

**ESTUDIO REGIOSELECTIVO DE LA ELECTROEPOXIDACIÓN DEL LIMONENO
UTILIZANDO COMPLEJOS QUIRALES Mn-Salen**



PAOLA ANDREA BARBOSA GUTIÉRREZ

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

POPAYÁN

2018

**ESTUDIO REGIOSELECTIVO DE LA ELECTROEPOXIDACIÓN DEL LIMONENO
UTILIZANDO COMPLEJOS QUIRALES Mn-Salen**

Trabajo de grado presentado como
requisito parcial para optar al título de Químico

PAOLA ANDREA BARBOSA GUTIÉRREZ

Directora:
Olga Lucia Hoyos Saavedra. Ph.D
Grupo de Investigación G.I.P.E.L

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2018

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE ECUACIONES.....	II
LISTA DE REACCIONES.....	III
LISTA DE TABLAS.....	IV
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	V
RESUMEN.....	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. GENERAL.....	4
2.2. ESPECÍFICOS.....	4
3. ESTADO DEL ARTE.....	5
3.1. ACEITES ESENCIALES.....	5
3.2. LIMONENO.....	6
3.2.1. Utilidad del limoneno y sus epóxidos.....	7
3.3. METODOS PARA LA EPOXIDACIÓN DE TERPENOS.....	12
3.3.1. Epoxidación del limoneno.....	13
3.4. ELECTROEPOXIDACIÓN DE TERPENOS.....	17
3.4.1. Estudios electroquímicos de epoxidación del limoneno.....	20
3.5. CATALIZADORES DEL TIPO SALEN EN LA SÍNTESIS ASIMÉTRICA PARA LOS PROCESOS DE OXIDACIÓN.....	21
3.5.1. Efectos de los sustituyentes sobre los anillos aromáticos en su acción como catalizadores.....	23
3.6. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LIMONENO...	24
4. METODOLOGÍA.....	25
4.1. REACTIVOS, EQUIPOS.....	25
4.1.1. Reactivos y solventes.....	25

4.1.2. Equipos.....	26
4.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA CG-MS.....	27
4.2.1 Condiciones del método cromatográfico.....	27
4.2.2 Preparación de las soluciones patrón.....	28
4.2.3 Determinación de los parámetros de estandarización del método.....	28
4.3 SÍNTESIS LOS COMPLEJOS Mn-Salcn.....	30
4.3.1. Resolución de la mezcla racémica (\pm)- <i>trans</i> -1,2-diaminociclohexano...	30
4.3.2. Síntesis en medio acuoso de ligandos (<i>R,R</i>)-H ₂ Salcn.....	30
4.3.3. Síntesis electroquímica de los compuestos de coordinación (<i>R,R</i>) de Mn(III).....	30
4.3.4. Caracterización de los compuestos sintetizados.....	31
4.4. MÉTODO QUÍMICO PARA LA EPOXIDACIÓN DE LIMONENO.....	31
4.4.1. Preparación de soluciones.....	32
4.4.2. Reacción de epoxidación.....	32
4.4.3 Optimización de los parámetros de reacción.....	33
4.4.4. Valoración del ClO ⁻ consumido en la reacción química.....	33
4.4.5. Seguimiento de la reacción.....	33
4.5. MÉTODO ELECTROQUÍMICO PARA LA EPOXIDACIÓN DEL LIMONENO...	34
4.5.1. Preparación de soluciones patrón.....	34
4.5.2. Determinación de las condiciones de generación electroquímica de hipoclorito.....	35
4.5.3. Valoración del ClO ⁻ electro-generado.....	35
4.5.4. Optimización de los parámetros de reacción.....	35
4.5.5 Seguimiento de la reacción.....	35
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	37
5.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	37
5.1.1. Condiciones del método cromatográfico.....	37
5.1.2. Determinación de los parámetros de estandarización del método.....	40
5.2. SÍNTESIS LOS COMPLEJOS Mn-Salcn.....	46
5.2.1. Resolución de la mezcla racémica (\pm)- <i>trans</i> -1,2-diaminociclohexano...	46

5.2.2 Síntesis de ligandos tipo H ₂ Salcn.....	47
5.2.3 Síntesis electroquímica de los compuestos de coordinación (<i>R,R'</i>) de Mn(III).....	48
5.2.4 Caracterización de ligandos tipo H ₂ -Salcn y complejos.....	49
5.3. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA.....	50
5.3.1. Parámetros de epoxidación química.....	51
5.3.2 Resultados de la reacción de epoxidación química.....	53
5.3.3 Valoración del agente oxidante consumido en la reacción de epoxidación química.....	54
5.4 REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA.....	55
5.4.1. Parámetros de la epoxidación electroquímica.....	56
5.4.2. Generación electroquímica del hipoclorito (ClO ⁻).....	56
5.4.3 Seguimiento de la reacción de epoxidación electroquímica	59
5.5. IDENTIFICACIÓN DE LOS EPÓXIDOS DE LIMONENO.....	60
5.6. REGIOSELECTIVIDAD DE LA EPOXIDACIÓN DE LIMONENO SEGÚN EL TIPO DE CATALIZADOR Mn(SALCN).....	63
5.7. EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LOS CATALIZADORES RECUPERADOS	68
6. CONCLUSIONES.....	70
7. BIBLIOGRAFÍA.....	72
8. ANEXOS.....	77

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras de los enantiómeros del limoneno: a) (S)-1-metil-4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-eno. b) (R)-1-metil-4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-eno	7
Figura 2. Derivados del limoneno a partir de la oxidación del carbono C ₆	8
Figura 3. Derivados del limoneno a partir de la oxidación del carbono C ₇	9
Figura 4. Epóxidos derivados del limoneno	9
Figura 5. Síntesis de policarbonato de limoneno	10
Figura 6. Estructura de la (-)-clavukerina A	10
Figura 7. Síntesis de isómeros de epoxibisaboleno a partir de limoneno.	11
Figura 8. Síntesis de aziridinas a partir de epóxido-1,2-limoneno	11
Figura 9. Posibles productos de oxidación para el limoneno	13
Figura 10. Representación esquemática dentro de la celda de un proceso electroquímico indirecto dado para una oxidación Med _{ox} , Med _{red} =forma oxidada y reducida del catalizador redox=(mediador); SX _{ox} , SX _{red} =forma oxidada y reducida del sustrato	18
Figura 11. Esquema de celda bifásica de un compartimiento, para reacciones de electroepoxidación en una bifase	18
Figura 12. Productos obtenidos en la electroepoxidación de estireno, α-metilestireno e indeno según la metodología de Zhao y colaboradores	20
Figura 13. Doble inducción asimétrica de la reacción de epoxidación de los isómeros de limoneno	21
Figura 14. Estructura del ligando tipo Salen, a) N,N-bis-salicilidenoetilen-diimino [H ₂ Salen] y b) N,N-bis-salicilidenociclohexen-diimino [H ₂ Salcn]	21
Figura 15. Estructura del complejo Salen derivado de la ciclohexanodiamina	22
Figura 16. Esquema para llevar a cabo la metodología de epoxidación química	31

Figura 17. Esquema para llevar a cabo la metodología para la electroepoxidación química	34
Figura 18. Esquema de la celda para la electroepoxidación de limoneno	35
Figura 19. Rampa de temperatura usada para la estandarización del método de cuantificación del limoneno	37
Figura 20. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) del limoneno	38
Figura 21. Estructura de naftaleno, empleado como patrón interno en las determinaciones del limoneno	38
Figura 22. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) de una solución 5 ppm de limoneno (t_r : 6,01 min) y 4 ppm naftaleno (t_r : 8,6 min), empleando las condiciones del método por CG-MS	39
Figura 23. Espectros de masas obtenidos por ionización electrónica (EI, 70 eV) de los compuestos: (a) limoneno, (b) naftaleno	40
Figura 24. Curva de calibración (1-25 ppm) para la linealidad del método de cuantificación de limoneno	42
Figura 25. Curvas de calibración de limoneno en un mismo día evaluar para la repetibilidad del método de cuantificación	44
Figura 26. Esquema propuesto del proceso de epoxidación química del limoneno empleando ClO^- como agente de oxidante mediado por el catalizador Mn-Salcn	51
Figura 27. Porcentaje de conversión químico del limoneno Vs mmol catalizador $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$ empleadas en la reacción de epoxidación a las 4 h	52
Figura 28. Concentración del ClO^- Vs tiempo de reacción transcurrido en la reacción de epoxidación química del limoneno para los cuatros complejos Mn(Salcn)	55
Figura 29. Esquema propuesto del proceso de electroepoxidación química indirecta usando ClO^- para el limoneno mediado por el catalizador Mn-Salcn	56
Figura 30. Celda electroquímica para la electrolisis de NaCl y producción de hipoclorito de sodio	57

Figura 31. Ensayos de concentración y corriente para la generación de ClO^- mediante electrolisis durante 8 h	58
Figura 32. Valoración del ClO^- generado electroquímicamente a una de corriente 100 mA, estudiado en presencia y ausencia de los componentes de la de la fase orgánica	59
Figura 33. Productos obtenidos de la epoxidación empleando los catalizadores de Mn(Salcn).	61
Figura 34. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo $[\text{Mn}(\text{Nitro-Salcn})]\text{Cl}$	61
Figura 35. Espectros de masas obtenidos por ionización electrónica (EI, 70 eV) de los compuestos: (a) <i>cis</i> -1,2-epóxido de limoneno, <i>trans</i> -1,2-epóxido de limoneno (b) y 8,9-epóxido de limoneno (c)	62
Figura 36. Determinación estructural del 8,9-epóxido de limoneno a través de los fragmentos más importantes surgidos durante el análisis de espectrometría de masas	63
Figura 37. Productos obtenidos de la epoxidación empleando los catalizadores de Mn(Salcn)	63
Figura 38. Porcentaje de selectividad los productos obtenidos a partir de la epoxidación química del limoneno a las 12 h de reacción para los complejos Mn(Salcn)	64
Figura 39. Porcentaje de selectividad los productos obtenidos a partir de la epoxidación electroquímica del limoneno a las 12 h de reacción para los complejos Mn(Salcn)	65
Figura 40. Complejo $\text{Mn}(\text{salcn})\text{Cl}$ con los diferentes sustituyentes en las posiciones 3,3' y 5,5' del ligando	66
Figura 41. Tipo de sustituyente	67
Figura 42. Espectros IR del complejo $[\text{Mn}(\text{Nitro-Salcn})]\text{Cl}$ antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c) a las 12 h	68
Figura 43. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para los blancos de reacción de limoneno y el ión ClO^- por vía química hasta las 12 h	78

Figura 44. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para el blanco de reacción de limoneno y el ión ClO ⁻ por vía electroquímica hasta las 8h	78
Figura 45. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para el blanco de reacción de limoneno y el ión ClO ⁻ por vía electroquímica hasta las 12 h	79
Figura 46. Porcentaje de conversión neto (%CQ _{neto}) del limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn)	79
Figura 47. Porcentaje de conversión electroquímico neto (%CE _{neto}) del limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn)	79
Figura 48. Espectros IR del complejo [Mn(Cloro-Salcn)]Cl antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c) a las 12 h	80
Figura 49. Espectros IR del complejo [Mn(Salcn)]Cl antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c) a las 12 h	80
Figura 50. Espectros IR del complejo [Mn(Broni-Salcn)]Cl antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c) a las 12 h	81
Figura 51. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo [Mn(Cl-Salcn)]Cl	81
Figura 52. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo [Mn(Broni-Salcn)]Cl	82
Figura 53. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo [Mn(Salcn)]Cl	82
Figura 54. Espectro de masas obtenido por ionización electrónica (EI, 70 eV) para la carvona, producto principal en la reacciones de epoxidación empleando el complejo [Mn(Broni-Salcn)]Cl	83
Figura 55. Rutas de fragmentación para la carvona	83

LISTA DE ECUACIONES

	Pág.
Ecuación 1. Ecuación de la recta	29
Ecuación 2. Límite de cuantificación	29
Ecuación 3. Límite de detección	29
Ecuación 4. Factor de respuesta	43

LISTA DE REACCIONES

	Pág.
Reacción 1. Resolución de la mezcla racémica (\pm)- <i>trans</i> -1,2-diaminociclohexano	47
Reacción 2. Reacción de síntesis de ligandos H ₂ Salcn	48
Reacción 3. Etapas de la síntesis de los complejos Mn(Salcn)	48
Reacción 4. Etapas de valoración del ión hipoclorito empleando tiosulfato por el método del yodato	54
Reacción 5 Esquema de una reacción electroquímico	57
Reacción 6. Reacción del cátodo	57
Reacción 7. Reacción ánodo	57
Reacción 8. Reacción de la formación de hipoclorito	57

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Resumen de algunos de los métodos de epoxidación para limoneno en los últimos años	15
Tabla 2. Condiciones del método para la determinación de limoneno por cromatografía de gases acoplada a detección espectrometría de masas (CG-MS)	27
Tabla 3. Porcentajes y cantidades del complejo [Mn(Salcn)]Cl	33
Tabla 4. Curvas de calibración para el análisis de la linealidad instrumental	41
Tabla 5. Pendientes, intercepto y coeficientes de correlación para el método de cuantificación de limoneno, evaluación de la linealidad instrumental	42
Tabla 6. Curvas de calibración del método CG-MS para la cuantificación del limoneno bajo condiciones de repetibilidad	43
Tabla 7. Resultados áreas de curvas de calibración para análisis de precisión intermedia.	44
Tabla 8. Repetibilidad y precisión intermedia en términos de s y %CV para el método de limoneno por CG-MS	45
Tabla 9. Cálculo del límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) del método de cuantificación de limoneno por CG-MS.	46
Tabla 10. Parámetros estadísticos estandarizados para el método de cuantificación de limoneno empleando patrón interno por CG-MS	46
Tabla 11. Rotación específica y absorciones características en IR (KBr) de los ligandos tipo H ₂ (Salcn) y sus respectivos complejos	50
Tabla 12. Porcentaje de conversión neta de limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn) en la epoxidación química	53
Tabla 13. Porcentajes de conversión electroquímico neto del limoneno hasta las 12 h de reacción	60

Tabla 14. Porcentaje de selectividad hacia epóxidos de limoneno obtenidos a las 12 h de reacción química para los complejos Mn(Salcn)	65
Tabla 15. Porcentaje de selectividad hacia epóxidos de limoneno obtenidos a las 12 h de reacción electroquímica para los complejos Mn(Salcn)	66
Tabla 16. Evaluación de normalidad de los datos en función de la concentración	77
Tabla 17. Pruebas de normalidad de los datos en función del día	77
Tabla 18. ANOVA para áreas Vs día	77
Tabla 19. ANOVA para la relación de áreas (limoneno / naftaleno) Vs nivel de concentración	77
Tabla 20. Prueba de Tukey	78

LISTA DE ACRÓNIMOS

%CE	Porcentaje de conversión electroquímico del limoneno
%CQ	Porcentaje de conversión químico del limoneno
%CE _{neto}	Porcentaje de conversión electroquímico neto del limoneno
%CQ _{neto}	Porcentaje de conversión químico neto del limoneno
TBHP	Hidroperóxido de <i>tert</i> -butilo
[Mn(Nitro-Salcn)]Cl	Cloruro de <i>N,N'</i> -Bis(5,5'-nitrosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso (III)
[Mn(Cl-Salcn)]Cl	Cloruro de <i>N,N'</i> -Bis(5,5'-clorosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso (III)
[Mn(Broni-Salcn)]Cl	Cloruro de <i>N,N'</i> -Bis(3,3'-bromo-5,5'-nitrosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso (III)
[Mn(Salcn)]Cl	Cloruro de <i>N,N'</i> -Bis(saliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso (III)
H ₂ Salen ó Salen	<i>N,N'</i> -bis(saliciden)-Etilendiimina
H ₂ Salcn ó Salcn	<i>N,N'</i> -bis(saliciden)-1,2-ciclohexanodiimina
%Cat	Porcentaje de catalizador
%mmol	Porcentaje milimolar de catalizador
%e.d	Porcentaje diastereomérico
mA	miliamperios
CG-MS	Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LL	Límite de linealidad
NaOCl	Hipoclorito de sodio
ClO ⁻	Ión hipoclorito
DMD	Dimetildioxirano
ACN	Acetonitrilo
TBAB	Bromuro de tetrabutilamonio
<i>tert</i> -BuOOH	<i>tert</i> -butil-hidroperóxido

ppm	Partes por millón
t_r	Tiempo de retención
m/z	Relación masa/carga
$S_{\text{interceptos}}$	Desviación estándar del intercepto
m_{prom}	Promedio de las pendientes
m	Pendiente
b	Intercepto
GIPEL	Grupo de Investigación en procesos electroquímicos
NIST	National Institute of Standards and Technology
S	Desviación estándar
CV	Coefficiente de variación
APCI	Ionización química a presión atmosférica
GRAS	Generalmente reconocido como seguro
CFR	Código de regulaciones federales
FT-IR	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
f_R	Factor de respuesta
uma	Unidad de masa atómica
DMD	Dimetildioxirano

RESUMEN

La investigación sobre epóxidos de terpenos es muy prometedora, porque estas moléculas sirven de punto de partida para la síntesis de compuestos de gran interés en química fina. A pesar de que se cuenta con diferentes métodos de producción de epóxido aún es necesario establecer la búsqueda de metodologías “verdes” que garanticen la regio y enantioselectividad. En este trabajo, se evaluó la electroepoxidación de limoneno empleando complejos (*R,R'*)-Mn(III)-Salcn derivados de ligandos 5,5'-nitrosustituidos, 5,5'-clorosustituidos, 5,5'-nitro-3,3'-bromosustituidos y sin sustituyentes, buscando evaluar las ventajas de la aplicación de la tecnología electroquímica en la regioselectividad de esta reacción.

Tanto ligandos como complejos fueron sintetizados por metodologías ambientalmente sostenibles, establecidas previamente en el grupo de investigación (GIPEL). La reacción se llevó a cabo, siguiendo dos procedimientos, ambos en un sistema bifásico donde el sustrato y el catalizador se disolvieron en la fase orgánica y el agente oxidante en la fase acuosa. La metodología química parte de una solución acuosa de hipoclorito de sodio, mientras que en la metodología electroquímica el ClO⁻ se generó *in situ* mediante electrólisis de una solución acuosa de cloruro de sodio. La concentración del agente oxidante se determinó mediante la valoración con tiosulfato de sodio en ambos casos para diferentes tiempos. Las conversiones del limoneno a sus epóxidos se monitorearon mediante CG-MS, para lo cual fue necesario la estandarización de la técnica. Los parámetros de confianza se establecieron para un LD de 0,0653 ppm y LC de 0,2178 ppm en un intervalo lineal de 1-25 ppm, con una alta repetibilidad y precisión instrumental.

El estudio comparativo de los resultados de la conversión de limoneno a epóxidos se llevó a cabo a las 4,8 y 12 h. Para todos los catalizadores, se determinó una mayor conversión del limoneno en la reacción de electroepoxidación, en donde el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl presentó la mayor actividad (61,88%/12 h), mientras que por el método químico se alcanzó este valor a las 48 h de reacción con el mismo catalizador (40,69%/12 h). Se encontró una mayor selectividad hacia el *cis*-1,2-óxido de limoneno con los complejos [Mn(Nitro-Salcn)]Cl, [Mn(Cl-Salcn)]Cl y [Mn(Salcn)]Cl, mientras que la reacción en presencia del complejo [Mn(Broni-Salcn)]Cl, dio como producto principal carvona.

Palabras claves: Electroepoxidación, limoneno, CG-MS, Catalizador Mn-Salcn.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los terpenos son el principal constituyente de los aceites esenciales los cuales son ampliamente comercializados y extraídos a partir de una variedad de plantas y flores, dentro de estos se encuentra el limoneno, de gran interés para la industria química por sus diferentes aplicaciones siendo la más destacada la síntesis de epóxidos debido al incremento del valor agregado para esta sustancia. Los métodos de epoxidación de terpenos y su producción a compuestos ópticamente puros, son rutas muy importantes para obtener sustancias de interés en química como los epóxidos, usados como compuestos de partida en aplicaciones en la industria farmacéutica, aditivos alimentarios y moléculas de gran interés comercial.

Los procedimientos comunes de oxidación de estas sustancias generan subproductos no deseados, puesto que son poco selectivos ante la amplia variedad estructural y tipo de grupos oxidables. Dentro de los primeros estudios sobre la oxidación del limoneno se encuentra su epoxidación con peróxido de hidrógeno. Desde esa fecha hasta la actualidad se han realizado numerosas modificaciones a las reacciones de epoxidación de aldehídos α,β -insaturados dentro de las cuales se estudia el uso de catalizadores. Publicaciones sobre el limoneno reportan el uso de diferentes complejos como dioxomolibdeno, complejos de rutenio en presencia de yodosilbenceno, agentes donadores de oxígeno como *tert*-BuOOH, oxígeno molecular, hipoclorito de sodio a distintas condiciones de reacción. Con el fin de obtener altos porcentajes de conversión y selectividad se buscan catalizadores selectivos los cuales puede mejorar con la intervención de diferentes catalizadores metálicos quirales, debido a que los complejos de manganeso tipo [Mn(Salen)]Cl son efectivos y han demostrado que la sustitución sobre los anillos aromáticos del ligando por grupos generalmente desactivantes como el -Br o el grupo -NO₂, induce cambios significativos sobre su actividad catalítica utilizando como terpeno el citral. Sin embargo, estas reacciones clásicas de oxidación, presentan desventajas debido a que constan de varios pasos y generan gran cantidad de residuos por lo que requieren de metodologías rigurosas para alcanzar rendimientos aceptables, que suelen ser muy bajos cuando se desean obtener derivados de alto grado de pureza. De esta manera, la electroquímica se presenta como una metodología limpia, que puede conducir a un proceso de síntesis hacia el producto deseado que garantice su pureza dirigiendo la selectividad. Así mismo, la

generación *in situ* del agente oxidante evita el cuidado en el manejo de estas sustancias que pueden ser costosas y de difícil eliminación.

En este proyecto se pretende estudiar la regioselectividad de la epoxidación del limoneno, mediante catálisis, principalmente, en compuestos de Mn quirales sintetizados electroquímicamente estableciendo parámetros que permitan el estudio hacia otros centros metálicos como Fe, Co con ligandos tipo H₂Salen. Se espera que los resultados presenten las ventajas que ofrece las técnicas electroquímicas ya que considera una de las mejores alternativas de síntesis de estos epóxidos siendo un método seguro, selectivo y eficiente.

2. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

- Evaluar la regioselectividad en la epoxidación electroquímica del limoneno utilizando complejos quirales tipo Mn-Salen.

2.2. ESPECÍFICOS

- Establecer las condiciones de reacción electroquímica para la epoxidación del limoneno.
- Estimar la eficiencia de los procesos por vía electroquímica para los productos regioselectivos de epoxidación a partir del limoneno.
- Estudiar la selectividad de los complejos de Mn con diferentes sustituciones en los ligandos tipo Salen a través de la ruta electroquímica para la epoxidación del limoneno.

3. ESTADO DEL ARTE

3.1. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son productos del metabolismo de las plantas y en su composición generalmente están presentes hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, así como derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y menos frecuente los ácidos) biogénicamente derivados de ellos¹. Estos componentes le confieren como principal característica su aroma y son la fuente de olor de frutos, flores, hojas y maderas de una gran variedad de plantas aromáticas, árboles y arbustos, que teniendo en cuenta la variedad y el lugar geográfico donde se cultivan, así mismo varía en su composición la presencia de dichos terpenos². Se encuentran en muy baja concentración en la planta, generalmente son difíciles de obtener además de que son susceptibles a alteraciones, por estas razones su precio es elevado. En su mayoría son insolubles en agua pero fácilmente solubles en alcohol, éter, aceites vegetales y minerales. Dichos compuestos son derivados de isopreno (2-metilbuta-1,3-dieno), considerada una de las clases principales de compuestos orgánicos en la naturaleza de los cuales se conocen más de 30 mil compuestos aislados de plantas, microorganismos y animales.³

La utilidad de los aceites esenciales se debe principalmente como materia prima en la fabricación de productos alimenticios, implementos de belleza, fragancias y muchos otros productos empleados en la vida cotidiana.

Los componentes de los aceites esenciales se distribuyen por toda la planta, pero se concentran por lo general, de manera no uniforme, solo en una de sus partes. En el caso particular de los cítricos, por ejemplo el limón (*Citrus limón*), lima (*C. aurantifolia*), naranja (*C. sinensis* o *C. aurantium*), mandarina (*C. nobilis*) y toronja (*C. paradisi*), estas sustancias volátiles se encuentran ubicadas en las pequeñas vesículas situadas en el flavedo o en el exocarpo de sus frutos⁴.

Los principales aceites esenciales producidos y comercializados en el mundo son los que provienen de cítricos, debido a que se obtienen de la cáscara que resulta como residuo en la industria de la producción de jugos, aproximadamente el 50% del peso de naranja se convierte en residuos de producción (cáscara, pulpa, semillas, hojas y fruto entero que no

alcanzaron los requisitos de calidad)⁵. Aunque estos desechos se pueden utilizar para una amplia variedad de propósitos como la producción de fertilizantes, aceites esenciales, pectina, etanol, enzimas industriales y absorbentes de contaminantes; hasta hace poco tiempo no se disponía de medios de eliminación más adecuados que verter los desechos en tierras cercanas a los lugares producción, utilizándolos como materia prima en la fabricación de alimentos para ganado o la quema.⁶ Sin embargo, estos procesos generan aguas residuales altamente contaminadas en términos de valores de oxígeno químico y biológico (DQO y DBO) que puede afectar negativamente no sólo al suelo sino también aguas subterráneas⁵. La producción de aceites esenciales plantea la idea de potencializar el uso de estos residuos para su transformación en productos de valor agregado, una de las más atractivas es la industria química fina.

La industria de aceites esenciales está estrechamente relacionada con el sector productivo y tecnológico, el desarrollo agrícola y el manejo de cultivos industriales de plantas aromáticas, de los cuales se destacan tres sectores, entre ellos: los alimentos, el farmacéutico, cosmético y los productos de aseo, que utilizan aceites esenciales en grandes cantidades

3.2. LIMONENO

Es el principal componente del aceite de cítricos, aproximadamente representa el 91-96 % en peso,⁷ aunque también forma parte de los aceites esenciales de diferentes hierbas aromáticas como la citronela y la menta. Para la obtención del limoneno generalmente se usan los residuos de la cáscara de naranja, del cual se extrae (por compresión) el aceite esencial con una composición mayoritaria de limoneno. Mediante procesos de destilación fraccionada u otra técnica de extracción, es posible entonces obtenerlo puro, para posteriormente darle diferentes aplicaciones. Los rendimientos de extracción para el limoneno están entre el 72-86,2% a partir de la desterpenación del aceite de naranja cuyo predominante es el isómero *R*-limoneno.⁸

Es un monoterpeno cíclico que cuenta con un centro quiral en el carbono 4, cuya estructura química se presenta en los estereoisómeros *R* y *S* como se muestra en la Figura 1. Esta molécula no presenta ningún grupo funcional disponible para la hidrólisis, pero posee dos

dobles enlaces en los carbonos C₁-C₂ y C₈-C₉, por ello se ha considerado su uso como disolvente altamente lipófilo debido a que la solubilidad en agua es muy baja.

