Arabian Journal of Chemistry**, **16**(12), 105292 (2023).
11. CA Salubi, HS Abbo, N Jahed, S Titinchi. Medicinal chemistry perspectives on the development of piperazine-containing HIV-1 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, **99**, 117605 (2024).
12. V Sharma, R Das, D Sharma, S Mujwar, DK Mehta. Green chemistry approach towards piperazine: Anticancer agents, **Journal of Molecular Structure**, **1292**, 136089 (2023).
13. K Walayat, NA Mohsin, S Aslam, M Ahmad. An insight into the therapeutic potential of piperazine-based anticancer agents. **Turkish Journal of Chemistry**, **43**(1), 1–23 (2019).
14. F Gomes Pernichelle, E Tavares Marcelino Alves, RA Massarico Serafim, E Igne Ferreira. The importance of the piperazine ring for the development of trypanomicide compounds. **ChemistrySelect**, **8**(33), e202302697 (2023).
15. PS Girase, S Dhawan, V Kumar, SR Shinde, MB Palkar, R Karpoornath. An appraisal of anti-mycobacterial activity with structure-activity relationship of piperazine and its analogues: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **210**, 112967 (2021).
16. S Begum, M Rashida Anjum, G Poojitha Harisree, N Sivalakshmi, P Priyanka, K Bharathi. Antioxidant activity of piperazine compounds: A brief review. **Asian Journal of Chemistry**, **32**(9), 2105–2118 (2020).
17. AK Laskowska, AK Puszek, P Sosnowski, K Różycki, P Kosson, J Matalińska, *et al.* Opioid tripeptides hybridized with *trans*-1-cinnamylpiperazine as proliferation inhibitors of pancreatic cancer cells in two- and three-dimensional *in vitro* models. **ChemMedChem**, **12**(19), 1637–1644 (2017).
18. C Hu, Z-G Sun, C-X Wei, Z-S Quan. Synthesis and anticonvulsant activity of some cinnamylpiperazine derivatives. **Letters in Drug Design & Discovery**, **7**(9), 661–664 (2010).
19. H Raza, MA Abbasib, Aziz-ur-Rehman, SZ Siddiquib, M Hassan, Q Abbas, *et al.* Synthesis, molecular docking, dynamic simulations, kinetic mechanism, cytotoxicity evaluation of *N*-(substituted-phenyl)-4-[(4-[(*E*)-3-phenyl-2-propenyl]-1-piperazinyl)butanamides as tyrosinase and melanin inhibitors: *In vitro*, *in vivo* and *in silico* approaches. **Bioorganic Chemistry**, **94**, 103445 (2020).
20. J Velcicky, W Miltz, B Oberhauser, D Orain, A Vaupel, K Weigand, *et al.* Development of selective, orally active GPR4 antagonists with modulatory effects on nociception, inflammation, and angiogenesis. **Journal of Medicinal Chemistry**, **60**(9), 3672–3683 (2017).
21. MA Abbasi, M Nazir, Aziz-ur-Rehman, SZ Siddiqui, SAA Shah, M Shahid. Synthesis and structure-activity relationship of 1-[(*E*)-3-phenyl-2-propenyl] piperazine derivatives as suitable antibacterial agents with mild hemolysis. **Scientia Iranica, Transaction C: Chemistry, Chemical Engineering**, **26**(6), 3375–3386 (2019).
22. H-Y Lee, Y Jung, W Kim, JH Kim, M-S Suh, SK Shin, *et al.* Structure-activity relationship studies of the chromosome segregation inhibitor, Incentrom A. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, **18**(16), 4670–4674 (2008).
23. D Brossard, L El Kihel, M Clément, W Sebbahi, M Khalid, C Roussakis, *et al.* Synthesis of bile acid derivatives and *in vitro* cytotoxic activity with pro-apoptotic process on multiple myeloma (KMS-11), glioblastoma multiforme (GBM), and colonic carcinoma (HCT-116) human cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **45**(7), 2912–2918 (2010).
24. S Dei, M Coronello, G Bartolucci, D Manetti, MN Romanelli, C Udomtanakunchai, *et al.* Design and synthesis of new potent *N,N*-bis(arylalkyl)piperazine derivatives as multidrug resistance (MDR) reversing agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **147**, 7–20 (2018).
25. MD Arbo, ML Bastos, HF Carmo. Piperazine compounds as drugs of abuse. **Drug and Alcohol Dependence**, **122**(3), 174–185 (2012).
