



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA

TESIS:

**“REMEDIACIÓN AMBIENTAL: UNA ALTERNATIVA PARA DEGRADAR EL
COLORANTE AZUL DE METILENO POR THYMUS VULGARIS Y α -DIIMINA”**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIATURA EN QUÍMICA**

PRESENTA:

P.LIC. MIGUEL PACHECO VÁZQUEZ

DIRECTOR: DR. ULISES ANGEL PEÑA ROSAS

ASESOR: DRA. MA. DEL PILAR TRUJILLO GARCIA

OCTUBRE 2018

Agradecimientos

Me gustaría agradecer en estas líneas la ayuda que muchas personas y colegas me han prestado durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo. En primer lugar, quisiera agradecer a mi madre que me ha ayudado y apoyado en todo mi producto, a mi tutor, Dr. Ulises Peña, por haberme orientado y paciencia en todos los momentos que necesité sus consejos.

*Esta tesis está dedicada a mi madre,
quien, ha sido mi apoyo a lo largo de mi vida.*

Contenido

| | |
|--|----|
| Capítulo 1. Resumen..... | 1 |
| Capítulo 2. Introducción. | 2 |
| Capítulo 3. Justificación. | 5 |
| Capítulo 4. Hipótesis. | 5 |
| Capítulo 5. Objetivos. | 6 |
| 5.1) Objetivo General. | 6 |
| 5.2) Objetivos Particulares. | 6 |
| Capítulo 6. Antecedentes..... | 7 |
| 6.1) Azul de Metileno..... | 7 |
| 6.2) Tipos de Colorantes. | 10 |
| 6.2.1) Colorantes en la Industria Textil. | 10 |
| 6.2.2) Colorantes Naturales..... | 11 |
| 6.2.3) Colorantes Artificiales..... | 12 |
| 6.2.4) Colorantes Ácidos. | 12 |
| 6.2.5) Colorantes Directos. | 13 |
| 6.2.6) Colorantes a la Tina. | 15 |
| 6.2.7) Colorantes Dispersos. | 15 |
| 6.2.8) Colorantes Sulfurosos. | 15 |
| 6.2.9) Colorantes de Tipo Azo..... | 19 |
| 6.2.10) Clasificación de los Colorantes Azo. | 20 |
| 6.2.11) Características de los Colorantes Azo. | 21 |
| 6.2.12) Colorantes Básicos. | 22 |
| 6.3) Métodos de Degradación..... | 22 |
| 6.3.1) Degradaciones Fotocatalítica de Diferentes Colorantes. | 23 |
| 6.3.2) Fotodegradación por Partículas de ZnO. | 23 |

| | |
|---|----|
| 6.3.3) Degradación Fotocatalítica del Azul de Metileno Sobre CaIn_2O_4 Bajo Irradiación de Luz Visible. | 25 |
| 6.3.4) Eliminación Selectiva Utilizando Material Polimérico de Intercambio Catiónico. | 30 |
| 6.3.5) Papel de los Grupos Hidroxilo de Superficie de Zeolita Natural Tratada con Ácido sobre la Ozonización Catalítica Heterogénea de Aguas Contaminadas con Azul de Metileno..... | 36 |
| 6.3.6) Eliminación Sincronizada del Azul de Metileno con Reacción tipo Fenton Inducida por Oxoanión Fosforoso y Proceso de Irradiación de Plasma Sumergido..... | 43 |
| 6.3.7) Degradación del Azul de Metileno Utilizando Nanopartículas de Plata Biológicamente Sintetizadas. | 46 |
| 6.3.8) Biodegradación de Colorantes..... | 49 |
| 6.3.9) Tratamientos Biológicos..... | 50 |
| 6.3.10) Biosorbente para Eliminar el Azul de Metileno y el Indigo Carmín de Soluciones Acuosas..... | 54 |
| 6.3.12) <i>Thymus Vulgaris</i> | 57 |
| 6.3.13) Regulación Mediada por Colorantes Azoicos de Fenólicos Totales y Actividad de Peroxidasa en Líneas Clonales de Tomillo (<i>Thymus Vulgaris</i> L.) y Romero (<i>Rosmarinus Officinalis</i> L.) | 62 |
| 6.3.14) Avances Recientes en la Oxidación Aeróbica de Alcoholes y Aminas a Iminas. | 67 |
| Capítulo 7. Parte Experimental | 72 |
| 7.1) Material | 72 |
| 7.2) Reactivos y Disolventes. | 72 |
| 7.3) Purificación | 73 |
| 7.3.1) Cromatografía en Capa Fina | 73 |
| 7.3.2) Cromatografía en Columna..... | 73 |
| 7.4) Mediciones Espectroscópicas | 74 |

| | |
|---|-----|
| 7.4.1) Espectroscopía FT-IR | 74 |
| 7.4.2) Espectrometría de Masas | 74 |
| 7.4.3) Espectrofotometría de UV-Vis. | 74 |
| Capítulo 8. Procedimiento y Metodología | 75 |
| 8.1) Extracción del <i>Thymus Vulgaris</i> por Sistema Soxhlet | 75 |
| 8.2) Obtención del Timol por Destilación por Arrastre de Vapor. | 76 |
| 8.3) Purificación por Cromatografía en Columna. | 79 |
| 8.4) Síntesis de α -diimina. | 79 |
| Capítulo 9. Discusión de Resultados..... | 81 |
| 9.1) Obtención del Extracto de <i>Thymus Vulgaris</i> | 81 |
| 9.2) Resultados de la Degradación del Azul de Metileno por el Extracto de la Planta <i>Thymus Vulgaris</i> | 81 |
| 9.2) Obtención y purificación del Timol..... | 87 |
| 9.3) Timol como Agente Degradante. | 90 |
| 9.4) Degradación del Azul de Metileno por el 2-isopropil-5-metilfenol. | 90 |
| 9.5) Síntesis de la α -diimina. | 96 |
| 9.6) Degradación del azul de metileno respecto al tiempo por α -diimina..... | 99 |
| Capítulo 10. Conclusiones. | 102 |
| Capítulo 11. Bibliografía..... | 103 |

Capítulo 1. Resumen.

A lo largo de este trabajo de tesis se realizó dos métodos diferentes de degradación del colorante azul de metileno, uno de ellos es utilizando el extracto de *Thymus Vulgaris*. Además se purificó el 5-metil,-2-(1-metiletil)fenol [Figura 1], esta sustancia orgánica presente en la planta que se encuentra en gran abundancia en la familia de las labiadas, se utilizó para influir en la degradación del azul de metileno que es un colorante básico de tiacinas presente en aguas residuales generadas por las industrias textiles.

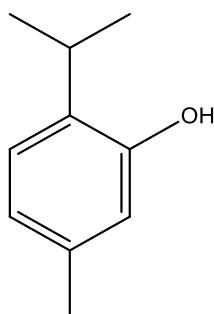


Figura 1. 5-metil,-2-(1-metiletil) fenol

El compuesto obtenido 5-metil,-2-(1-metiletil) fenol fue caracterizado por FT-IR y espectrometría de masas. Las muestras tratadas con el agente degradante fueron caracterizadas por espectrofotometría UV-Vis.

Para el segundo método se llevó a cabo la síntesis de una α -diimina [Figura 2], a partir de etilendiamina y *p*-dimetilaminobenzaldehído. Este compuesto se purificó y caracterizó por técnicas espectroscópicas: FT-IR, espectrometría de masas. Posteriormente el compuesto fue utilizado como agente degradante del colorante

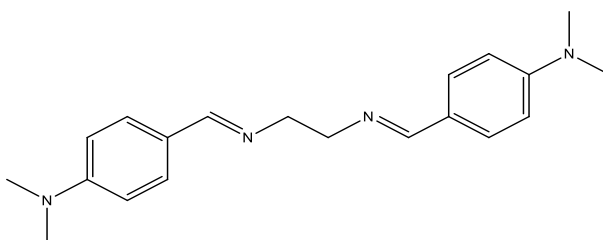


Figura 2. α - diimina

Capítulo 2. Introducción.

La industria textil es una de las más importantes de nuestro país, esta industria es intensiva en maquinaria y equipo con gran impacto en costos por combustibles y electricidad, también tiene una vinculación transversal con otras industrias productivas, como la automotriz, aeronáutica, muebles entre otras, con un PIB 1.3 a 1.4 de manufactura, eso quiere decir un ingreso al país de 38,494 a 43,221 millones de pesos, por lo que proporciona una tasa de empleo de 5.3 % anual en empleos manufactureros, es por ello que genera gran importancia comercial en la industria para México con el TPP (Trans-Pacific Partnership), produciendo un 64% del comercio de la industria, los principales productos de exportación generados son telas estampadas con poliuretano de fibras sintéticas y artificiales, hilados de poliésteres, hilados de filamentos de nailon, artículos textiles para uso técnico, cintas de fibra sintéticas o artificiales, por lo que la mayor parte de estos artículos generan contaminantes que se encuentran en aguas residuales con alto contenido de colorantes desechados en el proceso de pigmentación. Los efluentes de la industria textil se caracterizan por fluctuaciones extremas en parámetros, tales como: la demanda química de oxígeno (DQO), la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), pH, color y salinidad. Algunos de los parámetros característicos de estos efluentes son los siguientes:

- Color visible (1100-4500 unidades)
- Demanda química de oxígeno (800-1600 mg/L).
- pH alcalino (9-11).
- Sólidos totales (6000-7000 mg/L).

La composición del agua residual en una industria textil depende de las sustancias químicas que se usan durante el proceso. Los efluentes de la industria textil contienen una gran variedad de contaminantes provenientes de los diferentes procesos involucrados en la fabricación de fibras.

Algunas causas de la toxicidad acuática son las sales como NaCl y Na₂SO₄ (provenientes del teñido). Agentes surfactantes como fenoles, metales pesados que están presentes en los colorantes, compuestos orgánicos como solventes clorados (provenientes del lavado y limpieza de máquinas), biocidas

como el pentaclorofenol (proveniente de fibra de lana contaminada) y aniones tóxicos como el sulfuro (presentes en algunos colorantes), entre otros.

Los colorantes usados por las industrias textiles contienen diferentes estructuras orgánicas, las cuales son de mayor abundancia como los colorantes ácidos, básicos, dispersos, azo, diazo, antraquinonas básicas y colorantes-complejo-metal, etc. En la actualidad no se conoce exactamente el número de colorantes producidos a nivel mundial, pero se tiene un estimado de 10,000 colorantes con una producción mayor a 7×10^5 toneladas y un aproximado de 5-10% del colorante se desechan a los efluentes.

Entre los compuestos más comunes presentes en los desechos de las industrias textiles que contaminan el agua es el azul de metileno, que es un colorante ampliamente usado en la industria textil para la tinción de lana de oveja y de fibras de algodón, también es conocido por su alta adsorción en alimentos sólidos.

En la actualidad existen en nuestro país tratamientos de aguas residuales que consisten en un conjunto de operaciones físicas, químicas y biológicas, que tienen como propósito principal remover y reducir las cargas contaminantes de las aguas, con el objetivo de alcanzar la calidad requerida por la normatividad en materia de descarga de agua residuales o para su reutilización en otros procesos o servicios.

Muchas veces la disociación entre los tipos de tratamientos no resulta ser totalmente clara; debido a que cada tipo de agua residual tiene características particulares, es preciso hacer ajustes o variaciones necesarios entre ellos para alcanzar el tratamiento óptimo; en otras ocasiones, un solo proceso de tratamiento puede dar un cambio deseado en la composición de las aguas residuales, pero en la mayoría de los casos, es necesario utilizar una combinación de varios procesos para lograr un nivel de tratamiento deseable.

Existen diferentes técnicas de degradación, una de ellas es por radiación fotocatalítica, con TiO_2 (con una longitud de onda de irradiación de 365 nm), además esta técnica se investigó y se sigue investigando en suspensión acuosa, las constantes de velocidad para esta fotocatalisis heterogénea se evaluaron como función de concentración del colorante, cantidad de TiO_2 y pH,

por consiguiente se encontró que la reacción se ajusta a una molécula de adsorción de Langmuir y el perfil de velocidad frente a pH exhibe un aumento lineal con el pH en soluciones ácidas con un máximo de aproximadamente pH ~ 0,9.

Otra técnica empleada para la remediación de colorantes es el uso de técnicas electroquímicas, estas técnicas funcionan con gran eficacia, sin embargo resulta ser muy costoso en la industria.

Actualmente numerosas investigaciones abordan la degradación de colorantes con agentes biológicos, microorganismos con capacidad de eliminar el color de las aguas residuales que mediante mecanismos como la biosorción, biodegradación y la fitorremediación son capaces de tratar aguas contaminadas por colorantes, al ser un modelo más económico y eficiente que el uso de radiación de UV y por oxido-reducción, que sigue siendo de alto costo. Por consiguiente en este trabajo de investigación se desarrollarán dos técnicas de degradación que ayudan a eliminar este tipo de contaminantes en el medio ambiente es por ello el uso de una planta común (*thymus vulgaris*) que lleve a cabo la degradación por técnicas de fitorremediación del colorante, reduciendo costos y pueda emplearse en la industria textil, también se utilizarán α -diiminas sintetizadas en el laboratorio para llevar a cabo este proceso se lleva a cabo transaminación, adición-eliminación, adición de hidruro y transferencia de un electrón que permite la modificación química del colorante.

Capítulo 3. Justificación.

Debido a la gran cantidad de aguas residuales con gran exceso de colorantes que generan las industrias textiles se requiere emplear nuevas técnicas sencillas, naturales y económicas que puedan degradar estos contaminantes, esto permite mejorar la calidad en aguas brutas.

Una de las propuestas para la degradación del colorante es la fitorremediación, que es un conjunto de tecnologías que se utilizan plantas para reducir, degradar o inmovilizar compuestos orgánicos contaminantes, que provienen de las actividades humanas. La utilización de *Thymus Vulgaris* permite la remediación de aguas contaminadas por colorantes tanzinicos, que son utilizadas en algunas industrias textiles, de igual manera se desarrollará una técnica alternativa utilizando α -diiminas sintetizadas en el laboratorio.

Capítulo 4. Hipótesis.

La presencia de Timol en la planta *Thymus Vulgaris* y α -diimina pueden ser utilizados como agentes degradantes del colorante azul de metileno usado en el teñido de productos de algodón.

Capítulo 5. Objetivos.

5.1) Objetivo General.

Degradación del colorante azul de metileno utilizando timol extraído de la planta *Thymus Vulgaris* y α -diimina sintetizada en el laboratorio.

5.2) Objetivos Particulares.

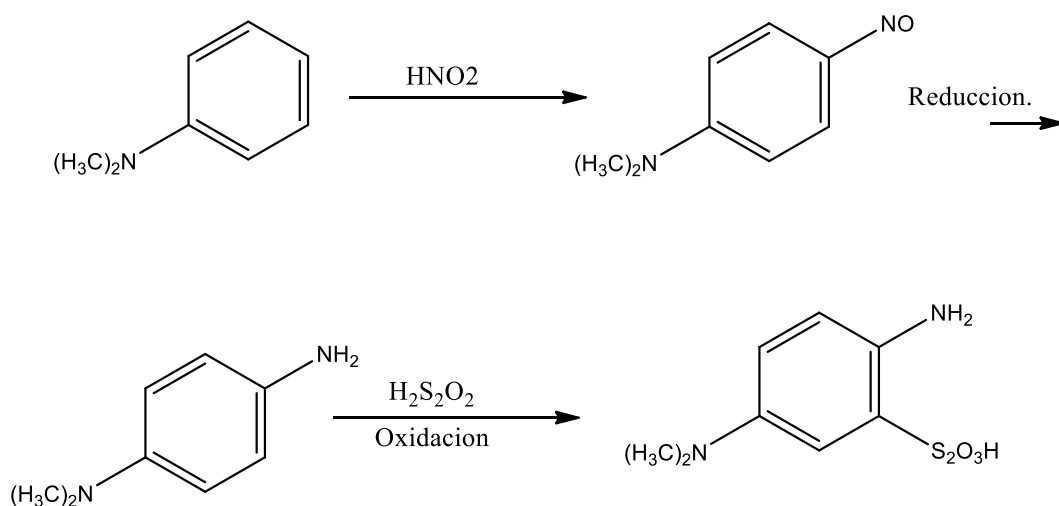
- A) Obtención del extracto de la planta *Thymus Vulgaris*.
- B) Identificar el compuesto que degrada al colorante.
- C) Purificación del timol.
- D) Caracterización del timol por FT-IR y espectrometría de masas.
- E) Utilizar el compuesto purificado como agente degradante.
- F) Síntesis de α -diimina a partir de etilendiamina y *p*-dimetilaminobenzaldehído.
- G) Caracterización de la α -diimina.
- H) Realizar el proceso de degradación con α -diimina sintetizada en el laboratorio.
- I) Comparación de resultados de los dos diferentes métodos.

Capítulo 6. Antecedentes.

6.1) Azul de Metileno.

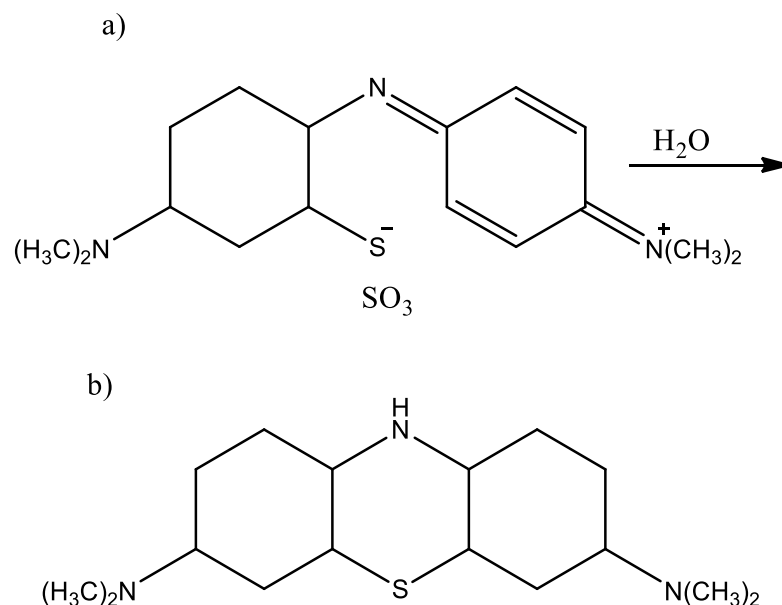
Los colorantes básicos de tiazina se derivan de las indaminas mediante la introducción de un puente de azufre entre los anillos aromáticos y pueden obtenerse en este sentido mediante sulfuración directa de las indamidas con ácido sulfhídrico en presencia de agentes oxidantes. De esta forma obtuvo Lauth, en 1876 el colorante más sencillo de la serie, que fue denominado en su honor violeta de Lauth, mediante la condensación oxidante de dos moléculas *p*-fenilendiamina y sulfuro de hidrogeno, esta misma reacción fue utilizada en el mismo año por N. Caro obteniendo el Azul de Metileno, teniendo como producto intermedio el verde de Bindschedler (para R=CH₃).

El azul de metileno posee una extraordinaria importancia técnica, se obtiene del modo más ventajoso según BERNTHSEN (1888), oxidando la *p*-aminodimetilanilina en presencia de tiosulfato sódico, formando el ácido *p*-amino-dimetilanilintiosulfónico [Esquema 1].



Esquema 1. Ácido *p*-amino-dimetilanilintiosulfónico

La oxidación conjunta de este compuesto y dimetilanilina suministra una indamina, la cual por ebullición con disolución de ZnCl₂ se transforma en el leucoderivado del azul de metileno [Esquema 2].

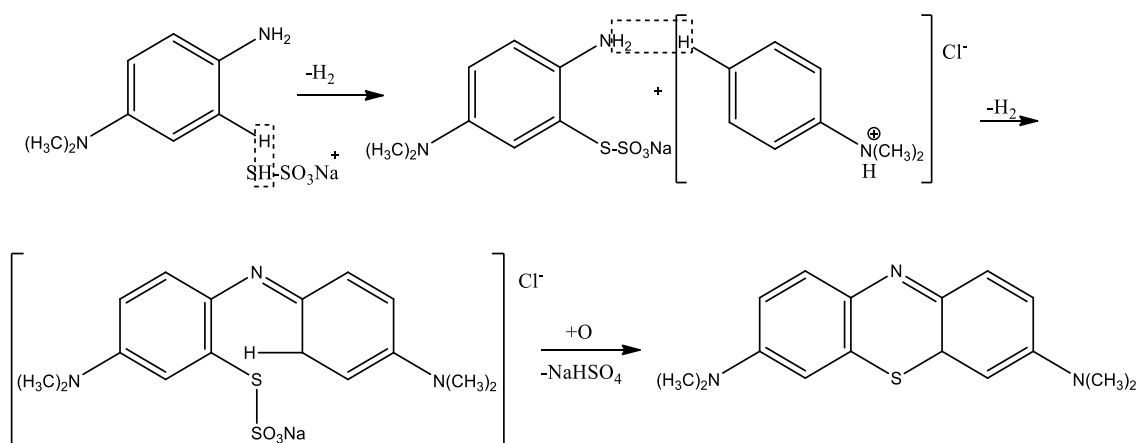


Esquema 2. a) Indamina, b) Leucoderivado del Azul de Metileno

El leucoderivado del azul de metileno se presenta en forma de agujas incoloras que funden a 185°, este compuesto se oxida a azul de metileno con extraordinaria facilidad.

El azul de metileno se emplea para teñir principalmente algodón mordentado con tanino y en parte también en forma de leucoderivado (estampado en indianas). El color de los compuestos tiazinicos se explica, análogamente como las indaminas y colorantes trifenilmetánicos, por mesomería entre diversas estructuras de valencia. Los colorantes tiazinicos forman con sus leucoderivados sistemas redox reversibles, cuyo potencial depende del pH a 30° y con pH=0, el potencial normal del violeta de Lauth es +0.563 v, y del azul de metileno +0.532 v. el azul de metileno es por consiguiente, un oxidante bastante más débil que la quinona.

Posteriormente para la síntesis del azul de metileno se utilizó el procedimiento de Bernthsen (1888), en el cual tiene lugar la introducción del azufre (mediante tiosulfato de sodio) ya en el producto intermedio de indamina, de modo que se forma una indamina sulfurada que después experimenta fácilmente una ciclación de un derivado de la tiazina [Esquema 3].



Esquema 3. Síntesis del Azul de Metileno

Además, el azul de metileno posee también débiles propiedades antisépticas, por lo que se utiliza como producto farmacéutico, en particular en veterinaria para combatir epizootias.

El azul de metileno es una sustancia que tiene forma cristalina o polvo cristalino y presenta un color azul oscuro, con brillo bronceado, sus disoluciones en agua o en alcohol son de color azul intenso, es fácilmente soluble en el agua y en cloroformo, también es moderadamente soluble en alcohol.

Los colorantes ácidos de la serie de la tiazina derivan de forma análoga de los indofenoles por introducción de puentes de azufre y contienen restos sulfónicos o carboxílicos como grupos propiamente ácidos. Se preparan de forma análoga a la síntesis del azul de metileno de Bernthsen por condensación oxidante de *p*-amino-dimetilanilina con ácidos polifenol-carboxílicos (o también *o*-quinon carboxílicos) o ácidos polifenol-sulfónicos en presencia de tiosulfato sódico. Por ejemplo, utilizando ácido gálico como componente de la condensación se obtiene la galotionina, que algunas veces se usa en la impresión de tejido, y cuando se utiliza el ácido 1,2- naftoquinon-6-sulfónico se obtiene la combinación sulfonada correspondiente, que es el azul de alizarina brillante 3R [Figura 3].

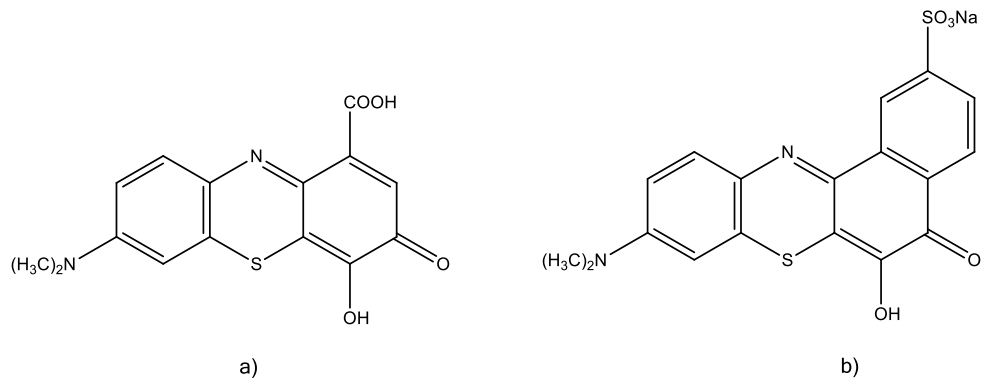


Figura 3. Fórmula estructural de la; Galotionina(a) y Azul de Alizarina brillante3R (b)

Ambos colorantes pueden formar lacas coloreadas estables con los metales pesados como consecuencia de la posición inmediata de grupos carbonílicos y carboxílicos. Por tanto, pueden utilizarse como colorantes con mordentado previo y constituyen una transición hacia los colorantes con mordentado previo del tipo naftazarina y alizarina. Dado que el azul de metileno es empleado para teñir algodón, hay diferentes colorantes que son empleados en la industria textil para diferentes telas específicas.^{1, 2}

6.2) Tipos de Colorantes.

6.2.1) Colorantes en la Industria Textil.

Los colorantes empleados en la industria textil se distinguen entre colorantes naturales y artificiales, los artificiales se encuentran en un alto porcentaje incluso podría decirse que lo son en su totalidad. Sin embargo los colorantes naturales han sido tan importantes en la historia del vestido y la ornamentación que resulta imposible ignorarlos; el púrpura, la cochinilla, el índigo, el palo de Campeche, etc.

Se debe agregar que la mayoría de los colorantes textiles utilizados son de origen sintético, es decir, poseen una alta solubilidad en agua, son altamente resistentes a la acción de agentes químicos y poco biodegradables. Se calcula que alrededor del 60% de los colorantes para la industria textil son colorantes reactivos, que se caracterizan por crear una unión éter con la fibra, garantizando un color duradero.

Las moléculas de los colorantes están constituidas por dos grupos fundamentales: El grupo *cromóforo*, responsable de producir el color y *auxocromóforo* [Figura 4] el cual hace que las moléculas sean más solubles y den mayor afinidad hacia las fibras.

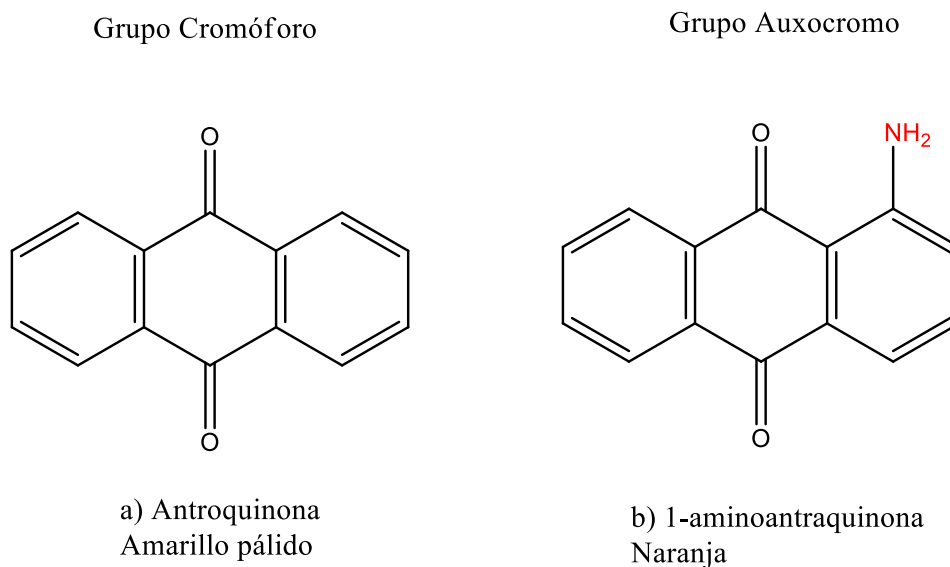


Figura 4. Estructuras químicas con representaciones de grupos cromóforos y auxocromóforos

Los colorantes usados en la industria textil son de diversos tipos y pueden ser clasificados dependiendo de varios factores, tales como su estructura química, clase de aplicación o uso final. Cada tipo de colorante presenta características físicas, químicas y biológicas diferentes, que les atribuyen propiedades recalcitrantes y efectos tóxicos para el ambiente.