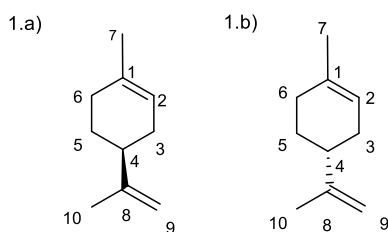


Figura 1. Estructuras de los enantiómeros del limoneno: **a)** (*S*)-1-metil-4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-eno. **b)** (*R*)-1-metil-4-(prop-1-en-2-il) ciclohex-1-eno

El *R*-limoneno posee un fuerte olor a naranja y es el componente principal del aceite cítrico representando entre el 70 y 96% de su composición, mientras el *S*-limoneno se encuentra usualmente en la madera del pino.⁹

El limoneno es susceptible a la degradación por reacciones de oxidación, lo que origina inicialmente la formación de hidroperóxidos que pueden experimentar reacciones de escisión que conducen a la formación de numerosos productos, incluyendo alcohol perilílico, acetato de carveol, óxido de limoneno, carvona y carveol.¹⁰

3.2.1. Utilidad del limoneno y sus epóxidos. El limoneno ha sido aprovechado de manera muy variada, tiene un amplio uso en la industria de pinturas pues forma parte de los llamados “disolventes verdes” por su gran biodegradabilidad¹¹, se ha reportado como disolvente alternativo para la extracción de varios compuestos bioactivos, buscando reemplazar el uso del *n*-hexano y solventes clorados, así como para la sustitución de los derivados del petróleo en la extracción de diversos compuestos (carotenoides, aceites, entre otros).¹²

En la industria alimenticia, el limoneno es el componente de diferentes sabores y es usado como un aromatizante para enmascarar el sabor amargo de los alcaloides, también es empleado como disolvente o como aditivo en fragancias, posee propiedades antioxidantes que son aprovechadas con el fin de conservar los alimentos y evitar alteraciones en las propiedades organolépticas, satisfaciendo así la demanda de los consumidores alimentarios de compuestos bioactivos.¹³ Por otra parte, esta molécula se utiliza con total

seguridad en los alimentos como agente saborizante, ya que se considera como una molécula GRAS (generalmente reconocido como seguro)^{12,14} en el código de regulaciones federales (CFR, 2015).

Otro de los usos que se le ha otorgado a este terpeno y uno de los más interesantes es su actividad antimicrobiana. Esta propiedad resulta ser una limitación para la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*), estudiada en los pretratamientos de hidrólisis enzimática de residuos de cáscaras de limón para obtener bioetanol, debido a que el *R*-limoneno proveniente del aceite esencial del limón, actúa inhibiendo el crecimiento de este tipo de levadura en concentraciones mayores al 0,025%¹⁵. Aunque se emplea como insecticida, se ha demostrado que no es tóxico para los seres humanos y animales domésticos^{12,13} pues se utiliza en diversos campos de la medicina por sus propiedades antialérgicas y anticancerígenas.^{3,5} Por demostrar ser un portador farmacológico de primera categoría por su capacidad anti-tumoral y anti-diabético^{18,5} estimula gran interés en aplicaciones médicas.

En síntesis orgánica el limoneno es usado como materia prima para la obtención de productos de valor agregado y uno de los isómeros empleados como material de partida es el *R*-limoneno. Dentro de las principales rutas de transformación a partir del limoneno se encuentra la oxidación del carbono C₆ (Figura 2), para producir carveol (**2**) que se emplea como fragancia en cosméticos debido a que su olor se asemeja a menta verde, también se usa como aditivo de sabor en la industria alimentaria. La carvona (**3**) que es utilizada como aditivo en productos farmacéuticos, saborizantes, productos de higiene oral y es un precursor en varias reacciones químicas para la producción de alcoholes epoxídicos y otros compuestos específicos.⁷ La dihidrocarvona (**4**) se ha estudiado en el diseño de estrategias sintéticas dirigidas a la obtención de guayanos.¹⁶

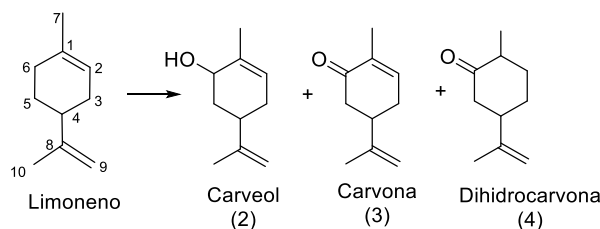


Figura 2. Derivados del limoneno obtenidos a partir de la oxidación del carbono C₆

La oxidación del carbono C₇ produce perilaldehído, ácido perílico y otros compuestos perílicos (Figura 3), de los cuales se destaca el alcohol perílico **(6)** que se encuentra en muy baja cantidad en aceites esenciales de lavanda, hierbabuena, menta y alcaravea. Con este derivado se desarrollaron estudios en animales, con los cuales se sugiere que puede ayudar a aminorar el crecimiento de tumores pancreáticos, mamarios y hepáticos, ya que actúa como un agente relativamente no tóxico, además ha sido usado en pruebas preclínicas, debido a sus propiedades terapéuticas y actividad quimiopreventiva contra una amplia variedad de cánceres⁸.

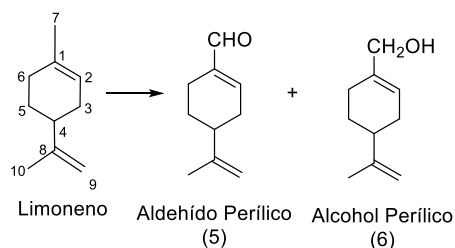


Figura 3. Derivados del limoneno obtenidos a partir de la oxidación del carbono C₇

La epoxidación del doble enlace de los carbonos C₁-C₂ o C₈-C₉ para producir el epóxido en dicha posición o en ambos (Figura 4) lo convierten en monómeros útiles como materiales de partida en muchas síntesis orgánicas.¹⁷

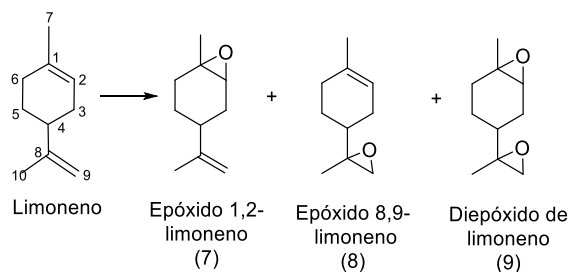


Figura 4. Epóxidos derivados del limoneno

El óxido de 1,2-limoneno **(7)** es de hecho, uno de los miembros más importantes de la familia derivados del limoneno para la industria del perfume y se utilizan ampliamente como materia prima en la fabricación de una gama de productos comerciales importantes.¹⁸ Dentro de estos, se destaca su uso en la copolimerización a partir del dióxido de carbono generando así un policarbonato biodegradable^{9,18} (Figura 5), conocido como carbonato polialifático, empleado tanto en los hogares, la industria o en la arquitectura por sus

principales características (eléctricas, mecánicas, térmicas). Además, recientemente se ha reportado la síntesis en dos etapas para obtener polímeros de red mediante la reacción de reticulación de los epóxidos multifuncionales basados en derivados de óxidos de limoneno con BPEI (polietilenimina ramificada), dando lugar a polímeros de red con resistencia térmica relativamente alta y con rendimientos elevados que busca ser usados para la fabricación de adhesivos y materiales de recubrimiento.¹⁹

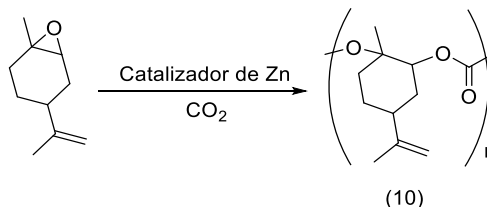
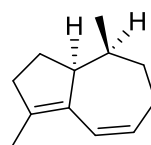


Figura 5. Síntesis de policarbonato de limoneno

Entre los muchos compuestos que se puede sintetizar a partir del epóxido endocíclico de limoneno (Figura 4, compuesto **(7)**), se destacan:

- (-)-clavukerina A, un compuesto natural aislado del coral *Clavularia koellikeri*^{20,21} utilizado con frecuencia en campo de ensayo para nuevos métodos y estrategias sintéticas, así como una posible herramienta para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central debido a sus propiedades ansiolíticas y sedantes²² para disminuir y tratar la ansiedad sin efectos tóxicos.



(11)

Figura 6. Estructura de la (-)-clavukerina A

- α -bisaboleno, una feromona sexual del chinche verde (*Nezara viridula*), una plaga importante del cultivo de soja (Figura 7). Su control biológico podría facilitarse al aplicar la feromona de forma que se evite la reproducción de la plaga o esta pueda alejarse de los cultivos.^{20,23}

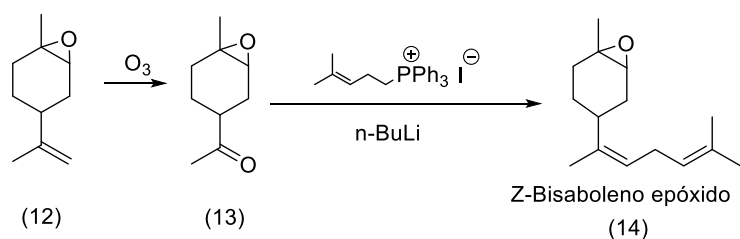


Figura 7. Síntesis de isómeros de bisaboleno a partir de limoneno.

Por último, de los usos más destacados recientemente de los óxidos de limoneno, han sido como intermediarios clave en la ruta de síntesis hacia los aminoalcoholes vecinales correspondientes que también han encontrado aplicación como ligandos en la catálisis asimétrica. Lo que se busca es acceder a las diaminas en forma enantioméricamente pura, a partir de la apertura del anillo estereoselectivo de las aziridinas quirales. Dada la versatilidad de los epóxidos puros, se espera que de igual manera las aziridinas terpénicas estrechamente relacionadas, tengan el potencial de convertirse en intermedios útiles en la síntesis orgánica, la atención se centra en los terpenos naturales cuyos sustituyentes se encuentran en entornos definidos geoméricamente como resultado de su naturaleza cíclica. Este método fue realizado por *Michael V. Voronkov* y colaboradores, para la síntesis altamente selectiva de cualquiera de los isómeros de aziridina de limoneno a partir de la mezcla equimolar de óxidos de limoneno.²⁴

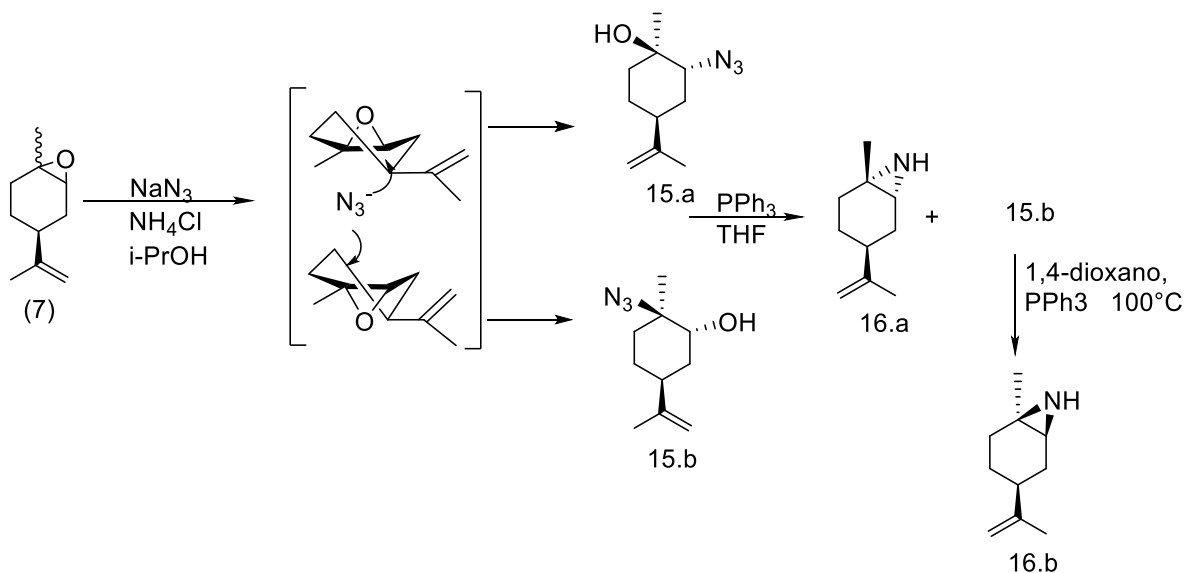


Figura 8. Síntesis de aziridinas a partir de epóxido-1,2-limoneno

3.3. MÉTODOS PARA LA EPOXIDACIÓN DE TERPENOS

La transferencia directa de oxígeno a una olefina, es un método bien establecido y de un amplio uso para la obtención de epóxidos. La característica más destacada de la función epóxido, es su elevada reactividad derivada de la facilidad de apertura del anillo constantemente sometido a una gran tensión, lo cual es aprovechado para la obtención de diversos compuestos.

De los métodos tradicionales y el más útil para obtener epóxidos es la reacción entre un peroxiácido y la olefina deseada, usado como oxidante los ácidos percarboxílicos, cuyo mecanismo se basa en la formación de un complejo de transición bicíclico. Este método es ahora considerado como un proceso no respetuoso con el medio ambiente debido a la formación de cantidades estequiométricas del correspondiente ácido²⁵, uno de los más usados es el ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA).

Actualmente la búsqueda se centra en nuevas metodologías sostenibles para la epoxidación que permitan disminuir el uso de reactivos oxidantes peligrosos o con un bajo impacto ambiental que puedan ser utilizados con fines industriales. De los métodos disponibles en la literatura sobre las maneras amigables con el ambiente para llevar a cabo epoxidaciones, se encuentra oxidantes como el peróxido de hidrógeno, ya que su único subproducto es el agua. Sin embargo, este oxidante es poco reactivo, por lo que necesita ser activado a través del uso de catalizadores, generalmente metales de transición.

El reciente interés hacia el desarrollo de procedimientos de química verde, buscan el uso de materias primas renovables y de los cuales se ha planteado como alternativa los terpenos como material de partida para el estudio de las reacciones de epoxidación.

Hasta la fecha han sido estudiados varios terpenos como el citral, α -pineno, β -pineno, canfeno y limoneno entre otros, que presentan insaturaciones en su estructura propensas a sufrir oxidación selectivamente a sus epóxidos correspondientes. se han llevado a cabo mejoras para obtener buenos rendimientos, empleando distintas metodologías mediante síntesis química o en presencia de agentes oxidantes (algunos preparados *in situ*) de los cuales se destacan y son los más comunes el H_2O_2 ^{9,25}, $NaClO$ ²⁶⁻²⁸, *m*-CPBA, DMD y O_2 / pivalaldehído²⁹ entre otros; usando catalizadores homogéneos o heterogéneos, en

sistemas monofásicos, bifásicos y con diferentes tipos de solventes (solventes orgánicos o líquidos iónicos).

Uno de los estudios de epoxidación para el α -pineno empleando como catalizador NaCsCoY20 basado en zeolita Y, usando como agente oxidante oxígeno molecular a una presión de 80 psi y utilizando como disolvente *N,N*-dimetilformamida (DMF), mostraron una conversión de α -pineno del 47% y 61% de selectividad de epóxido.³⁰ Con canfeno, otro terpeno estudiado en reacciones de epoxidación, se obtuvo rendimientos de 97% y un 98% de selectividad hacia óxido de canfeno con 99% de conversión, luego de 3h, empleando el catalizador de metiltrioxorenio(VII) (MTO).³¹

3.3.1. Epoxidación del limoneno. Debido a la presencia de las dos insaturaciones en la molécula del limoneno, (C₁-C₂ y C₈-C₉) pueden generarse diferentes epóxidos y productos oxidados (Figura 9), incluyendo isómeros ópticos, dando lugar así a una mezcla racémica de los productos de reacción.

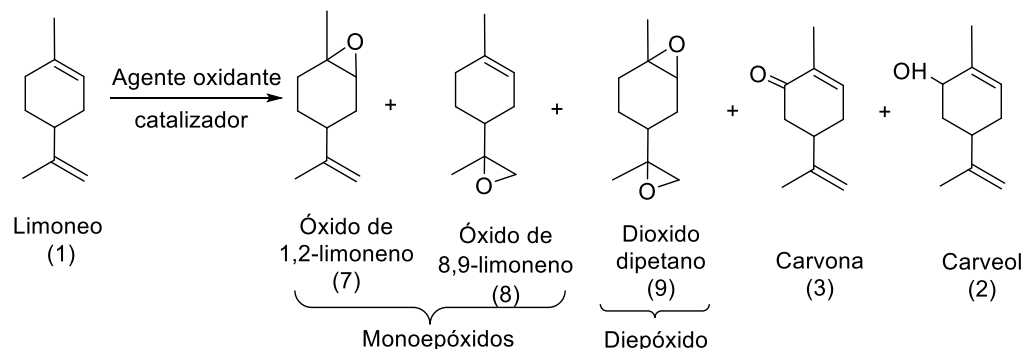


Figura 9. Posibles productos de oxidación para el limoneno

Lo anterior, ha sido un enfoque para la búsqueda de nuevas metodologías que generen alta conversión y selectividad de los productos, mediante el estudio de parámetros (tipo catalizador, agente oxidante, medio de reacción, etc) óptimos para la epoxidación. Se ha implementado la catálisis básica utilizando como catalizadores hidróxidos (NaOH, KOH) o sales (Na₂CO₃ y K₂CO₃), que producen la epoxidación de alquenos con peróxido de hidrogeno en presencia de nitrilos, un reactivo empleado en cantidades estequiométricas que producen amidas²⁰. La epoxidación de limoneno sobre compuestos de tipo hidrotalcita con peróxido de hidrógeno en presencia de nitrilos, obtuvo conversión del 98% y una selectividad del 74,3% hacia el epóxido 1,2 de limoneno.³²

La epoxidación en presencia de catalizadores homogéneos y heterogéneos genera isómeros mono y diepóxidos, estos últimos se pueden transformar en materiales poliméricos especialmente valiosos. Aquellas metodologías que emplean catalizadores homogéneos, se consideran un reto por su difícil separación del catalizador en el medio de reacción y la formación de óxido de 1,2-limoneno (**7**) que compite con la formación de otros productos, por ejemplo óxido de 8,9-limoneno (**8**) y 1,2-dióxido de 8,9-limoneno (**9**), también llamado dióxido de dipenteno además de la carvona y carveol que también se forman dependiendo del catalizador utilizado. Sin embargo, se ha reportado por catálisis homogénea el uso de complejos de molibdeno o metiltrioxorenio, demostrando tener una alta conversión y selectividad hacia el epóxido de 1,2-limoneno¹⁸.

Otro tipo de catalizadores empleados para la epoxidación de este terpeno han sido los complejos de tungsteno con diferentes metales como Co(II), Zn(II), Cu(II) y Mn(II), utilizando H₂O₂ como oxidante y (Aliquat 336) como agente de transferencia de fase mostrando que el complejo con Cu fue el catalizador más activo para la oxidación del limoneno, atribuyéndose tanto a las propiedades químicas como estructurales relacionadas con la presencia de Cu(II).³³

El uso de los catalizadores no solo se limita a metales de transición, sino que además se ha demostrado que la epoxidación puede ser promovida por un óxido derivado de metal sin transición, empleando Al₂O₃ y como oxidante el peróxido de hidrógeno en acetato de etilo a una temperatura moderada de 80 °C, obteniendo los epóxidos endocíclicos y diepóxidos mediante dos metodologías en las que variaban la cantidad (limoneno, oxidante y catalizador), con un rendimiento en ambos casos ~99% al cabo de unas pocas horas.⁹

En la mayoría de síntesis se obtiene como producto principal el óxido de 1,2 de limoneno, no obstante, otros estudios se han llevado a cabo la oxidación alílica para producir carvona, empleando sílice mesoporosa dopada con cobalto moldeadas por hojas de caña, obteniendo una conversión de 100% para el sustrato y una selectividad de 40,2% de carvona, bajo condiciones de reacción relativamente suaves sin agregar ningún iniciador.³⁴ Otros estudios demuestran que la epoxidación se orienta principalmente por el tipo de agente oxidante, dando lugar a procesos regioselectivos y procesos estereoselectivos, cuando son dirigidos por los catalizadores empleados en la síntesis³⁵.

De los agentes de epoxidación más ampliamente utilizados, están los peróxidos como el *tert*-BuOOH y el peróxido de hidrógeno considerado como "verde", estos reactivos son muy convenientes para transformar limoneno a sus epóxidos, de hecho son muchos los protocolos de epoxidación para alquenos que usan el peróxido de hidrógeno como donador de oxígeno, en virtud a que es calificado como oxidante eficiente y económico. El uso de peroxiácidos orgánicos, tales como el ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA) no es económica y ambientalmente deseable, ya que producen residuos que contiene sus correspondientes ácidos, además no son selectivos en la formación de epóxidos¹⁸, especialmente en la preparación de epóxidos sensibles al ácido, porque genera rompimiento del anillo al igual que si se encuentra en medio básico.

La diastereoselectividad de la epoxidación del *R*-limoneno se determinó empleando catalizadores tipo Jacobsen tanto en su forma quiral como aquiral, evaluando el uso de distintos agentes oxidantes como NaClO y *m*-CPBA, con los que se obtuvo preferencialmente el *cis*-(+)-1,2-óxido de limoneno comparado con la metodología en el que se usa oxidantes que se generan *in situ* como el DMD (dimetildioxirano) y O₂/pivalaldehído; con esto se demuestra que la reacción de epoxidación bajo estas condiciones se ve influenciada por el centro quiral del catalizador y en otras por el centro quiral del limoneno.²⁹

Tabla 1. Resumen de algunos de los métodos de epoxidación para limoneno en los últimos años

Agente oxidante	Catalizador	Condiciones de reacción	Selectividad del sustrato
H ₂ O ₂	Compuestos de tipo hidrotalcita	6,2mmol limoneno; 34,3mmol nitrilo; 121,3mmol H ₂ O ₂ ; 80 mL metanol; 65 °C	Epóxido 1,2 de limoneno ³²
H ₂ O ₂	MTO	Limoneno (6mmol); CH ₂ Cl ₂ (5 mL); 4 °C; MTO (1 mol% / olefina); 150 equivalente. H ₂ O ₂ (10% en agua)	Epóxido 1,2 de limoneno ¹⁸
H ₂ O ₂	K ₁₀ [Cu ₄ (H ₂ O) ₂ (PW ₉ O ₃₄) ₂]	Relación molar (Precursor (L):Δ-Na ₈ HPW ₉ O ₃₄ ·19H ₂ O : H ₂ O ₂ : PWCu) (L/H ₂ O ₂ /cat=1000/2000/1); 1,2	Epóxido 1,2 de limoneno ³³

	20H ₂ O, (PWCu)	dicloroetano y cloruro de metiltricaprilamonio (Aliquat 336); 2 °C	
H ₂ O ₂	Al ₂ O ₃	2,7 mmol limoneno, 7,5mmol H ₂ O ₂ (70% en H ₂ O), 1,0mmol butoxibutano (patrón interno para cromatografía); 5 mL acetato de etilo; 0,17 g Al ₂ O ₃ a 80°C	Epóxido 1,2 de limoneno ⁹
H ₂ O ₂	Al ₂ O ₃	0,36mmol limoneno, 5,7mmol H ₂ O ₂ (70% en H ₂ O), 1,0 mmol butoxibutano (patrón interno para cromatografía); 5 mL acetato de etilo; 0,1 g Al ₂ O ₃ a 80 °C	Diepoxidos ⁹
Aire	Sílice mesoporosa moldeada con hojas de juncos (<i>Phragmites communis</i>) y dopada con cobalto (Co / SiO ₂ / PC)	2 mL de limoneno; 100 mg de catalizador; 12 mL anhídrido acético; oxidante como aire; 348 K, 18h reacción	Carvona ³⁴
DMD; O ₂ / pivalaldehído; NaOCl; <i>m</i> -CPBA	Catalizador tipo Jacobsen, tanto en su forma quiral como aquiral	Ejemplo: 0,27 g de <i>R</i> -(+)-limoneno; 0,025 g de catalizador; 10 mL de diclorometano se adicionaron 0,1 g de 4-fenilpiridina <i>N</i> -óxido (4-PPNO); 10,9 mL de una solución 0,55 M de NaOCl en Na ₂ HPO ₄ (pH=11.3); 24 h de reacción	Epóxido 1,2 de limoneno ²⁹

Los aportes anteriormente mencionados y otros más, han contribuido y sirven como base para desarrollar y ampliar la búsqueda de otras metodologías empleando diferentes variables, con el fin de obtener resultados que favorezca y permita una selectividad hacia los productos de epoxidación para este terpeno. Este trabajo se enfoca primordialmente en evaluar la regioselectividad de la electroepoxidación del limoneno utilizando complejos quirales Mn-Salcn con diferentes sustituciones en los ligandos, por tanto, a continuación se amplian los estudios realizados mediante esta metodología.

3.4. ELECTROEPOXIDACIÓN DE TERPENOS

La electroquímica puede proporcionar métodos sostenibles para la producción de sustancias químicas, sin embargo, aún no está siendo ampliamente utilizada. Esta metodología ha sido investigada tanto para la epoxidación de alquenos naturales, como sintéticos, dando resultados que muestran sus ventajas como una ruta viable para la síntesis de epóxidos por su facilidad de operación y el limitado impacto ambiental.

La síntesis electroquímica implica la aplicación de un potencial en presencia de superficies de electrodo activo y el flujo de corriente resultante impulsa a procesos de oxidación o reducción y posteriormente la recombinación de reactivos. De este proceso existe varias características que se citan con frecuencia como ambientalmente favorables, entre ellas están³⁶: los electrodos pueden considerarse como catalizadores heterogéneos que se separan fácilmente de los productos, los electrones fluyendo como corriente, pueden considerarse como uno de los reactivos, el electrolito soporte y especies mediadoras electroquímicamente activas, podrían regenerarse electroquímicamente y recuperarse, las reacciones pueden darse a bajas temperaturas, reduciendo el consumo de energía, riesgo a la corrosión, falla de materiales y accidentes, las reacciones pueden ocurrir en medios de baja o ninguna volatilidad, aumento de rendimientos y por ultimo un incremento en la velocidad de reacción.

De los métodos utilizados para la síntesis asimétrica electroquímica, el que emplea un mediador ópticamente activo ha sido el más práctico, debido a que sólo una cantidad catalítica del mediador ópticamente activo puede promover la reacción asimétrica, la eficacia y la selectividad se pueden mejorar mediante un diseño adecuado de dicho mediador. El problema más importante a resolver en dicha oxidación asimétrica electroquímica con un catalizador de complejo metálico ópticamente activo, ha sido la regeneración electro-oxidativa de co-oxidantes sin afectar ligandos fácilmente oxidables³⁷.

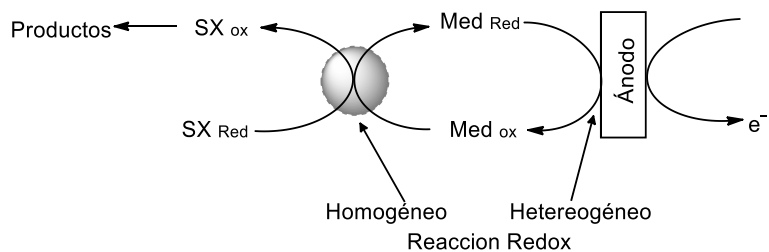


Figura 10. Representación esquemática dentro de la celda de un proceso electroquímico indirecto, para una oxidación Med_{ox} , Med_{red} =forma oxidada y reducida del catalizador redox (mediador); SX_{ox} , SX_{red} =forma oxidada y reducida del sustrato³⁸

En este sentido, es posible llevar a cabo procesos de electrooxidación mediante dos maneras, en el primer caso, oxidando los sustratos directamente sobre el ánodo que suele ser usado para oxidaciones completas o carbonizaciones en húmedo, mientras para los procesos de oxidación más suaves como la epoxidación, se desarrollan de manera indirecta (Figura 10) utilizando un transportador de electrones, que corresponde usualmente a una sal haloidea, que al oxidarse se convierte en un agente oxidante y posteriormente actúa sobre el sustrato o activa un catalizador.

