

**DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN
DE CITRAL POR VÍA ELECTROQUÍMICA EMPLEANDO UN CATALIZADOR
TIPO MANGANESO-SALEN (Mn-SALEN)**



MARCO FIDEL MOSQUERA RAMÍREZ

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2014**

**DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN
DE CITRAL POR VÍA ELECTROQUÍMICA EMPLEANDO UN CATALIZADOR
TIPO MANGANESO-SALEN (Mn-SALEN)**

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

MARCO FIDEL MOSQUERA RAMÍREZ

Director:

Ph.D. GERMÁN CUERVO OCHOA
Grupo de Investigación G.I.P.E.L

Asesores:

OLGA LUCIA HOYOS SAAVEDRA, Ph.D.
OMAR MIGUEL PORTILLA, Químico
Grupo de Investigación G.I.P.E.L

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2014**

Nota de Aceptación:

Director
Germán Cuervo Ochoa Ph.D.

Jurado
Fabio Cabezas Fajardo, Ph.D.

Jurado
Edier Humberto Pérez, Ph.D.

Popayán, 26 de Septiembre del 2014

*A mi familia,
y a todos aquellos que ayudaron a hacer
de este sueño una realidad*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, Marco Fidel Mosquera y María Clemira Ramírez, por su apoyo incondicional, sus consejos y por su dedicación a esta empresa que hoy es tan mía como suya.

A mi hermano, Víctor Hugo Mosquera Ramírez por ser mi amigo, cómplice y confidente.

A mi director, el profesor Germán Cuervo Ochoa, gracias por su tiempo, su paciencia y sus valiosos consejos.

A mis asesores, la profesora Olga Lucia Hoyos Saavedra y el químico Omar Miguel Portilla Zúñiga, por su dedicación a este proyecto.

A mis jurados, los profesores Fabio Cabezas y Edier Humberto Pérez, por sus correcciones oportunas, puntuales y por su disposición para hacer de este un mejor trabajo. Y con ellos a todos los docentes del departamento de química, de quienes tuve el honor de aprender, gracias por forjar día a día nuevos y mejores científicos.

A mis amigos, a esos locos de todas las ramas de la ciencia que siempre me acompañaron y me apoyaron. A todas aquellas personas que cruzaron mi camino y que hoy son parte de mí, así como espero ser parte de ellas.

Y en sí, a todos aquellos que vivimos por y para la ciencia, gracias por hacer de esta un estilo de vida maravilloso.

Por último pero no menos importante, a ti que estás leyendo este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

LISTADO DE TABLAS	8
LISTADO DE FIGURAS	9
RESUMEN	12
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
2. OBJETIVOS	14
2.1. GENERAL	14
2.2. ESPECÍFICOS	14
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	15
3.1. CITRAL.....	15
3.2. EPOXIDACION DE TERPENOS	17
3.3. EPOXIDACIÓN DEL CITRAL	18
3.4. CATALIZADORES TIPO Mn SALEN	20
3.5. CROMATOGRAFIA DE GASES	22
3.6. VOLTAMPEROMETRÍA	23
3.6.1. VOLTAMPEROMETRÍA CÍCLICA	24
4. METODOLOGÍA.....	25
4.1. REACTIVOS, SOLVENTES, EQUIPO Y MATERIALES	25
4.1.1. REACTIVOS Y SOLVENTES	25
4.1.2. EQUIPOS Y MATERIALES	25
4.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)	26
4.3. SÍNTESIS DEL CATALIZADOR Mn-SALEN	29
4.3.1. SÍNTESIS DEL LIGANDO SALEN	29
4.3.2. ELECTROSÍNTESIS COMPLEJO Mn-SALEN	29
4.3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS OBTENIDOS	29
4.4. EPOXIDACIÓN QUÍMICA.....	30
4.4.1. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.....	30
4.4.2. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA	30
4.4.3. VALORACIÓN DEL OCl^- CONSUMIDO EN LA REACCIÓN QUÍMICA	31

4.5. EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA.....	31
4.6. PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN	32
4.7. DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN	32
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	33
5.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)	33
5.2. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA	38
5.2.1. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA	38
5.2.2. RESULTADOS DE LA REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA.	41
5.2.3. VALORACIÓN DEL AGENTE OXIDANTE CONSUMIDO EN LA REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA.....	42
5.3. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA	43
5.3.1. PRODUCCIÓN DE OCl^- ELECTROQUÍMICAMENTE.....	43
5.3.2. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA	44
5.3.3. RESULTADOS DE LA REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA	46
5.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS EPÓXIDOS DE CITRAL	48
5.5. ANÁLISIS VOLTAMPEROMÉTRICOS DE LOS EPÓXIDOS DE CITRAL.....	53
6. CONCLUSIONES.....	55
7. BIBLIOGRAFÍA	56

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones del método para la determinación de citral por cromatografía de gases con detección por ionización en llama (CG-FID).	26
Tabla 2. Condiciones estandarizadas del método para la determinación de citral por cromatografía de gases acoplada a detección espectrometría de masas (CG-MSD).	28
Tabla 3. Parámetros analíticos estandarizados para la determinación de citral por el método de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (CG-MSD).	37
Tabla 4. Determinación del tiempo óptimo en reacción de epoxidación química del citral en función del porcentaje de conversión del citral ($\%CQ_{\text{citral}}$).....	41
Tabla 5. Resultados para la determinación del porcentaje de conversión químico del citral ($\%CQ_{\text{citral Neto}}$) en la reacción de epoxidación química de citral.	41
Tabla 6. Determinación tiempo óptimo de reacción electroquímica en función del porcentaje de conversión electroquímico del citral ($\%CE_{\text{citral}}$).....	46
Tabla 7. Resultados de la reacción de epoxidación electroquímica de citral en función de su porcentaje de conversión ($\%CE_{\text{citral}}$) a 8 horas de reacción.....	46

LISTADO DE ECUACIONES

Ecuación 1. Reacciones de epoxidación de la molécula de citral.	19
Ecuación 2. Esquema general de la reacción de epoxidación electroquímica sobre una olefina empleando un catalizador Mn-Salen desarrollado por Tanaka y colaboradores	20
Ecuación 3. Síntesis de los complejos metálicos (Mn-Salen) con el ligando salen20	
Ecuación 4. Fórmula para calcular el factor de respuesta del sustrato (citral) y el patrón interno (eugenol).	34
Ecuación 5. Reacción de valoración del ión hipoclorito empleando tiosulfato por el método del yodato.....	42

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del Citral y sus isómeros	15
Figura 2. Estructura química del catalizador de Jacobsen	21
Figura 3. Estructura química del catalizador Mn-Salen utilizado en las reacciones de epoxidación química y electroquímica del citral	21
Figura 4. Componentes de un cromatógrafo de gases- espectrómetro de masas (CG-MSD)	23
Figura 5. Señal de excitación en Voltamperometría Cíclica (VC).....	24
Figura 6. Cromatograma de una solución 30mM de citral empleando el método inicial de cromatografía de gases acoplada con detección de ionización en llama (CG-FID).....	33
Figura 7. a) Cromatograma obtenido para una solución 30mM de citral empleando la técnica de cromatografía de gases acoplada a detección de espectrometría de masas (CG-MSD) b) Fragmentograma del neral (cis-citral) c) Fragmentograma del geranial (trans-citral).	35
Figura 8. Estructura de eugenol (4-Alil-2-metoxifenol), empleado como patrón interno en las determinaciones del citral.	36
Figura 9. La curva de calibración de citral empleando patrón interno (relación de áreas vs relación de concentraciones entre citral y eugenol).	36
Figura 10. Curva de calibración empleada para determinar el límite de linealidad (LL) para la técnica de CG-MSD.	37
Figura 11. Curva de calibración de citral empleada para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del método CG-MSD.	38
Figura 12. Curva de calibración de citral empleada en la cuantificación del porcentaje de conversión de citral en las reacciones de epoxidación química (% CQ _{citral}).....	39
Figura 13. Porcentaje de conversión químico del Citral (% CQ _{citral}) Vs mol Catalizador empleadas en la reaccion de epoxidacion y la masas en mg del mismo.....	40

Figura 14. Concentración de ión hipoclorito (OCl ⁻) Vs Tiempo de reacción transcurrido en la reacción de epoxidación química del citral.	43
Figura 15. Valoración del ión hipoclorito (OCl ⁻) generado electroquímicamente durante el proceso de epoxidación electroquímica a una densidad de corriente 20mA/cm ² , estudiado en presencia y ausencia de cada uno de los componentes.	44
Figura 16. Curva de calibración de citral empleada en la cuantificación del porcentaje de conversión de citral en las reacciones de epoxidación electroquímica (%CE _{citral}).	45
Figura 17. Esquema teórico del proceso de epoxidación electroquímica indirecta de una olefina mediado por el catalizador Mn-Salen [29, 31, 38, 39, 47, 60, 61]. .	47
Figura 18. Cromatograma obtenido para el crudo de reacción de epoxidación de citral: Reactivos (Neral y Geranial), Productos (Epóxidos de Citral) y Patrón interno (Eugenol).....	49
Figura 19. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico para a). Epóxido de neral (Pico a t _R =8.66) b). Epóxido de geranial (Pico a t _R =9.79)	50
Figura 20. Patrón de fragmentación del epóxido 6,7 de neral	51
Figura 21. Patrón de fragmentación del epóxido 6,7 de Geranial.	52
Figura 22. Cromatograma epóxidos de citral separados por cromatografía en columna (eluidos con acetato de etilo-éter de petróleo 1:1 en una columna de silica de 40um).	53
Figura 23. Voltamperograma obtenido para la muestra de epóxidos de citral empleando un electrodo de oro (Au) a una velocidad de barrido de 100mV/s.	54
Figura 24. Voltamperograma obtenido para la muestra de epóxidos de citral empleando un electrodo de Carbón vítreo (C _{vitreo}) a una velocidad de barrido de 100mV/s.	54

LISTADO DE ACRÓNIMOS

%C	Porcentaje de conversión
%C_{citral}	Porcentaje de conversión del citral
%CE_{citral}	Porcentaje de conversión electroquímico del citral
%CQ_{citral}	Porcentaje de conversión químico del citral
%CPQ_{citral}	Porcentaje Parcial de conversión químico del citral
%ee	Porcentaje de exceso enantiomérico
%mol	Porcentaje molar de catalizador
ACN	Acetonitrilo
CG	Cromatografía de gases
CG-FID	Cromatografía de gases con detección de ionización el llama
CG-MSD	Cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
C_{vitreo}	Electrodo de carbón vítreo
DMDO	Dimetildioxirano
E₀	Potencial inicial
E_f	Potencial final
LC	Límite de Cuantificación
LD	Límite de detección
LL	Límite de linealidad
MCPBA	ácido m-cloroperbenzoico
MS	Espectrometría de masas
MSD	Detector de espectrometría de masas
NaOCl	Hipoclorito de Sodio
OCl⁻	Ion Hipoclorito
SW	Voltamperometría de Onda Cuadrada
TBAP	perclorato de tetrabutilamonio
t_R	Tiempo de retención
VC	Voltamperometría Cíclica

RESUMEN

El citral ($C_{10}H_{16}O$) es un monoterpeno de gran importancia dentro de la química industrial y aplicada, siendo empleado en muchos derivados cosméticos, perfumería e incluso como aditivo alimentario, además, su estructura química ofrece una gran reactividad, partiendo de que el citral en sí, es una mezcla de dos aldehídos monoterpénicos, isómeros geométricos geranial (isómero *trans*) y neral (isómero *cis*). Al ser un aldehído α,β -insaturado, el citral es empleado como material para síntesis debido a su alta reactividad [4-6].

Los procesos de epoxidación sobre el citral han sido estudiados respecto a los agentes oxidantes y los catalizadores empleados siendo utilizados para ello una gran variedad de sustancias. En este proyecto se evaluó el uso de ión hipoclorito (OCl^-) como agente oxidante, el cual es fácilmente electrogenerado a partir de una solución de cloruro de sodio ($NaCl$). El seguimiento del proceso de epoxidación fue seguido empleando dos metodologías, la primera de ellas la valoración con tiosulfato de sodio del ión hipoclorito consumido en el caso de la reacción de epoxidación química tradicional y el electrogenerado en el caso de la epoxidación electroquímica. Los resultados mostraron como en ambos casos las reacciones se llevan a cabo, ya que se observó la desaparición del OCl^- en la síntesis química, además de la generación del mismo en la síntesis electroquímica y demostrando además la labilidad del catalizador hacia el agente oxidante empleado.

La segunda metodología utilizada consistió en la técnica de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (CG-MSD) empleada en la determinación del porcentaje de conversión del citral (sustrato). La técnica fue estandarizada, obteniendo bajos límites de detección ($1.0 \times 10^{-5} M$), de cuantificación ($1.0 \times 10^{-5} M$), un intervalo de linealidad de $1.0 \times 10^{-5} M - 8.5 \times 10^{-2} M$, además de bajas dispersiones (%CV) para la reproducibilidad y repetibilidad.

Empleando CG-MSD se determinaron los porcentajes de conversión del citral en las reacciones de epoxidación químicas y electroquímicas ($\%CQ_{citral}$ y $\%CE_{citral}$ respectivamente), basados en los mejores porcentajes de conversión se estableció que, 5%mol de catalizador como la concentración óptima de catalizador Mn-Salen obteniendo conversiones del 60% en las reacciones, además, también se determinó el tiempo óptimo para las dos rutas de síntesis, coincidiendo ambas en 8 horas. En la reacción de epoxidación química catalizada por el complejo Mn-Salen se determinó un $\%CQ_{citral}$ del $67.7\% \pm 7.4$; mientras que en la reacción electroquímica se observó que el catalizador presenta reacciones colaterales con el agente oxidante, disminuyendo los $\%CE_{citral}$. Se estableció por medio de los patrones de fragmentación la presencia de epóxidos de citral en las posiciones C_6-C_7 y no se obtuvieron datos concluyentes sobre la actividad redox de los epóxidos sintetizados.

Palabras clave: Epoxidación, Síntesis electroquímica y química, Citral, CG-MSD, porcentaje de conversión.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los epóxidos de citral son sustancias con un alto valor en la síntesis orgánica fina además en la industria química, siendo estos utilizados en una amplia gama de aplicaciones que abarca desde la generación de sabores cítricos hasta la síntesis de macromoléculas orgánicas principalmente la vitamina A. Motivo por el cual se busca mejorar los rendimientos de las reacciones de epoxidación de la molécula de citral, así como la selectividad de las mismas. La eficiencia de este tipo de reacciones se ha limitado debido a la baja selectividad del proceso oxidativo, además de la dificultad que presenta la activación paulatina del catalizador en la síntesis química, siendo este factor determinante para la selectividad del proceso, por esta razón se plantea la síntesis electroquímica como una alternativa viable que mejore la selectividad de la epoxidación de citral ya que permite un control de la generación del agente oxidante y por tanto la activación del catalizador.

Además de la importancia de los epóxidos anteriormente mencionados, El citral es un aceite esencial obtenido, principalmente de una planta perenne, un recurso biorrenovable, *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf, familia *Gramináceas*, conocida comúnmente como limoncillo y con amplia distribución a nivel mundial, incluso en el Cauca es una planta empleada tradicionalmente desde hace siglos en procesos homeopáticos simples. Debido a la amplia disponibilidad de materia prima para la extracción del citral y el valor agregado que presentan los epóxidos del mismo, se busca con este proyecto contribuir a la posible formación de nuevas cadenas productivas relacionadas con esta fuente natural.

El limoncillo se encuentra referenciado dentro de la colección del herbario del museo de historia natural de la Universidad del Cauca, el ejemplar en cuestión presenta los siguientes datos de recolección: Cauca, municipio de Popayán, ciudad de Popayán, barrio Bello horizonte, 1850 m.s.n.m., 21 de agosto de 2005, B.R. Ramírez. 17925 (CAUP.)

2. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

Evaluar el rendimiento de la reacción de epoxidación de citral llevada a cabo a través de síntesis química tradicional y síntesis electroquímica.

2.2. ESPECÍFICOS

- ✓ Estandarizar un método analítico empleando la técnica de cromatografía de gases (CG) para la determinación del citral (isómeros: Neral y Geranial).
- ✓ Estudiar la eficiencia de la reacción de epoxidación del citral en función de la disminución de la concentración de los reactivos de partida.
- ✓ Separar e identificar los epóxidos generados en las reacciones de oxidación de citral estudiadas y determinar su posible actividad electroquímica.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1. CITRAL

El citral ($C_{10}H_{16}O$), 3,7-dimetil-2,6-Octadienal, es una mezcla de dos aldehídos monoterpénicos, geranial y neral. El isómero *trans*- se conoce como geranial (2-(*E*)-3,7-dimetil-2,6-Octadienal) mientras, el isómero *cis*- se conoce como neral (2-(*Z*)-3,7-dimetil-2,6-Octadienal), figura 1 [1, 2]. Estos son compuestos acíclicos isoprenoides que contienen oxígeno cuya característica principal es un fuerte sabor cítrico además de su sensibilidad a la exposición lumínica, al calor y al pH [3, 4]. Al ser un aldehído α,β -insaturado, el citral es empleado como material para síntesis; sin embargo, también tiende a dar reacciones colaterales, por ejemplo isomerizaciones e hidrogenaciones, debido a su alta reactividad [4-6].