6.2.2) Colorantes Naturales.

El índigo es el colorante natural más utilizado en todos los tiempos, incluso actualmente, debido a su solidez; resiste bien a la luz, al lavado, a los álcalis y ácidos. Se utiliza en teñido textil como colorante a la tina. El índigo es el colorante que mayormente se utiliza para el teñido de los jeans y prendas vaqueras azules. Esta sustancia se extrae de plantas del género *indigofera* (su producción principal es en Asia Sur Oriental) el compuesto de interés esta en forma de glucósido; éste se hidroliza por ácidos o por fermentos en glucosa e

indoxilo y se oxida de forma natural por el oxígeno [Figura 5] del aire y se transforma en el colorante índigo o añil.

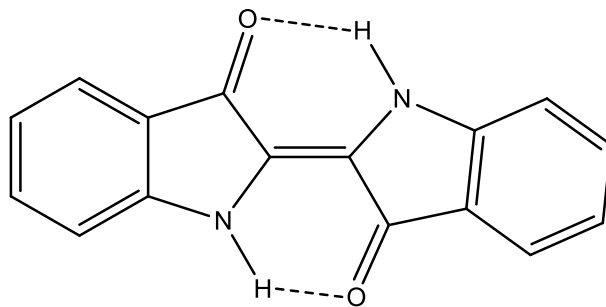


Figura 5. Estructura química del colorante Índigo

Una vez que se consiguió aislar esta sustancia, su producción química ha hecho al índigo un colorante artificial barato y abundantemente natural.

6.2.3) Colorantes Artificiales.

Son los más importantes en la industria textil, muchos de ellos son aislados de compuestos naturales o sintetizados en el laboratorio. A continuación se enlista la clasificación de estos colorantes.

6.2.4) Colorantes Ácidos.

Este tipo de colorantes son utilizados para teñir fibras proteicas en medio ácido, su grupo cromóforo es aniónico, dentro de esta clasificación encontramos los colorantes azóicos [Figura 6] los cuales se conforman de los tintes amarillos, anaranjados, rojos, escarlatas, marinos sólidos, algunos verdes oscuros, y marrones (mezclas de varios colorantes azóicos).

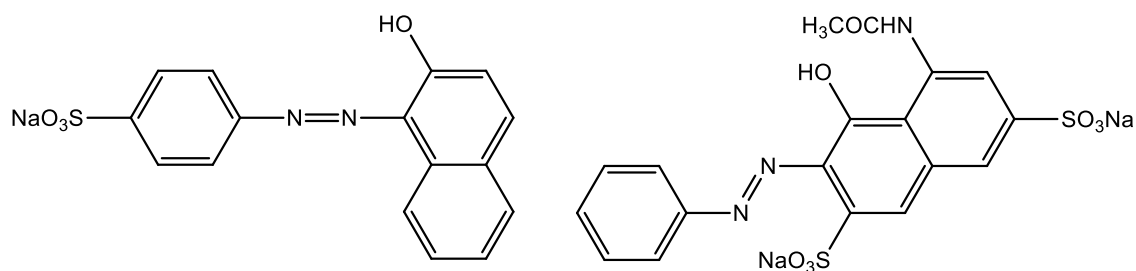


Figura 6. Colorantes Azoicos

Los colorantes antranoquinónicos forman parte de los colorantes ácidos, estos colorantes tienen buena solidez a la luz y a tratamientos en húmedo, estos compuestos tienen la propiedad de oxidarse con la humedad ambiental una vez teñidos.

Los colorantes trifenilmetánicos (colorantes ácidos) tienen su índice de solubilidad (en agua) y su índice de afinidad en relación inversa, es decir a mayor solubilidad, menor índice de afinidad, en esta clasificación encontramos los colorantes violetas, azules y verdes de tonos muy brillantes.

6.2.5) Colorantes Directos.

Se llaman así porque tiñen la fibra sin necesidad de un segundo producto que actúe como mordiente de ésta. Existen dos familias de colorantes directos:

a) colorantes azoicos [Figura 7] son derivados de aminas aromáticas.

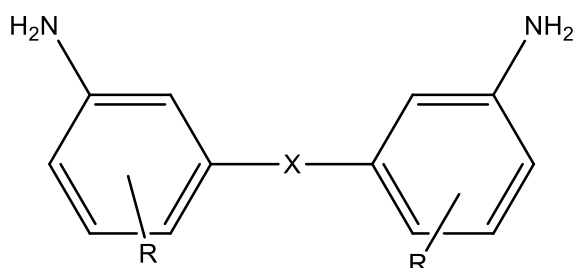


Figura 7. Los colorantes azoicos derivados de aminas aromáticas.

b) colorantes tiazólicos se llaman así porque en su molécula contienen el anillo tiazólico.

Estos colorantes son solamente amarillos, anaranjados y pardos.

En donde X puede ser:

- -HN-NH-
- Arildiaminas, enlace simple de bencidínicos.
- -CH=CH- , etilbenícos
- -NH-
- -O-
- -S-
- -CONH-
- -NH-CO-NH-

En donde R puede ser:

- -H
- SO₃Na
- -Cl
- -NO₂
- -OH
- -CH₃
- -OCH₃
- -OCH₂-CONa

Las características de los colorantes artificiales directos son las siguientes:

- ✓ Generalmente son solubles en agua.
- ✓ Su solubilidad aumenta con el número de grupos sulfónicos y disminuye al aumentar su peso molecular.
- ✓ En frío forman soluciones coloidales.
- ✓ Alta estabilidad en medio ácido, aunque tienden a enrojecer.
- ✓ En presencia de agentes reductores rompen su molécula hacia derivados aminados.

6.2.6) Colorantes a la Tina.

Son colorantes que tienen entre sí diferente constitución química pero todos son insolubles en agua. Por su reducción en un medio alcalino se transforman en leucoderivados hidrosolubles. El proceso de reducción se fundamenta en la acción reductora del hidrógeno sobre el grupo carbonilo [Figura 8], transfiriéndolo al grupo alcoholico.

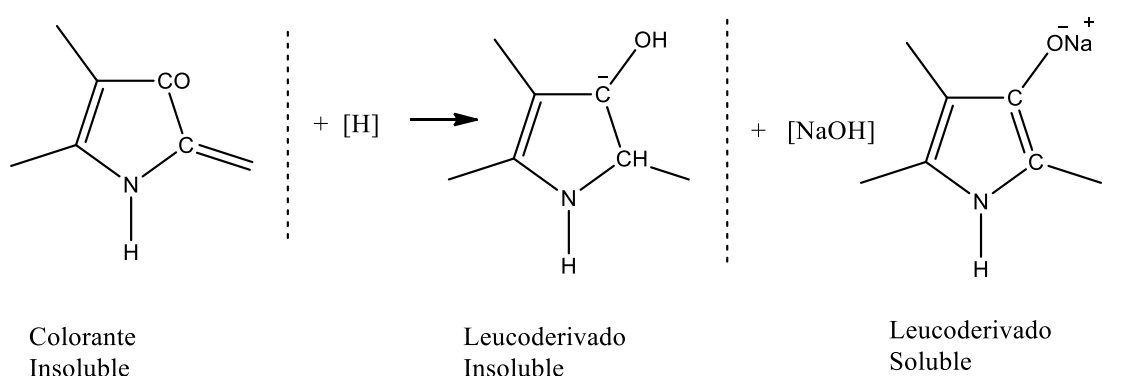


Figura 8. Colorantes a la Tina.

Una vez realizado el teñido, es fácilmente oxidable por el oxígeno del aire. Estos colorantes dan teñidos más brillantes que los antraquinónicos, pero menos sólidos ante la luz y el lavado.

6.2.7) Colorantes Dispersos.

Estos colorantes son compuestos orgánicos no iónicos. Se aplican con un dispersante, porque son insolubles en agua y se caracterizan fundamentalmente porque tienen un alto grado de dispersión. Se emplean para la tintura de rayón, acetatos y poliésteres.

6.2.8) Colorantes Sulfurosos.

Se llaman sulfurosos porque en su molécula está presente el azufre [Figura 9], la cual puede ser oxidada con facilidad.

Por su aspecto, los colorantes sulfurosos son parecidos a los colorantes de tina; tiñen las fibras directamente en estado reducido y se combinan con los

colorantes básicos para dar una laca insoluble; la cantidad de colorante absorbido depende de su porcentaje en la solución, de la concentración de sal en el baño y de la temperatura. Lo mismo que los colorantes de tina, también son insolubles en agua pero solubles en medio alcalino y en presencia de sulfuro sódico como agente reductor. Son colorantes muy económicos pero sus matices son muy pobres.

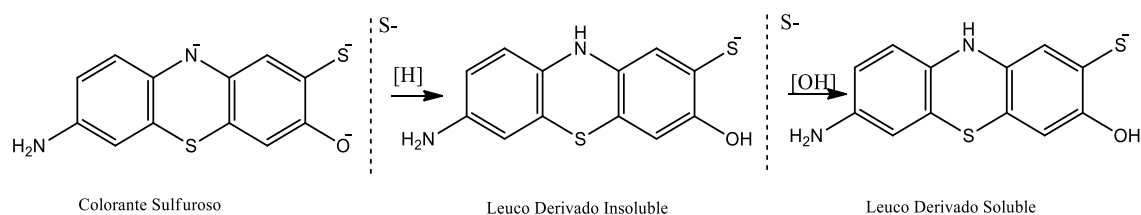
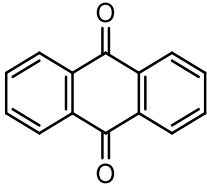


Figura 9. Colorantes Sulfurosos.

A continuación se resumen los diferentes tipos de colorantes de acuerdo a su grupo cromóforo y su aplicación [Tabla 1 y 2].

| Familia | Grupo Cromóforo | Descripción |
|----------------------|---|---|
| Azoicos | Ar-N=N-Ar Grupo Azo | Estos colorantes se caracterizan por tener un grupo funcional azo, consistente en un enlace doble -N=N- unido a átomos de carbono, sus propiedades de color aportan un rango de matices prácticamente completo y alta intensidad, además presentan estabilidad a la luz, al calor, al agua y a otros disolventes. |
| Antraquinonas |  Antraquinona | Los colorantes a base de antraquinonas y quinonas aromáticas policíclicas tienen gran importancia en la industria textil por su costo y estabilidad. |

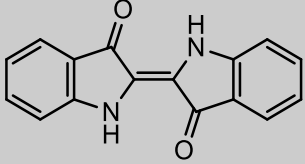
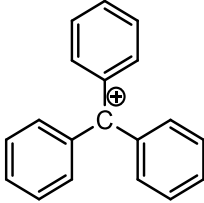
| | | |
|-----------------------|--|--|
| Indólicos |  <p>Índigo</p> | <p>El compuesto progenitor del grupo de colorantes indigoides, es el índigo, este colorante se obtiene de la planta indigofera, el compuesto puede reducirse por fermentación o por medio de hidrosulfito de sodio, una vez reducido puede aplicarse a fibras celulósicas para después oxidarlo y obtener teñidos azules de gran brillantez.</p> |
| Trihalometanos |  <p>Catión Trifenilmetileno</p> | <p>Estos colorantes están caracterizados por un grupo cromóforo altamente estabilizado por resonancia, son uno de los colorantes más intensos y brillantes que existen, pero generalmente exhiben poca solidez a la luz.</p> |

Tabla 1. Clasificación de colorantes de acuerdo a su grupo cromóforo

| Clase | Solubilidad | Producto Químico Principal | Aplicaciones | % de Fijación | Probables contaminantes |
|---------------|------------------|---|---|---------------|---|
| Ácidos | Solubles en Agua | Tipo Azo Antraquinona Trihalometano | Nylon, lana, seda, acrílicos modificados, y también en cierta medida para el papel, cuero, impresión de chorro de tinta, los alimentos y cosméticos | 80-93 | Ácidos Orgánicos. Aminas Aromáticas. |

| | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|--|--|-------|--|
| Básicos | Solubles en Agua | Tipo Azo Antraquinona Oxazina Triarilmetano | Papel, nylon, poliéster modificado, seda, lana y el algodón tanino mordentado | 97-98 | Ácidos Orgánicos. Aminas Aromáticas. |
| Dispersos | No iónicos Insolubles en agua | antraquinona, nitro y grupo benzodifuranona | Poliéster, en cierta medida nylon, celulosa, acetato de celulosa y fibras de acrílico | 80-92 | Sales, surfactantes, fosfatos, lubricantes, dispersantes |
| Directos | Solubles en Agua, aniónicos | Contienen poliazos, ftalocianinas y oxazinas | Algodón, rayón, cuero y en cierta medida en nylon | 70-95 | Aminas aromáticas, sales, surfactantes |
| Reactivos | Solubles en agua | Contienen grupos cromóforos, como azo, antraquinona, triarilmetano, ftalocianina | Generalmente se utilizan para el algodón y otros materiales celulósicos, pero también se utiliza en menor medida en lana y nylon | 60-90 | Aminas aromáticas, sales, surfactantes |
| Sulfurados | Solubles en Agua | No poseen estructura determinada | Algodón, rayón, tienen un uso limitado con fibras de poliamida, seda, cuero, papel y madera | 60-70 | Aminas aromáticas, álcalis, agentes oxidantes y reductores |
| Mordentes | Solubles en Agua | Azo y Antraquinona | Lana y Seda | 85-98 | Aminas aromáticas, |

| | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | sales orgánicas, halogenados, metales pesados, color no fijado |
|--|--|--|--|--|--|

Tabla 2. Clasificación de colorantes de acuerdo a su forma de aplicación.

6.2.9) Colorantes de Tipo Azo.

Estos colorantes son los más importantes ya que pertenecen a este grupo casi la mitad de los colorantes sintéticos, estos colorantes están caracterizados por la presencia de uno o más grupos “azo” en su molécula. La estructura química de este tipo de colorantes, se caracteriza por la presencia del grupo azo $-N=N-$ como un ente cromóforo, asociados a grupos auxóchromos de tipo amino o hidroxilo.

En principio, cualquier amina aromática primaria es capaz de generar azo-compuestos por un proceso llamado acoplamiento. El proceso consta de dos pasos fundamentales:

- Formación de la sal de diazonio por diazotación de la amina primaria.
- Acoplamiento de la sal de diazonio con el sustrato acoplante.

Cualquier sustituyente sobre el radical R que incremente la carga negativa (densidad electrónica) también favorecerá esta reacción. Entre los grupos atractores de electrones se encuentran: $-COOR$, $-CO$, $-COOH$, $-CN$, $-NO_2$, $-SO_3H$ y entre los donadores: $-NH_2$, $-OH$, $-CH_3$, etc.

Otra manera general de sintetizar colorantes azo es mediante el acoplamiento oxidativo de hidrazonas heterocíclicas utilizando agua oxigenada en presencia de sales ferrosas, ferrocianuro de potasio, persulfato de amonio,

tetra-acetato de plomo, etc. Para homogenizar el medio se utilizan solventes como alcoholes de bajo peso molecular, glicoles, dimetilformamida y otros.

Todo colorante azo comercialmente es identificado por el sistema de índice de color (Colour Index), a cada colorante se le da un nombre genérico, por ejemplo: marrón directo, que brevemente da información sobre la aplicación y color, además del nombre genérico, cinco dígitos se le destinan ambiguamente para identificar la estructura química del colorante. En el sistema de "Índice de Color", los colorantes azo se proveen con los números desde 11,000 a 39,999 que corresponden a la clase química siguiente: Mono azo (11,000 – 19,999), Diazo (20,000 – 29,999), Triazo (30,000 – 34,999), Poliazos (35,000 – 36,999), Azoico (37,000-39,99).

6.2.10) Clasificación de los Colorantes Azo.

Los colorantes azo pueden subdividirse en dos grupos: los iónicos y no iónicos. En general, los colorantes azo iónicos son casi completamente o parcialmente disociados en solución acuosa. Los colorantes azo no iónicos, por otra parte, son únicos por su baja solubilidad (<100 mg/L). El coeficiente de partición, Kow, estimado para los colorantes iónicos son generalmente muy bajo, p. ej. 10-5 para el Naranja ácido 10*, y 100 para el Negro Directo 38*. Sin embargo, los no iónicos tienen coeficientes de partición muy altos (Kow), por ejemplo, 3630 para el azul disperso 79*, y 11220 para el Amarillo Solvente 2.

Considerando el número de grupos azo presentes en la molécula se tiene mono- diazo, triazo compuestos y policondensados, en cada clase hay representantes de los diferentes grupos tintóreos, debido a la abundancia de los colorantes de esta familia identificarlos de acuerdo con su constitución química resultaría demasiado complejo, especialmente para los poliazos y por ello el CI ha adoptado una notación adicional que informa acerca de su síntesis: en cuanto a la sal de diazonio, representada por la amina precursora, al sustrato y a las condiciones de reacción (ácida o básica); utilizando un sistema de flechas para indicar la secuencia de condensaciones.

Para planificar la síntesis de los colorantes azo debe considerarse cuál sistema aromático debe ser el sustrato y cuál el que aporta el grupo diazonio. Como regla general se acepta que la porción aromática que contiene grupos atractores de electrones corresponde a la de la sal de diazonio y que los donadores de electrones se ubican sobre el sustrato acoplante. Los colorantes diazo “secundarios” se preparan en etapas de acoplamiento consecutivas. Están subdivididos según el CI en cuatro grupos, dependiendo de la naturaleza del acoplamiento azoico y el componente diazo.

El término azoico se reserva en la clasificación tintórea, a los colorantes azo producidos sobre la fibra. Es por ello que para identificar este grupo químico, en ocasiones se usa indistintamente la denominación “colorante azo” o “azoico”. Los colorantes poliazoicos, en su mayoría sustantivos para fibras celulósicas, están divididos en grupos con el mismo criterio que para los bisazoicos. Debido a la acumulación de grupos azo predominan los colores verdes, azules y negros en contraste con el monoazo y el diazo que exhiben amarillos, naranjas y rojos.

6.2.11) Características de los Colorantes Azo.

Los colorantes dispersos azo tienen muy baja solubilidad en agua y son apropiados para fibras hidrofóbicas, estos compuestos constituyen casi la mitad de la producción de colorantes, siendo las antraquinonas el otro grupo químico importante de esta clasificación tintórea. Generalmente este tipo de colorantes azo se utiliza para teñir poliésteres, acetato de celulosa y nylon, porque cubren bien los defectos causados por la tejedura no uniforme, este proceso de teñido es conocido como efecto “barré” (barras o listas en los tejidos). Esta clase de colorantes presentan en su estructura química aminoazobenceno con grupos alquilo, CN, NO₂ o Cl, en posiciones *para* la función diazo; si hay grupos NO₂, CN, en posición *orto* al diazo los colorantes son muy estables a la luz, gracias a la formación de quelatos internos.

6.2.12) Colorantes Básicos.

Este tipo de colorantes tiñen fibras animales (lana, seda) de forma directa; pero de entre las naturales vegetales, solo el yute tiene afinidad por estos colorantes. Dentro de las fibras artificiales celulósicas indirectamente, mordentadas con tanino; sólo el rayón nitro-seda tiene afinidad por los colorantes básicos.

En la tintura de estas fibras para controlar el proceso de tintura con colorantes básicos se utilizan agentes catiónicos-aniónicos adicionales. Estos agentes son sales de bases orgánicas que fuerzan al grupo cromóforo a unirse al catión, resultando el anión incoloro. Esta reacción química da como resultando tres grupos de colorantes básicos nuevos:

- Colorantes con carga positiva deslocalizada; derivados del difenilmetano y trifenilmetano.
- Colorantes con carga catiónica localizada; de tipo antraquinónico o azoico, que poseen elevada solidez a la luz y buena estabilidad al pH.
- Colorantes con estructura heterocíclica, conteniendo nitrógeno cuaternario; estos son solubles en alcohol etílico; menos solubles en agua.

A causa de la gran variedad de colorantes que se emplean en la industria textil, se generan grandes cantidades de aguas residuales contaminadas con colorantes, por lo que se emplean tecnologías y técnicas de degradación de estos compuestos desde procesos físico-químicos, biológicos y químicos.³

6.3) Métodos de Degradación.

Existen diferentes métodos de degradación de colorantes, los más conocidos son: la degradación fotocatalítica, fotodegradación por partículas de ZnO, tecnologías de membranas y sistema de degradación por hongos y bacterias.

6.3.1) Degradaciones Fotocatalítica de Diferentes Colorantes.

La degradación fotocatalítica de cinco diversos tintes se ha estudiado en suspensiones acuosas de TiO_2 / UV. Se intentó determinar la viabilidad de dicha degradación variando las estructuras químicas del colorante, ya sea antraquinónica (Alizarina S (AS)), o azoica (Crocein Orange G (OG), rojo de metilo (MR), rojo Congo (CR)) o heteropoliaromático (Azul de metileno (MB)).

Además de una pronta eliminación de los colores por fotocatálisis basada en TiO_2 / UV fue capaz de oxidar completamente los colorantes, con una mineralización completa de carbono en CO_2 .

Para la degradación del colorante azo (OG, MR, CR), el balance de masa completo en nitrógeno indica que el grupo central $-\text{N} = \text{N}-$ azo se convierte en dinitrógeno gaseoso, que es el problema para la eliminación de contaminantes que contienen nitrógeno, no solo para la fotocatálisis ambiental sino también para cualquier método fisicoquímico.

El agua resultante no solo se decolora sino que también se desintoxica cuando se somete a dicho tratamiento. La fotocatálisis aparece como un tratamiento valioso para la purificación y reutilización de efluentes acuosos coloreados en países semiáridos.

Estos resultados sugieren que la fotocatálisis con TiO_2 / UV puede concebirse como un método para el tratamiento de aguas residuales de color diluido, no solo para la decoloración, sino también para la desintoxicación, en particular en las industrias textiles en países semiáridos.⁴

6.3.2) Fotodegradación por Partículas de ZnO.

La fotocatálisis se basa en la generación de pares electron-hueco, que generan radicales libres bajo la luz ultravioleta cuya energía excede la energía de banda del semiconductor mismo. La degradación fotocatalítica del colorante *azul de metileno* se llevó a cabo bajo luz ultravioleta en presencia de óxido de zinc (ZnO).

Las partículas de ZnO se sintetizaron mediante un método de precipitación química simple en el que se utilizó carboximetil inulina como aditivo. Los experimentos muestran que las partículas de ZnO esféricas sintetizadas exhiben una notable actividad fotocatalítica.

Con el fin de determinar la estructura cristalina y la pureza de fase de las partículas de ZnO, se obtuvieron patrones de XRD (análisis de difracción de rayos X en polvo) para partículas de ZnO tanto calcinadas como no calcinadas [Figura 10].

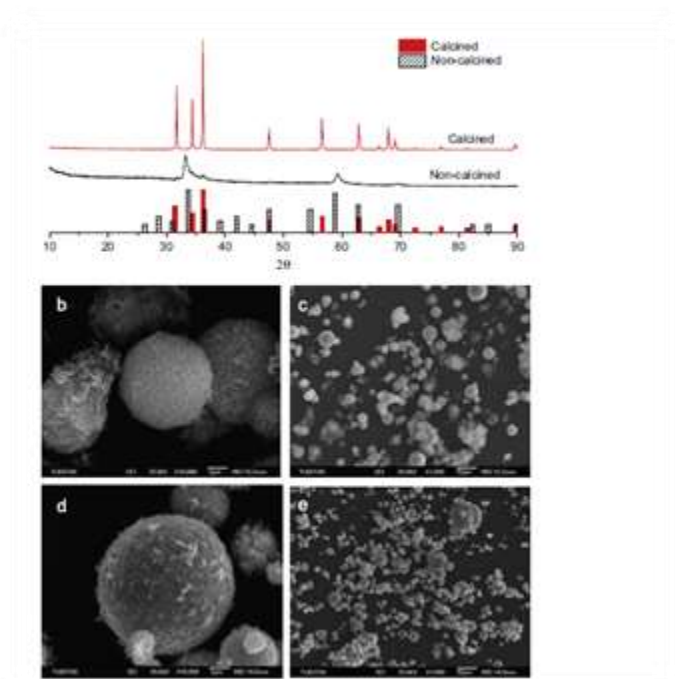


Figura 10. Patrón de XRD de partículas de ZnO (a), imágenes SEM de partículas de ZnO antes (b, c) y después (d, e) de calcinación a 700 °C.

La figura 10 b, c muestra que las partículas de ZnO tienen una estructura de forma esférica que contiene formas similares a escamas. La figura 1d, demuestra que las formas de copos se convirtieron en formas redondas por calcinación a 700 °C. Los diámetros medios de partícula (D_{ave}) para cada muestra se calcularon midiendo los tamaños de partícula en SEM_{images}, las partículas obtenidas a 95°C estaban en forma de esfera con un valor de D_{ave} de 410971498 nm [Figura 10 c], el valor de D_{ave} de las partículas disminuyó por calcinación y se encontró como 350672088 nm [Figura 10 e].

En los experimentos de actividad fotocatalítica, se añadieron 0,1 g de fotocatalizador de Zn sintetizado en una solución de 5 mg /L de MB bajo agitación constante. Antes de la iluminación UV, la suspensión se agitó continuamente durante media hora para alcanzar el equilibrio de adsorción-desorción con colorante MB en la superficie del fotocatalizador en la oscuridad, luego la solución de colorante se expuso a la iluminación con luz UV bajo agitación constante, los cambios de concentración de la solución de colorante se midieron usando un espectrómetro UV-vis.

En este estudio, la actividad fotocatalítica de partículas de ZnO similares a esferas sobre la degradación de MB se llevó a cabo bajo luz ultravioleta, la tasa de degradación relativamente más alta se obtuvo con partículas de ZnO similares a esferas calcinadas y el contenido de colorante azul de metileno en la solución de 300 ml (que contiene 0,05 g ZnO) disminuyó al 2,8% de su valor inicial en 1103 minutos, si bien el valor de la constante de velocidad de degradación fue de $0.12 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ sin fotocatalizador, los valores de los mismos se obtuvieron respectivamente a $1.71 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ y $3.27 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ con fotocatalizadores calcinados y no calcinados. Los resultados obtenidos muestran que las partículas de ZnO similares a esferas tienen un potencial para usarse como fotocatalizador en la degradación del colorante.⁵

6.3.3) Degradación Fotocatalítica del Azul de Metileno Sobre CaIn_2O_4 Bajo Irradiación de Luz Visible.

La degradación fotocatalítica del azul de metileno (MB) se investigó primero sobre el fotocatalizador de CaIn_2O_4 bajo irradiación con luz visible, se observó que el MB se degradó en gran medida después de la irradiación con luz visible durante 120 minutos sobre el fotocatalizador a temperatura ambiente en el aire, además se detectó la disminución de la concentración del MB, lo que indica que MB se mineralizó sobre el fotocatalizador CaIn_2O_4 bajo luz visible.

El proceso fotocatalítico semiconductor ha atraído mucha atención, especialmente a científicos que realizan estudios en la degradación fotocatalítica de tintes orgánicos. La cantidad de tintes han crecido rápidamente en los últimos 10 años [3, 4], porque alrededor del 15% de la producción mundial total de tintes se pierde durante el proceso de teñido y se libera en los

efluentes textiles, que contaminan en gran medida las aguas subterráneas. Hasta ahora, una serie de informes han demostrado que los colorantes orgánicos podrían blanquearse o degradarse sobre los fotocatalizadores basados en TiO₂. Desafortunadamente, la degradación de la mayor parte de los tintes orgánicos todavía necesita radiación UV, excepto algunos tintes, como rojo de alizarina, rodamina B y X3B, que parecen ser degradados bajo luz visible sobre los fotocatalizadores basados en TiO₂ basados en el colorante. Entre los diversos tintes, el tinte de azul de metileno [Figura 11] es, en su mayoría, difícil de degradar bajo la luz visible y a menudo se utiliza como un contaminante colorante modelo para evaluar la actividad de un fotocatalizador.