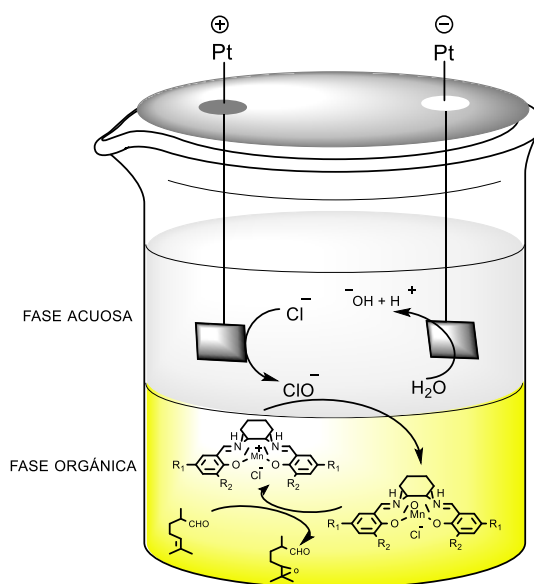


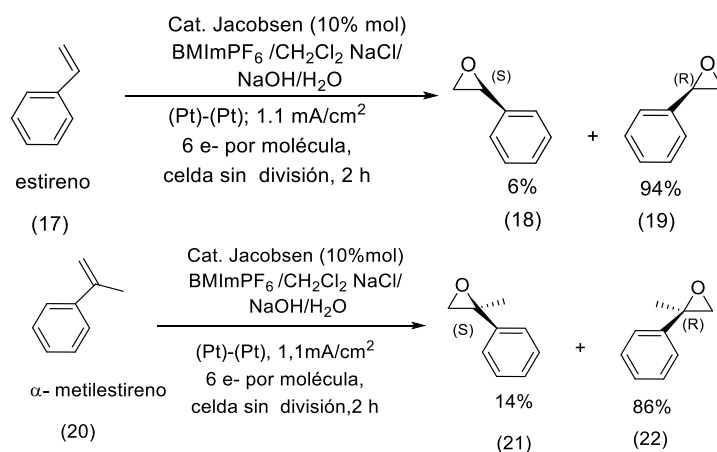
Figura 11. Esquema de celda bifásica de un compartimiento, para reacciones de electroepoxidación en una bifase

La anterior metodología, ya se ha realizado en el grupo de investigación de procesos electroquímicos (GIPEL) para la epoxidación del citral por vía electroquímica, usando complejos tipo (Mn-Salen) mediante un sistema bifásico. Una solución acuosa con un transportador de electrones (NaCl) y un solvente orgánico inmiscible (diclorometano) con un catalizador y el sustrato. La electrólisis de la fase acuosa genera el agente oxidante (ión hipoclorito), que difunde a la interfaz agua/solvente orgánico y activa el catalizador, que promueve la oxidación de la olefina a epóxido^{28,39}. (Figura 11)

Las reacciones electroquímicas indirectas en comparación con reacciones electroquímicas directas presentan, en general, ventajas importantes tales como⁴⁰:

- Bajo consumo de electricidad
- Mejora del rendimiento
- Aumento de la velocidad de reacción
- Reacción de sustratos electroquímicamente inactivos, por disminución de la energía de activación

Hasta el momento se han realizado numerosas modificaciones a las reacciones de epoxidación de alquenos α,β -insaturados, pero son relativamente escasas las publicaciones sobre reacciones de electroepoxidación. De los estudios relacionados con la electroepoxidación, se han desarrollado técnicas optimizando el tipo de transportador de electrones, la densidad de corriente, el pH y la temperatura de reacción, para usar el catalizador de Jacobsen frente a diferentes sustrato como el el β -metilestireno que han reportado conversiones hasta del 90% para con un exceso enantiomérico en el epóxido del 80%.³⁷ Posteriormente, este trabajo fue retomado usando el catalizador de Jacobsen soportado en líquidos iónicos para la electroepoxidación de tres compuestos: estireno, α -metilestireno e indeno, alcanzando conversiones y excesos enantioméricos (%ee) de 80 y 94%, 68y 82% y 77 y 83% respectivamente cuando emplearon como líquido iónico el hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio (BMImPF₆) bajo condiciones galvanostáticas (Figura 12). La principal ventaja en este trabajo se centra en la recuperación del catalizador y la disminución del tiempo de reacción de 16 a 2 horas, probablemente por el incremento de la movilidad iónica.²⁷



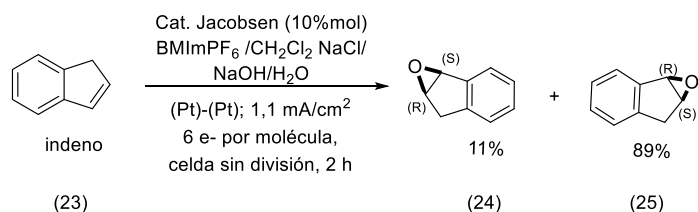


Figura 12. Productos obtenidos en la electroepoxidación de estireno, α -metilestireno e indeno según la metodología de Zhao y colaboradores²⁷

3.4.1. Estudios electroquímicos de epoxidación del limoneno. Los procesos de oxidación electroquímica de limoneno han sido estudiados con el fin de mejorar la selectividad y disminuir la variedad de productos de reacción, uno de los parámetros evaluados que se ha llevado a cabo es la cantidad del agente oxidante, puesto que a concentraciones elevadas puede generar sobre-oxidaciones en el sustrato.⁴¹

El uso de líquidos iónicos en la epoxidación de limoneno, usando catalizador de Jacobsen disuelto en tetrafluoroborato de 1-*n*-butil-3-metilimidazolio (BMI-BF₄), demostró que la combinación de (*R,R'*)-Mn(Salen) con (*R*)-limoneno o (*S,S'*)-Mn(Salen) con (*S*)-limoneno genera excesos diastereoméricos entre el 57 y el 74%, mientras que la combinación de (*S,S'*)-Mn(Salen) con (*R*)-limoneno o (*R,R'*)-Mn(Salen) con (*S*)-limoneno disminuyen los excesos diastereoméricos (entre el 7 y 22%). Este comportamiento indica que existe una doble inducción asimétrica del proceso donde el centro quiral del sustrato influye en la actividad catalítica (Figura 13).⁴²

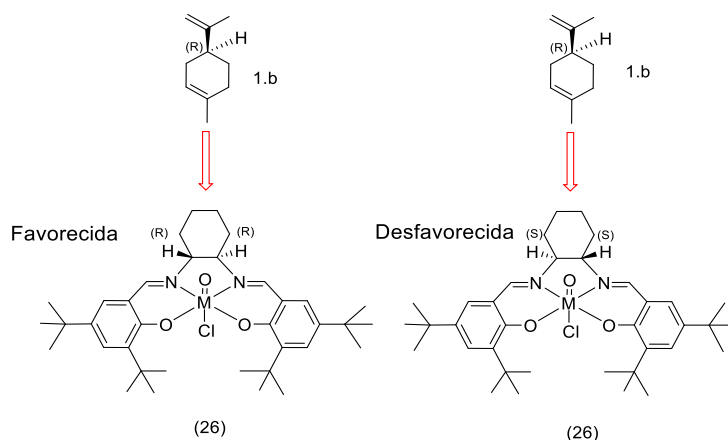


Figura 13. Doble inducción asimétrica de la reacción de epoxidación de los isómeros de limoneno

3.5. CATALIZADORES DEL TIPO Salen EN LA SINTESIS ASIMÉTRICA PARA LOS PROCESOS DE OXIDACIÓN

Muchos complejos de base de Schiff de iones metálicos muestran una alta actividad catalítica y desempeñan un papel significativo en diversas reacciones para mejorar su rendimiento y selectividad del producto. La ruta conveniente de síntesis y estabilidad térmica de ligandos de base de Schiff han sido muy útiles para sus posibles aplicaciones en catálisis como complejos metálicos.⁴³

Entre las estructuras más importantes de estas bases de Schiff se encuentran los *N,N'*-bis(salicilaldehído)-etilendiimino (H_2Salen), ligando tetradentado ampliamente usado en química de coordinación, obtenidos por la reacción de aminas (alifáticas o aromáticas) con salicilaldehídos; de los cuales el ligando Salen cuya estructura es susceptible a sustitución tanto en el puente imino como en los grupos aromáticos, lo que tiene influencia directa en su acción como catalizador (Figura 14).

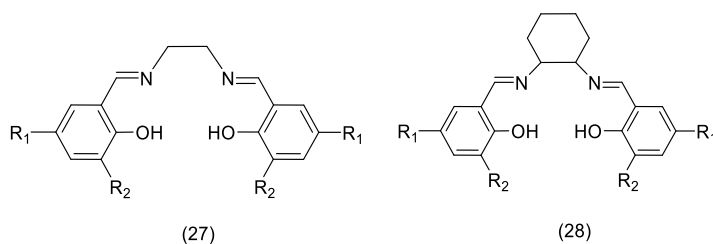


Figura 14. Estructura del ligando tipo Salen, a) *N,N'*-bis-salicilidenoetileno-diimino [H_2Salen] y b) *N,N'*-bis-salicilidenociclohexeno-diimino [H_2Salcn]

Luego que Katsuki y Sharpless⁴⁴ desarrollaran en los años ochenta la epoxidación de los alcoholes alílicos catalizada por titanio, aún sigue siendo uno de los métodos más versátiles en la síntesis asimétrica que permitió el desarrollo de fármacos y ha servido como base para varios investigadores en el estudio hacia la transformación catalítica y selectiva de olefinas. La síntesis asimétrica catalítica es sin duda uno de los métodos químicos más importantes para llevar a cabo la síntesis de compuestos enantioméricos puros. En la mayoría de los casos se origina por el uso de un sustrato que contenga grupos proquirales, que luego de reaccionar logra un centro estereogénico o quiral en los productos. Este aumento de selectividad ya se observó en la enantioselectividad de la epoxidación de

olefinas *cis*-disustituídas⁴⁵ y en otro trabajo donde se observan procesos de inducción asimétrica si la olefina es quiral.⁴²

Hasta el momento, uno de los métodos más específicos para la epoxidación enantioselectiva de olefinas no funcionalizadas, es la reacción de Jacobsen-Katsuki, en la cual se emplean catalizadores basados en complejos de Mn(III)-Salen ópticamente activos e hipoclorito de sodio o yodosilbenceno como agentes oxidantes²⁹. El catalizador de Jacobsen es un quelato de Mn(III) con *N,N'*-bis-3,5-ditertbutilsaliciliden-1,2-ciclohexanodiimina, un ligando Salen tetradentado que se une al manganeso central a través de cuatro enlaces, uno a cada átomo de oxígeno y nitrógeno de la estructura, posee grupos *tert*-butilo en las posiciones X y X' (Figura 15). que usado en presencia de diferentes oxidantes ha permitido alcanzar altos porcentajes de epoxidación y selectividad enantiomérica.

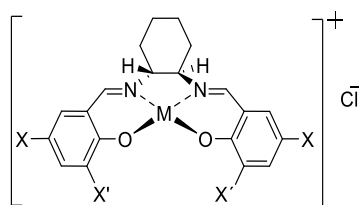


Figura 15. Estructura del complejo Salen derivado de la ciclohexanodiamina

La importancia de los compuestos enantioselectivos radica en su participación en la síntesis de compuestos biológicamente activos, que pueden exhibir una actividad diferente y cuya estructura química contenga centros quirales en una sola forma enantiomérica, por esta razón, dicha síntesis asimétrica catalítica constituye uno de los métodos químicos más empleados y que pretende mejorar la influencia de las propiedades de dichos catalizadores, determinada no solo por la presencia, naturaleza y estado de oxidación del núcleo metálico (M) si no por la presencia de ligandos orgánicos que permiten una amplia versatilidad en cuanto a selectividad, quimioselectividad e incluso selectividad enantiomérica de la reacción de epoxidación.^{29,46}

El desarrollo del presente proyecto se enfoca en la epoxidación electroquímica del limoneno usando complejos de tipo Mn(Salen) con derivados 5,5'-nitrosustituídos, 5,5'-

clorosustituídos, 3,3'-bromo-5,5'-nitrosustituídos y sin grupos sustituyentes, de esta manera evaluando la regioselectividad de la reacción.

3.5.1. Efectos de los sustituyentes sobre los anillos aromáticos en su acción como catalizadores. Las investigaciones han demostrado que sustituyentes voluminosos en las posiciones 3,3' del ligando llegan a potenciar la enantioselectividad de los procesos de oxidación en que los catalizadores participan⁴⁷, dado que limitan los posibles acercamientos del sustrato a la forma activa del catalizador. Otros estudios indican que la modificación de los sustituyentes en las posiciones 5,5' afectan también las selectividades de las reacciones de eletroepoxidación. Para el caso del citral, se emplearon complejos Mn(III) con ligandos tipo Salen 5,5'-nitrosustituídos y 5,5'-nitro-3,3'-bromosustituídos, afectando la acción como ácido de Lewis y por tanto la fortaleza del enlace M=O en la forma activa del catalizador debido a que el entorno electrónico del metal fue modificado.³⁹ Los grupos sustituyentes más comúnmente usados en este tipo de compuestos corresponden a grupos *terc*-butilo (catalizador de Jacobsen)⁴⁸, nitro, halógenos y alcóxidos.

De esta manera, juega un papel importante la geometría y densidad electrónica de los complejos debido a que influyen básicamente en la mediación de procesos catalíticos producto de la generación de efectos estéricos y estereoelectrónicos. Entre los factores estructurales que pueden tener efecto en su actividad catalítica se encuentran: el tamaño del puente diimino o diamina, el volumen de los sustituyentes y naturaleza de los sustituyentes (electroattractora o electrodonora) ubicados en las posiciones 3,5 del componente fenol o fenoxi de la entidad de coordinación⁴⁹.

3.6. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LIMONENO

Recientemente se ha incrementado considerablemente el interés hacia la investigación del limoneno, siendo necesario implementar diferentes técnicas analíticas para su determinación e identificación. Dentro de estas técnicas se destacan la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS)⁵⁰⁻⁵², es la técnica más versátil aplicada para aceites esenciales debido a que se caracterizan por su alta volatilidad y estabilidad térmica. Se han estandarizado métodos de cuantificación para limoneno, por ejemplo, en muestras de tejido adiposo con las que se han establecido valores de linealidad

≥ 0.99 , precisión dentro del día (S=6,7 - 9,6%) y exactitud (2,7 a 3,8%), precisión entre días (S= 6,0 - 10,7%) y exactitud (1,8 - 2,6%) entre otros parámetros.⁵⁰ Otras técnicas han sido realizadas para caracterizar e identificar el limoneno y derivados como en el análisis enantiomérico por cromatografía de gases multidimensional⁵³ y la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas en tándem para la caracterización de los productos de oxidación de limoneno en aerosoles⁵⁴, y por HPLC mediante APCI / MS para el estudio de propiedades antitumorales en muestras de plasma y orina.⁵⁵

De esta manera y basándonos en las reacciones en las cuales el limoneno es el reactivo de partida, para el seguimiento de las reacciones de epoxidación, se escogió la CG-MS, como una técnica confiable, precisa y reproducible para su determinación. Dentro del proceso de estandarización de la técnica, se evaluarán todos los parámetros representativos que limitan el análisis de una sustancia, desde límites de detección y cuantificación (LD y LC), la repetibilidad y la reproducibilidad, así como todos los procesos asociados a la calibración instrumental, linealidad del método.

4. METODOLOGÍA

Se describe a continuación el desarrollo experimental de este proyecto, para lo cual, primero fue necesario estandarizar la técnica de cuantificación del limoneno por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS), con el fin de llevar a cabo el seguimiento de las reacciones. La epoxidación se llevó a cabo aplicando dos procedimientos, químico y electroquímico, ambos en un medio bifásico con hipoclorito como agente oxidante y un catalizador de manganeso, para luego comparar las conversiones del sustrato e identificar los epóxidos como productos de la reacción.

4.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

4.1.1. Reactivos y solventes. Fueron de grado analítico y se utilizaron tal como se recibieron de la casa comercial. Los complejos de manganeso se obtuvieron por la metodología electroquímica establecida en el desarrollo de trabajos previos en el grupo de investigación GIPEL.⁵⁶

- Almidón (Carlo Erba)
- Agua desionizada ($\leq 0,5 \mu\text{S/cm}$)
- Bromuro de potasio para espectroscopia (99,5%)(Merck)
- Carbonato de sodio (99,9%) (Aldrich)
- Cloruro de sodio (99,5%) (Carlo Erba)
- (R,R') -Cloruro de N,N' -bis(saliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso(III), $((R,R')\text{-[Mn(Salcn)]Cl}$)
- (R,R') -Cloruro de N,N' -bis(5,5'-clorosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso(III), $((R,R')\text{-[Mn(5Cl-Salcn)]Cl}$)
- (R,R') -Cloruro de N,N' -bis(5,5'-nitrosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso(III), $((R,R')\text{-[Mn(5NO}_2\text{-Salcn)]Cl}$)
- (R,R') -Cloruro de N,N' -bis(3,3'-bromo-5,5'-nitrosaliciden)-1,2-ciclohexanodiiminatomanganeso(III), $((R,R')\text{-[Mn(3Br-5NO}_2\text{-Salcn)]Cl}$)
- Diclorometano grado HPLC (Fischer Scientific)

- Fosfato dibásico de potasio hidratado (98%) (Merck)
- Fosfato monobásico de potasio monohidratado (98%) (Merck)
- Hipoclorito de sodio (5,25%) (Blancox)
- Hidróxido de sodio (98%) (Merck)
- (*R*)-Limoneno (97%) (Alfa Aesar)
- Hexano ACS/HPLC (60%) (Honeywell)
- Helio grado analítico
- Naftaleno ($\geq 99,0\%$) (Merckmillipore)
- Nitrógeno grado analítico
- Platino en hilos (0,3 mm) (99,99%) (Merck)
- Platino en láminas (1x1 cm²)
- Tiosulfato de sodio (99,6%) (Fischer Scientific)
- Yoduro de potasio (99,5%) ACS (Carlo Erba)
- Yodato de potasio (99%) ACS (Carlo Erba)

4.1.2. Equipos

- Balanza analítica, Precisa XT 220^a, (220 g / 0,0001 g)
- Centrifuga CLAY ADAMS ® Brand
- Cromatógrafo de gases modelo TRACE 1300 marca Thermo Scientific, equipado con un sistema de inyección Split/Splitless, automuestrador All-In-one CG, marca HTA; detector de espectrometría de masas modelo ISQ LT marca Thermo Scientific, columna HP-5MS 0,25 mm x 30 m x 0,25 µm. Base de datos de espectros de masas del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST)
- Espectrofotómetro FT-IR Thermo, Nicolet™ iSTM 10.
- Espectrofotómetro Ultravioleta Visible Thermo, Genesys 6
- Estufa, Fisher Scientific
- Fuente de poder, GW-Instek (0-250 V)
- Plancha de calentamiento con agitación magnética, CORNING.
- pH-metro Mettler Todelo
- Voltímetro digital (Tech)

4.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA CG-MS

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas, la introducción de la misma se llevó a cabo mediante un sistema equipado con automuestrador que permitió la programación del número de inyecciones por vial, el número de lavados con solvente y de purga. Los analitos se detectaron mediante un espectrómetro de masas con fuente de ionización por impacto electrónico y analizador tipo cuádrupolo, además cuenta con una base de datos (NIST) que permite su identificación

4.2.1. Condiciones del método cromatográfico. Se basaron en el trabajo realizado por *Naiana G.P.B. Lima y colaboradores*⁵¹ quienes cuantificaron (*R*)-limoneno por cromatografía de gases empleando una columna capilar compuesta por una fase estacionaria 5% fenil y 95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm, D.I x 0.25 µm fase estacionaria). Cabe resaltar que solo se modificó la relación split y el flujo del gas portador para disminuir su consumo (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones del método para la determinación de limoneno por cromatografía de gases acoplada a detección espectrometría de masas (CG-MS)

Temperatura del inyector	220°C
Modo de inyección	Split (50:1)
Gas portador	He
Flujo	1 mL /min
Horno	70 °C por 2 min 70 °C hasta 105 °C a 8 °C/min (1 min) 105 °C hasta 200 °C a 40 °C/min
Columna	HP-5MS (5%polifenil 95% polimetilsiloxano)
Volumen de inyección de la muestra	0,5 µL
Temperatura de la línea de transferencia	220 °C
Temperatura de la fuente	220 °C
Rango de masas (m/z)	40-200
Toma de datos del espectro de masas	3.0 min

Para la cuantificación del limoneno se empleó naftaleno ($C_{10}H_8$) como patrón interno. Para ello, se adicionó un volumen fijo a las disoluciones de limoneno de concentración conocida, estableciéndose una relación de concentraciones entre limoneno y naftaleno que sirvió para construir las curvas de calibración. Se graficó la relación de concentración Vs la relación de área de los mismos compuestos, obtenidas por integración de los picos cromatográficos correspondientes.

4.2.2. Preparación de las soluciones patrón. Se llevó a cabo siguiendo la misma metodología. Tal como se describe a continuación:

Se prepararon dos soluciones stock de 500 ppm de limoneno y 200 ppm de patrón interno (naftaleno). Para la primera solución se adicionaron inicialmente 2 mL de hexano, luego 6,0 μ L de limoneno ($C_{10}H_{16}$) al (97%) y se aforó a 10 mL con hexano, luego se agitó para así homogenizar la solución. Para el stock de naftaleno se pesó 2,0 mg y se aforó a 10 mL con hexano. A partir de estas soluciones se prepararon las soluciones patrón de los siete puntos de la curva, adicionando volúmenes de 10, 50, 90, 130, 170, 210 y 250 μ L respectivamente del limoneno para obtener las concentraciones de 1, 5, 9, 13, 17,21 y 25 ppm. Antes de aforar a 5 mL se adicionó un volumen fijo de 100 μ L de la solución stock de naftaleno, para obtener una concentración de 4 ppm, posteriormente se aforó con hexano y se agitó para homogenizar la mezcla de los componentes en la solución.

Se inyectaron 0,5 μ L por triplicado, reportando el resultado como el promedio de las tres mediciones. Todos los patrones de calibración para las diferentes curvas, fueron preparados justo antes del análisis, mientras que las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante el análisis en viales sellados.

4.2.3. Determinación de los parámetros de estandarización del método

- **LINEALIDAD.** Se preparó una curva de calibración diaria consecutivamente durante una semana con siete niveles de concentración (1, 5, 9, 13, 17, 21 y 25 ppm), las cuales fueron sometidas al método descrito en la metodología. La linealidad es calculada por el método de ajuste de mínimos cuadrados (Ecuación 1) obtenidas a partir de las curvas de calibración.

$$y = mx + b$$

Ecuación 1

Dónde **x**, es la concentración del analito; **m** es la pendiente de la recta; **y** es la respuesta del método (relación de áreas) y **b** es el intercepto con el eje y.

• **PRECISIÓN INSTRUMENTAL.** Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 3 curvas de calibración con los 7 niveles de concentración, las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día. Se calculó el coeficiente de variación en términos de porcentaje (%CV) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.

• **LÍMITES CRÍTICOS.** Se prepararon 3 curvas de calibración y se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones. Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos (**b**) y las pendientes(**m**) para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos (**S_{interceptos}**) y el promedio de las pendientes (**m_{prom}**). Se aplicó la ecuación 2 y 3 para establecer teóricamente el valor para el límite de cuantificación (LC) y (LD) respectivamente.

$$LC = \frac{10S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$LD = \frac{3 S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde **S_b** es la desviación estándar promedio de los interceptos de las curvas realizadas y **m_{promedio}** es el promedio de las pendientes de las curvas de calibración realizadas.

4.3. SÍNTESIS LOS COMPLEJOS Mn-Salcn

Los ligandos y complejos se sintetizaron según la metodología establecida en el grupo de investigación (GIPEL)⁵⁶. Se emplearon los complejos enantioméricos (*R,R'*) porque se trabajó con el (*R*)-limoneno, su par enantiomérico coincidente y con ello se espera

resultados con excesos diastereoisoméricos más elevados debido al comportamiento que existe en una reacción de doble inducción asimétrica. La metodología de síntesis y caracterización de los complejos se describe a continuación:

4.3.1. Resolución de la mezcla racémica (\pm)-*trans*-1,2-diaminociclohexano. Se partió de la mezcla racémica de amina, por lo que se procedió a la separación previa de cada enantiómero. A una solución acuosa de ácido *L*-(+)-tartárico (0,05mol), la cual separa el isómero *R,R'* y se adicionó por goteo 1,2-diaminociclohexano (0,1mol). El precipitado obtenido se disolvió sometiendo la mezcla a calentamiento en baño maría a 70 °C. Seguidamente, se acidificó la solución con 5 mL de ácido acético glacial y se elevó la temperatura del baño a 90 °C durante 2 horas con agitación constante, provocando con ello la aparición de un sólido blanco. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/agua por 2 horas. El precipitado se filtró al vacío y se lavó con agua fría y metanol a temperatura ambiente (3x10 mL) y se secó a 70 °C por 12 horas. El producto se caracterizó mediante punto de fusión y rotación específica.

4.3.2. Síntesis en medio acuoso de ligandos (*R,R*)-H₂Salcn. Se mezclaron con fuerte agitación 7,5mmol de (*R,R'*)-1,2-ciclohexanodiamina y 15mmol de acetato de sodio en 30 mL de agua hasta total disolución. Posteriormente se agregó el salicilaldehído correspondiente (15mmol) y la mezcla se mantuvo con agitación constante durante 45 min a temperatura ambiente. El precipitado obtenido se filtró al vacío, se lavó con agua, se secó a 70 °C por 12 horas y se pesó.

4.3.3. Síntesis electroquímica de los compuestos de coordinación (*R,R'*) de Mn(III). Cada ligando (0,2mmol) y la cantidad estequiométrica de LiCl (0,2mmol) se disolvieron en 30 mL de una solución del electrolito bromuro de tetrabutilamonio (TBAB) (0,1M) en ACN. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente en un sistema abierto a corriente continua (20 mA) aplicada por 2 h, en una celda que consistió en un vaso de precipitados con un ánodo de sacrificio de Mn y un hilo de platino como cátodo. Los complejos obtenidos se secaron a 70 °C durante 12 horas y se pesaron.

4.3.4. Caracterización de los compuestos sintetizados

- **Rotación Específica.** Se analizó para cada ligando y complejo por triplicado en una celda de 100 cm³ para una concentración del 0,041% en dimetil sulfóxido (DMSO) en una longitud de onda de 589 nm.

- **Espectroscopia FT-IR.** Los espectros para cada ligando y complejo fueron tomados en pastillas de KBr utilizando una concentración del 10% aproximadamente, en la región comprendida entre 4000 y 400 cm⁻¹. De igual forma se registraron medidas por el método de Reflectancia Total Atenuada (ATR) entre 4000 – 500 cm⁻¹. Los compuestos y el KBr fueron previamente sometidos a una temperatura de 90 °C toda la noche para eliminar rastros de humedad y de solventes.

4.4. METODO QUÍMICO PARA LA EPOXIDACIÓN DE LIMONENO

El proceso de epoxidación de limoneno se llevó a cabo empleando un sistema bifásico en el cual la fase acuosa contiene al ión hipoclorito (ClO⁻), quien actuará como agente oxidante sobre el limoneno disuelto en la fase orgánica (diclorometano) junto con el catalizador Mn-Salcn³⁷. A continuación se presenta un esquema de la metodología a llevar a cabo:

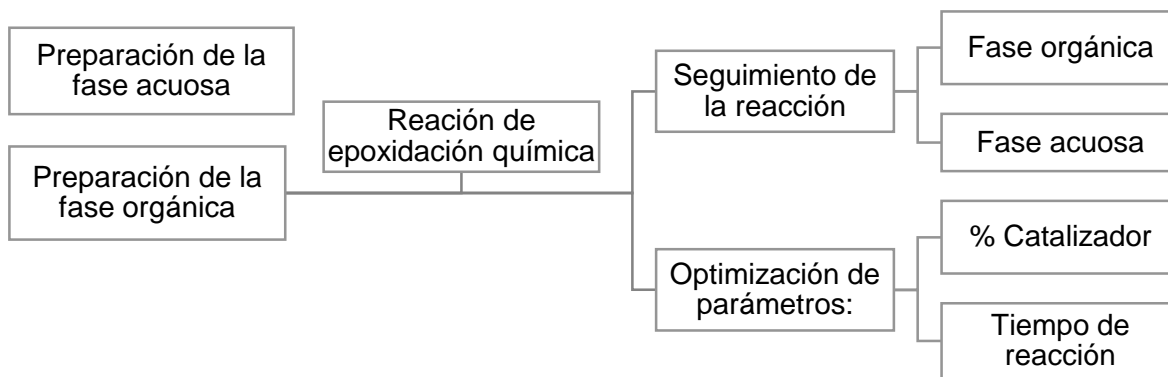


Figura 16. Esquema para llevar a cabo la metodología de epoxidación química

4.4.1 Preparación de soluciones

- **FASE ACUOSA (OXIDANTE).** Se disolvieron 283,6 mL de hipoclorito de sodio al 5,25% en un litro (1 L) de buffer de fosfato 0,05M obteniendo una solución 0,2M de ClO⁻ tamponada a pH 11. La concentración de ClO⁻ fue confirmada por valoración con tiosulfato

de sodio. Esta solución fue almacenada y se fue gastando en alícuotas para las reacciones de epoxidación.

