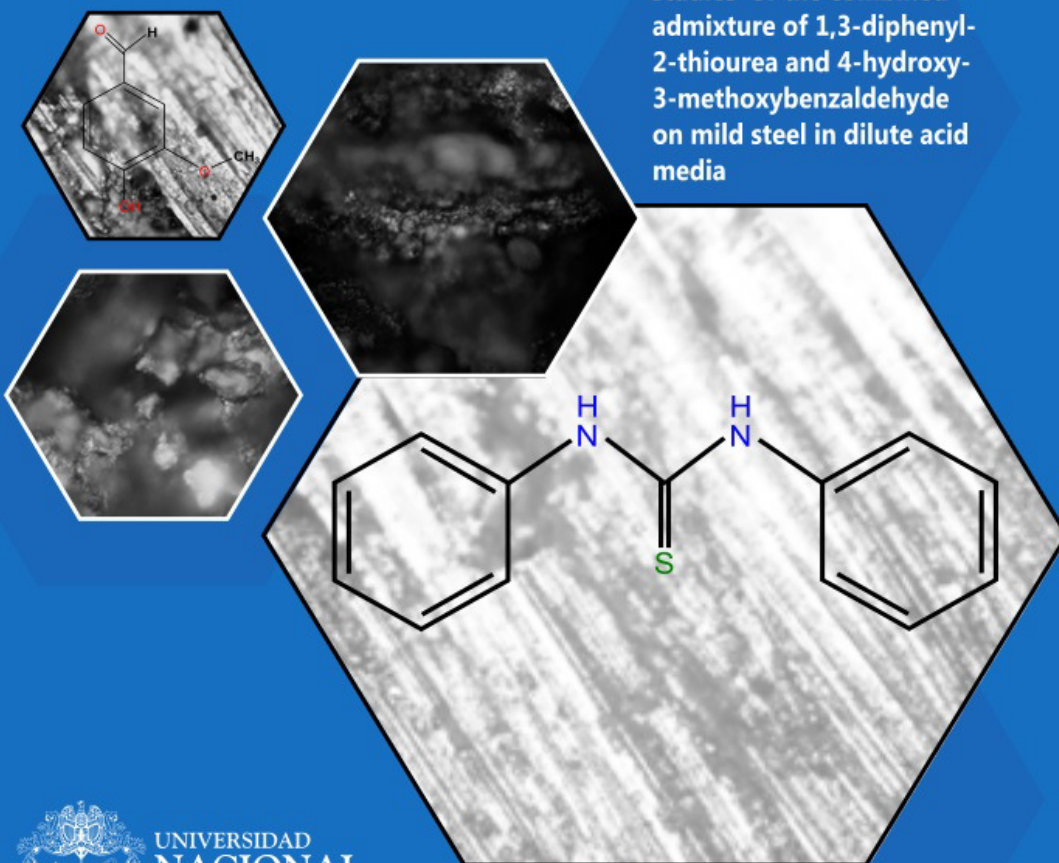


# R C Q

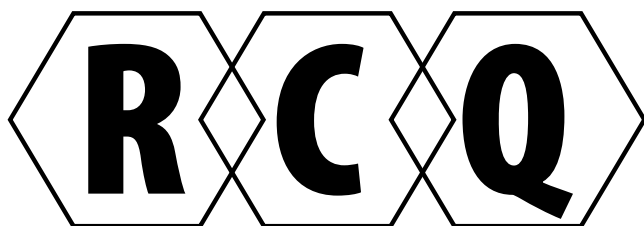
## Revista Colombiana de Química

Volumen 46, nro. 1 de 2017/ ISSN 0120-2804

Corrosion inhibition  
studies of the combined  
admixture of 1,3-diphenyl-  
2-thiourea and 4-hydroxy-  
3-methoxybenzaldehyde  
on mild steel in dilute acid  
media

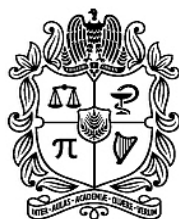


UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA  
SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



# Revista Colombiana de Química

Volumen 46, No. 1, enero - abril de 2017



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

## Edición

© Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias - Departamento de Química  
Sede Bogotá  
ISBN versión impresa: 0120-2804  
ISBN versión electrónica: 2357-3791  
DOI de la publicación by CrossRef.org:  
<http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim>

## Indizada en

Publindex- Índice Bibliográfico Nacional (categoría A2)  
Chemical Abstracts  
SciELO Colombia  
Scopus Q4 (SJR/2013: 0,112)  
Latindex  
Redalyc  
REDIB  
Directory of Open Access Journals (DOAJ)

## Periodicidad

Cuatrimstral

## Contacto

Departamento de Química  
Universidad Nacional de Colombia  
Apartado Aéreo 5997  
Bogotá, D.C., Colombia  
Fax: 571- 3165220  
Correo electrónico: [rcolquim\\_fcbog@unal.edu.co](mailto:rcolquim_fcbog@unal.edu.co)

## Consulta Open Access

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso)

## Director Revista

Carlos Eduardo Narváz Cuenca, Ph. D., Universidad Nacional de Colombia.

## Comité Editorial

Cristian Blanco Tirado, Ph. D., Universidad Industrial de Santander, Colombia.  
Francisco Carrasco Marín, Dr. Sc., Universidad de Granada, España.  
Leonardo Castellanos Hernández, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia  
Pedro Joseph-Nathan, Dr. Sc., Instituto Politécnico Nacional, México.  
Sonia Moreno Guáqueta, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Cristian Ochoa Puentes, Dr. rer. nat., Universidad Nacional de Colombia.  
Juscelino Tovar, Dr. Sc., Universidad de Lund, Suecia.

## Comité Científico

Gustavo Adolfo González Aguilar, Dr. Sc., Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, México.  
Ljubisa R. Radovic, Dr. Sc., Pensilvania State University, USA.  
Augusto Rivera Umaña, Dr. Sc., Universidad Nacional de Colombia.  
Fabio Zuluaga Corrales, Dr. Sc., Universidad del Valle, Colombia.  
Kushalappa Ajjamada, Ph. D., McGill University, Canadá.

## Suscripciones y canje

Valor del ejemplar \$10.000; suscripción anual \$30.000 y USD \$30 para el exterior, incluyendo en ambos casos el envío. Los pagos en Colombia deben realizarse mediante consignación en la cuenta de ahorros N° 220012720017 del Banco Popular, a nombre de Fondo Especial, Facultad de Ciencias U.N. Desde el exterior los pagos deben hacerse mediante cheque de un banco de Estados Unidos girado a nombre de Fondo Especial, Facultad de Ciencias U.N o mediante transferencia electrónica a la cuenta citada anteriormente. Por favor enviar cheques y fotocopias de giros o consignaciones a la dirección de la Revista Colombiana de Química.

Para canjes dirigirse al SINAB: [biblioteca\\_bog@unal.edu.co](mailto:biblioteca_bog@unal.edu.co) ó [cevelascozaza@unal.edu.co](mailto:cevelascozaza@unal.edu.co).

## Propósito y alcance

La Revista Colombiana de Química es publicada cuatrimstralmente por el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Publica contribuciones provenientes de la investigación en las diversas áreas de la química. El contenido de los artículos debe ser original, inédito y no debe haber sido enviado, total o parcialmente, para publicación a otra revista. La redacción asume el derecho de reproducción de los trabajos aceptados. Su publicación en otro medio requiere permiso del editor. La revista es dirigida a estudiantes y profesionales relacionados con cualquier área de la química.

## Preparación editorial

Camila Alejandra Rincón Carrillo, asistente editorial.  
Sindy Tatiana Bedoya Mesa, asistente editorial.  
Coordinación de Publicaciones.  
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.  
Cuidado editorial: Camila Alejandra Rincón Carrillo, Sindy Tatiana Bedoya Mesa.  
Diseño y maquetación: Camila Alejandra Rincón Carrillo, Sindy Tatiana Bedoya Mesa.  
Impresión y encuadernación: Proceditor Ltda.

Carta del editor  
Editor's letter

4

## Química Orgánica y Bioquímica

Dolabellane diterpenes from the Caribbean soft corals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula* and determination of their anti HSV-1 activity

Dolabellanos de los octocorales caribeños *Eunicea laciniata* y *Eunicea asperula* y determinación de su actividad anti VHS-1

Dolabellanos dos octocorais caribenhos *Eunicea laciniata* e *Eunicea asperula* e determinação de sua atividade anti HSV-1

*Fabián Amaya-García, María Leonisa Sanchez Nuñez, Freddy A. Ramos, Mónica Puyana, Izabel Christina Nunes de Palmer Paixão, Valeria Laneuville Teixeira, Leonardo Castellanos*

5-12

## Química Aplicada y Analítica

Valores de colinesterasa plasmática y eritrocitaria con ácido 6-6'-ditiiodinicotínico (DTNA) como indicador

Plasma and erythrocytic cholinesterase values with 6-6'-dithiodinicotinic acid (DTNA) as indicator

Valores da colinesterasa do plasma e dos eritrócitos utilizando o ácido 6-6'-ditiiodinicotínico (DTNA) como indicador

*Beatriz Restrepo Cortés, Ángela Liliana Londoño Franco, Juan Farid Sánchez López*

13-19

Corrosion inhibition studies of the combined admixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde on mild steel in dilute acid media

Estudios de inhibición de la corrosión de la mezcla combinada de 1,3-difenil-2-tiourea y 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído en acero dulce en medio ácido diluido

Estudos de inibição da corrosão da mistura combinada de 1,3-difenil-2-tiourea e 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído em aço macio em meio ácido diluído

*Roland T. Loto*

20-32

Preparación de carbón activado a partir de residuos de palma de aceite y su aplicación para la remoción de colorantes

Preparation of activated carbon from palm oil wastes and their application for methylene blue removal

Preparação de carvão ativado a partir da resíduos de palmeira de óleo e sua aplicação para a remoção de corantes

*Anyi P. Ramírez, Stephanie Giraldo, Elizabeth Flórez, Nancy Acelas*

33-41

## Fisicoquímica y Química Inorgánica

Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea

Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): An inorganic structure with many applications for heterogeneous catalysis

Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ): Uma estrutura inorgânica com múltiplas aplicações em catálise heterogénea

*Virginia E. Noval, Cristian Ochoa Puentes, José G. Carriazo*

42-59

Síntesis de monetita pura por reacción heterogénea ácido-base

Synthesis of pure monetite by heterogeneous acid-base reaction

Síntese de monetita pura por reação heterogénea ácido-base

*Davier Olarte Cárdenas, Luis Carlos Moreno Aldana, Edgar Delgado Mejía*

60-68

Guía para autores

Guide for authors

69-72

El primer número del volumen 46 del año 2017 de la Revista Colombiana de Química cuenta con la participación de distintos autores nacionales e internacionales. Las contribuciones provienen de autores de Brasil y Nigeria; Bogotá, Armenia y Medellín (Colombia). A continuación se presenta el contenido del número.

La sección de Química Orgánica y Bioquímica cuenta con un artículo en el cual se evalúa la actividad antiviral de dolabellanos obtenidos de corales del género *Eunicea* recolectados en el Caribe colombiano. Se extrajeron y caracterizaron seis compuestos, se encontró que uno de ellos presenta un 73,7% de inhibición del virus del herpes simplex, por lo cual es un compuesto de interés para futuros estudios de actividad antiviral.

La sección de Química Aplicada y Analítica cuenta con tres artículos, en el primero de ellos se evalúa mediante espectroscopia visible, usando ácido N7N'7ditiodinicotínico (DNNTA) como indicador, la actividad de dos enzimas tipo colinesterasa (plasmática y eritrocitaria) en población de la zona cafetera colombiana para establecer indicadores de riesgo laboral ante exposición a organofosforados y carbamatos. Se encontró que la colinesterasa plasmática es mayor en población fumigadora y logró establecerse los valores de referencia de intervención ocupacional. El segundo artículo de esta sección presenta un estudio de la inhibición de la corrosión de acero dulce en medio ácido (HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M) mediante el uso de derivados de tiourea y benzaldehído. Se encontró que la mezcla estudiada permite inhibir la corrosión hasta en 97,4%. Mediante microscopía, espectroscopía IR y cálculos termodinámicos se estableció el tipo de adsorción y el mecanismo de inhibición. El último artículo de la sección describe la obtención de carbón activado producido a partir de distintos residuos de palma de aceite, su activación química mediante ZnCl<sub>2</sub> y su capacidad de remover azul de metileno en solución. Se encontró que los carbones obtenidos de fibra de palma y activados químicamente presentan la mayor área superficial y la mayor capacidad de adsorción.

La sección de Físicoquímica y Química Inorgánica cuenta con dos artículos, el primero de ellos es una revisión acerca de la magnetita. Describe sus características como mineral, sus aplicaciones en la química verde como catalizador en diversas reacciones orgánicas, bien sea directamente, como soporte de óxidos, como núcleo de catalizadores *core-shell* o mediante el anclaje de grupos funcionales orgánicos o de complejos metálicos. Adicionalmente describe sus aplicaciones actuales y los yacimientos conocidos en Colombia. Finalmente, el último artículo del número describe la síntesis de monetita mediante una reacción ácido-base heterogénea empleando CaO y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Para ello se realizaron variaciones en el procedimiento: velocidad de adición de ácido fosfórico, homogenización y temperatura de secado. Mediante las técnicas de caracterización empleadas se logró obtener la monetita pura, así mismo, que los factores fundamentales que afectan la composición, estructura cristalina, forma y tamaño de grano y relación Ca/P son la estequiometría de los reactivos y la mecanoactivación.

The first issue of volume 46 of 2017 of Revista Colombiana de Química counts with the participation of different national and international authors. The contributions come from authors from Brazil and Nigeria, Bogotá, Armenia, and Medellín (Colombia). Here are the contents of the issue, published according to their subject.

The section of Organic Chemistry and Biochemistry has an article that evaluates the antiviral activity of dolabellans obtained from *Eunicea* corals collected in the Colombian Caribbean. Six compounds were extracted and characterized, one of them was found to have a 73.7% inhibition of the herpes simplex virus, which is why it is a compound of interest for future studies of antiviral activity.

The section of Applied and Analytical Chemistry has three articles. In the first one, the activity of two cholinesterase-like enzymes (plasma and erythrocyte) is evaluated by visible spectroscopy using N7N'7ditiodinicotinic acid (DNNTA) as an indicator, in a population of the Colombian coffee region to establish indicators of occupational risk to exposure to organophosphates and carbamates. It was found that the plasma cholinesterase is higher in the fumigant population and it was possible to establish the reference values of occupational intervention. The second article in this section presents a study of the inhibition of corrosion of mild steel in acidic medium (HCl and 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) by the use of thiourea and benzaldehyde derivatives. The studied mixture inhibited corrosion up to 97.4%. By means of microscopy, IR spectroscopy, and thermodynamic calculations, the type of adsorption and mechanism of inhibition were established. The last article of this section describes the production of activated carbon produced from different oil palm residues, its chemical activation by ZnCl<sub>2</sub>, and its ability to remove methylene blue in solution. The activated carbon obtained from palm fiber and the chemically activated ones presented the greatest surface area and the greater capacity of adsorption.

The section of Physical Chemistry and Inorganic Chemistry has two articles. The first of them is a review about magnetite. It describes its characteristics as a mineral, its applications in green chemistry as a catalyst in various organic reactions, either directly, as a support of oxides, as core of core-shell catalysts or through the anchoring of organic functional groups or metal complexes. Additionally it describes its current applications and the known deposits in Colombia. Finally, the last article of the issue describes the synthesis of monetite by a heterogeneous acid-base reaction using CaO and H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. For this, variations were made in the procedure: phosphoric acid addition rate, homogenization, and drying temperature. By means of the characterization techniques used, pure monetite was obtained. Likewise, the fundamental factors that affect the composition, crystalline structure, shape, and grain size and Ca/P ratio are stoichiometry of the reagents and mecanoactivation.



<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil

<sup>3</sup>Programa de Biología Marina, Departamento de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia

<sup>4</sup>Departamento de Biología Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil

<sup>5</sup>Departamento de Biología Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil

\*Corresponding author: lcastellanosh@unal.edu.co

Recibido: 1 de Julio de 2016. Aceptado: 4 de Octubre de 2016.

## Dolabellane diterpenes from the Caribbean soft corals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula* and determination of their anti HSV-1 activity

### Abstract

Dolabellane diterpenes have considerable antiviral activity, but most studies have been focused towards compounds isolated from *Dictyota* brown algae. Although soft corals are also a significant source of these diterpenes, their antiviral potential has not been studied in detail. With the aim of assessing the biological activity of marine sources, we evaluated the dolabellane content in the soft corals *Eunicea laciniata* and *E. asperula* collected in Santa Marta, Colombian Caribbean. Dolabellanes **1-6** were isolated from *E. laciniata* while compounds **2, 4** and **5** were isolated from *E. asperula*. All compounds were identified by NMR, GC-EIMS, optical rotation and comparison with previously reported dolabellanes. GC-EIMS analyses showed that dolabellatrienone (**2**) transforms into compounds **4** and **5** as oxidation products upon prolonged storage; however, those compounds were also naturally present in the extract of the studied organisms. Pure dolabellanes were tested *in vitro* in antiviral assays against HSV-1. Compound **6** inhibited virus replication in infected cells (73.7% of inhibition at 50  $\mu$ M) without cytotoxic effect (CC<sub>50</sub> = 959), showing similar activity to the positive control Acyclovir<sup>®</sup>. Thus, compound **6** is an interesting candidate for further studies of dolabellanes as antivirals.

**Keywords:** Soft corals, *Eunicea*, dolabellane diterpenes, antivirals.

## Dolabellanos de los octocorales caribeños *Eunicea laciniata* y *Eunicea asperula* y determinación de su actividad anti VHS-1

### Resumen

Los dolabellanos son diterpenos con actividad antiviral, la mayor parte de los estudios se han realizado con compuestos aislados de algas pardas del género *Dictyota*. Los corales blandos son también una importante fuente de dolabellanos, pero el potencial antiviral de éstos ha sido muy poco estudiado. Se llevó a cabo el estudio químico de los dolabellanos presentes en los octocorales *Eunicea laciniata* y *Eunicea asperula*, recolectados en Santa Marta, Caribe colombiano. Los dolabellanos **1-6** fueron aislados del octocoral *E. laciniata* mientras que en *E. asperula* se encontraron los compuestos **2, 4** y **5**. La elucidación estructural se llevó a cabo mediante RMN, espectrometría de masas, rotación óptica y comparación con reportes previos. El análisis por CG-EM evidenció que la dolabellatrienona (**2**) se puede transformar en los compuestos **4** y **5** como producto del almacenamiento prolongado, no obstante, tales compuestos también estuvieron presentes en los extractos de los organismos estudiados. El compuesto **6** inhibió la replicación del VHS-1 (73,7% de inhibición en células infectadas a una concentración de 50  $\mu$ M) sin efecto citotóxico (CC<sub>50</sub> = 959), mostrando una citotoxicidad similar al Aciclovir<sup>®</sup>, un control positivo, por lo cual es un candidato para la realización de estudios adicionales sobre el potencial antiviral de los dolabellanos.

**Palabras clave:** octocorales, *Eunicea*, dolabellanos, antivirales.

## Dolabellanos dos octocorais caribenhos *Eunicea laciniata* e *Eunicea asperula* e determinação de sua atividade anti HSV-1

### Resumo

Os dolabellanos são diterpenos que têm mostrado atividade antiviral, os estudos neste campo estão centrados nos compostos isolados de algas do gênero *Dictyota*. Os octocorais também são uma fonte importante de dolabellanos, mas não tem sido estudados. Foi realizado o estudo químico dos octocorais *Eunicea laciniata* e *Eunicea asperula*, coletados em Santa Marta, Caribe Colombiano. O estudo químico dos dois organismos permitiu o isolamento dos dolabellanos **1-6** de *E. laciniata*, enquanto que para *E. asperula* foram identificados os compostos **2, 4** e **5**. A elucidação estrutural foi realizada mediante RMN, espectrometria de massas, rotação óptica e comparação com os dados da literatura. A análise por GC-MS evidenciou que a dolabellatrienona (**2**) pode gerar os compostos **4** e **5** como produto de degradação, a partir de um armazenamento prolongado. No entanto, os compostos também estavam presentes nos extratos dos organismos estudados. O composto **6** mostrou uma citotoxicidade similar ao Aciclovir<sup>®</sup>, um controle positivo, numa porcentagem de inibição da replicação do HVS-1 (73,7% de inibição em células infectadas na concentração de 50  $\mu$ M) sem efeito citotóxico (CC<sub>50</sub> = 959), o que torna esse composto um candidato para o desenvolvimento de antivirais.

**Palavras-Chave:** octocorais, *Eunicea*, dolabellanos, antivirais.

## Introduction

Marine organisms are a prolific source of structurally diverse and bioactive compounds (1). Interestingly, during the 2002-2011 period, 132 new compounds of marine origin with anti-HIV activity on different stages of the replication cycle were reported (2). Viral diseases are hard to treat and vaccine development against these diseases is still a major challenge and continues to elude the majority of drug discovery programs. Highly active antiretroviral therapy (HAART) is considered the best alternative of treatment against viral infectious diseases (3, 4). HAART's main components for treating AIDS for instance, are nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), and protease inhibitors (PIs), although new targets are constantly explored (5). This kind of therapy has turned AIDS from being a mortal disease to becoming a treatable chronic condition, improving life quality and expectation.

On the other side, Acyclovir® and its related compounds constitute the first alternative for treating genital and oral herpes infections caused by Herpes Simplex Viruses 1 and 2 due their unsurpassed capacity to attenuate the symptoms and manifestations of these infections (6). As mentioned earlier, although HAART is not a definite cure for viral infections, it allows management of viral diseases and improves the life quality of patients and is widely used for treating AIDS. However, the emergence of resistant strains and the various side effects reported for antivirals used in HAART together with lack of efficacy of some of these substances, constitute a major challenge to overcome in order to improve this therapy (7, 8).

Dolabellanes are diterpenes that have been isolated from natural sources such as plants (9-12), fungi (13), and several marine organisms, mainly brown algae, cnidarians, and sponges (14). Structurally, they are produced by the ring formation between positions 1,11 and 10,14 in the geranyl-geraniol pyrophosphate to constitute a bicyclic [9.3.0] fused ring. Diterpenes usually exhibit a very interesting range of biological activity including antitumoral (14), cytotoxic (15,16) antiparasitary (17), besides a remarkable antiviral activity. Different dolabellanes with antiviral properties have been isolated from brown algae from the genus *Dictyota* (18, 19). Dolabellanetriol isolated from *Dictyota friabilis* (as *D. paffii*) is the most studied so far, due to its potent inhibition of the human immunodeficiency virus (HIV-1) and the herpes simplex virus (HSV-1) (18, 20). Studies concerning the mechanism of action of dolabellanetriol concluded that the molecule acts as a non-competitive HIV-1 reverse transcriptase inhibitor and classifies it into the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors category (NNRTIs) (21). However, despite the significant evidence on the antiviral activity of dolabellane diterpenes, very little has been reported on the antiviral properties of dolabellanes isolated from marine sources other than brown algae.

Brown algae are an important source of dolabellane diterpenes of marine origin (14), but soft corals also constitute a prolific source of such compounds, and in several cases significant ecological roles have been attributed to those (22). Most dolabellane diterpenes have been isolated from the Alcyonacean genus *Clavularia* and the Octocorallian genus *Eunicea* (14). The Colombian Caribbean harbors are large and possess diverse communities of *Eunicea* soft corals (23).

In some of our previous studies, the soft coral *Eunicea laciniata* collected in Santa Marta, yielded the dolabellane diterpenes  $\beta$ -araneosene (1) and dolabellatrienone (2) as major compounds in the organic extract (24). Recently, we reported the anti-HIV activity of those compounds and some semisynthetic derivatives (25). Natural compounds showed low antiviral activity and they did not have considerable cytotoxic activity. On the other hand, semisynthetic derivatives were 100 times more active compared with their precursors inhibiting HIV-1 replication without a considerable increase in their cytotoxicity. Thus, dolabellane diterpenes are very interesting candidates for the development of new antivirals.

As a part of our ongoing research on antivirals from marine sources, herein we show the characterization of six dolabellane diterpenes from the soft corals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula*, collected at Santa Marta, Colombian Caribbean as well as the evaluation of their antiviral activity assessed as the inhibition of HSV-1 replication and cytotoxic activity.

## Materials and methods

### General

Optical rotation was measured on a ADP440+, Bellingham +Stanley polarimeter.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE 400 (400 MHz) and Bruker AVANCE (300 MHz) spectrometers as dilute solutions in  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}}$  7.26  $\delta_{\text{C}}$  77.0) at room temperature, unless stated otherwise. Chemical shields are quoted in parts per million (ppm) relative to residual solvent peaks and coupling constants are quoted in Hertz. Kovats index determination and mass spectra analyses were performed on an Agilent Technologies 7890B chromatograph equipped with a HP-5MS column (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) and an Agilent 5977A MSD mass detector using electronic impact ionization (70 eV) at 290 °C. Mass detection range was selected between  $m/z$  20 to 800.

For each analysis, 1  $\mu\text{L}$  of a 1 mg/mL solution in acetone was injected in split mode (1:30) at an injector temperature of 260 °C. Helium 5.0 grade was used as carrier gas maintaining a 1 mL/min flux. Temperature program started at 40 °C maintaining this temperature for 1min, followed by a temperature ramp as follows: 6 °C/min until 100 °C, 4 °C/min until 260 °C, 10 °C/min until 290 °C, maintaining at 290 °C for 15 min. Kovats indexes were recalculated based on a mixture of paraffins from  $\text{C}_{10}$  to  $\text{C}_{25}$  (Dr Ehrenstorfer, Augsburg, Germany).

Thin layer chromatography was developed on aluminum plates precoated with silica gel 60G  $\text{F}_{254}$  from Merck. Plates were visualized under ultraviolet light ( $\lambda = 254$  nm) and 5% cerium ammonium sulfate with 10% sulfuric acid in methanol followed by heating. Silica gel (0.043–0.060 mm, Merck), Sephadex LH-20 (GE Healthcare Life Sciences), and HyperSep™ Diol cartridges (Thermo Scientific™) were employed for column chromatography separations. Solvents of analytical quality were employed and they were acquired from Merck.

## Animal material

The octocorals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula* were collected in reef flats along the coast of Santa Marta, Colombian Caribbean by scuba diving in December, 2011; at an approximate depth of 10 m. The Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial granted permission for research on marine organisms (Contratos de Acceso a Recurso Genético No 99, 100 and 109). According to the permissions, soft corals were cut carefully and the collected quantities were not enough to cause an ecological impact. Small fragments were cut out of large colonies with sharp scissors, leaving the remaining colony intact. Fresh material was frozen immediately after collection and remained frozen until extraction. Collected organisms were identified by Mónica Puyana and voucher specimens were deposited at the invertebrate collection of ICN (Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia), coded as ICN-MHN-CR-106 and PO0267, respectively.

## Organism extraction and compound isolation

The sample of *Eunicea laciniata* was cut in small pieces and extracted with dichloromethane (DCM) four times. The extract was filtered and concentrated under vacuum yielding a dark green oil (13.8 g). The extract was separated by flash column chromatography (20 cm x 6 cm) eluting with 500 mL mobile phases of increasing polarity (hexane:toluene 90:10 to 50:50, toluene, toluene:ethyl acetate 50:50, ethyl acetate, ethyl acetate:methanol 50:50, methanol) to yield nine fractions (FL1 to FL9) according to their TLC profile. The fractions were monitored by <sup>1</sup>H-NMR looking for signals assignable to methyl groups and double bound protons, which are common for diterpenes. This analysis allowed us identifying fractions FL1 and FL5 as those with a high diterpene content.

FL1 (869 mg, hex:tol 90:10) was a yellow oil. Its <sup>1</sup>H-NMR and APT spectra showed it was constituted by the dolabellane β-araneosene (**1**). Fraction FL5 (7400 mg, tol and hex:tol 50:50) was further purified by column chromatography eluting with hex:EtOAc (100:0 to 50:50) to yield six fractions (FL5.1 to FL5.6). Subfraction FL5.3 corresponded to pure dolabellatrienone (**2**) (1780 mg). Subfraction FL5.5 (522 mg) was separated through a Diol cartridge with hex:EtOAc mixtures (80:20 to 0:100) to yield seven fractions (FL5.5.1 to FL5.5.7). Subfraction FL5.5.2 was separated using column chromatography to yield eight fractions (FL5.5.2.1 to FL5.5.2.8). Subfraction FL5.5.2.3 (35.4 mg) was finally purified by a Sephadex LH-20 column eluting with MeOH to yield pure compound **3** (18.4 mg). Subfraction FL5.5.2.5 corresponded to pure compound **4** (34.8 mg). Subfraction FL5.5.2.7 was purified by a Sephadex LH-20 column eluting with MeOH to yield pure compound **5** (18.8 mg). Subfraction FL5.6 was fractionated using a Diol cartridge eluting with hex:EtOAc mixtures (70:30 to 0:100) to obtain seven subfractions (FL5.6.1 to FL5.6.7). Subfraction FL5.6.3 (32.7 mg) was separated through silica gel column chromatography eluting with hex:EtOAc (70:30) to obtain pure compound **6** (7.1 mg).

The sample of *Eunicea asperula* (174 g dry weight) was extracted and fractionated using the same methodology previously explained for *E. laciniata*. The crude extract (3.2 g) was obtained as a dark green oil. Silica gel flash chromatography yielded nine fractions (FA1 to FA9) based on their TLC profiles. Fraction FA2 (243.9 mg, toluene) was separated through column chromatography eluting with hex:EtOAc (90:10 to 60:40) to obtain pure compound **2** (80 mg). Fraction FA4 (1480 mg, tol:EtOAc 50:50) was fractionated with a DIOL cartridge eluting with hex:EtOAc (90:10 to 50:50) yielding five subfractions (FA4.1 to FA4.5). Fraction FA4.2 corresponded to pure compound **4** (880 mg). Fraction FA4.4 was separated through column chromatography eluting with a gradient of hex:EtOAc (90:10 to 70:30) to obtain pure compound **5** (20.3 mg).

**Compound 1:** β-araneosene; yellowish oil;  $[\alpha]_D^{25}$  -32.0 (c 0.6, CHCl<sub>3</sub>); GC Retention time 38.88 min (KI 2011); EIMS *m/z* (relative intensity) 272 [M]<sup>+</sup> (6), 257 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (4), 243 [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (0.2), 229 [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (14), 216 (22), 201 (8), 189 (24), 175 (9), 161 (28), 147 (14), 136 (62), 121 (100), 107 (51), 79 (36), 67 (36), 55 (25); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 5.25 (1H, dd, *J* = 11.0, 4.8 Hz, H-3), 4.90 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, H-7), 1.65 (3H, s, H-17), 1.63 (3H, s, H-19/20), 1.60 (3H, s, H-19/20), 1.45 (3H, s, H-16), 1.13 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 142.5 (C-12), 134.8 (C-4), 132.5 (C-8), 129.4 (C-7), 126.0 (C-3), 122.0 (C-18), 48.4 (C-1), 42.0 (C-11), 40.3 (C-2), 40.0 (C-9), 38.7 (C-14), 38.2 (C-5), 42.0 (C-11), 28.3 (C-13), 27.9 (C-10), 24.3 (C-6), 23.7 (C-15), 21.7 (C-19), 21.3 (C-20), 11.6 (C-16), 15.3 (C-17). Spectroscopic properties are consistent with those published for the total synthesis of β-araneosene by Corey and Kingsbury (26).

**Compound 2:** (1*R*,3*E*,7*E*,11*S*)-13-keto-dolabella-3,7,12(18)-triene; Yellowish oil;  $[\alpha]_D^{25}$  5.0 (0.9 c, CHCl<sub>3</sub>); GC Retention time 44.74 min (KI 2272); EIMS *m/z* (relative intensity) 286 [M]<sup>+</sup> (8), 271 [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (7), 253 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (0.4), 230 (5), 203, (11), 163 (43), 150 (100), 135 (65), 121 (36), 107 (56), 91 (77), 79 (75), 67 (85), 55 (52); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 5.22 (1H, dd, *J* = 11.1, 4.6 Hz, H-3), 4.91 (1H, d, *J* = 10.3 Hz, H-7), 2.81 (1H, d, *J* = 11.6 Hz, H-11), 2.37 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, H-14a), 2.08 (1H, d, *J* = 18.5 Hz, H-14b), 2.20 (3H, br s, H-20), 1.81 (3H, s, H-19), 1.62 (3H, s, H-17), 1.43 (3H, s, H-16), 1.21 (3H, s, H-15). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 207.2 (C-13), 148.2 (C-18), 138.0 (C-12), 135.7 (C-4), 131.7 (C-8), 130.3 (C-7), 124.8 (C-3), 54.8 (C-14), 41.5 (C-11), 41.0 (C-1), 40.1 (C-2), 39.8 (C-5), 38.1 (C-9), 28.0 (C-10), 24.5 (C-19), 24.2 (C-6), 23.1 (C-15), 21.4 (C-20), 16.1 (C-17), 15.5 (C-16). Spectroscopic properties are consistent with data published for dolabellatrienone obtained by total synthesis (27).