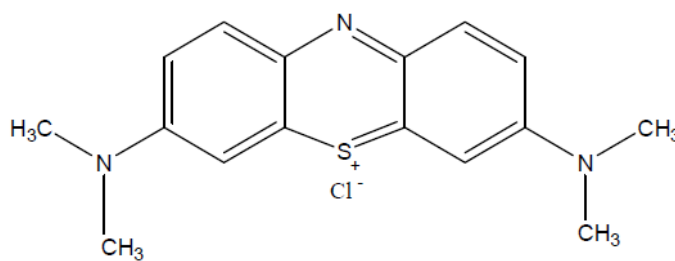


Figura 11. Azul de Metileno.

La estructura cristalina de las muestras se determinó mediante el método de difracción de rayos X. La propiedad fotofísica del fotocatalizador se midió mediante un espectrómetro UV-visible. El área de superficie de los fotocatalizadores se determinó mediante medición BET en la adsorción de nitrógeno a 77° K después del pretratamiento a 573° K durante 2 h.

La Figura 12 muestra la degradación del *azul de metileno* bajo radiación de luz visible (420 nm) sobre el fotocatalizador de CaIn₂O₄. La concentración de MB en la solución disminuyó rápidamente a 0 μmol / L después de que la luz visible irradiara durante 120 minutos, se percibió que el color de la solución también cambió de azul profundo a incoloro, los resultados mostraron que el *azul de metileno* se degradaba fácilmente con el fotocatalizador CaIn₂O₄ bajo luz visible, se observa que la tasa inicial de degradación de MB sobre el fotocatalizador fue de aproximadamente 7.1x10⁻⁸ mol/m²/s, de esta manera se

determina la eficacia cuántica, esta se estimó en 0,15% mediante el uso de un filtro de interferencia ($\lambda=400$ nm; medio ancho, 14,6 nm), lo que permite suponer que la conversión de una molécula de MB solo necesita un fotón, esta degradación del azul de metileno también se observó en condiciones de oscuridad, el resultado mostró que el colorante no se descompuso sin irradiación de luz.

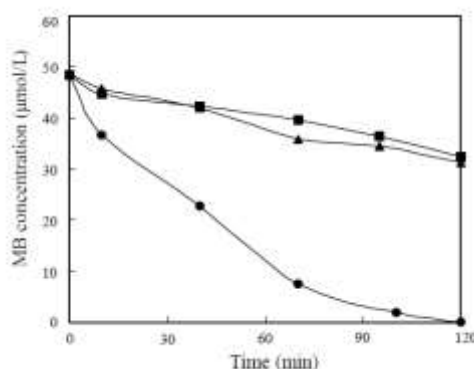


Figura 12. Degradación foto catalítica del azul de metileno bajo luz visible (420nm) a temperatura ambiente por 120 durante minutos

También se utilizó TiO_2 (P-25) para degradar azul de metileno, se observó que la concentración del colorante varió solo de 47.8 a 34.3 $\mu\text{mol} / \text{L}$ después de 120 minutos al irradiar con luz visible. Para comprender el origen de los fenómenos anteriores, la fotólisis del azul de metileno (es decir, el fotoblanqueo simple) también se realizó bajo irradiación con luz visible [Figura 12]. El resultado mostró que la tasa de fotólisis del colorante era aproximadamente la misma que la de la degradación del azul de metileno sobre P-25.

Aunque el grupo Zhao y el grupo Langford informaron que el rojo de alizarina y los colorantes X3B podrían degradarse sobre el fotocatalizador TiO_2 basado en fenómenos sensibles a colorantes inducidos por luz visible, nuestros resultados mostraron que el fotoblanqueo del colorante y la degradación fotocatalítica sobre TiO_2 en el proceso sensibilizado por el colorante fueron muy limitadas bajo irradiación con luz visible.

Uno de los productos principales de la degradación del azul de metileno es el anión de SO_4^{-2} , este se detectó a una concentración de 27,7 $\mu\text{mol} / \text{L}$ en la solución después de la reacción fotocatalítica sobre el fotocatalizador

(CaIn₂O₄) bajo irradiación con luz visible, lo que indicó que el 58% de azufre del colorante se convirtió en sulfato [Tabla 3].

| Photocatalyst | Surface area (m ² /g) | SO ₄ ²⁻ concentration (μmol/L) ^a |
|----------------------------------|----------------------------------|---|
| P-25 | 49.41 | 0 |
| CaIn ₂ O ₄ | 0.86 | 27.7 |

Tabla 3. Propiedades físicas de P-25 y CaIn₂O₄ así como sus propiedades fotocatalíticas

También informaron que el sulfato producido por la descomposición de MB podría adsorberse parcialmente en la superficie del fotocatalizador, después de la reacción fotocatalítica sobre P-25 bajo irradiación con luz visible, la concentración de ión SO₄²⁻ en la solución fue de 0 μmol / L. La Figura 13 representa la absorbancia de la solución del *azul de metileno* antes y después de la reacción fotocatalítica. Los picos entre 600 y 700 nm se asignaron a la absorción del sistema p conjugado, mientras que los picos cercanos a 300 nm se asignaron a la absorción del anillo aromático, se pudo observar que todos los picos originales desaparecieron y no se pudo observar un nuevo pico después de la reacción fotocatalítica de 120 minutos, lo que indica que no existían todos los anillos aromáticos en el colorante, aunque no todos los productos de la degradación del azul de metileno se detectaron en este estudio, se pudo deducir que debería haberse descompuesto en muchos fragmentos a partir del aumento de la concentración de SO₄²⁻.

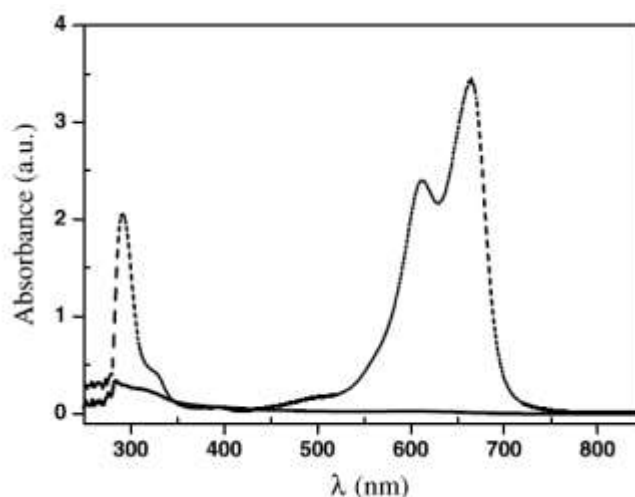


Figura 13. La absorbancia de la solución de azul de metileno antes y después de la reacción fotocatalítica.

Con el fin de observar la repetibilidad fotocatalítica del catalizador, el compuesto CaIn_2O_4 usado se filtró de la solución de reacción y se empleó de nuevo para degradar el *azul de metileno* bajo luz visible, se pudo observar que el fotocatalizador de CaIn_2O_4 usado mostró una actividad similar al fotocatalizador de CaIn_2O_4 reciente, en el análisis XRD de las muestras antes y después de la reacción fotocatalítica presentó que la estructura cristalina del fotocatalizador CaIn_2O_4 no cambió en la reacción, lo que indica que el fotocatalizador era estable.

Se encontró que la actividad fotocatalítica de CaIn_2O_4 disminuye con el aumento de la longitud de onda de la luz, si una reacción es impulsada por la luz, la variación de la longitud de onda de la luz afectará directamente la cantidad de fotones que ingresan al sistema de reacción, y luego la propiedad fotocatalítica. Teniendo en cuenta estos resultados en condiciones de oscuridad y diferente longitud de onda de luz, podría deducirse claramente que la degradación del colorante sobre CaIn_2O_4 fue realizada bajo luz visible.

La alta actividad bajo luz visible podría atribuirse a dos acciones: fotocatalisis directa y conversión fotocatalítica asistida por colorantes adsorbidos. Si bien solo se utilizó un fotocatalizador de óxido y podemos suponer que ocurren acciones similares a otros fotocatalizadores.⁶

6.3.4) Eliminación Selectiva Utilizando Material Polimérico de Intercambio Catiónico.

La investigación de la adsorción del *azul de metileno* se llevó a cabo para comprender el efecto la concentración inicial del colorante, el tiempo de contacto, el pH y la temperatura en la adsorción del colorante en el material polimérico de intercambio catiónico (Resina SST60), durante el proceso se añadieron 0,1 g de SST60 a 200 ml de solución del colorante azul de metileno, y el pH se ajustó usando NaOH 0,1 M o HCl 0,1 M. la mezcla de reacción resultante se mantuvo bajo agitación constante a 500 rpm., se determinó la concentración de colorante en la mezcla de reacción a una longitud de onda característica de 664 nm, mediante un espectrofotómetro UV-visible de doble haz (Perkin-Elmer, Lambda 2), posteriormente se calcularon las cantidades del azul de metileno adsorbidas por unidad de masa de adsorbente (q_e) a partir de las diferencias entre las concentraciones del azul de metileno inicial y final en solución mediante la ecuación 1:

Ec.1

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m}$$

Donde V es el volumen de la solución del azul de metileno en L; C_0 y C_e son las concentraciones iniciales y de equilibrio en mg / L respectivamente; y m es la masa de adsorbente en gramos.

6.3.4.1) Efecto de la Concentración Inicial y el Tiempo de Contacto en la Adsorción del Azul de Metileno.

Algunos parámetros pueden afectar la cantidad de colorante adsorbido, a) el tiempo de contacto, b) el efecto del tiempo de contacto en el proceso de adsorción, estos resultados se muestra en la Figura 14, los datos obtenidos revelaron que el equilibrio se alcanzó en un intervalo de tiempo entre 30 y 50 minutos, dependiendo de la concentración del azul de metileno utilizada. Los

datos también indican que más del 50% fue adsorbido dentro del rango de tiempo mostrado, además la tasa de proceso de adsorción es extremadamente rápida durante el período inicial de adsorción, debido al acceso más fácil a los sitios de adsorción vacantes, y luego disminuye con el tiempo hasta alcanzar el equilibrio que atribuye al consumo de sitios de adsorción ofrecidos por el material polimérico SST60.

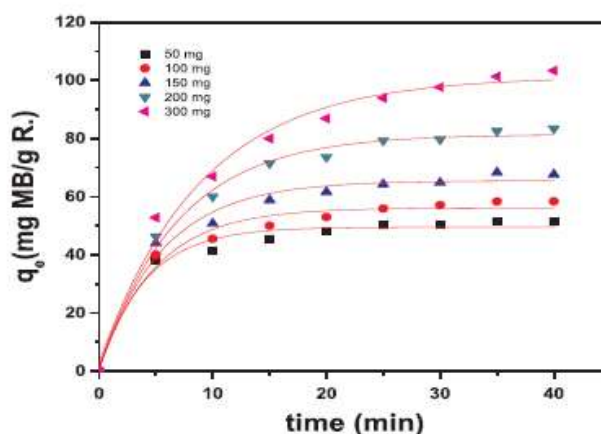


Figura 14. Efecto del tiempo de contacto del azul de metileno a diferentes concentraciones

6.3.4.2) Efecto de la Temperatura en la Adsorción de Azul de Metileno.

Dado que la velocidad de adsorción puede depender de la velocidad de difusión, el aumento de la temperatura de adsorción (288-308° K) provoca la movilidad iónica, por esta razón el aumento de la temperatura afecta fuertemente la velocidad y cantidad de especies adsorbidas en la mayoría de las reacciones de adsorción [Figura 15].

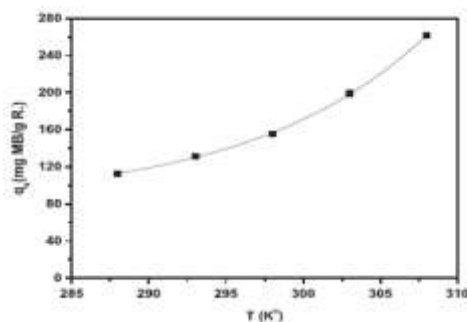


Figura 15 Efecto de la temperatura y concentración de azul de metileno.

Está claro que la capacidad de adsorción aumenta de 113 a 262 mg / g con el aumento de la temperatura de 288° a 308° K, lo que podría indicar la naturaleza endotérmica del proceso de adsorción del colorante en SST 60.

6.3.4.3) Efecto del pH de la Solución sobre la Adsorción del Azul de Metileno.

El efecto del pH en el proceso de adsorción utilizando intercambiadores iónicos que controla la carga superficial tanto del adsorbente como del adsorbido, se puede observar en la figura16 los datos obtenidos demuestran el efecto del pH sobre la adsorción del colorante en el compuesto SST60, indica la variación del pH en proporción a la cantidad de azul de metileno adsorbido.

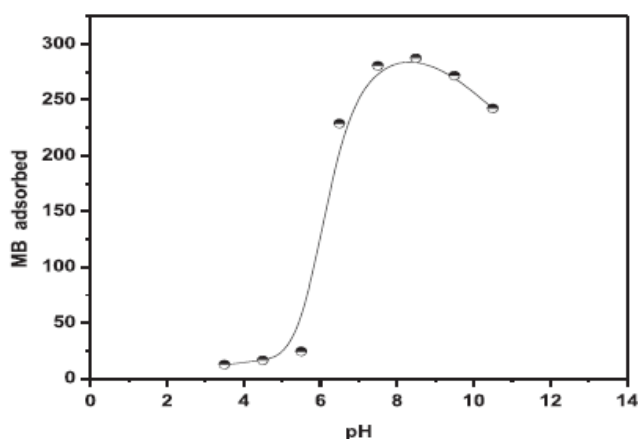


Figura 16. Efecto de pH arriba de la absorbancia de 300 mg/L a 35° del azul de metileno.

Por lo tanto, se determinó que la absorción del colorante era proporcional (12-24 mg / l) al pH utilizado (3.5 - 5.5). En este medio las moléculas de metilbromuro interactúan con los iones de hidrógeno que existen en la solución dando lugar a la formación de iones con carga positiva, las especies cargadas del azul de metileno no podían competir con los iones de hidrógeno que son adsorbidos favorablemente en lugar del azul de metileno al aumentar el pH, la cantidad del colorante adsorbido aumenta gradualmente hasta alcanzar un máximo rango de pH entre 8 y 9, la superficie del colorante no está cargada y por lo tanto puede interactuar fácilmente con los grupos

funcionales de los materiales poliméricos y reemplaza los iones positivos existentes (H^+ o Na^+) [figura 17].

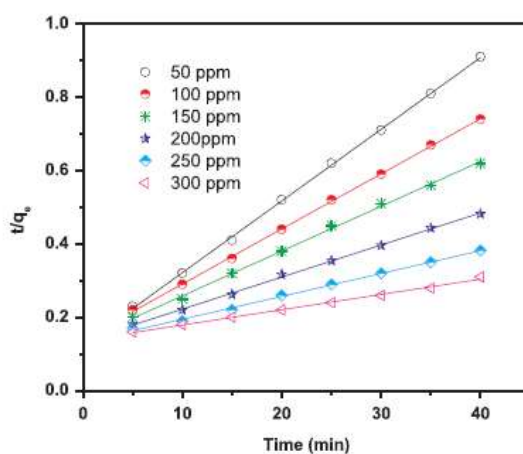


Figura 17. Modelo de pseudosegundo orden para la adsorción s del azul de metileno adsorbido por SST60

La figura 17 representa el gráfico de q_t frente a $t^{1/2}$ a diferentes concentraciones iniciales del colorante.

La relación obtenida es de un comportamiento multilíneal, que refleja el proceso de adsorción del cual podría controlarse mediante el pH.

El período inicial de la gráfica indica una transferencia de masa externa, mientras que la segunda porción lineal se debe a la difusión de intrapartículas o poros.

6.3.4.4) Columna de Lecho Fijo.

Se llevaron a cabo experimentos en columna de lecho fijo para evaluar la capacidad de remoción del azul de metileno sobre el compuesto SST60 [Figura 18], en tres ejecuciones de columnas separadas utilizando el intercambiador de cationes SST60, los resultados indican que la capacidad de los materiales poliméricos dura más de 11,000 volúmenes de lecho antes de la penetración del colorante, durante la ejecución en la columna, se reemplazan el protón H^+ unido a los grupos funcionales de los materiales poliméricos hasta el agotamiento completo, después del consumo de todos los grupos funcionales, el azul de metileno se difundía en el material polimérico y se adsorbe a través

de la interacción hidrofóbica-hidrófoba con la matriz polimérica que podría dar al adsorbente una capacidad adicional para durar muchos volúmenes de lecho.

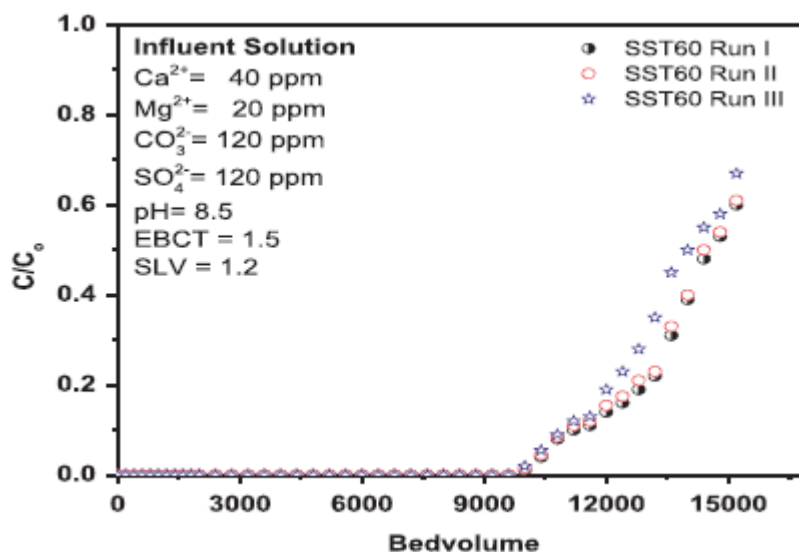


Figura 18. Columna de lecho fijo para la eliminación del azul de metileno.

Para la selectividad de SST60 hacia la adsorción del azul de metileno, se agregaron dos colorantes catiónicos diferentes al afluente (safranina y rosanilina HCl). Los datos obtenidos indicaron que los colorantes catiónicos usados no tienen un efecto competitivo con el azul de metileno.

6.3.4.5) Regeneración y Reutilización de SST60.

El uso de la columna de lecho fijo nos permite una regeneración completa del colorante tras el uso de diferentes concentraciones de HCl y C₂H₅OH, encontramos que la cantidad de *azul de metileno* se puede regenerar y este no excedió el 30% y el 70% para HCl y C₂H₅OH respectivamente.

Este hallazgo podría indicar que el uso de HCl solo puede regenerar el azul de metileno adsorbido en los sitios activos de materiales poliméricos debido al efecto de la membrana de Donnan, la adición de etanol facilita la lixiviación del colorante unido a la matriz de SST60, por lo que finalmente el intercambiador se regeneró usando una solución al 50% de HCl 2 M / 50% de etanol a un pH inferior $\leq 0,5$.

El efluente regenerante de dos sucesivos ciclos de sorción - desorción del azul de metileno se muestran en la Figura 19, tras la recuperación completa de SST60, podemos decir que el material polimérico se puede reutilizar de manera efectiva para múltiples ciclos de sorción-desorción durante la regeneración, por lo que no hubo degradación física o química de las esferas de SST60.

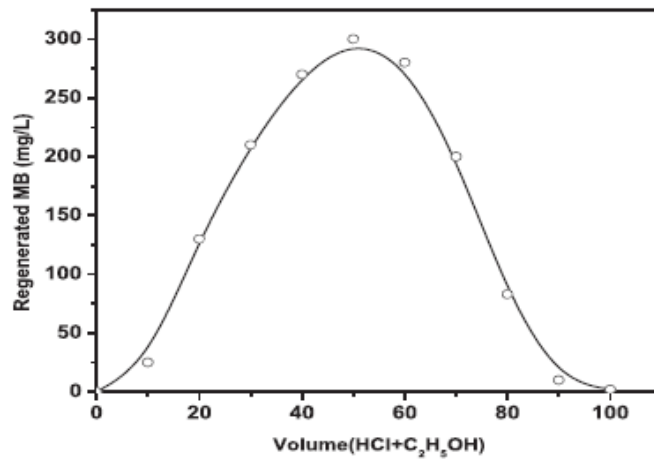


Figura 19. Regeneración de la adsorción del azul de metileno, usando 50/50 HCL / mezcla de etanol

6.3.4.6) Representación de Regeneración.

La Figura 20 es una representación propuesta de regeneración simplificada para el proceso de adsorción y regeneración.

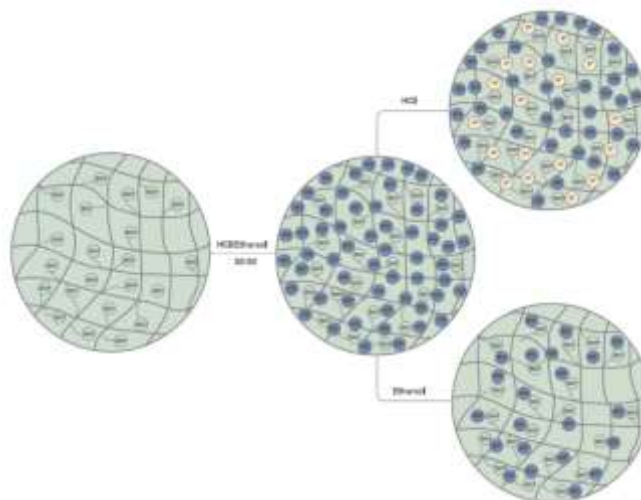


Figura 20. Representación propuesta para la adsorción y regeneración azul de metileno.

El SST60 podría ser un adsorbente eficaz para eliminar los colorantes catiónicos como el azul de metileno en una solución acuosa. Los datos obtenidos indican la dependencia del proceso del pH inicial y la temperatura del agua contaminada en equilibrio, para ajustarse se utilizaron las isothermas Langmuir, Freundlich, Tempkin que proporcionó un mejor ajuste matemático, la capacidad máxima de adsorción de la monocapa obtenida fue de 262 mg del colorante / g de SST60 a 308° K. El proceso de adsorción fue factible, endotérmico y espontáneo con valores inferiores de energía libre negativa (ΔG°). El cambio de entalpía estimado (ΔH°) y el cambio de entropía (ΔS°) para el proceso de adsorción fueron 25.88 kJ mol⁻¹ y 90.62 J mol⁻¹ K⁻¹, un valor mínimo de ΔG° sugiere un proceso de adsorción física, mientras que el valor positivo de ΔS° refleja la afinidad de SST60 por el azul de metileno y una mayor aleatoriedad en la interfaz de solución sólida durante la adsorción, los materiales poliméricos agotados se regeneraron eficientemente usando una mezcla 50:50 de soluciones de HCl 2 M y metanol al 75%.⁷

6.3.5) Papel de los Grupos Hidroxilo de Superficie de Zeolita Natural Tratada con Ácido sobre la Ozonización Catalítica Heterogénea de Aguas Contaminadas con Azul de Metileno.

En el proceso de degradación del colorante azul de metileno cabe resaltar esta técnica ya que se utiliza para el tratamiento de aguas contaminadas por el azul de metileno; la ozonización heterogénea que ha atraído importantes investigaciones en la última década desarrollado un novedoso método de ozonización que combina el proceso de ozonización y adsorción utilizando como adsorbentes la zeolita con alto contenido de sílice para el tratamiento del agua potable. Este proceso de ozonización adsorbente se basa en la adsorción mejorada de compuestos orgánicos y la adsorción de ozono.

En un proceso de oxidación avanzada, basándose en la combinación de zeolitas naturales y ozono para la eliminación de colorantes de los efluentes de las industrias textiles y del papel, el tratamiento se basa en las reacciones de ozonización en presencia de zeolita natural, esta comprende una combinación

de reacciones en fases homogéneas y heterogéneas; dado que la superficie de la zeolita juega un papel fundamental en el mecanismo de reacción, también se afirmó que los grupos hidroxilo en la superficie de la zeolita natural conlleva a un aumento en las tasas de eliminación de contaminantes orgánicos.

Si bien, la aplicación de ozono junto con zeolitas naturales parece ser de gran interés ya que las evidencias experimentales han mostrado que el uso de zeolita natural tratada con ácido aumenta la tasa de eliminación orgánica y se sabe que las zeolitas exhiben sitios activos que pueden participar en la superficie, raptando los sitios ácidos, como grupos OH ácidos (centros de ácido Brønsted), sitios "verdaderos" de Lewis (especies estructurales adicionales que contienen aluminio) y cationes.

6.3.5.1) Modificación Química de la Zeolita Natural.

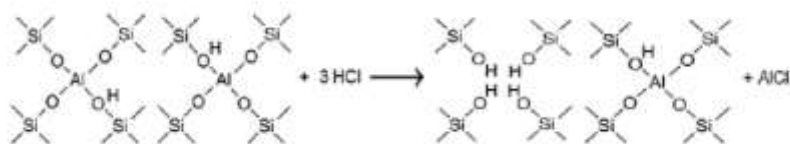
La zeolita natural (NZ) se modifica en un aparato de extracción Soxhlet durante 6 h, utilizando HCl (2,44 M) con una relación de 0,3 g de NZ por cm^3 de solución ácida, después del tratamiento con ácido, las muestras se lavaron con agua desionizada y se secaron en un horno a 378°K durante 24 h, las muestras secas se almacenaron en un desecador hasta su uso.

6.3.5.2) Características Químicas Estructurales.

La zeolita tratada con ácido era física y químicamente caracterizada, su área superficial específica y el volumen de poro se obtuvieron por adsorción de nitrógeno a 77°K , usando un sorptómetro Micromeritics Gemini 2370 (Norcross, GA, EE. UU.), para estos ensayos, se usaron 0,2 g de muestra, previamente desgasificada a 623°K durante 3h bajo flujo de nitrógeno, en el área superficial específica (S_{N_2}) se calculó a partir de los datos de adsorción de nitrógeno, usando la ecuación BET los volúmenes de microporos (V_{micro}) y mesoporos (V_{meso}).

La composición química se determinó mediante fluorescencia de rayos X (XRF) los cambios en el marco de zeolita natural debido al tratamiento con HCl, sugirieron que la zeolita natural sufrió cambios estructurales, que implican la

expulsión de aluminio en una forma soluble y se reemplazó por un conjunto de cuatro grupos hidroxilo, como se muestra en la representación dada en el esquema 4, los resultados del análisis XRF mostraron los cambios en la composición de zeolita natural.



Esquema 4. Representación esquemática de la reacción de desaluminación de zeolita natural usando HCl

6.3.5.3) Caracterización Ácida y Básica del Sitio de Superficie.

La Figura 21 muestra la densidad de carga superficial (r) de la muestra de zeolita tratada con ácido en función del pH, la Tabla 4 resume las principales características texturales y químicas de la zeolita tratada con ácido.

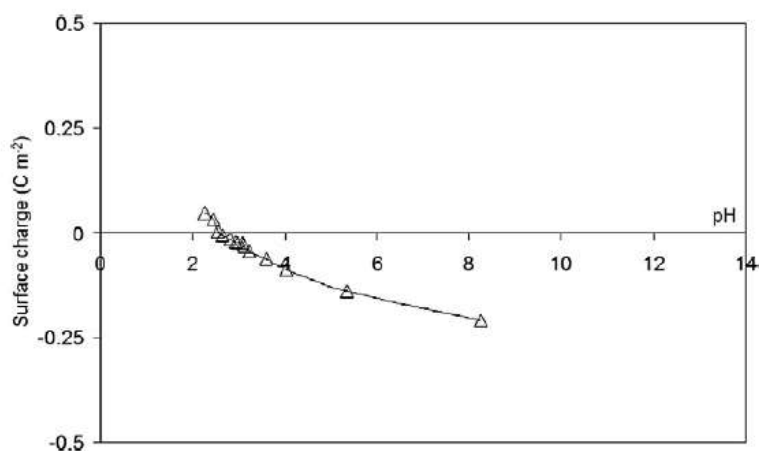


Figura 21. Variación de la carga superficial de la zeolita natural tratada con ácido como una función del pH: (O) datos experimentales, (-) curva simulada usando el software ProtoFit.

| S_{N_2} ($m^2 g^{-1}$) | V_{micro} ($cm^3 g^{-1}$) | V_{meso} ($cm^3 g^{-1}$) | $pK_{a_1}^{int}$ | $pK_{a_2}^{int}$ | pH_{PZC} |
|----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------|------------------|------------|
| 344 | 0.16 | 0.01 | 2.7 | 3.0 | 2.9 |

Tabla 4. Características texturales y químicas de la zeolita natural tratada con ácido.