- **FASE ORGÁNICA.** Se adicionaron 167 μL de limoneno al 97% a 5 mL con diclorometano, la mezcla se agitó hasta su disolución completa obteniendo una concentración del limoneno (sustrato) de 0,2M. Esta solución fue preparada en el momento mismo de proceder con la reacción para evitar pérdidas por volatilidad del solvente y limoneno.

4.4.2. Reacción de epoxidación. En un balón de fondo redondo, se depositó el complejo metálico previamente secado a 80 °C y se adicionaron 5 mL de una solución 0,2M del limoneno en diclorometano, se agitó vigorosamente hasta disolución completa. Por último, se adicionaron 15 mL de una solución acuosa 0,2M de hipoclorito de sodio. El sistema bifásico fue sometido a agitación magnética moderada sin calentamiento y se conectó a un sistema de reflujo con el fin de evitar pérdidas de la fase orgánica y el limoneno.

La reacción se repitió para cada uno de los catalizadores estudiados y en ausencia de los mismos para realizar el blanco de reacción y poder establecer el porcentaje de conversión químico neto ($\%CQ_{\text{neto}}$) del limoneno, dicha metodología se basó inicialmente en cuantificar la concentración de sustrato en el crudo de reacción a tiempo cero (0 h), el cual hace referencia a la concentración inicial de limoneno presente en la fase orgánica sin la presencia del catalizador (blanco), luego de un determinado tiempo se saca una alícuota para ser analizada por el CG. La diferencia en la concentración de sustrato en la solución de reacción y la concentración del blanco a determinado tiempo, es la que denominaremos $\%CQ_{\text{neto}}$.

4.4.3. Optimización de los parámetros de reacción. Con el objetivo de optimizar el tiempo de reacción y cantidad de catalizador, se llevaron a cabo varias reacciones con un solo complejo, el $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$ en su forma enantiomérica (*R,R*).

- *Cantidad de catalizador:* Se determinó realizando ensayos con concentraciones en un intervalo entre 0,01mmol (1%mmol) a 0,11mmol (11%mmol) (Tabla 3) y manteniendo constantes las concentraciones de los demás constituyentes de la fase oxidante y la fase

de diclorometano. El volumen de reacción de la fase orgánica fue 10 mL y se fijó el tiempo de reacción en 4 horas.^{28,39}

Tabla 3. Porcentajes y cantidades del complejo [Mn(Salcn)]Cl

$\frac{\text{Peso Cat. (mmol)}}{\text{Vol (mL)}}$	1% (mmol)	3% (mmol)	5% (mmol)	7% (mmol)	9% (mmol)	11% (mmol)
Peso (mg)	4,10	12,31	20,52	28,73	36,94	45,16

• *Tiempo de reacción:* Se estudiaron tiempos de reacción de 4, 8, 12, 24 y 48 h para establecer el %CQ y %CQ_{neto} del limoneno.

4.4.4. Valoración del ClO⁻ consumido en la reacción. Se tomaron alícuotas de 100 µL de la fase acuosa (solución de ClO⁻) y se valoraron con tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) estandarizado [0,05N]. Esto se llevó a cabo tanto para el blanco de reacción como para los sistemas de reacción con catalizador y realizar el seguimiento respectivo, para conocer el grado de consumo del oxidante.

4.4.5. Seguimiento de la reacción. A los intervalos de tiempo establecidos y para cada uno de los ensayos mencionados, se detuvo la agitación y se tomó una alícuota de 2 µL de la fase orgánica, tanto para el blanco como para la reacción. Seguidamente se transfirió a un balón de 5 mL, se añadió 100 µL naftaleno (200 ppm) y se aforó con hexano. Se inyectó al CG-MS 0,5 µL de la solución siguiendo la metodología previamente estandarizada. Culminado el tiempo final de la reacción, se separaron por decantación las fases observadas. La fase acuosa se lavó con hexano (2x5 mL), se recolectaron los lavados con hexano y se adicionaron a la fase orgánica, luego se centrifugó durante 15 minutos separando el catalizador insoluble en hexano. Finalmente se recuperó el catalizador y se almacenaron las fases.

4.5. MÉTODO ELECTROQUÍMICO PARA LA EPOXIDACIÓN DEL LIMONENO

Se siguió el mismo método bifásico del sistema químico con la particularidad de que el ión hipoclorito se generó *in situ* manteniendo una relación 1:3 fase orgánica / fase acuosa. La

reacción se realizó en una celda de un solo compartimento con acople para refrigeración, cerrada con tapón de polietileno con entradas para los electrodos. El sistema fue controlado galvanostáticamente y se mantuvo a temperatura ambiente con agitación moderada y constante.

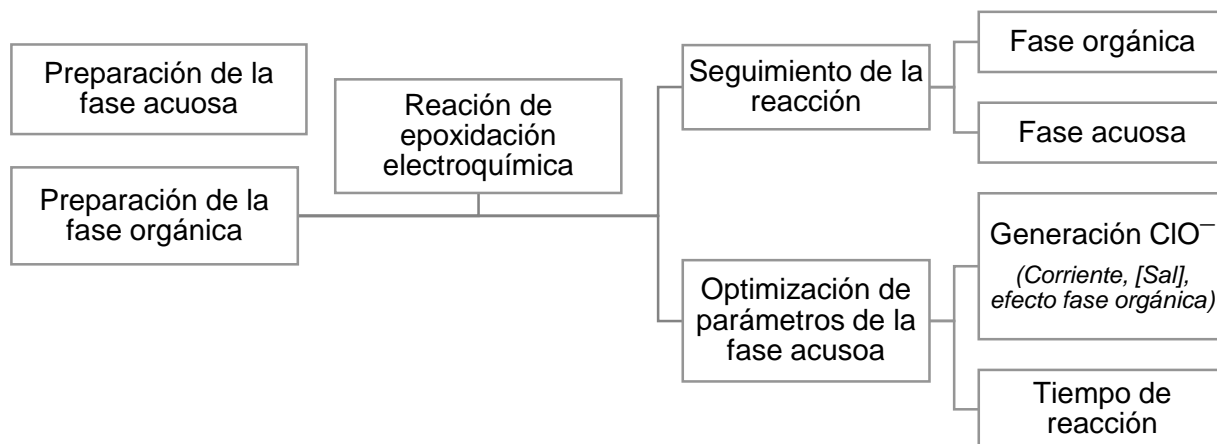


Figura 17. Esquema de la metodología para la electroepoxidación de limoneno

4.5.1. Preparación de soluciones

•FASE ACUOSA. Se disolvieron 5 g de hidróxido de sodio en un balón aforado de 250 mL con agua desionizada obteniendo una solución 0,5M de NaOH ajustando a pH 11. Luego se pesó 73,41 g de cloruro de sodio y se disolvió en la solución caustica de 0,5M de NaOH, se ajustó nuevamente el pH a 11. Esta solución se almacenó a temperatura ambiente.

•FASE ORGÁNICA. Se adicionaron 334 μ L de limoneno al 97% a 10 mL con diclorometano, la mezcla se agitó hasta su disolución completa obteniendo una concentración de limoneno (sustrato) de 0,2M. Esta solución fue preparada en el momento mismo de proceder con la reacción, para evitar pérdidas por volatilidad del solvente y limoneno.

4.5.2. Determinación de las condiciones de generación electroquímica de hipoclorito.

Para generar el ión hipoclorito durante el tiempo de reacción, se realizaron múltiples ensayos donde se varió la concentración de la sal (2,0M y 5,0M) y la corriente en el sistema (20 mA y 100 mA) con el fin de observar la producción del ion hipoclorito en el tiempo de reacción, para ello se realizó seguimiento mediante la titulación con tiosulfato.

4.5.3. Valoración del ClO^- electro-generado. Durante el proceso galvanostático se realizó monitoreo para determinar la concentración del ClO^- presente en el medio, mediante valoración con tiosulfato de sodio [0,025M], como en la metodología química (Apartado 4.4.4).

4.5.4. Optimización de los parámetros de reacción. Se establecieron según los resultados en la metodología química. El tiempo de reacción se evaluó entre las 2, 4, 6, 8 y 12 h.

4.5.5 Seguimiento de la reacción. Una vez establecido los parámetros de corriente y concentración de la sal, la fase acuosa fue sometida a un proceso de electrolisis con una corriente de 100 mA a través de dos láminas de platino (1 cm^2) a una distancia mínima de separación entre el cátodo y el ánodo (Figura 18).



Figura 18. Esquema de la celda para la electroepoxidación de limoneno

En la celda, se depositó el complejo metálico previamente secado a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ y se adicionó 10 mL de una solución 0,2M de limoneno en diclorometano, se agitó vigorosamente hasta disolución completa. Luego, se adicionó 30 mL de una solución acuosa de 5,0M de cloruro de sodio en hidróxido de sodio a pH 11. El sistema bifásico se conectó al sistema de reflujo de la celda y la reacción se agitó moderadamente sin calentamiento.

Este proceso se repitió para cada uno de los catalizadores estudiados y en ausencia de los mismos para establecer el blanco de reacción. Durante el proceso electroquímico, en determinados intervalos de tiempo se detuvo la agitación y se tomó una alícuota de $2 \text{ } \mu\text{L}$ de la fase orgánica, tanto para el blanco como para la reacción. Seguidamente se transfirió a

un balón de 5 mL se añadió 100 μ L naftaleno (200 ppm) y se aforó con hexano. Se inyectó en el equipo de CG-MS 0,5 μ L de la solución siguiendo la metodología previamente estandarizada para estimar el porcentaje de conversión electroquímica (%**CE**) y porcentaje de conversión electroquímica neto (%**CE_{neto}**) del limoneno a sus epóxidos correspondientes para luego ser identificados con los espectros de masas mediante comparación de la base de datos. Finalizado el tiempo total de reacción, se procedía a separar la fase realizando el mismo proceso de purificación del medio de reacción que se había seguido en el proceso de reacción química.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos y su análisis respectivo, se inicia con la discusión de los datos registrados sobre la estandarización del método cromatográfico para la determinación del limoneno y sus correspondientes epóxidos, posteriormente se analizan los resultados de la síntesis y caracterización de los cuatro catalizadores quirales estudiados y por último, la conversión y regioselectividad obtenidas en las reacciones de epoxidación desarrolladas tanto por la vía química como la electroquímica.

5.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES

5.1.1 Condiciones del método cromatográfico. Para el ajuste de las condiciones del método se realizó una evaluación de algunas de las condiciones cromatográficas reportadas recientemente para la determinación de limoneno y de las cuales se empleó la descrita por *Naiana G.P.B. Lima* y colaboradores⁵¹ (Tabla 2, pág. 27). Su elección se basó en la aplicación del mismo tipo de columna, con un tiempo de análisis relativamente corto. Se modificó la relación Split y el flujo del gas portador para disminuir su consumo. La rampa de temperatura usada en la estandarización del método se observa en la (Figura19).

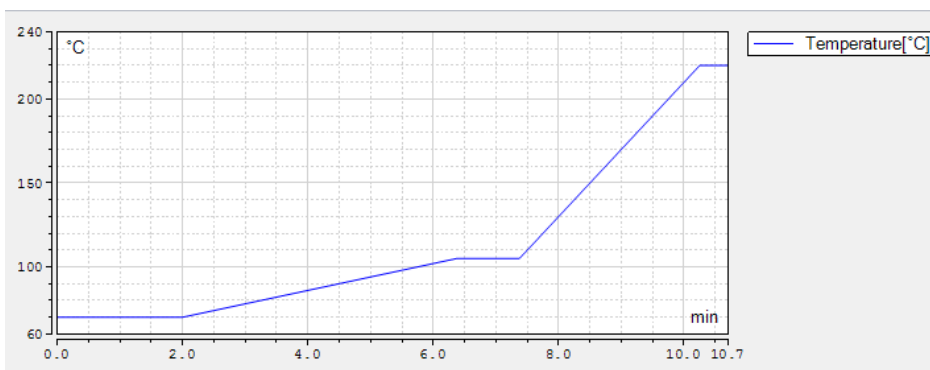


Figura 19. Rampa de temperatura usada para la estandarización del método de cuantificación del limoneno

Bajo estas condiciones, un scan del patrón de limoneno mostró un cromatograma con un pico definido a un tiempo de retención de 6,01 minutos (Figura 20).

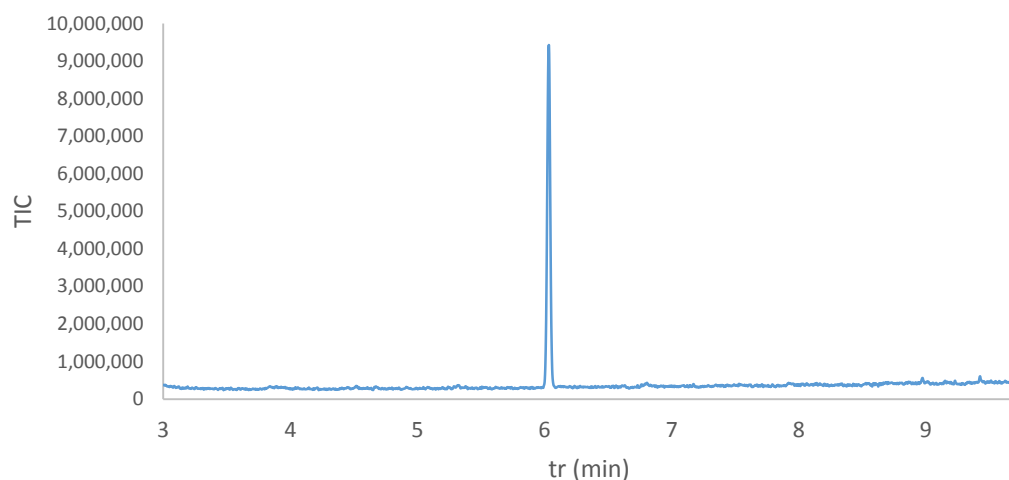


Figura 20. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) del limoneno

Una vez establecidas las condiciones del método, se procedió a realizar la elección del patrón interno, el cual se emplea con el fin de minimizar la variabilidad del método debido a la dispersión del área para el analito (limoneno) respecto a las inyecciones realizadas. Los ensayos experimentales donde se consideró trabajar con eugenol o citral, demostraron que ninguno de ellos son indicados para aplicarse como patrón interno para el limoneno. En el caso del citral por la presencia de sus dos isómeros; mientras que el eugenol no presentaba un tiempo de retención cercano respecto al limoneno.

Una revisión bibliográfica indicó, que de los patrones internos trabajados en las metodologías para cuantificar el limoneno por cromatografía de gases, era apropiado el uso de naftaleno (29)⁵², un sólido blanco que se volatiliza fácilmente cuya fórmula química es $C_{10}H_8$ y tiene un olor fuerte (Figura 21).

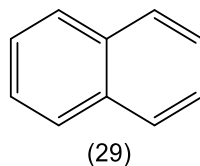


Figura 21. Estructura de naftaleno, empleado como patrón interno en las determinaciones del limoneno

La Figura 22 corresponde al cromatograma obtenido para el limoneno y naftaleno una vez establecidas las condiciones del análisis. El tiempo estimado del método fue 11 minutos y los tiempos de retención registrados fueron de 6,01 min y 8,60 min para el limoneno y el

naftaleno respectivamente. Se observa buena separación y resolución entre los picos del analito y el patrón interno.

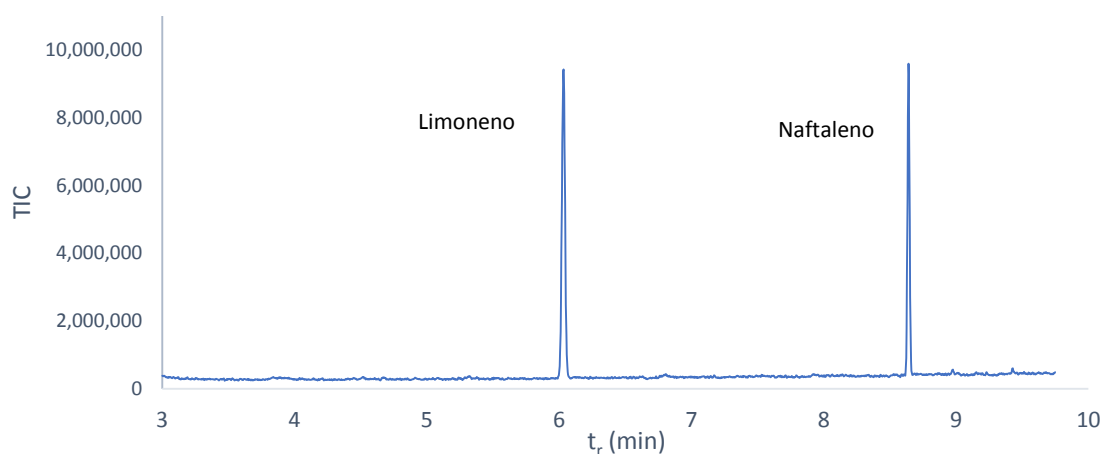


Figura 22. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) de una solución 5 ppm de limoneno (t_r : 6,01 min) y 4 ppm naftaleno (t_r : 8,6 min), empleando las condiciones del método por CG-MS

La identificación por espectrometría de masas de las señales correspondientes al limoneno y naftaleno, así como su asignación respectiva, se hizo mediante comparación de los fragmentogramas registrados para cada componente de la solución frente a los existentes en la base de datos (NIST) del equipo.

En las Figuras **23.a** y **23.b** se muestran respectivamente los fragmentogramas obtenidos para el limoneno y naftaleno. Los espectros de masas presentan un amplio número de señales debido a que la fuente de ionización que tiene el equipo es una fuente dura, es decir, la molécula es ionizada y además fragmenta en una gran cantidad de 'partes' debido a la fuerza de aceleración de los electrones que inciden sobre las moléculas de los componentes.

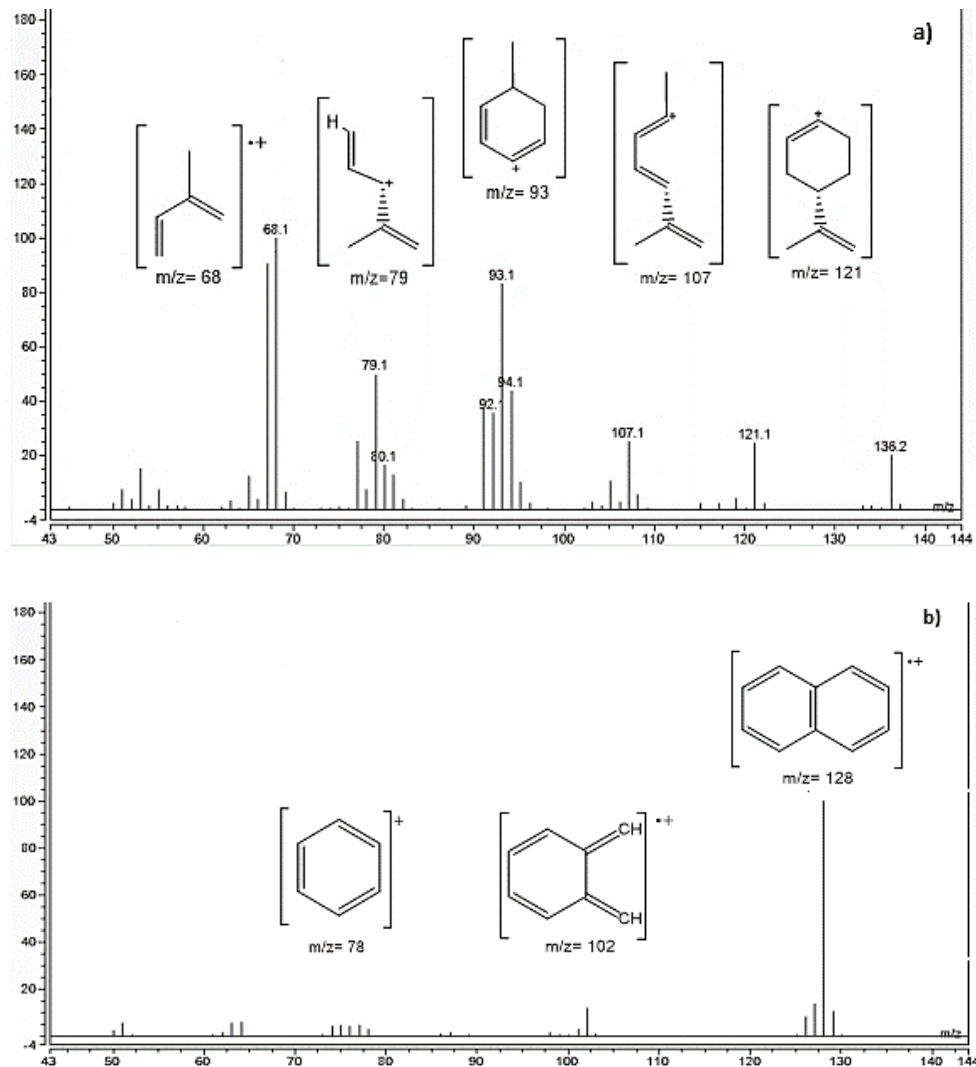


Figura 23. Espectros de masas obtenidos por ionización electrónica (EI, 70 eV) de los compuestos: **(a)** limoneno, **(b)** naftaleno

5.1.2. Determinación de los parámetros de estandarización del método. Los parámetros de estandarización establecidos para el método fueron: linealidad, precisión en términos de repetibilidad y precisión intermedia, límite de cuantificación, límite de detección. Para ello se realizó un tratamiento estadístico a todos los resultados obtenidos, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22, aplicando pruebas de normalidad para determinar si los resultados vienen de una población normal y pruebas paramétricas como ANOVA o no paramétricas, según corresponda y así evaluar si los resultados se encuentran en un 95% de confianza para los datos experimentales obtenidos. El análisis estadístico no se

discutirá detalladamente, las tablas correspondientes a dichas pruebas se relacionaran en los anexos.

• **LINEALIDAD.** Establecida por el grado de dispersión que tengan los datos, cuanto más correlación tengan mucho más lineal será el método.⁵⁷ En este caso se realizó una correlación lineal de la relación de áreas Vs relación de concentración entre el limoneno y naftaleno, se construyó la curva de calibración para 7 niveles de concentración (1, 5, 9, 13, 17,21 y 25 ppm) y se halló el coeficiente de correlación R^2 . La tabla 4 relaciona los resultados de las curvas realizadas durante 7 días a partir de las cuales se estableció un coeficiente de correlación (R^2) entre 0,9926-0,9979.

Tabla 4 . Curvas de calibración para el análisis de la linealidad instrumental

[L]/[N]	[L] ppm	Relación de áreas limoneno / naftaleno						
		Día 1*	Día 2*	Día 3*	Día 4*	Día 5*	Día 6*	Día 7*
0.25	1	0,2196	0,214	0,2305	0,2373	0,2218	0,2302	0,2070
1.25	5	0,9188	1,552	1,0506	1,1793	1,0361	0,9498	0,9975
2.25	9	2,9822	2,880	2,9182	3,0058	3,2685	3,0534	3,0278
3.25	13	4,7992	4,649	4,7026	4,8883	4,9731	4,9218	4,8425
4.25	17	6,2564	6,070	6,3087	6,4149	6,5035	6,4253	6,4936
5.25	21	8,0439	8,200	8,2316	8,2046	8,4610	8,7259	8,0456
6.25	25	9,4841	9,704	9,6284	9,8697	9,8703	10,0158	9,8855
	m	1,5906	1,6056	1,6409	1,6485	1,6654	1,7172	1,6356
	b	0,4415	0,4655	0,6087	0,5147	0,4790	0,6634	0,4730
	R²	0,9975	0,9956	0,9945	0,9968	0,9966	0,9926	0,9979

Donde [L]: concentración de limoneno; [N]: concentración de naftaleno

*Es el promedio de un triplicado

La tendencia de los datos presentados en la Tabla 4, se evaluó a través de un gráfico que representa el promedio de relaciones de áreas respecto a las relaciones de concentración entre el limoneno y naftaleno en (ppm) de cada una de las curvas. Se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal de la curva de calibración, como se presenta en la Figura 24.

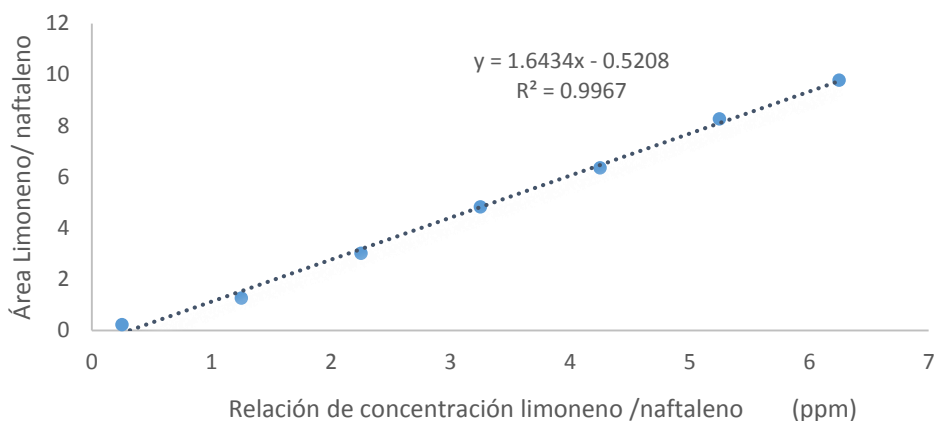


Figura 24. Curva de calibración (1 - 25 ppm) para determinar la linealidad del método de cuantificación de limoneno

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación, y se hallaron sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 5. Los resultados que se obtuvieron en las pruebas estadísticas (Tabla 16-20, Anexos) para la evaluación de linealidad de siete días, permiten concluir que el método de cuantificación empleado para determinar la concentración de limoneno por patrón interno es lineal en el rango de 1 a 25 ppm, con un coeficiente de correlación (R^2) de 0,9967 cumpliendo así la ley de Beer-Lambert.⁵⁸

Tabla 5. Pendientes, intercepto y coeficientes de correlación para el método de cuantificación del limoneno, evaluación de la linealidad instrumental

Parámetro	Símbolo	Valor
Coefficiente de Correlación	R^2	0,9967
Pendiente	m	1,6434
Intercepto	b	-0,5208
Desviación Estándar para el intercepto	$S_{\text{Intercepto}}$	0,0756
Desviación Estándar para la pendiente	$S_{\text{Pendiente}}$	0,0343

También se determinó el factor de respuesta (f_R) para el limoneno y el naftaleno calculado por medio de la Ecuación 4, mediante la ecuación de la recta obtenida de la Figura 24 que grafica la relación de las señales versus la relación de las concentraciones, la pendiente es directamente el factor de respuesta y se reportó como el promedio de todas las

determinaciones realizadas. Siendo de $1,6434 \pm 0,0343$ indicando que no hay gran variación de los valores de las pendientes de las siete curvas porque la desviación estándar es bajo.

$$\frac{\text{Área limoneno}}{\text{Área naftaleno}} = f_R \frac{[\text{limoneno}]}{[\text{naftaleno}]} \quad \text{Ecuación 4}$$

• **Precisión Instrumental.** Es la medida del grado de concordancia entre análisis repetidos de una muestra.⁵⁷ Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes).

Repetibilidad: Se analizaron las áreas de tres curvas de calibración con siete niveles de concentración, el mismo día y bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Curvas de calibración del método CG-MS para la cuantificación del limoneno bajo condiciones de repetibilidad

		Relación de áreas limoneno / naftaleno		
[L] ppm	[L]/[N]	Curva 1*	Curva 2*	Curva 3*
1	0,25	0,2166	0,2339	0,2295
5	1,25	1,4311	1,1649	1,2577
9	2,25	2,9310	2,9620	3,1372
13	3,25	4,7239	4,7954	4,9307
17	4,25	6,1630	6,3618	6,4592
21	5,25	8,1218	8,2181	8,3328
25	6,25	9,5940	9,7490	9,8700

Donde [L]: concentración de limoneno; [N]: concentración de naftaleno

*Es el promedio de un triplicado

Las gráficas correspondientes a la repetibilidad del método de cuantificación para el limoneno, obtenidas con los valores de la tabla 6 (Figura 25) indican que existe concordancia entre los datos de las tres curvas de calibración evaluadas el mismo día, debido a que la variación para las relaciones de áreas de analito y patrón interno es

mínima.