**Compound 3:** Colorless oil; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 5.11 (1H, d, *J* = 11.0 Hz), 2.72 (1H, t, *J* = 3.4 Hz), 1.70 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.14 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 0.97 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 0.88 (3H, s). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 219.2, 135.1, 125.8, 60.4, 60.2, 59.8, 58.6, 52.0, 42.0, 40.3, 38.1, 33.8, 27.9, 26.3, 25.3, 22.8, 21.3, 18.1, 17.4, 16.8.



**Compound 4:** (1*R*,3*E*,7*R*,8*R*,11*S*)-7,8-epoxy-13-keto-dolabella-3,12(18)-diene; White solid;  $[\alpha]_D^{25}$  -7.81 (0.58 c, CHCl<sub>3</sub>); GC Retention time 48.17 min (KI 2439); EIMS  $m/z$  (relative intensity) 302 [M]<sup>+</sup> (6), 284 [M- H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (0.9), 259 [M- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (2), 241[M- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>- H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (1), 219 (9), 201 (5), 189 (9), 175 (10), 163 (24), 150 (75), 136 (53), 121 (52), 107 (62), 93 (98), 79 (88), 67 (87), 55 (100); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.41 (1H, dd,  $J$  = 11.3, 4.6 Hz, H-3), 2.90 (1H, d,  $J$  = 8.7 Hz, H-7), 2.67 (1H, d,  $J$  = 12.7 Hz, H-11), 2.39 (1H, d,  $J$  = 18.6 Hz, H-14a), 2.12 (1H, d,  $J$  = 18.6 Hz, H-14b), 2.25 (3H, br d,  $J$  = 0.8 Hz, H-20), 1.92 (3H, s, H-19), 1.55 (3H, s, H-16), 1.35 (3H, s, H-17), 1.17 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  206.8 (C-13), 149.4 (C-18), 137.6 (C-4), 136.1 (C-12), 124.8 (C-3), 65.8 (C-7), 60.6 (C-8), 54.4 (C-14), 42.1 (C-11), 41.1 (C-1), 39.8 (C-2), 38.0 (C-9), 36.9 (C-5), 27.5 (C-6), 25.1 (C-19), 23.4 (C-15), 22.9 (C-10), 21.9 (C-20), 17.7 (C-17), 15.7 (C-16). Spectroscopic data are consistent with those published for a dolabellane isolated previously from *Eunicea* sp. (17).

**Compound 5:** Claenone; colorless oil;  $[\alpha]_D^{25}$  -10.66 (1.14 c, CHCl<sub>3</sub>); GC Retention time 48.23 min (KI 2442); EIMS  $m/z$  (relative intensity) 302 [M]<sup>+</sup> (3), 269 [M- CH<sub>3</sub>- H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (1), 245 (2), 220 (7), 203 (6), 177 (11), 164 (8), 163 (26), 150 (91), 135 (52), 121 (36), 107 (65), 91 (90), 79 (99), 67 (100), 55 (85); <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.10 (1H, d,  $J$  = 10.9 Hz, H-7), 2.97 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 2.9 Hz, H-3), 2.92 (1H, d,  $J$  = 11.6 Hz, H-11), 2.39 (1H, d,  $J$  = 18.4 Hz, H-14a), 2.09 (1H, d,  $J$  = 18.4 Hz, H-14b), 2.18 (3H, s, H-20), 1.82 (3H, s, H-19), 1.72 (3H, s, H-17), 1.39 (3H, s, H-16), 1.13 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  206.5 (C-13), 149.0 (C-18), 137.2 (C-12), 133.1 (C-8), 128.4 (C-7), 64.0 (C-3), 61.6 (C-4), 55.6 (C-14), 42.4 (C-11), 40.9 (C-1), 38.6 (C-9), 37.7 (C-2), 37.3 (C-5), 27.4 (C-6), 24.6 (C-15), 24.5 (C-10), 23.4 (C-15), 21.4 (C-20), 16.6 (C-17), 15.5 (C-16). Spectroscopic properties are consistent with those reported for the dolabellane claenone obtained by total synthesis (27).

**Compound 6:** (1*R*,3*R*,4*R*,7*R*,8*R*,11*S*)-di-3,4:7,8-epoxy-13-keto-dolabell-12(18)-ene. White solid;  $[\alpha]_D^{25}$  -21.14 (1.14 c, CHCl<sub>3</sub>); GC Retention time 50.61 min (Calculated KI 2561); EIMS  $m/z$  (relative intensity) 318 [M]<sup>+</sup> (48), 275 [M- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (7), 257 [M- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>- H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (0.6), 233 (1), 217 (10), 203 (8), 189 (13), 175 (14), 161 (22), 149 (100), 135 (73), 121 (62), 109 (69), 93 (76), 79 (63), 67 (51), 55 (72); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  3.05 (1H, dd,  $J$  = 11.1, 2.7 Hz, H-3), 2.96 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-7), 2.81 (1H, d,  $J$  = 12.6 Hz, H-11), 2.44 (1H, d,  $J$  = 18.5 Hz, H-14a), 2.24 (3H, s, H-20), 2.13 (1H, d,  $J$  = 18.6 Hz, H-14b), 1.94 (3H, s, H-19), 1.43 (3H, s, H-16), 1.33 (3H, s, H-17), 1.21 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  205.5 (C-13), 149.6 (C-18), 137.0 (C-12), 63.7 (C-7), 63.0 (C-3), 60.6 (C-8), 60.3 (C-4), 54.7 (C-14), 42.9 (C-11), 40.2 (C-2), 37.8 (C-1), 37.2 (C-5), 36.6 (C-9), 27.8 (C-10), 25.2 (C-19), 23.6 (C-15), 23.3 (C-6), 21.6 (C-20), 17.5 (C-17), 15.6 (C-16). NMR data are identical to a dolabellane from *Eunicea* sp. previously reported (17).

### Cell cultures and viral strains

African green monkey kidney cells (Vero cells) were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco™) containing 4.5 g/L glucose, 2 g/L sodium bicarbonate, 2 mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin (Gibco™) and 2.5 µg/mL anphotericin B supplemented with fetal bovine serum (FBS, Sigma).

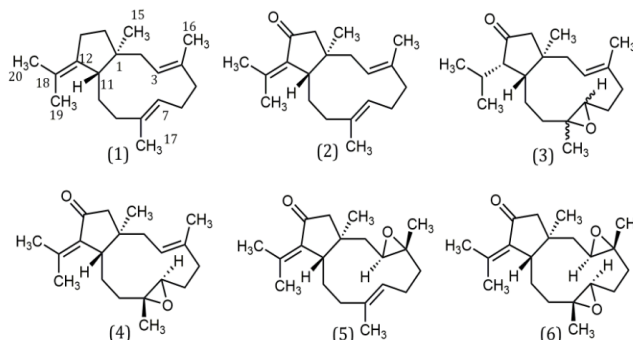
Vero cells were maintained at 37 °C under 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. In order to prepare virus stocks, Vero cells were infected with HSV-1 susceptible to Acyclovir® (KOS strain) at a multiplicity of infection (MOI) of 0.1 (28). After 24 hours of postinfection (p.i.), cells were lysed by three cycles of freezing and thawing, centrifuged at 400 x g at 4 °C for 20 min. The viral titration was made by the plaque reduction assay (29).

### Evaluation of antiviral and cytotoxic activity

Monolayers of Vero cells placed in 24-well plates (2 x 10<sup>5</sup> per well) were infected with HSV-1 at MOI of 1 for 1 h at 37 °C under 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. After this period, the cells were treated with different concentrations of the compounds. After incubation for 24 h, cells were lysed by three cycles of freezing and thawing for viral titration. Cytotoxicity was evaluated by the MTT method and the results were analyzed comparing the absorbance of treated wells with that of non-treated controls (30).

## Results and discussion

To select the most promising soft corals in terms of dolabellane content, we previously ran TLC plates of crude extracts obtained from a large collection of soft corals, available in our group, collected at various sites of the Colombian Caribbean. Based on TLC profiles, the most promising crude extracts were fractionated through a SPE Diol cartridge and fractions were further analyzed by gas chromatography electronic impact mass spectrometry (GCEIMS). GCMS analyses showed a major chromatographic peak (RT: 44.7 min, KI: 2271 and  $m/z$ : 286) in two of the extracts. These signals were attributed to the previously known compound dolabellatrienone (2) due to the high degree of coincidence in the Kovats index and EIMS spectra. The promising extracts were obtained from the soft corals *Eunicea laciniata* and *E. asperula* from Santa Marta. Therefore, extracts from both organisms were submitted to several steps of purification by column chromatography yielding six compounds in total that are shown in Figure 1.



**Figure 1.** Dolabellanes isolated from soft corals *E. laciniata* (1-6) *E. asperula* (2, 4-5) in this study.

Compound **1** was isolated as a yellowish oil and was the major component in fraction FL1 obtained from *E. laciniata*. GC-MS analysis indicated that compound **1** was pure enough and was identified without further purification steps. The analysis showed a major peak with a molecular ion at  $m/z = 272$  corresponding to  $[M]^+$  and consistent with a  $C_{20}H_{32}$  molecular formula. Compound **1**  $^1H$ -NMR spectrum had signals in  $\delta_H$  5.25 (1H, dd,  $J = 11.0$ , 4.8 Hz, H-3) and 4.90 (1H, br d,  $J = 10.4$  Hz, H-7) corresponding to olefinic protons and five additional signals were observed in  $\delta_H$  1.65 (3H, s, H-17), 1.63 (3H, s, H-19), 1.60 (3H, s, H-20), 1.45 (3H, s, H-16) and 1.13 (3H, s, H-15) corresponding to methyl groups.

On the other hand, the APT spectrum of **1** showed twenty signals, which were assigned as five methyls, seven methylenes (all  $sp^3$ ), three methines (one  $sp^3$  and two  $sp^2$ ), and five quaternary carbons (one  $sp^3$  and four  $sp^2$ ). All this information suggested that compound **1** was a dolabellane diterpene with two trisubstituted and one tetrasubstituted double bonds. Comparison of spectral data were consistent with those reported for the known dolabellane  $\beta$ -araneosene obtained by total synthesis (26) and allowed us to identify compound **1**. The stereochemistry at the ring fusion was defined as 1*S*, 11*R* based on the similar value of optical rotation comparable to that obtained by total synthesis.

Compound **2** was isolated as a yellow oil.  $^1H$ -NMR and APT spectra were quite similar to those obtained for compound **1**. However, minimal differences suggested the presence of additional functional groups.  $^1H$ -NMR spectrum had five methyl signals but two of them were in  $\delta_H$  2.20 (3H, br s, H-20) and 1.81 (3H, s, H-19) while the APT spectrum showed a signal in  $\delta_C$  207.2 (C-13) together with a deshielded methylene in  $\delta_C$  54.8 (CH<sub>2</sub>-14). These observations were consistent with the presence of a conjugated ketone carbonyl and justified the observed signals. The spectroscopic properties and experimental optical rotation ( $[\alpha]_D^{25} +15.0$  (c 0.9 CHCl<sub>3</sub>)) were consistent with those reported in dolabellatrienone (**2**) ( $[\alpha]_D^{25} +32.0$  (c 0.14 CHCl<sub>3</sub>)), a dolabellane previously isolated from several *Eunicea* species and also obtained by total synthesis (27).

Compound **3** was isolated as a colorless oil.  $^1H$ -NMR signals in  $\delta_H$  5.11 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz) and 2.72 (1H, t,  $J = 3.4$  Hz) corresponded with an olefinic proton and an oxygenated methine, respectively. Additionally, five methyl signals were also identified in  $\delta_H$  1.70 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.14 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 0.97 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 0.88 (3H, s). The APT spectrum showed signals for five methyls ( $\delta_C$  16.8, 17.4, 18.1, 21.3 and 22.8), six methylenes, (25.3, 26.3, 33.8, 38.1, 40.3, 58.6), five methines, one olefinic, one oxygenated ( $\delta_C$  27.9, 42.0, 60.2, 60.4 and 125.8), and four quaternary carbons, one oxygenated ( $\delta_C$  59.8), one olefinic ( $\delta_C$  135.1), and a ketone carbonyl ( $\delta_C$  219.2). We inferred that compound **3** was a dolabellane diterpene with a trisubstituted double bond and an epoxide group, and the structural elucidation process was conducted by 2D-NMR spectroscopy.

However, compound **3** decomposed during the experiments suggesting an unexpected lability and a low probability of application as an antiviral compound. Despite this, we proposed a planar structure for compound **3** based on information deduced from 1D-NMR spectra and comparison with other dolabellanes. We observed two doublet methyls with chemical shifts and coupling constants quite similar to a previous reported dolabellane without a double bond between positions C-12 and C-18 (31).

Moreover, signals at  $\delta_C$  219.2 and 60.2 indicated the presence of a ketone with and an alpha methine, and they were also consistent with those reported in the known compound. The position of the double bond position was deduced taking advantage of the high degree of conservation in the chemical shifts for double bonds in dolabellanes. We have observed in many dolabellanes that the chemical shift for carbon atoms in a double bond between C-3 and C-4 differs from that showed by a double bond between C-7 and C-8 (17, 31). Compound **3** had the expected signals for a double bond between C-3 and C-4 while the epoxide group was located between C-7 and C-8. Figure 2 shows the planar structure of compound **3** and some related structures that were useful to our elucidation purposes.

Compound **4** was isolated as a white solid. The EIMS spectrum showed a molecular ion corresponding to  $[M]^+$  in  $m/z = 302$ .  $^1H$  and  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectra showed similarities with dolabellatrienone (**2**) but there were differences that indicated the presence of an additional functional group in **4**. It was observed one signal at  $\delta_H$  2.90 (1H, br d,  $J = 8.7$  Hz, H-7) together with signals at  $\delta_C$  65.8 (CH-7) and 60.6 (C-8) which corresponded to an epoxide functionality. As previously explained, the double bond was located between C-3 and C-4 due to the observed chemical shifts for the trisubstituted double bond in  $\delta_C$  124.8 (CH-3) and 137.6 (C-4). The experimental optical rotation and spectroscopic properties were consistent with those reported for the compound (1*R*,3*E*,7*R*,8*R*,11*S*)-7,8-epoxy-13-keto-dolabella-3,12(18)-diene and allowed us identifying compound **4** (32).

Compound **5** exhibited  $^1H$ -NMR, APT, and EIMS spectral data almost identical to compound **4**, with minimal differences that indicated they were structural isomers. The observed signals at  $\delta_H$  2.97 (1H, dd,  $J = 11.0$ , 2.9 Hz, H-3),  $\delta_C$  64.0 (CH-3), 61.6 (C-4) allowed confirming the presence of an epoxide group while signals at  $\delta_C$  133.1 (C-8) and 128.4 (CH-7) located the double bond between C-7 and C-8. Compound **5** was identified by comparison with the spectroscopic properties and optical rotation values reported in the total synthesis of the dolabellane claeone (27).

Compound **6** showed an EIMS with a molecular ion at  $m/z = 318$ , which was consistent with a  $C_{20}H_{30}O_3$  molecular formula. The  $^1H$ -NMR spectrum showed signals at 3.05 (1H, dd,  $J = 11.1$ , 2.7 Hz, H-3) and 2.96 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7) while the APT spectrum showed four signals for oxygenated carbons at  $\delta_C$  63.7 (C-7), 63.0 (CH-3), 60.6 (CH-8) and 60.3 (C-4). This information confirmed the presence of two epoxide groups and indicated that compound **6** was a diepoxide analogue of **4** and **5**. The remaining signals and experimental optical rotation allowed us to identify compound **6** as (1*R*,3*R*,4*R*,7*R*,8*R*,11*S*)-di-3,4:7,8-epoxy-13-keto-dolabell-12(18)-ene, a dolabellane previously isolated from an unidentified *Eunicea* species and whose absolute stereochemistry was determined previously (17).

Compounds **1-6** were isolated from *Eunicea laciniata* whereas only compounds **2**, **4**, and **5** were isolated from *E. asperula*, where **4** was the major compound, and **2** and **5** were minor components. Previous works on the chemistry of this particular species, showed that *E. asperula* collected in Tobago yielded cembrane and asperketal diterpenes (33). Although variations in chemical profiles is not unusual between organisms collected at different places, the diterpene core usually remains the same (34, 35). Interestingly, our sample yielded dolabellane diterpenes suggesting it might be a different chemotype, assuming, in both studies, that taxonomic identity is correct.

Previous studies with *E. laciniata* have shown the high dolabellane content of this species and the considerable number of compounds with variable oxygenation grade. Samples collected in Puerto Rico, Bahamas, Tobago, Honduras, and Colombia have reported the isolation of dolabellanes  $\beta$ -araneosene (**1**) and dolabellatrienone (**2**) (14, 24). In this work we report the isolation of compounds **3-6** from *E. laciniata* which were not previously described from this species. Nevertheless, it was found that following purification, compound **2** experiments an oxidation process to yield a mixture of compounds **4** and **5**. Figure 3a shows a GC-EIMS analysis for compound **2** (initially pure) and after several weeks of storage. The chromatogram shows a major peak corresponding to compound **2** and two minor peaks with Kovats index and EIMS coincident with **4** and **5**.

Interestingly, compound **5** has been reported as a natural product only from a *Clavularia* soft coral collected in Japan (36). Considering this, the isolation of compounds **4** and **5** in this study suggested that these could be artifacts produced during storage of the extract and fractions. Alternatively, the presence of those compounds in a particular sample could reflect a different chemotype. In order to establish if compounds **4** and **5** were storage artifacts, a new GC-EIMS analysis was conducted after extraction and fractionation of a fresh specimen. As an additional precaution, fractions were kept under argon atmosphere and frozen at temperature below zero, dissolving them just before the chromatographic analysis. In *E. laciniata*, compounds **2**, **4** and **5** were identified in the fraction that eluted with hex:EtOAc 70:30 (Figure 3c). Compound **6** was not found in this fraction nor in those of greater polarity.

We conclude that although minimal quantities of compounds **4** and **5** are present in the extracts from *E. laciniata*, the absence of compound **6** suggests that both monoepoxides are mainly oxidation products of (**2**) in this soft coral. On the other hand, compound **2** and the major compound **4** were found in *E. asperula* but compound **5** was not (Figure 3b), suggesting that compound **5** is the only oxidation product of (**2**) in *E. asperula*.

Vero cells have been used to evaluate anti-HSV-1 activity of a wide range of natural products, including dolastane and dolabellane diterpenes (20). Cytotoxic activity in Vero cells was determined for compounds **2**, **4**, **5**, **6** with Acyclovir<sup>®</sup> as a positive control. We did not test compound **1** since it was not pure enough to run the assays. Compounds **2** ( $CC_{50} = 146 \mu\text{M}$ ) and **5** ( $CC_{50} = 467 \mu\text{M}$ ) showed a greater cytotoxic effect as compared to Acyclovir<sup>®</sup> ( $CC_{50} = 960 \mu\text{M}$ ) while compounds **4** ( $CC_{50} = 526 \mu\text{M}$ ) and **6** ( $CC_{50} = 959 \mu\text{M}$ ) had comparable values.

An important feature for any antiviral compound is that it must not be toxic and must be selective to infected cells. For this reason, we decided to evaluate antiviral activity only for compounds **4** and **6** in an HSV-1 inhibition assay using concentration of 50  $\mu\text{M}$  for each compound. Compound **4** showed a 42.6% of inhibition while compound **6** exhibited a 73.7% of inhibition. Considering that **6** also has a remarkable in vitro anti-HIV-1 activity (25), it is a potential candidate to perform further studies to assess its full potential as an antiviral agent as well as understanding its mechanism of action against viruses including HSV-1.

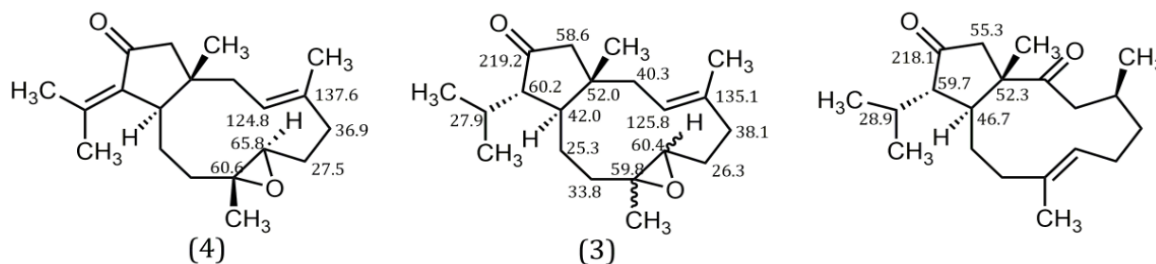


Figure 2. Structural proposal for compound (**3**) and dolabellanes with related structures.

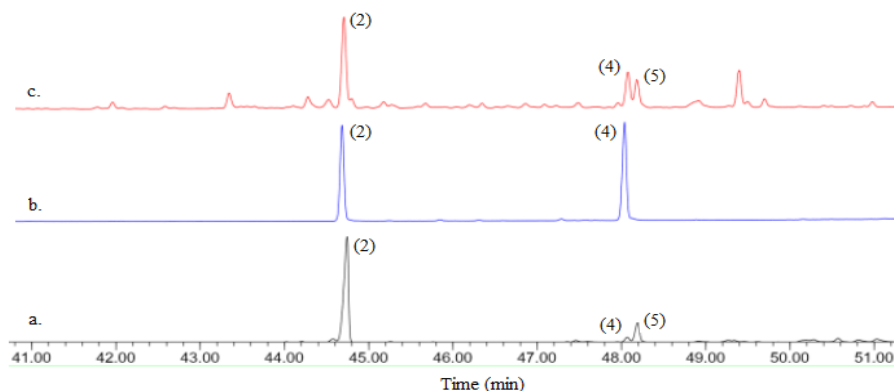


Figure 3. GC-EIMS analysis for : a. Dolabellatrienone (**2**) after prolonged storage; b. *E. asperula* extract; Fraction hexane:ethyl acetate 7:3 from *E. laciniata*.

## Conclusions

Six dolabellane diterpenes from the soft corals *Eunicea laciniata* and *E. asperula*, collected in Santa Marta, Colombian Caribbean Sea, were isolated in this work. Compounds **1**, **2**, **4-6** were identified by spectroscopic means and compared with previously reported dolabellanes. Compound **3** was not fully characterized due to its decomposition, suggesting it had a high degree of reactivity. Dolabellatrienone (**2**) and (1*R*,3*E*,7*R*,8*R*,11*S*)-7,8-epoxy-13-keto-dolabella-3,12(18)-diene (**4**) were the major compounds isolated from *E. laciniata* and *E. asperula*, respectively. To the best of our knowledge, this is the first study of *E. asperula* collected in the Colombian Caribbean and dolabellanes were found as the major diterpenes.

If is considered that variations in the family of isolated diterpenes do not depend on location, either this work studied a different chemotype or there were problems with taxonomical characterization. However, further studies should be developed in order to confirm this hypothesis.

GC-EIMS analyses proved that prolonged storage of pure dolabellatrienone (**2**) induces a spontaneous oxidation to yield compounds **4** and **5**. This finding evidences a need to improve the manipulation and storage conditions of extracts and fractions obtained from those organisms in order to minimize the artifact formation and increase the reproducibility of chemical studies.

Biological assays showed that compound **6** inhibited HSV-1 replication at a concentration of 50  $\mu$ M and was not cytotoxic. Although the remaining compounds were more toxic than Acyclovir<sup>®</sup>, their antiviral activity should be determined to calculate selectivity indexes and establish their potential as antivirals. These results encourage us to continue the study of dolabellanes of marine origin and evaluating their antiviral activity.

## Aknowledgments

Financial support was provided by Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas through the “Programa jóvenes investigadores” as well as the DIB–Universidad Nacional de Colombia and Fundación para la promoción de la investigación y la tecnología (FPIT) Banco de la Republica. Maria Leonisa Sanchez Nuñez, Izabel Christina Nunes de Palmer Paixão and Valeria Laneuville Teixeira are grateful to CNPq (Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) for financial support. The Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial granted permission for research on marine organisms (Contratos de Acceso a Recurso Genético No 99, 100 and 109).

## References

- Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Keyzers, R. A.; Munro, M. H. G.; Prinsep, M. R.; Faulkner, D. J. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33* (3), 382–431. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C5NP00156K>.
- Zhou, X.; Liu, J.; Yang, X. W.; Liu, Y. Marine Natural Products with Anti-HIV Activities in the Last Decade. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20* (7), 953-973. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/0929867311320070009>.
- De Clercq, E. Antivirals: past, present and future. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85* (6), 727-744. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2012.12.011.23>.
- Looney, D.; Ma, A.; Johns, S. HIV therapy-the state of art. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2015**, *389*, 1-29. DOI: [http://dx.doi.org/10.1007/82\\_2015\\_440](http://dx.doi.org/10.1007/82_2015_440).
- Kinch, M. S.; Patridge, E. An analysis of FDA-approved drugs for infectious disease: HIV/AIDS drugs. *Drug. Discov. Today.* **2014**, *19* (10), 1510-1513. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2014.05.012>.
- James, S. H.; Prichard, M. N. Current and future therapies for herpes simplex virus infections: mechanism of action and drug resistance. *Curr. Opin. Virol.* **2014**, *8*, 54-61. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2014.06.003>.
- Hawkins, T. Understanding and managing the adverse effects of antiretroviral therapy. *Antiviral Res.* **2010**, *85* (1), 201-209. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.10.016>.
- Margolis, A. M.; Heverling, H.; Pham, P. A.; Stolbach, A. A review of the toxicity of HIV medications. *J. Med. Toxicol.* **2014**, *10* (1), 26-39. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13181-013-0325-8>.
- Yodsaoe, O.; Sonprasit, J.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Tewtrakul, S.; Chantrapromma, S. Diterpenoids and triterpenoids with potential anti-inflammatory activity from the leaves of *Aglaia odorata*. *Phytochemistry* **2012**, *76*, 83-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.01.015>.
- Aboushoer, M. I.; Fathy, H. M.; Abdel-Kader, M. S.; Goetz, G.; Omar, A. A. Terpenes and flavonoids from an Egyptian collection of *Cleome droserifolia*. *Nat. Prod. Res.* **2010**, *24* (7), 687-696. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14786410903292433>.
- Cai, X. H.; Wang, Y. Y.; Zhao, P. J.; Li, Y.; Luo, X. D. Dolabellane diterpenoids from *Aglaia odorata*. *Phytochemistry* **2010**, *71* (8-9), 1020-1024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.03.005>.
- Yoshimitsu, H.; Miyashita, H.; Nishida, M.; Mineno, T.; Nohara, T. Dolabellane Diterpene and Three Cycloartane Glycosides from *Thalictrum squarrosom*. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58* (8), 1043-1046. DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.58.1043>.
- Hinkley, S. F.; Mazzola, E. P.; Fettingner, J. C.; Lam, Y.-F.; Jarvis, B. B. Atranones A–G, from the toxigenic mold *Stachybotrys chartarum*. *Phytochemistry* **2000**, *55* (6), 663-673. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00231-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00231-4).
- Rodríguez, A. D.; González, E.; Ramírez, C. The structural chemistry, reactivity, and total synthesis of dolabellane diterpenes. *Tetrahedron*, **1998**, *54* (39), 11683-11729. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)83033-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020(98)83033-0).
- Wang, S.-K.; Huang, M.-J.; Duh, C.-Y. Cytotoxic constituents from the formosan soft coral *Clavularia inflata* var. *luzoniana*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69* (10), 1411-1416. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/np0601253>.

16. Duh, C.-Y.; Chia, M.-C.; Wang, S.-K.; Chen, H.-J.; El-Gamal, A. A. H.; Dai, C.-F. Cytotoxic dolabellane diterpenes from the Formosan soft coral *Clavularia inflata*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64* (8), 1028-1031. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/np010106n>.
17. Wei, X.; Rodríguez, A. D.; Baran, P.; Raptis, R. G. Dolabellane-Type Diterpenoids with Antiprotozoan Activity from a Southwestern Caribbean Gorgonian Octocoral of the Genus *Eunicea*. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73* (5), 925-934. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/np100074r>.
18. Barbosa, J. P.; Pereira, R. C.; Abrantes, J. L.; Cirne dos Santos, C.C.; Rebello, M. A.; Frugulhetti, I. C. *et al.* *In vitro* Antiviral Diterpenes from the Brazilian Brown Alga *Dictyota pfaffii*. *Planta Med.* **2004**, *70* (09), 856-860. DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2004-827235>.
19. Pardo-Vargas, A.; de Barcelos Oliveira, I.; Stephens, P.R.S.; Cirne-Santos, C.C.; de Palmer Paixão, I.C.N.; Ramos, F.A. *et al.* Dolabelladienols A–C, New Diterpenes Isolated from Brazilian Brown Alga *Dictyota pfaffii*. *Mar. Drugs*, **2014**, *12*, 4247-4259. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/md12074247>.
20. Abrantes, J. L.; Barbosa, J.; Cavalcanti, D.; Pereira, R. C.; Frederico Fontes, C. L.; Teixeira, V. L. *et al.* The effects of the diterpenes isolated from the Brazilian brown algae *Dictyota pfaffii* and *Dictyota menstrualis* against the herpes simplex type-1 replicative cycle. *Planta Med.* **2010**, *76* (4), 339-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1186144>.
21. Cirne-Santos, C. C.; Souza, T. M.; Teixeira, V. L.; Fontes, C. F.; Rebello, M. A.; Castello-Branco, L. R. *et al.* The dolabellane diterpene Dolabelladietriol is a typical noncompetitive inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase enzyme. *Antiviral Res.* **2008**, *77* (1), 64-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2007.08.006>.
22. Coll, J. C. The chemistry and chemical ecology of octocorals (Coelenterata, Anthozoa, Octocorallia). *Chem. Rev.* **1992**, *92* (4), 613–631. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/cr00012a006>.
23. Sánchez, J. A. Systematics of the candelabrum gorgonian corals (*Eunicea* Lamouroux; Plexauridae; Octocorallia; Cnidaria). *Zool. J. Linn. Soc.* **2009**, *157* (2), 237-263. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00515.x>.
24. Cuadrado, C.; Castellanos, L.; Osorno, O. E.; Ramos, F. A.; Duque, C.; Puyana, M. Estudio Químico y evaluación de la actividad antifouling del octocoral caribeño *Eunicea laciniata*. *Quim. Nova.* **2010**, *33* (3), 656-661. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000300033>.
25. Pardo-Vargas, A.; Ramos, F. A.; Cirne-Santos, C. C.; Stephens, P. R.; Paixão, I. C. P.; Teixeira, V. L. *et al.* Semi-synthesis of oxygenated dolabellane diterpenes with highly *in vitro* anti-HIV-1 activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24* (18), 4381-4383. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.08.019>.
26. Kingsbury, J. S.; Corey, E. J. Enantioselective Total Synthesis of Isoedunol and  $\beta$ -Araneosene Featuring Unconventional Strategy and Methodology. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (40), 13813-13815. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ja055137+>.
27. Miyaoka, H.; Isaji, Y.; Mitome, H.; Yamada, Y. Total synthesis of the dolabellane marine diterpenoids, claenone, palominol and dolabellatrienone. *Tetrahedron*, **2003**, *59* (1), 61-75. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020\(02\)01474-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020(02)01474-6).
28. Esquenazi, D.; Wigg, M. D.; Miranda, M. M. F. S.; Rodrigues, H. M.; Tostes, J. B. F.; Rozental, S. *et al.* Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Res. Microbiol.* **2002**, *153* (10), 647-652. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0923-2508\(02\)01377-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0923-2508(02)01377-3).
29. Kuo, Y.-C.; Chen, C.-C.; Tsai, W.-J.; Ho, Y.-H. Regulation of herpes simplex virus type 1 replication in Vero cells by *Psychotria serpens*: relationship to gene expression, DNA replication, and protein synthesis. *Antiviral Res.* **2001**, *51* (2), 95-109. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542\(01\)00141-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542(01)00141-3).
30. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* **1983**, *65* (1), 55-63. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
31. Shin, J.; Fenical, W. Structures and reactivities of new dolabellane diterpenoids from the Caribbean gorgonian *Eunicea laciniata*. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (10), 3392-3398. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00010a039>.
32. Look, S. A.; Fenical, W., New bicyclic diterpenoids from the Caribbean gorgonian octocoral *Eunicea calyculata*. *J. Org. Chem.* **1982**, *47* (21), 4129-4134. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00142a024>.
33. Shin, J.; Fenical, W. Asperketals A-F, new diterpenoids of the dilophol class from the Caribbean gorgonian *Eunicea asperula*. *J. Org. Chem.* **1988**, *53* (14), 3271-3276. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jo00249a024>.
34. Puyana, M.; Narvaez, G.; Paz, A.; Osorno, O.; Duque, C. Pseudopterosin Content Variability of the Purple Sea Whip Pseudopterogorgia elisabethae at the Islands of San Andres and Providencia (Sw Caribbean). *J. Chem. Ecol.* **2004**, *30* (6), 1183-1201. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/B:JOEC.0000030271.73629.26>.
35. Reina, E.; Puentes, C.; Rojas, J.; Garcia, J.; Ramos, F. A.; Castellanos, L. *et al.* Fuscoid E: a strong anti-inflammatory diterpene from Caribbean octocoral *Eunicea fusca*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (19), 5888-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.07.092>.
36. Mori, K.; Iguchi, K.; Yamada, N.; Yamada, Y.; Inouye, Y. Bioactive marine diterpenoids from Japanese soft coral of *Clavularia* sp. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36* (8), 2840-2852. DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.36.2840>.