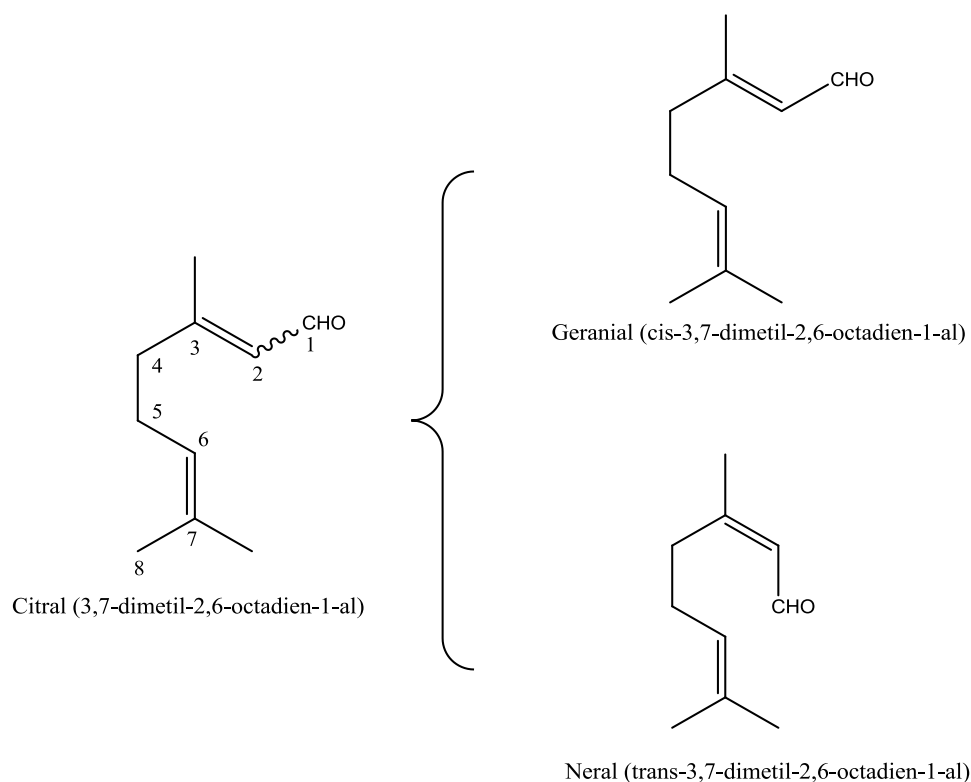


Figura 1. Estructura del Citral y sus isómeros

Una de las principales fuentes naturales del citral es el aceite esencial del *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf, conocido popularmente como limoncillo, una planta aromática con una amplia distribución a nivel mundial, es una de las 120 especies perteneciente a la familia de las Gramíneas [7, 8]. El nombre *Cymbopogon* es derivado del griego *kymbe* que significa bote y *pogon* arista, haciendo referencia a la forma de sus flores. El término *citratus* deriva del latín

haciendo referencia al olor de las hojas de limón. Es una planta perenne que llega a medir hasta 3 metros de altura, sus hojas son rectas y planas midiendo entre 1 y 1.5m de longitud, de 5 a 15mm de ancho. Son empleadas a lo largo del mundo en diversos usos terapéuticos tradicionales que incluyen desde la preparación de infusiones antiespasmódicas, antirreumáticas, siendo especialmente empleadas para curar problemas gastrointestinales hasta para ayudar en el tratamiento de enfermedades respiratorias como el asma, así como su uso analgésico [8]. El limoncillo es una de las plantas más extendidas y empleadas a lo largo de la zona meridional, incluso en el departamento del Cauca es una planta empleada tradicionalmente desde hace siglos en procesos homeopáticos simples.

El citral es uno de los compuestos naturales con mayor proyección dentro de la industria farmacéutica y química, dado su amplia aplicación que abarca desde la generación de sabores cítricos hasta la síntesis de macromoléculas orgánicas principalmente la vitamina A [9, 10].

Algunos de sus derivados, los epóxidos, han cobrado gran importancia debido a su alta reactividad, además de su alto valor como intermediarios reactivos para la síntesis química fina [6, 11-13]. El aceite esencial de limoncillo contiene aproximadamente 76% de citral siendo la principal fuente de extracción del mismo, el restante 24% de su composición se distribuye entre otras sustancias como farnesol, nerol, geraniol, citronela, mircenol [7, 11, 14, 15]. Además el citral está presente, en menor medida, en aceites esenciales de otras plantas como por ejemplo frutos cítricos (limón, naranja entre otros), jengibre y en algunas especies de albahaca [16].

Los aceites esenciales son productos naturales obtenidos de plantas, están formados por una gran variedad de compuestos volátiles dentro de los cuales predominan los compuestos terpénoides asociados con aldehídos, alcoholes y cetonas. Se emplean los aceites esenciales de algunas especies de *Cymbopogon* en las industrias del jabón, perfumería y en la producción de sabores para todo tipo de aplicaciones comerciales, desde ambientadores hasta desinfectantes. Así mismo se ha demostrado que los aceites esenciales del limoncillo presentan importantes actividades biológicas dentro de las cuales se incluyen la actividad antimicrobiana, antitumoral, anticancerígena, insecticida y plaguicida [4, 6-8, 13, 15, 16].

3.2. EPOXIDACION DE TERPENOS

El estudio de los terpenos y sus derivados en la química moderna se debe a su polifuncionalidad, a la versatilidad de su reactividad y su aplicación en diversos campos de la actividad humana, por ejemplo, en medicina y perfumería [17, 18]. Es muy prometedora la investigación sobre epóxidos de terpenos que pueden transformarse en alcoholes, aldehídos, cetonas y compuestos heterocíclicos de interés industrial. Los monoterpenos más investigados han sido el limoneno, carvona, carveol y alcohol perílico, especialmente desde el punto de vista quimioterapéutico [19].

Los terpenos se caracterizan por la presencia de una o más insaturaciones (dobles enlaces C-C), confiriéndoles una gran versatilidad sintética como epóxidos. Por tal razón son atractivos como materias primas en la obtención de una amplia variedad de productos químicos orgánicos tanto intermediarios como productos de reacción. Son empleados en la obtención de surfactantes y detergentes (tensoactivos), agentes anti-estáticos y anti-corrosivos, aceites lubricantes, aditivos textiles, cosméticos y en la síntesis fina de moléculas orgánicas, empleando en particular epóxidos ópticamente activos como intermediarios en la producción de compuestos con actividad biológica y como bloques en la construcción de diversas moléculas quirales.

En este campo se destaca el trabajo de Sharpless [20, 21], distinguido por la contribución al conocimiento de la epoxidación asimétrica y galardonado con el premio nobel de química en el 2001 por su contribución a este campo de la ciencia, siendo empleada la epoxidación asimétrica en la obtención de productos farmacéuticos, tales como antibióticos, fármacos antiinflamatorios y otras medicinas [13, 22, 23]

Las metodologías químicas de oxidación de terpenos han sido ampliamente usadas y aparecen diversas publicaciones en el tema [24, 25]. La adición de oxígeno a dobles enlaces habitualmente emplea agentes oxidantes, tales como el ácido *m*-cloroperbenzoico (MCPBA), peróxido de hidrógeno o hidroperóxidos, dimetildioxirano (DMDO), hipoclorito de sodio (NaOCl), etc.

Los terpenos pueden oxidarse electroquímicamente en solventes nucleófilos tales como alcoholes, acetonitrilo o ácido acético. Los productos aislados son el resultado de la desactivación por nucleófilos de los iones carbonio intermediarios [26, 27]. Este proceso se puede desarrollar de forma directa oxidando los sustratos sobre el ánodo, o de manera indirecta utilizando un transportador de

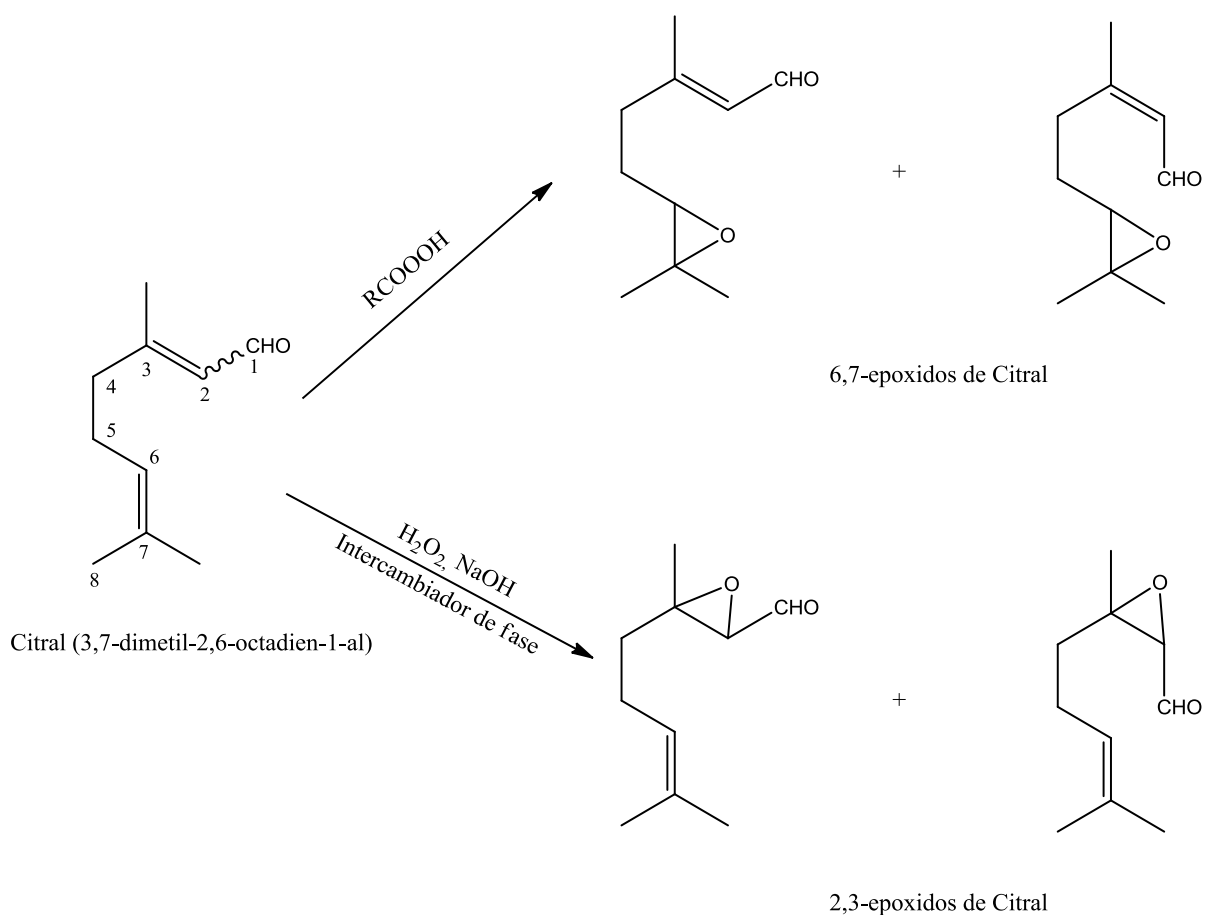
electrones, que corresponde usualmente a una sal haloidea que al oxidarse se convierte en un agente oxidante y posteriormente actúa sobre el sustrato.

El primer método suele ser usado para oxidaciones completas, pero para los procesos que requieren oxidaciones más suaves se escoge el segundo, tal es el caso de los procesos de epoxidación [26]. Por ejemplo, para el limoneno, un terpeno, se ha probado la oxidación electroquímica indirecta dirigiendo el proceso hacia la formación epóxidos evitando el uso de concentraciones elevadas de agentes oxidantes fuertes que pueden generar sobre-oxidaciones. Se ha reportado que con el uso de Br₂ generado *in situ* a partir de ión bromuro en un medio de acetonitrilo (ACN)/agua, se alcanzan conversiones del 25% a una concentración de 40mM de limoneno [28]. Este proceso puede ser aplicado para la oxidación de otros terpenos, por ejemplo el citral, utilizando como mediadores de la reacción catalizadores tipo Mn-Salen que favorezcan el proceso, siguiendo una metodología similar a la empleada por Tanaka y colaboradores [29].

3.3. EPOXIDACIÓN DEL CITRAL

Las reacciones de epoxidación de la molécula de citral han sido ampliamente estudiadas, reportando porcentajes de conversión (%C) y porcentajes de especificidad enantiomérica (%ee) elevados para este proceso [5, 30]; la mayoría de estas rutas sintéticas se basan en la síntesis química tradicional. Sin embargo, las rutas químicas generan algunos inconvenientes como son, la poca selectividad de la reacción, lo que incluye la dificultad para la obtención de sustancias ópticamente puras y la obtención de diversos productos de reacción difíciles de identificar teniendo en cuenta la presencia de varios tipos de epóxidos en el crudo de reacción, debido a la presencia de dos insaturaciones en la molécula de citral, las cuales pueden sufrir el proceso de epoxidación, además en dicho proceso se generan isómeros ópticos dando lugar así a mezcla racémica de los productos de reacción [6].

En la ecuación 1 se ilustra cómo en el proceso de epoxidación de la molécula de citral se pueden producir cuatro epóxidos. Siendo las epoxidaciones orientadas principalmente por el tipo de agente oxidante dando lugar a procesos regioselectivos; ya que de acuerdo con el agente oxidante empleado podemos obtener epóxidos en las posiciones C₂-C₃ o en C₆-C₇. Sin embargo, los procesos estereoselectivos se reportan como dirigidos por los catalizadores empleados en la síntesis [31-36]. Se reporta la epoxidación regioselectiva del doble enlace C₆-C₇ del citral con clorito de sodio sin el uso de catalizador quiral alcanzando un rendimiento del 53% [37], lo cual es consistente con la densidad electrónica de dicho enlace, relativamente mayor a la del doble enlace en C₂-C₃.



Ecuación 1. Reacciones de epoxidación de la molécula de citral [2, 6].

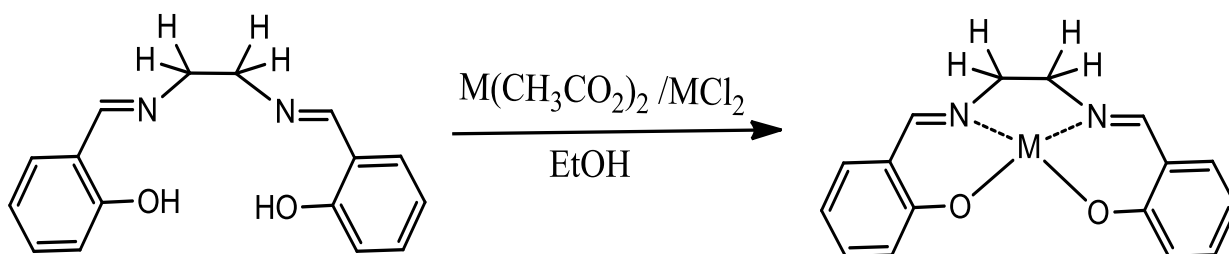
En los últimos años se han empleado sistemas electroquímicos bifásicos para la síntesis de los epóxidos de citral [28, 29], en atención a que estos reducen los inconvenientes presentados en la síntesis clásica, favoreciendo los porcentajes de rendimiento y la selectividad en base a los mecanismos de activación del catalizador que dirige la reacción de epoxidación [21, 38-40]. En un sistema electroquímico bifásico, el sustrato, el catalizador y los productos de reacción se encuentran en la fase orgánica mientras que el agente oxidante es generado in situ por medio de procesos redox en la fase acuosa. La reacción de epoxidación se dará en la interfase, controlando así la espontaneidad de la reacción además de la activación selectiva del catalizador. El sistema electroquímico empleado en la epoxidación de olefinas se muestra en la ecuación 2.



Ecuación 2. Esquema general de la reacción de epoxidación electroquímica sobre una olefina empleando un catalizador Mn-Salen desarrollado por Tanaka y colaboradores [29].

3.4. CATALIZADORES TIPO Mn SALEN

Con el fin de obtener altos porcentajes de conversión y selectividad en las reacciones de epoxidación descritas se buscan catalizadores selectivos, entre los cuales destacan los catalizadores de manganeso, siendo estos los más empleados en procesos de epoxidación de olefinas [35, 37, 40-43]. Dichos catalizadores son sintetizados como complejos tipo Salen (ecuación 3) en los cuales no solo la naturaleza y el estado de oxidación del núcleo metálico (M) determina las propiedades del catalizador, sino principalmente la presencia de ligandos orgánicos que permite una amplia versatilidad en cuanto a selectividad, quimioselectividad e incluso selectividad enantiomérica de la reacción de epoxidación [31-33, 44]. Uno de los complejos Salen más representativos para oxidaciones asimétricas de olefinas es el catalizador de Jacobsen [38, 39, 41], un quelato de Mn (III) con N,N'-bis-3,5-diterbutilsaliciliden-1,2-ciclohexanodiiimina (Figura 2), usado en presencia de diferentes oxidantes y con el cual se han obtenido altos porcentajes de epoxidación y selectividad enantiomérica. En este trabajo se empleará una variación estructural (Figura 3) del catalizador de Jacobsen con el fin de determinar su comportamiento en procesos de epoxidación de olefinas.



Ecuación 3. Síntesis de los complejos metálicos (Mn-Salen) con el ligando salen

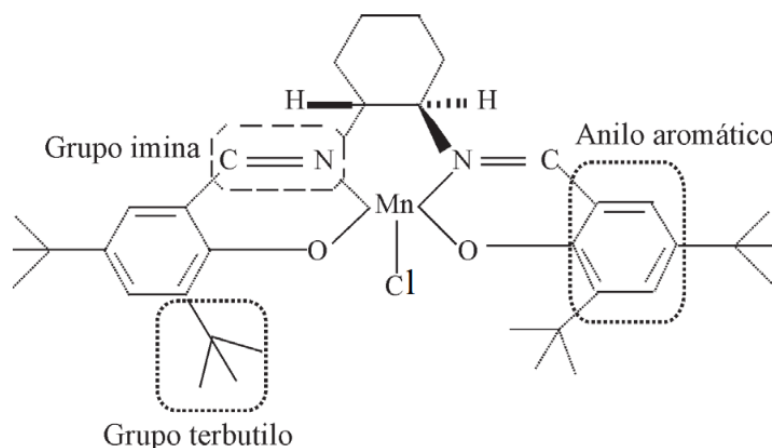
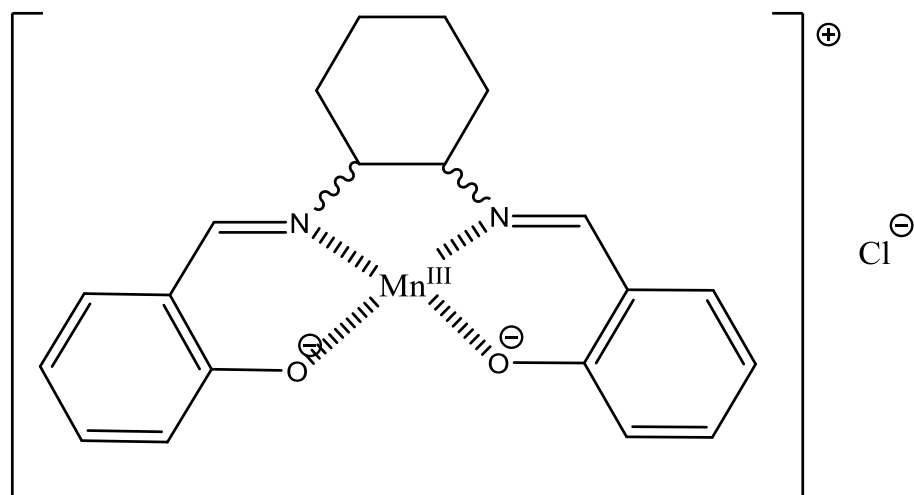


Figura 2. Estructura química del catalizador de Jacobsen



Cloruro de N,N'-bis(saliciliden)-1,2--ciclohexanodiimina manganeso (III)
 $[Mn(SALCN)]Cl$
 P.M.=410.43g/mol

Figura 3. Estructura química del catalizador Mn-Salen utilizado en las reacciones de epoxidación química y electroquímica del citral

De otro lado, teniendo en cuenta que el catalizador se integra al sistema de reacción con el elemento metálico central en un estado de oxidación bajo, es necesaria su activación previa llevando al metal a un estado de oxidación más alto, lo cual se consigue con la adición o generación *in situ* de un agente oxidante. Para esa función, se han empleado y analizado diferentes agentes oxidantes estables y de uso común en la industria química, siendo los más comunes el peróxido de hidrogeno, hipoclorito de sodio y peroxiacidos orgánicos como el dimetildioxirano [23, 28, 30, 37, 45-48]. En este trabajo se empleará el hipoclorito

de sodio como agente oxidante, debido a su bajo costo y posibilidad de generación electroquímica.