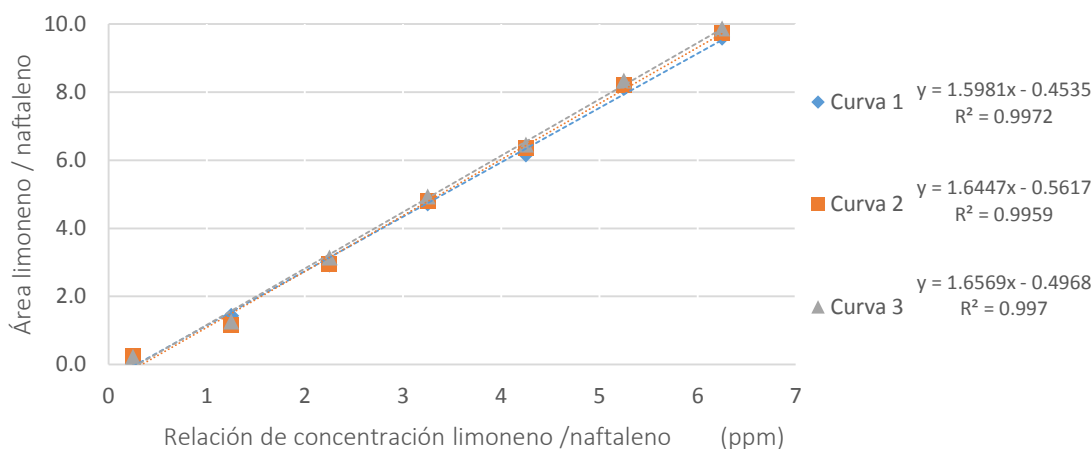


Figura 25. Curvas de calibración de limoneno en un mismo día para evaluar para la repetibilidad del método de cuantificación

Precisión intermedia. Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon cinco curvas de calibración durante cinco días diferentes (una curva por día), los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados áreas de curvas de calibración para análisis de precisión intermedia

		Relación de áreas limoneno / naftaleno				
[L] ppm	[L]/[N]	Día 1*	Día 2*	Día 3*	Día 4*	Día 5*
1	0,25	0,2166	0,2339	0,2036	0,2250	0,2144
5	1,25	1,1356	1,1149	0,9937	1,1802	1,3168
9	2,25	2,9310	2,9620	3,0406	2,9502	3,1481
13	3,25	4,7239	4,7954	4,8822	4,7509	4,9078
17	4,25	6,1630	6,3618	6,4595	6,2825	6,4986
21	5,25	8,1218	8,2181	7,9858	8,1377	8,2533
25	6,25	9,5940	9,7490	9,9507	9,5562	9,8779

Donde [L]: concentración de limoneno; [N]: concentración de naftaleno

*Es el promedio de un triplicado

Los valores de desviación estándar (S) correspondientes a la relación de áreas para los ensayos de repetibilidad y precisión intermedia (Tabla 8), se aprecia que no hay variación significativa, indicando que los valores de las curvas preparadas y analizadas durante

diferentes días o un mismo día, pueden ser usadas para cuantificar el remanente de limoneno en las reacciones de epoxidación en prolongados periodos de tiempo.

Por otro lado, se muestran los valores en términos del %CV para cada nivel de concentración (Tabla 8). El primer nivel (5ppm) presenta mayor variabilidad en condiciones repetibilidad y de precisión intermedia, sin embargo, el %CV en ambos casos es inferior al 11%, se considera adecuado teniendo en cuenta que se ha propuesto que los coeficientes de variación son aceptables entre 8-14%⁵⁹. Para los otros niveles no se observa una mayor variabilidad en los resultados obtenidos en días diferentes (precisión intermedia) respecto a los obtenidos el mismo día (repetibilidad), en ambos casos los %CV son inferiores al 6% lo que demuestra la precisión y reproducibilidad del método implementado.

Tabla 8. Repetibilidad y precisión intermedia en términos de S y %CV para el método de limoneno por CG-MS

[L]/[N]	Repetibilidad		Precisión Intermedia	
	S	% CV	S	% CV
0.25	0,0090	3,96	0,0114	5,22
1.25	0,1351	10,52	0,1168	10,18
2.25	0,1112	3,69	0,0896	2,98
3.25	0,1050	2,18	0,0804	1,67
4.25	0,1509	2,39	0,1357	2,14
5.25	0,1056	1,28	0,1037	1,27
6.25	0,1383	1,42	0,1721	1,77

Donde [L]: concentración de limoneno; [N]: concentración de naftaleno

*Es el promedio de un triplicado

• **LÍMITES CRÍTICOS.** Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente mediante las ecuaciones 2 y 3 (Pag. 29) respectivamente. Para ello se tomaron los datos de las pendientes e intercepto de las tres curvas de calibración para el de ensayo de repetibilidad (Tabla 6). Se halló además los valores de la desviación estándar de los dos parámetros ya mencionados y de esta manera se calcularon los valores para el límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC), los resultados se muestran en la (Tabla 9).

Tabla 9. Cálculo del límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) del método de cuantificación de limoneno por CG-MS

Parámetro	Curva 1	Curva 2	Curva 3	S _{Intercepto}	m promedio	LD (ppm)	LC (ppm)
Pendiente	1,5981	1,6447	1,6569	-	1,6332	0,0653	0,2178
Intercepto	-0,4535	- 0,5617	- 0,4968	0,0356	-		

El resumen de los parámetros estandarizados del método para determinar limoneno se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Parámetros estadísticos estandarizados para el método de cuantificación de limoneno empleando patrón interno por CG-MS

Intervalo lineal	1-25ppm
R ²	0,9967
LD	0,0653
LC	0,2178

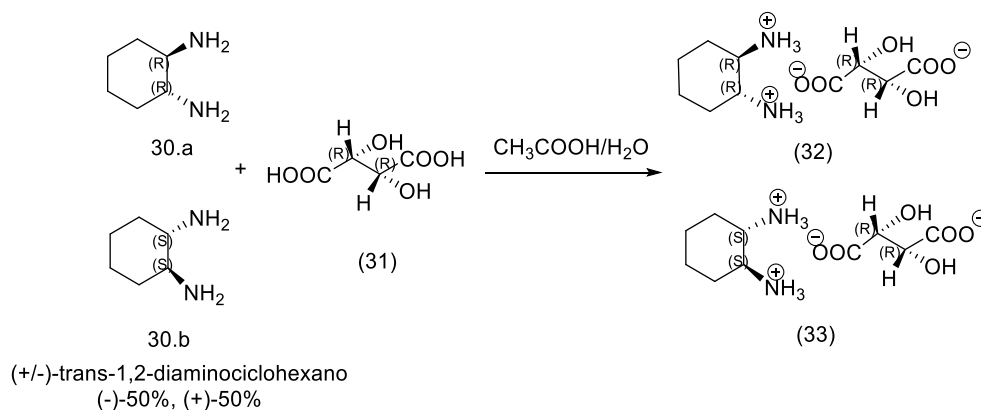
Con lo realizado anteriormente se concluye que el método para la cuantificación de limoneno cumple con los parámetros necesarios mínimos dentro de un intervalo confianza (95%) siendo un método preciso, lineal y reproducible.

5.2. SINTESIS DE LOS CATALIZADORES

La síntesis de los complejos de manganeso se llevó a cabo en tres etapas que constaron en primer lugar la resolución racémica del (\pm)-*trans*-1,2-diaminociclohexano, una vez separado se procedió a realizar la segunda etapa que fue la síntesis de los cuatro ligandos para finalmente mediante la electrosíntesis entre el ligando obtenido y el manganeso metálico formar su correspondiente complejo. A continuación se detalla dicho procedimiento:

5.2.1. Resolución de la mezcla racémica (\pm)-*trans*-1,2-diaminociclohexano. Para la primera parte de la síntesis de los ligandos se realizó la resolución de los enantiómeros de (\pm)-*trans*-1,2-diaminociclohexano, inductores quirales más usados en la estructura carbonada

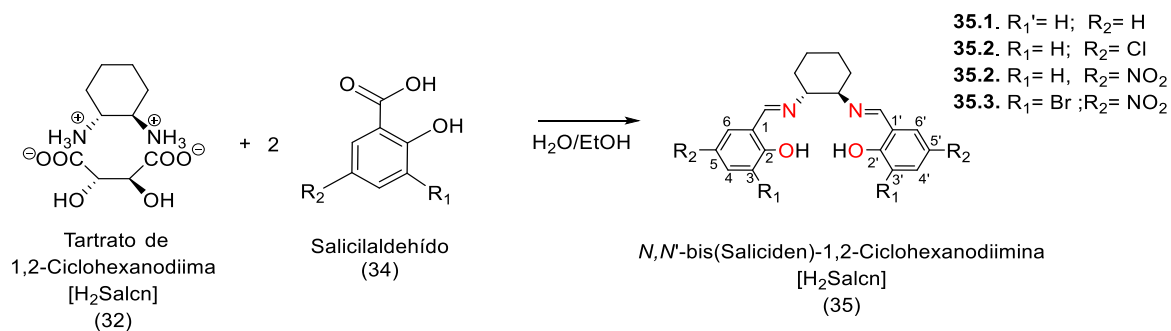
de los diferentes ligandos C₂, que solo se diferencian entre sí por la dirección en la que desvían el plano de la luz polarizada y su forma de reaccionar con otras sustancias quirales como el ácido L-(+)-tartárico (**31**), un compuesto quiral que se consigue con alta pureza. Su reacción (Reacción 1) con la forma (R,R)- de la amina quiral permitió la resolución de la mezcla racémica (**30**), mediante la interacción efectiva de la forma protonada de la amina y la base conjugada del ácido (**32 y 33**), pudiéndose separar mediante filtración estos dos compuestos, debido a que el compuesto (**32**) precipita y el (**33**) permanece en solución.



Reacción 1. Resolución de la mezcla racémica (±)-*trans*-1,2-diaminociclohexano

La síntesis de las bases de Schiff H₂Salcn se realizaron en medio acuoso, esta es una alternativa eficiente que permite obtener los ligandos con alto rendimiento y pureza, ya que aplica una metodología 'verde' por la eliminación de solventes orgánicos, lo que la hace competitiva y sostenible al compararse con la obtención clásica de estos compuestos.

5.2.2. Síntesis de ligandos tipo H₂Salcn. Los ligandos obtenidos se sintetizaron mediante la condensación entre el tartrato de (R,R')-1,2-ciclohexanodiamina y el correspondiente aldehído (Reacción 2), en una relación 1:2 respectivamente, para facilitar el proceso fue necesario la desprotonación previa de la amina mediante la adición de acetato de sodio. Como es conocido, los ligandos de este tipo contienen el grupo funcional imino o azometino (-C=N-R), donde el grupo R corresponde a los aldehídos utilizados: 3-Bromo-2-hidroxi-5-nitrobenzaldehído, 5-nitro-2-hidroxi-benzaldehído, 5-cloro-2-hidroxi-benzaldehído y el 2-hidroxi-benzaldehído (Reacción 2, compuesto 5).



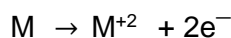
Reacción 2. Reacción de síntesis de ligandos H_2Salcn

5.2.3. Síntesis electroquímica de los compuestos de coordinación (R,R') de Mn(III)

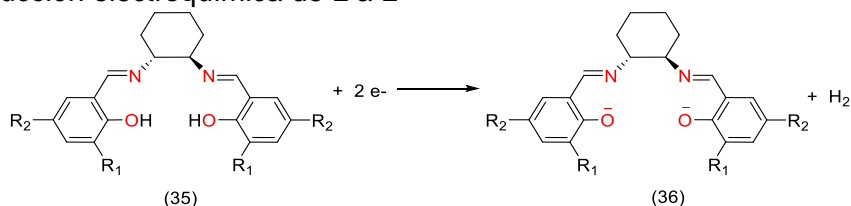
En el desarrollo del proceso de electrosíntesis se involucran 4 semirreacciones como se describe a continuación; en primer lugar se da la oxidación del metal (ánodo) hasta M^{+2} (Etapa 1, Reacción 3), proceso que implica la transferencia de 2 electrones hacia el cátodo, observando así el desgaste y “sacrificio” del electrodo de Mn, evidenciado en una pequeña pérdida de peso del mismo.

En segundo lugar ocurre la reducción del ligando sobre la superficie del cátodo, generando una especie aniónica L^{-2} (36) que posteriormente reacciona con el metal produciéndose la coordinación entre ambas especies $[M(II)-L]$ (37), (Etapa 2 y 3, Reacción 3).

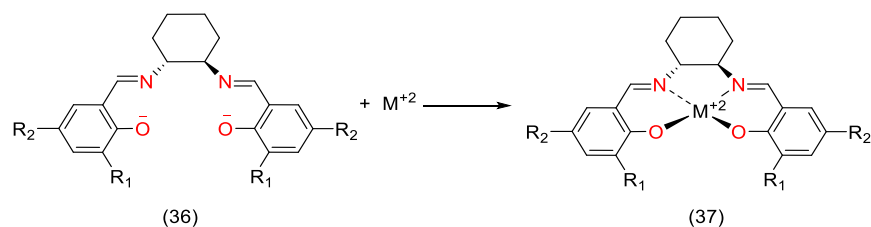
Etapa 1: Oxidación anódica del metal.



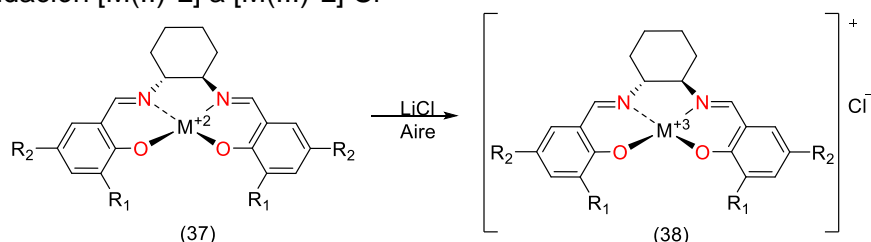
Etapa 2: Reducción electroquímica de L a L^{-2}



Etapa 3: Coordinación $[M(II)-L]$ por síntesis electroquímica



Etapa 4: Oxidación [M(II)-L] a [M(III)-L] Cl



Reacción 3. Etapas de la síntesis de los complejos Mn-(Salcn)

Finalmente se da la oxidación del compuesto [M(II)-L] **(37)**, mediante la acción del burbujeo de aire como agente oxidante generando un compuesto catiónico [M(III)-L]⁺, que se neutraliza por efecto del LiCl adicionado inicialmente a la celda de síntesis, obteniendo así el complejo [M(III)-L]Cl **(38)**, (Etapa 4, Reacción 3).

5.2.4. Caracterización de ligandos tipo H₂-Salcn y complejos. Teniendo en cuenta que la metodología de síntesis de los complejos ya ha sido previamente establecida⁵⁶, la caracterización de ligandos y complejos sólo se realizó para garantizar la pureza de los compuestos. En la tabla 11 se relacionan los resultados de rotación óptica y las señales más importantes de los espectros IR registrados para los compuestos

•**Espectroscopia FT-IR.** En la Tabla 11 se resalta la desaparición de la banda correspondiente al estiramiento del enlace O-H de los grupos hidroxilo de los fenoles presentes en todos los ligandos, esto se atribuye a la desprotonación del ligando y a la formación del complejo M-Salcn a través de este sitio de coordinación (Etapa 3).

Se observa además un aumento en la frecuencia de la banda correspondiente al estiramiento del enlace azometino (C=N) hacia números de onda mayores en los todos los complejos, debido a la coordinación del metal en los complejos obteniendo como resultado un aumento en la fortaleza del enlace, fenómeno que se ve ligado a un aumento en la intensidad de las

bandas. Respecto a la bandas correspondientes a cada uno de los sustituyentes sobre el anillo aromático, se observa de igual forma un aumento de las absorciones de estos grupos (nitro, cloro, bromo) en los ligandos hacia la formación de cada uno de los complejos, dichas variaciones en los valores de las vibraciones como consecuencia nuevamente de la coordinación de los iones metálicos con el ligando Salcn a través del enlace C=N y C-O.

Tabla 11. Rotación específica y absorciones características en IR (KBr) de los ligandos tipo H₂(Salcn) y sus respectivos complejos

COMPUESTO	Rotación Específica	Espectroscopia Infrarrojo (cm ⁻¹)					
	$[\alpha]_{589\text{nm}}^{20^\circ\text{C}}$	ν (-OH)	ν (C=N)	ν_{Nit} (N-O)	ν (=C-H)	ν (C-Br)	ν (C-Cl)
H ₂ (salcn)	-117,12	3500 (f)	1627 (mf)	-	762 (mf)	-	-
[Mn(salcn)]Cl	-123,0	-	1653,30 (f)	-	747 (m)	-	-
H ₂ Cloro(salcn)	-286,44	3448,75 (a)	1633,86 (f)	-	2928,72 (m)	-	647,50 (m)
[Mn(Cloro-salcn)]Cl	-531,62	-	1638,79 (m)	-	2936,22 (d)	-	664,86 (f)
H ₂ Nitro(salcn)	-245,56	3448,82 (a)	1636,86 (f)	1300,88 (m)	2937,76 (d)	-	-
[Mn(Nit-salcn)]Cl	-314,34	-	1641,19 (f)	1305,63 (m)	2955,50 (d)	-	-
H ₂ Bronitro (Salcn)	-208,54	3448,80 (a)	1637,36 (f)	1287,50 (m)	2938,34 (d)	695,90 (d)	-
[Mn(Bronit-Salcn)]Cl	-294,29	-	1640,23 (m)	1307,56 (f)	2929,47 (d)	715,49 (f)	-

*Donde, Nit= Nitro; Bro: Bromo; a=ancha; d=débil; m=media; f=fuerte; mf=muy fuerte.

Los valores de rotación específica de ligandos y complejos presentaron valores acorde a la estructura de cada compuesto (Tabla 11).

5.3. REACCIONES DE EPOXIDACIÓN

El proceso de epoxidación de limoneno se llevó a cabo en un sistema bifásico con el agente oxidante, ión hipoclorito (ClO⁻), en la fase acuosa y en la fase orgánica (diclorometano) se disolvió tanto el sustrato (*R*)-limoneno como el catalizador Mn-Salcn. Como ha sido reportado

previamente²⁹, la epoxidación del limoneno se lleva a cabo por el mecanismo que se muestra a continuación.

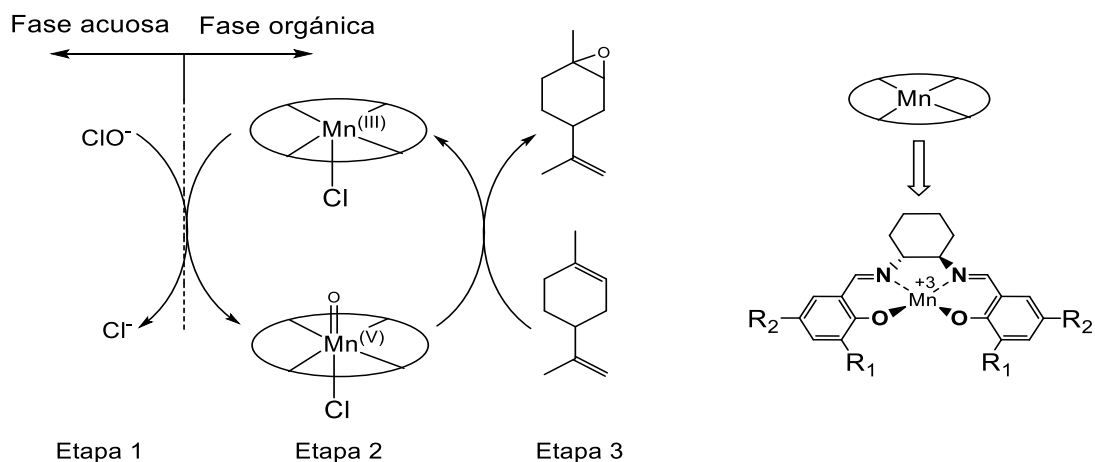


Figura 26. Esquema propuesto del proceso de epoxidación química del limoneno empleando ClO^- como agente de oxidante mediado por el catalizador Mn-Salcn

El ión hipoclorito que se encuentra en el medio acuoso, interacciona en la interfaz con el complejo Mn-Salcn que está en la fase orgánica, oxidándolo para generar la especie activa de manganeso oxo ($\text{Mn}^{\text{V}}=\text{O}$) encargada de la epoxidación del sustrato (Etapas 2 y 3. Figura 26), que actúa a su vez como un agente de transferencia de fase.

Con el fin de estudiar el efecto de los sustituyentes en los anillos del ligando sobre la regioselectividad de los productos de epoxidación, se trabajó con el complejo no sustituido en la base de Schiff $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$ y con los complejos quirales sintetizados: $[\text{Mn}(\text{Nitro-Salcn})]\text{Cl}$, $[\text{Mn}(\text{Cloro-Salcn})]\text{Cl}$, $[\text{Mn}(\text{Broni-Salcn})]\text{Cl}$ en su forma enantiomérica (R,R'). También se determinó la eficiencia de la conversión del limoneno, por las dos metodologías, la clásica y la electroquímica. En todos los casos, la concentración de limoneno se determinó según lo establecido en el método cromatográfico (Apartado 5.1). A continuación se describen los resultados obtenidos:

5.3.1. Parámetros de la epoxidación química. Se determinó la cantidad óptima de catalizador en la reacción, mientras la concentración del hipoclorito de sodio se trabajó de acuerdo a lo establecido en anteriores trabajos^{28,39}. Se estudió el comportamiento del

porcentaje de conversión de cada uno de los complejos a diferentes intervalos de tiempo hasta las 48 h.

• **Porcentaje molar del catalizador (%mmol).** Los ensayos con el catalizador $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$ se llevaron a cabo en concentraciones entre 1 y 11% (p/v), manteniendo constantes las proporciones de los demás componentes de la fase acuosa (0,2M ClO^-) y la fase orgánica (0,2M limoneno). Se utilizó un tiempo de reacción de 4h para determinar la cantidad de catalizador, tal como se estableció trabajos previos para la epoxidación de citral como sustrato.³⁹ En la Figura 27, se puede apreciar que el contenido de sustrato no disminuye del 60% y su decaimiento es moderado a medida que las concentraciones de catalizador aumentan.

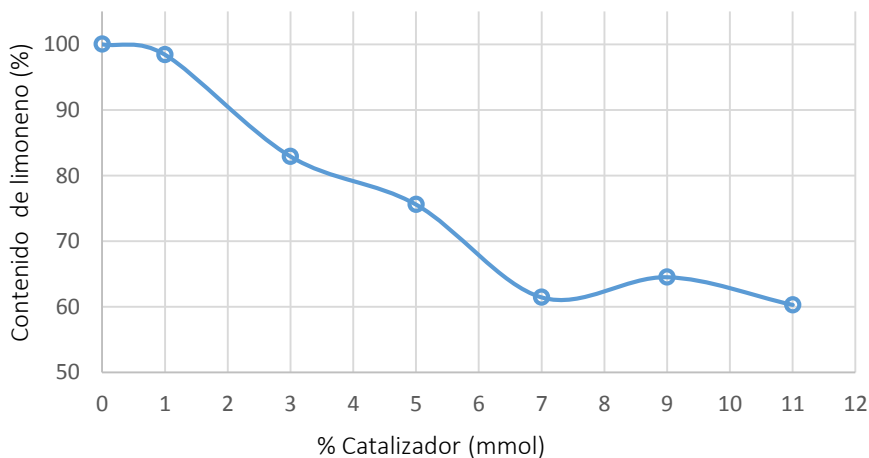


Figura 27. Porcentaje de conversión química del limoneno Vs mmol catalizador $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$ empleadas, en la reacción de epoxidación a las 4 h

Empleando cantidades entre el 1-6% de catalizador, la conversión es mucho mayor, sin embargo proporciones mayores al 7% mmol no llevan a conversiones significativas y se observa una tendencia constante. Teniendo en cuenta lo anterior, se estableció el 5%mmol de catalizador, como la cantidad óptima para llevar a cabo las reacciones de epoxidación, cantidades superiores ya no corresponderían a cantidades catalíticas.

• **Tiempo de reacción.** El avance de la reacción de epoxidación se evaluó a intervalos de tiempo de 4, 8, 12, 24 y 48 h, para cada uno de los cuatro complejos sintetizados en una

proporción del 5%mmol, para observar la tendencia en la conversión del limoneno a lo largo de este tiempo.

5.3.2. Seguimiento de la reacción de epoxidación química. En la determinación del %CQ_{neto} de limoneno, se tuvo en cuenta los valores consumidos por los blancos de reacción que se hicieron paralelamente para cada catalizador. De esta manera se estableció la conversión real de limoneno a sus productos epoxidados, puesto que considera los efectos relacionados a pérdidas por volatilización u otros factores experimentales y por las posibles reacciones colaterales entre el limoneno con el ión ClO⁻. En la tabla 12, se registran los resultados de %CQ_{neto} de limoneno, hasta un tiempo de reacción de 48 h. Se observa que la reacción de conversión del limoneno procede paulatinamente para los cuatro complejos y no logra sobrepasar el 60%.

Tabla 12. Porcentaje de conversión neta de limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn) en la epoxidación química

Tiempo de Reacción (h)	%CQ _{neto} de limoneno			
	[Mn(Salcn)]Cl	[Mn(Broni-Salcn)]Cl	[Mn(Cl-Salcn)]Cl	[Mn(Nitro-salcn)]Cl
4	13,29	16,58	21,86	25,52
8	20,36	26,35	30,71	33,35
12	25,21	35,16	36,61	40,69
24	27,23	44,67	53,94	56,87
48	33,47	49,12	58,26	60,51

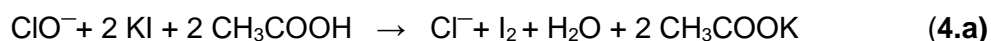
En todos los casos, a mayor tiempo de reacción mayor %CQ_{neto} de limoneno, siendo el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl el que presenta mayor actividad, seguido del complejo [Mn(Cl-Salcn)]Cl mientras que con los complejos [Mn(Broni-Salcn)]Cl y [Mn(Salcn)]Cl no se alcanza el 50% de conversión, observándose una menor actividad para el no sustituido.

La influencia y naturaleza que tiene los grupos sustituyentes en los ligandos del catalizador sobre la conversión del limoneno, son determinantes en la actividad de los mismos. La mayor actividad presentada por el complejo 5,5' nitrosustituido, [Mn(Nitro-Salcn)]Cl, se atribuye a la naturaleza electro-atrayente de este grupo, que ejerce un efecto inductivo sobre la densidad electrónica del anillo aromático, mediante un efecto resonante, provocando una disminución

de la capacidad donora σ del ligando hacia el metal. La mayor acidez del ión metálico convierte en un mejor transferente de oxígeno al catalizador, que presenta una mayor tendencia a reducirse. En el mismo sentido, la naturaleza electro-atrayente débil de los sustituyentes 5-cloro y 3-bromo en los complejos $[\text{Mn}(\text{Cloro-Salcn})]\text{Cl}$ y $[\text{Mn}(\text{Broni-Salcn})]\text{Cl}$, disminuye su capacidad catalítica, lo que se concluye al encontrar un menor porcentaje de conversión del limoneno. Finalmente, se observa que con el catalizador no sustituido $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$, la reacción presenta baja conversión, indicado que los sustituyentes en los anillos aromáticos promueven el papel catalítico de los complejos como transferentes de oxígeno en la reacciones de epoxidación.

5.3.3. Valoración del agente oxidante consumido en la reacción de epoxidación química.

El monitoreo sobre el consumo del ClO^- durante la reacción de epoxidación química, se llevó a cabo por valoración con solución estandarizada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [0,05N] según la siguiente reacción:



Reacción 4. Etapas de la valoración del ión hipoclorito empleando tiosulfato por el método del yodato

El tiosulfato de sodio es usado en la determinación de agentes oxidantes, donde el yodo molecular actúa como intermediario reduciendo el ión tiosulfato a ión tetratiónato en medio ácido. Los resultados de la titulación de alícuotas de la fase acuosa para todas las reacciones, demuestran la desaparición notoria del ión hipoclorito en el seno de la reacción, observándose una tendencia marcada por un rápido consumo del mismo reactivo en las primeras horas de reacción (para cada catalizador difiere), seguido de un decaimiento lento hasta su consumo parcial en aproximadamente 30 horas de reacción (Figura 28). Para el blanco, no hubo variaciones en la concentración del ión hipoclorito, indicando que no hay consumo significativo del mismo durante la reacción y por tanto que no hay reacción directa entre el limoneno y el ClO^- .