**Article citation:**

Amaya-García, F.; Sanchez-Nuñez, M. L.; Ramos, F. A.; Puyana, M.; de Palmer Paixão, I. C. N.; Teixeira, V. L.; Castellanos, L. Dolabellane diterpenes from the Caribbean soft corals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula* and determination of their anti HSV-1 activity. *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 5-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n1.62830>.



Beatriz Restrepo Cortés<sup>1</sup>, Ángela Liliana Londoño Franco<sup>2\*</sup>, Juan Farid Sánchez López<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de investigación en enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Universidad del Quindío. Armenia, Quindío, Colombia.

<sup>2</sup>Grupo de investigación en Salud pública. Universidad del Quindío. Armenia, Quindío, Colombia.

<sup>3</sup>Universidad del Quindío. Armenia, Quindío, Colombia.

\*Corresponding author: angelaliliana@uniquindio.edu.co

Recibido: 4 de Agosto de 2016. Aceptado: 28 de Septiembre de 2016.

## Valores de colinesterasa plasmática y eritrocitaria con ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como indicador

### Resumen

Se realizó un estudio descriptivo transversal empleando ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como indicador para calcular los valores de la actividad de colinesterasa plasmática (AchP) y eritrocitaria (AchE) humana y estandarizarlos para ser utilizados como indicadores de riesgo laboral por exposición a organofosforados y carbamatos en la población de la zona cafetera de Colombia. Se eligió esta técnica pues es una alternativa precisa, sencilla y económica: con pocos interferentes permite analizar AchP y AchE, no se tiene que corregir con hemoglobina; el DTNA es estable congelado o refrigerado y permite analizar muchas muestras en poco tiempo. Se evaluaron 819 muestras de agricultores. La AchE fue significativamente mayor en las personas menores de 45 años y en personas no fumigadoras, la AchP fue mayor en los fumigadores; esto es un indicador de que la población fumigadora se encuentra expuesta a organofosforados y carbamatos de forma prolongada. Se sugiere utilizar como valores máximos de referencia de la AchE y AchP 11378 U/L y 10354 U/L, respectivamente como indicadores de intervención ocupacional.

**Palabras clave:** intoxicación por plaguicidas, colinesterasa plasmática, colinesterasa eritrocitaria, DTNA.

## Plasma and erythrocyte cholinesterase values with 6-6'-dithiodinicotinic acid (DTNA) as indicator

### Abstract

A cross-sectional descriptive study using 6-6'-dithiodinicotinic acid (DTNA) as an indicator was performed to calculate the values of plasma cholinesterase (AchP) and erythrocyte (AchE) activity and to standardize them to be used as indicators of occupational risk by exposure to organophosphates and carbamates in the population of the Colombian Coffee Growing Area. This method was chosen because it is an accurate, simple, and nonexpensive alternative: with few interferents it allows measuring both AchP and AchE, it does not have to be corrected with hemoglobin; The DTNA is stable frozen or refrigerated and allows to analyze many samples in a short time. A number of 819 samples from farmers were evaluated. While AchE was significantly higher in people under 45 years and in non-fumigating people, AchP was higher in fumigators; this result is an indicator that the fumigant population is exposed to organophosphates and carbamates on a long-term basis. It is suggested to use as maximum reference values of AchE and AchP 11378 U / L and 10354 U / L, respectively as indicators of occupational intervention.

**Keywords:** pesticide poisoning, plasma cholinesterase, erythrocyte cholinesterase, DTNA.

## Valores da colinesterase plasmática e eritrocitária utilizando o ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como indicador

### Resumo

Foi realizado um estudo descriptivo transversal usando ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como indicador a fim de calcular os valores de atividade da colinesterase plasmática (AchP) e eritrocitária (AchE) humana e padronizar estes valores para ser utilizados na região cafeteira da Colômbia. Esta técnica foi elegida porque é uma alternativa precisa, simples e econômica: tem poucos interferentes e permite analisar AchP e AchE, não deve corrigir-se com hemoglobina; o DNTA é estável congelado ou refrigerado e permite analisar muitas amostras em pouco tempo. Foram avaliadas 819 amostras de agricultores. A AchE foi significativamente maior nas pessoas com menos de 45 anos e em pessoas não pulverizadoras, a AchP foi maior nas pessoas pulverizadoras; isso é um indicador de que a população pulverizadora encontra-se exposta a organofosforados e carbamatos de maneira prolongada. Sugere-se utilizar como valores máximos de referência da AchE e AchP 11378 U/L y 10354 U/L, respectivamente como indicadores de intervenção ocupacional.

**Palavras-Chave:** envenenamento por pesticidas, colinesterase plasmática, colinesterase eritrocitária, DNTA.

## Introducción

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor que posibilita la transmisión del impulso nervioso en determinadas terminales nerviosas y uniones neuromusculares. La ACh debe ser eliminada para que se interrumpa el paso de dicho impulso nervioso. Esta eliminación está a cargo de la acetilcolinesterasa, enzima que se encarga de hidrolizar la acetilcolina en ácido acético y colina. Si la degradación del neurotransmisor no sucede, la ACh continúa el impulso nervioso, generando una sobre estimulación que conduce a alteraciones que van desde una intoxicación aguda (miosis, bradicardia, broncorrea, bronco constricción, dolor abdominal, cólico, diarrea, sialorrea, hipotensión, visión borrosa, entre otros) hasta una poli neuropatía retardada (1-5).

En el campo laboral, los agricultores están expuestos a algunos agroquímicos: los carbamatos y organofosforados inhiben la colinesterasa, de forma reversible los primeros y de forma irreversible los segundos (4, 5), lo cual obliga al monitoreo biológico de sus efectos (4, 6-10).

La determinación analítica depende del tipo de colinesterasa, la acetilcolinesterasa eritrocitaria (AChE) (acetilcolina-acetilhidrolasa, también llamada colinesterasa verdadera o específica: EC 3.1.1.7) evalúa principalmente la afectación de tipo crónico. Es una enzima esencial con un alto grado de especificidad al sustrato, está unida a estructuras celulares en las regiones de las sinapsis colinérgicas, la sustancia gris del sistema nervioso central, los ganglios autonómicos, las sinapsis simpáticas pre y postganglionares y las terminaciones motoras de los músculos, así como en las sinapsis postganglionares parasimpáticas y los eritrocitos. Como parte del sistema de la ACh, la AChE tiene la función fisiológica de desdoblar rápidamente la acetilcolina neurotransmisora en colina y ácido acético, y, de esta manera, eliminarla (11).

La actividad de la AChE se inhibe lentamente, toma varias semanas y hasta meses para retornar a niveles normales. Su determinación tiene utilidad en la detección de sobreexposición a organofosforados y carbamatos (12, 13). La AChE es utilizada por los sistemas de vigilancia epidemiológica para evaluar la exposición de los trabajadores agrícolas y tomar las medidas indicadas antes de que la toxicidad se manifieste clínicamente (14).

Por otro lado, las pseudocolinesterasas (AChP) (acetilcolina-acetilhidrolasas, también llamadas colinesterasas no específicas, pseudocolinesterasas, colinesterasas plasmáticas o séricas, butirilcolinesterasas y benzoilcolinesterasas) clasificada como EC 3.1.1.8, evalúan la afectación aguda, forman un grupo de isoenzimas menos específicas y están presentes en todo el organismo, principalmente en el hígado (1-3). Aún se desconoce su función fisiológica: algunos sugieren que juega un papel importante en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, regulando la concentración de la colina en plasma o evitando la acumulación de butirilcolina a través de sus efectos nicotínicos, durante el metabolismo de ácidos grasos y lipogénesis (15, 16).

La AChP cuenta con algunas funciones farmacológicas: desdoblar fármacos como la procaína, la succinilcolina o succinilbiscolina y el ácido acetilsalicílico, así como la de la detoxificación de fosfatos y carbamatos. La AChP se inhibe más rápidamente que la AChE y sus niveles normales se restablecen dentro de los 60 días posteriores a la exposición. Además de la inhibición en intoxicaciones agudas, la AChP es de importancia clínica para identificar formas atípicas o con sensibilidad aumentada hacia el anestésico succinilcolina.

Aunque se señala que la actividad de la colinesterasa es un marcador de metabolismo lipídico anormal, tal como hiperlipoproteinemia, obesidad y diabetes mellitus (15), esto no ha sido totalmente comprobado (11, 17, 18).

Es conveniente precisar que los niveles de AChP se reducen durante el embarazo, la menstruación, en anemias, quemaduras, desnutrición o cáncer, enfermedades hepáticas, epilepsia, tuberculosis, fiebre reumática, enfermedades del colágeno y mixedema. Se incrementan en condiciones de alcoholismo, diabetes, artritis, hiperlipidemia y obesidad. Algunos medicamentos también pueden inhibir la actividad de las AChE y AChP, como los anticonceptivos orales, estrógenos, beta bloqueadores, corticoides, clorpromazina, bloqueadores H<sub>2</sub>, antiarrítmicos y ciclofosfamida (19, 20, 21).

Los límites máximos permisibles o TLV (Threshold Limit Values) de exposición a contaminantes del medio ambiente laboral, son la cantidad de sustancia a la que se espera pueda estar expuesto un trabajador durante 8 horas al día y 40 a la semana durante su vida laboral sin que sufra menoscabo o daño a su salud, y se concibe como guía para las actividades de prevención y control de los factores de riesgo presentes en el ambiente de trabajo (22). Para los plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, la AChP y la AChE se emplean como índices biológicos de exposición. Los TLV no son líneas definidas de separación entre la concentración segura y la concentración peligrosa, no son índices relativos de toxicidad, entra en este punto en juego la muy particular condición biológica de cada individuo expuesto, por ello se establece un "nivel de acción" para la implementación de conductas tendientes a evitar el riesgo y las consecuencias en el organismo. La prevención de la exposición se inicia con la adquisición del agente y continúa en cada uno de los pasos de su empleo: transporte, almacenamiento, trasvase, preparación, aplicación, desecho de residuos, lavado máquinas de aplicación, manejo de las ropas de los aplicadores, disposición final de los envases de agroquímicos (22).

Ahora bien, se han desarrollado varios métodos para la cuantificación, entre los que se incluyen la determinación del cambio de pH que acompaña la hidrólisis de los ésteres de colina (23) y aquellos basados en la detección de la liberación de tiocolina de sus ésteres empleando como indicador el reactivo de Ellman (5,5-ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico), DTNB (24). Aunque estos últimos métodos tienen mayor aceptación, la alta actividad catalítica de la enzima en suero, sumado a la alta sensibilidad de la reacción indicadora, demandan una predilución o un volumen muy pequeño de la muestra. Ambas medidas contribuyen necesariamente a una imprecisión inevitable y hacen difícil la automatización del método (25). Adicionalmente, el pico de absorción del tionitrobenzoato a 412 nm, coincide con el pico de absorción de la hemoglobina, lo que presenta un problema al analizar muestras ricas en hemoglobina.

Algunos métodos usados en veterinaria emplean cromóforos diferentes al DTNB, con el fin de obtener un producto de reacción entre el cromóforo y la tiocolina que posean un máximo de absorbancia alejado del espectro de la hemoglobina y, de este modo, evitar su interferencia. Uno de ellos es el método 2,2'-ditiopiridina (2-PDS), cuyo producto de reacción con la tiocolina, la 2-tiopiridona, posee su máxima absorbancia a 343 nm de longitud de onda. Sin embargo, este método reacciona con el glutatión e inhibe la colinesterasa a altas concentraciones. Otro método utiliza 4,4'-ditiopiridina (4-PDS), cuya máxima absorbancia se encuentra a 324 nm de longitud de onda, la cual está fuera del espectro visible (26).

Una técnica usada en Colombia en el Programa de vigilancia de organosforforados y carbamatos (VEO) es el estuche Lovibond® (14, 27) que mide la actividad enzimática en sangre total con la técnica de Limperos y Ranta (28), luego modificada por Edson (29), conocida también como técnica tintométrica o colorimétrica de Edson (27). Es un procedimiento semicuantitativo que expresa valores de actividad enzimática en nueve intervalos de 12,5% cada uno, correspondientes a una actividad de 100%, 87,5%, 75% y así sucesivamente, con respecto a un control no expuesto a plaguicidas inhibidores de colinesterasa (30).

En el método propuesto por Jiménez y Martínez (1, 2) se emplea el ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como sustituto del DTNB, a 30 °C y pH 7,6. La AchP se determina a partir de propioniltiocolina; la colinesterasa libera tiocolina, la cual reacciona con el DTNA formando ácido tionicotínico y, a partir de acetiltiocolina, la AchE libera tiocolina, formando ácido tionicotínico. Ambas determinaciones presentan un pico máximo de absorbancia a 340 nm, permitiendo así el monitoreo directo de la reacción.

Usando el DTNA, puede utilizarse suero para la AchP y sangre entera para determinar la AchE, permitiendo el uso de muestras más concentradas. Este método no es sensible a la luz, es de fácil reproducibilidad, los reactivos son más económicos y la estabilidad de los mismos es prolongada (DTNA almacenado en botella ámbar es estable por 6 meses a 4-8 °C); la bilirrubina y la hemoglobina no presentan interferencia. A diferencia de la prueba que usa como indicador el DTNB que es muy sensible a la luz y requiere realizar diluciones de las muestras ya que presentan interferencia a 412 nm con la hemoglobina.

Por lo anterior, este método constituye una alternativa precisa, sensible y conveniente para la determinación de acetilcolinesterasa humana (1, 2) y se elige para calcular los valores de la actividad de AchP y AchE en el presente estudio. Con ello, se pretende dar el paso inicial hacia la estandarización de dichos valores con esta técnica para ser utilizada en la zona cafetera de Colombia.

## Materiales y métodos

### Población y tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo transversal en una muestra probabilística de 819 agricultores (480 hombres y 339 mujeres) que residían y/o laboraban en fincas productoras de café y plátano en el departamento del Quindío. Se diseñó una encuesta clínica epidemiológica realizada o supervisada por médicos para determinar condiciones clínicas y antecedentes de los participantes. Se excluyeron participantes embarazadas, con tuberculosis, neoplasias o enfermedades crónicas (hepáticas, diabetes, epilepsia, enfermedades del colágeno, mixedema, alcoholismo, obesidad, anemia) y a quienes consumían medicamentos como corticoides, clorpromazina, antiarrítmicos y ciclofosfamida.

## Materiales

Para los análisis enzimáticos se empleó un espectrofotómetro Thermo Scientific™ GENESYS 10S UV-Vis de Thermo Fisher Scientific, USA. Baño maría Selecta, S.A. Se tomaron muestras de sangre (no se requiere ayuno) en tubos comerciales Vacutainer® con EDTA K<sub>2</sub>; usando una centrífuga refrigerada marca Hermle Z 326 K de rotor fijo, la separación del suero y los eritrocitos se hizo a 3000 rpm por 5 min y 1000 g gravedades, a una temperatura a 20 °C para realizar en cada muestra la AchE (en eritrocitos) y la AchP (en suero). Los reactivos utilizados fueron obtenidos de la compañía Sigma Aldrich comercializados para Colombia.

## Soluciones de trabajo

Se prepararon 4 soluciones: la primera, llamada *solución de trabajo 1* era DNTA 0,2 mmol/L, con pH ajustado a 7,6 con buffer fosfatos, esta se utilizó para determinar AchP. *Solución de trabajo 2* se utilizó para cuantificar AchE, era igual a *solución de trabajo 1*, además tenía 25,8 ppm de hidrocloreto de quinidina y 1000 ppm de Tritón X-100. *Sustrato para AchP* era yoduro de propioniltiocolina 1272 mmol/L y *Sustrato para AchE* era yoduro de acetiltiocolina 10,5 mmol/L. Se utilizó la balanza analítica Mettler Toledo Ax205 Delta Range peso máximo 81g/220g con una desviación d = 0,01mg/0,1mg.

## Procedimiento

Se replicó el procedimiento descrito por Jiménez y Martínez (1, 2), así como el coeficiente de absortividad molar reportado para sus condiciones experimentales, las mismas que fueron replicadas para este experimento. A continuación se presentan las condiciones de reacción: pH = 7,6; T = 30 °C; λ = 340 nm; tincubación = 2 min; blanco de reacción: agua destilada. De igual modo, se toma la definición de actividad enzimática reportada por Jiménez y Martínez (1, 2) (ecuación [1])

$$A_{(U/L)} = \left( \frac{\Delta A}{min} \right) \left( \frac{V_T}{V_m} \right) * \epsilon \quad [1]$$

Donde A<sub>(U/L)</sub> es la actividad de la colinesterasa; ΔA/min es la variación de la absorbancia, determinada mediante el promedio de 3 medidas sucesivas cada minuto; V<sub>T</sub> es el volumen total de la mezcla de reacción: 2,105 mL; V<sub>m</sub> es el volumen de la muestra (suero para determinar la AchP y sangre total para determinar AchE): 5 μL, expresado en mL y ε es el coeficiente de absortividad molar reportado: 10,80 L/(mol·cm).

## Análisis estadístico

La información se analizó con SPSS versión 19. Se determinó la normalidad de las variables cuantitativas mediante la prueba de Kolmogorov. Se calcularon medias de AchE y AchP con sus intervalos de confianza 95%, y diferencia de medias (T Student); se buscó correlación de Pearson entre la AchE y AchP.



Para la determinación del porcentaje de inhibición de la colinesterasa se asumieron dos valores máximos. A pesar de la distribución paramétrica que representaron los datos, hubo valores extremos por lo cual en lugar de desviaciones estándar se escogieron medidas de posición para representar la inhibición de la colinesterasa: el percentil 100 y el percentil 95, en ambos considerando el 25% del valor de las AchE y AchP como posible indicador de intervención en el ámbito ocupacional de acuerdo a las recomendaciones internacionales y a la normativa del país (31-33). Se calculó odds ratio (OR) para observar variables de riesgo relacionadas con la inhibición de la actividad de colinesterasa.

## Resultados y discusión

Los participantes fueron 819 (58,6% hombres y 41,4% mujeres), con media de edad de 48,2 años (IC 95% 47,2-49,2). La mayoría de los participantes contaba con una escolaridad menor a 8 años (67,7%); un 47,6% (n 390) afirmaron fumigar como única actividad o como parte de sus actividades en el campo (n 370).

Los promedios y las medidas de posición de los valores obtenidos de AchE y AchP se pueden observar en las Tablas 1 y 2. La media de AchE fue significativamente mayor que la AchP ( $p = 0,000$ ), no se encontró correlación entre ellas. AchE fue significativamente mayor en las personas menores de 45 años ( $p = 0,000$ ); no se encontraron diferencias de los valores de colinesterasa entre distintos sexos o escolaridad.

Para ambas colinesterasas se halló diferencia significativa cuando se analizó entre fumigadores: la AchE fue significativamente más baja entre las personas fumigadoras ( $p = 0,022$ ) mientras que la AchP lo fue entre los no fumigadores ( $p = 0,010$ ).

**Tabla 1.** Promedios de AchE y AchP en la población de estudio.

Total n	AchE (U/L)		Sig.	AchP (U/L)		Sig.
	Promedio (IC 95%)			Promedio (IC 95%)		
	11858,5 (11684,4-12032,5)			10017,0 (9845,4-10188,7)	0,00	
Sexo						
Masculino	11785,6 (11551,5- 12019,6)			10223,1 (10016,7-10429,5)		
Femenino	11961,7 (11701,9-12221,6)	0,33		9945,8 (9429,4-10462,2)	0,33	
Edad						
< 45	12401,1 (12169,4-12632,8)		<b>0,00</b>	10090,4 (9806,7-10374,1)		
≥45	11508,7 (11268,9-12632,8)			9966,8 (9749,4-10184,2)	0,93	
Escolaridad						
< 8 años	11893,9 (11683,8-12103,9)		0,85	10180,3 (9841,8-10518,9)	0,61	
≥ 8 años	11859,1 (11551,8-12166,4)			9953,3 (9672,6-10233,9)		
Fumigación						
Si	11668,1 (11408,8-11927,3)		<b>0,02</b>	10252,7 (10015,0-10490,4)	<b>0,01</b>	
No	12078,2 (11847,2-11927,3)			9974,8 (9555,9-10393,7)		

**Tabla 2.** Medidas de posición AchE y AchP en la población de estudio.

Total n	n (%)	AchE (U/L)			AchP (U/L)		
		Mínimo	Mediana	Máximo	Mínimo	Mediana	Máximo
		819 (100)	3588	12246	16341	3549	10179
Sexo							
Masculino	480 (58,6)	3744	12148	16341	3549	10413	19227
Femenino	339 (41,4)	3588	12402	15912	1349	9711	18954

Al calcular el 25% de inhibición de colinesterasa (A 25%), se observó que para la AchP hubo escasos valores extremos que excedían en mucho al percentil 95, se calculó el valor de referencia máximo de 19227 U/L y la A 25% fue de 10354 U/L; en la AchE los porcentajes de inhibición con los percentiles 95 y 100 fueron más semejantes, y el valor de A 25% fue de 11378 (Tabla 3).

**Tabla 3.** Valores de referencia para cálculo de inhibición del 25% de actividad (A25%) de AchE y AchP.

	Min.	Percentiles					Máx.	A25%	
		5	25	50	75	95		P95	P100
AchE (U/L)	3588,0	5421,0	10647,0	12246,0	13767,0	15171,0	16341,0	11378	12256
AchP (U/L)	3549,0	5070,0	8541,0	10179,0	11583,0	13806,0	19227,0	10354	14420

Tomando como referencia el percentil 95, se encontró que un 36,0% de los participantes tenían una inhibición de la actividad de AchE y un 51,8% de la AchP. Se observó disminución en la actividad de la AchE significativamente mayor en los agricultores de sexo masculino (OR: 1,3), de 45 y más años y fumigadores. La AchP fue significativamente mayor en las mujeres y en no fumigadores (Tabla 4).

**Tabla 4.** Disminución de la actividad (A 25%) de la colinesterasa.

	AchE A 25%			AchP A 25%		
	P95		P100 n (%)	P95		P100 n (%)
	n (%)	OR (IC 95%) sig.		n (%)	OR (IC 95%) sig.	
Sexo						
Masculino	184 (38,3)	<b>1,3 (0,9-1,7) p 0,06</b>	253 (52,7)	232 (48,3)	<b>0,72 (0,54-1,95) p 0,01</b>	469 (97,7)
Femenino	111 (32,7)		162 (47,8)	192 (56,6)		330 (97,3)
Edad						
< 45	91 (28,3)	<b>1,7 (1,3-2,4) p 0,00</b>	145 (45,2)	158 (49,2)	1,2 (0,9-1,6) p 0,14	316 (98,4)
≥45	204 (41,0)		270 (54,2)	266 (53,4)		483 (97,0)
Escolaridad						
< 8 años	188 (34,1)	0,93 (0,7-1,2) p 0,35	275 (49,8)	281 (50,9)	0,52 (0,17-1,6) p 0,17	536 (97,1)
≥ 8 años	102 (38,9)		135 (51,5)	141 (53,8)		258 (98,5)
Fumigación						
Si	157 (40,3)	<b>1,4 (1,1-1,9) p 0,01</b>	216 (55,4)	185 (47,4)	<b>0,72 (0,54-0,94) p 0,01</b>	380 (97,4)
No	138 (32,2)		199 (46,4)	239 (55,7)		419 (97,7)
Total	295 (36,0)		415 (50,7)	424 (51,8)		799 (97,6)

Ahora bien, en la determinación de la actividad de la colinesterasa existe variabilidad inter e intraindividual: la primera se da entre individuos de una misma especie, y puede llegar a suponer hasta un 30% de la actividad colinesterasa (34). La variabilidad intraindividual se produce por factores relacionados con el estado fisiológico de la persona, como la edad, el sexo, el estado reproductivo y la salud del individuo. Parece ser que estos factores afectan más a la actividad de la colinesterasa plasmática que a la eritrocitaria (35, 36).

En la práctica, el monitoreo de la variación intraindividual es un reto difícil de cumplir dado que la medición previa a la exposición laboral es casi imposible de conseguir. Hacer muestras periódicamente es una alternativa para la vigilancia del cumplimiento del uso de las medidas de protección individual pero la inestabilidad laboral y los desplazamientos constantes de los agricultores hace de esta alternativa algo muy difícil de cumplir (37).

En este estudio se pudo determinar que en la población por encima de los 45 años los valores de AchE fueron significativamente menores que en los de menor edad. No se observaron diferencias por sexo ni en AchE ni en AchP. No se consideraron otras variables intraindividuales porque para controlar los resultados se hicieron criterios de exclusión de las mismas. Sin embargo, la inhibición en la actividad de la AchE fue significativamente mayor en los agricultores hombres, de 45 y más años y fumigadores; mientras que la AchP fue significativamente mayor en las mujeres y en no fumigadores.

Las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas para la medición de la colinesterasa dificultan las comparaciones entre regiones o tiempos determinados (21) y se hace necesaria la realización de estudios poblacionales para detectar aquellos individuos más susceptibles a la intoxicación por organofosforados (38, 39). Sin embargo, las valoraciones médicas pre ocupacionales y de tipo periódico no se realizan en los predios de residencia o trabajo; si bien es cierto que la Resolución 2346 de 2007 indica la obligatoriedad de la realización de las valoraciones médicas ocupacionales, al igual que el Artículo 2.2.4.2.2.18 del Decreto único reglamentario del sector trabajo de 2015, esta norma no es aplicada en el sector rural, con muy contadas excepciones (40, 41). Esto impide tener conocimiento de las comorbilidades que pueden alterar los valores de la prueba y que deben ser tenidas en cuenta al momento de ubicar un trabajador en actividad que implique riesgo por exposición a agroquímicos inhibidores de la colinesterasa.

Basados en los resultados de la correlación entre la AchP y AchE, se concluyó que no existe relación directa entre las actividades de estas dos enzimas. La primera indica exposición aguda mientras que la segunda exposición crónica. Se considera que hidroliza tanto en AchE como en AchP, una molécula de acetilcolina en ácido acético y colina en menos de un milisegundo, calculándose un tiempo de recambio de 150  $\mu$ s aproximadamente (42). Trabajadores agrícolas con exposiciones repetidas y prolongadas pueden presentar disminución de AchP y AchE o únicamente de AchE (3, 16, 25, 43).

Los valores de referencia hallados en la estandarización del método con DTNA por Jiménez y Martínez (1, 2) fueron: AchP entre 12120-2176 U/L, y para la AchE entre 10567-2227 U/L. En otro estudio realizado por el mismo investigador en una población agrícola costarricense, aparentemente sana, sin exposición previa a plaguicidas, usando la reacción de Ellman con el indicador DTNB, se obtuvieron rangos de actividad para la AchP en 139 mujeres de 3700-9700 U/L y en 134 hombres de 4500-9900 U/L. Estos datos no permiten comparar la actividad de AchE con nuestro estudio porque ellos usaron la dilución de las muestras y las corrigieron con hemoglobina (3).

Otro autor determinó las relaciones matemáticas entre tres técnicas cuantitativas empleadas para medir la actividad de la AchP, a partir de los valores de referencia establecidos parados poblaciones de Antioquia, Colombia (21); se encontraron valores promedio que resultaron similares, tanto con el método de Michel como con EQM (método espectrofotométrico con colorímetro con fuente diódica emisora de luz) ( $P > 0,05$ ), pero no con Monotest donde se encontraron rangos entre  $5743 \pm 1662$  U/L para Aburrá y  $5459 \pm 1585$  U/L para agricultores del oriente Antioqueño con ( $P = 0,01$ ), concluyendo que en la actualidad se emplean numerosas técnicas para medir la concentración de la colinesterasa en los eritrocitos, la sangre y el plasma. Sin embargo, debido al uso no regulado de esas técnicas se hace difícil comparar los resultados (20).

En este estudio se encontraron valores de AchP y AchE con niveles máximos superiores a los anteriormente descritos y los mínimos similares (19227-3549 U/L y 16341-3588 U/L respectivamente).

Aunque no fue objeto de esta investigación el comparar los niveles de colinesterasa según los plaguicidas utilizados, llama la atención que la inhibición de AchP sea significativamente mayor en no fumigadores y en las mujeres, lo cual pudiera indicar que están más expuestos a la concentración en el ambiente de los agroquímicos, empleo inadecuado de medidas de protección individual a través de fômites (ropa de los trabajadores expuestos directamente, utensilios empleados en varias actividades incluyendo fumigación, recipientes de agroquímicos empleados luego de terminado el producto), etc.

Para cumplir el objetivo de obtener los valores de referencia para agricultores de zona cafetera con la técnica propuesta, primero se utilizó como valor máximo el percentil 100 para determinar el porcentaje de inhibición considerando 25% como indicador de intervención con los trabajadores expuestos. Se halló un valor de 14420 U/L como 25% de la actividad de AchE y 12256 U/L para AchP. Sin embargo, y considerando los valores mayores tan extremos, sobre todo para la AchP, se decidió proponer los percentiles 95 (P 95) como valores de referencia máximos; bajo estas condiciones con los nuevos valores máximos de referencia (P 95), se determinó la existencia de inhibición de un 25% de la actividad de colinesterasa en la población estudiada correspondiente a un 36% para AchE y un 51,8% para AchP.

## Conclusiones

De acuerdo a lo anterior, los límites máximos obtenidos en el presente estudio fueron 15171 U/L para AchP y 13806 U/L para AchE. Con base en dichos valores, se calculó el porcentaje de inhibición, este fue: 10354 U/L para AchP y 11378 U/L para AchE. Se propone además que con disminución del 25% en los valores de la actividad de la colinesterasa se debe proceder a repetir la muestra y de confirmarse se deberá apartar el trabajador de la exposición y se repetirá el análisis dos semanas más tarde; con valores superiores al 25% de inhibición, de forma inmediata, se debe retirar el trabajador del ambiente laboral donde se da la exposición. El criterio para esta decisión se fundamenta en el hecho de iniciar intervención en una franja del valor del biomarcador donde no se esté generando daño irreparable en la salud.

Se debe insistir en la importancia que tiene la vigilancia médica de la salud en los trabajadores expuestos a agroquímicos, no solamente con mediciones rutinarias de la colinesterasa, tanto eritrocítica como plasmática (monitoreo biológico de efecto), sino la vigilancia integral de los mismos a través de los exámenes médicos ocupacionales pre exposición, periódicos y post exposición.

## Agradecimientos

A los agricultores y sus familias participantes del estudio. Este trabajo fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia y Tecnología de Colombia (Colciencias), código 1113-569-33303 y número de contrato 40-2013. Proyecto interno # 648 de 2013 de la Universidad del Quindío .