26. MM Vandeputte, A Cannaert, P Christophe, CP Stove. *In vitro* functional characterization of a panel of non-fentanyl opioid new psychoactive substances. **Archives of Toxicology**, **94**(11), 3819–3830 (2020).
27. JB Zawilska, P Adamowicz, M Kurpeta, J Wojcieszak. Non-fentanyl new synthetic opioids – An update. **Forensic Science International**, **349**, 111775 (2023).
28. H Cai, W Chen, J Jiang, H Wen, X Luo, J Li, *et al.* Artificial intelligence-assisted optimization of antipigmentation tyrosinase inhibitors: *De novo* molecular generation based on a low activity lead compound. **Journal of Medicinal Chemistry**, **67**(9), 7260–7275 (2024).
29. J Penjisević, V Sukalović, D Andrić, S Kostić-Rajacić, V Soskić, G Roglić. 1-Cinnamyl-4-(2-methoxy-phenyl)piperazines: Synthesis, binding properties, and docking to dopamine (D2) and serotonin (5-HT1A) receptors. **Archiv der Pharmazie (Weinheim, Germany)**, **340**(9), 456–465 (2007).
30. JI Andrés, J Alcázar, JM Alonso, RM Alvarez, MH Bakker, I Biesmans, *et al.* Discovery of a new series of centrally active tricyclic isoxazoles combining serotonin (5-HT) reuptake inhibition with α_2 -adrenoceptor blocking activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, **48**(6), 2054–2071 (2005).
31. S Paudel, S Acharya, G Yoon, K-M Kim, SH Cheon. Design, synthesis and *in vitro* activity of 1,4-disubstituted piperazines and piperidines as triple reuptake inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, **25**(7), 2266–2276 (2017).
32. L Liu, R Luo, J Tong, J Liao. Iridium-catalysed reductive allylic amination of α,β -unsaturated aldehydes. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **22**(3), 585–589 (2023).

33. A Wu, Y Xu, X Qian, J Wang, J Liu. Novel naphthalimide derivatives as potential apoptosis-inducing agents: Design, synthesis and biological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **44(11)**, 4674–4680 (2009).
34. S Boutin, R Maltais, J Roy, D Poirier. Synthesis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 10 steroidal inhibitors: Selectivity, metabolic stability and enhanced potency. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **209**, 112909 (2021).
35. IA Moussa, SD Banister, FN Akladios, SW Chua, M Kassiou. Effects of linker elongation in a series of *N*-(2-benzofuranylmethyl)-*N'*-(methoxyphenylalkyl)piperazine σ_1 receptor ligands. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, **21(19)**, 5707–5710 (2011).
36. DB Lewis, D Matecka, Y Zhang, L-W Hsin, CM Dersch, D Stafford, *et al.* Oxygenated analogues of 1-[2-(diphenylmethoxy)ethyl]- and 1-[2-[bis(4-fluorophenyl)-methoxy]ethyl]-4-(3-phenylpropyl)piperazines (GBR 12935 and GBR 12909) as potential extended-action cocaine-abuse therapeutic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, **42(24)**, 5029–5042 (1999).
37. M Kurokawa, F Sato, Y Masuda, T Yoshida, Y Ochi, K Zushi, *et al.* Synthesis and biological activity of 11-[4-(cinnamyl)-1-piperazinyl]-6,11-dihydrodibenz[*b,e*]oxepin derivatives, potential agents for the treatment of cerebrovascular disorders. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, **39(10)**, 2564–2573 (1991).
38. M Tramontini. Advances in the chemistry of Mannich bases. **Synthesis**, **1973(12)**, 703–775 (1973).
39. MM Hammouda, KM Elattar. Recent progress in the chemistry of β -aminoketones. **RSC Advances**, **12(38)**, 24681–24712 (2022).
40. H Lv, Y Du, H Zhang, Y Zheng, Z Yan, N Dong. Advances in Mannich-type reactions based on the classification of compounds with activated α -H. **ChemistrySelect**, **8(21)**, e202300173 (2023).
41. G Roman. Novel aminobenzenesulfonamides as potential inhibitors of carbonic anhydrases. **Revue Roumaine de Chimie**, **69(3–4)**, 111–117 (2024).
42. C Mannich, D Lammering. Über die Synthese von β -Keto-basen aus fett-aromatischen Ketonen, Formaldehyd und sekundären Aminen. **Chemische Berichte**, **55(10)**, 3510–3526 (1922).