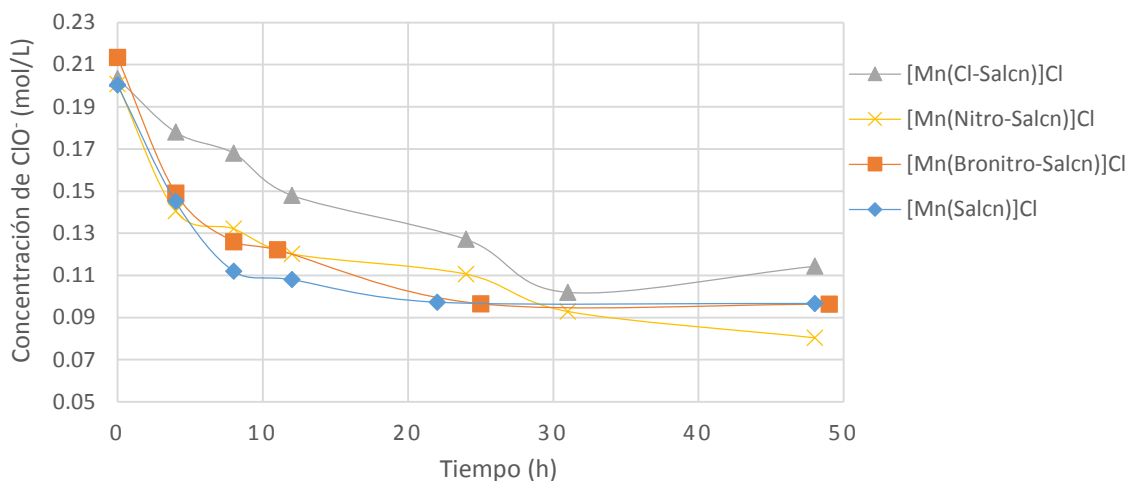


Figura 28. Concentración del ClO^- Vs tiempo de reacción transcurrido en la reacción de epoxidación química del limoneno para los cuatro complejos Mn(Salcn)

El exceso de la concentración del oxidante durante la reacción de epoxidación química, podría ocasionar efectos sobre el catalizador y en el sustrato. La posible oxidación directa sobre el catalizador se evaluó mediante espectroscopia FT-IR mediante la variación de las bandas características de los catalizadores recuperados en las reacciones de epoxidación, esto se detallará más adelante. Sobre el sustrato, puede ocurrir reacciones colaterales con agente oxidante sin la presencia de un catalizador, sin embargo los cromatogramas obtenidos por CG de los blancos de reacción, no se evidenciaron productos clorados a los diferentes intervalos de reacción (Figura 43, Anexo).

5.4. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA

Al igual que en el procedimiento anterior, la electroepoxidación transcurre en un sistema bifásico, pero se diferencia en que el ión hipoclorito se electrogenera *in situ* a partir del cloruro de sodio. Teniendo en cuenta reportes previos^{28,29,37,39}, la epoxidación del limoneno puede plantearse por un mecanismo semejante al planteado por vía química, pero considerando lo que sucede en la superficie del electrodo (Figura 29).

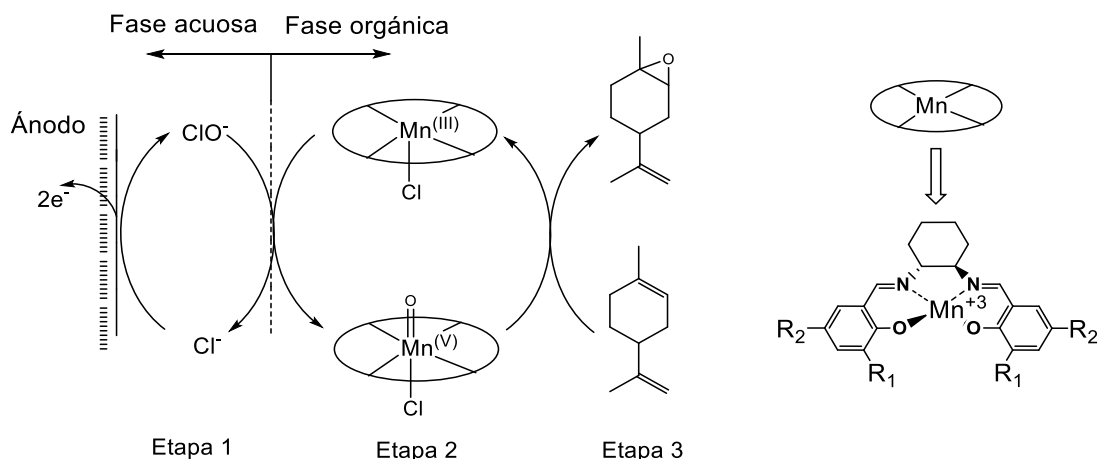
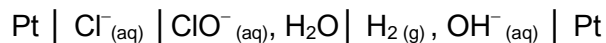


Figura 29. Esquema propuesto del proceso de electroepoxidación química indirecta usando ClO^- para el limoneno mediado por el catalizador Mn-Salcn

En el esquema se observa que el ion cloruro (Cl^-) se oxida en la superficie del electrodo para proporcionar el ion hipoclorito en la fase acuosa, que a su vez oxida al complejo de Mn-Salcn para generar la especie manganeso oxo activa ($\text{Mn}^{\text{V}}=\text{O}$), (Etapas 2 y 3. Figura 29), la generación *in situ* del oxidante garantiza la disponibilidad inmediata del ion hipoclorito y su continua regeneración durante la reacción, por tanto decrecen pérdidas por degradación y evita las reacciones de oxidación colaterales que sufre el catalizador, cuando es sometido a altas concentraciones de hipoclorito.

5.4.1. Parámetros de la epoxidación electroquímica. Se trabajó con la cantidad de catalizador establecida en la metodología química (5%mmol). Y con el fin de realizar el estudio comparativo respecto al proceso de epoxidación química, se escogió un tiempo máximo de reacción de 12 h, llevando a cabo un monitoreo de la concentración de limoneno a intervalos de tiempo de 2 h.

5.4.2. Generación electroquímica del hipoclorito (ClO^-). Para llevar a cabo las reacciones de electroepoxidación, se evaluó la máxima concentración de hipoclorito alcanzada al generarlo *in situ*. Para ello se realizaron cuatro ensayos variando la concentración de la sal de 2M y 5M, así como la corriente a 20 mA y 100 mA, siguiendo la reacción planteada según como se muestra a continuación:



Reacción 5

En la fase acuosa no es necesario la adición del buffer de fosfato, porque lo que se pretende es que esté disponible la cantidad necesaria pero no mantenerlo en solución, como ocurre en las reacciones por vía química. Sin embargo se ajustó el pH hasta 11 para estabilizarlo en solución y se verificó durante toda la reacción que se mantuviera cercano a este valor.

El proceso de descomposición de la solución de cloruro de sodio se efectúa en una celda electrolítica, constituida por dos electrodos de platino en el que se hace pasar una corriente continua a través de los electrodos (Figura 30):

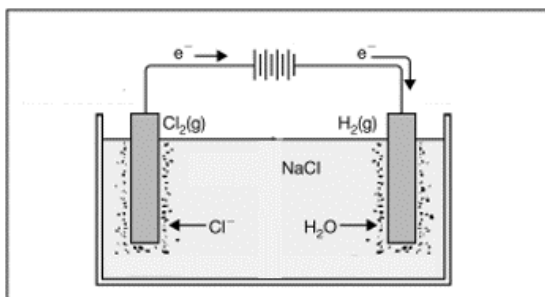
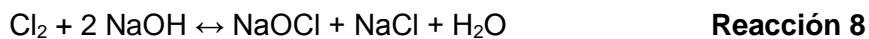
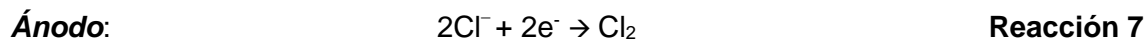
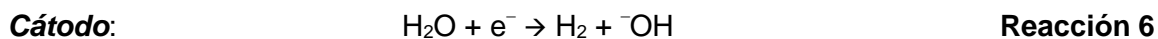


Figura 30: Celda electroquímica para la electrolisis de NaCl y producción de hipoclorito de sodio⁶⁰

Las semireacciones en la celda son:



En el electrodo positivo (Reacción 7), ocurre la oxidación anódica del ion cloruro para formar cloro (Cl_2), mientras simultáneamente en el cátodo (Reacción 6), se genera hidrógeno (H_2) por la reducción del agua. Los iones sodio (Na^+) e hidroxilo (OH^-) restantes se unen para formar hidróxido sódico que, al estar en exceso, aumenta levemente el pH. Por último los iones OH^-

reacciona inmediatamente con el Cl_2 , para formar hipoclorito sódico y cloruro sódico en solución (Reacción 8).

La variación en la concentración del ión hipoclorito durante la electrolisis de las soluciones salinas a 20 mA y 100 mA, se observan en la siguiente figura (Figura 31):

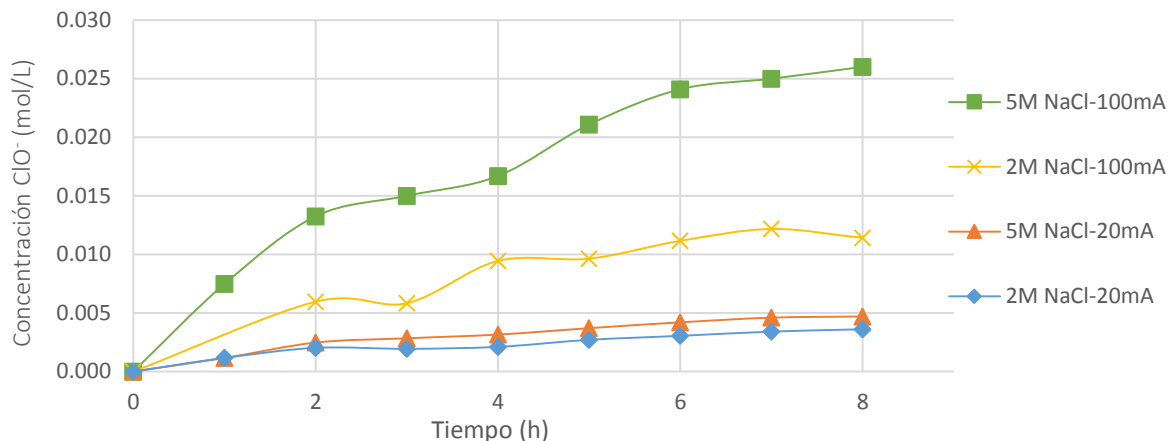


Figura 31. Ensayos de concentración y corriente para la generación de ClO^- mediante electrolisis durante 8h

A 20 mA se aprecia un leve incremento cuando se aumenta la concentración de la sal de 2M a 5M, sin embargo, las cantidades de hipoclorito generado son muy bajas y no superan una concentración del 0,005M al cabo de 8 h. La electrolisis a 100 mA produce un incremento en la producción del ión hipoclorito, sin embargo se observa una mayor generación de hipoclorito, que se hace aún más notable a mayor cantidad de sal. Esto se justifica en que la presencia de los iones hidroxilo en exceso, reaccionan con el cloro molecular (Reacción 8) generado en el ánodo, esto no sucede en presencia del buffer de fosfato, porque, aunque se generan iones hidroxilo (Reacción 6), su concentración es muy baja.

Una vez establecidas la corriente y la concentración de la sal, se determinó la concentración del hipoclorito generado en la celda electroquímica sin la presencia de catalizador y sin sustrato, apreciándose una tendencia al aumento de su concentración en función del tiempo (Figura 32), indicando que no hay pérdidas significativas en el tiempo.

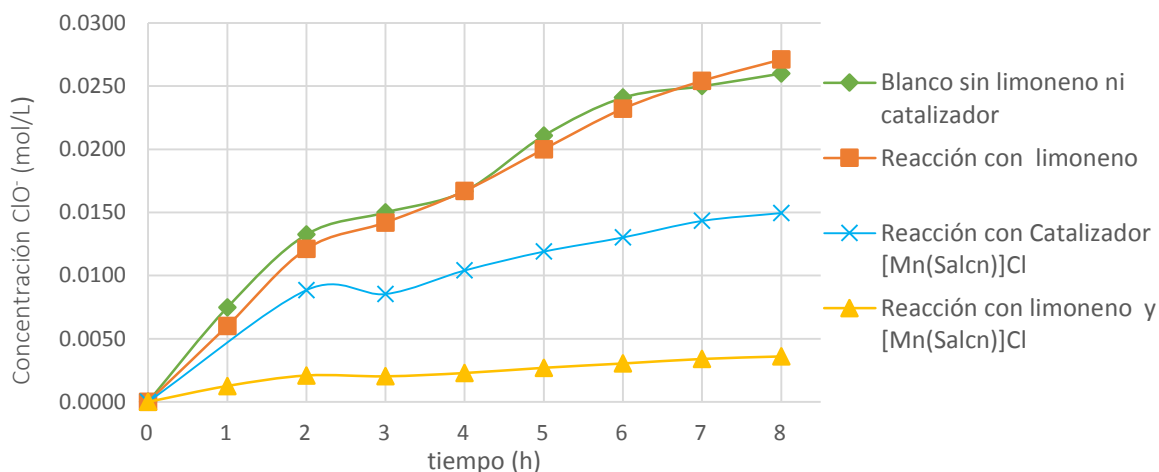


Figura 32. Valoración del ClO^- generado electroquímicamente a una corriente 100 mA, estudiado en presencia y ausencia de los componentes de la fase orgánica

Los resultados de la concentración de hipoclorito para el blanco de reacción (fase acuosa y fase orgánica con el sustrato pero sin el catalizador), mostraron la misma tendencia de aumento en el tiempo, lo cual sugiere que no hay reacción entre el sustrato y el agente oxidante (Figura 32), esto se corrobora con el análisis por CG, de una alícuota de la fase orgánica tomada luego de 8 h de reacción (Figura 44, Anexos), donde no se observa disminución en la concentración del limoneno ni productos de reacción. Esto demuestra que en las reacciones de electroepoxidación, se descarta la posibilidad de que el sustrato pueda ser oxidado directamente por el agente oxidante sin la mediación del catalizador.

Finalmente, al valorar el ión hipoclorito generado en la celda electroquímica que contenía tanto limoneno como catalizador en la fase orgánica, se apreció la desaparición inmediata del agente oxidante, confirmando que el hipoclorito reacciona rápidamente con el catalizador, promoviendo la reacción de oxidación del sustrato.

5.4.3. Seguimiento de la reacción de epoxidación electroquímica. Los resultados de $\%EQ_{\text{neto}}$ del limoneno, al igual que en la metodología química se realizó un blanco para no considerar como disminución del limoneno las pérdidas por volatilidad principalmente. A continuación se muestran los valores de las conversiones corregidas (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentajes de conversión electroquímico neto del limoneno hasta las 12 h de reacción

Tiempo de Reacción (h)	%EQ _{neto} de limoneno			
	[Mn(Salcn)]Cl	[Mn(Broni-Salcn)]Cl	[Mn(Cl-Salcn)]Cl	[Mn(Nitro-salcn)]Cl
2	9,09	5,06	10,76	15,90
4	12,10	16,84	23,05	31,69
6	26,57	31,77	38,18	42,05
8	31,27	38,28	44,71	58,20
12	36,62	40,44	48,65	61,88

Al igual que en el proceso químico, el %EQ_{neto} del limoneno aplicando la electroepoxidación, alcanza una máxima conversión alrededor del 60% en aproximadamente 12 h con el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl. La tendencia en el orden de conversión para los complejos se mantiene, no obstante, se observa que se llega prácticamente a los mismos porcentajes de conversión en aproximadamente la mitad del tiempo con respecto al proceso químico. En todos los casos, siempre hay mayor eficiencia en el proceso electroquímico que en el químico, en donde el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl presentó la mayor actividad (61,88% / 12 h), mientras que por el método químico se alcanzó este valor a las 48 h de reacción con el mismo catalizador (40,69% / 12 h). Esto se debe a que el catalizador no está expuesto a las altas concentraciones del agente oxidante, que puede conllevar a degradaciones oxidativas del centro metálico y los ligandos, disminuyendo la disponibilidad del mismo para llevar a cabo la transferencia de oxígeno. La continua electrogeneración del ión hipoclorito, garantiza esta disponibilidad, sin afectar en mayor grado el catalizador.

5.5. IDENTIFICACIÓN DE LOS EPÓXIDOS DE LIMONENO

La identificación de los productos de la electroepoxidación del limoneno, se realizó mediante la interpretación de los espectros de masas registrados durante el seguimiento cromatográfico de la fase orgánica en la reacción. De esta manera fue posible identificar los epóxidos *cis*-1,2-óxido de limoneno (**7.a**), *trans*-1,2-óxido de limoneno (**7.b**) y el 8,9-óxido de limoneno (**8**) cuyos tiempos de retención fueron 7,95 min, 8,01 min y 8,74 min respectivamente. Con fines de prácticos, de aquí en adelante se referirá a los epóxidos con esa nomenclatura (Figura 33).

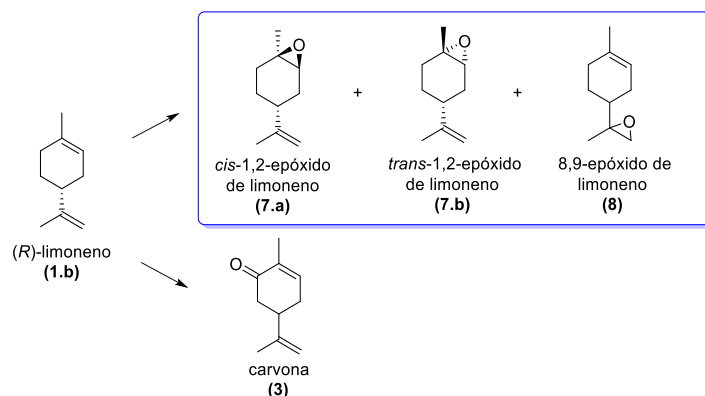


Figura 33. Productos obtenidos de la epoxidación empleando los catalizadores de Mn(Salcn)

En la Figura 34, se observan los cromatogramas obtenidos de la fase orgánica para la reacción catalizada por el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl a las 12 h para la metodología química y electroquímica.

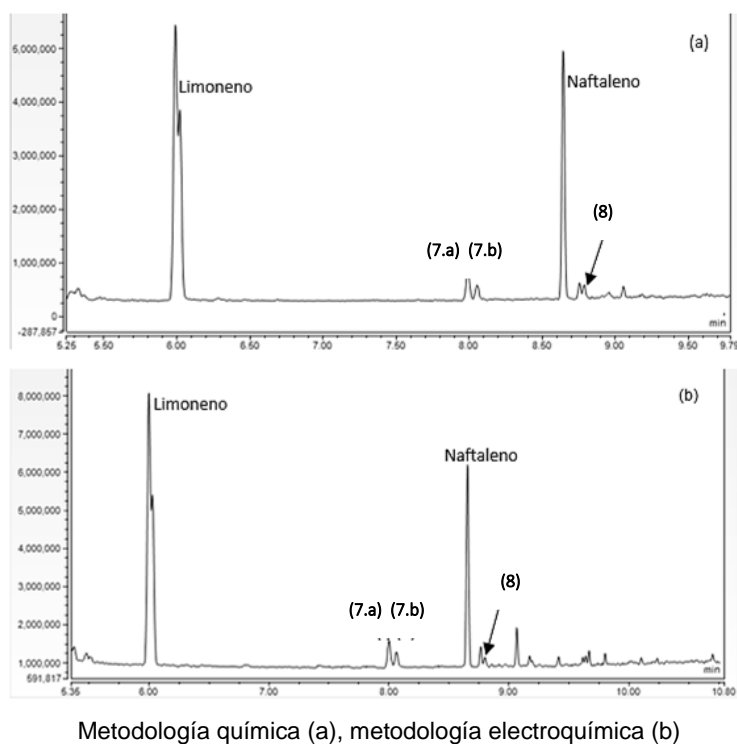


Figura 34. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl

Los epóxidos de limoneno obtenidos en las reacciones tanto químicas como electroquímicas fueron identificados por medio de sus fragmentogramas respectivos obtenidos en modo scan (Figura 35), los cuales son consistentes con los espectros que encuentra en la base de datos del equipo (NIST), identificados con una probabilidad alta en la coincidencia del patrón de fragmentación, con los obtenidos en los espectros de la base de datos.

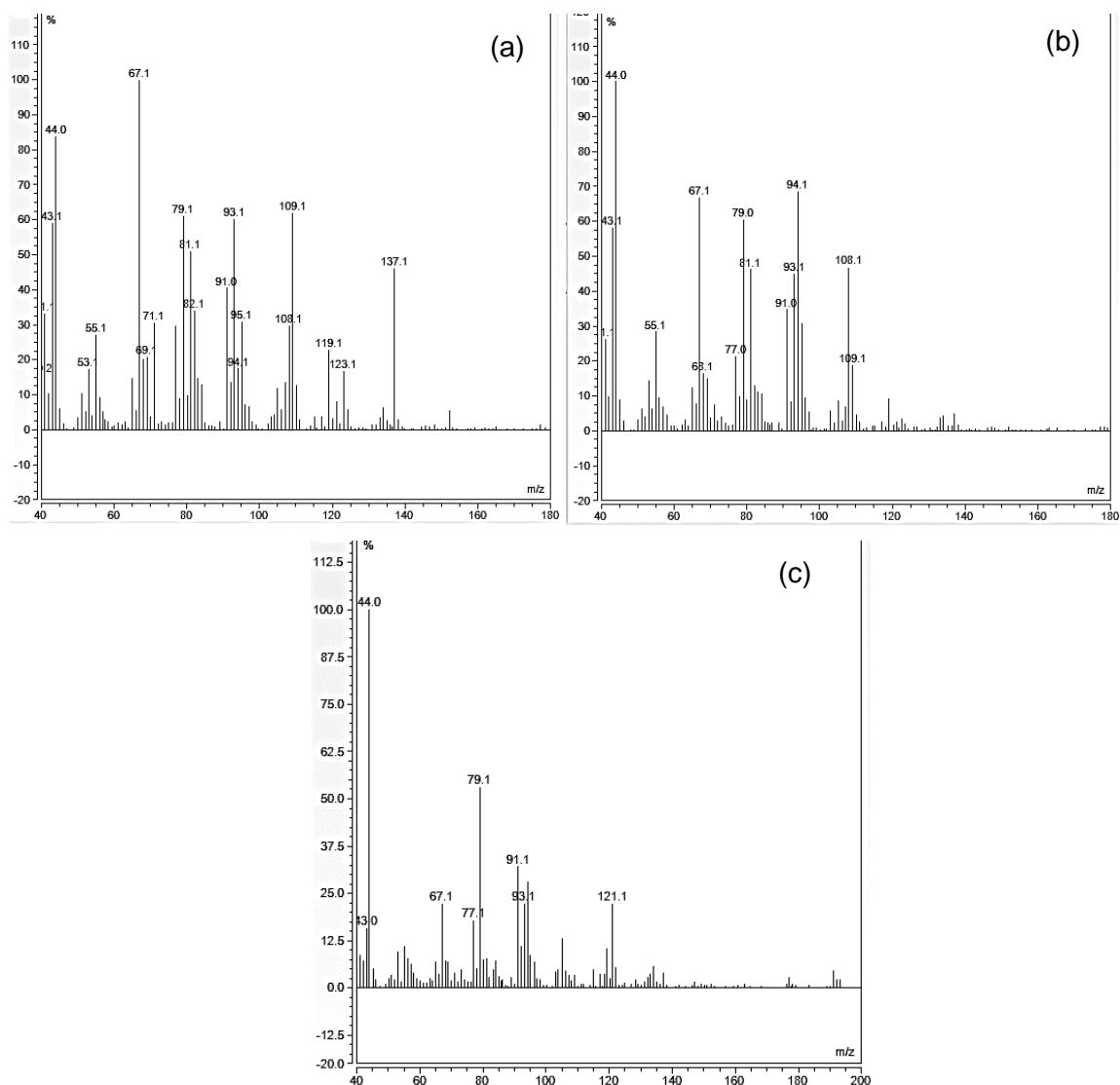


Figura 35. Espectros de masas obtenidos por ionización electrónica (EI, 70 eV) de los compuestos: **(a)** *cis*-1,2-epóxido de limoneno, *trans*-1,2-epóxido de limoneno **(b)** y 8,9-epóxido de limoneno **(c)**

Los epóxidos de limoneno tienen una fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$ consistente con una masa molecular de 152 uma, masa que no es visible en el espectro (Figura 35), debido a la técnica utilizada, sin embargo, los isómeros de los epóxidos *cis* (**7.a**) y *trans* (**7.b**) de limoneno tienen igual masa molecular presentan procesos de fragmentación un poco diferentes. Estas dos moléculas poseen la misma señal de 67 m/z que corresponde al fragmento del pico base y presenta variación en una unidad de las señales 93-94 m/z y 108-109 m/z. El 8,9-epóxido de limoneno (**8**), presenta un patrón de fragmentación muy diferente, en la figura 36, se presenta su elucidación estructural

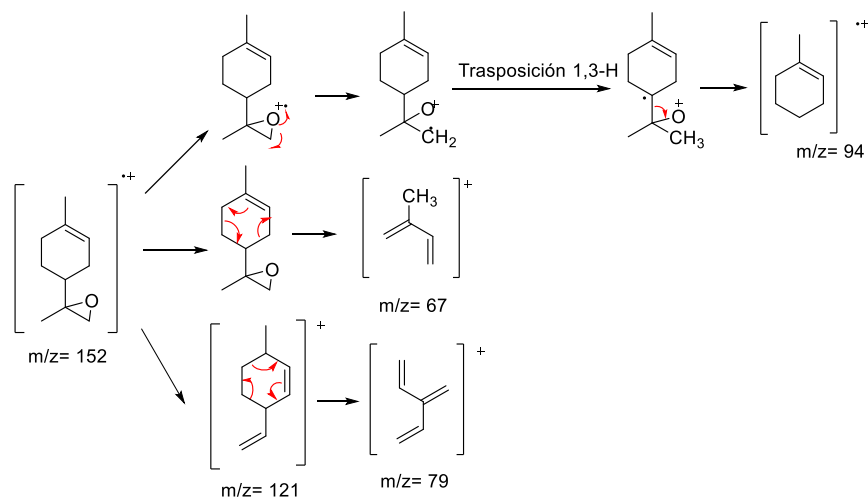


Figura 36. Determinación estructural del 8,9-epóxido de limoneno a través de los fragmentos más importantes surgidos durante el análisis de espectrometría de masas

5.6 REGIOSELECTIVIDAD EN LA EPOXIDACIÓN DE LIMONENO SEGÚN EL TIPO DE CATALIZADOR Mn(Salcn)

De los productos obtenidos en la epoxidación del limoneno, los más representativos son los que se muestra en la Figura 37, de los cuales nos enfocaremos en los óxidos de limoneno como se muestra continuación:

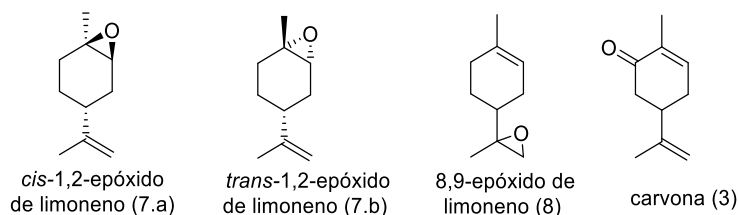


Figura 37. Productos obtenidos de la epoxidación empleando los catalizadores de Mn(Salcn)

La epoxidación limoneno puede ocurrir en el doble enlace interno (C₁-C₂) y/o terminal (C₈-C₉). En la mayoría de los casos, los productos principales son *cis* y *trans* oxido de limoneno derivados de la epoxidación regioselectiva del doble enlace endocíclico, que es más reactivo debido a su mayor densidad de electrones y además proviene de la epoxidación del doble enlace más sustituido. También se generó el epóxido (**8**) como otros de los productos de epoxidación para los catalizadores (**a**), (**b**) y (**c**) pero en una menor proporción.