## Referencias

- Jiménez-Díaz, M.; Martínez-Monge, V. Validación de la determinación de colinesterasa plasmática humana a 340nM. *Rev. Biomed.* **2000**, *11*, 91-98.
- Jiménez-Díaz, M.; Martínez-Monge, V. Validación de la determinación de acetilcolinesterasa eritrocítica humana a 340 nM. *Rev. Biomed.* **2000**, *11* (2), 161-168.
- Jiménez-Díaz, M.; Schosinsky-Neveermann, K. Valores de referencia de colinesterasa plasmática y eritrocítica en población Costarricense. Comparación del desempeño clínico de ambas enzimas. *Rev. Costarricense Cien. M.* **2000**, *21*, 3-4.
- Nelson LS, Ford MD. Acute poisoning. In Goldman L, Schafer AI, ed *Goldman's Cecil Medicina* 25 ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; **2016**; cap. 110. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-1604-7.00110-x>.
- Aminoff, M. J.; So, Y.T. Effects of toxins and physical agents on the nervous system. En: *Bradley's Neurology in clinical Practice*. Elsevier Saunders. **2012**; cap. 58. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0434-1.00083-9>.
- Instituto Nacional de salud. Protocolo de vigilancia en salud pública de intoxicaciones por sustancias químicas, 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-deaccion/SubdireccionVigilanciaSivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Intoxicaciones.pdf>. [Consultado el 6 de Junio, 2016].
- Cárdenas, O.; Silva, E.; Morales, L.; Ortiz, J. Estudio epidemiológico de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en siete departamentos colombianos, 1998-2001. *Biomédica.* **2005**, *25* (2): 170-180. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1020-49892007000600005>.
- Medina, O. M.; Sánchez, L. H.; Flórez-Vargas, O. Actividad enzimática colinesterasa en muestras de sangre humana: efecto de las condiciones de almacenamiento. *Rev. Salud UIS.* **2015**, *47*, 151-158.
- O'Malley, M. Pesticidas. En *Diagnóstico y tratamiento en medicina laboral y ambiental*. Manual Moderno: México D.F., **2005**; pp. 597-646.
- Strelitz, J.; Engel, L.S.; Matthew, C.; Keifer, M.C. Blood acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as biomarkers of cholinesterase depression among pesticide handlers. *Occup. Environ. Med.* **2014**, *71* (12), 842-847. DOI: <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102315>.
- Colovic, M. B.; Krstic, D. Z.; Lazarevic-Pasti, T. D.; Bondzic, A. M.; Vasic, V. M. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11* (3), 315-335. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159x11311030006>.
- Layer, P.G.; Willbold, E. Novel functions of cholinesterases in development, physiology and disease. *Histochem. Cytochem.* **1994**, *29* (3), III-1 VII 92. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0079-6336\(11\)80046-x](https://doi.org/10.1016/s0079-6336(11)80046-x).
- Soreq, H.; Seidman, S. Acetylcholinesterase, new roles for an old actor. *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2*, 294-302.
- Instituto Nacional de salud. Protocolo programa PICCVEO, 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/programas-de-calidad/piccveo/Protocolo%20Programa%20VEO%202015-vf200315.pdf>. [Consultada el 6 de Junio de 2016].
- Kutty, K.M. Biological function of cholinesterase. Review Article. *Clin. Biochem.* **1980**, *13*, 239-243. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(80\)80001-4](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(80)80001-4).
- Neupane, D.; Jørs, E.; Lars, B. Pesticide use, erythrocyte acetylcholinesterase level and self-reported acute intoxication symptoms among vegetable farmers in Nepal: a cross-sectional study. *Environ. Health.* **2014**, *13* (98) 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-069x-13-98>.
- McQueen, M. J. Clinical and analytical considerations in the utilization of cholinesterase measurements. *Clin. Chim. Acta.* **1995**, *237* (1-2), 91-105. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(95\)06067-n](https://doi.org/10.1016/0009-8981(95)06067-n).
- Trundle, D.; Marcial, G. Detection of Cholinesterase Inhibition. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **1988**, *18* (5), 345-352.
- Carmona-Fonseca, J.; Henao, S.; Garcés, R. Valores de referencia de la actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa. *Rev. Fac. Nal. Salud Publ.* **2000**, *18* (2), 55-72.
- Carmona-Fonseca, J. Valores de referencia de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria según las técnicas de Michel y EQM<sup>®</sup> y Monotest en población laboral de Antioquia, Colombia. *Rev. Panam. Salud Pública.* **2003**, *14* (5), 316-324. Disponible: <https://doi.org/10.1590/s1020-49892003001000006>.
- Carmona-Fonseca, J. Relationship between cholinesterase levels and blood groups ABO and Rh. *Acta Med. Colomb.* **2006**, *31* (3) 104-112.
- Center for disease control and prevention. Niosh pocket guide to chemical hazards. DHHS (NIOSH), 2007; Publication No. 2005-149. Disponible en: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2005-149/pdfs/2005-149.pdf>. [Consultado el 26 de septiembre de 2016].
- Ivankovich, A.D.; Sidell N.; Vincent, J.; Cairoli, A.; Dietz, A.; Ronald, F.; et al. Dual action of pancuronium on succinylcholine block. *Canad. Anaesth. Soc. J.* **1977**, *24*, 228-242. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03006236>.
- Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R. M. A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharm.* **1961**, *7*, 88-95. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- Cotton, J.; Lewandowski, P.; Brumby, S. Cholinesterase Research Outreach Project (CROP): measuring cholinesterase activity and pesticide use in an agricultural community. *BMC Public. Health.* **2015**, *15*, 748. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-015-2076-8>.
- Teclés, F.; Gutiérrez-Panizo, C.; Martínez-Subiela, S.; Parra, M. D. Comparación de la 2,2'-ditiopiridina y el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico en la determinación de colinesterasa en sangre entera de perro. *An. Veterinaria.* **2000**, *16*, 41-54.
- Tintometer Lovibond. *The Lovibond cholinesterase test kit AF 267 (40-2670), Instruction*. Tintometer: Virginia, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1038/scientificamerican06071890-12034supp>.
- Limperos, G.; Ranta, K. E. A rapid screening test for the determination of the approximate cholinesterase activity of human blood. *Sci.* **1953**, *117*, 453-5. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.117.3043.453>.
- Edson, E. F. Blood tests for users of OP insecticides. *World Crops* **1950**, *10*, 49-51.
- Carmona-Fonseca, J. Colinesterasas en sangre total medidas con técnica semicuantitativa y en eritrocitos o plasma medidas con técnicas cuantitativas: relaciones. *Biomédica*, **2007**, *27*, 244-256. DOI: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v27i2.220>.
- Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias de Ambiente, Programa de salud y Ambiente OPS. Impacto de los plaguicidas en la salud y Ambiente. Monitoreo Biológico de Colinesterasa. Lima Octubre 1997, 1-6.

32. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias de Ambiente. Programa de salud y Ambiente. OPS. Impacto de los plaguicidas en la salud y Ambiente. Monitoreo Biológico de Colinesterasa. Lima, Octubre 1997, 1-6. Ministerio de la Protección Social. Resolución 1013 de Marzo 25 de 2008. Bogotá. 2008
33. Albiano, Nelson F. Toxicología Laboral: Criterios para el monitoreo de la salud de los trabajadores expuestos a sustancias químicas peligrosas / 4<sup>o</sup> Ed Ampliada. Buenos Aires: Superintendencia de riesgos del trabajo, 2015; p 522.
34. Halbrook, R. S.; Shugart, L. R.; Watson, A. P.; Munro, N. B.; Linnabary, R. D. Characterizing biological variability in livestock blood cholinesterase activity for biomonitoring organophosphate nerve agent exposure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **1992**, *201* (5), 714-725.
35. Banks, CN.; Lein, P. J. A review of experimental evidence linking neurotoxic organophosphorus compounds and inflammation. *Neurotoxicol.* **2012**, *33* (3), 575-584. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2012.02.002>.
36. Taghavian, F.; Vaezi, G.; Abdollahi, M. Comparative Toxicological Study between Exposed and Non-Exposed Farmers to Organophosphorus Pesticides. *Cell J.* **2016**, *18* (1), 89-96.
37. Tejada, R. E.; Matos, F. G.; Méndez, Z. K.; Duran, L. C.; Lee, V. J. Niveles de colinesterasa plasmática en trabajadores agrícolas de campos frutales de la región suroeste de república Dominicana. *Revista Médica.* **2011**, *72* (3), 67-69.
38. Hurtado-Clavijo, C. M.; Gutiérrez, M. Organophosphorates: acute intoxication practical issues. *Rev. Fac. Med.* **2005**, *53* (4), 244-258
39. Jørs, E.; Cervantes, M. R.; Condarco, A. G.; Huici, O.; Lander, F.; Bælum, J. *et al.* Occupational pesticide intoxications among farmers in Bolivia: a cross-sectional study. *Environ. Health* **2006**, *5* (1), DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1476-069X-5-10>.
40. Ministerio de la Protección Social. Resolución 2346 de Julio 11 de 2007.
41. Ministerio de Trabajo. Decreto único reglamentario del sector trabajo 1072 de 2015: Artículo 2.2.4.2.2.18. Bogotá. 2015. Disponible en: <file:///C:/Users/admin/Downloads/DUR%20Sector%20Trabajo%20Actualizado%20a%2015%20de%20abril%20%20de%202016.pdf>.
42. Fernández-Prieto, R. M.; Ramallo-Bravo, A.; Carmona-Carmona, G.; Carrasco-Jiménez M. S. Papel de las colinesterasas plasmáticas. Actualización. *Rev. Esp. Anestesiol. Reanim.* **2011**, *58*, 508-516.
43. Varona, U. M.; Combariza, D.; Díaz, S.; Palma, M. Plaguicidas. En *Sociedad Colombiana de Medicina del Trabajo*. Alvi Impresores, **2011**; pp 295-328.

**Article citation:**

Restrepo-Cortés, B.; Londoño-Franco, A. L.; Sánchez-López, J. F. Valores de colinesterasa plasmática y eritrocitaria con ácido 6-6'-ditiodinicotínico (DTNA) como indicador. *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 13-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n1.62849>.



Roland T. Loto<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Mechanical Engineering, Covenant University, Ota, Ogun State, Nigeria

<sup>2</sup>Department of Chemical, Metallurgical & Materials Engineering, Tshwane University of Technology, Pretoria, South Africa

\*Corresponding author: tolu.loto@gmail.com

Recibido: 13 de Agosto de 2016. Aceptado: 22 de Noviembre de 2016.

## Corrosion inhibition studies of the combined admixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde on mild steel in dilute acid media

### Abstract

The electrochemical corrosion inhibition properties of the combined admixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde on mild steel in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl acid media were studied through weight loss analysis, potentiodynamic polarization method, optical microscopy and IR spectroscopy. Results showed that the organic mixture effectively inhibited the corrosion of mild steel in both solutions with an optimal inhibition efficiency of 97.4% and 97.47% in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> from weight loss and potentiodynamic polarization test, while the corresponding values in HCl were 94.71% and 89.73% respectively. Thermodynamic calculations showed that the compound chemisorbed onto the steel surface blocking the diffusion of corrosive anions. Observations from micro-analytical images confirmed the effective inhibition property of the compound and its presence on the surface topography of the steel. Infrared spectra revealed the presence of the functional groups of the organic compound responsible for corrosion inhibition. The adsorption of the compound was deduced to obey the Langmuir, Frumkin and Freundlich adsorption isotherm.

**Keywords:** adsorption, corrosion, mild steel, inhibitor, hydrochloric acid, sulphuric acid.

## Estudios de inhibición de la corrosión de la mezcla combinada de 1,3-difenil-2-tiourea y 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído en acero dulce en medio ácido diluido

### Resumen

Se estudiaron las propiedades de inhibición de la corrosión electroquímica de la mezcla combinada de 1,3-difenil-2-tiourea y 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído sobre acero dulce en medios de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y HCl 1 M mediante análisis de pérdida de peso, método de polarización potenciodinámica, microscopía óptica y espectroscopia IR. Los resultados mostraron que la mezcla inhibe eficazmente la corrosión del acero dulce en ambas soluciones con una eficacia de inhibición óptima de 97,4% y 97,47% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, mientras que los valores correspondientes al HCl son 94,71% y 89,73%. Los cálculos termodinámicos demostraron que el compuesto quimisorbido sobre la superficie de acero bloquea la difusión de aniones corrosivos. Las imágenes micro-analíticas confirmaron la efectiva propiedad de inhibición del compuesto y su presencia en la topografía superficial del acero. Los espectros infrarrojos revelaron la presencia de los grupos funcionales del compuesto orgánico responsable de la inhibición de la corrosión. La adsorción del compuesto se dedujo siguiendo las isothermas de adsorción de Langmuir, Frumkin y Freundlich.

**Palabras clave:** adsorción, corrosión, acero dulce, inhibidor, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico.

## Estudos de inibição da corrosão da mistura combinada de 1,3-difenil-2-tiourea e 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído em aço macio em meio ácido diluído

### Resumo

Estudaram-se as propriedades de inibição da corrosão eletroquímica da mistura combinada de 1,3-difenil-2-tiourea e 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído em aço macio em meios de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl 1 M através de análise de perda de peso, método de polarização potenciodinâmica, microscopia óptica e espectroscopia de IV. Os resultados mostram que a mistura inibiu eficazmente a corrosão de aço macio em ambas as soluções com uma eficiência de inibição ótima de 97,4% e 97,47% em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, enquanto os valores correspondentes ao HCl são respectivamente 94,71% e 89,73%. Os cálculos termodinâmicos mostram que o composto quimisorvido sobre a superfície de aço bloqueia a difusão de ânions corrosivos. As imagens micro-analíticas confirmam a propriedade de inibição do composto e sua presença na topografia superficial do aço. Os espectros de infravermelho revelaram a presença dos grupos funcionais do composto orgânico responsáveis pela inibição da corrosão. A adsorção do composto foi deduzida seguindo às isothermas de adsorção de Langmuir, Frumkin e Freundlich.

**Palavras-Chave:** adsorção, corrosão, aço macio, inibidor, ácido clorídrico, ácido sulfúrico.

## Introduction

Mild steel is one of the most applicable construction materials, extensively used in chemical, petroleum, automotive, energy generating and allied industries for applications that are exposed to acids, alkalis and salty environments such as acid cleaning, pickling, descaling, industrial acid cleaning, cleaning of oil refinery equipment, heat exchangers and oil well acidizing (1). It is the cheapest, most common and most versatile form of steel serving for every application that requires huge amount of steel as it provides material properties that are acceptable for many applications. However it is weakly resistant to pitting and general corrosion, thus, it is continually replaced after being severely degraded in the corrosive environment during application.

Corrosion represents a significant cost burden and major industrial setback to the economy of every country; it is the largest single cause of plant and equipment breakdown in process industries. For a variety of industrial applications, it is possible the selection of construction materials which are completely resistant to corrosion from corrosive fluids, but the cost of such an approach is most often restrictive (2). Current reviews show that the most realistic cost of corrosion could be as high as 3% of the gross domestic product (GDP) of countries which have significant corrosion control measures in place (3, 4). Numerous research and field experience over the decades have developed effective chemical treatments and corrosion control in so many applications from the transport of petrochemical products to the mining and processing of refractory ores. Despite the knowledge acquired, it is evident that there is a gap in information of applications in more challenging environments and in the development and application of novel chemical compounds and treatment practices. The chemicals, known as corrosion inhibitors, are continually fed into aqueous environments with the objective reacting with the metal surface to produce a passive protective chemical film (5-7).

The mechanism of inhibitor adsorption and the relationship between inhibitor molecular structures and their adsorption properties is of great importance in corrosion inhibition studies (8). Chemical compounds with functional groups containing heteroatoms within their molecular structure are capable of donating lone pair of electrons, important attribute of organic compounds in metal corrosion inhibition.

The use of organic compounds for corrosion inhibition of ferrous alloys in different acidic medium has been studied by different authors. The corrosion inhibiting property of these compounds is attributed to their molecular structure (9-11). Bouklah *et al.* (12) and Bentiss *et al.* (13) showed that the adsorption of organic inhibitors mainly depends on physicochemical and electronic characteristics of the inhibitor molecule, associated with their functional groups, steric effects, electron density of donor atoms, and the  $\pi$ -orbital character of donating electrons. A good inhibitor decreases the anodic and/or cathodic reaction of the corrosion process, the transport rate of the corrosive anions to the surface of the metal, and the potential difference at various sites on the metal surface. Inhibitors are basically easy to apply and offer the advantage of *in-situ* application.

To further contribute to the study of the use of low cost chemical compounds for corrosion inhibition of ferrous alloys and deeper understanding of their inhibition mechanism, this research aimed to investigate the inhibiting influence of the synergistic effect of 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde and 1,3-diphenyl-2-thiourea on mild steel corrosion in 1 M  $H_2SO_4$  and HCl acid solution through weight loss analysis, potentiodynamic polarization test and optical microscopy.

## Materials and Methods

### Material

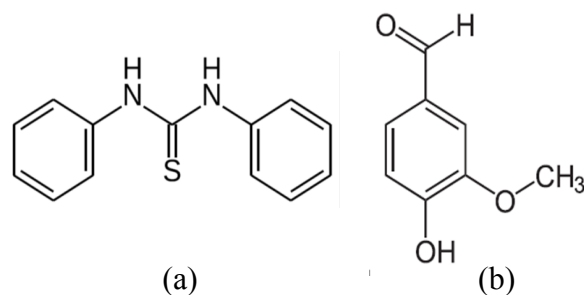
Mild steel was purchased from the Steel Works, Owode, Nigeria and analyzed at the Materials Characterization Laboratory, Department of Mechanical Engineering, Covenant. This mild steel gave an average nominal composition of nominal per cent (w/w %) composition, shown in Table 1. The steel had a cylindrical dimension of 16 mm diameter.

**Table 1.** Nominal composition percentage of mild steel.

Element Symbol	C	Si	Mn	P	S	Cu	Ni	Al	Fe
% Composition (w/w)	0.401	0.169	0.440	0.005	0.012	0.080	0.008	0.025	98.86

### Inhibitor

Combined mixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (VTU), a solid white powdery substance obtained in synthesized form from SMM Instrument, South Africa was the inhibiting compound mixture used. Their structural formulas are shown in Figure 1, and the properties in Table 2.



**Figure 1.** Chemical structure of (a) 1,3-diphenyl-2-thiourea (b) 4-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyde.

**Table 2.** Chemical properties of the inhibiting compounds.

Compound	Molecular Formula	Molar Mass (g/mol)
1,3-diphenyl-2-thiourea	$C_{13}H_{12}N_2S$	228.31
4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde	$C_8H_8O_3$	152.15

VTU was prepared in different molar concentrations of  $3.29 \times 10^6$  M,  $6.57 \times 10^6$  M,  $9.86 \times 10^6$  M,  $1.31 \times 10^5$  M,  $1.64 \times 10^5$  M and  $1.97 \times 10^5$  M respectively per 200 mL each of the test media.

### Acid test media

1 M HCl and  $H_2SO_4$  acid media were prepared by dilution of an analytical grade  $H_2SO_4$  (98% w/w) and HCl (37% w/w) with distilled water and used as the corrosive test environment.

### Preparation of mild steel samples

The mild steels were machined into 14 test samples test specimens with an average length of 5 mm and a diameter of 15 mm. The two exposed surface ends of the cylindrical rod were metallographically prepared with silicon carbide abrasive papers of 80, 120, 220, 800 and 1000 grits, before being polished with  $6 \mu\text{m}$  to  $1 \mu\text{m}$  diamond liquid, rinsed with distilled water and acetone, dried and later stored in a desiccator for weight-loss analysis, open circuit potential measurement and potentiodynamic polarization resistance technique.

### Weight-loss analysis

Weighed steel samples were individually immersed entirely into 200 mL of the dilute acid media for 432 h at ambient temperature of 25 °C. Each sample was removed from the solution at 24 h interval, rinsed with distilled water and acetone, dried and re-weighed according to ASTM NACE/ASTMG31-12a (14). Graphical illustrations of corrosion rate,  $\gamma$  (mm/yr) and percentage inhibition efficiency ( $\eta$ ) versus exposure time T were plotted from the data obtained during the exposure hours. The corrosion rate ( $\gamma$ ) calculation is defined as [1] (15).

$$\gamma = \left[ \frac{87.6\tilde{\omega}}{DAT} \right] \quad [1]$$

Where  $\tilde{\omega}$  is the weight loss in mg,  $D$  is the density in  $\text{g}/\text{cm}^3$ ,  $A$  is the total area in  $\text{cm}^2$  and 87.6 is a constant.

Inhibition efficiency ( $\eta$ ) was calculated from [2].

$$\eta = \left[ \frac{\tilde{\omega}_1 - \tilde{\omega}_2}{\tilde{\omega}_1} \right] \times 100 \quad [2]$$

Where  $\tilde{\omega}_1$  and  $\tilde{\omega}_2$  are the weight loss with and without specific concentrations of VTU;  $\eta$  was calculated at all VTU concentrations throughout the exposure period.

Surface coverage is determined from [3] (16, 17)

$$\theta = \left[ 1 - \frac{\tilde{\omega}_2}{\tilde{\omega}_1} \right] \quad [3]$$

Where  $\theta$  is the amount of VTU mixture, adsorbed per gram of the mild steel;  $\tilde{\omega}_1$  and  $\tilde{\omega}_2$  are the weight loss of the mild steel coupon with and without predetermined concentrations of VTU in the acid solutions.

### Potentiodynamic polarization technique

Potentiodynamic polarization test was performed with cylindrical mild steel electrodes mounted in acrylic resin with an unconcealed surface area of  $154 \text{ mm}^2$ . The steel electrode was prepared according to ASTM G59-97(2014) (18). The studies were performed at 25 °C at ambient temperature with Digi-Ivy DY2300 potentiostat and electrode cell containing 200 mL of the acid media, with and without VTU mixture. Platinum was used as the counter electrode and silver chloride electrode (Ag/AgCl) was employed as the reference electrode. Potentiodynamic measurement was performed from -1.5V to +1.5 V at a scan rate of 0.0016 V/s according to ASTM G102-89 (2015) (19). The corrosion current density ( $j_{\text{corr}}$ ) and corrosion potential ( $E_{\text{corr}}$ ) were calculated from the Tafel plots of potential versus log current. The corrosion rate ( $\gamma$ ) and the percentage inhibition efficiency ( $\eta_2$ ) were from equation [4].

$$\gamma = \frac{0.00327 \times j_{\text{corr}} \times E_q}{D} \quad [4]$$

Where  $j_{\text{corr}}$  is the current density in  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ;  $D$  is the density in  $\text{g}/\text{cm}^3$ ;  $E_q$  is the specimen equivalent weight in grams. 0.00327 is a constant for corrosion rate calculation in mm/yr (20, 21).

The percentage inhibition efficiency ( $\eta_2$ ) was calculated from corrosion rate values using the equation [5].

$$\eta_2 = 1 - \left[ \frac{\gamma_2}{\gamma_1} \right] \times 100 \quad [5]$$

Where  $\gamma_1$  and  $\gamma_2$  are the corrosion rates with and without VTU inhibitor.

### Optical microscopy characterization and infrared spectroscopy

Optical micrographs of the surface morphology and topography of the uninhibited and inhibited mild steel sample was studied after weight-loss analysis with the aid of Omax trinocular optical metallurgical microscope at the Physical Metallurgical Laboratory, Covenant University, Ogun state, Nigeria. The VTU/acid solution, before and after the weight loss test were exposed to a range of infrared ray beams from Bruker Vertex 70/70v spectrometer. The transmittance and reflectance of the infrared rays at different frequencies was translated into an IR absorption plot consisting of spectra peaks. The spectral pattern was analyzed and matched according to IR absorption table to identify the functional group contained in the compound.

### Adsorption Isotherm

Adsorption mechanisms are surface phenomenon by which multi-component solutions diffuse towards the surface of metallic alloys and adhere through physical or chemical adsorption at a constant temperature and pH (22, 23). To further understand the mechanism of interaction between the organic compound and metallic alloy, the adsorption behavior of the organic compound on the metal surface was delineated (24). Langmuir, Freundlich and Frumkin isotherms had the best fits for the data obtained for VTU in  $H_2SO_4$  and while in HCl only Langmuir produce the best fit.

The isotherms are of the general form [6]

$$kc = g(\theta, x) \exp(-f\theta) \quad [6]$$

where  $g(\theta, x)$  is the configurational factor subject to the physical model and assumptions involved in the emanation of the isotherms. The general form of the Langmuir equation is [7]:

$$\left[ \frac{\theta}{1-\theta} \right] = K_{\text{ads}} C \quad [7]$$

rearranging equation [7], [8] results:

$$\left[ \frac{c}{\theta} = \frac{1}{\theta} \right] + C \quad [8]$$

where  $\theta$  is the value of surface coverage on the steel alloy,  $C$  is VTU concentration in the acid solution, and  $K_{\text{ads}}$  is the equilibrium constant of the adsorption process.

Frumkin isotherm assumes unit coverage at high inhibitor concentrations and that the electrode surface is inhomogeneous, i.e., the lateral interaction effect is not negligible. In this way, only the active surface of the electrode, on which adsorption occurs, is taken into account. Frumkin adsorption isotherm can be expressed according to equation [9].

$$\text{Log} \left\{ C \times \left( \frac{\theta}{1-\theta} \right) \right\} = 2.303 \log K + 2\alpha\theta \quad [9]$$

Where  $K$  is the adsorption-desorption constant and  $\alpha$  is the lateral interaction term describing the interaction in adsorbed layer.

Freundlich isotherm states the quantitative relationship of the inhibiting compound and the molecular concentration of inhibitor molecules adsorbed onto the steel which varies at specific concentrations according to equations [10] and [11] (25).

$$\theta = K_{\text{ads}} C^n \quad [10]$$

$$\log \theta = n \log C + \log K_{\text{ads}} \quad [11]$$

Where  $n$  is a constant subject to the properties of the adsorbed molecule;  $0 < n < 1$ ,  $K_{\text{ads}}$  is the adsorption-desorption equilibrium constant connoting the interaction strength within the adsorbed layer. Absolute and higher results of  $K_{\text{ads}}$  suggest strong interaction between the organic molecule and the metal surface.

## Results and discussion

### Weight-loss measurements

Results for weight loss ( $\tilde{w}$ ), corrosion rate ( $x$ ) and percentage inhibition efficiency ( $\eta$ ) for VTU mixture and mild steel from the weight loss experiments in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl are presented in Tables 3 and 4. Figures 2 (a, b) and 3 (a, b) show the graphical illustration of corrosion rate and percentage inhibition efficiency versus exposure time in the acid media. The results for weight loss, corrosion rate and inhibition efficiency in both acid solutions are generally similar indicating similar electrochemical reaction. VTU mixture displayed similar corrosion inhibition characteristics on the redox electrochemical process basically through adsorption. Its presence in the acid media stifled the oxygen reduction, hydrogen evolution and oxidation reaction mechanism responsible for corrosion

Adsorption of VTU molecules onto the mild steel surface blocked the active sites where the dissolution and release of metal cations into the solution occurs as a result of the action of sulphates and chloride anions. The surface charge on metal oxides in contact with aqueous solutions arises from structural charge associated with the terminal oxygen and metal atoms at the mineral surface that have unsatisfied valence, as well as ions from the solution that associate with these terminal atoms in order to saturate this unsatisfied valence (26).

The reduction process was inhibited through increase in surface impedance of the steel whereby the dissociated hydrogen ions are unable to recombine to give of hydrogen gas. The presence of hydrogen on the metallic surfaces significantly accelerates their deterioration because hydrogen diffuses into the metal degrading their mechanical and chemical properties. The high corrosion rate and rate of hydrogen evolution for 0% VTU can be rationalized on the basis that H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl react with mild steel and forms metal sulphates and chlorides, which are soluble in aqueous media. VTU inhibits the electrochemical reaction involving the release of atomic hydrogen (27). Figures 2(a) and (b) show a steady increase in corrosion rate for the mild steel sample in 0% VTU acid solutions till the end of the exposure period. However, with the addition of specific VTU concentrations the corrosion rates decline drastically with minimal values till the end of the experiment. The same phenomenon is observed in Figures 3 (a) and (b) for the inhibition efficiency values. The values ranged from 96.0-97.4% in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 96.2-97.2% in HCl.

VTU belongs to the group of organic compounds consisting of electron rich heteroatoms which are centers of Lewis acid-base interaction with the steel (28). They act by forming a protective film over the entire exposed area of the steel. The film chemisorbs onto the steel inhibiting the reaction of corrosive anions with the steel (29). This prevents the passage of metallic cations consisting of Fe<sup>2+</sup> into the solution. The values of surface coverage (Tables 3 and 4) show that virtually the entire sample area were covered. This is due to the fact that the surface coverage of the VTU cations on the steel through adsorption increases with the increase in concentration (30). The VTU cations adhere themselves onto the steel surface through adsorption in the acid solution inhibiting the electrochemical reactions responsible for the deterioration of the steel.

The chemisorb adsorption is due to the donor-acceptor interaction between electrons of donor atoms and reactive sites of the inhibitors and the acceptor. Adsorption onto the steel surface can also be in the form of positively charged species which interact electrostatically with the metal cations and preadsorbed chlorides and sulphates (31). Visual observation of the steel samples in the test solutions can deduce that cathodic inhibition plays a significant role in the inhibition characteristics of VTU. Comparison of the uninhibited carbon steels (0% VTU) in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl solution with the inhibited solutions (0.13-0.75% VTU) in Tables 3 and 4 evidently shows that VTU at all concentrations effectively reduced the corrosion rates of the steel, thus protecting it.

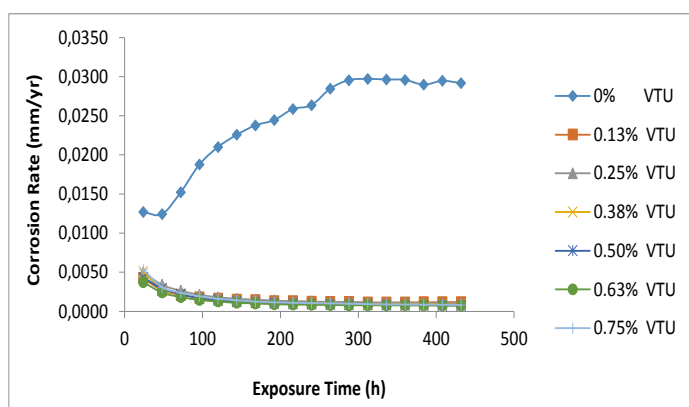
**Table 3.** Results for mild steel in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at predetermined concentrations of VTU.

Samples	Weight Loss (g)	Corrosion Rate (mm/yr)	VTU Inhibitor Concentration (%)	VTU Inhibitor Concentration (M x 10 <sup>-3</sup> )	VTU Inhibition Efficiency (%)	Surface Coverage (θ)
A	7.5415	0.0292	0	0	0	0
B	0.3037	0.0012	0.13	3.29 x 10 <sup>-6</sup>	96.0	0.960
C	0.2726	0.0011	0.25	6.57 x 10 <sup>-6</sup>	96.4	0.964
D	0.2233	0.0009	0.38	9.86 x 10 <sup>-6</sup>	97.0	0.970
E	0.1937	0.0007	0.50	1.31 x 10 <sup>-5</sup>	97.4	0.974
F	0.1933	0.0007	0.63	1.64 x 10 <sup>-5</sup>	97.4	0.974
G	0.2076	0.0008	0.75	1.97 x 10 <sup>-5</sup>	97.2	0.972

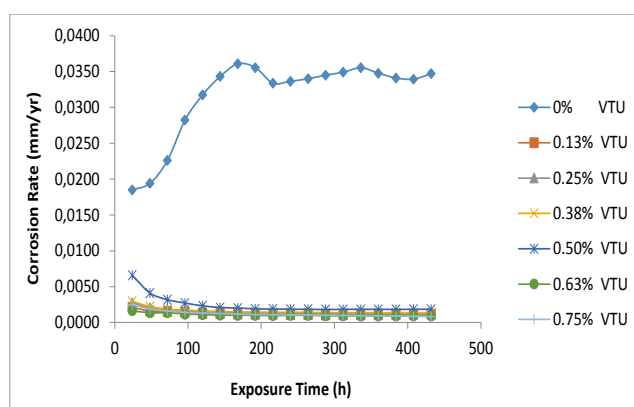


**Table 4.** Results for mild steel in 1 M HCl at predetermined concentrations of VTU.

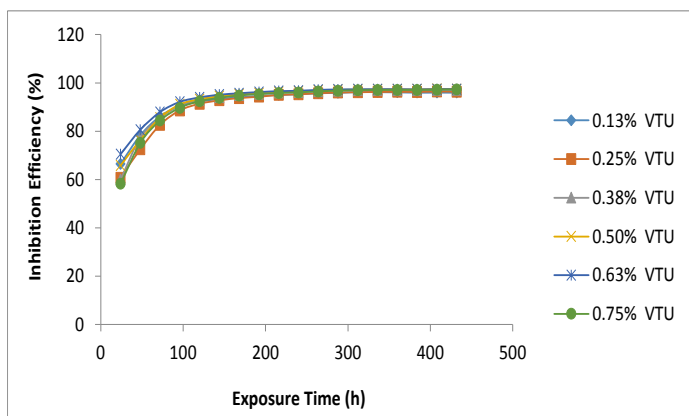
Samples	Weight Loss (g)	Corrosion Rate (mm/yr)	VTU Inhibitor Concentration (%)	VTU Inhibitor Concentration ( $M \times 10^{-3}$ )	VTU Inhibition Efficiency (%)	Surface Coverage ( $\theta$ )
A	8.9772	0.0347	0		0	0
B	0.3045	0.0012	0.13	$3.29 \times 10^{-6}$	96.6	0.966
C	0.3201	0.0012	0.25	$6.57 \times 10^{-6}$	96.4	0.964
D	0.3446	0.0013	0.38	$9.86 \times 10^{-6}$	96.2	0.962
E	0.4751	0.0018	0.50	$1.31 \times 10^{-5}$	94.7	0.947
F	0.2277	0.0009	0.63	$1.64 \times 10^{-5}$	97.5	0.975
G	0.211	0.0008	0.75	$1.97 \times 10^{-5}$	97.7	0.976



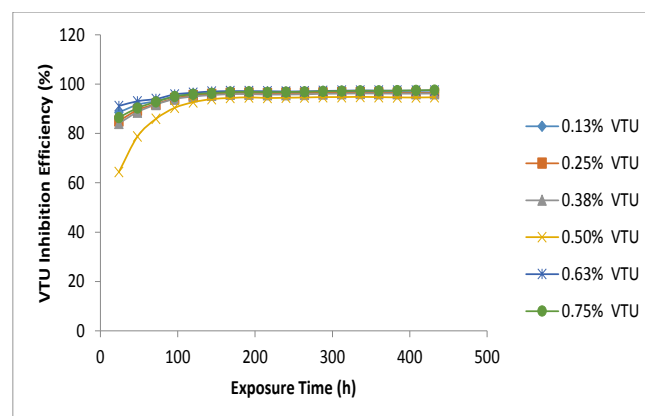
(a)



(a)



(b)

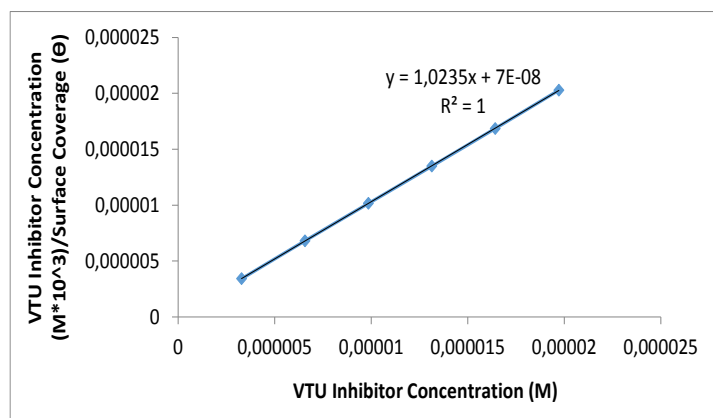


(b)

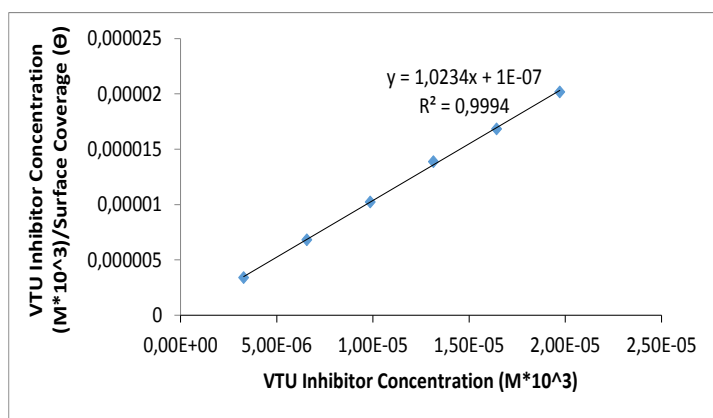
**Figure 2.** Graph illustration of (a) corrosion rate versus exposure time (b) inhibition efficiency versus exposure time in 1 M  $H_2SO_4$ .**Figure 3.** Graphical illustration of (a) corrosion rate versus exposure time (b) inhibition efficiency versus exposure time in 1 M HCl.