3.5. CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía de gases, es un método de separación de mezclas complejas, en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es la fase móvil (gas inerte como N_2 , He, H_2) y la otra es la estacionaria, constituida por un sólido o un líquido soportado sobre las paredes de la columna, la cual se encuentra localizada dentro del horno, donde la temperatura se ajusta según los requerimientos del análisis. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de los analitos en la muestra y del grado de separación requerido. En la entrada, la columna está conectada a un inyector, en donde se introduce una porción de la muestra a analizar. La muestra entra en la columna y los analitos pasan a través de ella a diferentes velocidades, emergiendo a distintos tiempos de acuerdo estrictamente con su temperatura de ebullición. Los analitos que eluyen de la columna pasan a un detector, el cual registra las diferentes sustancias y genera una señal proporcional a su cantidad [49, 50].

La cromatografía de gases separa los compuestos de una mezcla, pero para su identificación se hace necesario implementar otras técnicas espectroscópicas la espectrometría de masas (MS). En la actualidad, el detector espectrométrico de masas (MSD) acoplado al cromatógrafo de gases constituye una herramienta indispensable para determinar la composición de una muestra compleja. En esta unión se obtienen espectros de masas de los compuestos que eluyen de la columna cromatográfica [51].

El acoplamiento de un cromatógrafo de gases a un espectrómetro de masas, permite hacer un estudio rápido y confiable, para el análisis cualitativo y cuantitativo de mezclas complejas. Este sistema de CG-MSD consta de tres bloques: cromatógrafo de gases, espectrómetro de masas y un sistema de datos (Figura 4). El sistema de datos, convierte las señales procedentes del espectrómetro de masas, en cromatogramas y espectros de masas, permitiendo obtener información estructural de los componentes de la esencia, de acuerdo con el patrón de fragmentación del compuesto.

Teniendo en cuenta lo anterior y la importancia de las reacciones en las cuales el citral es el reactivo de partida, se plantea la necesidad de poseer una técnica confiable, precisa y reproducible para la determinación del citral. La determinación cuantitativa de citral se ha realizado mediante diferentes técnicas analíticas entre las que se destacan la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) [3, 11, 14,

52] y cromatografía de gases (CG) [1, 3, 9, 12, 53-55], siendo esta última la más versátil y aplicada debido que permite la separación de los dos isómeros del citral, neral y geranial [56]. 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 repetitividad y la reproducibilidad, así como todos los procesos asociados a la calibración instrumental, linealidad del método junto con toda la incertidumbre analítica relacionada con la determinación. Cada uno de estos parámetros será evaluado para la cromatografía de gases, en pro de la determinación del reactivo de partida, citral.

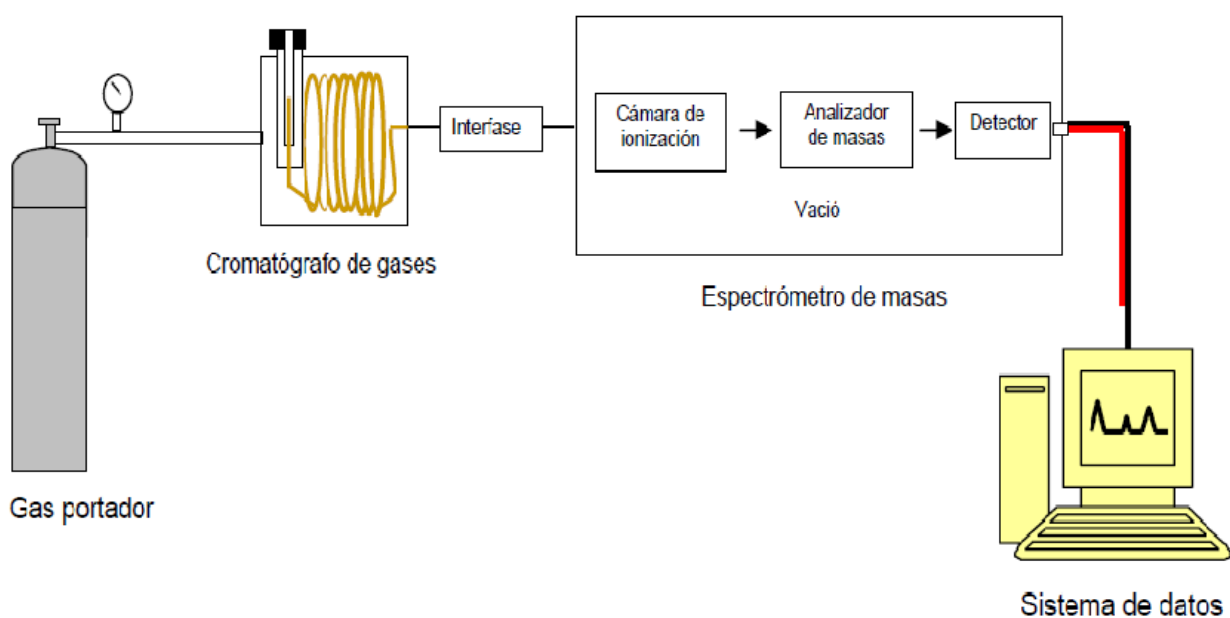


Figura 4. Componentes de un cromatógrafo de gases- espectrómetro de masas (CG-MSD)

3.6. VOLTAMPEROMETRÍA

La voltamperometría comprende un grupo de técnicas electroquímicas que se basan en la respuesta corriente-potencial de un electrodo polarizable en la solución que se analiza. Para asegurar la polarización de este electrodo generalmente sus dimensiones son reducidas, y se denominan microelectrodos. En estas técnicas, se estudian los cambios de corriente, como una función del potencial aplicado a través de la celda electrolítica. Los procesos electroquímicos involucran la electrólisis de una o más especies electroactivas, involucrando en dicho proceso, la reacción de la especie electroactiva en el electrodo y mecanismo de transferencia de masa. Estos últimos pueden ser por migración (movimiento de especies por diferencia de carga), convección (movimiento de la materia por

cambios físicos) y difusión (movimiento de las especies por gradiente de concentración). En la mayoría de los casos, la electrólisis se efectúa bajo condiciones tales, que la difusión sea el proceso fundamental en el transporte de la especie electroactiva; la migración y la convección se minimizan por la adición de un exceso de electrolito soporte y evitando el movimiento de agitación y gradientes de temperatura. [51, 57]. Actualmente se han desarrollado numerosas técnicas voltamperométricas de alta sensibilidad, que tiene cada día mayor campo de aplicación en las diversas áreas de la ciencia y la tecnología [58].

3.6.1. Voltamperometría Cíclica

En la voltamperometría cíclica, la variación de potencial en un electrodo estacionario colocado en una disolución no agitada está provocada por una señal de forma triangular, tal como se muestra en la figura 5. El potencial se varía linealmente desde un potencial inicial (E_0) hasta uno final (E_f), cuando se ha alcanzado este valor el sentido de barrido se invierte y el potencial vuelve a su valor original E_0 , este ciclo de excitación puede ser repetido cuantas veces lo requiera la experiencia. Los potenciales a los que tiene lugar la inversión se llaman potenciales de cambio. El intervalo de potenciales de cambio elegido para un experimento dado, es aquel en el que tiene lugar la oxidación o reducción controlada por difusión de una o más especies [51, 58].

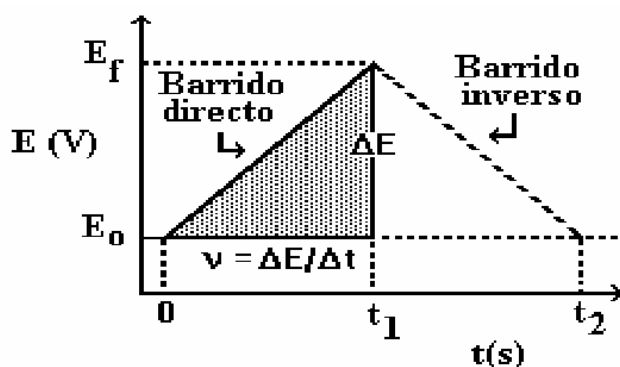


Figura 5. Señal de excitación en Voltamperometría Cíclica (VC)

4. METODOLOGÍA

4.1. REACTIVOS, SOLVENTES, EQUIPO Y MATERIALES

4.1.1. Reactivos y Solventes

- Acetonitrilo grado CLAR (Fisher Scientific).
- Acetato de Etilo grado CG (Fisher Scientific).
- Citral (95%) (Aldrich Chemistry)
- Eugenol (99%) (Fluka Chemika)
- Diclorometano grado CG (J.T. Baker).
- Éter de petróleo (Fischer Scientific).
- Fosfato dibásico de potasio hidratado (99%) (Merck).
- Fosfato monobásico de potasio monohidratado (99%) (Merck).
- Hexano para grado CG (Merck).
- Láminas de Platino
- Nitrógeno grado analítico.
- Platino en hilos (0.3mm) (99.99%) (Merck).
- Perclorato de tetrabutilamonio
- Perclorato de N,N`-bis(saliciliden)-1,2-ciclohexanodiamina manganeso (III)

4.1.2. Equipos Y Materiales

- Balanza analítica, Precisa XT 220^a, (220 g / 0.0001 g) (Unidad de Análisis industriales).
- Cromatógrafo de gases HP6890 (Hewlett-Packard) Series G1530A equipado con un sistema de inyección Split/Splitless.
- Detector de ionización en llama HP (FID)
- Detector de espectrometría de masas HP5973 (MSD)
- Estufa, FISHER SCIENTIFIC (Unidad de Análisis industriales).
- Fuente de poder, GW-Instek (0-250V)
- Plancha de calentamiento con agitación magnética, CORNING
- Polarógrafo, Metrohm 746VA Trace Analyzer con celda de tres electrodos Metrohm 747 VA Stand (Unidad de Análisis industriales).

4.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

Con el fin de poder realizar el seguimiento de la variación de la concentración de las especies de interés, se realizó la estandarización de la determinación y cuantificación de citral por cromatografía de gases. Para ello, el patrón de citral de naturaleza oleosa se disolvió en una mezcla de diclorometano-hexano 1:4 y se realizaron inyecciones de 0.2 μ L empleando una jeringa Hamilton de 5 μ L. Cada inyección de solución patrón de citral se realizó por triplicado, reportando el resultado como el promedio de las tres mediciones. Todos los patrones de calibración fueron preparados justo antes del análisis, mientras que las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante el análisis en viales sellados.

El equipo empleado en el análisis fue un cromatógrafo de gases HP6890 (Hewlett-Packard) Series G1530A equipado con un sistema de inyección Split/Splitless, acoplado a un detector de ionización en llama HP (FID) y un espectrómetro de masas HP5973 (MSD)¹ que cuenta con una fuente de ionización por impacto electrónico y un analizador de cuádrupolo.

Las condiciones del método empleando el detector de ionización en llama (FID) se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones del método para la determinación de citral por cromatografía de gases con detección por ionización en llama (CG-FID).

Condiciones cromatográficas	
Temperatura del inyector	250°C
Modo de inyección	Split (50:1)
Gas portador	He
Flujo	1.0 mL/min
Horno	45°C (6') – 230°C (5') v=5°C/min
Columna	DB-VRX
Temperatura del detector	250°C
Tiempo de corrida	40 – 50 min
Volumen de muestra	0.2 μ L

¹Dadas sus siglas en inglés “Flame Ionization Detector” y “Mass Spectrometric Detector”

Para la determinación de citral con detector FID se empleó una columna DB-VRX de 30m de longitud, 0.25mm de diámetro interno y 1.4 μ m de espesor de la fase estacionaria apolar de composición patentada. Esta es una columna recomendada para la separación de analitos como aldehídos y cetonas de alto o mediano peso molecular.

Establecidas las condiciones iniciales del método se procedió a cambiar el sistema de detección FID por el detector de espectrometría de masa (MSD) con el objetivo de reconocer los compuestos presentes en la muestra, mediante la comparación de los fragmentogramas obtenidos experimentalmente con los almacenados en las bases de datos.

Para el MSD se empleó una columna HP-Innowax de 24m de longitud, 0.25mm de diámetro interno y 1.4 μ m de espesor de fase estacionaria, la cual tiene una mayor polaridad y estabilidad térmica que la empleada con el detector FID. Lo anterior debido a que en la interfase CG-MSD, la columna se debe someter a una mayor temperatura (250°C).

La optimización del tiempo de análisis, se llevó a cabo mediante la variación de la rampa de calentamiento del sistema, hasta la obtención de una adecuada resolución de las señales o picos cromatográficos en el menor tiempo de corrida posible.

Para la cuantificación de citral se empleó eugenol (4-Alil-2-metoxifenol) como patrón interno, debido a la similitud estructural de ese compuesto con los isómeros del analito. Para ello, se adicionó un volumen fijo del patrón interno a las disoluciones de citral de concentración conocida, estableciéndose una relación de concentraciones entre citral y eugenol que sirvió para construir la curva de calibración graficando la relación de concentraciones contra la relación de áreas de los mismos compuestos obtenidas por integración de los picos cromatográficos correspondientes. De esta forma, se estableció el método analítico estándar para la determinación de citral empleando CG-MSD; las condiciones finales del mismo se muestran en la tabla 2.

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

Condiciones cromatografías	
Temperatura del inyector	250°C
Modo de inyección	Split (50:1)
Gas portador	He
Flujo	1.0 mL/min
Horno	120°C (1') – 180°C (0') v =5°C/min
Columna	HP-Innowax
Interfaz auxiliar	250°C
Temperatura del cuádrupolo	150°C
Temperatura de la fuente	230°C
Retraso solvente	3.5'

Durante la estandarización del proceso de cuantificación del citral, se determinaron experimentalmente, por medio de la construcción de curvas de calibración, los parámetros analíticos requeridos como la linealidad del método y el intervalo lineal. La determinación del límite de detección (LD) se llevó a cabo por medio de análisis en orden decreciente de la concentración molar de citral, en busca de la concentración experimental a la cual la señal de los isómeros (neral y geranial) fue indistinguible del ruido, mientras que la determinación del límite de cuantificación (LC) se llevó a cabo mediante la determinación de la concentración molar a la cual el sistema de análisis de datos del GC-MSD puede integrar el área bajo los picos obtenidos para los isómeros.

El análisis de la repetibilidad se llevó a cabo mediante la cuantificación a diferentes horas en un mismo día, realizando siete (7) determinaciones de soluciones de una misma concentración de citral (patrón $4.0 \times 10^{-2} M$). Mientras que la reproducibilidad del método se evaluó, analizando soluciones del patrón a lo largo de un periodo de tiempo más prolongado, siete (7) días. La preparación de las soluciones patrón se llevó a cabo siguiendo la misma metodología para cada una de ellas: Se adicionaron inicialmente 2mL de diclorometano (CH_2Cl_2) y 10 μ L de eugenol en un matraz aforado de 10mL, se depositan posteriormente 72 μ L de citral (95%), la solución fue agitada mecánicamente para favorecer la disolución de los aceites, posteriormente se aforó con hexano y se agitó nuevamente homogenizando así la solución.

4.3. SÍNTESIS DEL CATALIZADOR Mn-SALEN

4.3.1. Síntesis del ligando Salen

En un balón de fondo plano se pesaron 1.10g de mono-(+)-tartrato de trans-1,2-Ciclohexdiamina y 1.16g de Carbonato de Potasio (K_2CO_3); luego se adicionaron 6mL de agua destilada y la mezcla fue sometida a agitación magnética por aproximadamente 10 minutos hasta disolución completa de todos los componentes. Se procedió a adicionar entonces 22mL de etanol y la mezcla se sometió a calentamiento.

Simultáneamente se disolvieron 884 μ L de salicilaldéhidó en 10mL de etanol, obteniendo una concentración aproximada de 0.2M. De esta solución de salicilaldéhidó se adicionaron a la mezcla en reflujo 8mL por goteo empleando un embudo de adición; el cual fue lavado, así como las paredes del condensador, con 2mL más de etanol.

La mezcla de reacción se sometió a reflujo por una hora con agitación magnética constante, al cabo de lo cual se dejó enfriar por aproximadamente 5min y se adicionaron 6mL de agua destilada. La mezcla se introdujo en un baño de hielo por 30min, en esta etapa se observó la formación de una turbiedad en la solución. Por último se adicionan otros 6mL más de agua y la mezcla de reacción se sometió a refrigeración por 24h a 5°C, observándose la formación de un sólido blanco precipitado.

4.3.2. Electrosíntesis complejo Mn-Salen

Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, en un sistema abierto a corriente continua aplicada por 2h, en una celda que consistió en un vaso de precipitados, con un ánodo de sacrificio de manganeso y un hilo de platino como cátodo. El ligando Salen y el cloruro de litio se disolvieron en acetonitrilo con perclorato de tetrabutilamonio como electrolito soporte. El sólido formado se recuperó por filtración y se secó a 70°C por 12 h.

4.3.3. Caracterización de los complejos obtenidos

Sus propiedades físicas se establecieron por medio del punto de fusión, solubilidad y conductividad. Las características estructurales se determinaron utilizando diferentes técnicas como son: polarimetría, UV-Vis, espectroscopía IR, voltamperometría cíclica y análisis elemental, la cantidad de cloro se determinó

por titulaciones potenciométricas con nitrato de plata y la carga de manganeso por espectroscopía de absorción atómica.

4.4. EPOXIDACIÓN QUÍMICA

El proceso de epoxidación de citral, se llevó a cabo empleando un sistema bifásico en el cual el agente oxidante, ión hipoclorito (OCl^-), disuelto en la fase acuosa se hizo reaccionar con sustrato (citral) y catalizador Mn-Salen disueltos en diclorometano (fase orgánica).

4.4.1. Preparación de soluciones

Fase acuosa (Oxidante) [29]

Se disolvieron 283mL de hipoclorito de sodio al 5% en un litro (1L) de buffer de fosfato 0.05M obteniendo una solución 0.2M de OCl^- tamponada a pH 11. La concentración de OCl^- fue confirmada por valoración con tiosulfato de sodio. Esta solución fue almacenada y se emplearon alícuotas para las reacciones de epoxidación.

Fase orgánica (Sustrato y Catalizador) [59]

Se aforaron 0.344mL de citral a 10mL con diclorometano. Posteriormente fue adicionado el catalizador sólido, las cantidades del mismo fueron variadas entre 0.01mmoles (1%mol) y 0.09mmoles (9%mol). La mezcla se agitó magnéticamente hasta su disolución completa obteniendo una concentración de citral (sustrato) de 0.2M. Esta solución fue preparada en el momento mismo de proceder con la reacción para evitar pérdidas por volatilidad del solvente.