En la Figura 38, se representan los porcentajes de selectividad de los productos obtenidos para cada uno de los cuatro complejos en la metodología química, donde se evidencia que hay una regioselectividad hacia la obtención del productos (**7.a**) empleando los complejos [Mn(Nitro-Salcn)]Cl, [Mn(Cloro-Salcn)]Cl y hacia el producto (**3**) para los complejos [Mn(Broni-Salcn)]Cl y [Mn(Salcn)]Cl, de los cuales los productos (**7.a**), (**7.b**) y (**8**) son los epóxidos de interés ya mencionados, mientras el compuesto (**3**) corresponde a carvona.

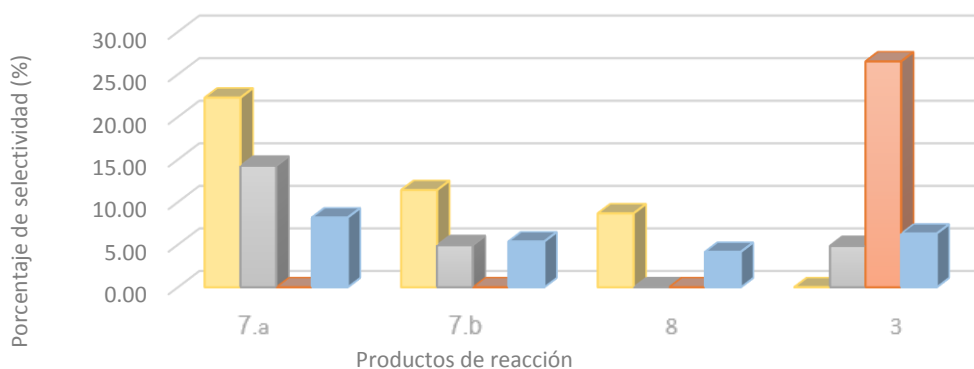


Figura 38. Porcentaje de selectividad los productos obtenidos a partir de la epoxidación química del limoneno a las 12 h de reacción para los complejos Mn(Salcn)

En las reacciones electroquímicas, se obtuvieron mayor número de productos para los complejos [Mn(Nitro-Salcn)]Cl y [Mn(Salcn)]Cl en comparación con la metodología química. La regioselectividad de las reacciones electroquímicas se dirigen hacia el producto (**7.a**) para el caso del complejo [Mn(Cl-Salcn)]Cl y el producto (**3**) para el [Mn(Broni-Salcn)]Cl que son las más notorias (Figura 39). En el caso particular del complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl se observa que la selectividad alcanzada hacia (**7.a**) en la metodología electroquímica, disminuye notoriamente por la generación de otros productos con respecto a la metodología química.

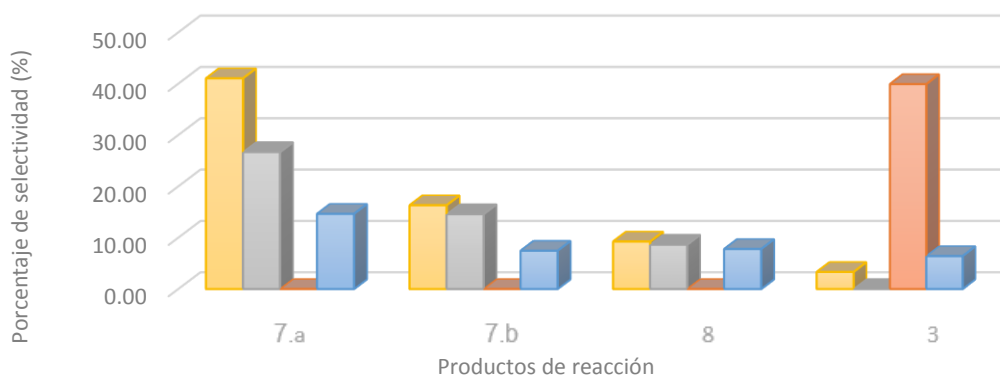


Figura 39. Porcentaje de selectividad los productos obtenidos a partir de la epoxidación electroquímica del limoneno a las 12 h de reacción para los complejos Mn(Salcn)

En el proceso electroquímico se evidencia unos valores de selectividad relativamente bajos comparados con los obtenidos en la epoxidación química, como es el caso del complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl, que para el producto (**7.a**) disminuyó de 40,27% a 19,13% de selectividad y esto debido a que en el proceso electroquímico se generó mayor número de otros productos diferentes a los epóxidos lo que disminuye la selectividad hacia estos. Lo contrario ocurre para el complejo [Mn(Cloro-Salcn)]Cl que fue el que presentó la más alta regioselectividad hacia los epóxidos (**7.a**) y (**7.b**) debido a que no se generó gran cantidad de otros productos. Enfocándonos solamente en la selectividad hacia productos de epoxidación obtenidos para el (*R*)-limoneno con los cuatro catalizadores a las 12 h de reacción, en la tabla 14, se muestran los porcentajes correspondientes a los diastereoisómeros *cis* (**7.a**) y *trans* (**7.b**) 1,2 óxidos de limoneno y el 8,9-óxido de limoneno (**8**).

Tabla 14. Porcentaje de selectividad hacia epóxidos de limoneno obtenidos a las 12h de reacción química para los complejos Mn (Salcn)

	Catalizador	%Selectividad			% e.d *
		8	7.a	7.b	
a	[Mn(Salcn)]Cl	4,15	8,19	5,37	2,82
b	[Mn(Cloro-Salcn)]Cl	0	14,27	4,94	9,33
c	[Mn (Nitro-Salcn)]Cl	8,67	22,27	11,42	10,85
d	[Mn(Broni-Salcn)]Cl	0	0	0	0

* % ed: exceso diastereomérico para los productos (7.a) y (7.b)

Los porcentajes de exceso diastereoisoméricos (%e.d) para los complejos **(a)** y **(b)** son muy bajos, el complejo **(b)** sobresalió por su exceso diastereomérico en la electroepoxidación, mientras el complejo **(d)** no generó los mencionados epóxidos en ambos procesos de epoxidación.

Tabla 15. Porcentaje de selectividad hacia epóxidos de limoneno obtenidos a las 12 h de reacción electroquímica para los complejos Mn(Salcn)

}	Catalizador	%Selectividad			% e.d *
		8	7.a	7.b	
a	[Mn(Salcn)]Cl	7,80	14,65	7,46	7,19
b	[Mn(Cloro-Salcn)]Cl	8,64	26.68	14.57	12,11
c	[Mn (Nitro-Salcn)]Cl	9,26	41,05	16,32	24,73
d	[Mn(Broni-Salcn)]Cl	0	0	0	0

* % ed: exceso diastereomérico para los productos (7.a) y (7.b)

Los factores que influyen en la obtención de uno u otros productos radica en la geometría y densidad electrónica de los complejos que participan en la mediación de procesos catalíticos como consecuencia de la generación de efectos estéricos y estereoelectrónicos⁴⁹. Por tanto, nos enfocaremos en la naturaleza de los sustituyentes (electroatractora) ubicados en las posiciones 3,3' y 5,5' del ligando de la entidad de coordinación al metal. Para este estudio se trabajan con los sustituyentes nitro, bromo, cloro y un complejo no sustituido en dichas posiciones (Figura 40).

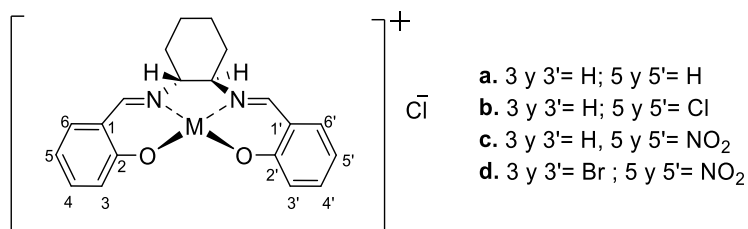


Figura 40. Complejo Mn(Salcn)]Cl con los diferentes sustituyentes en las posiciones 3,3' y 5,5' del ligando

En el caso del complejo [Mn (Nitro-Salcn)]Cl, los grupos nitro son grupos fuertemente electroattractores por efectos inductivos lo que conlleva a un aumento de acidez para el anillo del ligando y en consecuencia una estabilización del fenóxido, aumentando la capacidad de

coordinación con el centro metálico; a esto se le atribuye además, que el grupo nitro es un buen agente reductor⁴⁹ y como resultado lo convierte en un mejor transportador de oxígeno para reacciones de epoxidación. Mientras los sustituyentes como el cloro y bromo son electro-atrayentes débiles y su carácter oxidante es menor comparado con el nitro (Figura 41).

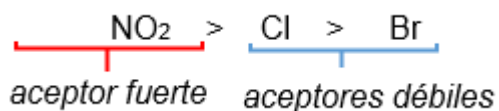


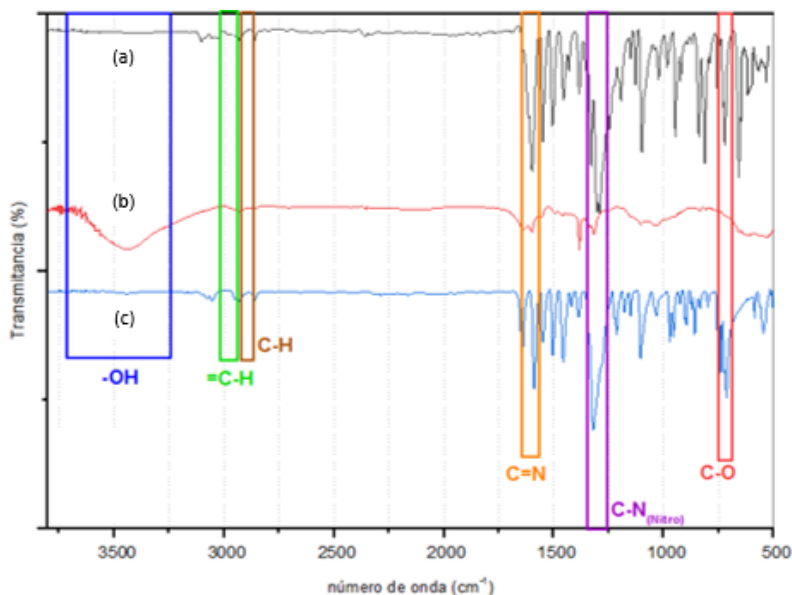
Figura 41. Tipo de sustituyente.

En el estudio del proceso químico, la diastereoselectividad para los complejos Salcn demuestra un porcentaje de exceso diastereomérico mayoritario para el catalizador **(c)** con un 18,85 % en comparación con **(b)** y **(a)** que fue menor (tabla 14), mientras que para el complejo **(d)** fue nulo porque no se generaron epóxidos; sin embargo estos porcentajes en general son relativamente bajos y no son lo suficientemente aceptables. Estos valores de exceso diastereomérico se puede explicar nuevamente por las propiedades electrónicas de los sustituyentes en la posición 5,5' principalmente, ya que tienen un profundo efecto sobre la diastereoselectividad de la reacción de epoxidación. Se sugiere que estos efectos podrían interpretarse de acuerdo con un argumento de Postulado Hammond, en el que los sustituyentes de ligando influyen en la estereoselectividad mediante la modulación de la reactividad del intermedio de Mn^V-oxo de alta valencia. Por lo tanto, se propuso que los sustituyentes que extraen densidad electrónica conducen a un intermediario Mn^V-oxo más reactivo, que se interacciona con el sustrato en un estado de transición comparativamente temprano y proporciona niveles más bajos de diastereoselectividad. Por el contrario, los grupos poco atrayentes de electrones (bromo, cloro) atenúan la reactividad de las especies oxo, lo que conduce a un estado de transición comparativamente más tardío y una diastereoselectividad mayor.⁴⁷

En el complejo **(d)**, se presentó regioselectividad hacia carvona, el producto mayoritario tanto en la metodología electroquímica como química y puede interpretarse como resultado de la influencia de los dos sustituyentes, el nitro en la posición 5,5' y bromo en la posición 3,3' en el que este último induce a un efecto inductivo electro-donor por su tamaño voluminoso.⁴⁹

5.7. EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LOS CATALIZADORES RECUPERADOS

Para determinar la influencia del agente oxidante sobre el catalizador durante la reacción de epoxidación por ambas metodologías, se tomaron los espectros IR para cada uno de los complejos antes y después de la reacción y poder compararlos sus bandas características. En la Figura 42, se muestra el espectro IR del complejo $[\text{Mn}(\text{Nitro-Salcn})]\text{Cl}$.



Antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c)

Figura 42. Espectros IR del complejo $[\text{Mn}(\text{Nitro-Salcn})]\text{Cl}$ a las 12h

En la figura 42(a) se muestra el espectro IR del complejo $[\text{Mn}(\text{salcn})]\text{Cl}$ tomado inicialmente, con bandas características como 2955cm^{-1} ($=\text{C-H}$), 1326cm^{-1} (C-N), 1305cm^{-1} (N-O)_{nitro}, 1598cm^{-1} (C=C) y 838cm^{-1} (C-O), que al ser comparado con el espectro Para el catalizador recuperado por vía química (Figura 42.(b)), se observa desaparición de un gran número de bandas y disminución en la intensidad, lo que indica que el agente oxidante degrada notablemente el complejo. Esto se confirmó no solo por la aparición de color en la fase acuosa durante el proceso de oxidación, sino también por la formación de una capa oscura en la interface (solución orgánica-solución acuosa) debido a la formación de derivados de oxidados del complejo.

Del espectro para el catalizador recuperado de la reacción por la vía electroquímica, se concluye que no hay cambios significativos en su estructura y solo requiere de purificación

adicional, lo que indica que las condiciones de reacción son más suaves y prolongan el tiempo de vida del catalizador.

Los espectros IR (Figura 48-50, Anexos) de los complejos $[\text{Mn}(\text{Salcn})]\text{Cl}$, $[\text{Mn}(\text{Cloro-Salcn})]\text{Cl}$ y $[\text{Mn}(\text{Broni-Salcn})]\text{Cl}$, recuperados luego de la epoxidación por vía química, sigue el mismo comportamiento de degradación de las bandas del espectro, mientras que los complejos recuperados luego de la electroepoxidación mantiene las absorciones características.

6. CONCLUSIONES

✓Se estandarizó una metodología analítica para la cuantificación del contenido de *R*-limoneno mediante la técnica de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (CG-MS); con un bajo límite de detección 0,0653 ppm y cuantificación 0,2178 ppm, en un amplio intervalo de linealidad de 1-25 ppm y alta repetibilidad y precisión instrumental. El método no presentó variaciones significativas frente al cambio de condiciones operativas, presentando una alta reproducibilidad y repetitividad.

✓Los parámetros de confianza del método, permiten asegurar que es sensible, confiable y preciso, considerándose adecuado para aplicarlo en el seguimiento de las reacciones de epoxidación del *R*-limoneno.

✓Las condiciones para el proceso de epoxidación electroquímica del limoneno, se establecieron a 12 h de reacción, con una concentración del 5%mmol de catalizador y la generación *in situ* del agente oxidante a partir de una solución de cloruro de sodio de 5M y corriente de 100 mA.

✓El estudio comparativo de los resultados de la conversión de limoneno a epóxidos se llevó a cabo a las 4,8 y 12 h. Para todos los catalizadores, se determinó una mayor conversión del limoneno en la reacción de electroepoxidación, en donde el complejo [Mn(Nitro-Salcn)]Cl presentó la mayor actividad (61,88% / 12 h), mientras que por el método químico se alcanzó este valor a las 48 h de reacción con el mismo catalizador (40,69% / 12 h).

✓Se evaluó la regioselectividad en la epoxidación electroquímica del limoneno utilizando los cuatro complejo: [Mn(Salcn)]Cl, [Mn(Broni-Salcn)]Cl,[Mn(Cl-Salcn)]Cl, [Mn(Nitro-Salcn)]Cl en su forma enantiomérica (*R,R'*),se encontró una mayor selectividad hacia el *cis*-1,2-óxido de limoneno con los complejos [Mn(Nitro-Salcn)]Cl, [Mn(Cl-Salcn)]Cl y [Mn(Salcn)]Cl, mientras que la reacción en presencia del complejo [Mn(Broni-Salcn)]Cl, dio como producto principal carvona.

✓ Con el fin de establecer condiciones de reacción selectivas, es necesario continuar sistematizando los resultados de las reacciones de epoxidación de limoneno mediadas con catalizadores quirales de manganeso, extendiendo el estudio con una mayor diversidad de sustituyentes electro-atrayentes y electro-donantes sobre los anillos.

✓ Los procesos de degradación oxidativa y formación de posibles especies diméricas u oxo-manganeso asociadas con el ligando y el núcleo metálico del catalizador respectivamente por la presencia de una alta concentración del agente oxidante, establece una competencia con el proceso de epoxidación del sustrato en la metodología química, generando así un decaimiento en los porcentajes de conversión del sustrato en comparación con las reacciones de epoxidación electroquímica.

✓ La electrogeneración de un agente oxidante en el medio de reacción, es una ruta viable y una buena alternativa para la epoxidación de un terpeno, interfiriendo muy poco con la estructura del catalizador como lo demostró el análisis del espectro de vibracional, lo cual representa una ventaja frente a la metodología química.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. PINO Alea, Jorge Antonio. Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos. 2005. *Editorial Universitaria. Havana, Cuba.* 214
2. ORTUÑO Sánchez, Manuel Francisco. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. 2006. *AIYANA Ediciones.* 276
3. STASHENKO, Elena E. Aceites Esenciales. 2009. *División de Publicaciones UIS* 180
4. NEGRO, Viviana; MANCINI, Giuseppe; RUGGERI, Bernardo; FINO, Debora. Citrus waste as feedstock for bio-based products recovery: Review on limonene case study and energy valorization. 2016. *Bioresource Technology.* **Vol. 214.** 806–815
5. GARCIA Castello, E. M. *et al.* Reverse osmosis concentration of press liquid from orange juice solid wastes: Flux decline mechanisms. 2011. *Journal of Food Engineering.* **Vol. 106.** 199–205
6. MARTIN, M. A.; SILES, J. A.; CHICA, A. F.; MATÍN, A. Biomethanization of orange peel waste. 2010. *Bioresource Technology.* **Vol. 101.** 8993–8999
7. BECERRA, Jaime A.; GONZALEZ, Lina M.; VILLA, Aída L. A bio-inspired heterogeneous catalyst for the transformation of limonene from orange peel waste biomass into value-added products. 2018. *Catalysis Today.* **Vol. 302.** 250–260
8. CASTELLANOS, Fabián E.; PEREA, Aidé; ORTIZ, Claudia. Obtención de alcohol perílico por biotransformación del limoneno. 2007. *Scientia et Technica.* **Vol. 23.** 137–140
9. BONON, Anderson J. *et al.* Limonene epoxidation with H₂O₂ promoted by Al₂O₃: Kinetic study, experimental design. 2014. *Journal of Catalysis.* **Vol. 319.** 71–86
10. DJORDJEVIC, Darinka; *et al.* Chemical and physical stability of citral and limonene in sodium dodecyl sulfate-chitosan and gum arabic-stabilized oil-in-water emulsions. 2007. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **Vol. 55.** 3585–3591
11. NIKFAR, S.; BEHBOUDI, A. .. Limonene. 2014. *Encyclopedia of Toxicology* **Vol. 3.** 78–82
12. AISSOU, Mohamed; *et al.* Limonene as an agro-chemical building block for the synthesis and extraction of bioactive compounds. 2017. *Comptes Rendus Chimie.* **Vol. 20.** 346–358
13. VIUDA-Martos, M.; RUÍZ Navajas, Y.; FERNANDEZ. L, J.; PÉREZ. A, J. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon L.*), mandarin (*Citrus reticulata L.*), grapefruit (*Citrus paradisi L.*) and orange (*Citrus sinensis L.*) essential oils. 2008. *Food Control.* **Vol. 19.** 1130–1138
14. BACANLI, Merve; ANLAR, Hatice Gül; *et al.* D-Limonene Ameliorates Diabetes and Its Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. 2017. *Food and Chemical Toxicology.* **Vol. 110.** 434–432
15. BOLUDA Aguilar, María; LÓPEZ Gómez, Antonio. Production of bioethanol by

- fermentation of lemon (*Citrus limon* L.) peel wastes pretreated with steam explosion. 2013. *Industrial Crops and Products*. **Vol. 41**. 188–197
16. PALONÉS M., Eva M. Síntesis enantioselectiva de Guayanos y Norguayanos naturales a partir de (+)-Dihidrocarvona. 2005. *Memoria para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas*. Madrid. Universidad de Valencia. Facultad de Químicas. 175.
 17. BYRNE, Christopher M.; ALLEN, Scott D.; LOBKOVSKY, Emil B.; COATES, Geoffrey W. Alternating copolymerization of limonene oxide and carbon dioxide. 2004. *Journal of the American Chemical Society*. **Vol. 126**. 11404–11405
 18. MICHEL, Typhne; COKAJA, Mirza; SIEBER, Volker; KÜHN, Fritz E. Selective epoxidation of (+)-limonene employing methyltrioxorhenium as catalyst. 2012. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. **Vol. 358**. 159–165
 19. MORINAGA, Hisatoyo; SAKAMOTO, Mayu. Synthesis of multi-functional epoxides derived from limonene oxide and its application to the network polymers. 2017. *Tetrahedron Letters*. **Vol. 58**. 2438–2440
 20. CARRETO Gonzaga, José. Epoxidación regioselectiva de diofelinas terpénicas mediante catalizadores heterogéneos. 2008. *Memoria para optar al grado de Doctor*. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Químicas. 109.
 21. UROOS, Maliha; LEWIS, William Lewis; BLAKE, Alexander J.; HAYES, Christopher J. Total Synthesis of (+)-Cymbodiacetal: A Re-evaluation of the Biomimetic Route. 2010. *Journal Organic Chemistry*. **Vol. 75**. 8465–8470.
 22. ALMEIDA, Amanda A.; *et al.* Evaluation of acute toxicity of a natural compound (+)-limonene epoxide and its anxiolytic-like action. 2012. *Brain Research*. **Vol. 1448**. 56–62
 23. BRÉZOT, Patrick; MALOSSE, Christian; MORI, Kenji; RENO, Michel. Bisabolene epoxides in sex pheromone in *nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae): Role of cis isomer and relation to specificity of pheromone. 1994. *Journal of Chemical Ecology*. **Vol. 20**. 3133–3147
 24. VORONKOV, Michael V.; GONTCHAROV, Alexander V.; *et al.* Scaleable syntheses of isomeric limonene aziridines from the commercially available mixture of *cis*- and *trans*-limonene oxides. 2005. *Organic Process Research and Development*. **Vol. 9**. 221–224
 25. SILVA, Juliana, M.; VINHADO, Fábio, S.; *et al.* The chemical reactivity of some terpenes investigated by alumina catalyzed epoxidation with hydrogen peroxide and by DFT calculations. 2006. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. **Vol. 252**. 186–193
 26. LUO, Rongchang. *et al.* Stable chiral salen Mn(III) complexes with built-in phase-transfer capability for the asymmetric epoxidation of unfunctionalized olefins using NaOCl as an oxidant. 2012. *Journal of Catalysis*. **Vol. 287**. 170–177
 27. ZHAO, Ruiqin *et al.* Electrosynthesis of sodium hypochlorite in room temperature ionic liquids and in situ electrochemical epoxidation of olefins. 2012. *React Kinet Metch Cat*. **Vol. 106**. 37–47

28. RAMÍREZ M, Fidel M. Determinación del rendimiento de la reacción de epoxidación de Citral por vía electroquímica empleando un catalizador tipo Manganese-SALEN (Mn-SALEN). 2014. *Memoria para optar al título de Químico. Popayán. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Química.* 55.
29. REYES Calle, Juliana; CUBILLOS Lobo, Jairo A.; MONTES de Correa, Consuelo.; VIILLA Holguín, Aída Luz. Efecto del agente oxidante y la quiralidad del catalizador en la epoxidación de *R*-(+)-limoneno con catalizadores tipo Jacobsen. 2008. *Revista de ingeniería e investigación.* **Vol. 28.** 37–44
30. PATIL, Mallikarjun V.; YADAV, Mukesh K.; JASRA, Raksh V. Catalytic epoxidation of α -pinene with molecular oxygen using cobalt(II)-exchanged zeolite Y-based heterogeneous catalysts. 2007. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.* **Vol. 277.** 72–80
31. MICHEL, Typhène; COKAJA, Mirza; KÜHN, Fritz E. Catalytic epoxidation of camphene using methyltrioxorhenium(VII) as catalyst. 2013. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.* **Vol. 368–369.** 145–151
32. ARAMENDÍA, María A. *et al.* Epoxidation of limonene over hydrotalcite-like compounds with hydrogen peroxide in the presence of nitriles. 2001. *Applied Catalysis A: General.* **Vol. 216.** 257–265
33. EGUSQUIZA, María G. *et al.* Advance in the study of limonene epoxidation with H₂O₂ catalyzed by Cu(II) complex heteropolytungstates. 2012. *Catalysis Communications.* **Vol. 26.** 117–121
34. LI, Junjie *et al.* Synthesis, characterizations and catalytic allylic oxidation of limonene to carvone of cobalt doped mesoporous silica templated by reed leaves. 2015. *Catalysis Communications.* **Vol. 59.** 233–237
35. CUBILLOS, Jairo.; GRAJALES, Edwing.; VÁSQUEZ, Santiago.; De CORREA, Consuelo M. Immobilization of Jacobsen type catalysts on modified silica. 2011. *Revista Facultad de Ingeniería.* **Vol. 57.** 38–48
36. Michael A., Matthews. Green electrochemistry . Examples and Challenges. 2001. *Pure and Applied Chemistry.* **Vol. 73.** 1305–1308
37. TANAKA, Hideo.; KUROBOSHI, Manabu; TAKEDA, Hironori ..; KANDA, Hisaaki.; TORII, Sigeni. Electrochemical asymmetric epoxidation of olefins by using an optically active Mn-Salen complex. 2001. *Journal of Electroanalytical Chemistry.* **Vol. 507.** 75–81
38. STECKHAN, Eberhard. Electrochemistry, 3. Organic Electrochemistry. 2011. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* **Vol. 12.** 316
39. PORTILLA Zuñiga, Omar M. Síntesis de complejos Mn(III) con ligandos tipo SALEN 5-nitrosustituídos y 5-nitro-3-bromosustituídos y su estudio como catalizadores en la electrooxidación del Citral. 2015. *Memoria para optar al título de Magíster en Ciencias Químicas. Popayán. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Química.* 109.