## Adsorption Isotherm

The plots of  $\frac{C}{\theta}$  versus the VTU concentration  $C$  were linear (Fig. 4 (a and b) indicating Langmuir adsorption. The divergence of the slope from unity in Figure 4(b) is due to VTU cations occupying specific adsorption sites at the metal/ion solution interface (32, 33). Figure 5 shows the Frumkin adsorption isotherm for VTU concentrations on the mild steel surface, the correlation factor is 0.7538. Figure 6 shows the Freundlich adsorption isotherm for VTU concentrations. Generally adsorption of organic molecules is a replacement reaction which involves the displacement of water molecules from the steel surface. During the corrosion inhibition process, the adsorption of organic molecules causes changes in the energy of interaction with water molecules which increases with increase in the energy of the reaction of the molecules. This in turn increases with increase in concentration of the inhibiting molecules.



(a)



(b)

Figure 4. Plot of  $\frac{C}{\theta}$  versus VTU concentration (C) (a) in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (b) in 1 M HCl.

## Thermodynamics of the corrosion process

The quantity of metal loss due to corrosion deterioration is proportional to the degree of surface coverage of VTU mixture over the mild steel surface. It is suggested that the steel surface is covered with water dipoles, thus for adsorption of the cations of the organic compound to occur the water dipoles must be replaced by the cation in the electrochemical reaction as follows (34, 35).



As earlier mention in the discussion on adsorption isotherms, the thermodynamics of the replacement process is subject to the numbers of water molecules (n) displaced by VTU mixture. The values of the Gibbs free energy ( $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ ) for the adsorption process as shown in Tables 5 and 6 can be evaluated from equation [13].

$$\Delta G_{\text{ads}} = - 2.303RT \log [55.5K_{\text{ads}}] \quad [13]$$

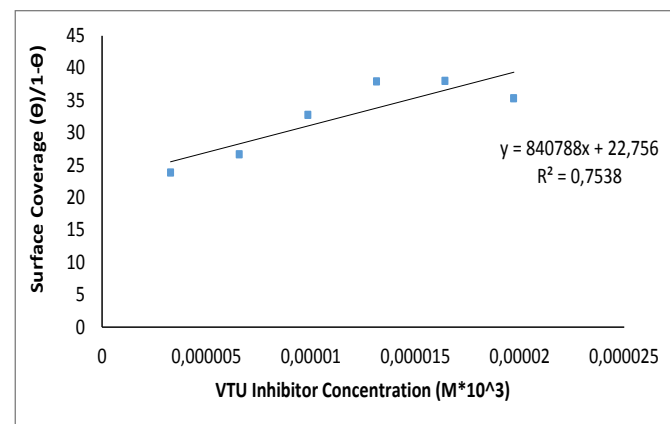


Figure 5. Frumkin isotherm model of VTU concentrations in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

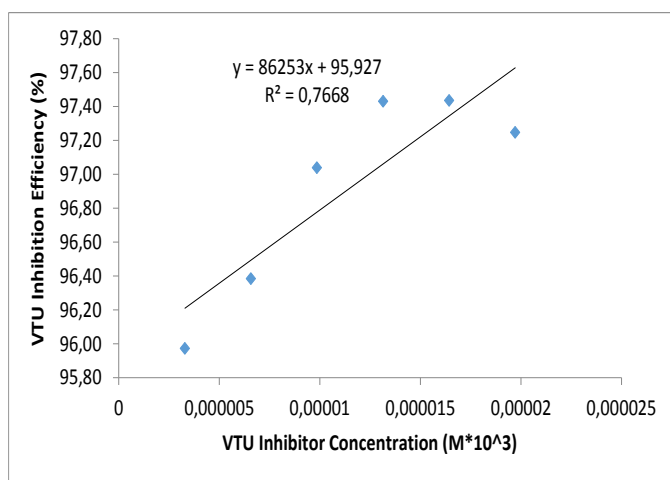


Figure 6. Freundlich isotherm model of VTU concentrations in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

The heterogeneous characteristic (presence of flaws, impurities, cracks, vacancies, etc.) of the steel surface is responsible for the proportional relationship between the  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  of VTU and surface coverage (34, 36-37). This relationship is caused by the changes in adsorption energies as shown in the tables. The negative values of  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  shows the adsorption is spontaneous. Values of  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  around -20 kJ/mol is consistent with physisorption reactions, while  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  around -40 kJ/mol is consistent with chemisorption reactions which basically involves charge sharing or transfer between the inhibitor cations and the valence electrons of the metal forming a co-ordinate covalent bond. The  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  values in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ranged from -49.10 kJ/mol at 0.13% VTU to 45.63 kJ/mol at 0.75% VTU while in HCl the values ranged from -49.54 to -46.04 kJ/mol at 0.13-0.75% VTU. The high negative value of  $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$  shows that in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and HCl acid medium chemisorption of VTU on the mild steel surface occurs (38, 39).

**Table 5.** Results for Gibbs free energy, surface coverage and equilibrium constant of adsorption for 0-7.5% VTU in 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Samples	Surface Coverage ( $\theta$ )	Equilibrium Constant of Adsorption (K)	Gibbs Free Energy ( $\Delta G$ )
A	0	0	0
B	0.960	7253719.8	-49.10
C	0.964	4057998.1	-47.66
D	0.970	3325012.5	-47.17
E	0.974	2886467.7	-46.81
F	0.974	2314078.6	-46.27
G	0.972	1792071.7	-45.63

**Table 6.** Results for Gibbs free energy, surface coverage and equilibrium constant of adsorption for 0-7.5% VTU in 1 M HCl.

Samples	Surface Coverage ( $\theta$ )	Equilibrium Constant of Adsorption (K)	Gibbs Free Energy ( $\Delta G$ )
A	0	0	0
B	0.966	8668940.4	-49.54
C	0.964	4115814.1	-47.69
D	0.962	2541581.7	-46.50
E	0.947	1361696.0	-44.95
F	0.975	2339102.2	-46.29
G	0.976	2107544.0	-46.04

## Potentiodynamic Polarization studies

The corrosion polarization behaviour of VTU inhibiting compound on mild steel in 1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  and HCl are shown in Figures 7 and 8. Tables 7 and 8 show the potentiodynamic data obtained. Table 6 shows the significant change in corrosion rate in the presence of VTU (0.13- 075% VTU) in comparison to the concentration without VTU. The corrosion rate decreased significantly at 0.15% VTU and continues to decrease progressively with increase in VTU concentration. The inhibition efficiency at the lowest VTU concentration (0.13% VTU) is 92.49%, the values continues to increase till 97.47% at 0.63% VTU, after which it decreased to 94.05% at 0.75% VTU. The results further confirm that VTU effectively inhibits  $\text{H}^+$  corrosion of mild steel in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  at all the concentrations studied. The corrosion current also decreased significantly. The inhibition efficiency of VTU is slightly dependent on the values of its concentration acid solution.

The same phenomenon was observed in Table 7 for the electrochemical influence of VTU in HCl, however the maximum inhibiting effect of VTU is 89.73% at 0.75% VTU. This shows that VTU molecules which protonates in the acid solutions is more effective inhibiting the diffusion of  $\text{SO}_4^{2-}$  anions compared to  $\text{Cl}^-$  anions, probably due to the small size of  $\text{Cl}^-$  ions which enables selective penetration through the protective film. The anodic and cathodic polarization plots in Figure 7 shows active-passive behavior in the presence of VTU inhibitor in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  media.

The plots displayed similar electrochemical behavior with the corrosion potential shifting majorly to anodic potentials suggesting that the mechanism of inhibition is through film formation by adsorption. This prevents the anodic dissolution and deterioration of the steel sample through surface coverage of the reaction sites. The coverage decreases the number of surface metal atoms at which corrosion reactions can occur. Anodic dissolution process of is considered to occur at specific dislocations in the metal surface, where metal atoms are less firmly held to their neighbors than in the plane surface. The anodic and cathodic Tafel slopes were moderately affected with changes in VTU concentration suggesting that the oxidation and reduction reactions were simultaneously inhibited however as earlier mentioned from corrosion potential values anodic inhibition tends to predominate.

The polarization plots in Figure 8 shows greater tendency for cathodic inhibition as observation of the corrosion potential values indicates a significant shift to negative potentials. This shows that the mechanism of inhibition in HCl is through stifling of the hydrogen evolution and oxygen reduction reactions whereby VTU cations selectively precipitates on the cathodic reaction sites increasing the surface impedance of the steel. The anodic and cathodic Tafel slopes remained generally the same at all VTU concentrations. The maximum change in corrosion potential in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  is 52 mV in the anodic direction while in HCl it is 34 mV in the cathodic direction, thus VTU is a mixed type inhibitor in both acids (40, 41).

Corrosion of metallic alloys is complex mechanism due to the presence of numerous anodic and cathodic reaction sites on the metal surface. VTU inhibitor interacts with the reaction sites retarding electrochemical corrosion reactions and preventing the diffusion of reactive corrosive species from solution through the metal solution interface. As earlier mentioned the heteroatoms of VTU mixture are the adsorption center for its interaction with the steel surface via electrostatic interaction between a negatively charged surface, through a specifically adsorbed anion (Cl<sup>-</sup>) on the steel, and the cation molecule of VTU inhibitor (42, 43). VTU mixture has nitrogen, oxygen and sulphur atoms in its molecular structure and adsorption occurs through the formation of an iron–nitrogen coordinate bond or pi electron interaction between them (44).

### Optical Microscopy Analysis

The micro-analytical images of the mild steel samples before and after corrosion are presented from Figures 9(a) to 10(d). Figures 9 (a)-(d) show the images of the steel samples before the corrosion test at magnifications of 4X, 10X, 40X and 100X. The image presents the samples as received after metallographic preparation of their surfaces. Figure 10(a-d) shows the micro-analytical image of the control specimens after the corrosion test. Topographic degradation and significant deterioration of the surface morphology of the sample is clearly visible as a result of the electrochemical action of corrosive anions present in the acid media. The anions react with the metal surface through the redox corrosion mechanism resulting in the loss of valence electrons and passage of Fe<sup>2+</sup> cations into the acid solution.

**Table 7.** Potentiodynamic polarization results for mild steel in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Sample	Inhibitor Concentration (%)	Corrosion Rate (mm/yr)	Inhibition Efficiency (%)	Corrosion Current (A)	Current Density (A/cm <sup>2</sup> )	Corrosion Potential (V)	Polarization Resistance, R <sub>p</sub> (Ω)	Cathodic Tafel Slope, B <sub>c</sub> (V/dec)	Anodic Tafel Slope, B <sub>a</sub> (V/dec)
0	0	4.35	0	5.78 x 10 <sup>-4</sup>	3.75 x 10 <sup>-4</sup>	-0.327	44.44	-7.990	13.870
1	0.13	0.33	92.49	4.34 x 10 <sup>-5</sup>	2.82 x 10 <sup>-5</sup>	-0.334	59.25	-4.273	9.532
2	0.25	0.31	92.88	4.11 x 10 <sup>-5</sup>	2.67 x 10 <sup>-5</sup>	-0.292	49.01	-3.046	8.188
3	0.38	0.24	94.53	3.16 x 10 <sup>-5</sup>	2.05 x 10 <sup>-5</sup>	-0.277	81.29	-2.588	16.220
4	0.50	0.16	96.25	2.17 x 10 <sup>-5</sup>	1.41 x 10 <sup>-5</sup>	-0.275	118.60	-3.923	18.740
5	0.63	0.11	97.47	1.46 x 10 <sup>-5</sup>	9.49 x 10 <sup>-6</sup>	-0.311	175.80	-5.737	14.540
6	0.75	0.26	94.05	3.44 x 10 <sup>-5</sup>	2.23 x 10 <sup>-5</sup>	-0.290	74.72	-4.017	17.090

**Table 8.** Potentiodynamic polarization results for mild steel in 1 M HCl.

Sample	Inhibitor Concentration (%)	Corrosion Rate (mm/yr)	Inhibition Efficiency (%)	Corrosion Current (A)	Current Density (A/cm <sup>2</sup> )	Corrosion Potential (V)	Polarization Resistance, R <sub>p</sub> (Ω)	Cathodic Tafel Slope, B <sub>c</sub> (V/dec)	Anodic Tafel Slope, B <sub>a</sub> (V/dec)
0	0	5.60	0	7.44 x 10 <sup>-4</sup>	4.83 x 10 <sup>-4</sup>	-0.324	34.55	-8.639	11.270
1	0.13	0.82	85.40	1.09 x 10 <sup>-4</sup>	7.05 x 10 <sup>-5</sup>	-0.326	236.60	-6.933	9.942
2	0.25	0.80	85.76	1.06 x 10 <sup>-4</sup>	6.88 x 10 <sup>-5</sup>	-0.358	242.50	-7.834	10.380
3	0.38	0.83	85.11	1.11 x 10 <sup>-4</sup>	7.19 x 10 <sup>-5</sup>	-0.338	223.00	-7.057	10.730
4	0.50	0.80	85.75	1.06 x 10 <sup>-4</sup>	6.88 x 10 <sup>-5</sup>	-0.334	242.40	-6.005	10.150
5	0.63	0.67	87.96	8.96 x 10 <sup>-5</sup>	5.82 x 10 <sup>-5</sup>	-0.329	286.90	-6.286	10.130
6	0.75	0.58	89.73	7.64 x 10 <sup>-5</sup>	4.96 x 10 <sup>-5</sup>	-0.343	336.20	-8.287	10.580

This was clearly observed during the exposure hours whereby there was a gradual buildup of sediments of iron compounds and significant discoloration of the acid solution. Figures 10(a-d) also shows that mild steel is unsuitable for applications in such environments as rapid deterioration occurs. The image in Figure 10 contrasts the image in Figure 9.

The presences of large voids due to severe corrosion are visible since mild steel is known to undergo general corrosion. Figures 11 (a-d) shows the images of the mild steel specimens from the acid solution with VTU inhibiting compound after the corrosion test. Based on results from weight loss and potentiodynamic polarization, the images show the surface of well-protected steel specimens. VTU molecules acting through adsorption from electrostatic attraction covers and possibly builds up on the steel surface and reacting with it through the chemisorption mechanism to effectively protect the steel from corrosion. The images in Figure 11(a and b) are generally the same but closer magnification reveals the presence of the inhibiting compound which strongly adheres to the steel surface protecting it from deterioration.

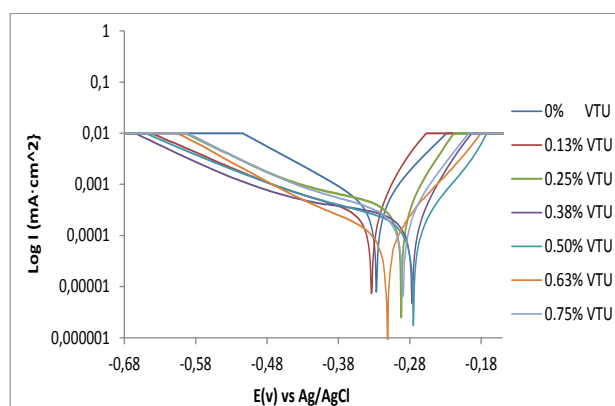


Figure 7. Anodic and cathodic polarization curve for mild steel in 1 M  $H_2SO_4$  acid.

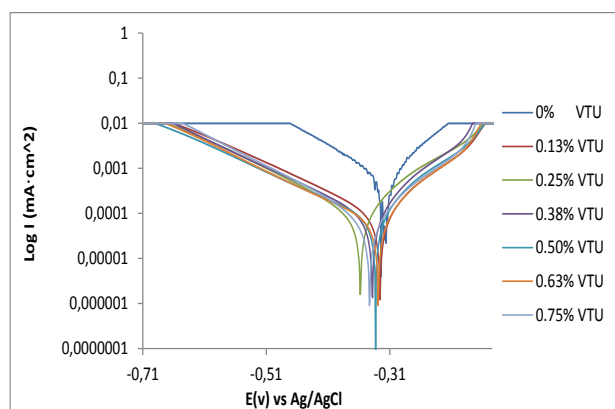


Figure 8. Anodic and cathodic polarization curve for mild steel in 1 M HCl acid.

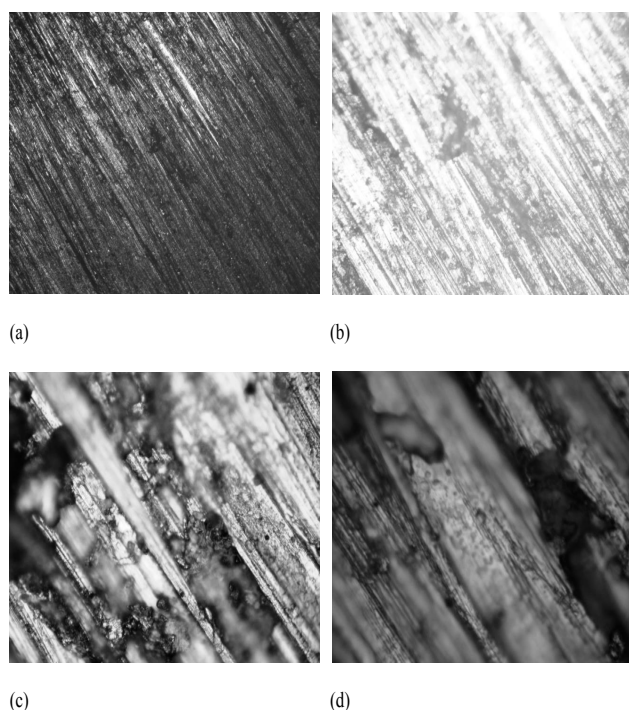


Figure 9. Microanalytical images of mild steel before corrosion (a) 4X, (b) 10X, (c) 40X, (d) 100X.

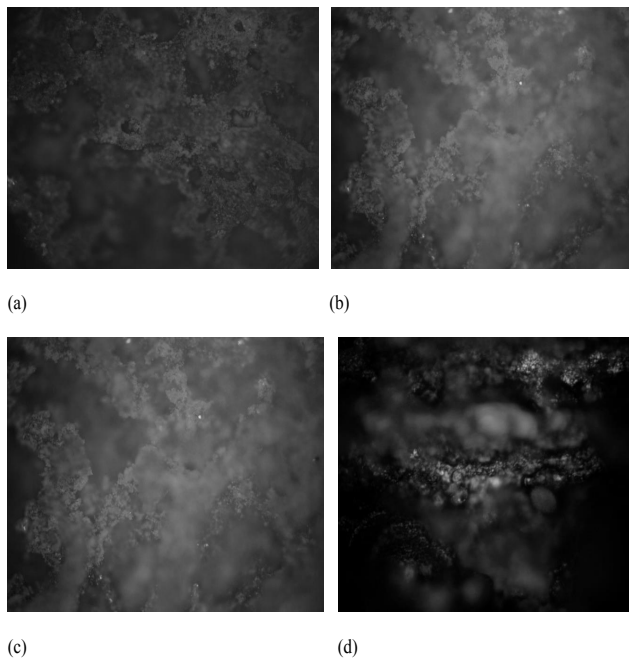
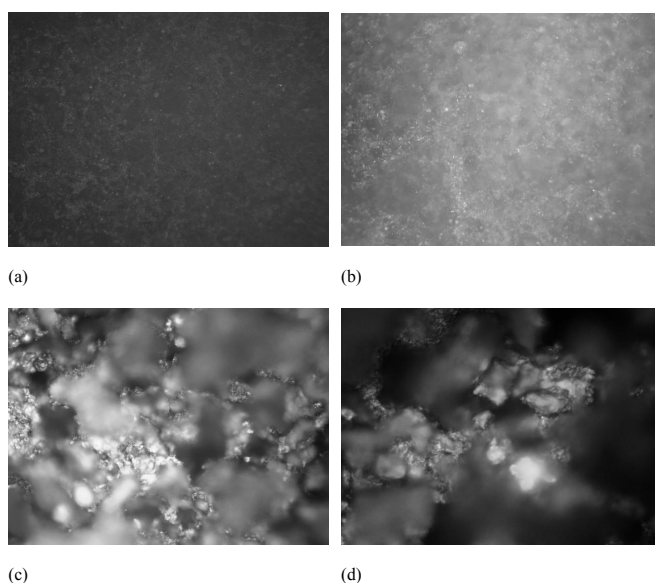


Figure 10. Microanalytical images of mild steel after corrosion without VTU mixture (a) 4X, (b) 10X, (c) 40X, (d) 100X.



**Figure 11.** Micro-analytical images of mild steel after corrosion study with VTU mixture (a) 4X, (b) 10X, (c) 40X, (d) 100X.

### IR spectroscopy

IR spectroscopy was used to study the properties and center of adsorption of VTU mixture within its molecular structure. Figures 12 (a) and (b) show the spectra peaks for VTU mixture in  $H_2SO_4$  before and after the corrosion test (without and with the mild steel sample). Figure 12(c) shows the superimposition of Figures 12(a) and (b), while Figures 13(a) and (b) show the spectra peaks for VTU mixture in HCl before and after the corrosion test (without and with the mild steel sample). Superimposition of Figures 13(a) and (b) is shown in Figure 13(c).

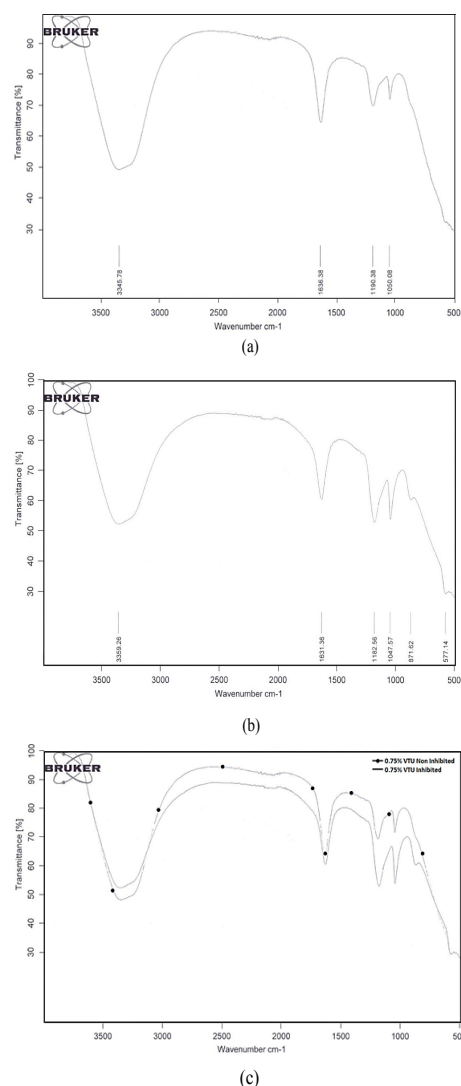
Characteristic IR absorptions are presented in Table 9. Observation and comparison of Figure 12(a) with Table 9 shows the spectra peaks at  $3345.78\text{ cm}^{-1}$  (N-H stretch bond),  $1636.38\text{ cm}^{-1}$  (N-H bend bond),  $1190.38\text{ cm}^{-1}$  (C-H wag ( $-CH_2X$ ) bond) and  $1050.08\text{ cm}^{-1}$  (C-N stretch bond). These consist of primary and secondary amines and amides, primary amines, aliphatic amines and alkyl halides functional groups. The comparison of Figure 12(b) with Table 9 shows similar functional groups with Figure 12(a) at spectra peaks of  $3359.26$ ,  $1631.36$ ,  $1182.56$ , and  $1047.57\text{ cm}^{-1}$ . Spectra peaks of  $871.62\text{ cm}^{-1}$  ( $=C-H$  bend, N-H wag and C-H "oop" bonds) consists of alkenes, primary and secondary amines, and aromatics functional groups while spectra peak of  $577.15\text{ cm}^{-1}$  (C-Cl stretch and C-Br stretch bonds) consists of alkyl halides functional groups.

Superimposition of Figures 12(a) and (b) in Figure 12(c) shows the differences between the VTU compounds involved in and not involved in the inhibition of mild steel samples in  $H_2SO_4$ . The decrease in transmittance for Figure 12(b) in comparison to Figure 12(a) shows that the functional groups earlier mentioned were actively involved in the inhibition of the steel by adsorption through chemisorption mechanism.

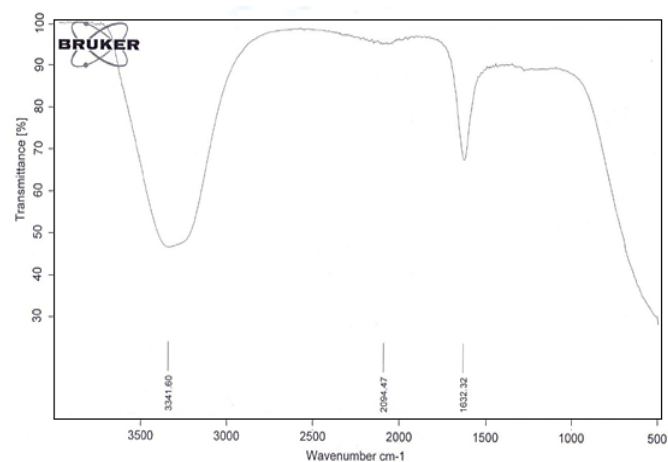
The groups are responsible for the formation of stable complex between the iron constituents and functional groups present in the VTU mixture forming covalent or coordinate bonds between the anionic components of VTU and vacant Fe d-orbital. The metal-inhibitor bond usually leads to corrosion inhibition through adsorption (45).

The corrosion retarding mechanism through stable complex formation dominates at all VTU concentrations. The corrosion retarding mechanism is due to strong adsorption resulting from the donation of lone pair of electrons on oxygen and nitrogen to vacant d-orbital of the metal which leads to the formation of metal complexes.

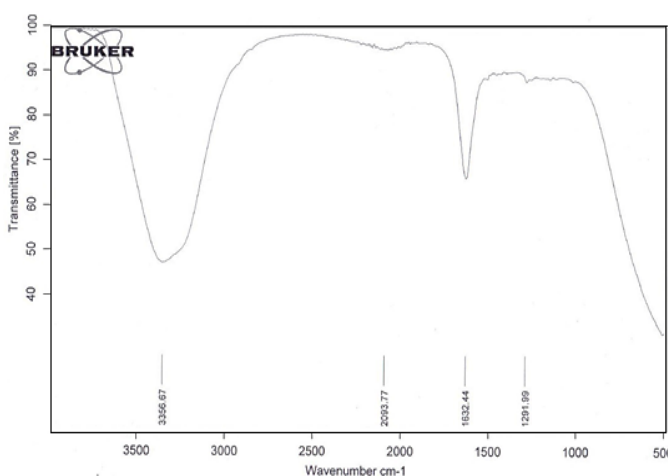
The spectra peaks of  $3341.60\text{ cm}^{-1}$  (N-H stretch, O-H stretch and H-bonded bonds),  $2094.47\text{ cm}^{-1}$  ( $-C(\text{triple bond})C-$  stretch bond),  $1632.32\text{ cm}^{-1}$  (N-H bend bond) and  $1291.99\text{ cm}^{-1}$  (N-O symmetric stretch, C-N stretch, C-O stretch and C-H wag ( $-CH_2X$ ) bonds) in Figures 13(a) and (b) consists of alcohols, phenols, primary, secondary amines and amides, alkynes and aromatics functional groups responsible for corrosion inhibition by VTU in HCl acid. However, superimposing Figures 13(a) and (b) in Figure 13(c) shows that the spectral diagrams are basically the same. It is suggested that VTU essentially inhibited the mild steel corrosion through film formation by blocking the active sites on the surface but not necessarily affecting the mechanism of the corrosion process.



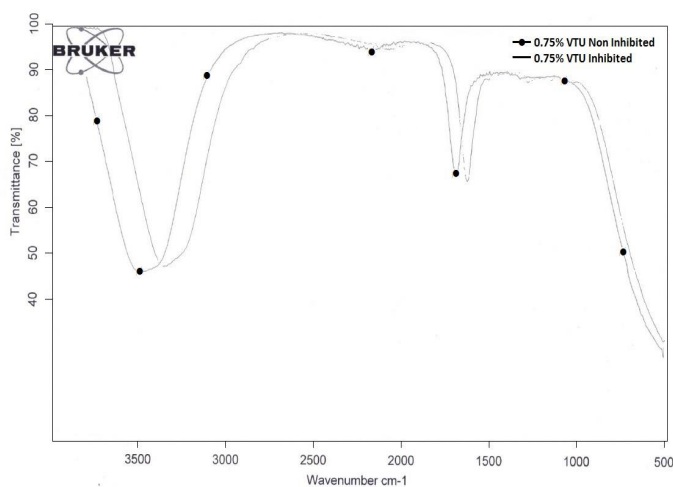
**Figure 12.** IR spectra of VTU inhibiting compound (a); VTU mixture in  $H_2SO_4$  before mild steel corrosion (b); VTU mixture in  $H_2SO_4$  after mild steel corrosion (c). Superimposition of Figures 12(a) and (b).



(a)



(b)



(c)

**Figure 13.** IR spectra of VTU inhibiting compound (a); VTU mixture in HCl before mild steel corrosion (b); VTU mixture in HCl after mild steel corrosion (c). Superimposition of Figures 12(a) and (b)

**Table 9.** Table of characteristic IR absorptions (Extracted).

Wavenumber (cm <sup>-1</sup> )	Bond	Functional Group
3400–3250 (m)	N–H stretch	primary, secondary amines, amides
3500–3200 (s,b)	O–H stretch, H–bonded	alcohols, phenols
2260–2100 (w)	–C (triple bond) C– stretch	alkynes
1650–1580 (m)	N–H bend	primary amines
1300–1150 (m)	C–H wag (–CH <sub>2</sub> X)	alkyl halides
1360–1290 (m)	N–O symmetric stretch	nitro compounds
1335–1250 (s)	C–N stretch	aromatic amines
1320–1000 (s)	C–O stretch	alcohols, carboxylic acids, esters, ethers
1300–1150 (m)	C–H wag (–CH <sub>2</sub> X)	alkyl halides
1250–1020 (m)	C–N stretch	aliphatic amines
1000–650 (s)	=C–H bend	alkenes
910–665 (s, b)	N–H wag	primary, secondary amines
900–675 (s)	C–H "oop"	aromatics
850–550 (m)	C–Cl stretch	alkyl halides

m=medium, w=weak, s=strong, n=narrow, b=broad, sh=sharp

## Conclusions

Corrosion inhibition study of VTU (1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyde) on mild steel in acidic environment was evaluated and the results showed that it is a potent inhibitor. VTU performed effectively with inhibition efficiencies above 90% at all concentrations evaluated in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HCl acid solutions. The inhibition characteristics of VTU was determined to be mixed type due to its influence on the redox electrochemical process, however it showed greater tendency for anodic inhibition in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and cathodic inhibition in HCl acid. VTU being a mixture of organic compounds with heteroatoms protonates in the acid solution, forms cationic molecules which reacts with the charged steel surface, forming in turn a chemically adsorbed protective layer as shown from thermodynamic calculations. Infrared spectra confirmed the presence of functional groups of the organic compound responsible for corrosion inhibition. The adsorption mechanism aligned with Langmuir, Frumkin and Freundlich adsorption isotherms. The corrosion inhibition results were confirmed from micro-analytical images through optical microscopy. The difference in surface topography and morphology was clearly distinct.

## Acknowledgement

The author is grateful to the Department of Mechanical Engineering, Covenant University for the provision of facilities for the research work.