4.4.2. Reacción de epoxidación química

En un erlenmeyer se depositaron 5mL de la fase orgánica y 15mL de la fase acuosa. El sistema bifásico fue sometido a agitación magnética moderada, el tiempo de la reacción se fijó en 4, 8 y 16 h, con el fin de determinar el tiempo al cual se presenta el mayor porcentaje de conversión química del citral ($\%CQ_{\text{citral}}$). Finalizado el tiempo de reacción establecido se detuvo la agitación magnética y se adicionaron 10mL de hexano a la mezcla de reacción. Las fases observadas fueron separadas por decantación. La fase acuosa se lavó con hexano (2x10mL). La fase orgánica obtenida se dejó decantar por 10 minutos y posteriormente se centrifugó durante 15 minutos separando el catalizador, insoluble en hexano.

Finalmente el sobrenadante se aforó a 50mL con hexano y fue analizada por CG-MSD siguiendo la metodología previamente estandarizada.

El blanco de la reacción se llevó a cabo siguiendo el mismo tratamiento anteriormente descrito pero sin la adición del catalizador Mn-Salen.

4.4.3. Valoración del OCl^- consumido en la reacción química

Con el fin de determinar el consumo de OCl^- durante la reacción de epoxidación química, se tomaron alícuotas de 100uL de la fase acuosa (solución de OCl^-) y se valoraron con tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) estandarizado. Esto se llevó a cabo tanto para el blanco de reacción compuesto por la fase oxidante y diclorometano, como para los sistemas de reacción con catalizador.

4.5. EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA

El proceso electroquímico se desarrolló empleando un medio bifásico, el cual se conformó por una fase orgánica que contiene al sustrato (citral) y el catalizador (*trans*-Mn Salen racémico) y una fase acuosa conformada por una solución de cloruro de sodio 1M tamponada a pH 11 con buffer de fosfato. Empleando dos láminas de platino como electrodos, se aplicó una densidad de corriente de $20\text{mA}/\text{cm}^2$ sobre la solución de la fase acuosa. De esta forma se realizó la oxidación del ión cloruro a ión hipoclorito, controlando así la concentración del agente oxidante.

Se determinó el tiempo de reacción óptimo evaluado en 4, 8 y 16h. El porcentaje mol de catalizador se estableció igual que en las reacciones de síntesis química (5%mol). El proceso galvanostático fue monitoreado por valoración del OCl^- generado con tiosulfato de sodio.

La celda se construyó de manera homóloga al montaje realizado para la reacción química: se tomaron 5mL de fase orgánica (citral 0.2M y catalizador) y 15mL de la fase acuosa (NaCl 1M). En la fase acuosa se sumergieron las láminas de platino conectadas a un sistema de control de corriente (fuente galvanostática) por medio de filamentos de platino. El sistema bifásico fue sometido a agitación magnética moderada y posteriormente fue iniciada la reacción con el paso de 20mA regulados por la fuente. Una vez transcurrido el tiempo de reacción establecido, se interrumpió la corriente proporcionada al medio y se retiraron las láminas de Pt.

Posteriormente se realizó el mismo proceso de purificación del medio de reacción que se había seguido en el proceso de reacción química. Se adicionaron 10mL de

hexano, y se realizó el posterior lavado de la fase acuosa con hexano (2x10mL). La fase orgánica fue centrifugada para separar el catalizador, el sobrenadante fue aforado a 50mL con hexano y analizado por CG-MSD.

Los blancos de reacción consistieron en el mismo sistema bifásico evaluado en ausencia de catalizador.

4.6. PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN

Los productos obtenidos en las reacciones de epoxidación química y electroquímica fueron almacenados y reunidos en una sola fracción para su posterior purificación, la cual se llevó a cabo por medio de cromatografía en columna empleando sílica (LC-Si Supelco®) de 40µm de diámetro como fase estacionaria y una mezcla de acetato de etilo – éter de petróleo 1:1 como solvente de elusión. Las fracciones obtenidas fueron analizadas por CG-MSD y caracterizadas por sus respectivos fragmentogramas. Las columnas cromatográficas preparadas presentaron las siguientes dimensiones, 30cm de largo y 0.5 cm de diámetro.

4.7. DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN

La determinación del comportamiento electroquímico de los productos de reacción fue llevada a cabo en una celda electroquímica de tres electrodos. Se utilizaron microelectrodos de oro (Au) y carbón vítreo (C_{vitreo}) como electrodos de trabajo, un electrodo de plata-cloruro de plata (Ag/AgCl) como electrodo de referencia y un electrodo de platino (Pt) como contraelectrodo o electrodo auxiliar. El volumen de la celda fue de 5.0 mL y consistió básicamente en 3.0 mL de una solución electrolítica de perclorato de tetrabutilamonio (TBAP) 0.1M en acetonitrilo (ACN), sometida a agitación magnética y corriente de nitrógeno constante, sobre la cual se adicionaron cantidades crecientes en microlitros (µL) de la fracción obtenida por cromatografía en columna que contenía los epóxidos de interés.

Los análisis se realizaron mediante la técnica de voltamperometría cíclica (VC) entre los 500mV y -500mV, a una velocidad de barrido de 100mV/s. Adicionalmente, se realizaron mediciones mediante voltamperometría de onda cuadrada (SW) aplicando barridos de potencial en los sentidos de la oxidación y reducción que abarcaron un intervalo entre los 450mV y -1500mV.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se discutirán los resultados obtenidos para el proceso experimental planteado. Para ello se partirá de la estandarización de la metodología analítica para la determinación de citral (3,7-dimetil-2,6-Octadienal) por cromatografía de gases. Posteriormente se discutirá el uso de la técnica CG en el seguimiento del citral en las reacciones de epoxidación tanto por la ruta de la síntesis química tradicional como por la ruta electrosintética ambas síntesis catalizadas por un compuesto organometálico de Mn-Salen.

5.1. ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

El detector de ionización de llama se empleó en primera medida para evaluar el comportamiento cromatográfico del citral y determinar principalmente la viabilidad de la cromatografía gaseosa en la resolución de los isómeros geométricos del citral (neral y geranial), así como determinar el tiempo de retención del citral en el sistema cromatográfico y las temperaturas iniciales a partir de las cuales optimizar la rampa de calentamiento para su determinación.

La inyección de soluciones de citral de concentración 30mM permitió establecer la separación de tres componentes en el sistema (figura 6), el solvente y los dos picos asociados al citral.

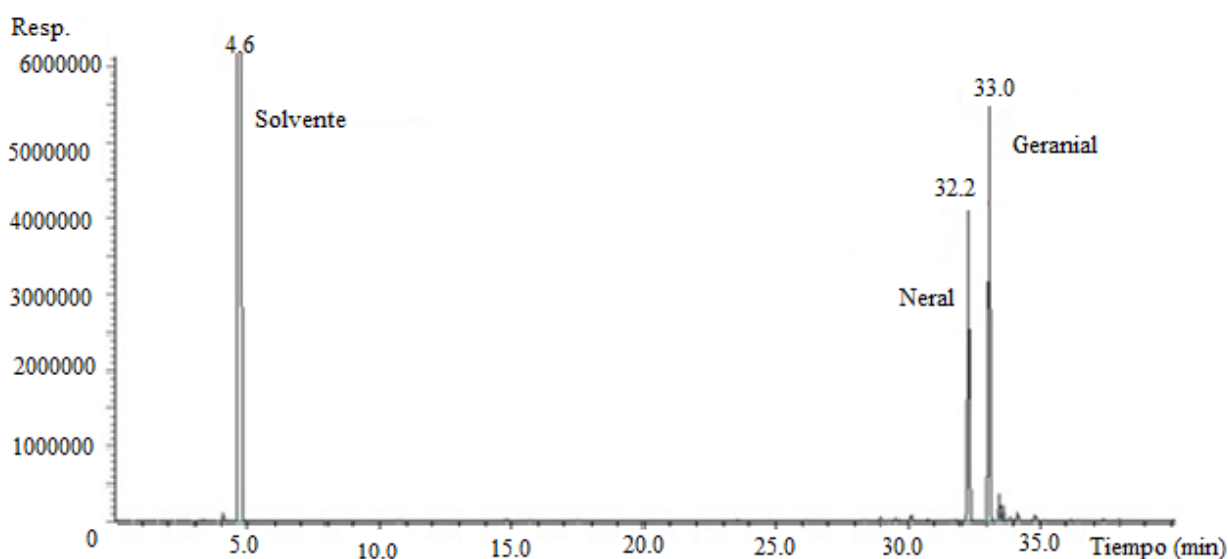


Figura 6. Cromatograma de una solución 30mM de citral empleando el método inicial de cromatografía de gases acoplada con detección de ionización en llama (CG-FID).

La identificación satisfactoria de los picos de los isómeros neral, isómero *cis*, y geranial, isómero *trans* se realizó empleando el sistema de detección de espectrometría de masas y comparando los fragmentogramas obtenidos para cada uno de los componentes de la solución patrón de citral y los fragmentogramas contenidos en la base de datos del equipo. En las figuras 7b y 7c se muestran respectivamente los fragmentogramas obtenidos para el neral y el geranial. Los espectros de masas presentan un amplio número de iones debido a que la fuente de ionización empleada es una fuente dura, es decir fragmenta la molécula en una gran cantidad de porciones debido a la fuerza de aceleración de los electrones que inciden sobre las moléculas de analito.

Para la separación de los isómeros de citral se estudiaron dos tipos de fase estacionarias, apolar y polar, para ello se emplearon las columnas cromatográficas, DB-VRX y HP-Innowax respectivamente. La fase estacionaria de la primera columna es patentada de carácter apolar mientras que la segunda presenta una fase estacionaria de polietilenglicol con carácter polar. La resolución de las señales cromatográficas fue similar con las dos columnas; sin embargo, con la columna DV-VRX los tiempos de retención de los isómeros superaron los 30min, mientras que con la columna HP-Innowax se obtuvieron tiempos de retención entre 4 y 6 minutos, un tiempo total de corrida de 15 minutos y una resolución entre los isómeros de 5.54. Por esta razón se estableció la columna HP-Innowax como la columna a emplear en los análisis subsiguientes.

Una vez establecidas las condiciones cromatográficas para la determinación de citral, se procedió a estandarizar el método de cuantificación para lo cual se empleó un patrón interno con el fin de minimizar la variabilidad del método debido a la dispersión de las áreas de neral y geranial, respecto a las inyecciones realizadas. Se eligió un alilbenceno, el eugenol, (Figura 8), el cual es un líquido oleoso de color amarillo pálido extraído de ciertos aceites esenciales, especialmente del clavo de olor, la nuez moscada y la canela.

El factor de respuesta (f_R) para el citral y el eugenol calculado por medio de la ecuación 4, y se reporta como el promedio de todas las determinaciones realizadas. Siendo de 1.019 ± 0.048 .

$$\frac{A_{\text{citral}}}{A_{\text{eugenol}}} = f_R \frac{[\text{Citral}]}{[\text{Eugenol}]}$$

Ecuación 4. Fórmula para calcular el factor de respuesta del sustrato (citral) y el patrón interno (eugenol).

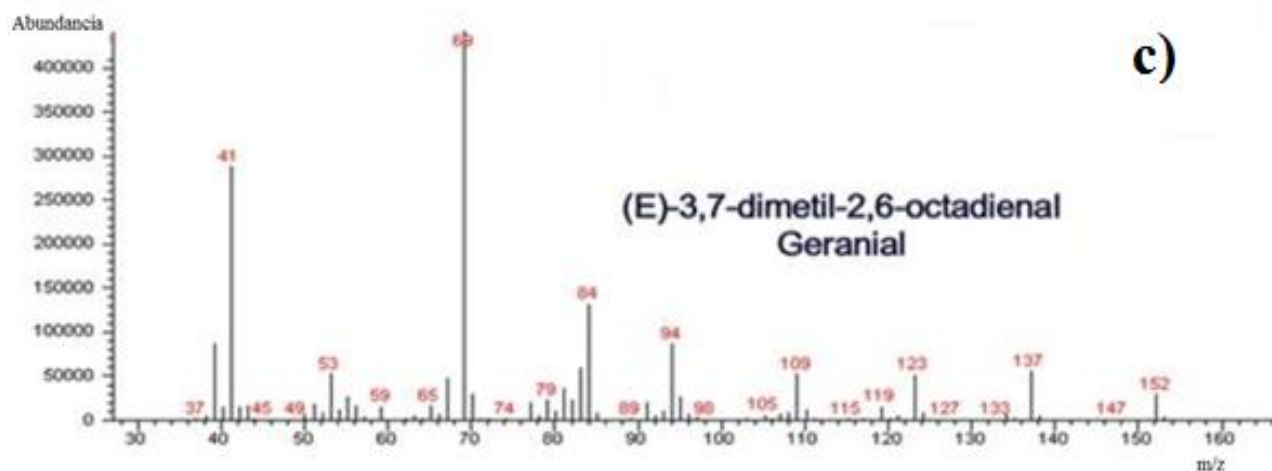
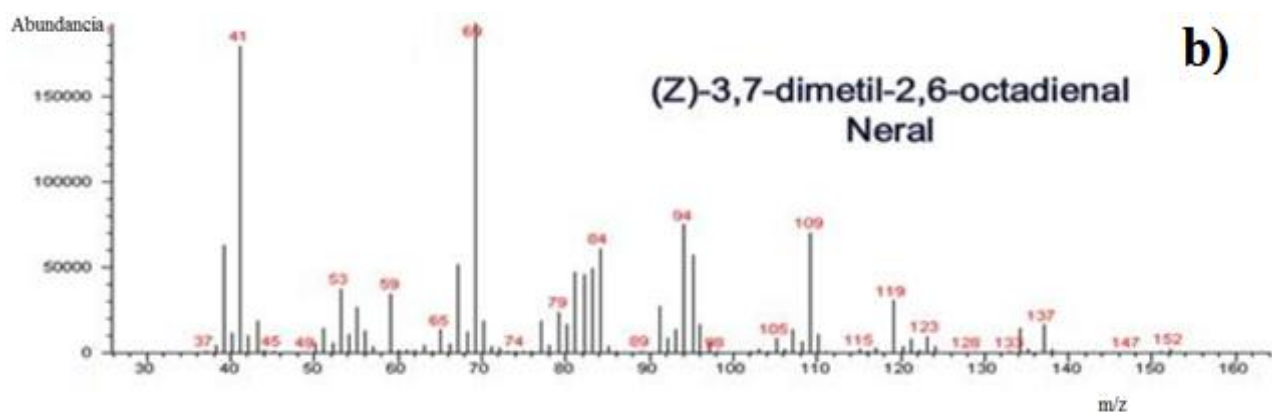
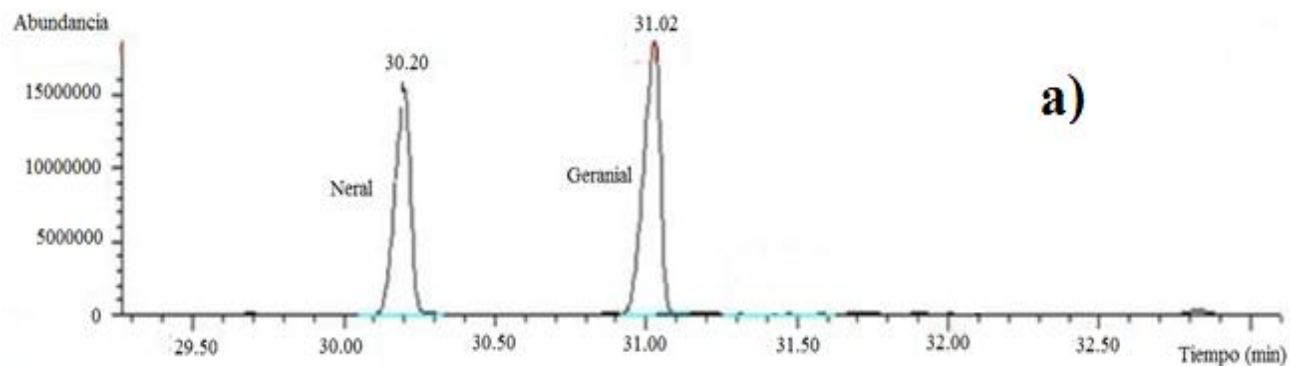


Figura 7. **a)** Cromatograma obtenido para una solución 30mM de citral empleando la técnica de cromatografía de gases acoplada a detección de espectrometría de masas (CG-MSD) **b)** Fragmentograma del neral (cis-citral) **c)** Fragmentograma del geranial (trans-citral).

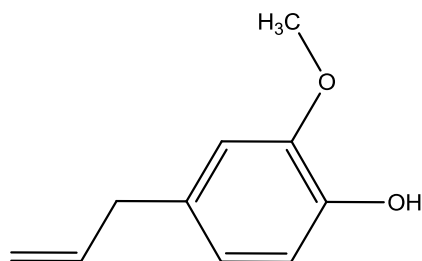


Figura 8. Estructura de eugenol (4-Alil-2-metoxifenol), empleado como patrón interno en las determinaciones del citral.

La curva de calibración (relación de áreas vs relación de concentraciones entre citral y eugenol) obtenida mostró un intervalo lineal entre $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ y $8.5 \times 10^{-2} \text{ M}^2$ y un factor de regresión de 0.99457 (Figura 9). Para efectos prácticos, el área del citral se determinó como la sumatoria de las áreas de neral y geranial, siguiendo la metodología recomendada para su cuantificación [1].

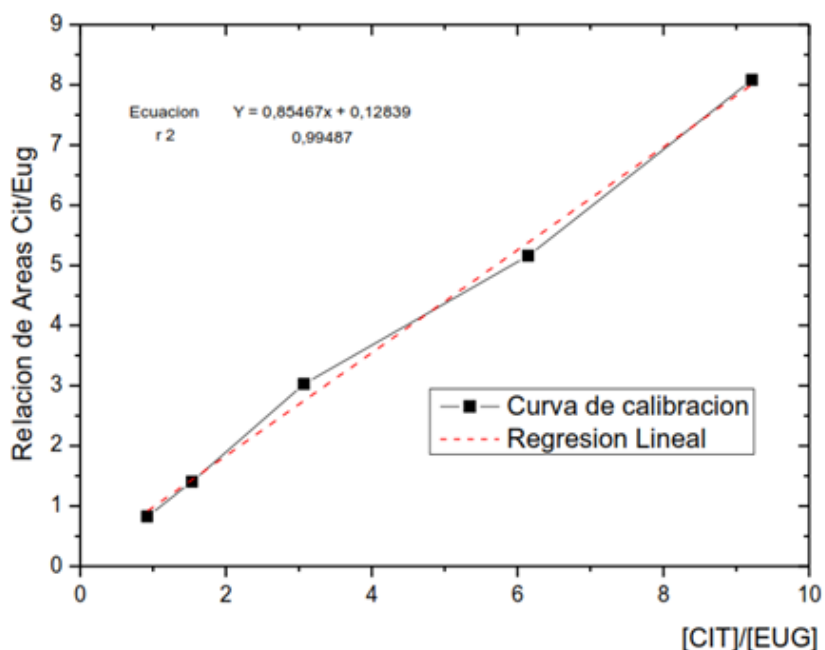


Figura 9. La curva de calibración de citral empleando patrón interno (relación de áreas vs relación de concentraciones entre citral y eugenol).