40. OSA, Tetsuo. *New Challenges in Organic Electrochemistry*. 1998. *Gordon and Breach Science Publishers, Sendai, Japón*. 183
41. MASSUQUININI, Ines.; MENDOÇA, António J.; ESTEVES, Ana P.; Mendonça, Dina I.; Medeiros, Maria J. Electroepoxidation of natural and synthetic alkenes mediated by sodium bromide. 2009. *C. R. Chimie*. **Vol. 12**. 841–849
42. PINTO, Leandro Dariva; DUPONT, Jairton; de SOUZA, Roberto F.; BERNARDO-Gusmão, Katia. Catalytic asymmetric epoxidation of limonene using manganese Schiff-base complexes immobilized in ionic liquids. 2008. *Catalysis Communications*. **Vol. 9**. 135–139
43. AL Zoubi, Wail; KO, Young Gun. Organometallic complexes of Schiff bases: Recent progress in oxidation catalysis. 2016. *Journal of Organometallic Chemistry*. **Vol. 822**. 173–188
44. GUO, Peng; WONG, Kwok-Yin. Enantioselective electrocatalytic epoxidation of olefins by chiral manganese Schiff-base complexes. 1999. *Electrochemistry Communications*. **Vol. 1**. 559–563
45. ZHANG, Wei.; LOEBCH, Jennifer L.; WILSON, Scott R.; JACOBSEN, Eric N. Enantioselective Epoxidation of Unfunctionalized Olefins Catalyzed by (Salen)manganese Complexes. 1990. *Journal of the American Chemical Society*. **Vol. 112**. 2801–2803
46. CUBILLOS, Jairo.; VÁSQUEZ, Santiago.; MONTES de Correa, Consuelo. Salen manganese (III) complexes as catalysts for *R*-(+)-limonene oxidation. 2010. *Applied Catalysis A: General*. **Vol. 373**. 57–65
47. CAVALLO, Luigi; JACOBSEN, Heiko. Electronic effects in (salen) Mn-Based epoxidation catalysts. 2003. *Journal. Organic. Chemistry*. **Vol. 68**. 6202–6207
48. JACOBSEN, Eric N.; ZHANG, Wei; MUCI, Alexander R.; ECKER, James R.; DENG, Li. Highly enantioselective epoxidation catalysts derived from 1,2-diaminocyclohexane. 1991. *Journal of the American Chemical Society*. **Vol. 113**. 7063–7064
49. RODRÍGUEZ Y., Omar S. Aproximaciones a las aplicaciones de complejos Salen y Salen-Metal en las reacciones de epoxidación de olefinas, polimerización y síntesis asimétrica. 2014. *Memoria para optar al título de Magister en Ciencias químicas. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de química*. 68.
50. MILLER, Jessica A.; HAKIM, Iman A.; THOMSON, Cynthia; THOMPSON, Patricia; SHERRY Chow, H. H. Determination of *d*-limonene in adipose tissue by gas chromatography–mass spectrometry. 2008. *Journal of Chromatography B*. **Vol. 870**. 68–73
51. LIMA, Naiana G. P. B. *et al.* Anxiolytic-like activity and GC–MS analysis of (*R*)-(+)-limonene fragrance, a natural compound found in foods and plants. 2013. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. **Vol. 103**. 450–454
52. WANG, Shurong *et al.* Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of *d* -

- limonene in human plasma. 2007. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **Vol. 44**. 1095–1099
53. BARBA, C.; TOLEDANO, R. M.; SANTA-María, G.; Herraiz, M.; Martínez, R. M. Enantiomeric analysis of limonene and carvone by direct introduction of aromatic plants into multidimensional gas chromatography. 2013. *Talanta*. **Vol. 106**. 97–103
 54. WITKOWSKI, Bartłomiej; GIERCZAK, Tomasz. Characterization of the limonene oxidation products with liquid chromatography coupled to the tandem mass spectrometry. 2017. *Atmospheric Environment*. **Vol. 154**. 297–307
 55. POON, G. K.; Vigushin, L.; *et al.* Identification and characterization of lemon metabolites in patients with advanced cancer using liquid chromatography mass spectrometry. 1996. *Drugs metabolism and disposition*. **Vol. 24**. 565–571
 56. TOVAR Franco, Juan J. Electrosíntesis de complejos metálicos (Fe, Co, Mn) con bases de schiff derivadas del ligando *N,N*-Bis(saliciden)-1,2-ciclohexanodiimina. 2018. *Memoria para optar al título de Químico*. Popayán. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Química. 75.
 57. RAMÍREZ R, Andrés F. Estandarización de la técnica GC-MS para análisis de cocaína y caracterización de sus principales adulterantes en el eje cafetero. 2011. *Memoria para optar al título de Químico Industrial*. Pereira. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías . Escuela de Química. 109.
 58. SIERRA A., Isabel; GÓMEZ R., Santiago; PÉREZ Q., Damián; MORANTE Z., Sonia. Análisis Instrumental: Algunas herramientas de enseñanza-aprendizaje adaptadas al espacio europeo de educación superior. 2009. *Editorial Netbiblo*. 256
 59. MILLER, James N.; MILLER, Janes M. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 2002. *Editorial Prentice Hall*. 108.
 60. PONZANO, Gian P. Sodium Hypochlorite : History , Properties , Electrochemical Production. 2007. *S. Karger AG*. **Vol. 154**. 7–23

8. ANEXOS

Tabla 16. Evaluación de normalidad de los datos en función de la concentración

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1 ppm	.972	7	.912
5 ppm	.940	7	.643
9 ppm	.887	7	.257
13 ppm	.960	7	.817
17 ppm	.899	7	.327
21 ppm	.865	7	.169
25 ppm	.940	7	.635

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 17. Pruebas de normalidad de los datos en función del día

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Día1	.964	7	.855
Día2	.968	7	.885
Día3	.955	7	.778
Día4	.965	7	.859
Día5	.962	7	.835
Día6	.962	7	.835
Día7	.970	7	.900

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 18. ANOVA para áreas Vs día

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	.342	6	.057	.005	1.000
Dentro de grupos	526.570	42	12.537		
Total	526.912	48			

Tabla 19. ANOVA para la relación de áreas (limoneno/ naftaleno) Vs nivel de concentración

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	526.040	6	87.673	4221.530	.000
Dentro de grupos	.872	42	.021		
Total	526.912	48			

Tabla 20. Prueba de Tukey

[L]/[N]	N	Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
HSD	0,25	7	0,221714						
Tukey ^a	1,25	7		1,29450					
	2,25	7			3,05014				
	3,25	7				4,83254			
	4,25	7					6,36437		
	5,25	7						8,23538	
	6,25	7							9,75890
Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7.000.

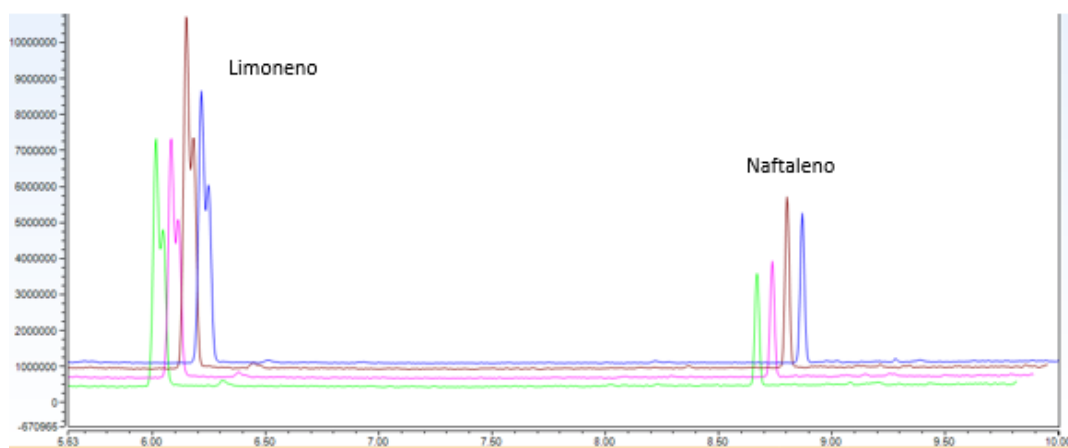


Figura 43. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para los blancos de reacción de limoneno y el ión ClO^- por vía química hasta las 12 h

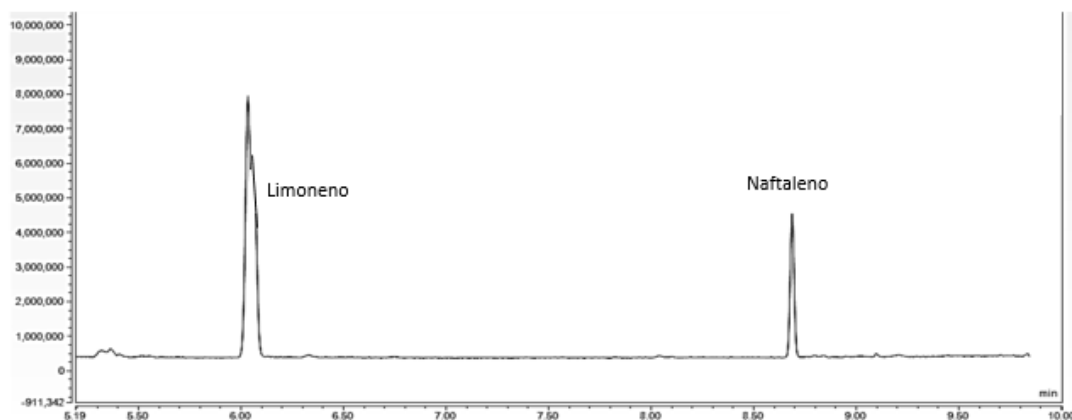


Figura 44. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para el blanco de reacción de limoneno y el ión ClO^- por vía electroquímica hasta las 8 h

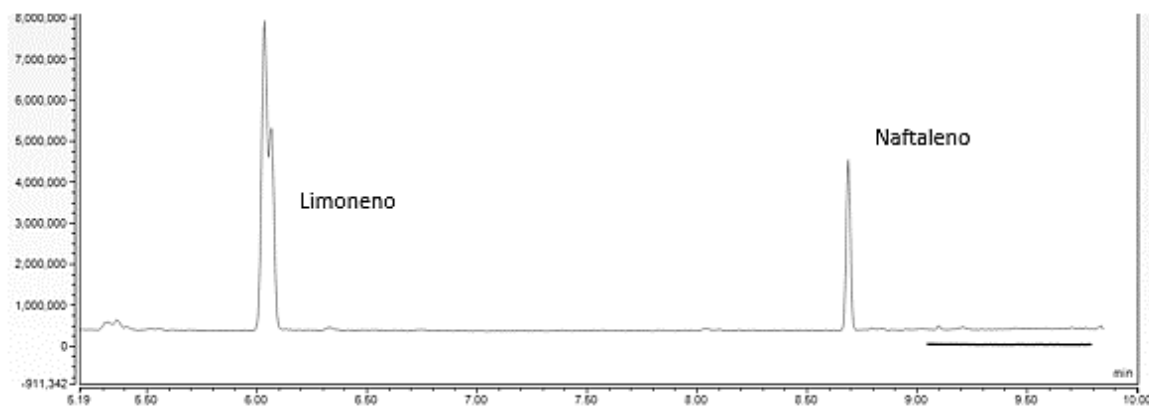


Figura 45. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido para el blanco de reacción de limoneno y el ión ClO^- por vía electroquímica hasta las 12 h

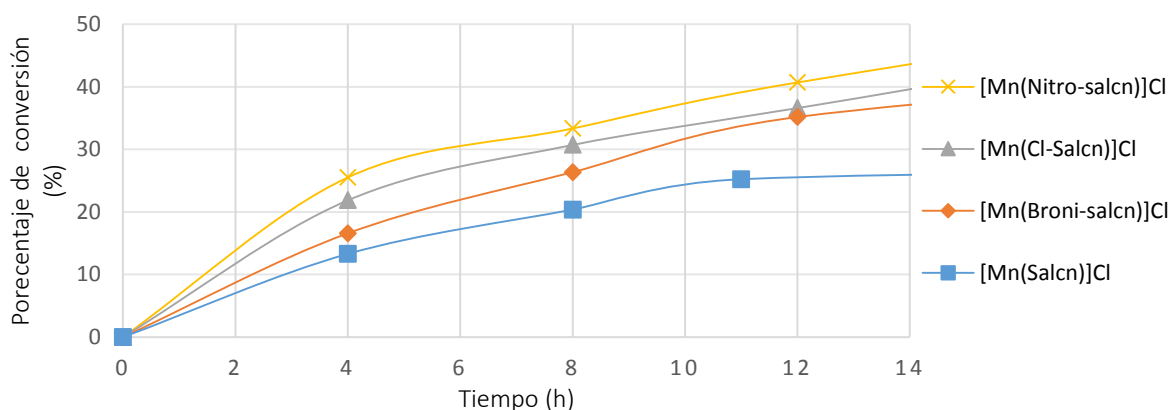


Figura 46. Porcentaje de conversión neto ($\%CQ_{\text{neto}}$) del limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn)

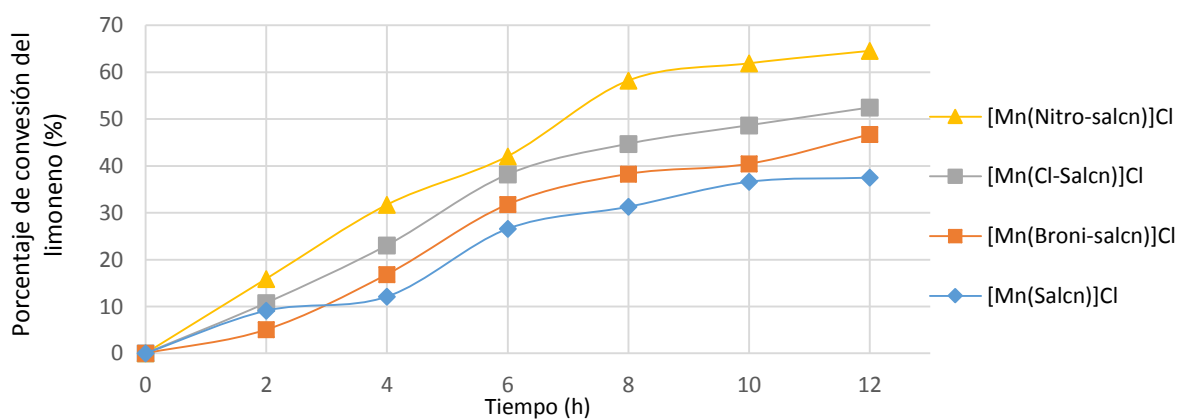
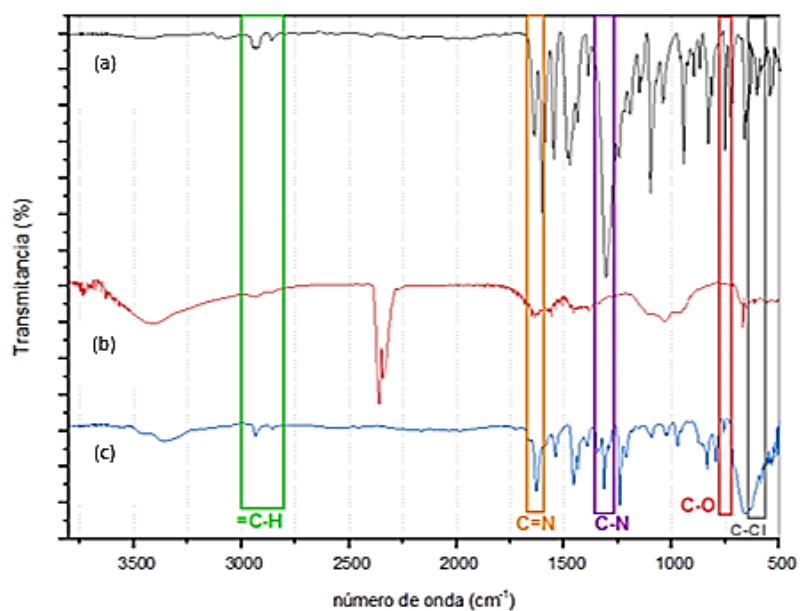
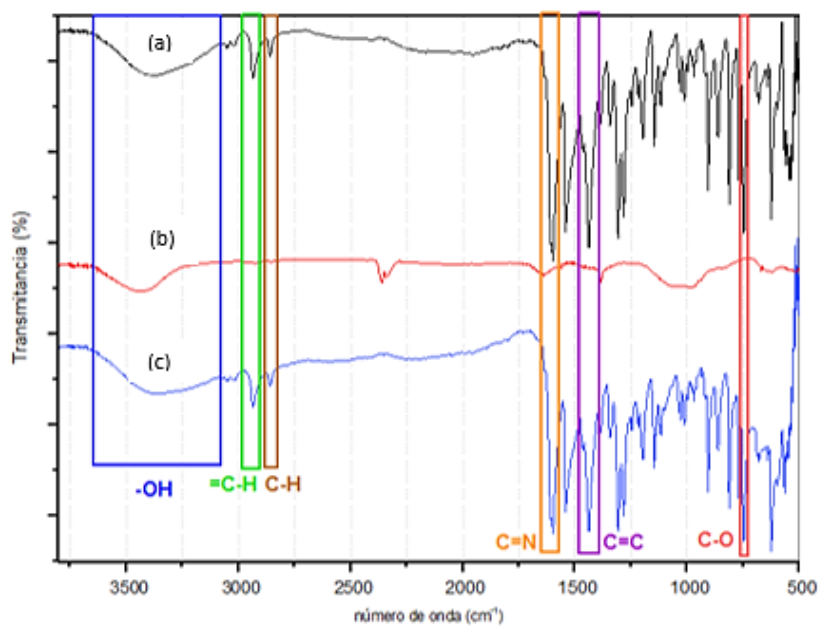


Figura 47. Porcentaje de conversión electroquímico neto ($\%CE_{\text{neto}}$) del limoneno evaluado para los cuatro complejos Mn(Salcn)



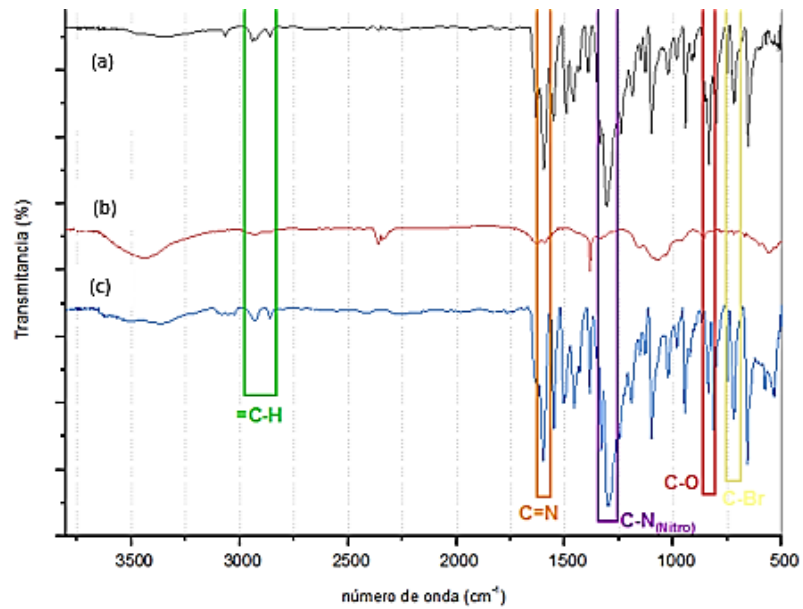
Antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c)

Figura 48. Espectros IR del complejo [Mn(Clro-Salcn)]Cl a las 12 h



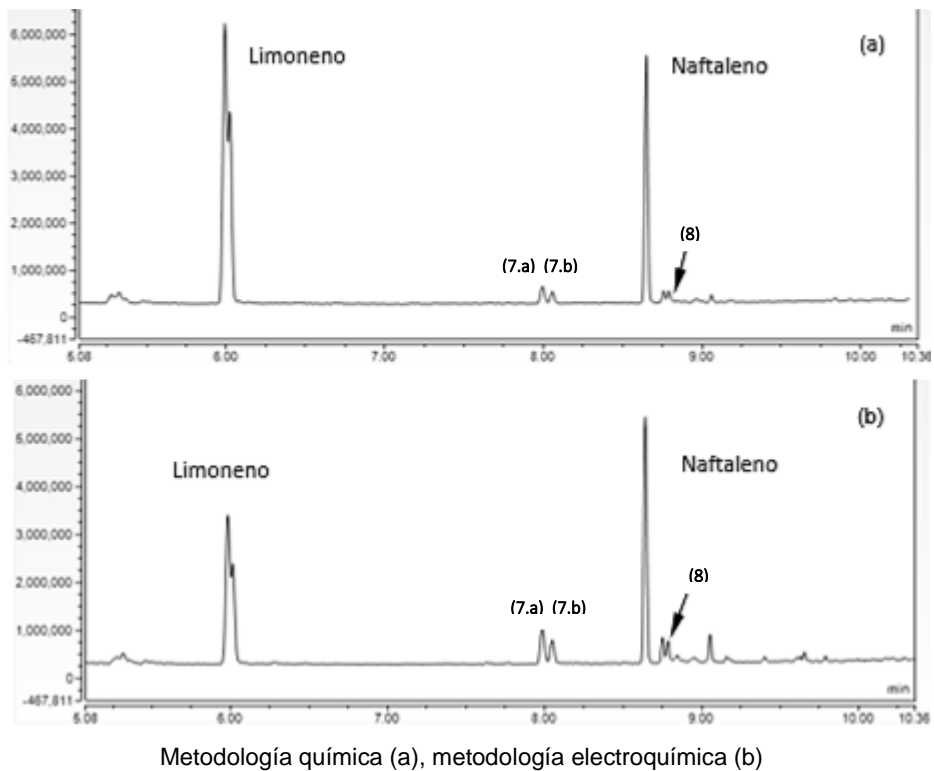
Antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c)

Figura 49. Espectros IR del complejo [Mn(Salcn)]Cl a las 12 h



Antes de la reacción (a), complejo recuperado de la reacción por vía química (b), complejo recuperado de la reacción por vía electroquímica (c)

Figura 50. Espectros IR del complejo $[Mn(Broni-Salcn)]Cl$ a las 12 h



Metodología química (a), metodología electroquímica (b)

Figura 51. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo $[Mn(Cl-Salcn)]Cl$

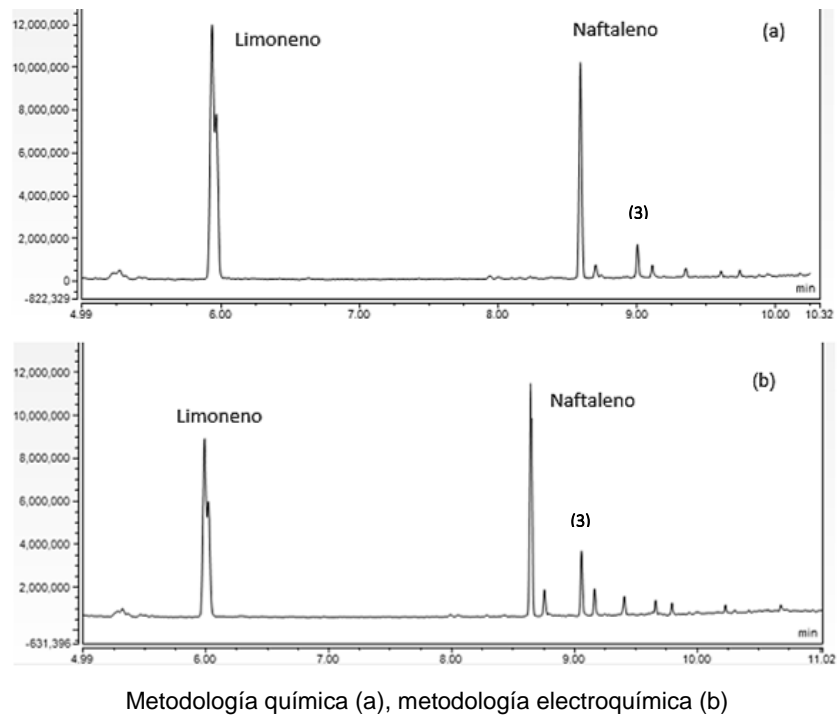


Figura 52. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo $[Mn(\text{Broni-Salcn})]Cl$

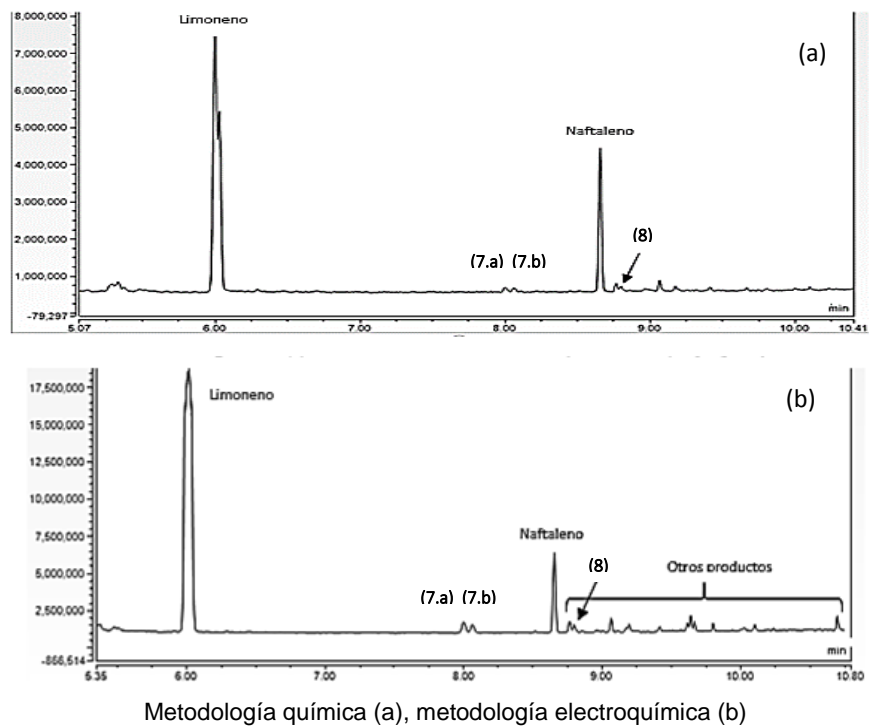


Figura 53. Cromatograma típico (corriente iónica total, TIC) obtenido del extracto de reacción a las 12 h, empleando el complejo $[Mn(\text{Salcn})]Cl$

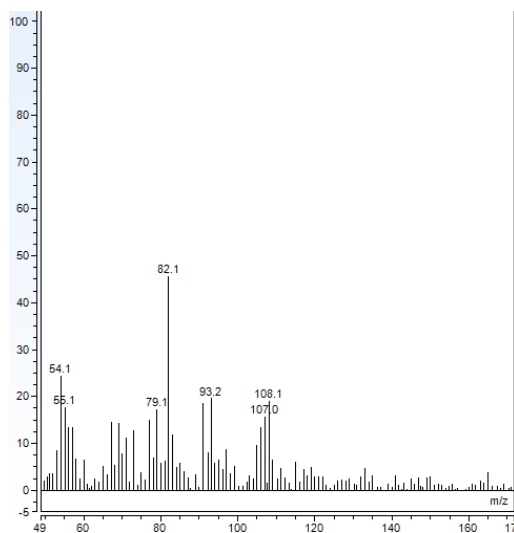


Figura 54. Espectro de masa obtenido por ionización electrónica (EI, 70 eV) para la carvona, producto principal en la reacciones de epoxidación empleando el complejo $[\text{Mn}(\text{Broni-Salcn})]\text{Cl}$

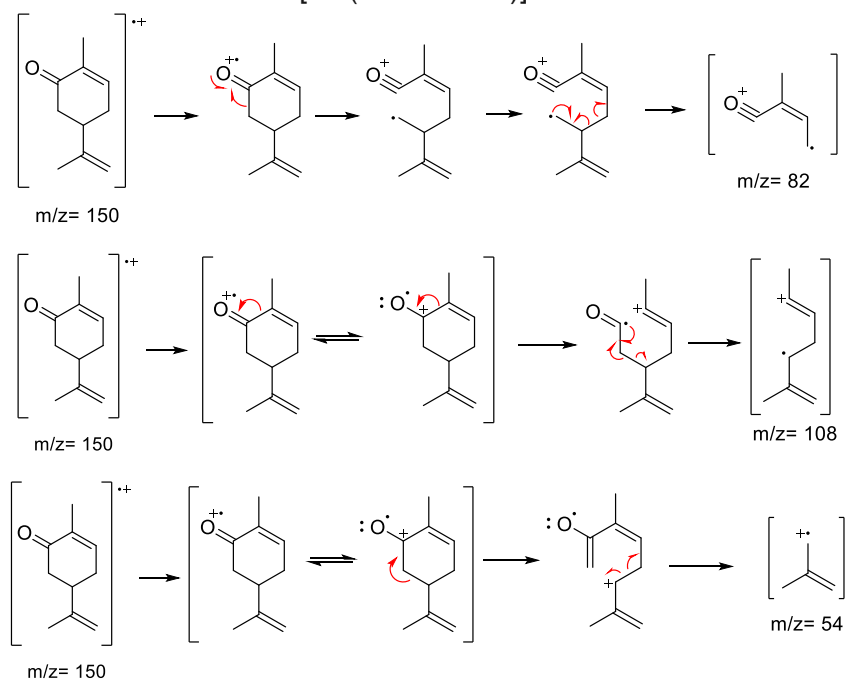


Figura 55. Rutas de fragmentación para la carvona