## References

- Shetty, S.D.; Shetty, P.; Nayak, H.V.S. The inhibition action of N-furfuryl-N'-phenyl thiourea on the corrosion of mild steel in acid media. *J. Serb. Chem. Soc.* **2006**, *71*(10), 1073-1080. DOI: <https://doi.org/10.2298/jsc0610073s>.
- Corrosion of carbon steel. <http://www.totalmateria.com/articles/Art60.htm>. [Accessed January 9, 2017]
- Corrosion and preventative strategies in the United States. <http://www.nace.org/uploadedFiles/Publications/ccsupp.pdf>. [Accessed January 9, 2017]
- Microbiologically influenced corrosion in fire sprinkler systems, Automatic sprinkler systems handbook. [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:jkMPbYnMPaYJ:www.nfpa.org/~media/files/formsapremiums/nf13hb07\\_chs3.Pdf+&cd=6&hl=en&ct=clnk](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:jkMPbYnMPaYJ:www.nfpa.org/~media/files/formsapremiums/nf13hb07_chs3.Pdf+&cd=6&hl=en&ct=clnk). [Accessed March 10, 2016]
- Toth J. *Adsorption: Theory, modeling, and analysis*. Marcel Dekker: New York, 2002.
- Bentiss, F.; Traisnel, M.; Chaibi, N.; Mernari, B.; Vezin, H.; Lagrenee, M. 2,5-Bis(nmethoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazoles used as corrosion inhibitors in acidic media: correlation between inhibition efficiency and chemical structure. *Corros. Sci.* **2002**, *44*(10), 2271–2289. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X\(02\)00037-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X(02)00037-9).
- Punckt, C.; Bolscher, M.; Rotermund, H. H.; Mikhailov, A. S.; Organ, L.; Budiansky, N. *et al.* Sudden onset of pitting corrosion on stainless steel as a critical phenomenon. *Chem. Inform.* **2004**, *35*(44). DOI: <https://doi.org/10.1002/chin.200444018>.
- Bentiss, F.; Traisnel, M.; Vezin, H.; Hildebrand, H.F.; Lagrenee, M. 2,5-Bis(4-dimethylaminophenyl)-1,3,4-oxadiazole and 2,5-bis(4-dimethylaminophenyl)-1,3,4-thiadiazole as corrosion inhibitors for mild steel in acidic media. *Corros. Sci.* **2004**, *46*(11), 2781–2792. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2004.04.001>.
- Vosta, J.; Pelikanj, S. M. Practical aspects of corrosion, materials and corrosion. 1974; 750-756.
- Sathiyarayanan, S.; Balakrishnan, K.; Dhawan, S.K.; Trivedi, D.C. Prevention of corrosion of iron in acidic media using poly (o-methoxyl-aniline). *Electrochim. Acta.* **1994**, *39*(6), 831-837. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0013-4686\(94\)80032-4](http://dx.doi.org/10.1016/0013-4686(94)80032-4).
- Zvauya, R.; Dawson, J.L. Electrochemical reduction of carbon dioxide and the effect of the enzyme carbonic anhydrase 11 on iron corrosion. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1994**, *61*(4), 319–324. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.280610406>.
- Bouklla, M.; Benchat, N.; Hammouti, B.; Aouniti, A.; Kertit, S. Thermodynamic characterisation of steel corrosion and inhibitor adsorption of pyridazine compounds in 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. *Mats. Lett.* **2006**, *60*(15), 1901-1905. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2005.12.051>.
- Bentiss, F.; Traisnel, M.; Lagrenee, M. Influence of 2,5-bis(4-dimethylaminophenyl)-1,3,4-thiadiazole on corrosion inhibition of mild steel in acidic media. *J. of App. Elect.* **2001**, *31*(1), 41-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004141309795>.
- ASTM NACE / ASTM G31 - 12a (2012), Standard Guide for Laboratory Immersion Corrosion Testing of Metals. <http://www.astm.org/Standards/G31>. (Accessed May 5, 2016)
- Venkatesan, P.; Anand, B.; Matheswaran, P. Influence of formazan derivatives on corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid medium. *E-J. of Chem.* **2009**, *6*(1), 438-444. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2009/507383>.
- Abbasova, V.M.; Abd El-Lateefa, H.M.; Aliyevaa, L.I.; Qasimova, E.E.; Ismayilova, I.T.; Khalaf, M.M. A study of the corrosion inhibition of mild steel C1018 in CO<sub>2</sub>- saturated brine using some novel surfactants based on corn oil. *Egyptian J. of Pet.* **2013**, *22*(4), 451-470. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpe.2013.11.002>.
- Sethi, T.; Chaturvedi, A.; Mathur, R.K. Corrosion inhibitory effects of some schiff's bases on mild steel in acid media. *J. Chilean Chem. Soc.* **2007**, *3*(52), 1206-1213. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072007000300003>.
- ASTM G59 – 97(2014), Standard Test Method for Conducting Potentiodynamic Polarization Resistance Measurements. <http://www.astm.org/Standards/G31/>. (Accessed: 30.05.2016)
- ASTM G102 - 89 e1 (2015), Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements. <http://www.astm.org/Standards/G31/>, (Accessed: 30.05.2016).
- Ahmad, K. Principles of corrosion engineering and corrosion control. Butterworth- Heinemann: Oxford, UK, 2006.
- Choi, Y.; Nescic, S.; Ling, S. Effect of H<sub>2</sub>S on the CO<sub>2</sub> corrosion of carbon steel in acidic solutions. *Electrochim. Acta.* **2011**, *56*, 1752-1760. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2010.08.049>.
- Limousin, G.; Gaudet, J.P.; Charlet, L.; Szenknect, S.; Barthes, V.; Krimissa, M. Sorption isotherms: a review on physical bases, modeling and measurement. *App. Geochem.* **2007**, *22*(2), 249–275. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.09.010>.
- Allen, S.J.; McKay, G.; Porter, J.F. Adsorption isotherm models for basic dye adsorption by peat in single and binary component systems. *J. Colloid. Interf. Sci.* **2004**, *280*(2), 322-333. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2004.08.078>.
- Tosun, A.; Ergun, M. Protection of corrosion of carbon steel by inhibitors in chloride containing solutions. *Gazi University J. Sci.* **2006**, *19*(3), 149-154.
- Foad El-Sherbini, E.E.; Abdel Wahaab, S.M.; Deyab, M. Ethoxylated fatty acids as inhibitors for the corrosion of zinc in acid media. *Mats. Chem. & Phys.* **2005**, *89*(2-3), 183-191. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2003.09.055>.
- Pascale, B.; David, J. W.; Donald, A. P.; Michael, L. M. Effect of amines on the surface charge properties of iron oxides. *J. Solution Chem.* **2009**, *38*, 925–945. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10953-009-9419-y>.
- Noçka, E.; Kaçani, J.; Gaçe, Z. The study of hydrogen permeation in carbon steel and inhibitors impact. *Scientific University of Rousse.* **2008**, *47*(8), 43-48.
- James, O.O.; Ajanaku, K.O.; Ogunniran, K.O.; Ajani, O.O.; Siyanbola, T.O.; John, M.O. Adsorption behaviour of pyrazolo [3, 4-b] pyridine on corrosion of stainless steel in hcl solutions. *Trends in Applied Sci. Research*, **2011**, *6*(8), 910-917. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/tasr.2011.910.917>.
- Felicia, R.S.; Santhanalakshmi, S.; Wilson, S.J.; John, A.A.; Susai, R. Synergistic effect of succinic acid and Zn<sup>2+</sup> in controlling corrosion of carbon steel. *Bulletin of Elect.* **2004**, *20*(12), 561-565.



30. Obot, I.B.; Obi-Egbedi, N.O. Adsorption properties and inhibition of mild steel corrosion in sulphuric acid solution by ketoconazole: experimental and theoretical investigation. *Corros. Sci.* **2010**, *52*(1), 198–204. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2009.09.002>.
31. Abdel-Rehim, S.S.; Khaled, K.F.; Abd-Elshafi, N.S. Electrochemical frequency modulation as a new technique for monitoring corrosion inhibition of iron in acid media by new thiourea derivative. *Electrochim. Acta.* **2006**, *52*(16), 3269–3277. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2005.09.018>.
32. Hosseini, M.; Mertens, S.F.L.; Arshadi, M.R. Synergism and antagonism in mild steel corrosion inhibition by sodium dodecylbenzenesulphonate and hexamethylenetetramine. *Corros. Sci.* **2003**, *45*(7), 1473–1489. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X\(02\)00246-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X(02)00246-9).
33. Villamil, R.F.V.; Corio, P.; Rubim, J.C.; Agostinho, S.M.I. Effect of sodium dodecylsulfate on copper corrosion in sulfuric acid media in the absence and presence of benzotriazole. *J. Electroanalytical Chem.* **1999**, *472*(2), 112–119. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0728\(99\)00267-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0728(99)00267-3).
34. Abiola, O.K. Adsorption of 3-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidyl methyl)-4-methyl thiazolium chloride on mild steel. *Corros. Sci.* **2006**, *48*(10), 3078–3090. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2005.12.001>.
35. Bockris, J. O. M. *Modern Electrochemistry*. London: Macdonald Ltd, 1970; p. 772
36. Damaskin, B.B.; Frumkin, A.N. *Adsorption of molecules on electrodes*. Wiley-Interscience: London, 1971; p.36
37. Susuki, M. *Adsorption Engineering*. Elsevier: Amsterdam 1990; p. 52.
38. Li, X.H.; Deng, S.D.; Fu, H.; Mu, G.N. Inhibition by tween-85 of the corrosion of cold rolled steel in 1.0 M hydrochloric acid solution. *J. App. Elect.* **2009**, *39*, 1125–1135. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10800-008-9770-5>.
39. Lowmunkhong, P.; Ungthararak, D.; Sutthivaiyakit, P. Tryptamine as a corrosion inhibitor of mild steel in hydrochloric acid solution. *Corros. Sci.* **2010**, *52*(1), 30–36. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2009.08.039>.
40. Susai, R.S.; Mary, R.; Noreen, A.; Ramaraj, R. Synergistic corrosion inhibition by the sodium dodecylsulphate–Zn<sup>2+</sup> system. *Corros. Sci.* **2002**, *44*(10), 2243–2252. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X\(02\)00052-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X(02)00052-5).
41. Sahin, M.; Bilgiç, S.; Yılmaz, H. The inhibition effects of some cyclic nitrogen compounds on the corrosion of the steel in NaCl mediums. *App. Surf. Sci.* **2002**, *195*(104), 1–7. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-4332\(01\)00783-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-4332(01)00783-8).
42. Rocca, E.; Rapin, C.; Mirambet, F. Inhibition treatment of the corrosion of lead artefacts in atmospheric conditions and by acetic acid vapour: use of sodium decanoate. *Corros. Sci.* **2004**, *46*(3), 653–665. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X\(03\)00175-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-938X(03)00175-6).
43. Tebbji, K.; Oudda, H.; Hammouti, B.; Benkaddour, M.; El Kodadi, M.; Ramdani, A. Inhibition effect of two organic compounds pyridine–pyrazole type in acidic corrosion of steel. *Colloids and Surfs. A: Physicochem. Eng. Asps.* **2005**, *259*, 143–149. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.02.030>.
44. Bockris, J.O.; Swinkels, D.A.J. The relative electrocatalytic activity of noble metals in the oxidation of ethylene. *J. Elect. Soc.* **1964**, *111*(6), 728–736. DOI: <http://dx.doi.org/10.1149/1.2426221>.
45. Benali, O.; Benmehdi, H.; Hasnaoui, O.; Selles, C.; Salghi, R. Green corrosion inhibitor: inhibitive action of tannin extract of *Chamaerops humilis* plant for the corrosion of mild steel in 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. *J. Mats. & Environ. Sci.* **2013**, *4*(1), 127–138.

**Article citation:**

Loto, R. Corrosion inhibition studies of the combined admixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde on mild steel in dilute acid media. *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 20–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n1.59578>.



Anyi P. Ramírez<sup>1</sup>, Stephanie Giraldo<sup>1</sup>, Elizabeth Flórez<sup>1</sup>, Nancy Acelas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de Medellín, Carrera 87 No. 30-65,  
Medellín, Colombia

\*Autor para correspondencia: nyacelas@udem.edu.co

Recibido: 25 de Agosto de 2016. Aceptado: 6 de Diciembre de 2016.

## Preparación de carbón activado a partir de residuos de palma de aceite y su aplicación para la remoción de colorantes

### Resumen

En el presente estudio se muestra la producción de carbón activado a partir de la biomasa residual generada en la producción de palma de aceite, fibra (F) y cáscara (C). Se realizó activación química con  $ZnCl_2$  y se evaluó la capacidad de remoción de azul de metileno (AM) para diferentes concentraciones (50, 100 y 150 mg/L). Los resultados mostraron un buen desarrollo de poro por dicho método de activación, con áreas superficiales de 835,3  $m^2/g$  para la fibra activada (FA) y 575,1  $m^2/g$  para la cáscara activada (CA). Se encontró un buen ajuste de los datos experimentales al modelo cinético de pseudo segundo orden y a las isothermas de Langmuir y Freundlich con capacidades máximas de adsorción de 763,4 y 724,6 mg/g para FA y CA, respectivamente.

**Palabras clave:** biomasa, carbón activado, palma de aceite, adsorción, activación química.

## Preparation of activated carbon from palm oil wastes and their application for methylene blue removal

### Abstract

The production of activated carbon from residual biomass generated in the production of oil palm, fiber (F) and shell (C) was studied. The chemical activation was done using  $ZnCl_2$  and the adsorption capacity of methylene blue (AM) at different concentrations (50, 100, and 150 mg/L) was evaluated. Results showed a good development of pore with surface areas of 835.3  $m^2/g$  for activated fiber (FA) and 575.1  $m^2/g$  for activated shell (CA). A good fit of the experimental data with the pseudo second order kinetic model and with Langmuir and Freundlich isotherms models was found. In addition, maximum adsorption capacities of 763.4 and 724.6 mg/g for FA and CA were found, respectively.

**Keywords:** Biomass, activated carbon, palm oil, adsorption, chemical activation.

## Preparação de carvão ativado a partir da resíduos de palmeira de óleo e sua aplicação para a remoção de corantes

### Resumo

No presente estudo é mostrada a produção de carvão ativado a partir da biomassa residual gerada na produção de fibra de palmeira de óleo (F) e casca (C). A ativação química foi realizada com  $ZnCl_2$ , foi avaliada a capacidade de remoção do azul de metileno (AM) para diferentes concentrações (de 50, 100 e 150 mg/L). Os resultados mostraram um bom desenvolvimento do poro pelo método de ativação estudado para com áreas de superfície de 835,3  $m^2/g$  para a fibras activada (FA) e 575,1  $m^2/g$  para a casca activada (CA). Foi encontrado um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo da cinética de pseudo segunda ordem e a isothermas de Langmuir e Freundlich com capacidades máximas de adsorção de 763,44 e 724,6 mg/g para a FA e CA, respectivamente.

**Palavras-Chave:** biomassa, carvão ativado, palma de óleo, adsorção, ativação química.

## Introducción

La contaminación de los ríos y lagos generada por el vertimiento de colorantes provenientes de diferentes sectores industriales (textil, papel, plástico, madera y alimentos) está en continuo crecimiento. Los colorantes reducen la penetración de la luz en las corrientes de agua, generando una reducción en la capacidad de autopurificación de los ríos y lagos, lo cual produce deterioro de los ecosistemas acuáticos debido a la microtoxicidad. Por lo anterior, se han creado normas cada vez más estrictas relacionadas con la eliminación de dichos contaminantes desde aguas residuales provenientes de las industrias generadoras de dichos residuos, antes de realizar la descarga a los cuerpos de agua (1).

Lo anterior conlleva a la búsqueda de nuevos procedimientos eficientes en la remoción de colorantes en aguas residuales. En este sentido, técnicas como la adsorción, coagulación, floculación, oxidación, precipitación y filtración han sido propuestas para dicha remoción. La mayoría de estos procesos son métodos químicos que producen alta cantidad de lodos, causando problemas de disposición de residuos.

Sin embargo, dentro de las técnicas antes mencionadas, el proceso de adsorción es un método adecuado y promisorio para ser utilizado en plantas de tratamiento de aguas residuales con el fin de dar cumplimiento a las regulaciones vigentes. Este método es de fácil operación y posee buena relación entre costo y efectividad (2). Dentro de los materiales adsorbentes comúnmente usados se encuentra el carbón activado comercial, que, aunque es muy eficiente en el proceso de adsorción debido a su alta área superficial, buen volumen de poro y a los diferentes grupos funcionales superficiales activos, presenta alto costo en su producción. Esto ha motivado la búsqueda de adsorbentes alternativos que tengan una mejor relación costo-efectividad. Se ha investigado la conversión de residuos agrícolas en adsorbentes para el tratamiento de aguas residuales, dado que es ambientalmente amigable y tiene el potencial de reducir el costo de la disposición de residuos. Actualmente, se ha estudiado la producción de carbones activados usando precursores renovables y económicos, por ejemplo, subproductos agrícolas como residuos de coco (3), arroz, cáscaras de huevo (4), talas de árboles (1, 5), residuos de cosechas (6), entre otros (2, 7, 8).

Ahora bien, el aceite de palma es el aceite vegetal de mayor producción a nivel mundial (9). Del mismo modo, se ha reportado que la biomasa sólida residual generada en los molinos de aceite de palma es el doble de la cantidad de aceite producido, dicha biomasa residual incluye: troncos, frondas, fibras, conchas y racimos vacíos (9, 10). Dada la disponibilidad de esta biomasa en un solo punto durante todo el año (plantas de beneficio) y las preocupaciones económicas y ambientales relacionadas con su disposición, los usos potenciales de dicha biomasa para diferentes propósitos ha llamado cada vez más la atención. Así, la cáscara de palma de aceite ha demostrado ser un buen precursor para la producción de carbón activado (10).

Por un lado, la producción de carbón activado involucra dos etapas: la carbonización de la materia prima y la posterior activación del carbonizado en el ambiente oxidativo. La carbonización implica la descomposición térmica destinada a la eliminación de la materia volátil (MV) y la producción de carbono fijo (CF) con desarrollo de porosidad. Parámetros como el tipo de biomasa, tiempo, temperatura y tipo de activación definen la porosidad desarrollada en el material (1, 2, 7, 10).

Por otro lado, el AM es un colorante catiónico ampliamente utilizado en procesos de tinción y es frecuentemente investigado debido a su fuerte capacidad de adsorción en sólidos ya que a menudo sirve como un compuesto modelo en estudios de adsorción de contaminantes orgánicos desde soluciones acuosas (2, 6, 11).

Con el objetivo de predecir la velocidad de adsorción de AM sobre los carbones activados preparados se utilizan los modelos cinéticos de pseudo primer orden y de pseudo segundo orden.

El modelo de cinética de pseudo primer orden está basado en la ecuación [1].

$$\text{Log}(q_e - q_t) = \text{Log}(q_e - \frac{k_1}{2.303} t) \quad [1]$$

Donde  $k_1$  es la constante de velocidad de adsorción de pseudo primer orden ( $\text{min}^{-1}$ );  $q_t$  y  $q_e$  son las cantidades de AM adsorbidos en un tiempo  $t$  y en el equilibrio respectivamente,  $t$  (min). Al realizar una gráfica de  $\log(q_e - q_t)$  en función del tiempo, los valores de  $q_e$  y  $k_1$  pueden ser determinados a partir del intercepto y la pendiente, respectivamente (8). El modelo de pseudo segundo orden se describe mediante la ecuación [2].

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad [2]$$

Donde  $q_e$  y  $q_t$  es la cantidad de AM adsorbido (mg/g) en el equilibrio y en el tiempo  $t$  (min), respectivamente, y  $k_2$  es la constante de velocidad de pseudo segundo orden ( $\text{g/mg} \cdot \text{min}$ ). Basados en los datos experimentales de  $q_t$  y  $t$ , la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $q_e$ ) y la constante de velocidad de pseudo segundo orden ( $k_2$ ) pueden ser determinadas a partir de un gráfico de  $t/q_t$  Vs  $t$  usando la pendiente y el intercepto, respectivamente.

Para describir la interacción entre el contaminante y el material adsorbente y cuantificar la capacidad de adsorción en el equilibrio de los carbones pueden usarse los modelos de isotermas de Langmuir y Freundlich. El modelo de Langmuir tiene varias suposiciones, entre las que están: (i) una molécula de adsorbente ocupa un solo sitio de adsorción sobre una superficie homogénea; (ii) cuando todos los sitios de adsorción están ocupados el adsorbente se satura (con una capacidad de max) y no habrá más adsorción, donde el adsorbato forma una superficie de espesor de una sola molécula (mono-capa); (iii) la energía de adsorción no depende de las interacciones entre moléculas adyacentes de adsorbato, es decir no hay interacción entre ellas (12). La Ecuación [3] se usa ampliamente para describir este modelo.

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_m K_L} + \frac{C_e}{Q_m} \quad [3]$$

Donde  $C_e$  y  $Q_e$  representan la concentración de AM en el equilibrio (mg/L) y la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g), respectivamente.  $Q_m$  indica la capacidad máxima de adsorbato (mg/g) adsorbido en el equilibrio cuando el adsorbente está saturado y la constante  $K_L$  es proporcional a la energía de adsorción (L/g). Al graficar  $C_e/Q_e$  vs  $C_e$ , se obtienen líneas rectas, de donde  $K_L$  y  $Q_{max}$  se pueden calcular usando el intercepto y la pendiente, respectivamente.

En el modelo de Langmuir por medio del factor de separación adimensional también se puede decir si el proceso de adsorción es favorable, lineal, desfavorable o irreversible. El factor de separación adimensional ( $R_L$ ) se calcula según la Ecuación [4] (13).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_i} \quad [4]$$

Donde  $R_L$  es el factor de separación adimensional,  $K_L$  es la constante de Langmuir y  $C_i$  es la concentración inicial de AM.

Para sistemas heterogéneos es común usar el modelo de Freundlich, el cual maneja los siguientes supuestos: (i) la energía de adsorción disminuye logarítmicamente con el incremento lineal del número de sitios ocupados, y (ii) no existe límite para la cantidad de adsorbato que pueda unirse a la superficie del adsorbente (12). La forma lineal de la ecuación de Freundlich se da como se muestra en la Ecuación [5].

$$\log Q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad [5]$$

Donde  $K_F$  es la constante de disociación de Freundlich, la cual presenta altos valores cuando el adsorbato tiene mayor afinidad hacia los sitios de adsorción o enlace y la constante  $n$  es proporcional a la intensidad de reacción.  $K_F$  y  $n$  se pueden determinar a partir del intercepto y pendiente de la relación lineal de  $\log Q_e$  Vs  $\log C_e$ , respectivamente.

En el presente estudio se produjeron carbones activados a partir de residuos generados en la producción de palma de aceite mediante activación química. Se evaluó su habilidad de remover AM y se caracterizaron mediante diferentes técnicas de análisis.

## Materiales y métodos

### Preparación y caracterización de los materiales

Para obtener carbón activado se usaron dos tipos de residuos, F y C procedentes de la producción de palma de aceite. Para la activación química, se utilizó la relación, biomasa:  $ZnCl_2$  de 1:2 (g:mL) y se dejó en agitación durante 24 horas.

La relación de impregnación fue escogida dado que ha sido reportado que el incremento del agente activante lleva a obtener carbones activados con alta área superficial (14-17). Transcurrido este tiempo, se calcinaron las dos biomásas en una mufla a 550 °C durante 30 min con una velocidad de calentamiento de 20 °C/min; se lavaron con 50 mL de HCl 37% (p/p) manteniéndolas en agitación a 30 °C durante tres horas.

Las muestras se pasaron por un filtro (fibra de vidrio Advantec GC 50, Vernon Hills, USA.) y se lavaron con agua destilada, repitiendo el proceso hasta obtener un pH entre 6 y 7. Finalmente se secaron en una estufa a 105 °C durante 1 h. Se obtuvieron dos carbones activados: FA y CA. Para efectos de comparación se sometieron las dos biomásas solo al proceso de calcinación a 550 °C durante 30 minutos y se denominaron fibra calcinada (FC) y cáscara calcinada (CC).

El análisis próximo (TGA Q500, TA Instruments, New Castle, USA), análisis elemental (CHN/CHNS/O TrueSpec® Micro, LECO, Michigan, USA) y la humedad presente en cada una de las biomásas utilizadas determinada por TGA se presentan en la Tabla 1. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los carbones activados fueron caracterizados en su área superficial (ASAP 2020, Micrometrics, Georgia, USA.), siguiendo el método BET (Brunauer, Emmett y Teller) (14), mediante la adsorción de nitrógeno el cual es un procedimiento estándar para la determinación de la porosidad de adsorbentes. La morfología se determinó mediante escanografía de barrido electrónico, SEM-EDS (Philips XL 30 SFEG, Tustin, California, USA).

### Pruebas de adsorción

Para los experimentos de adsorción se usaron soluciones sintéticas de AM (la estructura química del AM se muestra en la Figura 1) a concentraciones de 50, 100 y 150 mg/L; las pruebas se realizaron en un montaje tipo Batch a 200 rpm. Mediante el estudio cinético se pudo determinar el tiempo óptimo de contacto y mediante el estudio de equilibrio se determinó la capacidad de adsorción de los materiales en cada solución. Con el fin de determinar la concentración final de AM se realizó una curva de calibración y se obtuvo la ecuación de la recta (Ecuación [6]) con un  $R^2$  de 0.9999. La absorbancia para determinar la concentración se midió en el espectrofotómetro VIS-DR 3900 (Hach, Loveland, Colorado, USA) a una longitud de onda de 665 nm.

Tabla 1. Propiedades de la biomasa.

Biomasa	Contenido de humedad (%)	Análisis próximo (Wt %) <sup>a</sup>			Análisis elemental (Wt %) <sup>a</sup>				
		MV	CF	Cenizas	N	C	H	O <sup>b</sup>	S
F	6,75	77,39	18,70	3,98	0,21	45,90	5,90	47,96	0,03
C	5,74	72,87	20,98	7,30	0,86	47,94	6,54	44,66	0,00
Área superficial (m <sup>2</sup> /g)									
FC		CC			FA		CA		
14,7		296,7			835,3		575,1		

F: fibra; C: cáscara; MV: material volátil; CF: carbono fijo; N: nitrógeno; C: carbono; H: hidrógeno; O: oxígeno; S: azufre; FC: fibra calcinada; CC: cáscara calcinada; FA: fibra activada; CA: cáscara activada.  
<sup>a</sup> En base seca. <sup>b</sup> Por diferencia (O% = 100% - C% - N% - H%) Todos los valores reportados corresponden a promedios de análisis realizados por triplicado.

$$x = \frac{y + 0.5242}{0.5205} \quad [6]$$

Donde  $y$  es la absorbancia y  $x$  es la concentración de AM (mg/L).

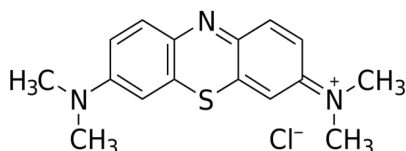


Figura 1. Estructura química del azul de metileno.

### Experimentos de cinética

Para la determinación del tiempo óptimo de contacto se adicionaron 0,02 g de carbón activado a un erlenmeyer con 50 mL de las diferentes soluciones de AM. La mezcla se agitó y se tomaron muestras a 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 y 180 min y se midió la absorbancia de cada muestra.

Con los experimentos de cinética de adsorción se puede predecir la velocidad a la que un contaminante es removido desde soluciones acuosas y proporcionar datos que faciliten la comprensión del mecanismo de adsorción (12). En el presente estudio, se utilizaron los modelos cinéticos de pseudo primer orden y de pseudo segundo orden. La adecuación entre valores predichos por los modelos y los datos experimentales se estimó a partir del coeficiente de correlación,  $R^2$ .

Para analizar la velocidad de adsorción de AM dentro del material adsorbente y la cantidad adsorbida a un tiempo determinado ( $t$ ) se debe calcular el balance de masa entre la concentración inicial y la concentración en el tiempo  $t$  de acuerdo a la ecuación [7].

$$q_t = \frac{C_i - C_t}{w} \times V \quad [7]$$

Donde  $q_t$  es la capacidad de adsorción del adsorbente (mg/g),  $C_i$  y  $C_t$  son las concentraciones iniciales y en el tiempo  $t$  de AM en la solución (mg/L),  $V$  es el volumen de la solución (L) y  $w$  es la masa del adsorbente (g). Mediante este proceso también es posible determinar el tiempo óptimo de contacto (12).

### Experimentos de equilibrio

Para los experimentos de equilibrio se adicionaron cantidades entre 0,02 y 0,1 g de adsorbente en un erlenmeyer y 50 mL de las diferentes soluciones de AM. Después de 2 h de agitación (tiempo óptimo de contacto) se tomaron las muestras y se midió la absorbancia a 665 nm.

Con estos experimentos se puede describir cómo se da la interacción entre el contaminante y el material adsorbente, y son importantes para optimizar el uso de dichos adsorbentes. Por medio de modelos de isothermas de Langmuir y Freundlich, se cuantificó la capacidad de adsorción en el equilibrio de los carbones activados y se describió el proceso de adsorción.

## Resultados y discusión

### Caracterización de los materiales

El análisis próximo (Tabla 1) involucra la determinación de humedad, MV, CF y cenizas presentes en la biomasa. Puede observarse que tanto la fibra como la cáscara poseen alto contenido de MV, contenido medio de CF y bajo contenido de cenizas (materia mineral). Con estos análisis es posible decir que en el proceso de calcinación se perdió alrededor de un 75% en masa debido a la eliminación del MV, quedando el carbono listo para ser activado. Estos resultados están dentro del rango de valores reportados en la literatura para residuos de palma, lo que indica que este material puede ser usado para la fabricación de carbón activado (10, 18).

Para observar la morfología de los dos tipos de biomasa residual tanto calcinadas como activadas (FC, FA, CC y CA) se realizó el análisis SEM, el cual se presenta en la Figura 2. En las micrografías pueden observarse cambios significativos en la morfología de las biomásas estudiadas. Las imágenes para las biomásas calcinadas, FC y CC, muestran un bajo desarrollo de porosidad, lo que está de acuerdo con los valores determinados de áreas superficiales (14,7 m<sup>2</sup>/g para la FC y 296,7 m<sup>2</sup>/g para la CC); esta porosidad es generada por la liberación de los compuestos volátiles durante el proceso de calcinación (19). Las micrografías para las biomásas activadas (FA y CA) con ZnCl<sub>2</sub>, muestran una superficie discontinua causada por la acción de deshidratación del agente activante (7, 20, 21), que conlleva al buen desarrollo de porosidad y por lo tanto al incremento del área superficial, con valores de 835,3 m<sup>2</sup>/g y 575,1 m<sup>2</sup>/g para la FA y CA, respectivamente.

Lo anterior indica que el proceso de activación es más eficiente para la FA dado que el área superficial es 57 veces mayor con respecto a la FC, mientras que para la cáscara el proceso de activación sólo incrementa al doble el área superficial. Este parámetro es uno de los más importantes a tener en cuenta en los carbones activados dado que es ampliamente conocido que, a mayor área superficial del sólido poroso, mayores serán los sitios disponibles para el proceso de adsorción, lo cual implica mayor capacidad de adsorción (22).

### Selección del adsorbente

Una serie de experimentos fueron desarrollados con el objetivo de evaluar el potencial adsorbente de los dos tipos de biomasa, F y C sin ningún tratamiento previo, con calcinación FC y CC y con el posterior proceso de activación, FA y CA.

La Figura 3 muestra las capacidades de adsorción para las diferentes muestras trabajadas. Puede observarse que las diversas modificaciones realizadas a la biomasa original generan un impacto positivo en la capacidad de adsorción. Al comparar las dos biomásas calcinadas (FC y CC) con las biomásas activadas (FA y CA) se puede encontrar un incremento en la capacidad de remoción del 46 y 56% para la fibra y la cáscara, respectivamente. Esta tendencia puede explicarse por el incremento del área superficial (Tabla 1) en los materiales activados y por la posible existencia de grupos funcionales superficiales que mejoran dicho rendimiento. Con las consideraciones antes mencionadas, se seleccionaron la FA y la CA como adsorbentes para realizar el estudio.