La zeolita tratada con ácido presenta una superficie heterogénea y su carga superficial cambia en función del pH, la reducción en el contenido de

aluminio después del tratamiento ácido disminuye la densidad de carga del armazón aniónico y el pH_{PZC} de la zeolita natural se redujo de 8.7 a 2.9.

La Figura 22 muestra la distribución de las fracciones de las especies hidroxilo superficial sobre la zeolita natural tratada con ácido.

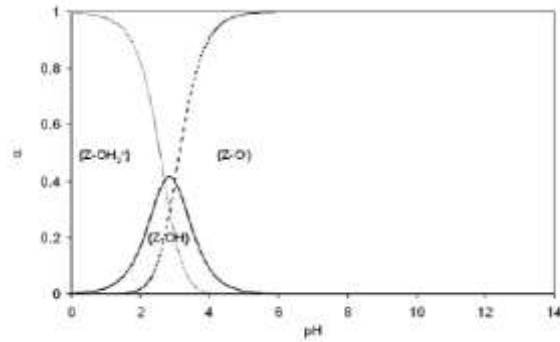


Figura 22. Diagrama de distribución de diferentes fracciones de especies hidroxilo superficiales en zeolita natural tratada con ácido en función del pH.

6.3.5.4) Métodos Experimentales.

La ozonización catalítica heterogénea promovida por la zeolita natural modificada implica interacciones químicas específicas entre la superficie de la zeolita, los contaminantes orgánicos disueltos y los oxidantes, la velocidad del proceso está controlada por reacciones químicas, la ozonización del colorante en presencia de zeolita natural tratada con ácido, podría describirse por un mecanismo de reacción simplificado y desequilibrado que comprende reacciones homogéneas en fase líquida a granel y reacciones heterogéneas en la superficie de zeolita, eso incluye los pasos de adsorción y los procesos de reacción de la superficie de la siguiente manera:

Reacciones homogénea:

Ec.2



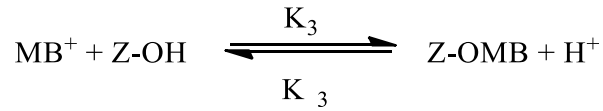
Ec.3



Donde I representa los subproductos de la descomposición del ozono ($HO\cdot$, HO_2/O_2^- , O_3^- , H_2O_2/HO_2^-).

Reacciones heterogénea:

Ec.4



Ec.5

$$-r_3 = K_3\{Z - OH\}[MB^+]$$

Ec.6

$$-r_{-3} = \{Z - OMB\}\{H^+\}$$

Ec.7



Ec.8



Donde $\{Z-OH\}$ y $\{Z-OMB\}$ representan la concentración superficial (M) de grupos hidroxilo de zeolita y complejo del azul de metileno tratado con ácido, respectivamente. k_1 , representa la constante de velocidad de reacción homogénea entre el colorante y ozono ($M^{-1} s^{-1}$); k_2 , representa la constante de velocidad de reacción homogénea entre los subproductos de la descomposición del colorante y ozono ($M^{-1} s^{-1}$); k_3 , representa la constante de velocidad inversa de la formación del complejo de superficie del colorante ($M^{-1} s^{-1}$); k_4 , representa la constante de velocidad de reacción heterogénea entre el complejo superficial del azul de metileno y el ozono ($M^{-1} s^{-1}$); k_5 , representa la constante de velocidad de reacción heterogénea entre el complejo superficial y los subproductos de la descomposición del ozono ($M^{-1} s^{-1}$).

La Ec. [6] describe la adsorción-desorción de MB como reacciones bimoleculares directas e inversas. Es interesante observar que, en el equilibrio,

los procesos de adsorción y desorción están representados por la constante de equilibrio en:

Ec.9

$$K = \frac{K_3}{K_{-3}} = \frac{\{Z - OMB\}\{H^+\}}{\{Z - OMB\}[MB^+]}$$

Donde K es la constante de equilibrio de la formación del complejo de superficie.

El complejo de superficie del azul de metileno en la zeolita tratada con ácido podría formarse mediante la adsorción de MB (azul de metileno) en los sitios activos de hidroxilo de superficie. Esta superficie complejo (Z-OMB) podría descomponerse por la acción de agentes oxidantes, como subproductos de descomposición de ozono y ozono molecular como se describe en las Ecs. [7] y [8], respectivamente. Por lo tanto, la formación de complejo de superficie MB de tasa global se obtiene a partir de las Ecs. [6] – [8], de la siguiente manera:

Ec.10

$$r_{Z-OMB} = K_3\{Z - OH\}[MB^+]$$

A medida que la concentración de Z-OMB disminuye debido a la desorción del MB sorbido y las reacciones de oxidación, la velocidad de tales reacciones tiende a disminuir. Por otro lado, a medida que disminuye la concentración de Z-OMB, aumenta la velocidad de adsorción de MB. Por lo tanto, uno puede imaginar que se alcanzaría rápidamente un cierto nivel de concentración de Z-OMB donde la velocidad de adsorción y la velocidad de oxidación serían similares.

Entonces, la tasa de eliminación total del colorante, en presencia de zeolita tratada con ácido podría expresarse como una suma de reacciones homogéneas y heterogéneas. Dado que las concentraciones de reactantes son dependientes del tiempo, los datos iniciales de velocidad obtenidos a 293^o K se utilizaron para estimar los parámetros cinéticos en este estudio. Por lo tanto, tales resultados cinéticos deben considerarse como representativos de la

ozonización catalítica del azul de metileno en presencia de zeolita tratada con ácido sin limitaciones de transferencia de masa.

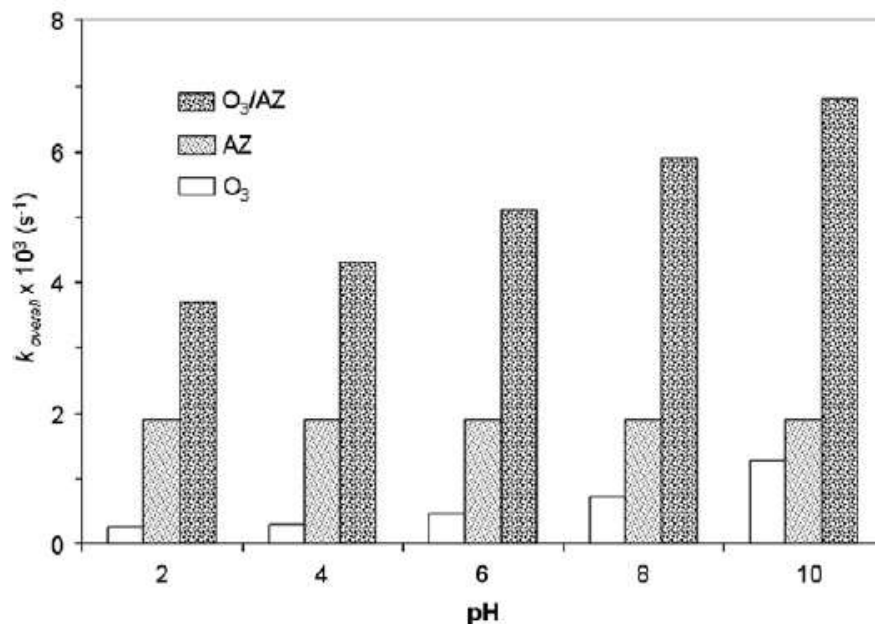


Figura 23. Comparación del efecto del pH en la constante de velocidad de pseudo primer orden de la eliminación de Azul de Metileno ($K_{overall}$) utilizando ozonación única (O_3), adsorción única en zeolita tratada con ácido (AZ) y ozonización catalítica heterogénea promovida por ácido tratado zeolita (O_3 / AZ). Condiciones de operación: 293 °K, 94×10^{-6} M de concentración inicial de MB, concentración de ozono inicial de 125×10^{-6} M, carga de zeolita natural de 15 g dm^{-3} y líquido reciclado al $1.5 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$.

Como se ilustra en la Figura 23, la tasa de eliminación del azul de metileno aumentó a medida que el pH aumentaba de 2 a 10. En el caso de la eliminación del colorante por reacciones homogéneas, el “k” aumenta como una función del pH, debido a una mayor tasa de formación de ozono reactivo. La mayor tasa de remoción del azul de metileno se alcanzó cuando se aplicó ozonización catalítica heterogénea, en todos los niveles de pH estudiados.

Además, las altas tasas de eliminación del colorante observadas en el tratamiento acoplado también podrían estar asociadas a la interacción del ozono con sitios superficiales ácidos de esta muestra de zeolita.

La influencia de las propiedades químicas de la superficie de la zeolita y su papel en la ozonización catalítica heterogénea de contaminantes orgánicos debe tenerse en cuenta en el diseño y ampliación de esta nueva tecnología.⁸

6.3.6) Eliminación Sincronizada del Azul de Metileno con Reacción tipo Fenton Inducida por Oxoanión Fosforoso y Proceso de Irradiación de Plasma Sumergido.

Recientemente, el uso de procesos de irradiación de plasma sumergido (SPI) para la degradación de contaminantes orgánicos en el tratamiento de aguas residuales, ha atraído la atención porque no produce contaminantes. Los canales de plasma inducidos por alta energía eléctrica pueden generar una variedad de agentes oxidantes, por ejemplo, OH, H, O₂, HO₂, O₂⁻, H₂O₂ y O₃, alrededor de los electrodos metálicos en el reactor SPI, sin embargo, el proceso SPI tiene varios inconvenientes, como un alto consumo de energía, baja eficiencia y una vida útil corta para el electrodo de metal, que se degrada por el canal de plasma. Recientemente, se desarrolló un sistema SPI para generar una reacción tipo Fenton añadiendo peróxido de hidrógeno y utilizando iones de cobre disueltos del electrodo para mejorar la eficiencia energética del proceso. En una reacción tipo Fenton, los complejos de iones ferrosos, con ligandos adecuados, pueden activar el oxígeno para producir peróxido de hidrógeno (H₂O₂) u OH.

Por lo tanto, se investigó un novedoso sistema SPI coordinado con electrodo de hierro, que incluye una oxidación mejorada similar a Fenton mediante fosfato de complejos ferrosos (Fe (II) -PP). En este estudio, el fosfato se usó como un electrolito rentable y para catalizar la reacción similar a Fenton. la irradiación primaria con plasma y la oxidación secundaria similar a Fenton se usaron para eliminar el azul de metileno, realizando una serie de experimentos de comparación entre los sistemas PP / SPI / O₂ y PP / SPI / N₂, además, las condiciones de operación óptimas para la eliminación del tinte azul de metileno se determinaron examinando el material del electrodo, el pH inicial y el voltaje de entrada del sistema TPP / SPI / O₂, finalmente, para evaluar la posible aplicación práctica del sistema propuesto, el sistema TPP / SPI / O₂ también se aplicó para degradar el índigo carmín, el 5 reactivo negro, el cromotropo FB, el

metil naranja y el negro reactivo 4, que son los más utilizados en el sector industrial.

La concentración de azul de metileno se determinó con un espectrofotómetro UV-VIS, la absorbancia del azul de metileno se analizó a 664 nm y los otros colorantes (naranja de metilo, negro reactivo 4 y 5, FB cromotropo e índigo carmín) se midieron a 462 nm, 595 nm, 515 nm y 610 nm, respectivamente, la tasa de eliminación de azul de metileno se calculó de acuerdo con lo siguiente ecuación;

Ec.11

$$\text{Eliminación del azul de metileno \%} = \left(\frac{C_0 - C}{C_0} \right) \times 100$$

Donde C_0 es la concentración inicial de azul de metileno (mg L^{-1}) y C es la concentración final de azul de metileno (mg L^{-1}). La constante de velocidad de eliminación para *azul de metileno* se calculó usando la ecuación de pseudo primero-orden, que se correlaciona con los resultados experimentales.

Ec.12

$$\ln \frac{C}{C_0} = -Kt$$

Además, el análisis de la concentración de iones de hierro en el agua se realizó utilizando un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente.

Aunque este estudio no describió un mecanismo claro de descomposición química para diferentes colorantes, fue el primero en combinar la oxidación tipo Fenton inducida por oxoanión de fósforo con un dispositivo de plasma para desarrollar SPI rentable para tratamiento de aguas residuales.⁹

Existen muchos estudios dedicados a los procesos de Fenton para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil en la tabla 5 se muestran algunos trabajos realizados:

| Tipo de Colorante | Agua real mg/L | Reactivos | Tiempos | % Remoción | Condiciones | Parámetros | Bibliografía |
|--------------------------|----------------------------|--|------------|------------|--------------------------------|---|-----------------------|
| Rojo directo 28 | 10 130 250 | FeSO ₄ H ₂ O H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH Virutas de acero | 15 minutos | 100 | pH=3 150 rpm T (23-25°C) | pH Absorbancia COT | Filiz, et al, 2008 |
| Rojo ácido 18 | 100 | H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH Fe ³⁺ | 120 hrs | 88.7 | pH= 2.5 T = 25°C | pH Absorbancia DQO | Barbusinski,2004 |
| Tartrazina | 100 | H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH FeSO ₄ | 2 hrs | 99.3 | pH= 3 T (20-25°C) | pH Absorbancia | Arroyave, 2008 |
| Violeta cristal | 1.2x10 ⁻⁴ mol/L | H ₂ O H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH FeSO ₄ | 30 min | 87 | T (20-50°C) | Absorbancia Temperatura H ₂ O ₂ Fe ³⁺ | Wu, et al,2010 |
| Azul reactivo 221 | 86 | H ₂ O H ₂ O ₂ | 90 min | 96 | pH= 3 T (20-25°C) | pH Absorbancia | Kabdasli, et al, 2007 |
| Amarillo 145 | 25 | HCl NaOH | 90 min | 96 | pH = 3 T (20-25°C) | pH Absorbancia | Kabdasli, et al, 2007 |

Tabla 5. Procesos Fenton para el tratamiento de aguas Residuales.

La oxidación de Fenton es la combinación de sales de Fe^{2+} con H_2O_2 a pH ácido para generar radicales $\cdot\text{OH}$, esta oxidación supone una alternativa o una solución complementaria a los procesos de depuración convencionales para el tratamiento de las aguas residuales de la industria.¹⁰

No cabe duda que las reacciones de Fenton es un proceso de oxidación avanzada en los que se producen radicales altamente reactivos del hidroxilo sin embargo la manipulación de la materia a escala nanométrica da a la nanotecnología la oportunidad de sintetizar nanopartículas con tamaño, forma y dispersión de materiales controlados a escala nanométrica y su uso potencial para el bienestar humano.^{10, 11}

6.3.7) Degradación del Azul de Metileno Utilizando Nanopartículas de Plata Biológicamente Sintetizadas.

Los materiales de tamaño nanométrico tienen una gran área de superficie y una alta fracción de átomos de superficie que se han estudiado debido a sus propiedades exclusivas tales como óptica, electrónica y catalítica. Las nanopartículas de metales nobles tienen aplicaciones enormes en diversas áreas, tales como bioimagen, sensores, diagnóstico y terapéutica en el campo biomédico. Las nanopartículas metálicas de plata se aplicaron recientemente como agentes antimicrobianos en diversos productos como cosméticos, alimentación animal, recubrimiento de catéteres, vendaje de heridas y purificación de agua con un riesgo mínimo de toxicidad en humanos.

Hoy en día los sistemas biológicos fueron utilizados para la síntesis de materiales a nanoescala. Actualmente los materiales derivados de plantas se utilizan para la síntesis de nanopartículas, estas pueden potenciar su actividad antibacteriana, porque la biomolécula activa puede unirse a la superficie de las nanopartículas y así aumentar la superficie de contacto.

Morinda tinctoria comúnmente conocida como Aal o Indian Mulberry es una especie de planta con flor de la familia Rubiaceae, la fisiología de esta planta tiene muchas propiedades medicinales, las hojas se usan para curar la ulceración, la digestión, la dispepsia, la diarrea, la estomatitis, la herida y la

fiebre, la raíz se usa para curar la inflamación y los forúnculos, la fruta inmadura se usa para curar el reumatismo. Se utilizó el extracto la hoja e *M. tinctoria* para la biosíntesis de nanopartículas y se utilizaron nanopartículas de plata a la degradación del colorante azul de metileno bajo irradiación de la luz solar.

En intervalos de tiempo específicos, se filtraron alícuotas de 2-3 ml de suspensión y se usaron para evaluar la degradación fotocatalítica del colorante, posteriormente se midió la absorbancia del sobrenadante usando el espectrofotómetro UV-Vis a la longitud de onda de 665 nm. El porcentaje de degradación del colorante se estimó mediante la siguiente ecuación:

Ec. 13

$$Decoloracion = \frac{(C_0 - C)}{C_0}$$

Donde C_0 es la concentración inicial de solución colorante y C es la concentración de solución colorante después de la degradación fotocatalítica.

A diferente pH están presentes diversos grupos funcionales disociados en el extracto de hoja, esto nos ayuda a determinar el tamaño, la forma y la diversidad de la nanopartícula.

6.3.7.1) Degradación Fotocatalítica del Tinte.

La degradación fotocatalítica del azul de metileno se llevó a cabo mediante el uso de nanopartículas de plata sintetizadas, bajo luz solar la degradación del tinte se identificó inicialmente por cambio de color. Inicialmente el color del tinte muestra un azul intenso cambiado a azul claro después de 1 h de incubación con nanopartículas de plata mientras se expone a la luz solar [Figura 24]. El azul claro se cambió a verde claro y finalmente, el proceso de degradación se completó a las 72 h y se identificó por el cambio del color de la mezcla de reacción a incoloro.

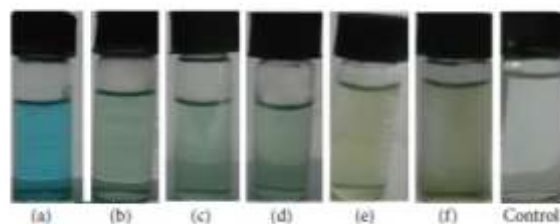


Figura 24. La observación visual del cambio de color de azul a incoloro indica la degradación del colorante azul de metileno a diferentes intervalos de tiempo ((a) inicial, (b) 1 h, (c) 4 h, (d) 24 h, (e) 48 h, y (f) 72 h).

6.3.7.2) Espectrofotómetro UV-Vis.

La actividad fotocatalítica de las nanopartículas de plata sobre la degradación del colorante se identificó en el espectro de absorción mostrando los picos disminuidos del *azul de metileno* en diferentes intervalos de tiempo. Inicialmente los picos de absorción a 665 nm para el colorante *azul de metileno* se disminuyeron gradualmente con el aumento del tiempo de exposición.

El pico de absorción del colorante azul de metileno disminuyó y la banda de absorción para las nanopartículas de plata aumentó a 420 nm [Figura 25], el porcentaje de eficiencia de degradación de las nanopartículas de plata se calculó en un 95,3% a los 72 h.

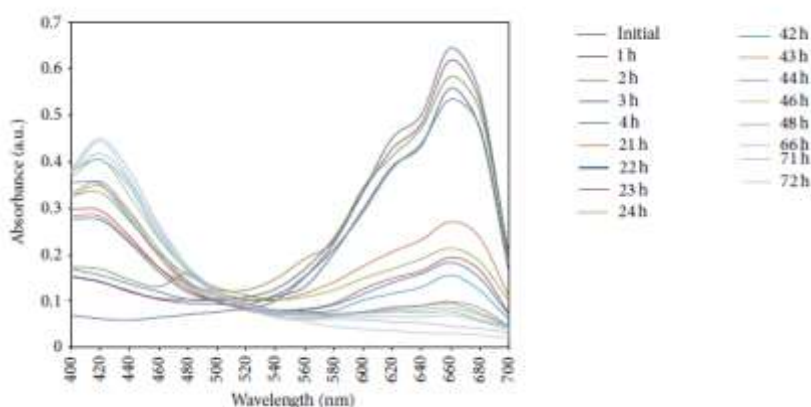


Figura 25. Los espectros de absorción de la solución acuosa de azul de metileno tratados con 10 mg de nanopartículas de plata sintetizadas utilizando diferentes intervalos de tiempo.

El porcentaje de degradación se incrementó al aumentar el tiempo de exposición de las nanopartículas de plata con la luz solar [Figura 26], el pico de absorción para el colorante de azul de metileno se alineó a 665 nm en la región visible, en un lapso de tiempo disminuyó la concentración del colorante y finalmente desapareció.

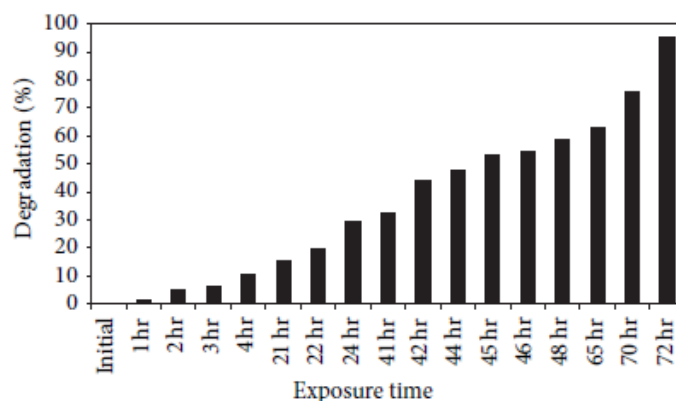


Figura 26. Porcentaje de degradación del colorante en 10 mg de nanopartículas de plata sintetizadas.

Finalmente esta técnica nos demuestra la actividad fotocatalítica de las nanopartículas de plata sintetizadas y evaluadas como agente degradante del colorante azul de metileno, el pico de absorción principal a 665 nm disminuyó gradualmente y se encontró que el uso de un agente reductor natural renovable y ambientalmente aceptable utilizado para la síntesis de nanopartículas de plata exhibe una excelente actividad fotocatalítica contra las moléculas de colorante y puede utilizarse en sistemas de purificación de agua y tratamiento de efluentes.¹¹

6.3.8) Biodegradación de Colorantes.

Hasta 1981 se había reportado que los colorantes no se degradaban por medio de procesos aeróbicos, sin embargo, Kulla (1981) menciona que con un proceso adecuado de aclimatación, la degradación aerobia resulta factible. Los tratamientos aerobios pueden degradar muchos colorantes azo, como por ejemplo el Anaranjado ácido 7 (AA7), Anaranjado ácido 8 (AA8), Anaranjado 24, Amarillo ácido 151 (AA151), Rojo ácido 18 (RA18) y otros. Sin embargo,

únicamente los colorantes AA7 y AA8 fueron mineralizados (formación de CO₂ y agua) bajo condiciones aerobias.

Aunque la biorremediación corresponde a la utilización de organismos vivos, especialmente microorganismos, para degradar residuos ambientales, es una tecnología que en la actualidad, está experimentando un crecimiento rápido, especialmente en colaboración con la ingeniería genética, la cual utiliza cepas de microorganismos que tengan la capacidad de tratar contaminantes específicos. La biorremediación aprovecha la capacidad de los microorganismos, en especial bacterias y hongos, para degradar muchos tipos de residuos, de hecho, durante muchos años se pensó que los microorganismos podrían biodegradar todas las sustancias orgánicas, en particular, todos los contaminantes, que entran en las aguas naturales o en el suelo. Las sustancias resistentes a la biodegradación se denominan recalcitrantes o biorrefractarias, además, otras sustancias, como por ejemplo muchos compuestos orgánicos, solo se biodegradan parcialmente en lugar de mineralizarse completamente; en lugar de ello, se transforman en otro compuesto orgánico, algunos de los cuales son biorrefractarios y/o son incluso más tóxicos que las sustancias originales.¹³

6.3.9) Tratamientos Biológicos.

Aunque se han desarrollado nuevas técnicas de degradación (nanotecnología y fisicoquímicos) de colorantes el uso de procesos biológicos son empleados bajo diferentes condiciones de concentración de oxígeno como los anaerobios, aerobios y la combinación de estos, pueden degradar ciertos tipos de colorantes.

6.3.9.1) Tratamiento Biológico Convencional.

El uso biológico convencional para el tratamiento de aguas residuales biodegradables hace uso de una población microbiana cuya población mayoritaria es de bacterias heterótrofas o degradadoras de materia orgánica, de los cuales los colorantes azo son generalmente persistentes bajo condiciones aeróbicas y en condiciones anaeróbicas, este tipo de colorantes sufren una reducción por acción de bacterias anaerobias produciendo aminas

aromáticas, este tipo de colorantes son recalcitrantes en los sistemas de tratamientos anaeróbicos y requieren condiciones aeróbicas para su degradación mediante el uso de bacterias.

6.3.9.2) Tratamiento Biológico No Convencional.

6.3.9.2.1) Tratamiento Fúngico.

Los hongos Basidiomicetos y ciertas enzimas del tipo oxidasas producidas por estos organismos son capaces de oxidar moléculas recalcitrantes, entre ellas las moléculas de colorantes.

Bumpus y Brock (1998) determinaron que la lignino-peroxidasa lleva a cabo la *N*-desmetilación de diversos tipos de colorantes (cristal violeta, rojo cresol, azul de bromofenol, violeta de etilo, etc.), son biodegradados en cultivos de *Phanerochaeta chrysosporium* bajo condiciones de limitación de nitrógeno, los colorantes del tipo azo también fueron decolorados por cultivos de *P. chrysosporium*.

Pasti-Grigsby et al. (1992), compararon la capacidad de decoloración en cultivos de diferentes especies de actinomicetos (*Streptomyces* spp.) y cultivos en condiciones de limitación de nitrógeno de *P. chrysosporium* con 22 colorantes tipo azo y tipo tiazina, por lo que demostraron que los estreptomicetos tenían la capacidad de decolorar.³

6.3.9.2.2) Fitorremediación.

Recientemente una técnica que utiliza la vegetación para la descontaminación de suelos y aguas naturales por metales pesados y compuestos orgánicos es la fitorremediación.

La fitorremediación aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo. Estas fitotecnologías ofrecen numerosas ventajas en relación con los métodos fisicoquímicos que se usan en la

actualidad, por ejemplo, su amplia aplicabilidad y bajo costo. Esta tecnología se hace más efectiva a través de la manipulación genética, lo que mejora la capacidad de remediación de las plantas. Se han diseñado especies vegetales con una mayor capacidad de degradación de contaminantes orgánicos o de acumulación de metales pesados.

Algunas plantas genéticamente modificadas (GM) están adaptadas específicamente para la fitorremediación de Cd, Hg o bifenilos policlorados (PCB's).¹⁴

6.3.9.2.3) Tecnologías de Fitorremediación.

Las fitotecnologías se basan en los mecanismos fisiológicos básicos que tienen lugar en las plantas y en los microorganismos asociados a ellas, tales como: transpiración, fotosíntesis, metabolismo y nutrición.

Las tecnologías de fitorremediación se pueden utilizar como medio de contención (rizofiltración, fitoestabilización y fitoinmovilización) o eliminación (fitodegradación, fitoextracción y fitovolatilización) del contaminante.

La fitoestabilización permite inmovilizar contaminantes en el suelo a través de su absorción y acumulación en las raíces o bien, por precipitación en la zona de la rizosfera. Este proceso reduce la movilidad de los contaminantes y evita su migración a las aguas subterráneas o al aire. La fitoestabilización es efectiva en suelos de textura fina con alto contenido de materia orgánica. Se aplica principalmente en terrenos extensos en donde existe contaminación superficial. Esta tecnología tiene como ventajas, sobre otros métodos de remediación de suelos, que es de menor costo, fácil de aplicar y estéticamente agradable. Algunas plantas empleadas con fines de fitoestabilización son: *Hyparrhenia hirta* (Pb); *Zygophyllum fabago* (Zn); *Lupinus albus* (Cd, As); *Anthyllis vulneraria* (Zn, Pb, Cd); *Deschampsia cespitosa* (Pb, Cd, Zn); *Cardaminopsis arenosa* (Cd, Zn); *Horedeum vulgare*, *Lupinus angustifolius* y *Secale cereale* (As); *Lolium italicum* y *Festuca arundinaceae* (Pb, Zn); y *Brassica juncea* (Cd, Zn, Cu, Mn, Fe, Pb).