43. V Valenta, M Bartošová, M Protiva. 1-[3-(2-Alkoxyphenoxy)-3-phenylpropyl]piperazines and some related compounds. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, **46(5)**, 1280–1287 (1981).
44. RE Lutz, NH Shearer. Antimalarials. Some piperazine derivatives. **Journal of Organic Chemistry**, **12(6)**, 771–775 (1947).
45. H. Terayama, T Naruke, S Kasai, M Numata, H Nakayama, T Saito, *et al.* Studies on analgesic agents. XIII. Metabolic fate of 1-butyl-4-cinnamylpiperazine hydrochloride (BCP-HCl) in rats. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, **21(1)**, 12–20 (1973).
46. S Huecas, L Araújo-Bazán, FM Ruiz, LB Ruiz-Ávila, RF Martínez, A Escobar-Peña, *et al.* Targeting the FtsZ allosteric binding site with a novel fluorescence polarization screen, cytological and structural approaches for antibacterial discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, **64(9)**, 5730–5745 (2021).
47. F Lehmann, A Pettersen, EA Currier, V Sherbukhin, R Olsson, U Hacksell, *et al.* Novel potent and efficacious nonpeptidic urotensin II receptor agonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, **49(7)**, 2232–2240 (2006).
48. J Wang, D Liu, Y Liu, W Zhang. Asymmetric hydrogenation of β -amino ketones with the bimetallic complex RuPHOX-Ru as the chiral catalyst. **Organic & Biomolecular Chemistry**, **11(23)**, 3855–3861 (2013).
49. MB Widegren, ML Clarke. Towards practical earth abundant reduction catalysis: Design of improved catalysts for manganese catalysed hydrogenation. **Catalysis Science & Technology**, **9(21)**, 6047–6058 (2019).
50. X Zhao, Z Yang, Y Cheng, A Huang, F Hu, F Ling, *et al.* Divergent synthesis of β -hydroxy amides (esters) and γ -amino alcohols via Ir/*f*-diaphos catalyzed asymmetric hydrogenation. **Advanced Synthesis & Catalysis**, **364(17)**, 3074–3080 (2022).
51. T Magdziarz, B Lozowicka, R Gieleciak, A Bak, J Polanski, Z Chilmonczyk. 3D QSAR study of hypolipidemic asarones by comparative molecular surface analysis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, **14(5)**, 1630–1643 (2006).
52. E Rudinger-Adler, J Büchi. Synthese einiger Benzyloxyphenyl-Derivative mit lokalanaesthetischer Wirkung. **Arzneimittel-Forschung**, **29(9)**, 1326–1331 (1979).
53. H Igarashi, T Kurihara. Synthesis and pharmacology of basic secondary alcohols and derivatives (in Japanese). **Yakugaku Zasshi**, **93(5)**, 554–565 (1973).
54. H Ohtaka, M Miyake, T Kanazawa, K Ito, G Tsukamoto. Benzylpiperazine derivatives. I. Syntheses and biological activities of 1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazine derivatives. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, **35(7)**, 2774–2781 (1987).
55. NJ Bunce. Photolysis of aryl chlorides with aliphatic amines. **Journal of Organic Chemistry**, **47(10)**, 1948–1955 (1982).
56. M Van der Auweraer, A Vannerem, FC De Schryver. The electronic structures of intramolecular exciplexes with aliphatic amines as donors. **Journal of Molecular Structure**, **84**, 343–352 (1982).
57. V Valenta, M Vlčková, M Valchar, K Dobrovský, Z Polivka. Potential antidepressants: 3-Aryl-3-(aryltio)propylamines as selective inhibitors of 5-hydroxytryptamine re-uptake in the brain. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, **56(7)**, 1525–1533 (1991).
58. J Hine, MJ Skoglund. Double-bond-stabilizing abilities of 1-methyl-2-pyrrolyl, 9-anthryl, and *o*-tolyl substituents. **Journal of Organic Chemistry**, **47(24)**, 4758–4766 (1982).
59. AF Casy, JL Myers, P Pocha. Studies of the elimination of 1,2-diaryl-4-dimethylaminobutan-2-ols—I: Acid-catalysed elimination of 1,2-diaryl-4-dimethylamino-3-methylbutan-2-ols and base-catalysed elimination of related 2-chloro derivatives. **Tetrahedron**, **22(3)**, 1001–1009 (1966).