El límite de detección de la técnica (**LD**) se determinó en una concentración de $1.25 \times 10^{-5} \text{ M}$ de citral. Mientras que el límite de cuantificación (**LC**) se determinó en $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$. El límite de linealidad (**LL**) del método se determinó mediante el incremento progresivo de las concentraciones trabajadas dentro de las determinaciones de citral, hasta la concentración a la cual se pierde la linealidad

²Concentración de citral

de la curva de calibración, la cual se muestra en la figura 10. Las áreas obtenidas para el citral presentaron una gran dispersión y pérdida de la linealidad para una concentración de $9.5 \times 10^{-2} \text{M}$, estableciendo así la concentración inmediatamente anterior ($8.5 \times 10^{-2} \text{M}$) como el límite superior de cuantificación o límite de linealidad. Mediante análisis estadístico se determinó que las varianzas, y por consiguiente los promedios de áreas, para el citral obtenidas para las dos últimas concentraciones son significativamente comparables.

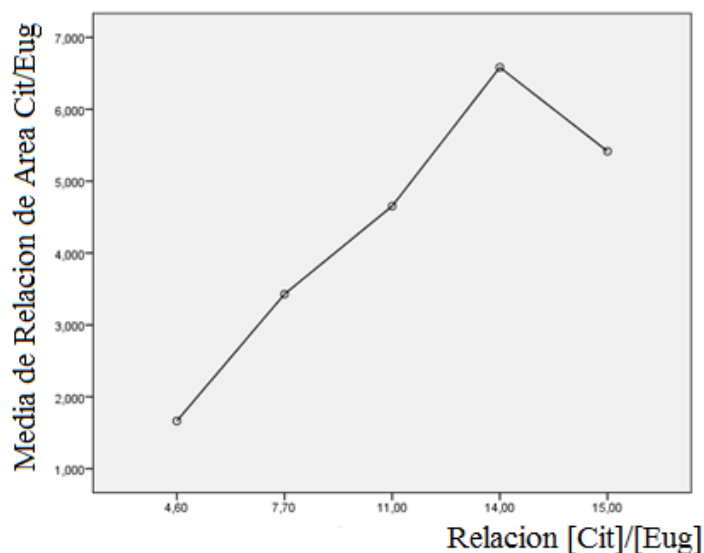


Figura 10. Curva de calibración empleada para determinar el límite de linealidad (LL) para la técnica de CG-MSD.

En la tabla 3 se resumen los valores de los parámetros analíticos de calidad para el método de cuantificación de citral.

Tabla 3. Parámetros analíticos estandarizados para la determinación de citral por el método de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (CG-MSD).

LD	$1.0 \times 10^{-5} \text{Mol/L}$
LC	$1.5 \times 10^{-5} \text{Mol/L}$
LL	$8.5 \times 10^{-2} \text{Mol/L}$
Intervalo Lineal	$1.0 \times 10^{-5} \text{M} - 8.5 \times 10^{-2} \text{M}$

Por último, se determinó la **repetibilidad y la reproducibilidad** del método empleando una concentración de 0.0065M de patrón interno para las diferentes concentraciones de citral de la curva de calibración. El coeficiente de variación para los seis análisis realizados en un mismo día fue de 2.2, lo cual confirma una

buena repetibilidad del método. El coeficiente de variación para los análisis realizados durante seis días diferentes fue de 1.2, lo cual confirma una excelente reproducibilidad del método aplicado. La curva de calibración empleada tanto para repetibilidad como para la reproducibilidad se muestra en la figura 11.

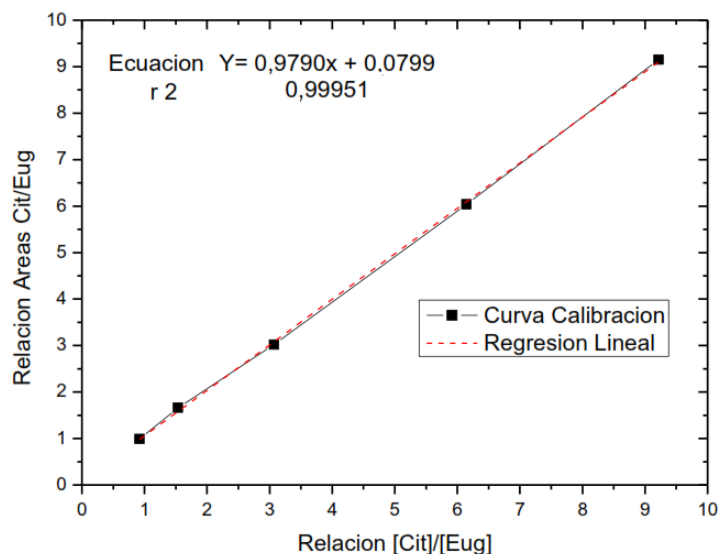


Figura 11. Curva de calibración de citral empleada para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del método CG-MSD.

5.2. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN QUÍMICA

5.2.1. Optimización del proceso de epoxidación química

La solución de OCI^- fue valorada con una solución 0.0097M de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), determinándose una concentración experimental de 0.198M de OCI^- . Esta solución fue empleada como fase oxidante en las reacciones de epoxidación química, siguiendo el mecanismo de epoxidación comúnmente descrito [6, 28].

Con el fin de evaluar las condiciones para la reacción se determinaron como variables el tiempo de la reacción y la concentración del catalizador Mn-Salen. Mientras las concentraciones de agente oxidante y la de sustrato se mantuvieron constantes y equimolares, con el fin de garantizar estequiometricamente la oxidación de una de las insaturaciones del citral, ya sea en posición $\text{C}_2\text{-C}_3$ o en $\text{C}_6\text{-C}_7$.

La curva de calibración elaborada para el análisis se llevó a cabo siguiendo la metodología previamente estandarizada y teniendo en cuenta el factor de dilución

del citral en las soluciones de reacción. La concentración inicial de citral en el crudo de reacción fue 0.2M y posterior al proceso de purificación presentó una concentración final de 0.04M, por tanto la curva de calibración abarcó concentraciones desde 0.006M hasta 0.06M, manteniendo la concentración de patrón interno constante (0.0065M). La curva de calibración empleada en la cuantificación de citral durante las reacciones de síntesis química se muestra en la figura 12.

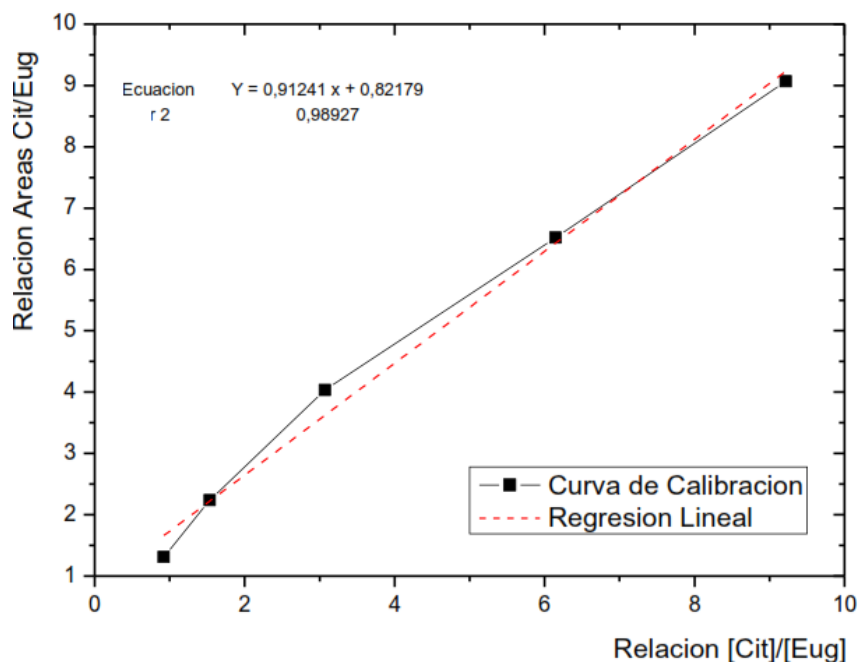


Figura 12. Curva de calibración de citral empleada en la cuantificación del porcentaje de conversión de citral en las reacciones de epoxidación química ($\%CQ_{\text{citral}}$).

5.2.1.1. Optimización del porcentaje molar del catalizador (%mol)

Para la determinación del porcentaje molar (%mol) de catalizador se realizaron ensayos variando su concentración en un intervalo comprendido entre 1% y 15% y manteniendo constantes las concentraciones de los demás constituyentes de la solución.

En la figura 13 se muestran los resultados obtenidos para la determinación del contenido óptimo de catalizador y las cantidades empleado en miligramos. El volumen de reacción de la fase orgánica fue 10mL y se empleó una milimol de citral equivalente a 0.172mL. En esta etapa se fijó el tiempo de reacción en 4 horas, igual al reportado por Tanaka y colaboradores [29]. El porcentaje de conversión químico del citral ($\%CQ_{\text{citral}}$) se calculó respecto a la concentración

inicial de citral, para lo cual se preparó una solución que consistió de 10mL de solución de citral 0.2M aforado a 50mL con hexano y se analizó inmediatamente por CG-MSD.

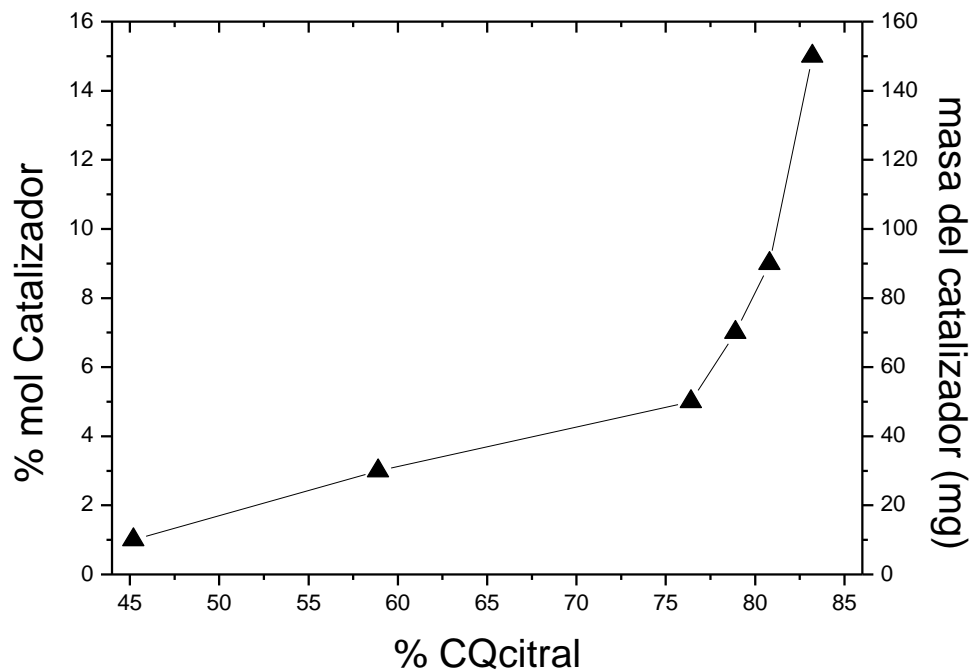


Figura 13. Porcentaje de conversión química del Citral (%CQ_{citral}) Vs mol Catalizador empleadas en la reacción de epoxidación y la masas en mg del mismo.

En la figura 16 se observa que la conversión de citral presenta un incremento moderado respecto a concentraciones de catalizador superiores al 5%mol, tendiendo a ser un valor constante por encima de 15%mol; sin embargo, esos valores elevados ya no corresponderían a cantidades catalíticas. A porcentajes entre 3 y 5%mol se observó un aumento significativo en el porcentaje de remoción de citral, razón por la cual la cantidad óptima de catalizador se fijó en 5%mol.

5.2.1.2. Optimización del tiempo de reacción química

El tiempo de reacción al cual se generó el máximo porcentaje de conversión de citral se determinó empleando el 5%mol de catalizador. Los resultados se muestran en la tabla 4. Como era de esperarse, a mayor tiempo de reacción, mayor es el porcentaje de conversión de citral; sin embargo, dado que la disminución de la concentración de sustrato entre las 8 y las 16 horas de reacción es mínima, el tiempo de reacción más adecuado para el proceso de epoxidación fue establecido en 8 horas.

Tabla 4. Determinación del tiempo óptimo en reacción de epoxidación química del citral en función del porcentaje de conversión del citral (%CQ_{citral})

Tiempo de reacción (h)	%CQ _{citral}
4	36.2
8	64.5
16	65.1

5.2.2. Resultados de la reacción de epoxidación química.

Una vez determinadas las condiciones de %mol de catalizador y tiempo de reacción adecuadas para el proceso de epoxidación del citral (5%mol y 8h respectivamente), se llevó a cabo la determinación por triplicado del %CQ_{citral} neto.

Para ello se determinó de manera inicial la concentración de citral en el crudo de reacción a tiempo cero (Reacción a 0h), el cual hace referencia a la concentración inicial de citral presente en la fase orgánica en el momento en el que esta entra en contacto con fase oxidante (t=0h). La diferencia entre la concentración de citral en la solución de partida (0.20 M) y la concentración de citral en la solución de partida inmediatamente después de entrar en contacto con la fase acuosa que contenía el agente oxidante, corresponde a la concentración de citral que reacciona por acción directa del ión OCl⁻, así como a las pérdidas por volatilización u otros factores experimentales en el procesos de disolución del catalizador y es expresada como el porcentaje parcial de conversión de citral (%CPQ_{citral}). El porcentaje de conversión de citral después de 8 horas de reacción (%CQ_{citral}) menos el valor de %CPQ_{citral} determina el porcentaje de conversión neto de citral (%CQ_{citral} neto), el cual corresponde al porcentaje de citral epoxidado por reacción en el sistema catalítico (tabla 5).

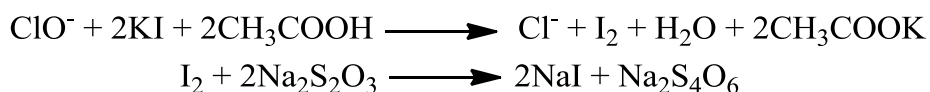
Tabla 5. Resultados para la determinación del porcentaje de conversión químico del citral (%CQ_{citral} Neto) en la reacción de epoxidación química de citral.

Muestra	Porcentaje parcial de conversión de citral (%CPQ _{citral})	Porcentaje de conversión químico de citral (%CQ _{citral} Neto)
Blanco a 8H	14.2 ± 5.1	67.7 ± 7.4
Reacción a 8H	81.9 ± 9.6	

La considerable dispersión en los resultados de %CQ_{citral Neto} representada en un 10.98% en el coeficiente de variación fue atribuida principalmente a la dificultad en el control de los procesos de migración de las especies químicas reactivas a la interfaz del sistema bifásico, procesos asociados en gran medida a la agitación de los sets de reacción.

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

El consumo del OCl⁻ durante la reacción fue monitoreado por valoración con solución estandarizada de Na₂S₂O₃, siguiendo la reacción mostrada en la ecuación 5, los resultados muestran la desaparición gradual del ión hipoclorito, observándose una tendencia marcada por un rápido consumo del mismo reactivo en las primeras 4 horas de reacción, seguido de un decaimiento lento hasta su consumo total en aproximadamente 22 horas de reacción (Figura 14). El proceso de la reacción no pudo ser monitoreado respecto a la regioselectividad ni a la quimioselectividad del catalizador; sin embargo, la mayor densidad electrónica sobre la instauración de las posiciones C₆-C₇ de la molécula de citral (Ver Figura 1) la hace más propensa a sufrir reacciones de epoxidación por agentes oxidantes fuertes [32, 33, 37], lo cual permite predecir una mayor probabilidad de que la epoxidación se realice sobre ese doble enlace.



Ecuación 5. Reacción de valoración del ión hipoclorito empleando tiosulfato por el método del yodato.

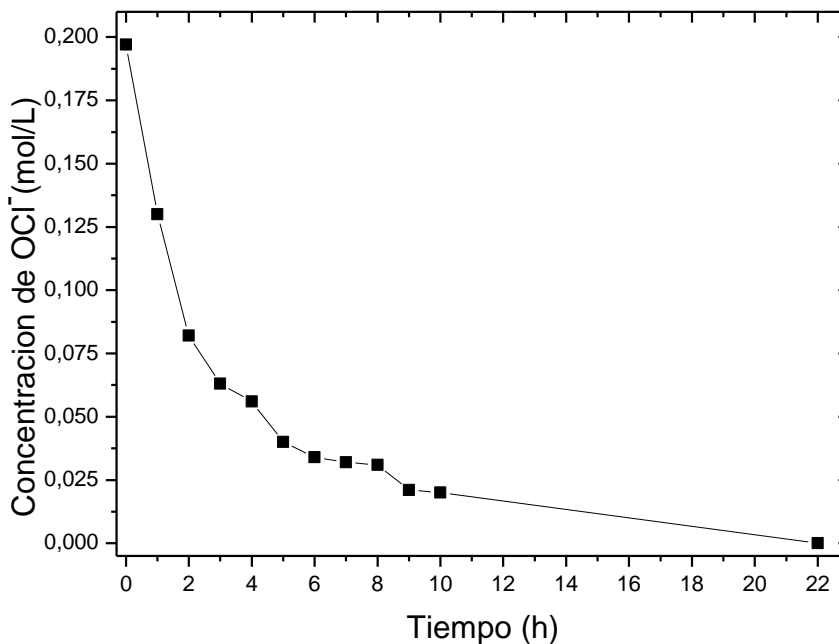


Figura 14. Concentración de ión hipoclorito (OCl^-) Vs Tiempo de reacción transcurrido en la reacción de epoxidación química del citral.

5.3. REACCIÓN DE EPOXIDACIÓN ELECTROQUÍMICA

5.3.1. Producción de OCl^- electroquímicamente.

El proceso electroquímico de generación de hipoclorito a partir de cloruro fue monitoreado mediante la titulación volumétrica de OCl^- con solución de tiosulfato de sodio 0.0239F. Inicialmente, se valoró el hipoclorito generado en una celda sin la presencia de catalizador y sin sustrato (citral). Los resultados obtenidos de esta valoración confirma la generación del ión OCl^- en la celda electroquímica, apreciándose además el aumento de su concentración en función del tiempo (figura 15) y consecuentemente de la carga suministrada. La valoración del ión OCl^- electrogenerado en el sistema que contenía citral pero no catalizador en la fase orgánica, mostró solo indicios de la presencia de hipoclorito, lo cual sugiere que este ión es consumido rápidamente en reacción con el citral; lo anterior indica que el sustrato puede ser oxidado directamente por el agente oxidante sin la mediación del catalizador. De otro lado, la titulación de hipoclorito en una solución que contenía catalizador pero no citral en la fase orgánica, evidenció el consumo total e inmediato del ión generado en la celda electroquímica.