La rizofiltración utiliza las plantas para eliminar del medio hídrico contaminante a través de la raíz. En la rizofiltración estas plantas se cultivan de

manera hidropónica. Cuando el sistema radicular está bien desarrollado, las plantas se introducen en el agua contaminada con metales, en donde las raíces los absorben y acumulan. A medida que las raíces se van saturando, las plantas se cosechan y se disponen para su uso final. Existe una gran cantidad de estudios relacionados con la capacidad de acumulación de contaminantes de diversas plantas acuáticas, algunos ejemplos de ellas son: *Scirpus lacustris* (Cd, Cu, Pb, Mg, Fe, Se, Cr), *Lemna gibba* (Pb, As, Cu, Cd, Ni, Cr, Al, Fe, Zn, Mn), *Azolla caroliniana* (Hg, Cr Sr, Cu, Cd, Zn, Ni, Pb, Au, Pt), *Elatine trianda* (As), *Wolffia papulifera* (Cd), *Polygonum punctatum* (Cu, Cd, Pb, Se, As, Hg, Cr, Mn) y *Myriophyllum aquaticum*, *Ludwigia palustris* y *Mentha aquatic* (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni).

La fitoextracción o fitoacumulación consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas. El primer paso para la aplicación de esta técnica es la selección de las especies de planta más adecuada para los metales presentes y las características del emplazamiento. Una vez completado el desarrollo vegetativo de la planta el siguiente paso es cortarlas, proceder a su incineración y traslado de las cenizas a un vertedero de seguridad. La fitoacumulación se puede repetir ilimitadamente hasta que la concentración remanente de metales en el suelo esté dentro de los límites considerados como aceptable. Algunas plantas empleadas para esta técnica fitocorrectiva son: *Thlaspi caerulescens* (Cd); *Sedum alfredii*, *Viola baoshanensis* y *Vertiveria zizanioides* (Zn, Cd, Pb); *Alyssum murale*, *Trifolium nigriscens*, *Psychotria douarrei*, *Geissois pruinosa*, *Homalium guillainii*, *Hybanthus floribundus*, *Sebertia acuminata*, *Stackhousia tryonii*, *Pimelea leptospermoides*, *Aeollanthus biformifolius* y *Haumaniastrum robertii* (Ni); *Brassica juncea*, *Helianthus annuus*, *Sesbania drummondii* (Pb); *Brassica napus* (Cu, Pb, Zn); y *Pistia stratiotes* (Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn).

La fitorremediación, por sí misma, muestra una serie de ventajas en comparación con otras tecnologías convencionales, las cuales presentan como primer objetivo caracterizar especies útiles para la fitoestabilización, con la finalidad de poder crear una nueva cubierta vegetal de especies nativas capaces de inmovilizar y retener compuestos orgánicos, las líneas clonales del tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.), que se aíslan

previamente de una determinada población de semillas heterogénea mediante técnicas de cultivo de tejidos vegetales, son elegidas como plantas potenciales para la fitorremediación de contaminantes orgánicos tales como colorantes azoicos y relacionados compuestos aromáticos.¹⁴

6.3.10) Biosorbente para Eliminar el Azul de Metileno y el Indigo Carmín de Soluciones Acuosas.

No cabe duda que el uso de hongos, bacterias y ciertos microorganismos son capaces de degradar los colorantes en la industria no obstante el uso de biomasa de algas muertas que es un material natural que sirve de base para desarrollar materiales biosorbentes para aplicaciones industriales. Las algas marinas *Gelidium* se utilizan como materia prima en la industria de extracción de agar. El proceso genera una gran cantidad de residuos de algas que se utilizan como adsorbentes de bajo costo, las algas *Gelidium* se emplearon de manera eficiente para eliminar los iones metálicos de las soluciones acuosas y para la eliminación del azul de metileno. Las características físicas del adsorbente, como el área superficial, la porosidad, la distribución del tamaño y la densidad tienen una gran influencia en el proceso de adsorción.

La macroporosidad, así como la densidad aparente de los biosorbentes se midieron por porosimetría de mercurio, las densidades reales se determinaron mediante picnometría de helio y la distribución de tamaño de grano promedio de las partículas se obtuvo mediante microscopía electrónica de barrido.

6.3.10.1) Estudios Cinéticos de Sorción.

Para determinar el tiempo de contacto requerido para alcanzar el equilibrio de adsorción, se realizaron experimentos a diferentes concentraciones iniciales del azul de metileno a pH 6.0, la temperatura se controló mediante un baño termostático y se controló a lo largo de cada

experimento ($T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$), se llenó un recipiente con 1 L de solución del colorante, luego se agregó un peso conocido de la biomasa y se agitó la suspensión a 600 rpm, se tomaron muestras de 5 ml a intervalos de tiempo predefinidos que oscilan entre 1 y 10 minutos después de la adición de la solución del azul de metileno, se tomaron muestras más frecuentes al comienzo de cada experimento, las muestras se centrifugaron y el sobrenadante se eliminó para el análisis del colorante.

6.3.10.2) Procedimiento Analítico.

La concentración del azul de metileno se determinó midiendo la absorbancia a 665 nm, esta longitud de onda corresponde al pico de absorción máximo del monómero del azul de metileno, la cantidad del colorante adsorbido por gramo de biosorbente se calculó como:

Ec.14

$$q = \frac{V(C_i - C_f)}{w}$$

Donde q es la captación del colorante (mg MB g^{-1} del biosorbente), C_i y C_f son las concentraciones del azul de metileno inicial y final en solución (mgL^{-1}), V el volumen de solución (l) y W es el peso seco del biosorbente agregado (g).

6.3.10.3) Tamaño de Partícula.

La figura 27 presenta micrografías de algas *Gelidium* antes y después de la extracción obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), las partículas son como placas delgadas, con una longitud y una anchura que exceden en gran medida el espesor, los filamentos de algas *Gelidium* después de la extracción se pueden distinguir en los residuos [Figura 27b].

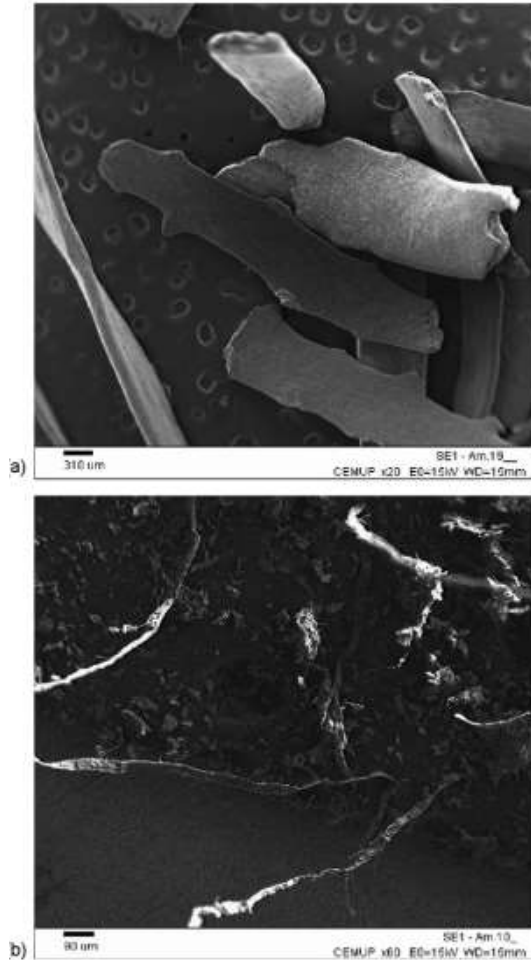


Figura 27. Microscopía electrónica de barrido de algas *Gelidium* (a) y residuos de algas después de la extracción (b).

El área de superficie específica se evaluó mediante métodos secos (adsorción de N_2) y húmedos (adsorción de azul de metileno), el método húmedo refleja mejor superficie real disponible para la adsorción de metales porque se basa en la adsorción de la solución, sin embargo el supuesto de área cubierta puede afectar la estimación de la superficie específica en más del 100%. El azul de metileno se elimina bien de las soluciones acuosas por el biosorbente, en comparación con otros adsorbentes, como el carbón activado tradicional. AL aumentar la concentración inicial del colorante, la capacidad de absorción de equilibrio y las tasas de adsorción iniciales aumentan.¹²

6.3.12) *Thymus Vulgaris*

6.3.12.1) Importancia indiscutible dentro de la flora ibérica.

En primer lugar, y dado el éxito ecológico de estas plantas, vulgarmente llamadas "tomillos", es frecuente encontrar una o varias especies de este género formando parte de los matorrales de nanocaméfitos, tan extendidos en la vegetación de la España mediterránea, por ello estas formaciones reciben también el nombre de "tomillares".

El sistema radicular suele presentar una raíz principal leñosa con bastantes raíces secundarias.

El tallo siempre es más o menos leñoso, y varía desde erecto hasta postrado y radicante. El porte de la planta puede ser cespitoso, o en forma de pequeña mata que no levanta mucho del suelo (generalmente hasta 30-40 cm); en casos excepcionales se han observado matas con más de 80 cm (*Th. mastichina*, *Th. hyemalis*, *Th. baeticus*). En el caso de plantas radicantes, éstas pueden llegar a formar céspedes que cubren grandes extensiones, siempre en las zonas más secas o sobre piedras. Se han encontrado también tomillos que forman pulvínulos o bolas (*Th. membranaceus*, *Th. longiflorus*, *Th. zygis*). Atendiendo a las formas biológicas, los tomillos son casi siempre caméfitos, a veces caméfitos rastreros o pulvinulares, y raramente, como en los casos de tomillos de gran porte mencionados, se pueden llegar a convertir en nanofanerófitos.

Las hojas son simples, enteras, generalmente alargadas, y varían en forma, tamaño, pilosidad, presencia de cilios en su borde y de glándulas esferoidales en su superficie. Cuando tienen pecíolo, éste es corto en relación a la longitud del limbo.

6.3.12.2) Estudio Químico de Aceites Esenciales

Dentro de la familia de las labiadas se encuentran gran número de géneros y especies ricos en aceites esenciales. El género *Thymus* se conoce y

usa desde la antigüedad por su aroma producido por los componentes más volátiles del aceite esencial. La mayor parte de dichos componentes presentan estructura terpénica. Son compuestos que tienen un gran interés económico, debido a su utilización en los campos de la cosmética y perfumería.

Desde el punto de vista quimiotaxonómico, los componentes volátiles de las plantas no han sido considerados de interés, debido a la variación de su concentración en diferentes poblaciones de la misma especie y en algunos casos en plantas diferentes de la misma población. Por otro lado, las dificultades que se encuentran en la determinación, sobre todo cuantitativa, de los componentes volátiles han hecho que la composición química se utilizara muy raramente en taxonomía.

Aunque parece ser que puede existir convergencia de vías metabólicas en plantas no relacionadas filogenéticamente, la concentración de estos compuestos químicos del metabolismo secundario viene a reflejar el resultado de un conjunto de procesos metabólicos que, aunque afectados por variables del medio (suelo, clima) o la edad de la planta, deben ser producto de su estructura bioquímica y genética, por lo que su conocimiento es de gran importancia en estudios quimiotaxonómicos. A continuación se incluye una lista de los diferentes componentes de cada especie de *Thymus*.

1) *Th. mastichina* (L.) L.

FERNANDES COSTA (1945): cineol predominante, alcoholes, fenoles en % insignificantes. TORNER (1952). GAVINA & TORNER (1966). FRAZÃO (1971): 50-80% linalol. GAVINA & TORNER (1974). REVERTO (1975): hasta 69% eucaliptol. FERNANDES COSTA (1975): α -pineno, 5,8% cineol, 20% linalol y α -terpineol, menos de 3 % de fenoles. En otro estudio 63-80 % linalol, 7-18 % cineol. GARCÍA MARTÍN & *al.* (1984): 3 quimiotipos: 1-8 cineol, linalol y cineol-linalol.

2) *Th. albicans* Hoffmanns. & Link

FERNANDES COSTA (1975): presencia de tímolo.

3) *Th. caespitosus* Brot.

FERNANDES COSTA (1945): 65 % α -terpineol inactivo, vestigios de fenoles, sin cineol. FERNANDES COSTA (1975): 60% de alcoholes libres (cantidades mínimas de fenoles), 10% esterés, α -terpineol inactivo, α -pineno y cadeneno.

4) *Th. piperella* L.

LUNA ARENES (1930): 42 % fenoles (1/3 de timol). ADZET & PASSET (1976): dos quimiotipos: timol y carvacrol. Proporciones muy variables en las seis poblaciones estudiadas, siendo los componentes mayoritarios timol, carvacrol y *p*-cimeno.

5) *Th. lotocephalus* G. López & R. Morales

FERNANDES COSTA (1945): cineol, alcoholes y vestigios de fenoles. FERNANDES COSTA (1975): 60% cineol, 12% alcoholes.

6) *Th. villosus* L. subsp, *villosus*

FERNANDES COSTA (1945): fenoles. FERNANDES COSTA (1975): 5% fenoles, 37 % alcoholes libres y 28 % esterés.

7) *Th. villosus* subsp, *lusitanicus* (Boiss.) Coutinho

PÉREZ ALONSO & VELASCO NEGUERUELA (1983): dos quimiotipos: alcanforborneol y linalol-alcanfor.

8) *Th. longiflorus* Boiss.

DORRONSORO (1919): 60% cineol, 14% alcoholes. REVERTH (1975): 14% eucaliptol, 12% acetato de linalilo.

9) *Th. membranaceus* Boiss.

REVERTH (1975): 35% eucaliptol. ELENA-ROSSELLÓ (1976).

10) *Th. funkii* Cosson

REVERTH (1975): 50% eucaliptol.

11) *Th. antoninae* Rouy «fe Coincy

REVERTH (1975): 44% eucaliptol.

12) *Th. capitellatus* Hoffmanns. & Link

FERNANDES COSTA (1945): cineol predominante, alcoholes.

FERNANDES COSTA (1975): 30% cineol, 30% alcoholes (entre ellos, borneol).

13) *Th. camphoratus* Hoffmanns. & Link

FERNANDES COSTA (1945, 1975): carvacrol.

14) *Th. carnosus* Boiss.

FERNANDES COSTA (1975): carvacrol.

15) *Th. vulgaris* L. subsp, *vulgaris*

FERNANDES COSTA (1945, 1975): timol, alcoholes sin cineol. GAVINA & TORNER (1966,1974). ELENA-ROSSELLÓ (1976): catorce poblaciones estudiadas; tres quimiotipos: linalol (90-98% linalol y acetato de linalilo), a-terpineol (90-96% terpineol y acetato de terpenilo) y timol (50-65 % timol y p-cimeno).

16) *Th. vulgaris* subsp, *aestivus* (Reuter ex Willk.) A. Bolos & O. Bolos

REVERTH (1975): 22 % eucaliptol. ELENA-ROSSELLÓ (1976): tres poblaciones estudiadas; quimiotipos linalol y a-terpineol.

17) *Th. hyemalis* Lange

FERNANDES COSTA (1945): citral. ELENA-ROSSELLÓ (1976): tres poblaciones; dos quimiotipos: timol y carvacrol.

18) *Th. zygis* Loefl, ex L. subsp, *zygis*

FERNANDES COSTA (1975): timol, en general pocos fenoles. ELENA-ROSSELLÓ (1976): quimiotipo timol. GARCÍA MARTÍN & GARCÍA VALLEJO (1983): siete quimiotipos: timol, carvacrol, carvacrol-timol, linalol, acetato de geranilo-geraniol, acetato de α -terpenilo-terpineol y mircenol complejo.

19) *Th. zygis* subsp, *gracilis* (Boiss.) R. Morales

REVERTH (1975): 10% p-cimeno, 13% eucaliptol, 16% timol y 37% carvacrol. ELENA-ROSSELLÓ (1976): tres poblaciones, tres quimiotipos: a-terpineol, timol y carvacrol.

20) *Th. zygis* subsp, *sylvestris* (Hoffmanns. & Link) Brot, ex Coutinho

FERNANDES COSTA (1945): timol, alcoholes y cineol. GAVINA & TORNER (1966, 1974). FERNANDES COSTA (1975): timol, a-pineno, canfeno, cimeno, cineol y borneol.

21) *Th. baeticus* Boiss, ex Lacaita

ELENA-ROSSELLÓ (1976): tres poblaciones; tres quimiotipos: a-terpineol, timol y carvacrol.

22) *Th. serpylloides* Bory subsp, *serpylloides*

REVERTH (1975): 15% p-cimeno, 22% eucaliptol, 56% carvacrol.

23) *Th. loscosii* Willk.

MOLERO & ROVIRA (1983): 5% mirceno, 7% limoneno, 7% alcanfor, 15% p-citral.

24) *Th. lacaitae* Pau

RIVAS-MARTÍNEZ & *al.* (1974): 41 % limoneno y cineol, 10% mirceno, 10% a-pineno, 9% timol, 8% p-cimeno. GARCÍA MARTÍN & GARCÍA VALLEJO (1984): 59-69% cineol. PÉREZ ALONSO & VELASCO NEGUERUELA (1985): 61 % cineol.

25) *Th. fontqueri* (Jalas) Molero & Rovira

MOLERO & ROVIRA (1983): 14% mirceno, 11% cineol, 13% p-citral.

26) *Thymbra capitata* (L.) Cav.

DORRONSORO (1919): 55-67% fenoles. FERNANDES COSTA & CARDOSODO VALE (1942). ABREU (1952). FERNANDES COSTA (1975): 70-75% fenoles (sobre todo carvacrol y 5% timol), terpenos (a-pineno y P-cariofileno). SENDRA & CUÑAT (1980).

Una de las características fundamentales de un aceite esencial es su relativa volatilidad. La destilación por arrastre de vapor es el método más empleado para obtener aceites esenciales, ya que la mayoría de sus componentes hierven entre 150 y 300 °C. La destilación en vapor de agua es una forma particular de realizar esta operación¹⁶.

6.3.13) Regulación Mediada por Colorantes Azoicos de Fenólicos Totales y Actividad de Peroxidasa en Líneas Clonales de Tomillo (*Thymus Vulgaris* L.) y Romero (*Rosmarinus Officinalis* L.)

La fitorremediación permite remover contaminantes por medio de plantas, este proceso se probaron tres líneas clonales de tomillo y tres líneas clonales de romero para determinar la capacidad degradante del colorante azoico Poly S-119. Los resultados mostraron que la tolerancia al colorante se asoció con compuestos fenólicos presentes en la planta y la presencia de peroxidasa en estas líneas clonales.

Las peroxidasas están involucradas en la lignificación, cicatrización de heridas, degradación de compuestos aromáticos, defensa de patógenos entre otras, los resultados sugieren que el colorante azo estimuló la respuesta de defensa de plantas clónicas de tomillo y romero al aumentar la actividad de la peroxidasa.

Recientemente se ha revelado que el contenido fenólico y la actividad peroxidasa en las plantas están relacionados con la capacidad de adsorción del colorante. Los compuestos fenólicos y los ácidos fenólicos son intermedios en metabolismo fenilpropanoide y juegan muchos roles en las células de las plantas, tejidos y órganos, estos son precursores para la síntesis de lignina y su deposición en las paredes de las celdas después de la infección de patógenos. Los compuestos fenólicos también están involucrados en los procesos de diferenciación y organogénesis, su nivel se ve afectado por factores externos e internos como las fitohormonas y sustancias reguladoras del crecimiento.

Recientemente se ha encontrado que varias líneas clonales de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) eran muy tolerantes al colorante azoico Poly S-119 presente en su entorno de crecimiento. Este podría ser un paso muy importante para comprender los mecanismos bioquímicos asociados con la fitorremediación de colorantes sintéticos y contaminantes aromáticos.

Se generaron tres líneas clonales de tomillo basadas en brotes, T-12, T-16G y M-3, y tres líneas clonales de romero, R-1, R-8 y R-16.

Para probar su tolerancia al colorante azo, las líneas clonales de tomillo y romero se transfirieron y cultivaron en medio libre de hormonas MS suplementado con 0,01% de Poly S-119. El medio sin hormonas sin colorante azo se usó como control. Los fenólicos totales y la actividad de la peroxidasa se midieron los días 15, 30, 45 y 60.

El análisis de fenólicos totales y actividad de peroxidasa se realizó los días 15, 30, 45 y 60 en la tres líneas clonales de tomillo T-12, T16G y M-3. El contenido fenólico promedio en el tomillo T-12 disminuyó con el tiempo en medios colorantes azoicos, mientras que no hubo un cambio significativo en las plantas de control. Por el contrario, la actividad de la peroxidasa promedio en tomillo T-12 fue mayor en los medios que contenían poli S-119 que en el control, y la diferencia se hizo más evidente en etapas posteriores, especialmente el día 45, lo que sugiere que la actividad de la peroxidasa en el tomillo T -12 probablemente fue inducido por colorante azoico Poly S-119.

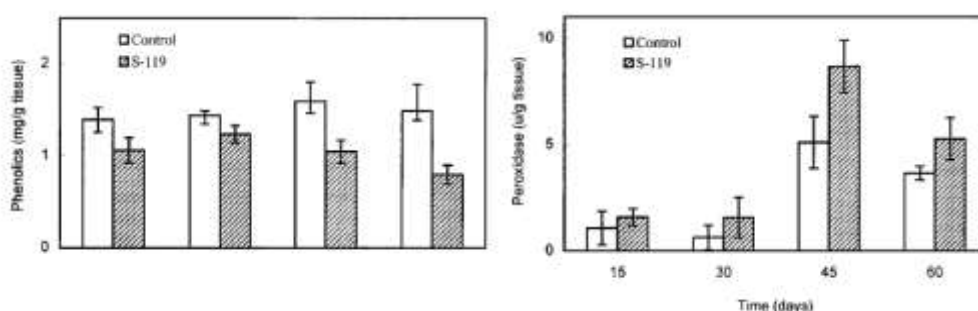


Figura 28. Efecto del colorante azo Poly S-119 sobre los compuestos fenólicos totales y la actividad peroxidasa en la línea clonal de tomillo T-12.

Las líneas clonales de tomillo T-16G y M-3 mostraron una tendencia muy similar tanto en fenólicos como en cambios de peroxidasa en las respuestas a Poly S-119 [Figuras 28]. Se sabe que las peroxidases están involucradas en numerosos procesos en tejidos y células vegetales, tales como la lignificación, la cicatrización de heridas, la defensa antipatógena y la rigidez. Los aumentos en las actividades de la peroxidasa en plantas hospedadoras después de tratamientos con sustancias químicas y patógenos relacionados con el estrés estaban bien documentados. Por otro lado, la estimulación de la actividad de la peroxidasa, como parte de la respuesta de defensa de la planta, a menudo va acompañada de una mayor acumulación de compuestos. Se sabe que la

peroxidasa es responsable de la reticulación de restos fenólicos durante la biosíntesis de ligninas en la pared celular de la planta. Existe evidencia de que una mayor actividad de la peroxidasa en las plantas de frijol se correlaciona con la lignificación en respuesta a la defensa del patógeno.

Las observaciones sobre las plantas de tomillo en respuesta al colorante azo también confirma la conclusión basada en las observaciones sobre las plantas de orégano que los colorantes poliméricos incluyendo el colorante azo inducen actividad peroxidasa y reducen los compuestos fenólicos totales al mismo tiempo.

Los fenólicos son intermedios en el metabolismo de los fenilpropanoides y son precursores de la síntesis de lignina. La deposición de compuestos fenólicos libres en los tejidos vegetales, en las paredes celulares después de la infección o estimulación relacionada con el estrés es un mecanismo de defensa importante. Su nivel se ve afectado por muchos factores externos e internos. Sobre esta base, nuestras observaciones sugieren que el colorante azo puede haber estimulado la síntesis de ligninas mediante la conversión de compuestos fenólicos libres en compuestos polimerizados a través de la acción de peroxidases en líneas clonales de tomillo. Al mismo tiempo, es posible que el colorante azo esté también ligado a la pared celular por peroxidases, debido a que el colorante azo estimuló fuertemente la actividad de la peroxidasa en las líneas clonales de tomillo, la tasa de polimerización de fenoles libres a ligninas y sus precursores por la peroxidasa en los tejidos de tomillo probablemente aumentó. Esta es una reacción de defensa importante de las plantas para protegerse de entornos desfavorables. Aumento del contenido fenólico en respuesta a *Pseudomonas* spp.

La regulación mediada por colorantes azoico de compuestos fenólicos y la actividad de la peroxidasa en tomillo varió en diferentes etapas de crecimiento. Los compuestos fenólicos totales en las plantas tratadas con colorante azo y las plantas de control no tratadas permanecieron relativamente estables durante el período de prueba, pero en general son aparentemente más bajos en las plantas tratadas con colorante azoico que en los controles. Aunque la actividad de la peroxidasa fue alta el día 45, tanto en las plantas tratadas con colorante azo como en los controles, su nivel aumentó

sustancialmente en todas las líneas clonales de tomillo en respuesta al colorante azo [Figuras 28-29].

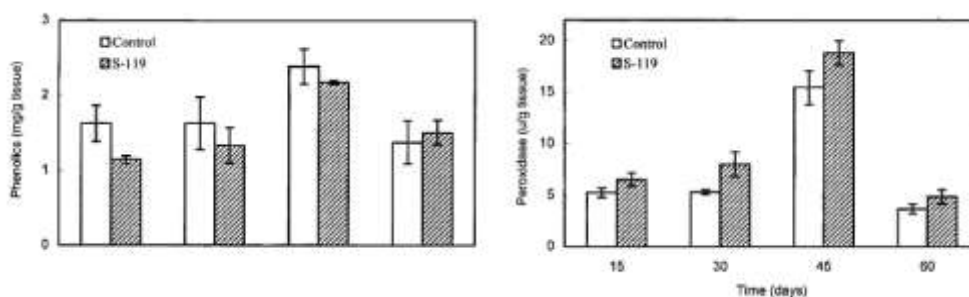


Figura 29. Efecto del colorante azo Poly S-119 sobre los compuestos fenólicos totales y la actividad peroxidasa en la línea clonal de tomillo M-3.

El romero contenía niveles mucho más altos de compuestos fenólicos comparado con el tomillo. En respuesta al colorante azo, las líneas de romero clonal también mostraron niveles fenólicos disminuidos y una mayor actividad de peroxidasa. Sin embargo, los cambios en los compuestos fenólicos totales y la actividad de peroxidasa en respuesta al colorante azo en diferentes etapas fueron diferentes en diversas líneas clonales. El nivel fenólico total tanto en la línea clonal R-1 tratada con colorante azoico como en el no tratado disminuyó con el tiempo, pero el nivel fenólico general en las plantas azoéticas fue mucho más bajo que en las plantas control. La actividad de la peroxidasa global en las plantas tratadas y no tratadas fue estable a lo largo del tiempo, pero su nivel en las plantas tratadas con colorante azoico fue menor que en el control. Además, se observaron resultados similares en la línea clonal de romero R-8. Los compuestos fenólicos totales en la línea clonal de romero R-16 disminuyeron significativamente en respuesta al colorante azoico en una etapa posterior (día 60), mientras que la actividad de la peroxidasa se indujo sustancialmente en la etapa inicial (día 15) usando colorante azo.

En general, existe una clara correlación inversa entre la actividad de la peroxidasa y los fenólicos totales en la mayoría de las plantas de tomillo y romero en respuesta al colorante azoico Poly S-119. El aumento de la peroxidasa se usó para convertir más compuestos fenólicos libres para formar lignina y otros productos polimerizados con tinte tanto en plantas de tomillo

como de romero. Esto también puede haber contribuido a la polimerización del colorante azoico en la pared celular.

En la oxidación de compuestos fenólicos, los sustratos naturales en la célula vegetal, es una de las funciones de las peroxidasas. El hecho de que los cambios en los compuestos fenólicos totales en algunas plantas fueron en la dirección inversa de los cambios en la actividad de la peroxidasa también fue respaldado por la evidencia obtenida por Mato et al. (1988). Del mismo modo se mostró una correlación inversa similar entre el nivel de compuestos fenólicos y la actividad de peroxidasa en plantas de orégano en respuesta a colorantes poliméricos.

En la Figura 30a, b se muestran las observaciones de la línea clonal de tomillo T-12 y la línea clonal de romero R-1 que crecen en medio sin MS libre de hormonas suplementado con 0,1% de Poly S-119. Ambas líneas clonales son plantas atodiolerantes azoicas. El crecimiento de la raíz en el medio que contenía colorante fue normal, y el colorante se concentró y se secó alrededor y a lo largo del eje de raíz en crecimiento (Figura 30c).

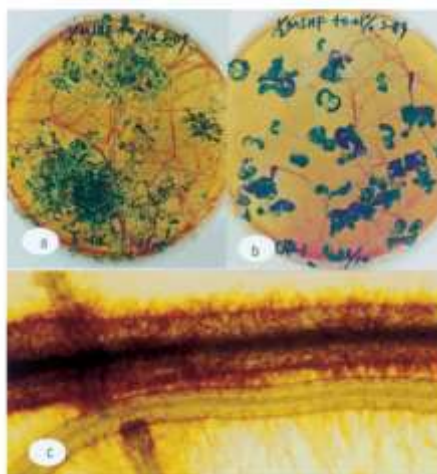


Figura 30. Observaciones de las plantas tolerantes a los colorantes azo que crecen en medio libre de hormonas MS que contiene 0.01% de Poly S-119: (a) línea clonal de tomillo T-12; (b) línea clonal de romero R-1; (c) vista estereomicroscópica de la absorción del colorante azoico por las raíces de la línea clonal de tomillo T-12.

Chivukula et al. (1995) informaron que los colorantes azo sulfonados fueron oxidados por una peroxidasa de lignina de un hongo basidiomiceto blanco. Las respuestas de tolerancia al colorante azo en las plantas es un paso muy importante en el desarrollo de sistemas de fitorremediación o para el

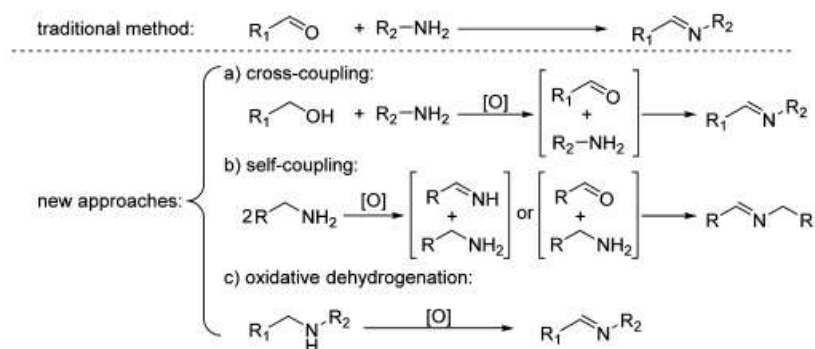
desarrollo posterior de rizosferas efectivas para soportar la degradación microbiana de contaminantes aromáticos similares y relacionados.

La planta del genero *thymus vulgaris* además de tener propiedades biosorbentes de colorantes azo, tiene una amplia variedad de aplicaciones industriales y farmacéuticas.¹⁵

6.3.14) Avances Recientes en la Oxidación Aeróbica de Alcoholes y Aminas a Iminas.

Las iminas, también conocidas como bases de Schiff, son productos intermedios versátiles para la síntesis de compuestos farmacéuticamente y biológicamente activos. El enlace C=N (iminas) se usa ampliamente en transformaciones orgánicas tales como reducción, adición, ciclación y aziridinación. Tradicionalmente, las iminas se preparan mediante la condensación de aminas con compuestos carbonilos, especialmente aldehídos, y se requieren agentes deshidratantes y catalizadores ácidos de Lewis en muchas situaciones.

Durante la última década, se han dedicado esfuerzos considerables a la síntesis directa de iminas, en particular a través de procedimientos onepot a través de un proceso oxidativo para reducir el consumo de energía, emisión de desechos, operaciones y pasos de purificación. En el acoplamiento cruzado de alcoholes con aminas [Esquema 5a] el único subproducto es el agua, y diversas iminas simétricas y asimétricas pueden sintetizarse fácilmente eligiendo diferentes sustratos de partida. Sin embargo, la oxidación selectiva de alcoholes en intermedios de aldehído en condiciones suaves sigue siendo el principal desafío para este tipo de reacción. El autoacoplamiento de aminas primarias [Esquema 5b]: NH-iminas generadas a partir de la deshidrogenación de aminas primarias o los aldehídos formados por hidrólisis adicional de las NH-iminas generalmente se proponen como intermedios clave.



Esquema 5. Formación de imina a través del método tradicional y nuevos enfoques mediante la oxidación aeróbica de alcoholes y aminas (a, b y c).

Las iminas homocópteras se obtienen fácilmente a través de este proceso, mientras que las iminas heterocloradas son mucho menos accesibles debido a las propiedades intrínsecas de autoacoplamiento de los sustratos. Además, las aminas primarias también pueden transformarse en subproductos compuestos de nitrilo, amida y azo. La deshidrogenación oxidativa de aminas secundarias [Esquema 5c]: se logra fácilmente una alta selectividad porque los sustratos no se pueden deshidrogenar en nitrilos, y los productos, tales como iminas cíclicas, son habitualmente muy estables, sin embargo la eficacia de la conversión del sustrato está influenciada por el impedimento estérico alrededor del N-H, y la quimioselectividad para la oxidación de dibencilaminas asimétricas a menudo está bloqueada por los dos tipos de α -CH que poseen propiedades similares pero producen productos diferentes.

Con el objetivo de los desafíos, se ha explorado ampliamente una amplia variedad de catalizadores durante los últimos años y se han logrado avances significativos. En esta revisión, tratamos de delinear estos logros fructíferos que se han realizado desde 2009. Se analizarán cuatro catalizadores de grupos, catalizadores metálicos, sin metales, fotograbados y bioinspirados, clasificados por sus características inherentes más que por las reacciones; esto es posible porque los sustratos de alcohol y amina tienen propiedades fisicoquímicas similares y comparten los mismos productos intermedios en muchas reacciones. Se hará especial hincapié en los catalizadores altamente activos, de bajo costo y versátiles, ya que hacen que la formación de la imina sea más práctica y eficiente, también se resaltarán los factores clave que afectan la

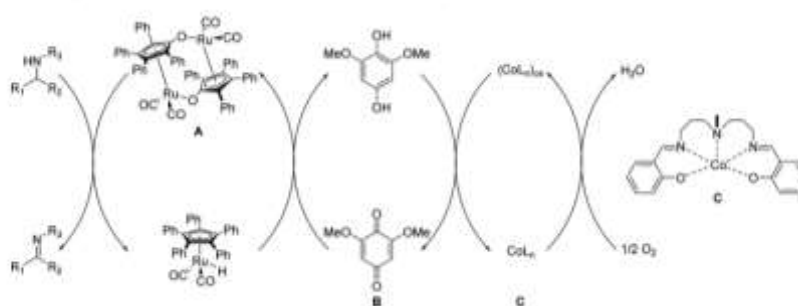
actividad catalítica y los mecanismos de reacción, los cuales son beneficiosos para el diseño de nuevos catalizadores.

6.3.14.1) Catalizadores Bioinspirados.

Para hacer que la formación de imina sea más eficiente y benéfica con el medio ambiente, se han dedicado esfuerzos considerables al diseño de catalizadores bioinspirados mediante la simulación de enzimas.

En un primer ejemplo de esta área, Backvall y colaboradores sintetizaron un compuesto catalítico acoplado a base de rutenio para la oxidación aeróbica de aminas secundarias.

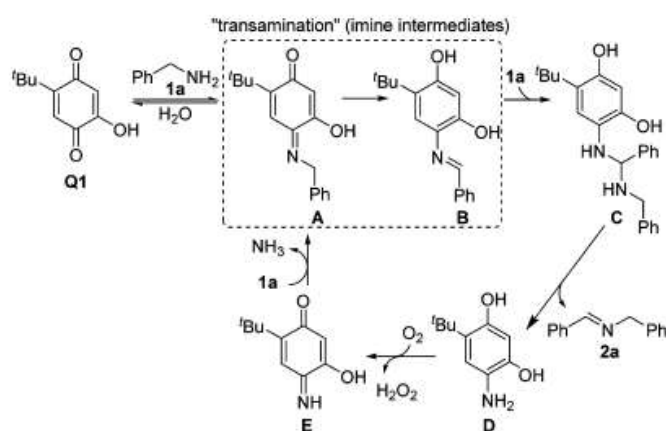
El complejo de rutenio Binuclear A y la quinona B rica en electrones sirvieron como el catalizador selectivo de sustrato y el aceptor de hidrógeno, respectivamente, y el complejo de cobalto C fue responsable de la regeneración de B y la activación de O₂ [Esquema 6]. Diversas aminas secundarias, incluidas las aminas ramificadas en α, pueden convertirse de forma eficiente en iminas correspondientes con alta selectividad, sin embargo se requirió una temperatura elevada (110 ° C) para que la reacción se llevara a cabo..



Esquema 6. Mecanismo propuesto para la deshidrogenación catalizada por rutenio de aminas secundarias.

Catalizadores a base de quinona. Las amidas oxidasas de cobre (CuAOs) que contienen un cofactor de o-quinona derivado de tirosina en su sitio activo pueden catalizar selectivamente la oxidación aeróbica de aminas

primarias a aldehídos en sistemas biológicos naturales. Inspirados por este proceso bioquímico, Stahl et al., evaluaron la efectividad de la 4-terc-butil-2-hidroxi-benzoquinona (TBHBQ, Q1) para la formación de iminas en ausencia de aditivos, y descubrió que varios derivados de la bencilamina se pueden autoajustar sin problemas en acetonitrilo a temperatura ambiente. Un mecanismo de transaminación similar se propuso utilizando CuAOs con aminas: la bencilamina se condensó primero con Q1 para formar la iminoquinona A, y posteriormente se arommatizó para dar la imina B altamente reactiva, que dio como resultado la oxidación neta de dos electrones de la amina y se identificó como la limitante de la velocidad; en medios orgánicos, B puede reaccionar además con bencilamina libre para generar el aminal C en lugar de hidrolizarse en bencil aldehído en solución acuosa; después de liberar el producto de imina, C se transformó en la aminohidroquinona D reducida, seguido por oxidación aerobia para formar la iminoquinona E; finalmente, E se sometió a un proceso de transaminación con amina libre para generar A y cerrar el ciclo catalítico [Esquema 7].



Esquema 7. Mecanismo propuesto para la deshidrogenación catalizada por rutenio de aminas secundarias.

Los experimentos revelaron que los siguientes tres factores deberían considerarse cuidadosamente para lograr una buena selectividad: la reactividad relativa, la nucleofilicidad relativa y el intercambio de equilibrio de los sustratos de amina.

Los catalizadores a base de metal se han explorado en gran medida tanto en la oxidación de alcohol como de aminas. Los sistemas homogéneos

generalmente se llevan a cabo en condiciones suaves, pero a menudo se requieren aditivos adicionales tales como ligandos y bases. Por otro lado, la actividad de catalizadores heterogéneos depende en gran medida de las preparaciones, soportes, tamaños de partículas e interacciones entre soportes y centros activos. Vale la pena señalar que los sitios activos de unos pocos catalizadores de metales no nobles no son los metales en sí mismos sino los ligandos y enlazadores. Además, la superioridad de los catalizadores de metales nobles no se ha presentado en su totalidad para la formación de iminas; por ejemplo, el acoplamiento cruzado de alcoholes mediado por Au con frecuencia requiere bases adicionales, y la oxidación de aminas primarias o secundarias requiere tiempos prolongados y altas temperaturas.

Los catalizadores exentos de metales se han aplicado con éxito a la oxidación de aminas, pero aún no se han utilizado para el acoplamiento cruzado de alcoholes con aminas. De forma similar a los catalizadores libres de metales, los fotocatalizadores se han estudiado principalmente en la oxidación de aminas. Al introducir nanopartículas metálicas, dopando un elemento secundario, presentan una actividad apreciable bajo la región de luz visible.

Los catalizadores bioinspirados han recibido especial atención debido a su alta actividad y selectividad en condiciones suaves. Se han estudiado en gran medida cinco tipos de quinonas que apuntan a diferentes sustratos de aminas, y también se han propuesto los mecanismos correspondientes que incluyen transaminación, adición-eliminación, transferencia de hidruro y transferencia de un solo electrón. Además, los derivados de bencilamina pueden acoplarse selectivamente con anilinas o aminas alifáticas mediante un proceso de transaminación, que proporciona una buena alternativa al acoplamiento cruzado de alcoholes con aminas para la preparación de iminas heteroclopuestas. La actividad de estos sistemas está fuertemente influenciada no solo por las quinonas sino también por los promotores adicionales, especialmente los cocatalizadores de metales nobles.¹⁷

Capítulo 7. Parte Experimental

7.1) Material

Para la obtención del extracto de *thymus vulgaris* se efectuó un con sistema de extracción de Soxhlet por lo que se requirió; una parrilla de calentamiento de 500 mL, un aparato de extracción Soxhlet con capacidad de 500 mL, juntas de 24/40, refrigerante rosario, mangueras de agua, bomba de agua, pinzas de laboratorio, barra magnética, matraz redondo de fondo plano de 100 mL.

Para la purificación del fenol se requirió un sistema de destilación por arrastre de vapor: un matraz erlenmeyer de 500 mL, parrilla de calentamiento, tapón horadado, alargadera de destilación, matraz de destilación de capacidad de 250 mL, refrigerante, matraz erlenmeyer de 100 mL, mangueras de agua, bomba de agua, pinzas de laboratorio, anillo de laboratorio, embudo de decantación de 250 mL, vasos precipitados de 100 mL, embudo, espátula, probeta, columna de cromatografía.

En la síntesis de la imina se requirió matraz redondo de 100 mL, parrilla de calentamiento con agitación, barra magnética, pipeta, espátula, vidrio de reloj y pinzas de laboratorio.

7.2) Reactivos y Disolventes.

Para el proceso de extracción del *thymus vulgaris*, obtención del fenol y síntesis de la imina se utilizaron los siguientes reactivos y disolventes; agua destilada (H_2O), etanol, (C_2H_5OH), metanol (CH_3OH), éter (C_2H_6O), sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), silica gel (SiO_2), tolueno (C_7H_8) cloruro de metileno (CH_2Cl_2), hidróxido de potasio (KOH), ácido clorhídrico (HCl), cloruro de sodio (NaCl), etilendiamina ($C_2H_8N_2$) y *p*-dimetilaminobenzaldehído ($C_{10}H_{12}O$).

7.3) Purificación

7.3.1) Cromatografía en Capa Fina

Para dar seguimiento al proceso de purificación del fenol se empleó la cromatografía en capa fina (CCF) utilizando cromatoplasmas de aluminio recubiertas con gel de sílice G/UV254 de 0.54 mm de espesor (Merck, Darmstadt, Germany). Las muestras se solubilizaron y se aplicaron sobre las cromatoplasmas [Figura 31]; se colocaron en una cámara cromatográfica previamente saturada con un sistema de elución (5:5) hexano-cloruro de metilo determinando el Rf.

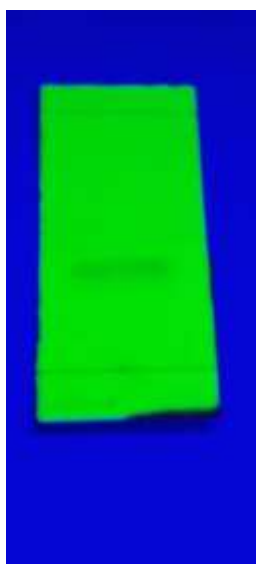


Figura 31. Cromatoplasmas

En la síntesis del compuesto α -diiminico se empleó cromatografía de capa fina (CCF) utilizando cromatoplasmas de aluminio recubiertas de sílice G/UV254 de 0.54 mm de espesor (Merck, Darmstadt, Germany), se aplicó con un sistema de elución (8:2) acetato de etilo - hexano y se determinó los Rf que posteriormente se reveló en una lámpara de luz ultravioleta.

7.3.2) Cromatografía en Columna

La purificación del timol se llevó a cabo mediante cromatografía en columna, utilizando sílica gel Merck 60 (0.063-0.200 mm) de 70-230 mallas. Se preparó inicialmente la columna empacada con la sílica, posteriormente se

agregó la muestra a separar y sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) como agente desecante, seguido se agregó el eluyente.

7.4) Mediciones Espectroscópicas

7.4.1) Espectroscopía FT-IR

El estudio FT-IR fue llevado a cabo en el equipo Excalibur FTS 3000 MX DIGILAB, de 4000 a 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Se prepararon pastillas mezclando la muestra con KBr.

7.4.2) Espectrometría de Masas

Los espectros de masas se obtuvieron mediante la técnica de IE (Impacto Electrónico) registrados con un espectrómetro JEOL JMS-SX 102A operado en el modo ión positivo a 70 eV, los datos están expresados en unidades masa/carga (m/z).

7.4.3) Espectrofotometría de UV-Vis.

Los espectros de espectrofotómetro se obtuvieron mediante el equipo espectrofotómetro Cary 50 UV-Vis 200-800 nm concentración 10^{-3} M, con celdas de cuarzo.

Capítulo 8. Procedimiento y Metodología

8.1) Extracción del *Thymus Vulgaris* por Sistema Soxhlet

Se agregan 300 mL de metanol en un matraz de bola de 500 mL, posteriormente se coloca en el cartucho de alumina 5.284 g de *Thymus Vulgaris* en forma seca, se coloca el sistema a una temperatura de 343.15° K, se realizaron tres sífones para obtener el extracto con mayor concentración del thymus vulgaris, después se evapora el disolvente y se lleva a cabo una destilación por arrastre de vapor obteniendo un producto solido verdoso con rendimiento de 0.3104 g., más tarde esta mezcla de componentes fue utilizada como agente degradante del colorante azul de metileno [Figura 32].



Figura 32. Sistema de extracción Soxhlet.

Una vez obtenido el extracto se le realiza un proceso de destilación rotatoria para eliminar el exceso de disolvente que contiene [Figura 33];



Figura 33. Aparato de destilación rotatorio.

Contenido el extracto de forma sólida, se realiza cinco diferentes ensayos en matraces de bola de 100 mL [Figura 34], utilizando una disolución de 10 μ L de azul de metileno en etanol, posteriormente se le agregan diferentes cantidades del extracto en agitación y protegiéndolo de la luz para así determinar si puede ser redituable para una degradación en colorantes de tiazina.

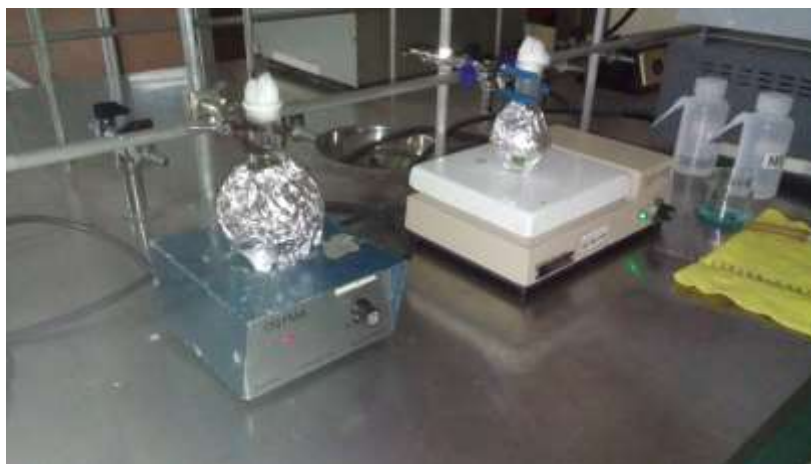


Figura 34. Proceso de degradación del azul de metileno con extracto de *thymus vulgaris*.

Una vez terminado el proceso se toman muestras y se llevan a un análisis de espectrofotometría de UV-Vis.

8.2) Obtención del Timol por Destilación por Arrastre de Vapor.

Inicialmente agregamos 500 mL de agua destilada en el matraz erlenmeyer de 1 L., a continuación se agregan 50 g de la planta *Thymus Vulgaris* seca en un matraz de destilación de 250 mL, para lograr la suspensión de la muestra, se busca la menor manipulación posible con el objetivo de no degradar los aceites esenciales que son la fuente principal del compuesto a purificar, consecutivamente se añaden 1 gramo de hidróxido de sodio (NaOH) con la finalidad de separar con mayor efectividad el aceite esencial [Figura 35].



Figura 35. Se emplea una destilación por arrastre de vapor para obtener el fenol.

Posteriormente se realiza una extracción con agua y éter etílico obteniendo una mezcla de productos [Figura 36].



Figura 36. Se emplea un embudo de decantación para la extracción de aceites esenciales presentes en la planta.

Con la parte acuosa se hizo una nueva extracción con éter ($\text{CH}_3\text{-O-CH}_3$) logrando separar los excedentes de aceites que queden solubilizados en esta fase.

A la fase etérea se le extrajeron las trazas de agua remanente con sulfato de sodio (Na_2SO_4) como desecante [Figura 37]. Para la obtención de los fenoles (Timol) se hace una extracción. Se coloca en un embudo de decantación los aceites obtenidos junto con agua destilada (H_2O), después se agrega una disolución 2N (v/m) de ácido clorhídrico haciendo que los fenoles sean solubles en la fase acuosa, ya que estos compuestos son más ácidos.



Figura 37. Embudo de decantación empleado para la obtención de fenoles.

Una vez aislada la fase acuosa del resto se coloca a un nuevo embudo de decantación para su acidificación con una disolución 2N (v/v) de ácido clorhídrico (HCl) y éter ($\text{CH}_3\text{-O-CH}_3$), de esta manera se obtienen solamente los fenoles en fase etérea. Se juntan las fases etéreas y se filtran con sulfato de sodio (Na_2SO_4) como desecante para eliminar las trazas de agua [Figura 38] y obtener así los fenoles aislados, finalmente el compuesto obtenido es caracterizado por técnicas espectroscópicas anteriormente mencionadas.



Figura 38. Proceso de filtración para eliminar las trazas de agua.

8.3) Purificación por Cromatografía en Columna.

Para la purificación del timol se utilizó una columna cromatográfica, la cual fue preparada de la siguiente manera [Figura 39], se coloca en soporte la columna, se pone un tapón de algodón, después se agrega la silica gel (SiO_2), la muestra, sulfato de sodio (Na_2SO_4) y finalmente se utiliza como fase móvil cloruro de metileno ($\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$) y tolueno (C_7H_8) 30/70 respectivamente. Al proceso de purificación se le dio seguimiento por cromatografía en capa fina obteniendo un RF de 0.55.

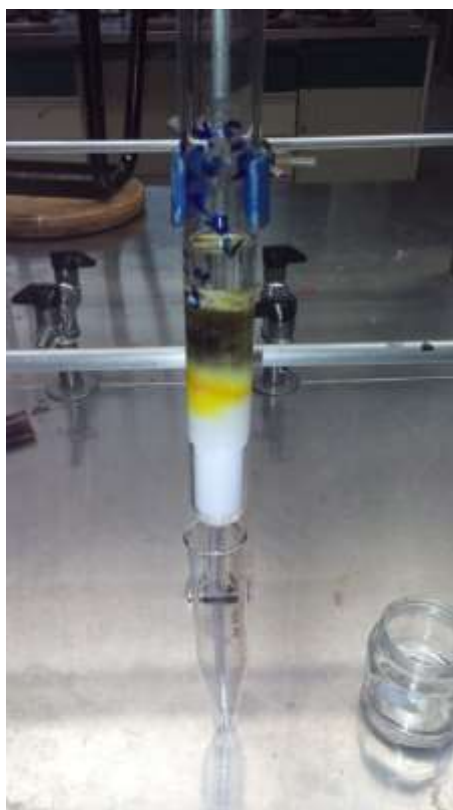


Figura 39. Proceso de purificación por cromatografía en columna.

8.4) Síntesis de α -diimina.

En un matraz de bola de 100 mL se agregan 1.66×10^{-3} de etilendiamina y 3.32×10^{-3} de *p*-dimetilaminobenzaldehído en medio ácido. Esta reacción se llevó a cabo en horno de microondas a temperatura de 60°C con potencia de 400 W y en agitación magnética, posteriormente se le da seguimiento por

cromatografía en placa fina obteniendo un Rf de 0.65. Después se purifica el compuesto mediante cromatografía en columna [Figura 40].



Figura 40. Iminas para su posterior uso como degradante del azul de metileno.

Una vez purificada la imina es caracterizada por técnicas espectroscópicas de rutina y posteriormente evaluada como agente degradante del azul de metileno.

Capítulo 9. Discusión de Resultados.

9.1) Obtención del Extracto de *Thymus Vulgaris*

La extracción se realizó por un sistema soxhlet, del cual se tuvo una muestra sólida de color verde [Figura 41], así mismo se logró un rendimiento experimental del 45.55%, este extracto fue utilizado para la degradación del colorante azul de metileno.



Figura 41. Extracto sólido de la planta *Thymus Vulgaris*.

9.2) Resultados de la Degradación del Azul de Metileno por el Extracto de la Planta *Thymus Vulgaris*.

Inicialmente se preparó la solución del colorante y se ajustó el tiempo de degradación realizando diferentes ensayos utilizando 0.25 g de extracto.

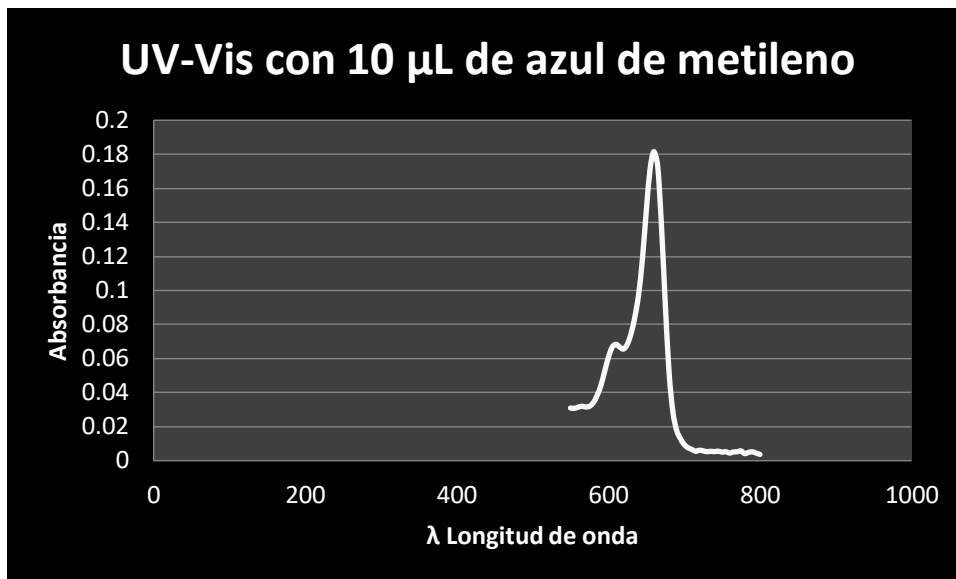
En los diferentes ensayos realizados se manejaron los siguientes tiempos:

- 2 minutos. No se observa alteración física (color), por cromatografía en capa fina no presentan nuevos productos y por espectrofotometría UV-Vis no se observa alteración alguna.