Por lo anterior, se puede indicar que el oxidante actúa fuertemente sobre el catalizador, posiblemente aumentando el estado de oxidación del ión metálico central, aunque no se descartan otras reacciones sobre la estructura del mismo catalizador. Finalmente, al valorar el ión hipoclorito generado en una celda que contenía tanto citral como catalizador en la fase orgánica, se apreció igualmente la desaparición inmediata del agente oxidante, confirmando que el hipoclorito reacciona rápidamente con el catalizador y con el sustrato. La figura 15 muestra las curvas de valoración para cada una de las celdas antes descritas.

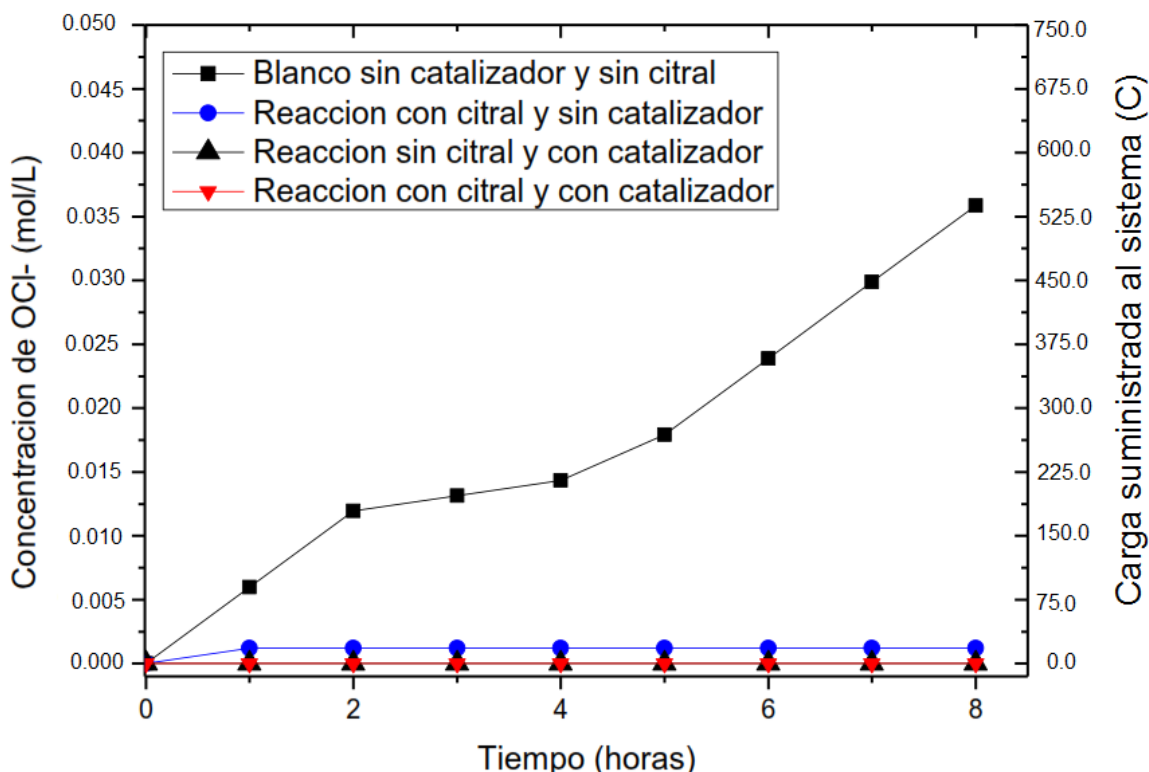


Figura 15. Valoración del ión hipoclorito (OCl⁻) generado electroquímicamente durante el proceso de epoxidación electroquímica a una densidad de corriente 20mA/cm², estudiado en presencia y ausencia de cada uno de los componentes.

5.3.2. Reacción de epoxidación electroquímica

La cuantificación del %CE_{citral} en las reacciones de epoxidación electroquímica se llevó a cabo empleando la curva de calibración (Figura 16) elaborada siguiendo la metodología estandarizada para CG-MSD, abarcando concentraciones desde 0.006M hasta 0.06M, manteniendo la concentración de patrón interno constante (0.0065M) y replicando la elaborada para la cuantificación de citral en las reacciones de epoxidación química.

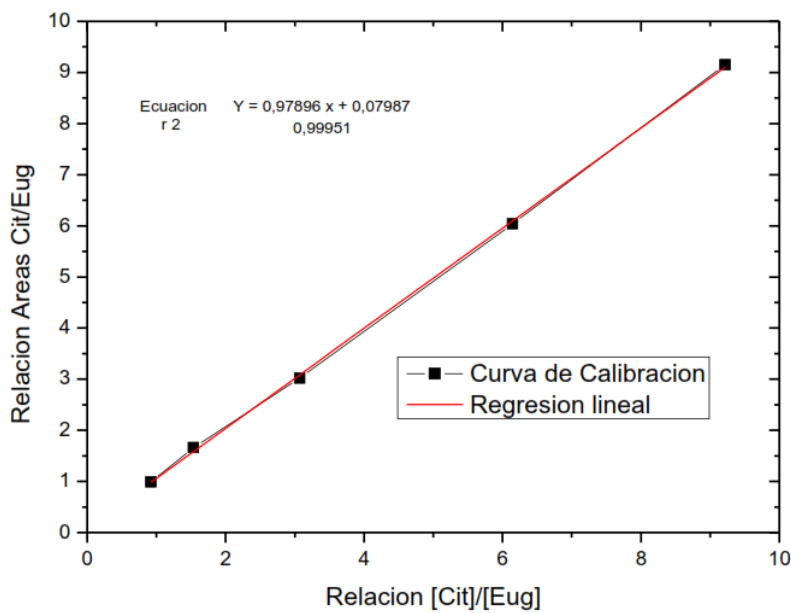


Figura 16. Curva de calibración de citral empleada en la cuantificación del porcentaje de conversión de citral en las reacciones de epoxidación electroquímica (% CE_{citral}).

En el proceso de epoxidación electroquímica solamente se optimizó el tiempo de reacción, manteniendo la concentración del catalizador constante (5%mol) determinada como la concentración óptima para las reacciones químicas.

5.3.2.1. Optimización del tiempo de reacción electroquímica

Los procesos de epoxidación electroquímica fueron probados en los mismos intervalos de tiempo que en la metodología química, 4, 8 y 16 horas. Los resultados obtenidos muestran una mayor disminución del sustrato a las ocho (8) horas de reacción (tabla 6), al igual que sucede con el proceso puramente químico. Al comparar los resultados del porcentaje de conversión de citral obtenidos electroquímicamente (% $CE_{\text{citral}} = 49.1\%$) con los obtenidos para la síntesis química (% $CQ_{\text{citral}} = 64.5\%$), se observó que el proceso de epoxidación electroquímico es menos eficiente que el químico; Lo anterior parece ser resultado principalmente de la pasivación de los electrodos en periodos de tiempo mayores de 4 horas, aunque más adelante se tratarán otras posibles causas de ese comportamiento.

Tabla 6. Determinación tiempo óptimo de reacción electroquímica en función del porcentaje de conversión electroquímico del citral (%CE_{citral}).

Tiempo de reacción (h)	%CE _{citral}
4	35.6
8	49.1
16	49.8

5.3.3. Resultados de la reacción de epoxidación electroquímica

Determinadas las condiciones del proceso de epoxidación electroquímica (5%mol de catalizador Mn-Salen y 8h de reacción) se procedió a establecer el %CE_{citral} para la reacción de epoxidación electroquímica de citral. Los resultados obtenidos (tabla 7) muestran que los blancos de reacción (reacción de epoxidación electroquímica sin catalizador) presentan mayores %CE_{citral} que en las reacciones de epoxidación catalizadas. Una explicación para estos resultados implica que la oxidación del ión cloruro Cl⁻ al ión Cl⁺ especie activa responsable de la formación *in situ* del ión hipoclorito (OCl⁻) (Etapa 1. Figura 17) se vea limitada debido a que en las celdas que contenían citral y catalizador, ocurrieron procesos de pasivación de la superficie del ánodo a lo largo del tiempo de reacción, por recubrimiento del mismo con una película oleosa, la cual no se observó en ninguno de las reacciones sin catalizador.

Tabla 7. Resultados de la reacción de epoxidación electroquímica de citral³ en función de su porcentaje de conversión (%CE_{citral}) a 8 horas de reacción.

Muestra	Porcentaje de conversión electroquímico del citral (%CE _{citral})
Blanco a 8H	67.5 ± 1.8
Reacción a 8H	41.1 ± 8.5

Cubillos y colaboradores [33] atribuyen este comportamiento a dos posibles procesos. El primero de ellos, la formación irreversible de especies diméricas inactivas μ-oxo-manganeso (IV) proceso que tiene lugar en el ánodo y asociado con la oxidación del núcleo metálico del catalizador. El segundo asociado con la degradación oxidativa del ligando orgánico empleado en el catalizador, proceso susceptible de ocurrir en el doble enlace C=N y debido al uso de agentes oxidantes como el H₂O₂ y el OCl⁻. Esto último puede explicar en parte la rápida

³Los datos reportados muestran el promedio de los resultados obtenidos en los ensayos (n=3)

desaparición del ión hipoclorito en las celdas que contenían solo catalizador, como se evidenció en el aparte 5.3.1.

Ambos procesos, la formación de la especie dimérica inactiva y la degradación oxidativa del catalizador fueron demostrados por Cubillos y colaboradores para el catalizador de Jacobsen [31-36] y que posiblemente también ocurren sobre el complejo Mn-Salen, empleado en este proyecto, al ser un derivado estructural de dicho catalizador (Ver Figuras 2 y 3). Lo anterior sugiere que se presenta una competencia entre las reacciones de epoxidación catalizadas por el complejo Mn-salen (proceso completo que culmina en la epoxidación del sustrato, Figura 17) y la degradación del mismo catalizador en los procesos anteriormente mencionados, razón por la cual se observa la disminución del $\%CE_{\text{citrál}}$ en las reacciones catalizadas frente a las no catalizadas, a diferencia de lo que ocurre en la metodología química donde el contacto de la fase oxidante altamente concentrada de OCl^- (0.2M) se da directamente en la interfase del sistema bifásico, favoreciendo así el contacto directo del catalizador previamente activado por el OCl^- con el sustrato.

La presencia del complejo Mn-Salen en la fase acuosa se debe a que este además de actuar como catalizador generando la especie manganeso oxo activa ($Mn^V=O$) encargada de la epoxidación del sustrato (Etapas 2 y 3. Figura 17), actúa como un agente de transferencia de fase (lo cual no ocurre con el catalizador de Jacobsen al cual la presencia de grupos terbutilo sobre el anillo aromático del ligando le confiere total insolubilidad en medios acuosos); por lo anterior, parte del catalizador empleado puede migrar hasta la periferia de los electrodos sufriendo los procesos de inactivación y degradación descritos.

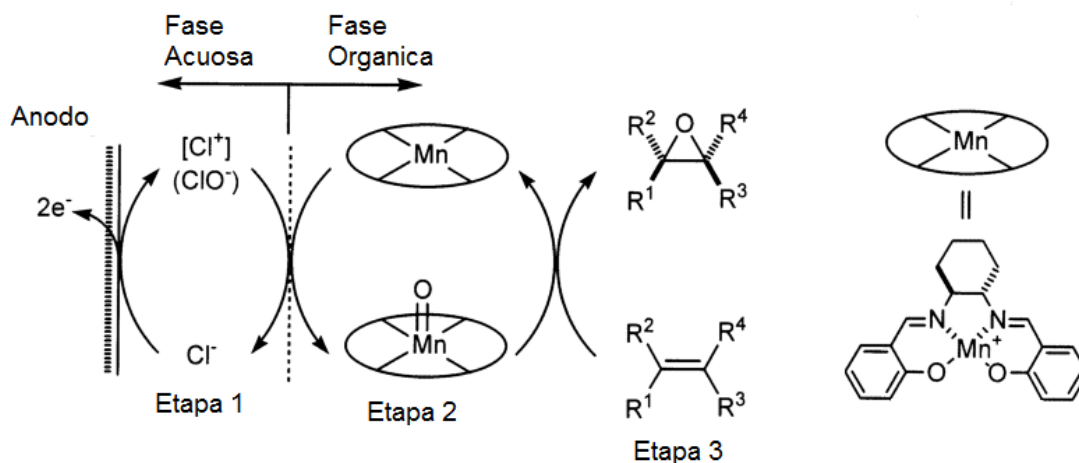


Figura 17. Esquema teórico del proceso de epoxidación electroquímica indirecta de una olefina mediado por el catalizador Mn-Salen [29, 31, 38, 39, 47, 60, 61].

5.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS EPÓXIDOS DE CITRAL

Mediante el seguimiento cromatográfico de los crudos de reacción fue posible identificar los epóxidos de neral y geranial (isómeros de citral) cuyos tiempos de retención fueron 8.66 min. y 9.76 min. respectivamente (Figura 18). Los epóxidos de citral sintetizados en las reacciones tanto químicas como electroquímicas fueron identificados por medio de sus fragmentogramas respectivos obtenidos en modo scan (Figura 19), los cuales son consistentes con los resultados hallados por *Veloza y colaboradores* [45, 48].

Los epóxidos de citral tienen una fórmula molecular $C_{10}H_{16}O_2$ consistente con una masa molecular de 168 uma, masa que no es visible en el espectro debido a la resolución del mismo, sin embargo, a pesar de contar con igual masa molecular los isómeros de los epóxidos de citral (neral y geranial) presentan procesos de fragmentación diferenciados. La principal diferencia consiste en la formación del fragmento base de cada uno de ellos, los cuales corresponden para el neral de 82m/z y para el geranial de 81m/z.

Los procesos de fragmentación se encuentran relacionados directamente con la orientación espacial de grupo aldehído, como se muestra en la figura 20a. Para el epóxido de neral (*cis*-citral) el carbonilo se encuentra más cercano a la cadena carbonada, razón por la cual en el proceso de fragmentación se favorece la formación de un heterociclo de cinco miembros estable correspondiente al pico base para dicho epóxido. Por otra parte, como se muestra en la figura 21a, en el epóxido de geranial (*trans*-citral) el carbonilo se encuentra alejado de la cadena, lo cual impide la formación del heterociclo descrito para el neral y por consiguiente finaliza el proceso de fragmentación en un pico base diferente.

Por otra parte, se observó para el neral la formación de un fragmento de 95m/z, mientras que para el geranial se da uno de 97 m/z, fragmentos característicos y explicados de igual manera que el fragmento base por cercanía de la cadena carbonada con el grupo carbonilo del aldehído. En el isómero neral (figura 20b) se favorece la formación de un heterociclo de seis átomos, mientras que en el epóxido de geranial este acercamiento del carbonilo y la formación del heterociclo se ve impedida (figura 21b), razón por la cual se forma un fragmento lineal como el fragmento estable.

Además de la confirmación de las diferencias entre los fragmentos característicos para cada isómero, el análisis de los fragmentos obtenidos confirma la epoxidación del citral en las posiciones C_6 - C_7 , esto basado en los fragmentos en común formados en por ambos epóxidos y mostrados en los procesos de

fragmentación como fragmentos salientes (85m/z y 71m/z) los cuales se explican cómo sistemas heterocíclicos de tres miembros, dos átomos de carbono y uno de oxígeno. A partir de lo anterior se evidencia que las reacciones de epoxidación llevadas a cabo promueven principalmente la oxidación del doble enlace en la posición 6,7 del citral, debido a la selectividad que este enlace presenta frente a la oxidación al contar con mayor densidad electrónica por los grupos alquilo electrodonantes enlazados y de forma homóloga a las epoxidaciones llevadas a cabo con especies peroxo, la especie activa del catalizador tendría una marcada electrofilicidad [25].

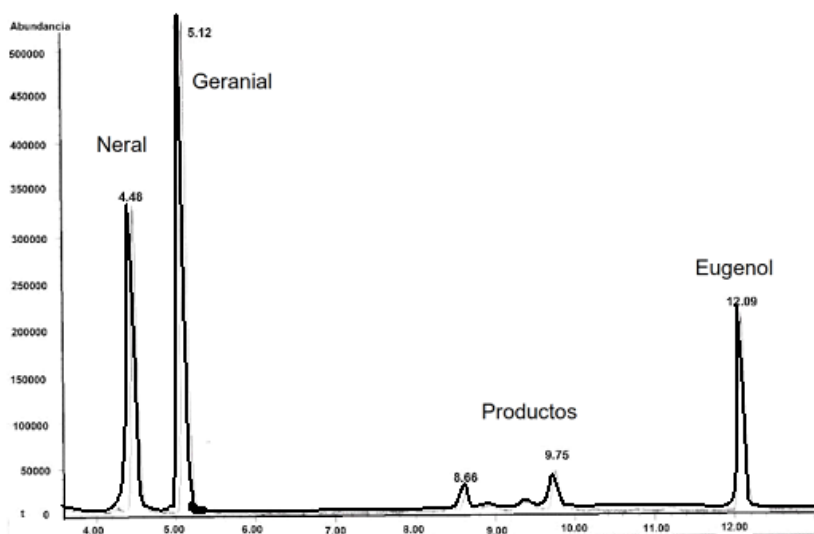


Figura18. Cromatograma obtenido para el crudo de reacción de epoxidación de citral: Reactivos (Neral y Geranial), Productos (Epóxidos de Citral) y Patrón interno (Eugenol)