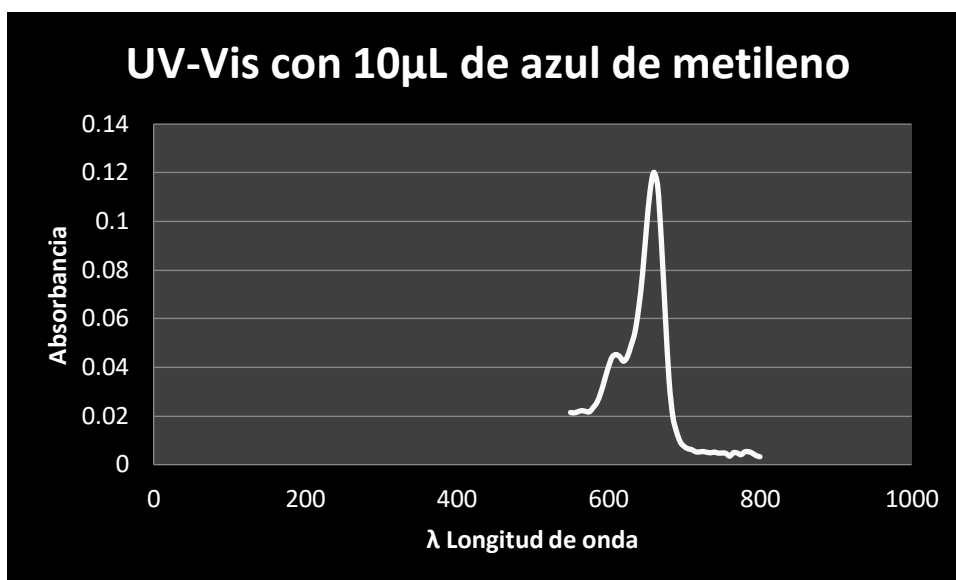
- 4 minutos. No se observaba disminución de la concentración del colorante por cromatografía en capa fina (misma mancha) ni por espectrofotometría UV-Vis.
- 6 minutos. Se observa una ligera disminución del color, por cromatografía en capa fina comienza a tornarse un nuevo producto y por espectrofotometría disminuye la absorbancia de 0.56.
- 8 minutos. Se observa gran disminución de concentración del colorante y aparece un nuevo producto por cromatografía en capa fina. Además al producto obtenido se le dio seguimiento por espectrofotometría UV-Vis presentando una absorbancia de 0.009.
- 10 minutos. Se observa los mismos cambios que al minuto 8.
- 12 minutos. Por cromatografía en capa fina se observa una pequeña mancha de azul de metileno y por espectrofotometría se observa un mínimo aumento de concentración del colorante (absorbancia de 0.015).
- 30 minutos. La solución disminuye de intensidad de color, a esta muestra se le da seguimiento por cromatografía en capa fina y se observa nuevamente el azul de metileno. Se le da seguimiento por espectrofotometría UV-Vis y efectivamente ha aumentado la concentración del colorante (absorbancia de 0.008).
- 60 minutos. La solución se torna nuevamente a color azul claro, a esta muestra se le da seguimiento por cromatografía en capa fina y se observa nuevamente el azul de metileno más intenso. Se le da seguimiento por espectrofotometría UV-Vis y efectivamente ha aumentado la concentración del colorante (absorbancia de 0.003).

Posteriormente se manejaron cinco muestras con 10 μ L del colorante a diferente concentración del extracto (0.08 g, 0.13 g, 0.17 g, 0. 2 g y 0.25 g) de la planta *Thymus Vulgaris*, en un tiempo de 8 minutos.

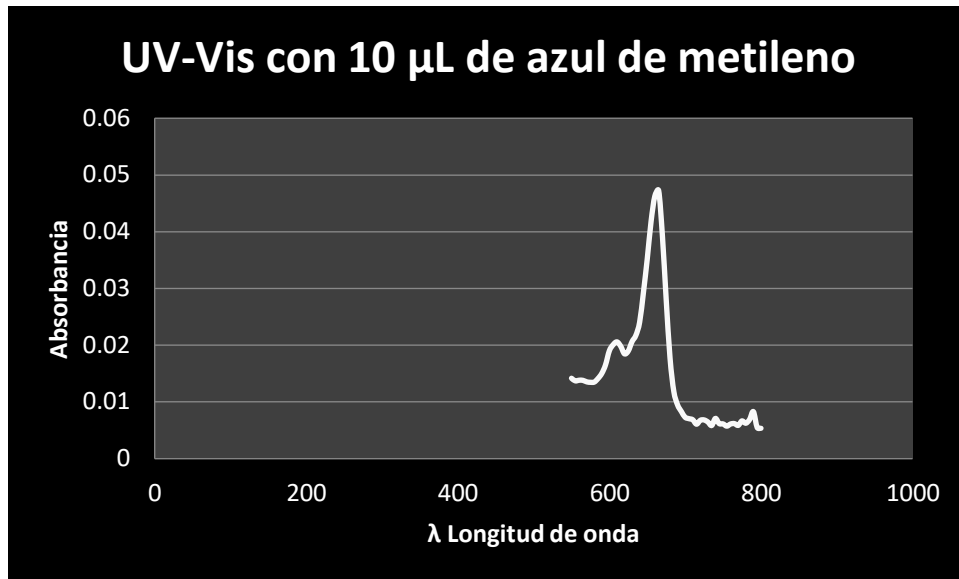
Este proceso se le dio seguimiento por espectrofotometría UV-Vis, dando los siguientes resultados [Figura 42].



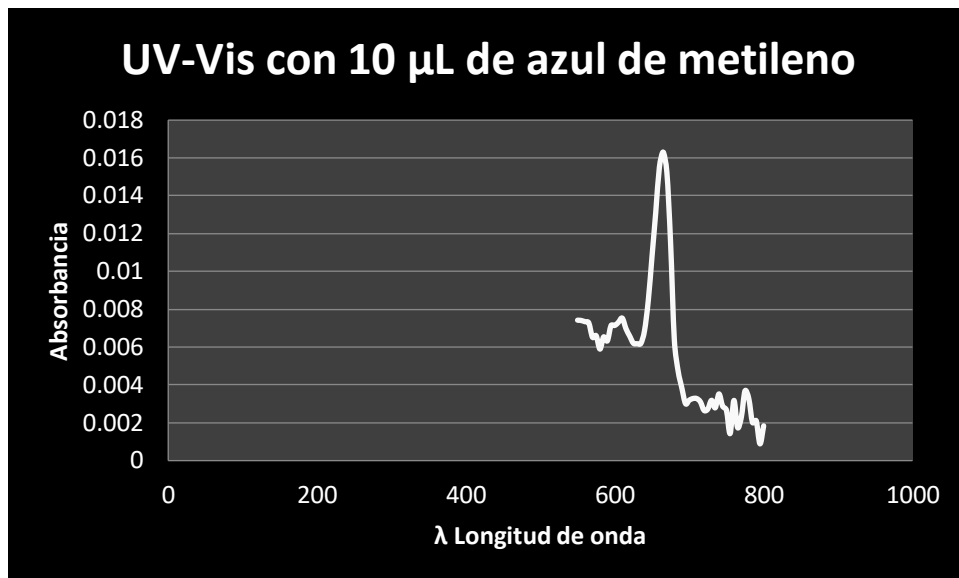
A) Absorbancia del colorante con 0.08 g del extracto.



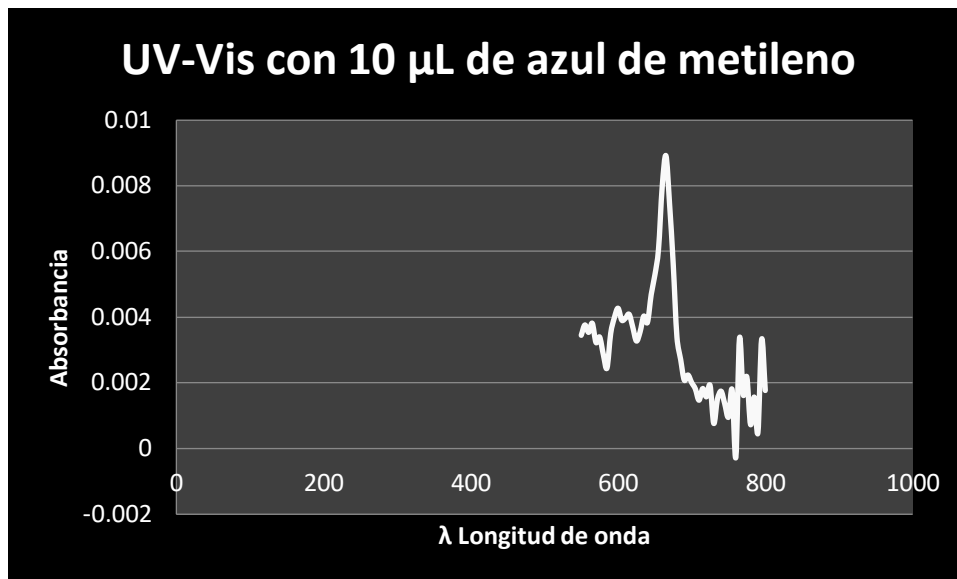
B) Absorbancia del colorante con 0.13 g del extracto.



C) Absorbancia del colorante con 0.17 g del extracto.



D) Absorbancia del colorante con 0.2 g del extracto.



E) Absorbancia del colorante con 0.25 g del extracto.

Figura 42. Disímiles espectros UV-Vis del colorante azul de metileno tratados con diferentes concentraciones del extracto del *Thymus Vulgaris*.

Para calcular la concentración del azul de metileno a partir de la absorbancia se utiliza la ley de Lambert-Beer, basándonos en la siguiente ecuación;

Ec.15

$$A = \epsilon bc$$

Despejando C, obtenemos;

Ec.16

$$c = \frac{A}{\epsilon b}$$

Conociendo las absorbancias a 665 nm se obtienen las siguientes concentraciones en M [Tabla 6];

| Concentración M | Absorbancia medida |
|-----------------|--------------------|
| 0.00548954 | 0.17325 |
| 0.00380798 | 0.12018 |
| 0.00149651 | 0.04723 |
| 0.00051648 | 0.01630 |
| 0.00028264 | 0.00892 |

Tabla 6. Concentraciones obtenidas por la ecuación 32, según la ley de Beer.

A partir de las absorbancias obtenidas anteriormente se realizó una curva de calibración observando la disminución de la concentración del colorante con respecto a la cantidad de extracto agregado de 0.989 ± 0.002 M [Figura 43].

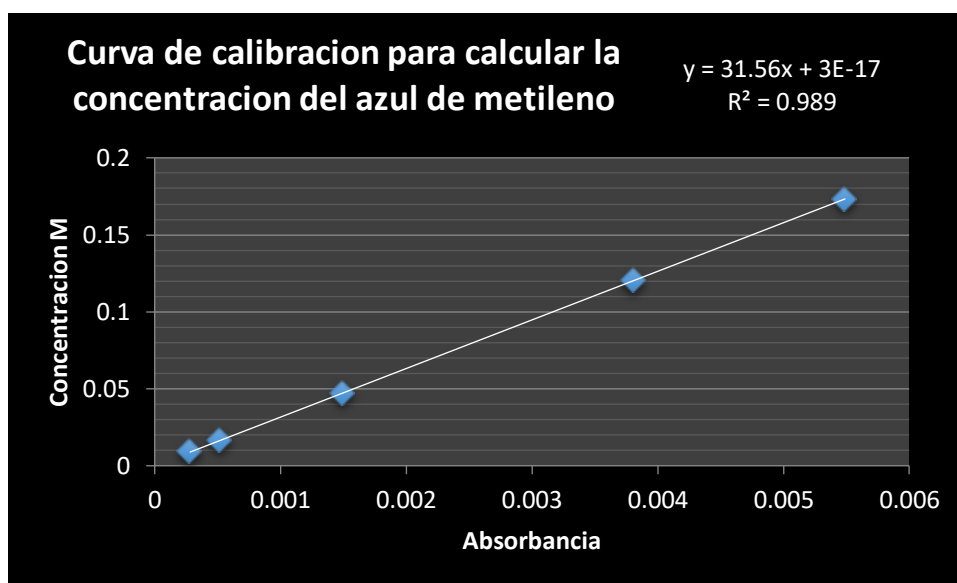


Figura 43. Curva de calibración.

Los espectros fueron tomados por el espectrofotómetro Cary 50 UV-Vis 200-800nm concentración 10^{-3} M, con una celda de cuarzo de sílice fundida (SiO_2) con paredes lisas.

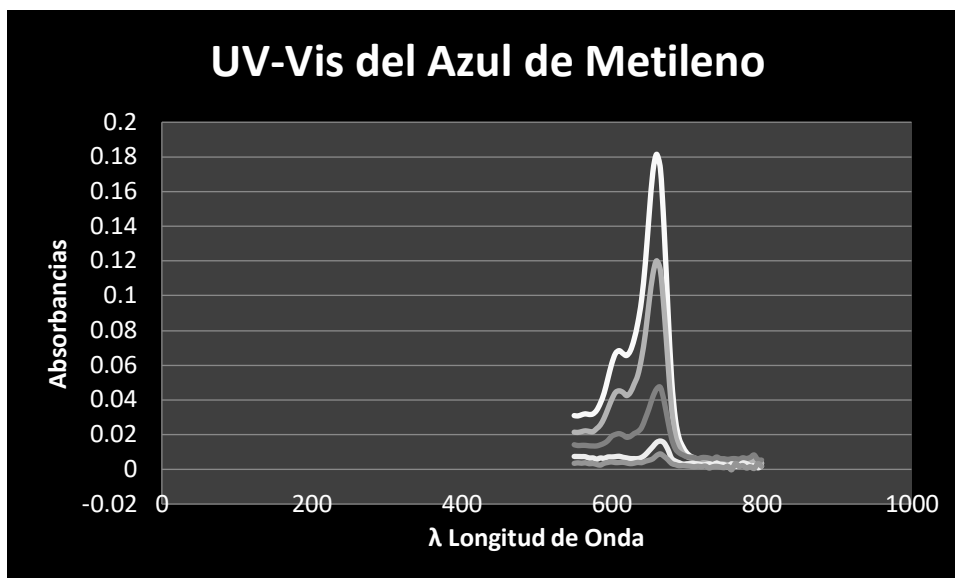


Figura 44. Espectrofotómetro UV/Vis, observancias del colorante *azul de metileno*.

En la figura 44 se observa la recopilación de datos obtenidos mostrando una disminución de la absorbancia en 665 nm., así mismo podemos mencionar que los aceites esenciales presentes en el extracto sirven como agentes degradantes de colorantes de tiazina.

9.3) Obtención y purificación del Timol.

Con respecto a los resultados obtenidos y a la literatura consultada se deseaba determinar al agente causante de la degradación, por lo tanto nos enfocamos a la purificación del compuesto de interés conocido como timol o 2-isopropil-5-metilfenol. Inicialmente se realizó una destilación por arrastre de vapor, posteriormente se separaron la fase orgánica y se purificó por cromatografía en columna consiguiendo un rendimiento del 40 %. A continuación el producto fue caracterizado por FT-IR.

| Grupo | Alcohol | O-H |
|---------------------------------|---|-----------------------|
| Numero de Onda cm^{-1} | Teórica ¹⁹ | Experimental |
| | 3570 cm^{-1} - 3200 cm^{-1} | 3428 cm^{-1} |
| | 3400 cm^{-1} - 3200 cm^{-1} | |

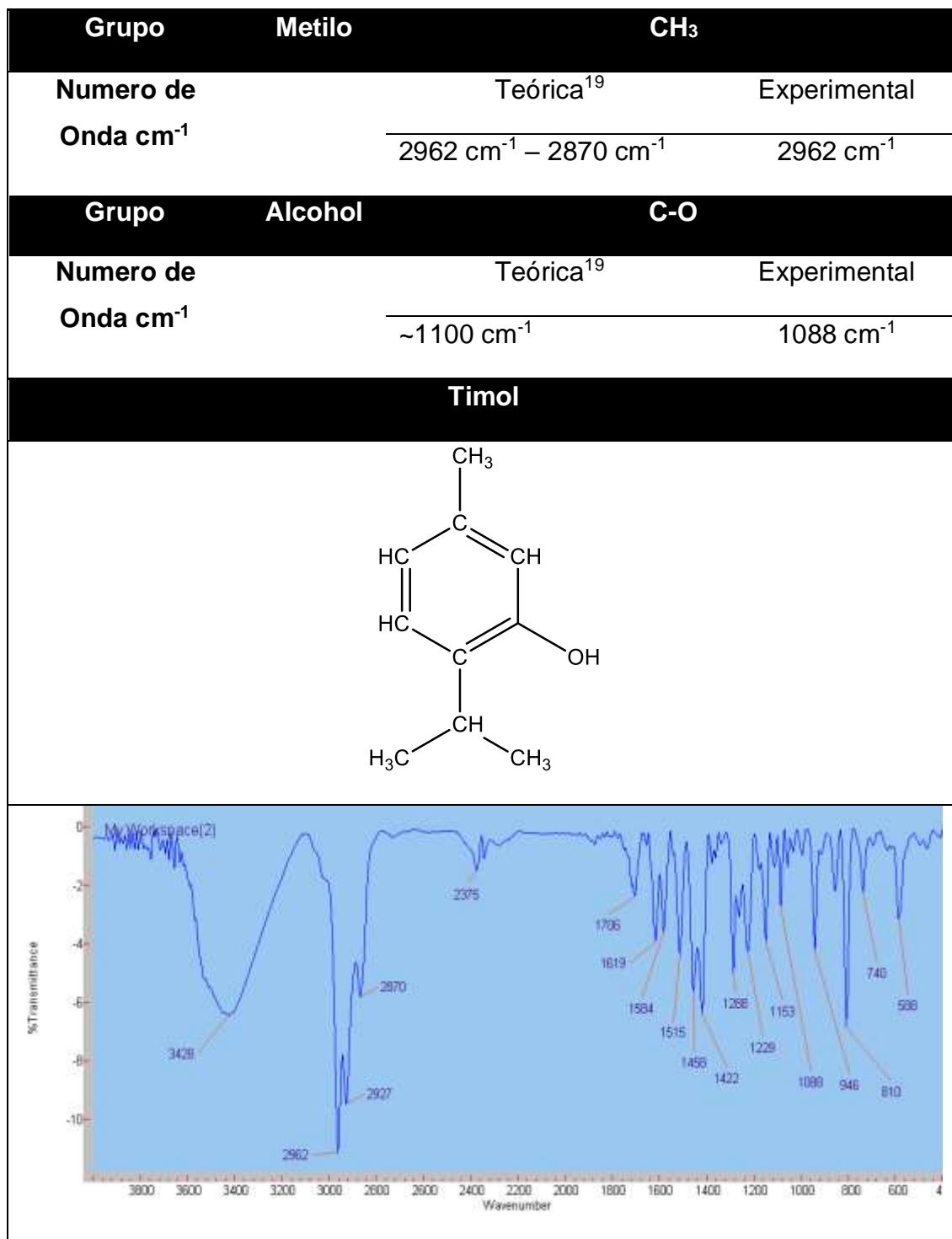


Tabla 7. Bandas teóricas de los grupos funcionales del Timol que se encuentran en literatura y las bandas observadas experimentalmente del Timol.

El espectro obtenido experimentalmente [Tabla 7], presenta una similitud al que se encuentra en la literatura del Timol [Figura 45], podemos obtener la información estructural por sus bandas de vibración; que se encuentran en la región de 3428 para O-H, 2962 para –CH₃ y a 1088 para C–O.

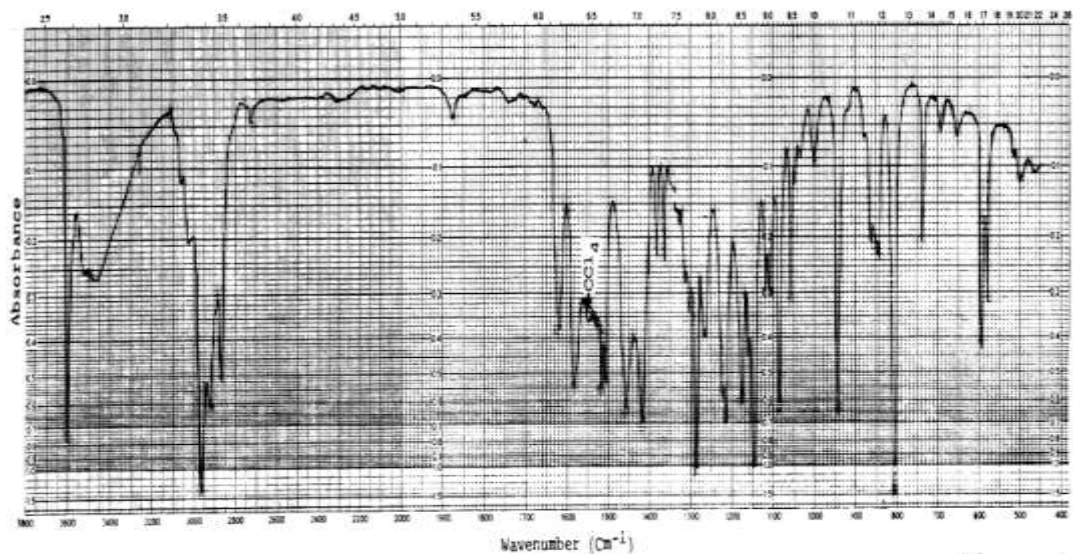


Figura 45. Espectro IR del 2-isopropil-5-metilfenol (National Institute of Standards and Technology US. Department of Commerce).

Además el timol fue caracterizado por espectrometría de masas, obteniendo el siguiente espectro [Figura 46].

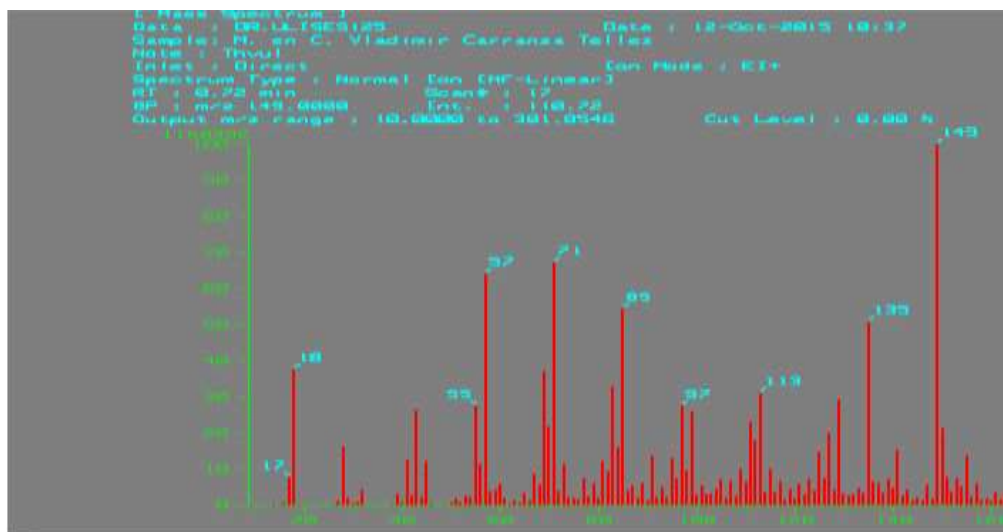


Figura 46. Espectrometría de masas para la identificación del 2-isopropil-5-metilfenol.

El espectrómetro de masas muestra un pico ión molecular a 149 que coincide con el peso molecular del 2-isopropil-5-metilfenol. Además este compuesto se usó como agente degradante del colorante de tiazina.

9.4) Timol como Agente Degradante.

El timol purificado y caracterizado se utilizó como agente degradante del colorante azul de metileno, se usó 1 μL de azul de metileno en 10 mL de etanol con una cubeta de 1 cm y se determinó la absorbancia por espectrofotometría UV-Vis presentando el siguiente gráfico [Figura 47].

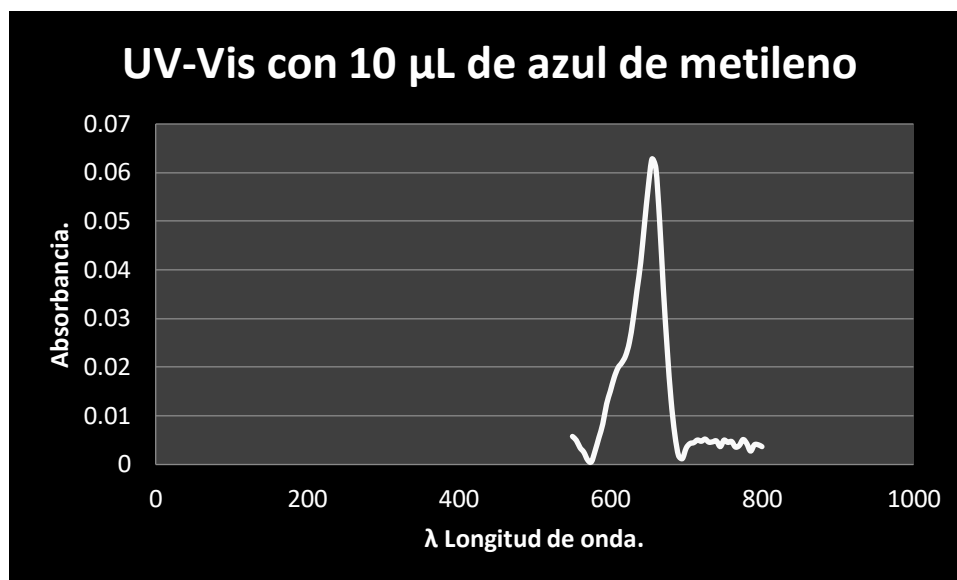


Figura 47. Espectro UV-Vis del azul de metileno en 10 μL , muestra una disminución de absorbancia del colorante al agregar 5 μL de timol.

9.5) Degradación del Azul de Metileno por el 2-isopropil-5-metilfenol.

El 2-isopropil-5-metilfenol se utilizó como agente degradante del colorante azul de metileno en etanol, por lo que la pregunta era; ¿a qué tiempo se lleva por completo la degradación?, así mismo se realizaron siete pruebas tomando alícuotas a diferentes tiempos [Tabla 8], en cada prueba se agregó 1 μL de azul de metileno, 10 mL de etanol y 5 μL de timol, se le dio seguimiento a cada prueba por espectroscopia UV-Vis y FT-IR.

| No. Muestras | Tiempos |
|--------------|---------|
| 1 | 00 min |
| 2 | 10 min |
| 3 | 15 min |
| 4 | 30 min |
| 5 | 60 min |
| 6 | 24 hrs |
| 7 | 48 hrs |

Tabla 8. Tiempo de análisis de las muestras con el agente degradante (timol).

A continuación se presentan las absorbancias obtenidas de diferente muestra tratada con 2-isopropi-5-metilfenol en diferentes intervalos de tiempo Tabla 9.

| No. Muestras | Tiempos | Absorbancias |
|--------------|---------|--------------|
| 1 | 00 min | 0.0619 |
| 2 | 10 min | 0.03808 |
| 3 | 15 min | 0.02984 |
| 4 | 30 min | 0.02446 |
| 5 | 60 min | 0.02196 |
| 6 | 24 hrs | 0.01713 |
| 7 | 48 hrs | 0.01331 |

Tabla 9. Absorbancias a diferentes rangos de tiempo.

Para calcular la concentración del azul de metileno a partir de las absorbancias se aplica la ecuación 15 [Tabla 10].

| Concentración M | Absorbancias |
|--------------------|--------------|
| 0.005491099 | 0.04998 |
| 0.004183694 | 0.03808 |
| 0.003278399 | 0.02984 |
| 0.00268732 | 0.02446 |
| 0.002412656 | 0.02196 |
| 0.001882003 | 0.01713 |
| 0.001462315 | 0.01331 |

Tabla 10. Disminución de la concentración de azul de metileno.

Por lo que en la curva de calibración a partir de las absorbancias es la siguiente 0.996 ± 0.001 M [Figura 48].

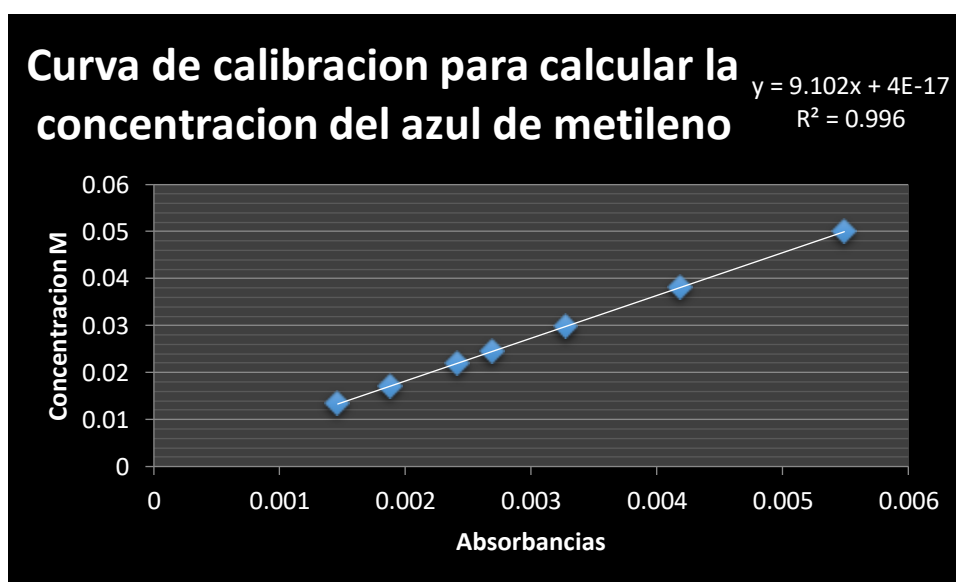


Figura 48. Curva de calibración para calcular la concentración del azul de metileno a partir de las mediciones de absorbancia.

Se puede determinar que a mayores rangos de tiempo la presencia del azul de metileno va disminuyendo, por lo tanto se observa una mínima presencia del colorante, para justificar estos resultados las muestras se estudiaron de igual manera por FT-IR. El espectro del azul de metileno, presenta vibraciones características de la estructura a 3150 cm^{-1} (aromáticos), 1698 cm^{-1} (C=C), 1454 cm^{-1} (-CH₃) y 1422 cm^{-1} (CH₃-N), tal como se presenta en la figura 49.

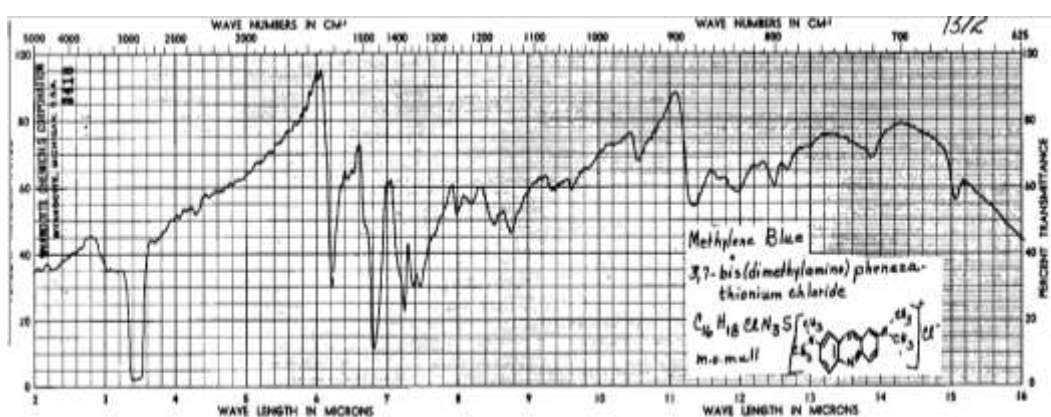


Figura 49. Espectro IR del azul de metileno (National Institute of Standards and Technology US. Department of Commerce).

La muestra tomada a 48 horas fue analizada por FT-IR (equipo Excalibur FTS 3000 MX DIGILAB, de 4000 a 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1}) mostrando nuevas bandas de vibración, se observa una disminución en la banda de los grupos aromáticos (2921 cm^{-1} y 1422 cm^{-1}). Comparando el espectro de FT-IR del azul de metileno con el espectro del producto de degradación a las 48 horas (sin disolvente) se determina que bandas vibracionales de algunos grupos funcionales han sido modificados, por lo que la estructura se ha alterado [Tabla 11].

| Grupo | Amina | $N^+(CH_3)_2$ | |
|--|-------------------|---------------------------------|----------------|
| Numero de Onda cm^{-1} | | Teórica ¹⁸ | Experimental |
| | | 1695 cm^{-1} - 1700 cm^{-1} | 1588 cm^{-1} |
| Grupo | Heterocíclicos | C=C y C=N | |
| Numero de Onda cm^{-1} | | Teórica ¹⁸ | Experimental |
| | | 1626 cm^{-1} | $\neq cm^{-1}$ |
| Grupo | Alquenos y Aminas | C-O y C-N | |
| Numero de Onda cm^{-1} | | Teórica ¹⁸ | Experimental |
| | | 1559 cm^{-1} – 1541 cm^{-1} | $\neq cm^{-1}$ |
| Grupos | Aminas Aromáticas | C-N | |
| Numero de Onda cm^{-1} | | Teoría | Experimental |
| | | 1320 cm^{-1} -1338 cm^{-1} | $\neq cm^{-1}$ |
| Grupo | Sulfuros | C-S | |
| Numero de Onda cm^{-1} | | Teoría | Experimental |
| | | 1200 cm^{-1} – 800 cm^{-1} | $\neq cm^{-1}$ |
| Timol | | | |
| <p>The structure shows a 10-membered ring containing two nitrogen atoms and one sulfur atom. The sulfur atom is double-bonded to two carbon atoms and carries a positive charge (S⁺). The two nitrogen atoms are also double-bonded to carbon atoms in the ring and each carries two methyl groups (CH₃). A chloride ion (Cl⁻) is shown below the ring.</p> | | | |

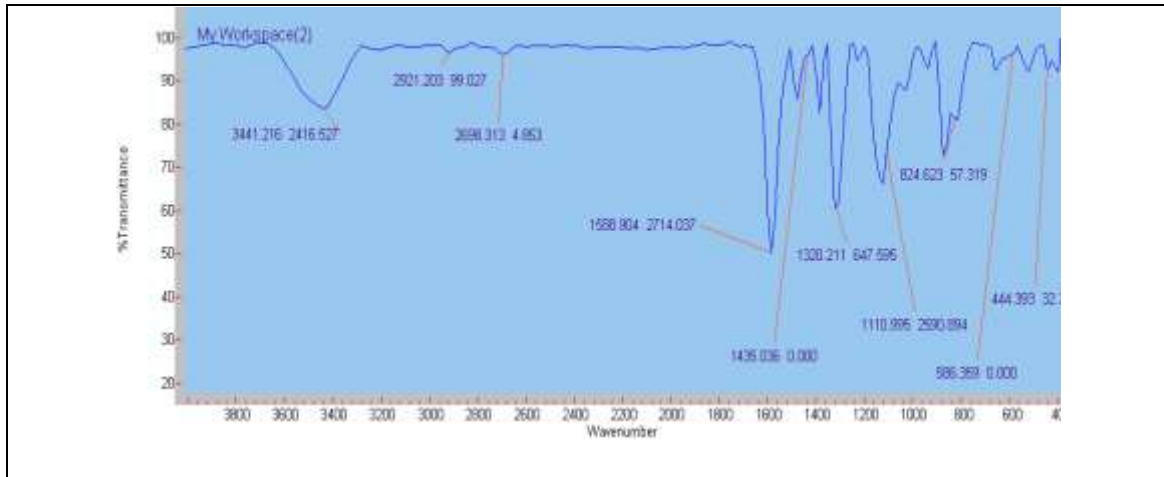
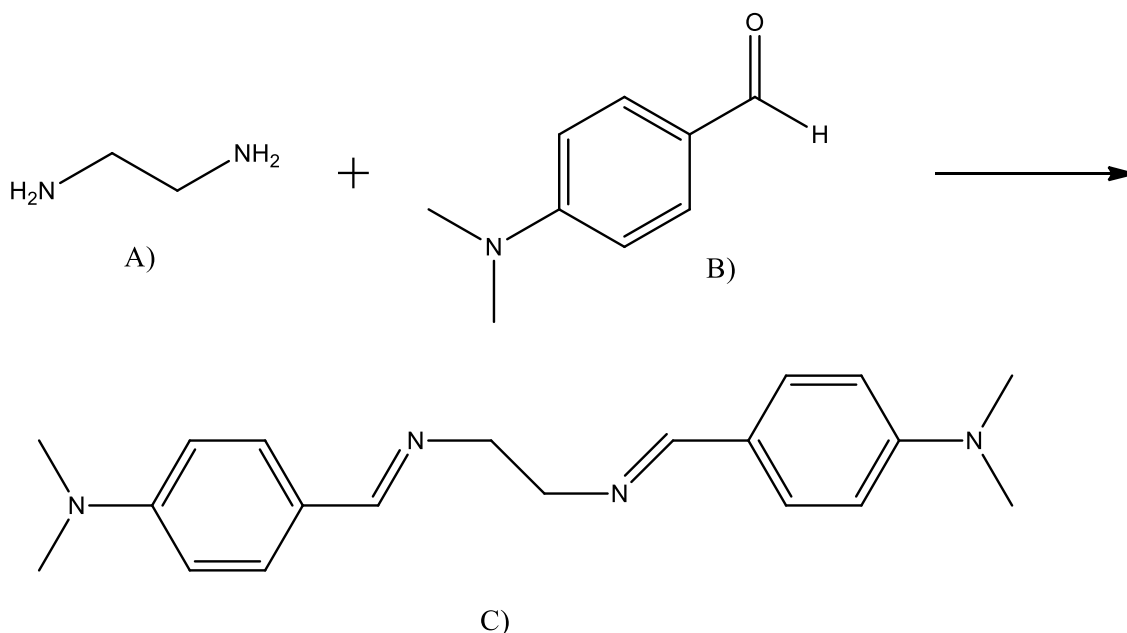


Tabla 11. Bandas teóricas de los grupos funcionales del azul de metileno que se encuentran en literatura y las bandas observadas experimentalmente del colorante.

Cabe resaltar que el compuesto 2-isopropil-5-metilfenol logro disminuir la presencia del colorante azul de metileno.

9.6) Síntesis de la α -diimina.

Como segunda parte de este trabajo se efectuó la degradación del azul de metileno con α -diimina sintetizada en el laboratorio. Originalmente se sintetizó la α -diimina a partir de etilendiamina (1.66×10^{-3} mol) y *p*-dimetilaminobenzaldehído (3.32×10^{-3} mol) en medio ácido y en microondas. [Esquema 8].



Esquema 8. Esquema de reacción para obtener la α -diimina (C), a partir de etilendiamina (A) y *p*-dimetilaminobenzaldehído (B).

A la reacción se le dio seguimiento por cromatografía en capa fina y se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil hexano-acetato de etilo. El producto fue caracterizado por FT-IR y por espectrometría de masas.

El producto del compuesto [Figura 50] es un sólido naranja. En el espectro de infrarrojo se observa una banda de absorción con frecuencia de 1624 cm^{-1} asignada a la vibración de alargamiento del enlace $\nu(\text{C}=\text{N})$.

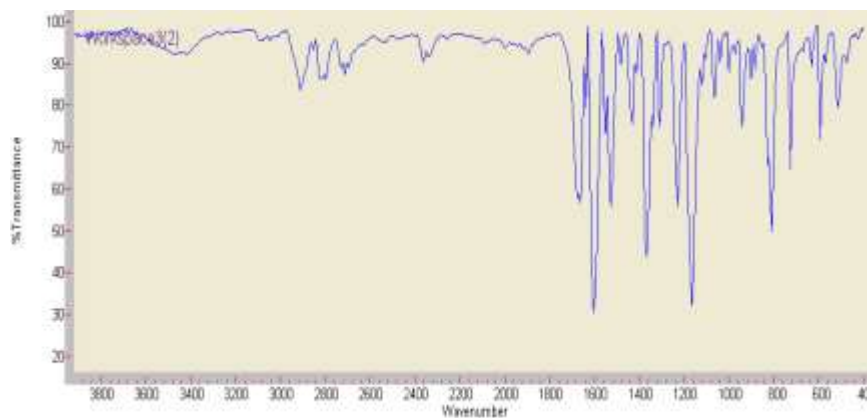


Figura 50. Espectro FT-IR de α -diimina.

En el espectro de masas [Figura 51] permite observar el pico ion molecular del compuesto (m/z 322 M^+)• y confirma el peso molecular propuesto para $C_{20}H_{26}N_4$.

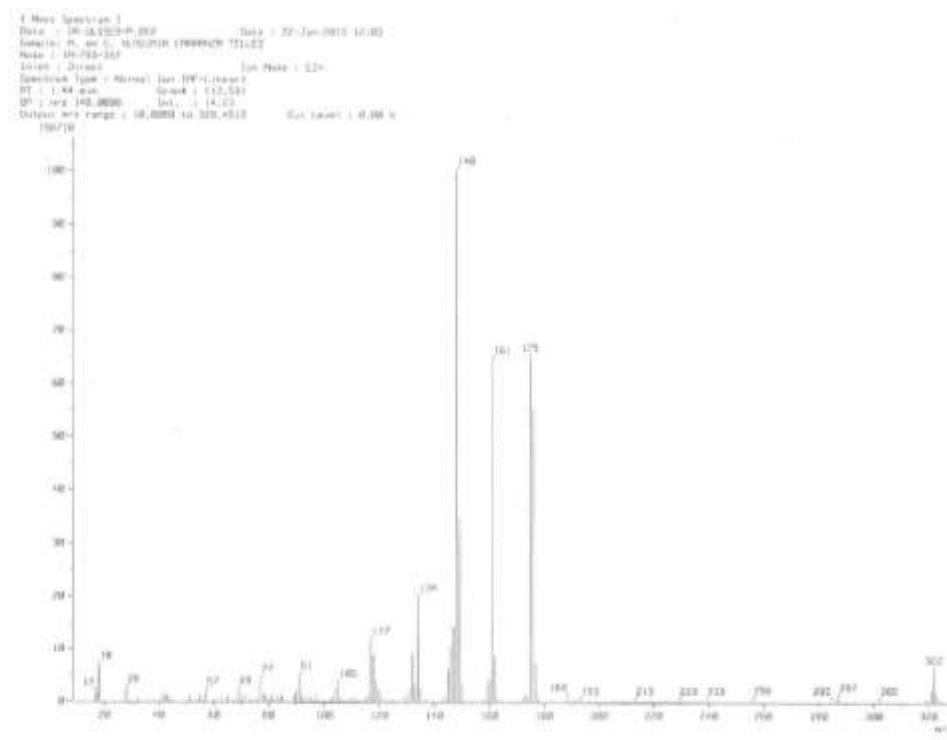


Figura 51. Espectro de masas de α -diimina.

Los picos con relación m/z 161 y 175 corresponden de acuerdo con el patrón de fragmentación de α -diimina, que se propone en la Figura 52.

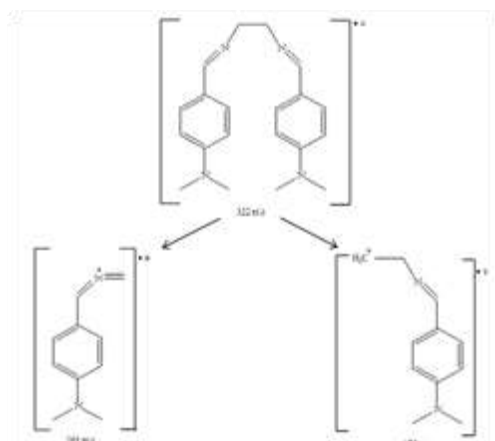


Figura 52. Patrón de fragmentación de α -diimina

Al mismo tiempo, se calculó el rendimiento experimental a partir del teórico con la siguiente ecuación:

Ec.17

$$R_T = \left(\frac{m_{C_9H_8O}}{PM_{C_9H_8O}} \right) PM_{\alpha\text{-diimina}}$$

Se obtuvo un rendimiento experimental del 67 %.

Consecutivamente la α -diimina se utilizó como agente degradante del azul de metileno. En un proceso preliminar se añadieron 10 μ L de azul de metileno con una absorbancia inicial de 0.1953, 10 mL de etanol y se añadió α -diimina, al tiempo 0 minutos se analizó una muestra por espectrofotometría de UV-Vis y esta presenta un pico a una longitud de onda a 665 nm y una absorbancia de 0.07865 en una cubeta de 1 cm [Figura 53] presentando una disminución en la concentración del colorante.

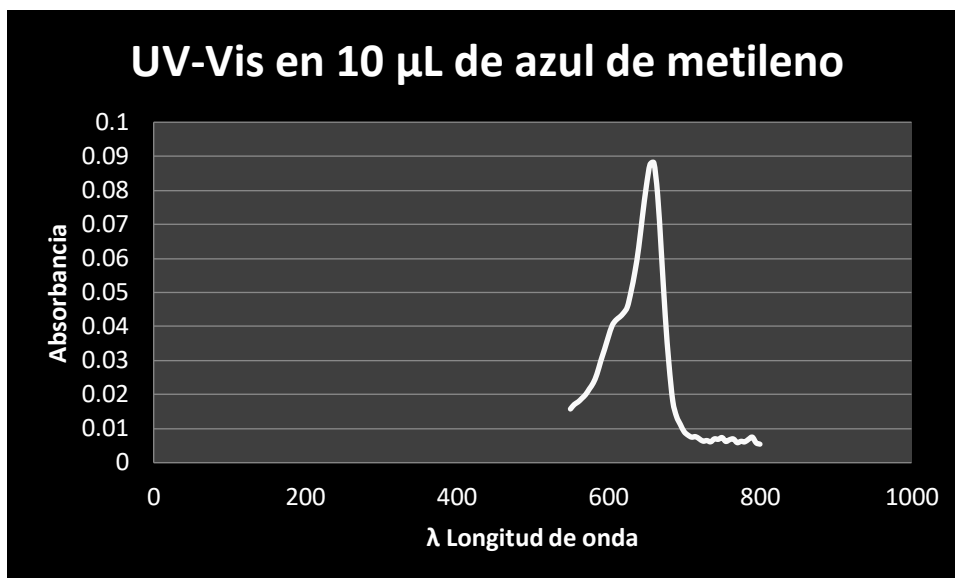


Figura 53. Espectro UV-Vis del azul de metileno tratado con la α -diimina.

Como se observa en el gráfico existe una disminución en la absorbancia del colorante azul de metileno y por consiguiente una menor concentración.

9.7) Degradación del azul de metileno respecto al tiempo por α -diimina.

Se determina que la α -diimina puede ser utilizada como agente degradante. Además se establece un procedimiento que permita informar el tiempo de degradación del azul de metileno con α -diimina [Tabla 12].

| Muestras | Tiempos |
|----------|---------|
| 1 | 0 min |
| 2 | 1 min |
| 3 | 2 min |
| 4 | 3 min |
| 5 | 4 min |
| 6 | 5 min |

Tabla 12. Muestras tomadas a diferentes intervalos de tiempo.

Cada uno de los ensayos fue analizado por espectrofotometría de UV-Vis obteniendo los siguientes valores de absorbancias [Tabla 13].

| Muestras | Tiempos | Absorbancias |
|----------|---------|--------------|
| 1 | 0 | 0.07865 |
| 2 | 1 | 0.00544 |
| 3 | 2 | 0.0056 |
| 4 | 3 | 0.00039 |
| 5 | 4 | 0.00019 |
| 6 | 5 | 0.00008 |

Tabla 13. Absorbancias en diferentes rangos de tiempo.

Se obtiene las siguientes concentraciones en M del azul de metileno a partir de las absorbancias obtenidas [tabla 13], estas se calculan por la ley de Lambert-Beer (ecuación 32); [Figura 54].

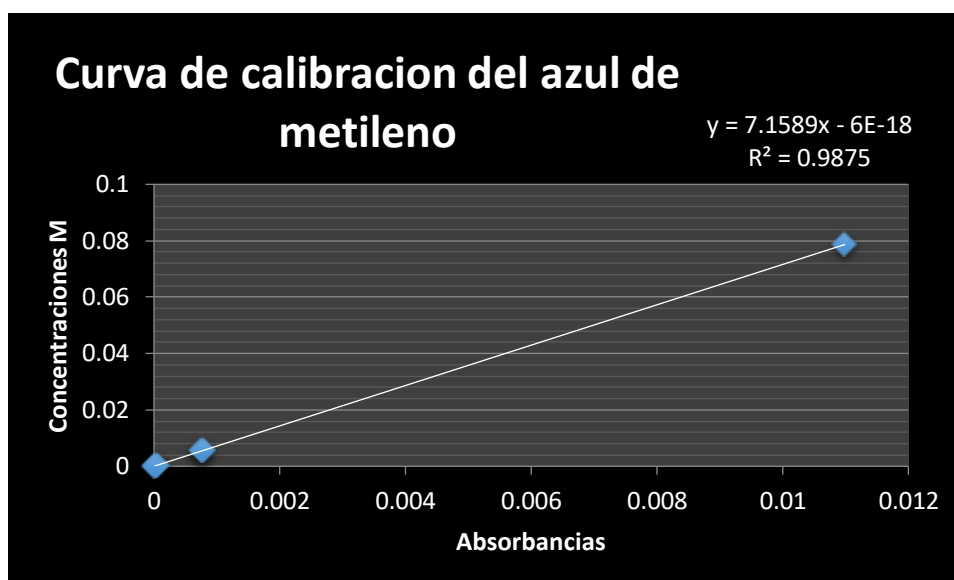


Figura 54. Curva de calibración de concentraciones.

La concentración del azul de metileno en este ensayo es de 0.9875 molar \pm 0.004 M de correlación lineal, dado los resultados favorables (mostraron una rápida degradación), se llevó a cabo un análisis de infrarrojo de la muestra, dando el siguiente espectro [Figura 55].

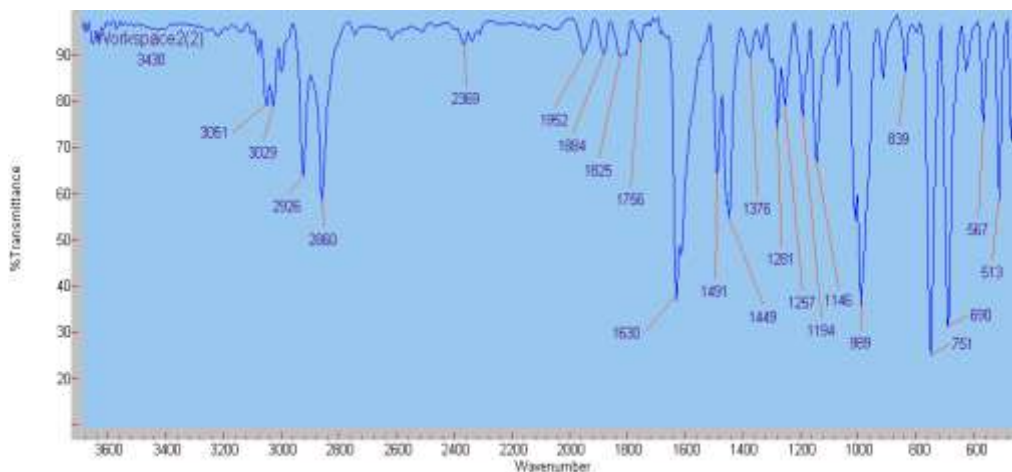


Figura 55. Espectro IR del azul de metileno tratado con la α -diimina.

El espectro IR no dio señales características del azul de metileno en especial las bandas de 3206 cm^{-1} y 1422 cm^{-1} , lo que determina una modificación absoluta en la estructura del colorante.

Con base en los resultados obtenidos se comparó el compuesto 2-isopropil-5-metilfenol el cual degrada el colorante de tiazina a una concentración de 1M, el tiempo de degradación es relativamente largo (48 horas) y la base de Schiff que es más efectiva para disminuir la presencia del azul de metileno.

Capítulo 10. Conclusiones.

En el presente trabajo se cumplieron los objetivos propuestos. Se obtuvo el extracto de la planta *Thimus Vulgaris* por un sistema de extracción y este fue empleado como degradante del colorante azul de metileno comprobando su acción.

Se identificó el compuesto degradante presente en la planta, después utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor se obtuvieron una mezcla de compuestos que posteriormente fue purificada mediante cromatografía en columna, obteniendo el compuesto 2-isopropil-5-metilfenol. Finalmente este fue caracterizado por técnicas espectroscópicas: FT-IR y espectrometría de masas.

El compuesto 2-isopropil-5-metilfenol fue empleado como agente degradante del colorante azul de metileno, a los resultados obtenidos se les dio seguimiento en espectrofotometría en UV-Vis.

La base de Shift fue sintetizada a partir de etilendiamina y *p*-dimetilaminobenzaldehído en medio ácido y microondas, además fue purificada por cromatografía, y caracterizada por FT-IR y espectrometría de masas. Este compuesto se empleó como agente degradante del azul de metileno, a este proceso se le dio seguimiento por espectrofotometría UV-Vis.

Al comparar los dos métodos de degradación, ambos disminuyeron la concentración del colorante azul de metileno, el compuesto 2-isopropil-5-metilfenol (método 1) logro el objetivo de disminuir completamente la concentración del pigmento con un tiempo de 48 horas, mientras que el compuesto iminico (método 2) mejoró el tiempo de acción degradante en comparación con 2-isopropil-5-metilfenol, sin embargo ambos métodos son eficientes para remoción del azul de metileno.

Capítulo 11. Bibliografías.

- [1] MuratOz, *ELSEVIER*, **2009**, 78, 929.
- [2] Federico Klages, *Tratado de Química Orgánica*, **1968**, 1, 111.
- [3] Dra. Gabriela E. Moeller Chávez, *SEMARNAT*, **2007**, 6,18.
- [4] Hinda Lachheb, Eric Puzenat, Ammar Houas, Mohamed Ksibi, *ELSEVIER*, **2002**, 39, 76.
- [5] S. Lakshmi a R. Renganathan a S, Fujita, *ELSEVIER*, **1995**, 88, 163.
- [6] Junwang Tang, Zhigang Zou, Jiang Yin, Jinhua Ye, *ELSEVIER*, **2003**, 382, 176.
- [7] Medhat Mohamed El-Moselhya,b,*, Soha M. Kamalb, *ELSEVIER*, **2018**, 6, 6-13.
- [8] Héctor Valdés, Rolando F. Tardón, Claudio A. Zaror, *ELSEVIER*, **2012**, 211-212, 389.
- [9] Guntae Son, Do-hyung Kim, Jung Seok Lee, Hyoung-il Kim, Changha Lee, Sang-Ryoung Kim, Hongshin Lee, *ELSEVIER*, **2017**, 206, 78.
- [10] G. Salas C, Rev. Per. Quím, Ing. Quím, **2010**, 13, 30-38.
- [11] M. Vanaja, K. Paulkumar, M. Baburaja, S. Rajeshkumar, G. Gnanajobitha, C. Malarkodi, M. Sivakavinesan, and G. Annadurai, *HINDAWI PUBLISHING CORPORATION*, **2014**, 742346, 2.
- [12] V´itor J.P. Vilar, Cidalia M.S. Botelho, Rui A.R. Boaventura, *ELSEVIER*, **2007**, 147, 120-132.
- [13] Mohamed N. Bayoumi¹, Raed S. Al-Wasify and Shimaa R. Hamed, *INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT MICROBIOLOGY AND APPLIED SCIENCES*, **2014**, 3, 963.
- [14] Angélica Evelin Delgadillo López, César Abelardo González Ramírez, Francisco Prieto Gracia, José Roberto Villagómez Ibarra and Otilio Acevedo Sandoval, *TROPICAL AND SUBTROPICAL AGROECOSYSTEMS*, **2011**, 14, 598.
- [15] Zuoxing Zheng and Kalidas Shetty, *J. Agric. Food Chem*, **2000**, 48, 933.
- [16] Ramon Morales Valverde, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, **1986**, 71.
- [17] Bo Chen, Lianyue Wang, and Shuang Gao, *acs catalysis*, **2015**, 5, 5868.

[18] Oleg V. Ovchinnikov, Anna V. Evtukhova, Tamara S. Kondratenko, Mikhail S. Smirnov, Vladimir Yu. Khokhlov, Oksana V. Erina, ELSEVIER, **2016**, 86, 183,184

[19] Zahra Zamania, Daryoush Alipoura, Hamid Reza Moghimib , Seyed Ali Reza Mortazavib and Mostafa Saffary, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, **2015**, 14, 1037.