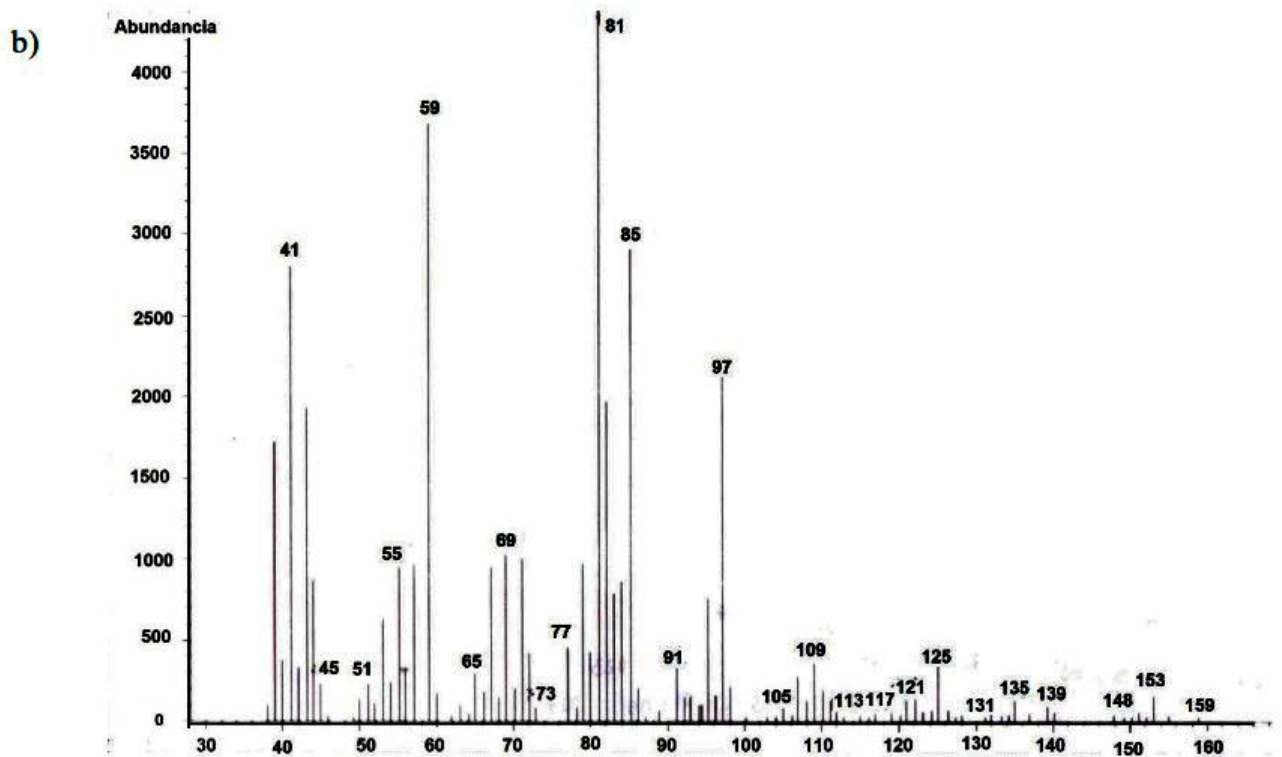
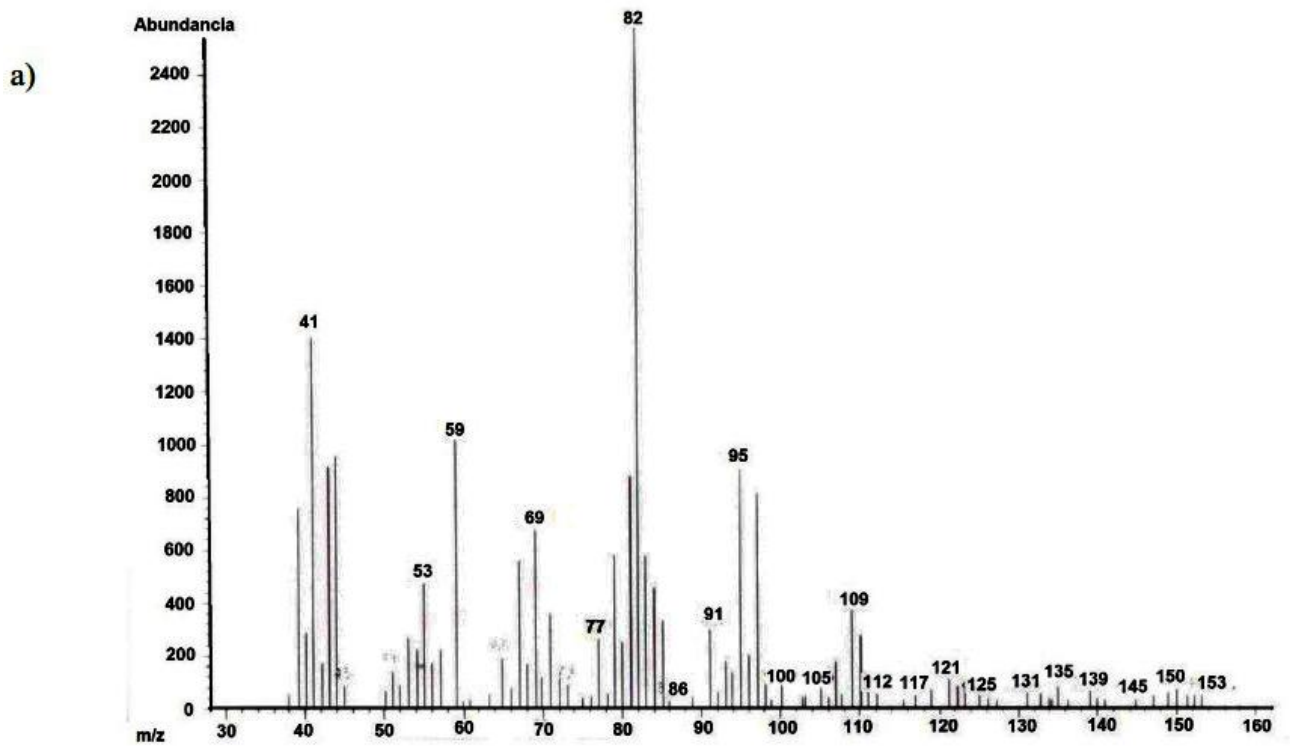


Figura19. Espectro de masas obtenido por impacto electrónico para **a)** Epóxido de neral (Pico a $t_R=8.66$) **b)** Epóxido de geranial (Pico a $t_R=9.79$)

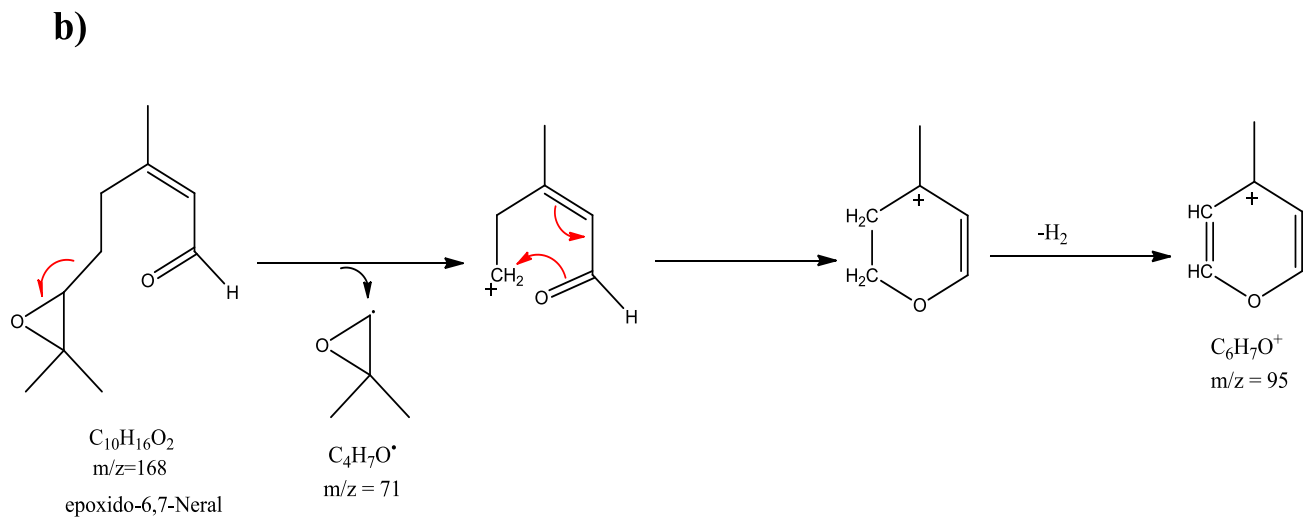
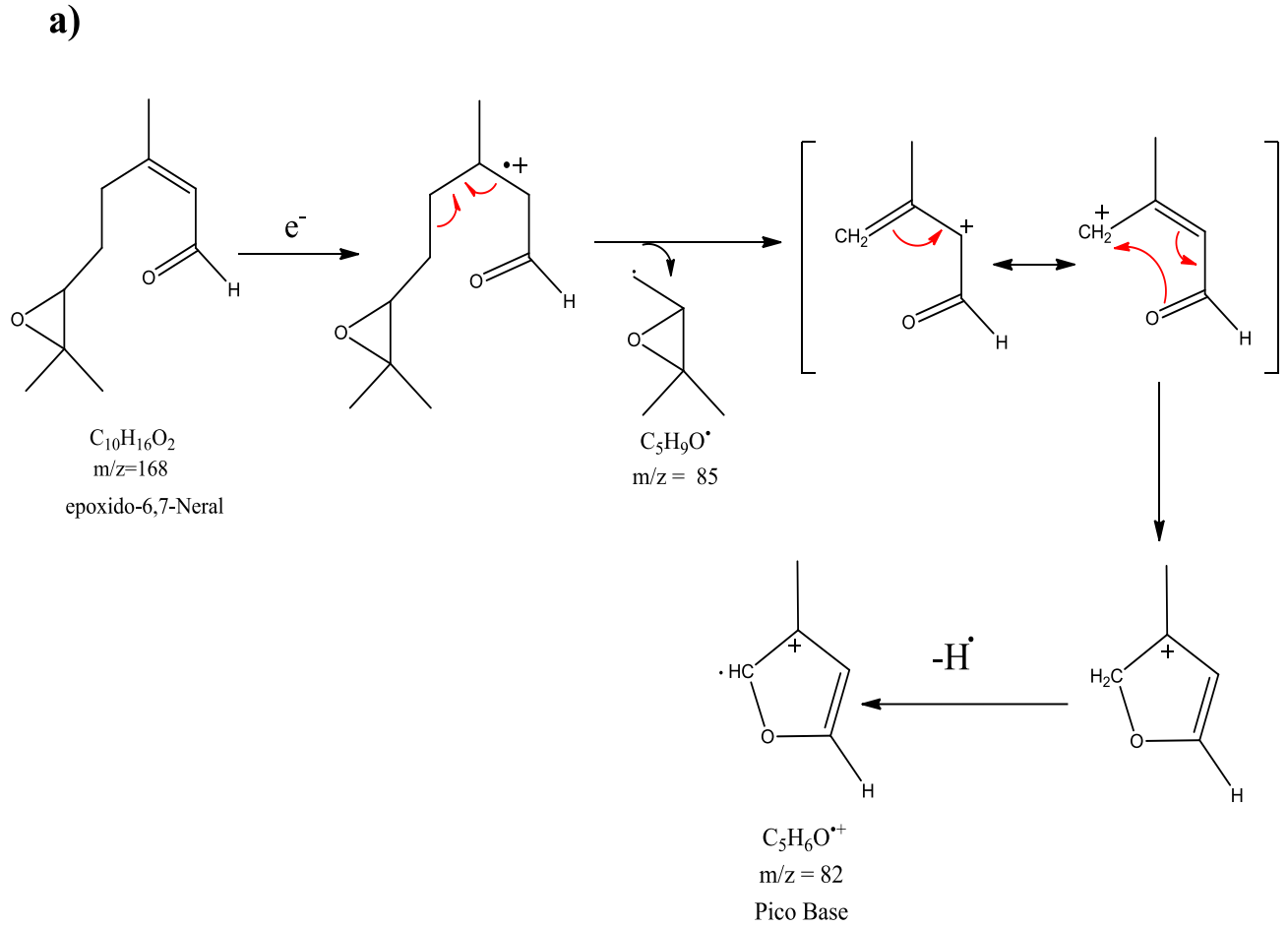
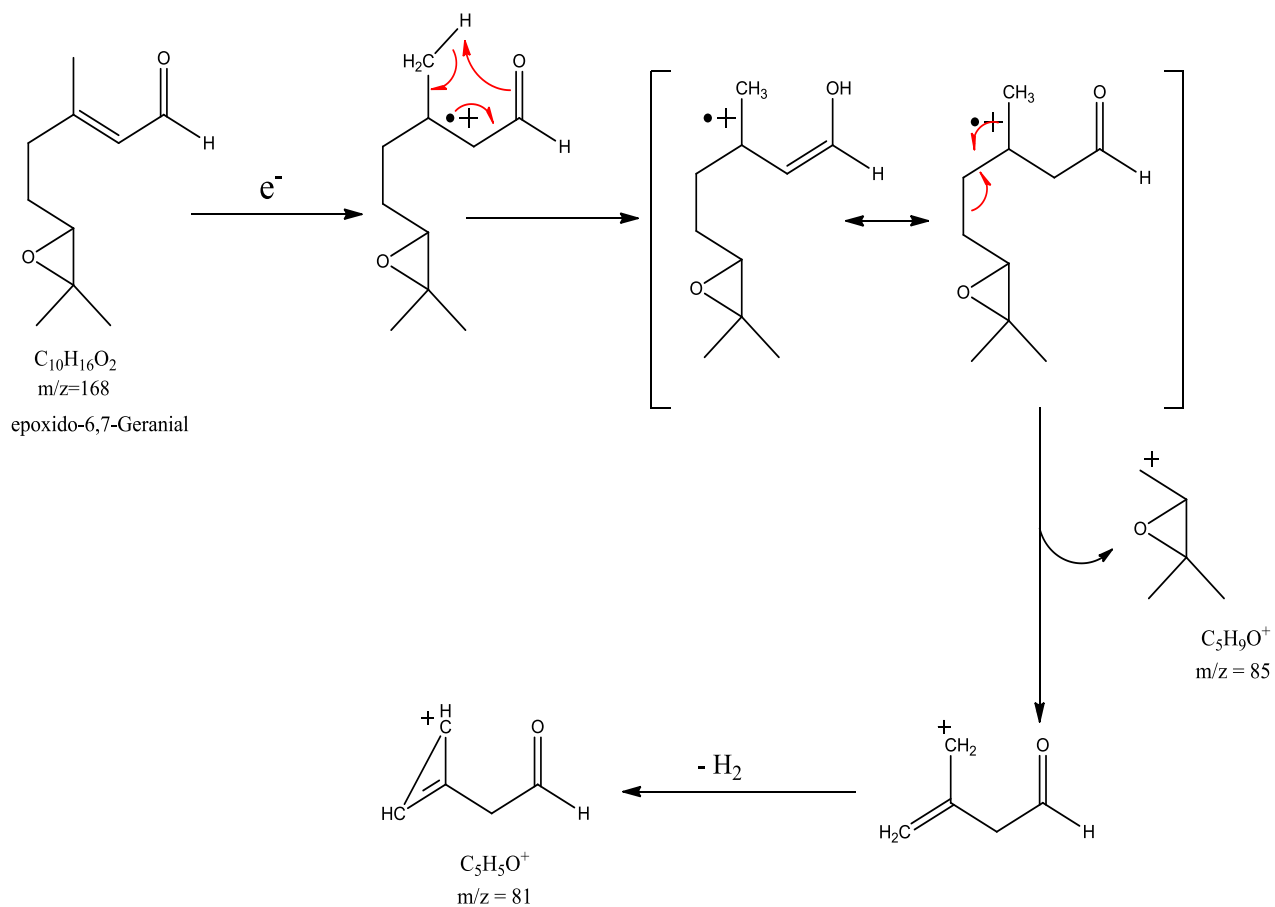


Figura20. Patrón de fragmentación del epóxido 6,7 de neral

a)



b)

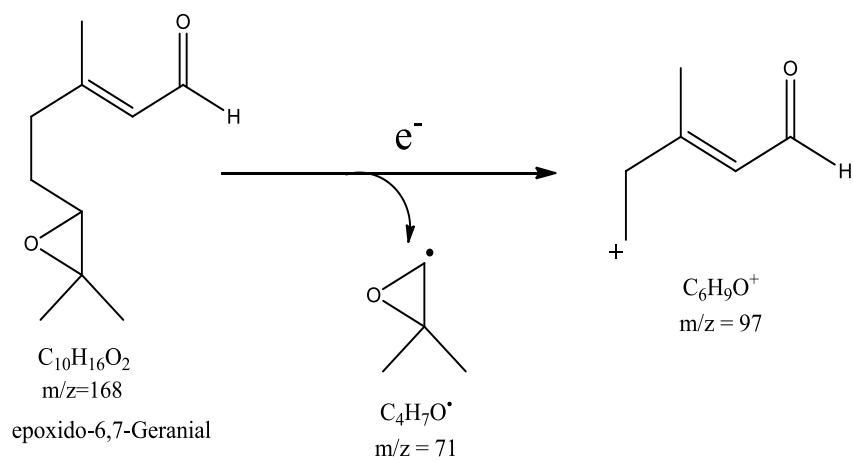


Figura21. Patrón de fragmentación del epóxido 6,7 de Geraniol.

Basados en los tiempos de retención de los productos y en los fragmentogramas respectivos, fue posible el seguimiento cromatográfico del proceso de separación por cromatografía en columna, siendo aislados los compuestos entre 7 y 10 min (Figura 22). Se recolectaron 10mL de la fracción de interés que contenían los epóxidos de citral y a continuación se concentró por evaporación del solvente hasta 5mL. El análisis por cromatografía de gases de las fracciones concentradas generó picos cromatográficos para los epóxidos con áreas muy pequeñas, lo cual indica una baja concentración de los mismos en la solución y además de la imposibilidad de cuantificarlos por el método de CG-MSD estandarizado.

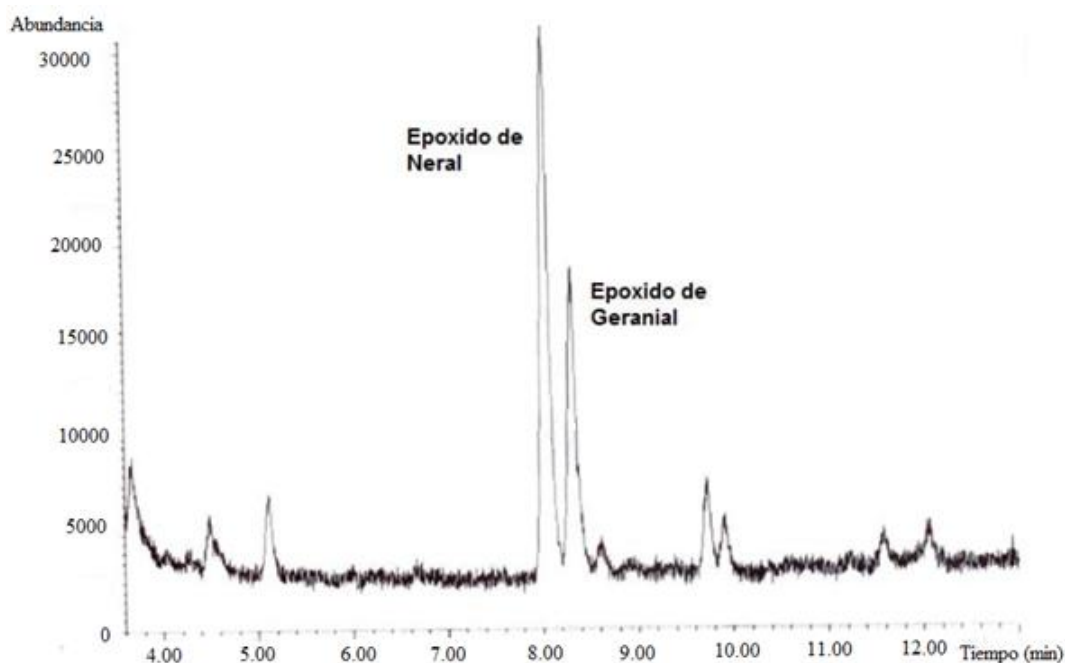


Figura 22. Cromatograma epóxidos de citral separados por cromatografía en columna (eluidos con acetato de etilo-éter de petróleo 1:1 en una columna de silica de 40um).

5.5. ANÁLISIS VOLTAMPEROMÉTRICOS DE LOS EPÓXIDOS DE CITRAL

En los análisis llevados a cabo empleando voltamperometría cíclica (VC) y voltamperometría de onda cuadrada (SW) sobre la fracción de los epóxidos aislados no se observaron señales ni de oxidación ni reducción en el intervalo de potencial trabajado. Este comportamiento fue observado con los electrodos de trabajo empleados, oro (Au) y carbón vítreo (Figuras 23 y 24). La ausencia de señales rédox pudo ser debida principalmente a la baja concentración de los epóxidos presentes, por lo anterior no se lograron obtener datos concluyentes respecto al comportamiento rédox de los productos de reacción obtenidos.

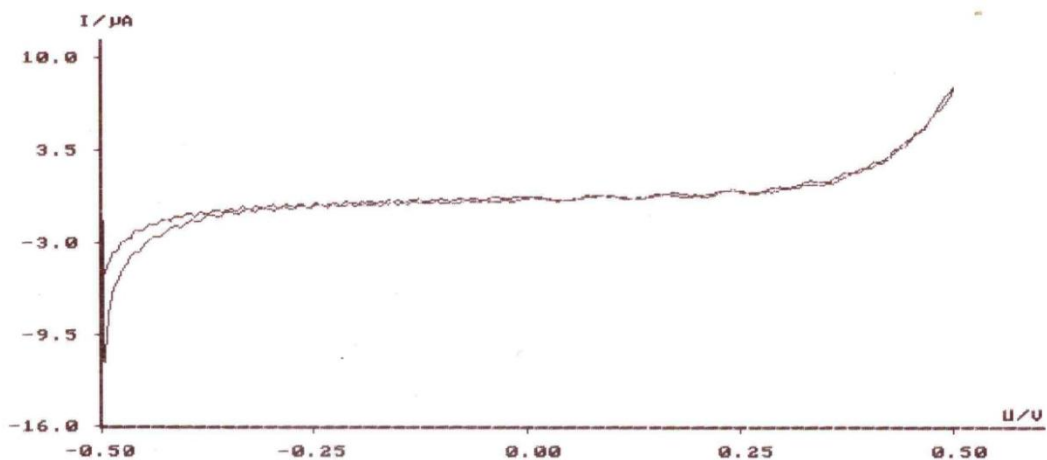


Figura 23. Voltamperograma obtenido para la muestra de epóxidos de citral empleando un electrodo de oro (Au) a una velocidad de barrido de 100mV/s.

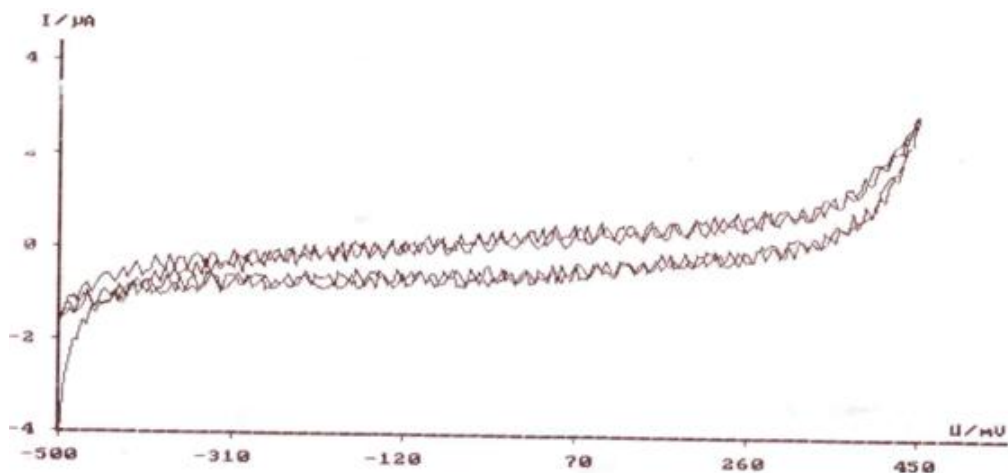


Figura 24. Voltamperograma obtenido para la muestra de epóxidos de citral empleando un electrodo de Carbón vítreo (C_{vitreo}) a una velocidad de barrido de 100mV/s.

6. CONCLUSIONES

- ❖ Se estandarizó una metodología analítica para la determinación del contenido de citral mediante la técnica de cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (CG-MDS), obteniendo un bajo límite de detección, un amplio intervalo de linealidad y altas repetibilidad y reproducibilidad.
- ❖ Se establecieron como condiciones para el proceso de epoxidación química del citral una concentración del 5%mol de catalizador y un tiempo de reacción de 8h, condiciones a las cuales se obtienen porcentajes de conversión de citral superiores al 60%.
- ❖ La electrogeneración de un agente oxidante en el medio de reacción, es una ruta viable y una buena alternativa para el control una reacción química, en este caso, la epoxidación de un terpeno. Sin embargo, para posteriores trabajos relacionados con síntesis de epóxidos catalizada por complejos del tipo Mn-Salen se debe estudiar su comportamiento frente a agentes oxidantes suaves y selectivos que no causen reacciones colaterales tanto con el ligando Salen como con el núcleo metálico del catalizador.
- ❖ Los procesos de degradación oxidativa y formación de especies diméricas u-oxo- manganeso (IV) asociadas con el ligando y el núcleo metálico del catalizador respectivamente, establecen una competencia con el proceso de epoxidación del sustrato generando así un decaimiento en los porcentajes de conversión del sustrato en comparación con las reacciones de epoxidación electroquímica no catalizadas.
- ❖ Se generaron como productos de la reacción, epóxidos de neral y geranial, los cuales fueron confirmados por medio de los fragmentogramas obtenidos. Además, se determinó mediante el análisis de los patrones de fragmentación la formación del epóxido en el doble enlace de las posiciones C₆-C₇; epóxido mayoritario producido en las reacciones debido a la nucleofilicidad de este doble enlace por contar con grupos alquilo electrodonantes y la tendencia electrofílica de la especie activa del catalizador, lo cual le conferiría labilidad por el doble enlace C₆-C₇ de la molécula de citral.
- ❖ Dada las bajas cantidades de epóxidos de citral (epóxidos 6,7) obtenidas en el proceso de separación por cromatografía en columna no fue posible determinar el comportamiento electroquímico de los mismos empleando voltamperometría cíclica (VC) ni voltamperometría de onda cuadrada (SW).

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. Gramshaw, K. Sharpe, Estimation of citral in lemon oil by gas-liquid chromatography using a capillary column, *Journal of the science of food and agriculture*, 31 (1980) 93-98.
- [2] M. Hall, B. Hauer, R. Stuermer, W. Kroutil, K. Faber, Asymmetric whole-cell bioreduction of an α , β -unsaturated aldehyde (citral): competing *prim*-alcohol dehydrogenase and C-C lyase activities, *Tetrahedron: asymmetry*, 17 (2006) 3058-3062.
- [3] C. Blanco Tirado, E.E. Stashenko, M.Y. Combariza, J.R. Martinez, Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 697 (1995) 501-513.
- [4] A.A. Saddiq, S.A. Khayat, Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98 (2010) 89-93.
- [5] V. Honwad, A. Rao, Citral Epoxide, *Current Science*, 35 (1966) 333-345.
- [6] O.I. Yarovaya, O.V. Salomatina, D.V. Korchagina, M.P. Polovinka, V.A. Barhash, Citral Epoxide Acid-Catalyzed Reactions, *Chemistry and computational simulation. Butlerov communications*, 2 (2002) 51-56.
- [7] E.R. Vásquez, Evaluation of the essential oil and study of cold conservation of *Cymbopogon citratus* cultivated in the region of the Quindío, *Rev. Invest. Univ. Quindío*, 20 (2010) 24-28.
- [8] R. Negrelle, E. Gomes, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities, *Rev Bras PI Med*, 9 (2007) 80-92.
- [9] P. Arpino, C. Vidal-Madjar, G. Guiochon, S. Békássy, Production of citral from geraniol: II. Capillary gas chromatographic-mass spectrometric investigation of two different oxidation reactions using a graphite porous-layer open-tubular column with a large coating ratio of polar liquid phase, *Journal of Chromatography A*, 138 (1977) 173-182.
- [10] C. Mercier, P. Chabardes, Organometallic chemistry in industrial vitamin A and vitamin E synthesis, *Catalysis of Organic Reactions*, 62 (1994) 213.

- [11] N. Tajidin, S. Ahmad, A. Rosenani, H. Azimah, M. Munirah, Chemical composition and citral content in lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stages, *Afr. J. Biotechnol*, 11 (2012) 2685-2693.
- [12] R. Jones, M. Neale, J. Ridlington, chemistry of terpenes. VII. New procedure for the determination of neral and geranial in essential oils, *Journal of chromatography*, (1977).
- [13] P. Besse, H. Veschambre, Chemical and biological synthesis of chiral epoxides, *Tetrahedron*, 50 (1994) 8885-8927.
- [14] A. Figueirinha, A. Paranhos, J.J. Pérez-Alonso, C. Santos-Buelga, M.T. Batista, *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols, *Food chemistry*, 110 (2008) 718-728.
- [15] D.L. Mendoza Meza, M. Taborda, Chemical Composition And Acaricidal Activity Of Essential Oil *Cymbopogon Citratus* Stapf Against House Dust Mite *Dermatophagoides Farinae* (Acari: *Pyroglyphidae*), *Biosalud*, 9 (2010) 21-31.
- [16] Y. Iijima, D.R. Gang, E. Fridman, E. Lewinsohn, E. Pichersky, Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil, *Plant physiology*, 134 (2004) 370-379.
- [17] K.A. Swift, Catalytic transformations of the major terpene feedstocks, *Topics in Catalysis*, 27 (2004) 143-155.
- [18] S.S. Chadwick, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Reference Services Review, 16 (1988) 31-34.
- [19] H. Nakajima, S. Takase, H. Terano, H. Tanaka, New Antitumor Substances, FR901463, FR901464 and FR901465 III. Structures of FR901463, FR901464 and FR901465, *Journal of antibiotics*, 50 (1997) 96-99.
- [20] T. Katsuki, K.B. Sharpless, The first practical method for asymmetric epoxidation, *Journal of the American Chemical Society*, 102 (1980) 5974-5976.
- [21] T. Katsuki, K.B. Sharpless, Method for asymmetric epoxidation, in, *Google Patents*, 1984.
- [22] C. Bonini, G. Righi, A critical outlook and comparison of enantioselective oxidation methodologies of olefins, *Tetrahedron*, 58 (2002) 4981-5021.

- [23] A.-H. Li, L.-X. Dai, V.K. Aggarwal, Asymmetric ylide reactions: epoxidation, cyclopropanation, aziridination, olefination, and rearrangement, *Chemical reviews*, 97 (1997) 2341-2372.
- [24] J.L.F. Monteiro, C.O. Veloso, Catalytic conversion of terpenes into fine chemicals, *Topics in Catalysis*, 27 (2004) 169-180.
- [25] F.S. Vinhado, D. Mandelli, U. Schuchardt, R. Rinaldi, The chemical reactivity of some terpenes investigated by alumina catalyzed epoxidation with hydrogen peroxide and by DFT calculations, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 252 (2006) 186-193.
- [26] C. Kandzia, E. Steckhan, Electrochemical epoxidation of electron-poor olefins using silver bipyridine based redox mediators, *Tetrahedron letters*, 35 (1994) 3695-3698.
- [27] J. Grimshaw, *Electrochemical reactions and mechanisms in organic chemistry*, Elsevier, 2000.
- [28] I. Massuquinini, A.J. Mendonça, A.P. Esteves, D.I. Mendonça, M.J. Medeiros, Electroepoxidation of natural and synthetic alkenes mediated by sodium bromide, (2009).
- [29] H. Tanaka, M. Kuroboshi, H. Takeda, H. Kanda, S. Torii, Electrochemical asymmetric epoxidation of olefins by using an optically active Mn-salen complex, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 507 (2001) 75-81.
- [30] C.B. Woitiski, Y.N. Kozlov, D. Mandelli, G.V. Nizova, U. Schuchardt, G.B. Shul'pin, Oxidations by the system "hydrogen peroxide–dinuclear manganese (IV) complex–carboxylic acid": Part 5. Epoxidation of olefins including natural terpenes, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 222 (2004) 103-119.
- [31] J.R. Calle, J.A.C. Lobo, C.M. de Correa, A.L. Villa, Efecto del agente oxidante y la quiralidad del catalizador en la epoxidación de R-(+)-limoneno con catalizadores tipo Jacobsen, *Ingeniería e Investigación*, 28 (2008) 37-44.
- [32] J. Cubillos, I. Montilla, C.M. de Correa, Easy separation and reutilization of the Jacobsen's catalyst in olefin oxidation, *Applied Catalysis A: General*, 366 (2009) 348-352.
- [33] J. Cubillos, I. Montilla, C. Montes de Correa, Separation of the Jacobsen s catalyst in the enantioselective epoxidation of cis-ethyl cinnamate under homogeneous conditions, *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (2009) 9-19.

- [34] J. Reyes, J.A. Cubillos, A.L. Villa, C. Montes de Correa, Effect of substrate and catalyst chirality on the diastereoselective epoxidation of R-(+)-limonene with manganese (III) salen complexes, *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (2009) 18-26.
- [35] J. Cubillos, S. Vásquez, C. Montes de Correa, Salen manganese (III) complexes as catalysts for R-(+)-limonene oxidation, *Applied Catalysis A: General*, 373 (2010) 57-65.
- [36] J. Cubillos, E. Grajales, S. Vásquez, C. Montes de Correa, Immobilization of Jacobsen type catalysts on modified silica *Inmovilización de catalizadores tipo Jacobsen en sílica modificada*, *Revista Facultad de Ingeniería*, (2013) 38-48.
- [37] X.-L. Geng, Z. Wang, X.-Q. Li, C. Zhang, A simple method for epoxidation of olefins using sodium chlorite as an oxidant without a catalyst, *The Journal of organic chemistry*, 70 (2005) 9610-9613.
- [38] N.S. Finney, P.J. Pospisil, S. Chang, M. Palucki, R.G. Konsler, K.B. Hansen, E.N. Jacobsen, On the Viability of Oxametallacyclic Intermediates in the (salen) Mn-Catalyzed Asymmetric Epoxidation, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36 (1997) 1720-1723.
- [39] M. Palucki, N.S. Finney, P.J. Pospisil, M.L. Güler, T. Ishida, E.N. Jacobsen, The mechanistic basis for electronic effects on enantioselectivity in the (salen) Mn (III)-catalyzed epoxidation reaction, *Journal of the American Chemical Society*, 120 (1998) 948-954.
- [40] L. Cavallo, H. Jacobsen, Electronic effects in (salen) Mn-based epoxidation catalysts, *The Journal of organic chemistry*, 68 (2003) 6202-6207.
- [41] J.F. Larrow, E.N. Jacobsen, Y. Gao, Y. Hong, X. Nie, C.M. Zepp, A practical method for the large-scale preparation of [N, N'-bis (3, 5-di-tertbutylsalicylidene)-1, 2-cyclohexanediaminato (2-)] manganese (III) chloride, a highly enantioselective epoxidation catalyst, *The Journal of organic chemistry*, 59 (1994) 1939-1942.
- [42] J. Hanson, Synthesis and Use of Jacobsen's Catalyst: Enantioselective Epoxidation in the Introductory Organic Laboratory, *Journal of chemical education*, 78 (2001) 1266.
- [43] A.S. Amarasekara, I. McNeal, J. Murillo, D. Green, A. Jennings, A simple one-pot synthesis of Jacobson–Katsuki type chiral Mn (III)–salen catalyst immobilized in silica by sol–gel process and applications in asymmetric epoxidation of alkenes, *Catalysis Communications*, 9 (2008) 2437-2440.

[44] W. Sun, X. Wu, C. Xia, Enantioselective Oxidation of Secondary Alcohols Catalyzed by Soluble Chiral Polymeric [N', N'-Bis (salicylidene) ethane-1, 2-diaminato (2-)] manganese (III) ([MnIII (salen)]) Type Complexes in a Biphasic System, *Helvetica chimica acta*, 90 (2007) 623-626.

[45] L.A. Veloza, L.M. Orozco, J.C. Sepúlveda-Arias, Use of dimethyldioxirane in the epoxidation of the main constituents of the essential oils obtained from *Tagetes lucida*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* and *Eucalyptus citriodora*, *Natural product communications*, 6 (2011) 925-930.

[46] L.M. Bradley, J.W. Springer, G.M. Delate, A. Goodman, Epoxidation of Geraniol: An Advanced Organic Experiment that Illustrates Asymmetric Synthesis, *Journal of chemical education*, 74 (1997) 1336.

[47] C. Sureshan, P. Bhattacharya, Study of olefin epoxidation using binuclear Mn (II) complexes as catalyst in presence and absence of UV light, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 130 (1998) 73-78.

[48] J. Castro Betancur, I.J. Bedoya Gómez, Aislamiento y epoxidación con dimetildioxirano de los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales de *Tagetes lucida*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* y *Eucalyptus citriodora*, (2011).

[49] R. GROB, *Modern practice of Gas Chromatography*, (1995) 324-325.

[50] E.F. Barry, R.L. Grob, *Columns for gas chromatography: performance and selection*, John Wiley & Sons, 2007.

[51] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, M.d.C.M. Gómez, *Principios de análisis instrumental*, McGraw-Hill Madrid, 2001.

[52] C.d.S. Rauber, S.S. Guterres, E.E. Schapoval, LC determination of citral in *Cymbopogon citratus* volatile oil, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 37 (2005) 597-601.

[53] S. Békássy, J. Heiszman, J. Petró, Gas chromatography in developing the production of citral from geraniol, *Journal of Chromatography A*, 91 (1974) 749-756.

[54] R.P. Adams, *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, Allured publishing corporation, 2007.

[55] W. Coleman, L. Crumpler, Microwave-assisted extraction and quantitative analysis of high-density polyethylene pellets fortified with flavors, *Journal of chromatographic science*, 42 (2004) 191-195.

[56] D. Mockute, G. Bernotiene, The Main Citral-Geraniol and Carvacrol Chemotypes of the Essential Oil of *Thymus pulegioides* L. Growing Wild in Vilnius District (Lithuania), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1999) 3787-3790.

[57] H. Daniel, Análisis químico cuantitativo, in, España, 2001.

[58] L.M. Aleixo, Voltametria: conceitos e técnicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, (2003).

[59] W. Zhang, J.L. Loebach, S.R. Wilson, E.N. Jacobsen, Enantioselective epoxidation of unfunctionalized olefins catalyzed by salen manganese complexes, *Journal of the American Chemical Society*, 112 (1990) 2801-2803.

[60] C. Linde, M. Arnold, B. Åkermark, P.O. Norrby, Is There a Radical Intermediate in the (salen) Mn-Catalyzed Epoxidation of Alkenes?, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36 (1997) 1723-1725.

[61] K.-C. Cheung, W.-L. Wong, D.-L. Ma, T.-S. Lai, K.-Y. Wong, Transition metal complexes as electrocatalysts—Development and applications in electro-oxidation reactions, *Coordination Chemistry Reviews*, 251 (2007) 2367-2385.