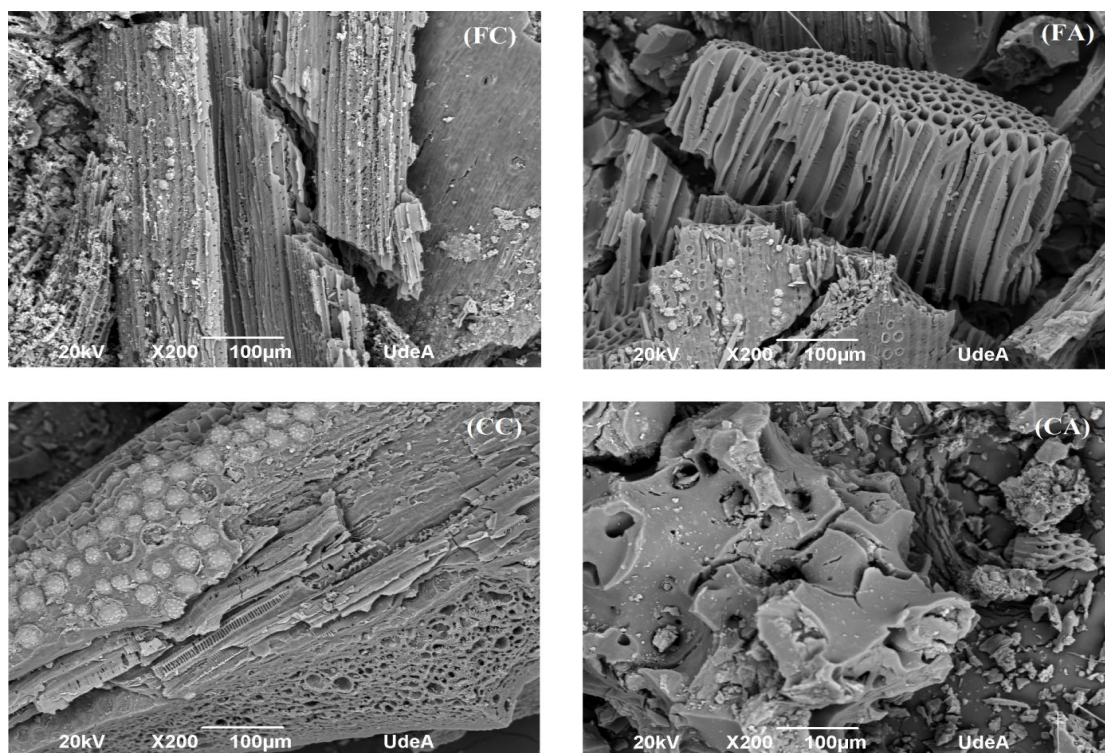


Figura 2. Micrografía SEM de los materiales calcinados y activados. FC: fibra calcinada; FA: fibra activada; CC: cáscara calcinada; CA: cáscara activada.

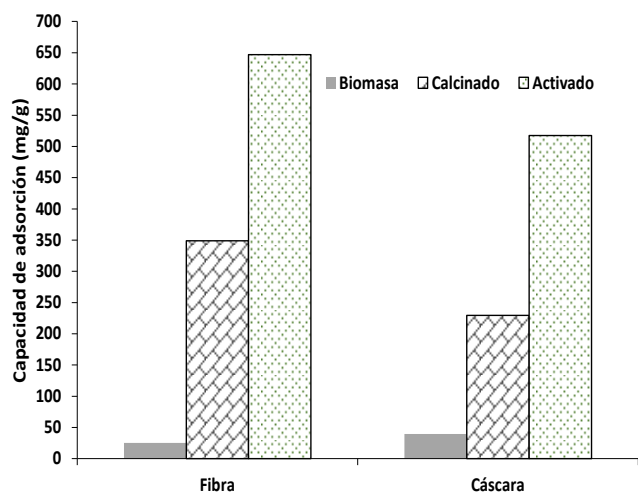


Figura 3. Capacidades de adsorción para la biomasa, biomasa calcinada y carbones activados.

Las diferencias entre la capacidad de adsorción y el área desarrollada puede estar directamente relacionada con la composición química de cada biomasa, si bien las dos biomásas proceden de los residuos de la palma de aceite, cada uno de ellas presenta diferentes características químicas. En la Tabla 1 puede observarse que la mayor diferencia en composición para las dos biomásas se encuentra en los porcentajes de cenizas y material volátil. El material que obtuvo mayor capacidad de adsorción fue la fibra (646,75 mg/g) (Figura 3), que a su vez presenta mayor área superficial (835 m<sup>2</sup>/g).

El mayor desarrollo de área superficial puede estar directamente relacionado con la mayor cantidad de material volátil que presenta este tipo de biomasa (Tabla 1), el cual puede generar mayor cantidad de poros durante el proceso de evolución desde el carbonizado (19). La mayor área superficial desarrollada por la fibra implica una mayor capacidad de adsorción del AM. Con lo anterior podría concluirse que el contenido de cenizas no presenta un efecto sinérgico en este proceso de adsorción dado que la cantidad de cenizas para la cáscara es 1,83 veces mayor que la encontrada para la fibra.

### Efecto del tiempo de contacto y la concentración inicial en el proceso de adsorción

La Figura 4 describe el efecto del tiempo de contacto y de la concentración inicial de AM en el proceso de adsorción sobre los carbones activados producidos, FA y CA. Tres concentraciones iniciales, 50, 100 y 150 mg/L fueron seleccionadas para una dosis constante de adsorbente de 0,02 g a 28 °C. Los resultados muestran que en un inicio hay adsorción rápida, seguida de una disminución hasta alcanzar el equilibrio.

Esto puede explicarse porque inicialmente hay alta disponibilidad de sitios activos utilizables a etapas tempranas del proceso de adsorción. Con la evolución del proceso, la competencia entre partículas de AM con los grupos funcionales superficiales del material adsorbente retarda el proceso de adsorción (22). La capacidad de adsorción en el equilibrio incrementa desde 671,1 mg/g hasta 884,5 mg/g para el FA cuando la concentración inicial de AM incrementa de 50 a 150 mg/L, mientras que para el CA ocurre lo contrario, la capacidad de adsorción en el equilibrio disminuye desde 403,5 mg/g hasta 335,5 mg/g.

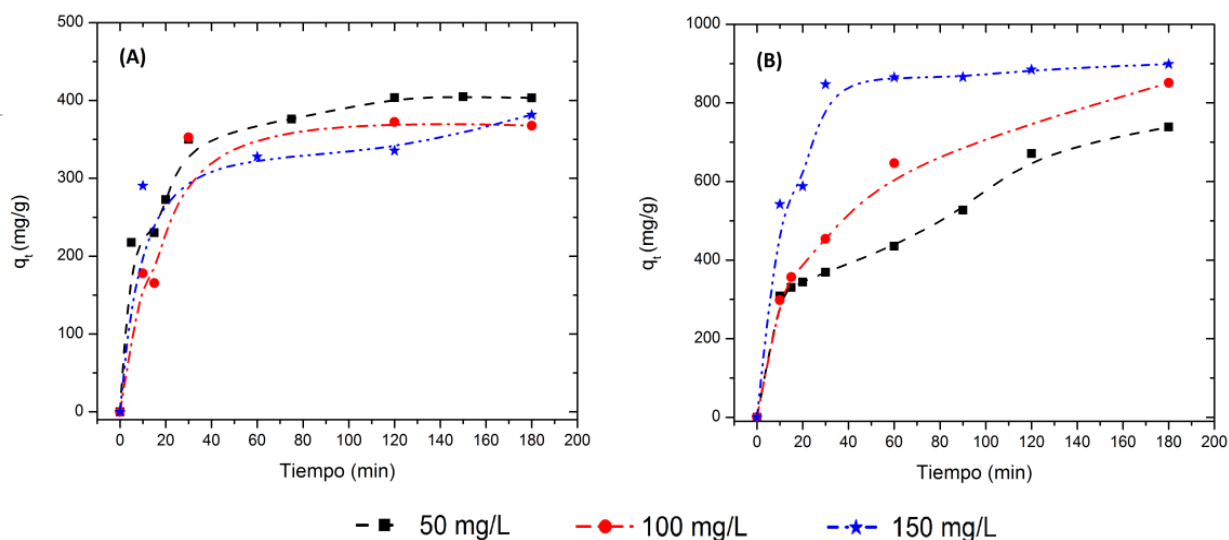


Figura 4. Efecto del tiempo de contacto y la concentración inicial de AM en el proceso de adsorción de AM usando A: CA y B: FA. CA: cáscara activada y FA: fibra activada.

La transferencia de masa incrementa con la concentración, resultando en alta adsorción de AM. Esta tendencia puede deberse a que la CA se satura rápidamente a bajas concentraciones, lo que conlleva a que no haya una evidencia en el efecto del incremento de la concentración inicial en la capacidad de adsorción. Estos dos resultados dan indicio de la diferencia en la estructura de poro que presentan los dos materiales. El caso contrario se observó en el porcentaje de remoción, a medida que la concentración inicial incrementa de 50 a 150 mg/L, el porcentaje de remoción disminuye de 58% a 25% y de 36% a 10% para FA y CA, respectivamente. Con todo lo anterior, es posible determinar que la adsorción de AM sobre el carbón activado producido está fuertemente influenciado por la concentración inicial.

### Experimentos de cinética

Los estudios cinéticos son de gran valor, porque a través de ellos es posible obtener información relacionada con la velocidad límite del proceso de adsorción y sobre los diferentes estados de transición que pueden llevar a la formación del complejo final adsorbato-adsorbente (23). La Tabla 2 muestra los parámetros cinéticos de los modelos pseudo primer orden y pseudo segundo orden. Para los dos carbones activados producidos se observó una cinética rápida de adsorción en los primeros 30 min y para garantizar un buen tiempo de equilibrio se tomó 2 h como el tiempo óptimo de contacto.

Con los datos obtenidos, puede destacarse que el modelo de pseudo primer orden no es apropiado para describir los datos experimentales. Esto se puede verificar por los valores bajos de  $R^2$  (0,79 - 0,97) y por los valores altos de  $\Delta q_e$  (Ecuación [8]).

$$\Delta q_e = |q_{e\text{exp}} - q_{e\text{cal}}| \quad [8]$$

Para el modelo de pseudo segundo orden, pueden observarse coeficientes de correlación cercanos a la unidad ( $R^2 > 0,93$ ), y diferencias más pequeñas ( $\Delta q_e$  Ecuación [8]) que las encontradas en el modelo de pseudo primer orden para todas las concentraciones trabajadas con los dos carbones activados producidos. Estos resultados indican que hay un ajuste satisfactorio de todos los datos experimentales. Esto sugiere que la quimisorción del AM sobre el carbón activado es la etapa que determina el proceso de adsorción (24, 25). El modelo pseudo segundo orden puede interpretarse como un tipo especial de modelo cinético de Langmuir, suponiendo que la concentración del adsorbato es constante en relación al tiempo y a la cantidad de sitios de enlace sobre la superficie que dependen de la cantidad de adsorbato adsorbido en el equilibrio (7).

Resultados similares han sido reportados en la literatura para la remoción de AM usando carbones activados producidos desde diferentes tipos de biomásas (3, 7, 8).

Tabla 2. Parámetros de los modelos cinéticos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden en la adsorción de AM a diferentes concentraciones.

Material	$C_i$ AM (mg/L)	$q_e$ exp. (mg/g)	Pseudo-primer orden			Pseudo-segundo orden		
			$q_e$ (mg/g)	$k_l$ ( $\text{min}^{-1}$ ) x $10^{-3}$	$R^2$	$q_e$ (mg/g)	$k_l$ ( $\text{min}^{-1}$ ) x $10^{-3}$	$R^2$
FA	50	671,1	407,9	-38,00	0,79	769,2	0,57	0,94
	100	1090,3	773,9	6,70	0,96	1010,1	0,46	0,93
	150	884,5	700,0	-65,40	0,87	925,9	2,12	1,00
CA	50	403,5	562,6	-25,30	0,97	420,2	3,56	1,00
	100	372,3	321,1	-56,00	0,87	398,4	6,70	0,96
	150	335,5	209,3	-97,20	0,83	411,5	2,02	0,96

FA: fibra activada; CA: cáscara activada;  $C_i$  AM: concentración inicial de azul de metileno;  $q_e$ : capacidad de adsorción en el equilibrio; exp.: experimental;  $k_l$ : constante de velocidad de adsorción;  $R^2$ : coeficiente de correlación de Pearson.

## Experimentos de equilibrio

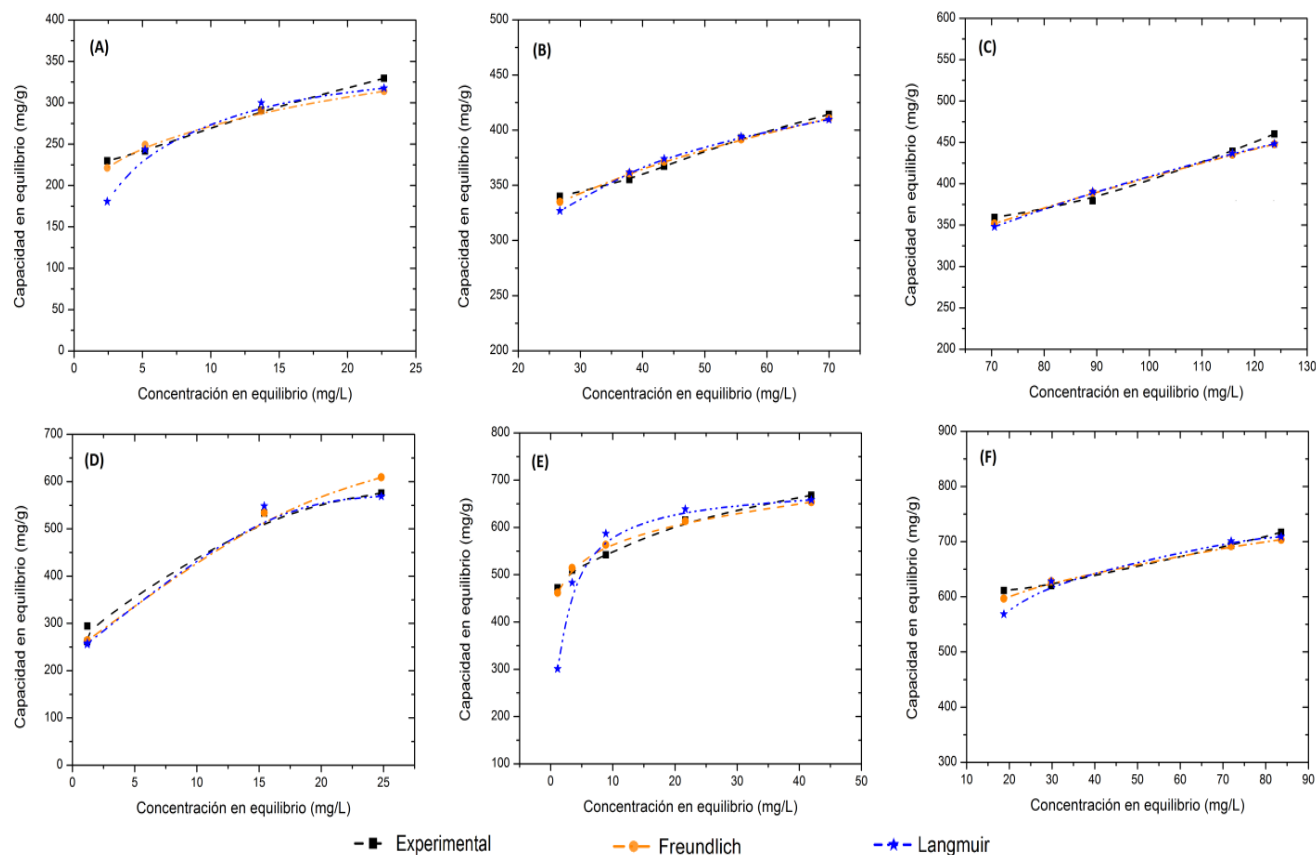
Las isotermas de adsorción son herramientas útiles para predecir cómo las moléculas del adsorbato están distribuidas sobre la interface sólido-líquido cuando se alcanza el equilibrio químico dando información importante acerca de la capacidad de adsorción del material. Las isotermas de adsorción del AM sobre los carbones activados y los respectivos ajustes para los modelos de Langmuir y Freundlich se muestran en la Figura 5. Los parámetros para cada modelo se indican en la Tabla 3. De acuerdo a esta, la capacidad máxima de adsorción ( $q_m$ ) es de 763,4 y 724,6 mg/g para la FA y la CA, respectivamente, en una solución de 150 mg/L. La capacidad máxima incrementó con el aumento de la concentración inicial de AM. Los altos valores de  $R^2$  para el modelo de Langmuir muestran que este modelo ajusta de manera satisfactoria los datos experimentales. El modelo de Langmuir considera que la adsorción ocurre sobre una superficie con sitios homogéneos de energía que están disponibles para la interacción. Sin embargo, esto es solamente válido hasta completar la monocapa.

El factor de separación adimensional de las isotermas de Langmuir ( $R_L$ ) es un parámetro importante que indica si el proceso de adsorción es favorable ( $0 < R_L < 1$ ), lineal ( $R_L = 1$ ), desfavorable ( $R_L > 1$ ) o irreversible ( $R_L = 0$ ) (26). Los valores de  $R_L$  a 50 mg/L y 150 mg/L como concentración inicial de AM están en el rango de 0,01 a 0,04 y de 0,04 a 0,34 para FA y CA, respectivamente. Lo anterior indica que el proceso de adsorción es favorable para el rango de concentraciones trabajadas usando los dos tipos de adsorbentes producidos.

El modelo de Freundlich toma en cuenta el postulado que dice que en el proceso de adsorción ocurre adsorción en multicapas sobre una superficie heterogénea. En la Tabla 3 pueden observarse buenos coeficientes de linealidad ( $R^2 > 0.90$ ), lo cual indica que el modelo describe de manera satisfactoria los datos experimentales. Los parámetros  $n$  y  $\frac{1}{n}$  dan información importante sobre la interacción del sistema AM-carbón activado. El es definido como el factor de heterogeneidad  $e$  indica cuando el proceso de adsorción es lineal ( $n = 1$ ), físico ( $n > 1$ ) o químico ( $n < 1$ ) (27). Los valores determinados para los dos carbones activados muestran valores de  $n > 1$  dando cuenta de procesos de fisisorción.

## Comparación con otros adsorbentes

En la Tabla 4 se comparan las capacidades máximas de adsorción de los carbones activados obtenidos en este estudio con las de otros carbones activados que están reportados en la literatura (19, 20, 25) y que se obtuvieron con el mismo agente activante ( $ZnCl_2$ ). Adicionalmente, se presenta la comparación de carbones activados obtenidos de residuos de palma de aceite preparados por diferentes métodos de activación (28-30). Se puede ver que la FA y la CA, materiales obtenidos en éste estudio, tienen capacidades superiores, lo cual sugiere que poseen un gran potencial para aplicarlos como adsorbentes en la remoción de colorantes desde soluciones acuosas.



**Figura 5.** Isotermas de los modelos de Freundlich en la adsorción de AM a diferentes concentraciones comparando carbones activados. Paneles superiores isotermas con CA donde A: 50 mg/L; B: 100 mg/L y C: 150 mg/L; paneles inferiores isotermas con FA donde D: 50 mg/L; E: 100 mg/L y F: 150 mg/L. CA: cáscara activada y FA: fibra activada.



**Tabla 3.** Parámetros de las isotermas de Langmuir y Freundlich en la adsorción de AM comparando carbones activados.

Material	FA			CA		
Ci AM (mg/L)	50	100	150	50	100	150
Langmuir						
$q_m$ (mg/g)	606,06	680,27	763,36	349,65	485,44	724,64
$K_L$ (L/g)	0,618	0,71	0,156	0,44	0,077	0,013
$R_L$	0,03	0,01	0,04	0,04	0,11	0,34
$R^2$	0,999	0,998	0,998	0,985	0,995	0,939
Freundlich						
$K_F$ (mg/g)	25,08	45,77	43,24	19,26	16,73	5,67
$n$ (g/L)	3,62	10,47	9,1	6,39	4,73	2,33
$R^2$	0,943	0,966	0,894	0,902	0,973	0,929

FA: fibra activada; CA: cáscara activada; Ci AM: concentración inicial de azul de metileno;  $q_m$ : capacidad máxima de adsorción;  $K_L$ : constante de Langmuir;  $R_L$ : factor de separación adimensional;  $R^2$ : coeficiente de correlación de Pearson;  $K_F$ : constante de disociación de Freundlich;  $n$ : constante.

**Tabla 4.** Comparación de capacidades máximas de adsorción de AM de diferentes adsorbentes activados química y físicamente.

Material precursor	$Q_m$ (mg/g)	Método de activación		Referencia
		Químico	físico	
FA	763,4	ZnCl <sub>2</sub>		Ene ste estudio
CA	724,6	ZnCl <sub>2</sub>		
Residuos de papa	540,0	ZnCl <sub>2</sub>		(19)
Huesos de dátil	398,2	ZnCl <sub>2</sub>		(20)
Cáscaras de avellanas	476,2	ZnCl <sub>2</sub>		(25)
Cáscara de palma	243,9	KOH	CO <sub>2</sub>	(28)
Fibra de palma	312,5		Microondas	(29)
Madera de palma	90,9		CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub> O	(30)

FA: fibra activada; CA: cáscara activada;  $Q_m$ : capacidad máxima de adsorción.

## Conclusiones

Los carbones activados producidos por activación química con ZnCl<sub>2</sub> a partir de los residuos de la palma de aceite, fibra (mesocarpio) y cáscara (endocarpio) exhiben áreas superficiales de 835,30 y 575,13 m<sup>2</sup>/g, respectivamente, lo que indica que pueden ser usados como adsorbentes de AM. Los estudios cinéticos y de equilibrio para la adsorción de AM se llevaron a cabo a diferentes concentraciones iniciales y los datos experimentales se ajustaron a los modelos matemáticos. El modelo de pseudo segundo presentó el mejor ajuste, lo que sugiere que la quimisorción del AM sobre los carbones activados es la etapa que determina el proceso de adsorción.

El modelo de Langmuir es adecuado para describir la adsorción de AM en los carbones activados producidos en este trabajo, mostrando una capacidad máxima de adsorción  $q_m$  de 763,4 y 724,6 mg/g para FA y CA, respectivamente. Por todo lo anterior, los resultados mostrados en este estudio permiten concluir que los residuos de palma (fibra y cáscara) son precursores potenciales para la producción de carbón activado para la adsorción de contaminantes orgánicos, tal como el AM.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Medellín y a Cenipalma por la cofinanciación del proyecto.

## Referencias

- Duman, G.; Onal, Y.; Okutoku, C.; Onenc, S.; Yanik, J. Production of activated carbon from pine cone and evaluation of its physical, chemical, and adsorption properties. *Energy Fuels* **2009**, *23* (4), 2197-2204. DOI: <https://doi.org/10.1021/ef800510m>.
- Pirsaheb, M.; Rezaei, Z.; Mansouri, A.M.; Rastegar, A.; Alahabadi, A.; Sani, R. et al. Preparation of the activated carbon from India shrub wood and their application for methylene blue removal: modeling and optimization. *Desalin. Water Treat.* **2016**, *57* (13), 5888-5902. DOI: <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1008581>.
- Isah A., U.; Abdulraheem, G.; Bala, S.; Muhammad, S.; Abdullahi, M. Kinetics, equilibrium and thermodynamics studies of C.I. Reactive Blue 19 dye adsorption on coconut shell based activated carbon. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2015**, *102*, 265-273, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.006>.
- Ahmad, M.; Rajapaksha, A. U.; Lim, J. E.; Zhang, M.; Bolan, N.; Mohan, D.; et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. *Chemosphere* **2014**, *99*, 19-33, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071>.
- Hameed, B. H.; Ahmad, A. L.; Latiff, K. N. A. Adsorption of basic dye (methylene blue) onto activated carbon prepared from rattan sawdust. *Dyes Pigments* **2007**, *75* (1), 143-149, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2006.05.039>.

6. Ekrami, E.; Dadashian, F.; Arami, M. Adsorption of methylene blue by waste cotton activated carbon: equilibrium, kinetics, and thermodynamic studies. *Desalin. Water Treat.* **2016**, *57* (15), 7098-7108, DOI: 10.1080/19443994.2015.1015173.
7. Pezoti Jr., O.; Cazetta, A. L.; Souza, I. P. A. F.; Bedin, K. C.; Martins, A. C.; Silva, T. L.; et al. Adsorption studies of methylene blue onto ZnCl<sub>2</sub>-activated carbon produced from buriti shells (*Mauritia flexuosa* L.). *J. Agr. Eng. Res.* **2014**, *20* (6), 4401-4407, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2014.02.007>.
8. Aboua, K. N.; Yobouet, Y. A.; Yao, K. B.; Goné, D. L.; Trokourey, A. Investigation of dye adsorption onto activated carbon from the shells of Macoré fruit. *J. Environ. Manage.* **2015**, *156*, 10-14, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.006>.
9. Garcia-Nunez, J. A.; Rodriguez, D. T.; Fontanilla, C. A.; Ramirez, N. E.; Silva Lora, E. E.; Frear, C. S.; et al. Evaluation of alternatives for the evolution of palm oil mills into biorefineries. *Biomass Bioenergy* **2016**, *95*, 310-329, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.05.020>.
10. Hamza, U. D.; Nasri, N. S.; Amin, N. S.; Mohammed, J.; Zain, H. M. Characteristics of oil palm shell biochar and activated carbon prepared at different carbonization times. *Desalin. Water Treat.* **2016**, *57* (17), 7999-8006, DOI: 10.1080/19443994.2015.1042068.
11. Bedin, K. C.; Martins, A. C.; Cazetta, A. L.; Pezoti, O.; Almeida, V. C. KOH-activated carbon prepared from sucrose spherical carbon: Adsorption equilibrium, kinetic and thermodynamic studies for Methylene Blue removal. *Chem. Eng. J.* **2016**, *286*, 476-484, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.099>.
12. Acelas Soto, N.Y. Remoción y recuperación de fósforo a partir de los residuos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales. Tesis, Universidad de Antioquia, Medellín, 2013.
13. Tze, M.W.; Aroua, M.K.; Szlachta, M. Palm Shell-based Activated Carbon for Removing Reactive Black 5 Dye: Equilibrium and Kinetics Studies. *Bio Resources* **2015**, *11* (1), 1432-1447. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.11.1.1432-1447>
14. Gañán-Gómez, J.; Macías-García, A.; Díaz-Díez, M. A.; González-García, C.; Sabio-Rey, E. Preparation and characterization of activated carbons from impregnation pitch by ZnCl<sub>2</sub>. *Appl. Surf. Sci.* **2006**, *252* (17), 5976-5979, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2005.11.011>.
15. Caturla, F.; Molina, F.; Molina - Sabio, M.; Rodríguez - Reinoso, F.; Esteban, A. Electroless plating of graphite with copper and nickel. *J. Electrochem. Soc.* **1995**, *142* (12), 4084-4090, DOI: 10.1149/1.2048468
16. Lua, A. C.; Yang, T. Characteristics of activated carbon prepared from pistachio-nut shell by zinc chloride activation under nitrogen and vacuum conditions. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *290* (2), 505-513, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2005.04.063>.
17. Arami-Niya, A.; Daud, W. M. A. W.; Mjalli, F. S. Using granular activated carbon prepared from oil palm shell by ZnCl<sub>2</sub> and physical activation for methane adsorption. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2010**, *89* (2), 197-203, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2010.08.006>.
18. Mohammed, M. A. A.; Salmiaton, A.; Wan Azlina, W. A. K. G.; Mohamad Amran, M. S. Gasification of oil palm empty fruit bunches: A characterization and kinetic study. *Bioresour. Technol.* **2012**, *110*, 628-636, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.056>.
19. Zhang, Z.; Luo, X.; Liu, Y.; Zhou, P.; Ma, G.; Lei, Z.; et al. A low cost and highly efficient adsorbent (activated carbon) prepared from waste potato residue. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2015**, *49*, 206-211, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2014.11.024>.
20. Ahmed, M. J.; Dhedan, S. K. Equilibrium isotherms and kinetics modeling of methylene blue adsorption on agricultural wastes-based activated carbons. *Fluid Phase Equilib.* **2012**, *317*, 9-14, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fluid.2011.12.026>.
21. Luna, D.; González, A.; Gordon, M.; Martín, N. Obtención de carbón activado a partir de la cáscara de coco. *ContactoS* **2007**, *64*, 39-48. [http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n64ne/carbon\\_v2.pdf](http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n64ne/carbon_v2.pdf)
22. Islam, M. A.; Benhouria, A.; Asif, M.; Hameed, B. H. Methylene blue adsorption on factory-rejected tea activated carbon prepared by conjunction of hydrothermal carbonization and sodium hydroxide activation processes. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2015**, *52*, 57-64, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.010>.
23. Sen Gupta, S.; Bhattacharyya, K. G. Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials: A review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, *162* (1-2), 39-58, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2010.12.004>.
24. Acelas, N. Y.; Martin, B. D.; López, D.; Jefferson, B. Selective removal of phosphate from wastewater using hydrated metal oxides dispersed within anionic exchange media. *Chemosphere* **2015**, *119* (0), 1353-1360, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.024>.
25. Karaçetin, G.; Sivrikaya, S.; Imamoğlu, M. Adsorption of methylene blue from aqueous solutions by activated carbon prepared from hazelnut husk using zinc chloride. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2014**, *110*, 270-276, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2014.09.006>.
26. Mahapatra, K.; Ramteke, D. S.; Paliwal, L. J. Production of activated carbon from sludge of food processing industry under controlled pyrolysis and its application for methylene blue removal. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2012**, *95*, 79-86, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2012.01.009>.
27. Vargas, A. M. M.; Cazetta, A. L.; Martins, A. C.; Moraes, J. C. G.; Garcia, E. E.; Gauze, G. F.; et al. Kinetic and equilibrium studies: Adsorption of food dyes Acid Yellow 6, Acid Yellow 23, and Acid Red 18 on activated carbon from flamboyant pods. *Chem. Eng. J.* **2012**, *181-182*, 243-250, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.11.073>.

**Article citation:**

Ramírez, A. P.; Giraldo, S.; Flórez, E.; Acelas, N. Preparación de carbón activado a partir de residuos de palma de aceite y su aplicación para la remoción de colorantes. *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 33-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n1.62851>.



Virginia E. Noval<sup>1</sup>, Cristian Ochoa Puentes<sup>2</sup>, José G. Carriazo<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Estado Sólido y Catálisis Ambiental (ESCA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia.

<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Macromoléculas, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia.

\*Autor para correspondencia: jcarriazog@unal.edu.co

Recibido: 20 de Junio de 2016. Aceptado: 27 de Septiembre de 2016.

## Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea

### Resumen

Se describió la intervención del mineral magnetita como catalizador o como soporte catalítico, un material inorgánico con una estructura de espinela inversa (FeFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), en el desarrollo de un número importante de reacciones químicas de interés científico, tecnológico y ambiental. Debido a la necesidad actual de generar procesos químicos eficientes y favorables ambientalmente, la magnetita se ha convertido en un material promisorio en los contextos de la química verde, la química fina y la catálisis heterogénea. Este óxido de hierro se ha estudiado en diversas reacciones: catalizador másico, soporte catalítico de metales y de óxidos metálicos, núcleo de catalizadores tipo core-shell, o modificado mediante el anclaje de organocatalizadores y complejos metálicos. Se discute el desempeño catalítico de estos sistemas basados en magnetita, en reacciones de catálisis asimétrica, ambiental, ácido-base, de óxido-reducción, de síntesis multicomponente y de acoplamiento C-C. Particularmente, dichos catalizadores han mostrado enorme importancia en ciertas reacciones de tipo Sonogashira, Sonogashira-Hagihara, Mannich, Ullman, Knoevenagel, Suzuki-Miyaura y Fenton heterogénea, entre otras. Finalmente, se detallaron algunos usos tecnológicos de la magnetita en el contexto nacional (Colombia) y se intentó localizar geográficamente los depósitos importantes.

**Palabras clave:** magnetita, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, catálisis, química verde, síntesis orgánica.

## Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): An inorganic structure with many applications for heterogeneous catalysis

### Abstract

This manuscript contains a review on the mediation of magnetite, an inorganic material with an inverse spinel structure (FeFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), being used as either catalyst or catalytic support in many chemical reactions of scientific, technological and environmental interest. Because of current awareness on the efficient and environmentally friendly chemical processes, magnetite has become as a promising material in contexts such as green chemistry, fine chemistry, and heterogeneous catalysis. This iron oxide has been used in several reactions as bulk catalyst, catalytic support of either metals or metal oxides, core in catalysts type core-shell, or as solid modified by grafting with organocatalysts and metal complexes. The catalytic performance of these systems has been described in some chemical processes such as: asymmetric catalysis, environmental catalysis, acid-base catalysis, redox reactions, multicomponent synthesis reactions, and those of C-C coupling. Particularly, these catalysts have shown large importance in a variety of reactions: Sonogashira, Sonogashira-Hagihara, Mannich, Ullman, Knoevenagel, Suzuki-Miyaura, and the Fenton heterogeneous reaction, among others. Finally, some technological uses of magnetite in the national context (Colombia) are detailed, and localizing geographically the most important deposits of this mineral in the Colombian region was intended.

**Keywords:** magnetite, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, catalysis, green chemistry, organic synthesis.

## Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Uma estrutura inorgânica com múltiplas aplicações em catálise heterogénea

### Resumo

Foi descrita uma intervenção do mineral magnetita, um material inorgânico com estrutura de espinela inversa (FeFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), como catalizador ou como suporte catalítico no desenvolvimento de um número importante de reações químicas de interesse científico, tecnológico e ambiental. Debido à necessidade atual de gerar processos químicos eficientes e favoráveis ambientalmente, a magnetita surge como um material promissório nos contextos da química verde, da química fina e da catálise heterogénea. Este óxido de ferro é objeto de estudo em diversas reações: catalizador mássico, suporte catalítico de metais e de óxidos metálicos, núcleo de catalizadores tipo core-shell, ou modificado mediante o ancoragem de organocatalizadores e complexos metálicos. É descrito o desempenho catalítico deste tipo de sistemas em algumas reações de catálise assimétrica, ambiental, ácido-base, de óxido-redução, de síntese multicomponente y de acoplamiento C-C. Particularmente, ditos catalizadores tem mostrado enorme importância em certas reações do tipo Sonogashira, Sonogashira-Hagihara, Mannich, Ullman, Knoevenagel, Suzuki-Miyaura e a reação Fenton heterogénea, entre outras. Finalmente, são detalhados alguns usos tecnológicos da magnetita no contexto nacional (Colômbia) e realiza-se um esforço por localizar geograficamente os depósitos mais importantes do mineral no território colombiano.

**Palavras-Chave:** magnetita, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, catálise, química verde, síntese orgánica.

## Introducción

Recientemente la catálisis heterogénea se ha convertido en una herramienta estratégica tecnológica debido a sus ventajas relacionadas con los procesos de producción, competitividad y economía. Esta catálisis se aplica en diversas transformaciones químicas a nivel industrial, por ejemplo en la refinería de petróleo, en la síntesis de productos de química fina y farmacéuticos y en diversas síntesis orgánicas. En dichos procesos se minimiza el impacto ambiental, pues frecuentemente el uso de disolventes orgánicos inflamables y de reactivos tóxicos es menor. Así mismo, se reducen las condiciones drásticas de reacción y se simplifican las separaciones complejas mediante la generación de productos con mayor selectividad; además permite la fácil separación de los catalizadores de los sistemas de reacción y posibilita su reutilización (1).

Muchos de estos procesos de catálisis heterogénea han integrado el uso de catalizadores con partículas de tamaño nanométrico, por lo que en los últimos años un gran número de investigaciones se ha enfocado en la síntesis de nanopartículas férricas o ferrosas. Así, diversas formas de óxidos de hierro como FeO (wustita),  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (hematita) y  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (maghemita) se han empleado exitosamente en catálisis (2-4). Sin embargo, las nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetita) han tomado mayor importancia en sus posibles aplicaciones gracias a que exhiben buena actividad catalítica, además de la posibilidad de ser modificadas mediante anclaje de ciertas especies químicas y a sus propiedades ferrimagnéticas que facilitan su separación de los medios de reacción mediante la aplicación de campos magnéticos de intensidad apropiada.

La magnetita se puede preparar fácilmente, sin embargo, también existen yacimientos a nivel mundial de los cuales puede ser obtenida y posteriormente purificada. Este óxido de hierro tiene una superficie suficientemente reactiva para inmovilizar metales, ligantes orgánicos, enzimas y otros tipos de moléculas que le confieren funcionalidades específicas. Generalmente se considera inerte en medios biológicos, lo que hace apropiado su uso en métodos de imagen y de separación en tejidos vivos (5). En este sentido, en el campo de la medicina y de la biotecnología, las nanopartículas de magnetita son útiles en la detección de hipertermia y en el transporte selectivo y liberación de fármacos, fenómenos con futuras aplicaciones en terapias contra el cáncer (6), en el mejoramiento y contraste de las imágenes por resonancia magnética para efectos de diagnóstico médico (7, 8), en la caracterización de fluidos magnéticos inteligentes (9), en la reparación de tejidos y en la separación celular (10).

La magnetita también se utiliza como soporte versátil de un gran número de catalizadores funcionalizados, empleados en la catálisis de una gran variedad de reacciones orgánicas e inorgánicas. En general, diversos óxidos nanoestructurados basados en magnetita son buenos dispositivos para la manufactura de materiales magnéticos, películas de protección sensibles y pigmentos, así como para el tratamiento y eliminación de residuos y agentes contaminantes del agua (11).

De esta manera, se considera de gran importancia destacar los trabajos científicos actuales más relevantes que involucran el uso de este mineral en el diseño de catalizadores heterogéneos. En el presente trabajo se realizó una revisión actualizada de las aplicaciones potenciales de la magnetita en la preparación de diversos sistemas catalíticos en estado sólido, utilizados en síntesis orgánica.

Con ello se pretende consolidar cierta información fundamental que contribuya a avanzar en el diseño de nuevos materiales magnéticos, basados en Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, con propiedades catalíticas y de fácil separación. De igual manera, se describen otras aplicaciones de la magnetita como soporte funcional involucrado en procesos biotecnológicos e industriales. La caracterización de las micropartículas o nanopartículas sintetizadas en los estudios mencionados no se discute en esta revisión. Finalmente, se hace una descripción de los yacimientos de este mineral en Colombia y la importancia de su explotación para usos potenciales en procesos de catálisis heterogénea.

## Estructura y propiedades de la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)

Mineralógicamente la magnetita es una mena corriente de hierro, se halla diseminada como mineral accesorio en muchas rocas ígneas, en ocasiones formando grandes masas de mineral que generalmente son muy titaníferas y aparece asociada a rocas metamórficas cristalinas. También se encuentra en las arenas negras de las playas de mar, como hojas finas y como dendritas entre hojas de mica; es constituyente común de las formaciones férricas del precámbrico con origen químico sedimentario, principalmente en la región del Lago Superior. Estas formaciones contienen un 25% de hierro en forma de magnetita y constituyen hoy la fuente principal de hierro en los Estados Unidos de América (12). Los mayores depósitos del mundo se encuentran al norte de Suecia y otros depósitos importantes en Noruega, Rumania, Rusia, Siberia y África del sur (12).

Químicamente la magnetita, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (o también FeFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), es un óxido mixto de hierro; su composición corresponde a 27,6% de oxígeno y 72,4% de hierro. Cristaliza en un sistema cúbico centrado en las caras (FCC de oxígenos,  $a = 8,40 \text{ \AA}$ ) con estructura de espinela inversa, como se ilustra en la Figura 1. Su relación estequiométrica de cationes puede expresarse en la forma Fe<sup>3+</sup>(Fe<sup>2+</sup>.Fe<sup>3+</sup>)O<sub>4</sub>, con un grupo espacial *Fd3m* (1, 6). En su celda unitaria de 56 átomos, 32 son de oxígeno y 24 son cationes de hierro, de los cuales 16 están en forma férrica (Fe<sup>3+</sup>) y 8 en forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>). Los átomos de oxígeno forman una celda unitaria cúbica centrada en las caras y los cationes de hierro están alojados en los espacios intersticiales; las posiciones tetraédricas corresponden específicamente a cationes Fe<sup>3+</sup> y en las posiciones octaédricas se alojan cationes Fe<sup>3+</sup> y Fe<sup>2+</sup> por igual (6, 13).

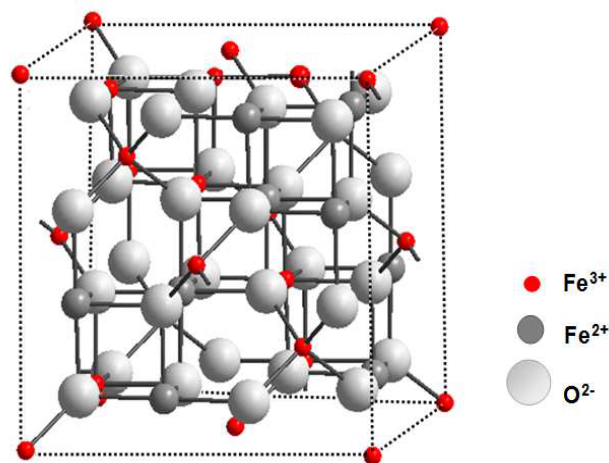


Figura 1. Estructura de espinela inversa de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

La mezcla de ambas posiciones (capas octaédricas y octaédricas/tetraédricas) a lo largo de la dirección [111] genera superposición de planos (111), los cuales se consideran más estables (con menor energía de superficie) en las estructuras FCC (14, 15). Una velocidad de crecimiento mayor en la dirección [100] con respecto a la velocidad de crecimiento del cristal en la dirección [111] ocasiona cristales de magnetita preferiblemente octaédricos (6). Los octaedros regulares presentan estructuras energéticamente favorables desde el punto de vista cristalográfico (energías de red cristalina más bajas), razón por la cual los cristales de magnetita se encuentran con mayor frecuencia en esta forma (16, 17). Sin embargo, de manera sintética es posible ejercer control sobre el crecimiento del cristal en direcciones preferenciales y con ello la obtención de partículas con diferentes morfologías (6, 14). En la Tabla 1 se describen algunas características generales para la magnetita natural.

**Tabla 1.** Características generales de la magnetita natural (12).

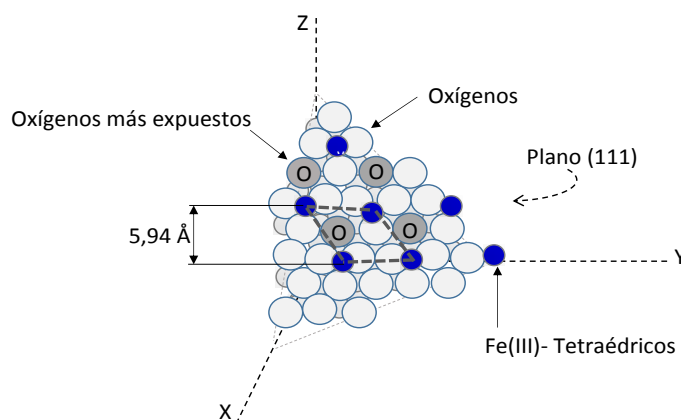
Fórmula química	$\text{FeFe}_2\text{O}_4$ ( $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_4$ ), $\text{Fe}_3\text{O}_4$
Clase	Óxido
Grupo	Espinela
Etimología	El nombre probablemente se deriva de la localidad de Magnesia, en Macedonia
Sistema y clase	Isométrico $4/m\bar{3}2/m$
Tipo de celda unitaria	Cúbica (espinela inversa)
Grupo espacial	$Fd\bar{3}m$ , $a = 8,40 \text{ \AA}$ ; $Z = 8$
Posiciones en difracción de rayos X (DRX)	Valores de espaciado interplanar $d$ ( $\text{Å}$ ): 2,96 – 2,53 – 1,61 – 1,48 – 1,09
Color	Negro
Brillo	Metálico
Densidad	$5,2 \text{ g/cm}^3$
Óptica	Opaco, de color gris e isótropo
Magnetismo	Ferrimagnética
Forma de presentarse en la naturaleza	Frecuentemente en cristales octaédricos, raramente en dodecaédricos. Masivo o diseminado en agregados, gránulos compactos, también en arenas sueltas magnéticas

En la estructura de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , las dos posiciones cristalinas (tetraédricas y octaédricas) forman la base para dos subredes cúbicas intercaladas con contribuciones de momentos magnéticos desiguales y antiparalelos (18). Esto da lugar al comportamiento ferrimagnético a temperaturas menores que la temperatura Curie ( $T = 585 \text{ °C}$ ): los momentos magnéticos de los espines de todos los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  se anulan entre sí y no contribuyen a la magnetización del sólido, en comparación con los cationes  $\text{Fe}^{2+}$  que sí tienen sus momentos magnéticos alineados en la misma dirección y su momento total es responsable de la magnetización neta de este tipo de material. Por encima de la temperatura Curie el óxido muestra un comportamiento paramagnético (19).

A temperaturas superiores a  $T_V \approx 120 \text{ K}$  (temperatura de Verwey) los electrones en los sitios octaédricos de la magnetita se encuentran térmicamente deslocalizados entre los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  (fenómeno conocido como *electron hopping*) (18, 20). Lo anterior ocasiona la mayor conductividad eléctrica y térmica en comparación con otros óxidos de características similares. Debido a este hecho la magnetita es la única ferrita que presenta comportamiento semimetálico (18).

Por otro lado, las propiedades magnéticas de este tipo de ferrita dependen fuertemente del tamaño de partícula. Cuando las partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se reducen a escala nanométrica, sus propiedades magnéticas decaen: la magnetización de saturación ( $M_s$ ), la remanencia magnética ( $B_r$ ) y la fuerza coercitiva ( $H_c$ ) disminuyen drásticamente y, en consecuencia, las nanopartículas exhiben un comportamiento denominado superparamagnético (21). Dicho comportamiento se produce cuando la energía térmica de estas partículas puede superar ciertas fuerzas de unión, ocasionando que los momentos magnéticos atómicos fluctúen al azar. Así, las partículas superparamagnéticas adquieren cierta magnetización cuando se aplica un campo magnético externo pero, debido a su energía térmica, dicha magnetización se pierde cuando éste último es retirado (22, 23).

Finalmente, a nivel de la superficie, los sitios activos de la magnetita son tanto los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$  como los átomos de oxígeno (aniones  $\text{O}^{2-}$ ) y su nivel de exposición depende de los planos mostrados preferencialmente por el cristal. Por ejemplo, para los planos (111), frecuentemente muy estables para esta estructura (Figura 2), los cationes  $\text{Fe}^{3+}$  que se comportan como ácidos de Lewis (24) se exponen en una monocapa formando celdas  $2 \times 2$  de  $5,94 \text{ Å}$  (25). De igual manera, los átomos de oxígeno que no están totalmente coordinados actúan como bases de Brønsted (24). Por tanto, ambos sitios activos (átomos de hierro y de oxígeno) se encuentran en la superficie accesible a los sustratos, lo que confiere a la magnetita características potenciales como catalizador y como soporte catalítico magnético (24, 25).



**Figura 2.** Sitios activos expuestos en el plano (111) de la superficie de la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), de acuerdo a la información de Rim *et al.* (25).

## Importancia de la magnetita en catálisis heterogénea

A pesar de sus ventajas, muchos sistemas catalíticos homogéneos no se comercializan debido a la dificultad para separar el catalizador del producto final de reacción (26). El uso de sistemas catalíticos heterogéneos es una estrategia adecuada que supera los problemas de separación, debido al empleo de materiales en fase diferente (típicamente sólidos) a la correspondiente de los reactivos y productos de la reacción. Sin embargo, muchas veces la separación del catalizador sólido se dificulta como consecuencia del tamaño de partícula, generalmente de escala nanométrica, haciendo ineficiente los procesos de filtración e incluso de centrifugación.

En dicha situación es deseable contar con sólidos cuyas propiedades magnéticas faciliten su separación. En este sentido, la magnetita es usada con frecuencia en catálisis heterogénea por sus características: comportamiento ferrimagnético o superparamagnético (cuando las partículas son nanométricas) (27), fácil preparación, posibilidad de funcionalización de su superficie, estabilidad durante las reacciones y baja toxicidad, entre otras.

El efecto del tamaño de partícula es un factor determinante en los procesos catalíticos. Las nanopartículas (1-100 nm) exhiben propiedades substancialmente diferentes de las que presenta el material en forma másica con macropartículas (1). Generalmente, la actividad catalítica de la magnetita se incrementa con el empleo de nanopartículas, ya que éstas presentan mayor cantidad de sitios activos accesibles en comparación con las partículas más grandes, debido a la cantidad de átomos expuestos en la superficie del material. En una nanopartícula de 13 átomos se calcula que el 92% de éstos son átomos en la superficie, mientras que en una nanopartícula de 55 átomos sólo el 76% son átomos de la superficie, en una de 147 el 63%, en una de 309 el 52% y en una de 1415 el 35% (27). Esto favorece la funcionalización de la superficie de la magnetita con metales o ligandos apropiados con actividad catalítica específica.

## Algunas generalidades sobre la caracterización de las partículas de magnetita

La caracterización de estas partículas magnéticas implica el análisis de un número amplio de parámetros químicos y físicos, como la morfología, la estructura, el tamaño, las características químicas de la superficie y la presencia de impurezas (1, 27). Dentro de las técnicas empleadas para dicha caracterización se contemplan la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la microscopía electrónica de barrido (SEM) para la determinación de morfología y tamaño; la dispersión dinámica de la luz (DLS) para la determinación de tamaño y distribución; microscopía de fuerza atómica (AFM) para el análisis de las características de la superficie a escala molecular; difracción de rayos X (DRX) para la identificación de estructuras cristalinas; fluorescencia de rayos X (FRX) para la determinación de la composición elemental; espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) para determinar la naturaleza y estado de oxidación de los átomos de la superficie del material.

Adicionalmente, las isothermas de adsorción-desorción, donde se especifica la cantidad de gas adsorbido por unidad de masa del sólido a diferentes presiones, permiten determinar el área superficial y el tamaño de poros de estos materiales. Para la identificación de grupos funcionales presentes en la superficie del sólido y para la valoración de su acidez (Brønsted y Lewis) se emplea la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). El cambio en los ambientes estructurales de los cationes de hierro de la magnetita, debido a modificaciones en el material, se evalúa frecuentemente por espectroscopía Mössbauer. El análisis de las propiedades magnéticas de las partículas de magnetita se desarrolla mediante curvas de magnetización-desmagnetización, a partir de las cuales se logra la determinación de parámetros como coercitividad, magnetización de saturación y magnetización remanente cuando se le somete a campos magnéticos.

En este sentido, el interés de muchas investigaciones a lo largo de los últimos años se ha centrado en la síntesis (y caracterización) de nanopartículas de magnetita y su acción directa como catalizadores, o como soporte magnético en la preparación de éstos, sobre lo cual se han encontrado múltiples aplicaciones en síntesis y transformaciones orgánicas (28, 29).

## Aplicaciones en catálisis

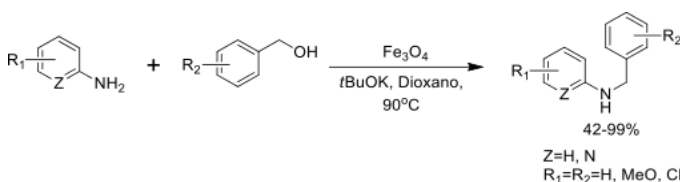
La catálisis heterogénea está ganando, cada vez, más importancia en los procesos de producción de química fina y química farmacéutica debido a sus ventajas técnicas (30) deseables en química verde, entre las que se destacan: fácil separación de los catalizadores de los medios de reacción (favorecida cuando los materiales poseen comportamiento magnético) (27, 31, 32); reutilización de los mismos en varios ensayos sin pérdida considerable de la actividad catalítica; condiciones de reacción frecuentemente suaves o moderadas; alta selectividad y buenos rendimientos de reacción en tiempos cortos.

El uso de catalizadores heterogéneos en muchas reacciones de síntesis orgánica conlleva frecuentemente a obtener mejores rendimientos en tiempos muy cortos, a aumentar la selectividad (por ejemplo, enantioselectividad, diastereoselectividad, quimioselectividad y regioselectividad) hacia subproductos deseados, permitiendo que los posibles procesos industriales tengan menor impacto ambiental.

A continuación, se aborda la descripción de algunos estudios de síntesis orgánica en los cuales se ha utilizado magnetita, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, como catalizador o como soporte catalítico para la inmovilización de metales o ligandos de diferente naturaleza.

### Magnetita como catalizador en síntesis orgánica

La magnetita puede aportar sitios activos directamente, sin modificaciones ni funcionalización de su superficie, siendo catalizador de ciertas reacciones orgánicas gracias a sus propiedades óxido-reductoras. Por ejemplo, la Figura 3 ilustra la n-alquilación de aminas aromáticas usando alcoholes como electrófilos mediante un proceso de autotransferencia de hidrógeno (1, 33), pudiéndose reutilizar el catalizador hasta en 10 ensayos (34).



**Figura 3.** Alquilación de aminas a través de autotransferencia de hidrógeno, catalizada por Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

La magnetita puede aportar sitios activos directamente, sin modificaciones ni funcionalización de su superficie, siendo catalizador de ciertas reacciones orgánicas gracias a sus propiedades óxido-reductoras. Por ejemplo, la Figura 3 ilustra la n-alquilación de aminas aromáticas usando alcoholes como electrófilos mediante un proceso de autotransferencia de hidrógeno (1, 33), pudiéndose reutilizar el catalizador hasta en 10 ensayos (34).

De igual forma, las nanopartículas de magnetita se usan predominantemente en reacciones multicomponentes debido a su carácter como ácido de Lewis. La síntesis de heterociclos tipo 2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-onas (35) es un ejemplo de dichas reacciones catalizadas por  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (Figura 4). Los ensayos de reacción se llevan a cabo con diferentes sustituyentes de aminas y aldehídos, variando la cantidad de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (se encontró que la mínima cantidad requerida corresponde a 15% molar). En todos los casos se obtuvieron elevados rendimientos de reacción (51 a 88%).

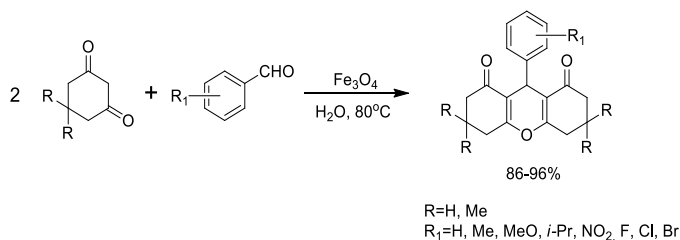


Figura 5. Síntesis de 1,8-dioxo-octahidrooxanteno catalizada por nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Otra aplicación de interés es la reacción de Sonogashira–Hagihara (Figura 6), que puede ser catalizada con  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , lo que posibilita el acoplamiento entre alquinos y yoduros arílicos para producir alquinos arílicos en etilenglicol (33, 37). Esta reacción es útil en la síntesis de moléculas complejas; sus aplicaciones incluyen productos farmacéuticos y nanomateriales orgánicos de interés. El catalizador se reutilizó hasta en cinco ciclos de reacción.

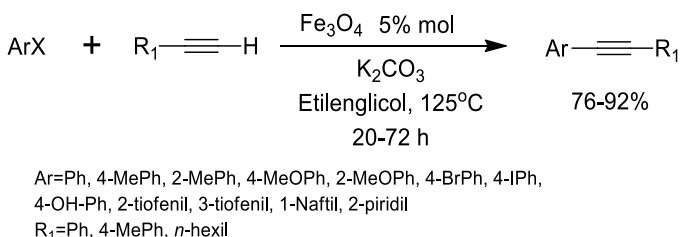


Figura 6. Reacción de Sonogashira–Hagihara catalizada por nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (X: Br, I).

Por otro lado, se han usado nanopartículas de magnetita para catalizar reacciones de apertura de epóxidos en forma selectiva a través de tioles (38), pirroles e indoles (39), como se muestra en las Figuras 7 y 8, respectivamente. En esta última reacción (Figura 8), se utilizaron epóxidos quirales para garantizar el proceso estereoselectivo con inversión total del estereocentro del epóxido. En ambos procesos se pudo reutilizar el catalizador seis y tres ciclos, respectivamente.

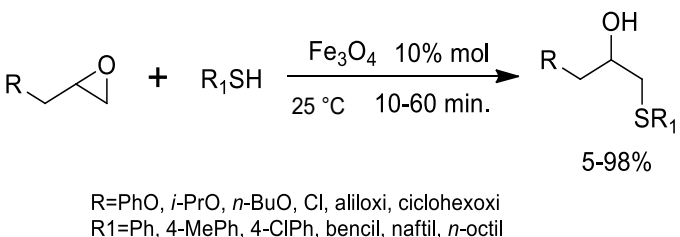


Figura 7. Reacción de apertura de epóxidos, catalizada por nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

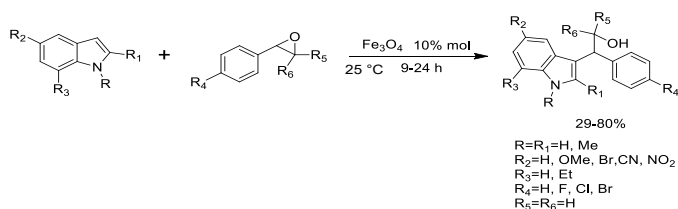


Figura 8. Reacción de indoles con epóxidos catalizada por nanomagnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

De igual manera, se ha estudiado el uso de magnetita como catalizador en la síntesis estereoselectiva de  $\beta$ -amino cetonas (Figura 9) vía reacción de Mannich, asistida por ultrasonido (40). Las imágenes SEM mostraron partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  con tamaño promedio de 40 nm y morfología esférica. Se analizaron diversos parámetros de reacción, como el tipo de disolvente, temperatura y la cantidad de catalizador, con el fin de obtener los mayores rendimientos de reacción (90%).

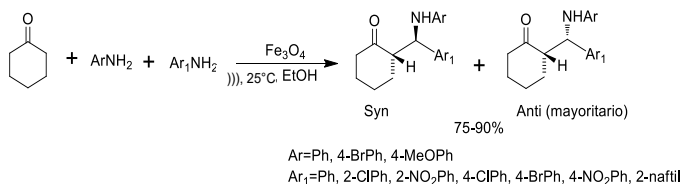


Figura 9. Reacción de Mannich de 3 componentes, catalizada por nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

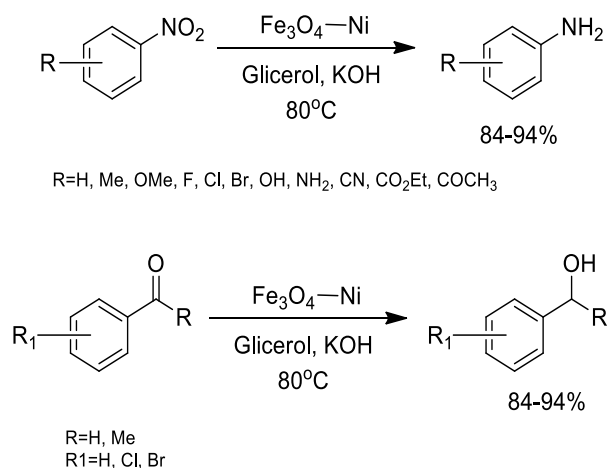
El estudio de esta reacción demuestra que el catalizador  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  permite la síntesis estereoselectiva de compuestos amino-carbónicos en un paso, a partir de aldehídos, cetonas y aminas.

### Magnetita como soporte de catalizadores de metales de transición u óxidos metálicos(M/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ o OM/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ; M = metal, OM = óxido metálico)

La magnetita se ha utilizado como soporte catalítico haciendo uso de la capacidad de modificación de su superficie, la cual resulta apropiada para la inmovilización de metales y de óxidos metálicos.

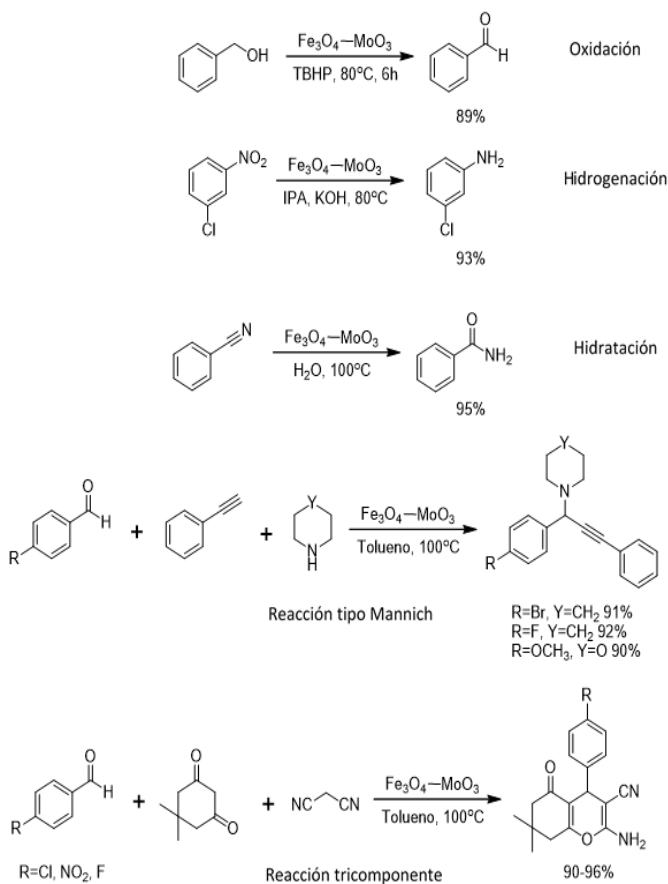
Dentro de los estudios de inmovilización de metales y de óxidos sobre la superficie de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , Gawande *et al.* (41) diseñaron un catalizador mixto de (Ni, NiO)/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  mediante impregnación de cloruro de níquel sobre magnetita y posterior reducción con  $\text{NaBH}_4$  en solución acuosa. El catalizador en polvo (nanopartículas entre 8 y 30 nm, según análisis por TEM) fue aplicado en reacciones regio y quimioselectivas de reducción de compuestos carbonílicos y nitroaromáticos en presencia de glicerol como agente reductor. De acuerdo a estos resultados, el sistema (Ni, NiO)/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , abreviado como  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Ni, mostró excelente actividad y selectividad en las reacciones de transferencia de hidrógeno en las que fue utilizado (Figura 10).

De igual manera, Gawande *et al.* (42) sintetizaron nanopartículas catalíticamente activas de  $\text{MoO}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$  (óxido de molibdeno soportado sobre magnetita), mediante impregnación húmeda. Las imágenes obtenidas por TEM mostraron nanopartículas de morfología esférica con tamaño predominante entre 15 y 30 nm.



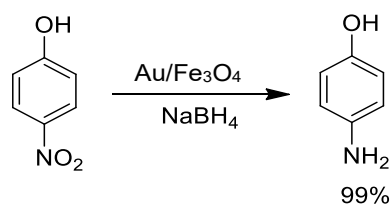
**Figura 10.** Reacciones de reducción de compuestos nitroaromáticos y compuestos carbonílicos catalizadas por nanopartículas mixtas formadas de Ni y NiO soportados sobre Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, abreviadas como Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Ni.

Este catalizador evidenció elevada actividad y selectividad en varias reacciones de oxidación-reducción controladas (oxidaciones, transferencias de hidrógeno, hidrataciones y otras reacciones tricompuestas), como se muestra en la Figura 11. En todos los procesos se obtuvo excelente rendimiento de la reacción, comparados con el uso de nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> solamente; además, el catalizador se utilizó en posteriores ensayos sin pérdida significativa de la actividad catalítica inicial.



**Figura 11.** Reacciones catalizadas por óxido de molibdeno soportado sobre magnetita (MoO<sub>3</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), abreviado como Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MoO<sub>3</sub>.

Lin y Doong (43) prepararon catalizadores de Au soportado sobre Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> mediante descomposición térmica de oleatos de hierro en presencia de nanopartículas de oro (4 a 5 nm). Las imágenes SEM y TEM de la heteroestructura cristalina Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sintetizada mostraron morfología característica con un tamaño de 5 a 28 nm. Las partículas de Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> se utilizaron como catalizadores bifuncionales eficientes en la reducción controlada de *p*-nitrofenol (Figura 12). Otros autores como Huang *et al.* (44) y Goergen *et al.* (45) utilizaron exitosamente catalizadores de Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> en reacciones de deshidrogenación de 1,4-butanodiol a  $\gamma$ -butirolactona y de ciclohexano a ciclohexeno y benceno, respectivamente. Huang *et al.* (44) encontraron mayor actividad en los catalizadores de Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> que en los catalizadores de oro soportado en otros óxidos de hierro.



**Figura 12.** Reacción de reducción de *p*-nitrofenol a *p*-aminofenol, catalizada por Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

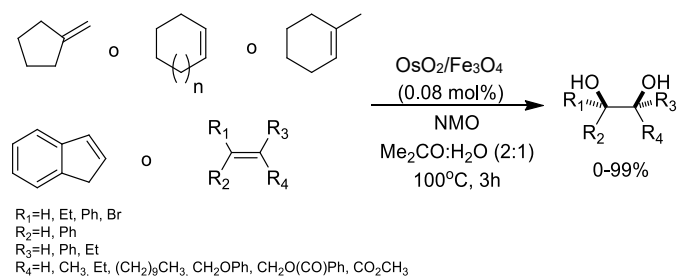
Estos catalizadores de Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> fueron separados eficientemente del medio de reacción mediante la aplicación de campos magnéticos y algunos de ellos fueron reutilizados hasta seis veces en ensayos sucesivos sin pérdida importante de la actividad catalítica.

Dependiendo del interés particular de ciertas reacciones, otros investigadores han preparado eficientemente catalizadores basados en platino, paladio, iridio, rodio, rutenio, o los óxidos de estos metales, soportados en magnetita. La hidrosililación de alquinos catalizada por PtO-PtO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (46); las reacciones de acoplamiento carbonilativo tipo Sonogashira, catalizadas por Pd/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> para obtener  $\alpha,\beta$ -alquilmilketonas (47); la síntesis de aminas arílicas mediante la reacción de Buchwald-Hartwig catalizada por Pd-PdO/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (48) y la alquilación cruzada de alcoholes primarios catalizada por IrO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (49) son ejemplos del empleo exitoso de estos metales en el diseño de catalizadores soportados basados en magnetita.

Adicionalmente, se ha publicado la catálisis eficiente de algunas reacciones de oxidación-reducción (oxidación de alcoholes, oxidación de aminas y reducción de compuestos carbonílicos a alcoholes) con catalizadores de Ru(OH)<sub>x</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (50), como también el empleo exitoso de catalizadores de Rh/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> en procesos de metanación de carbono usando H<sub>2</sub> gaseoso como agente reductor (51). En todos estos casos, los catalizadores mostraron actividad elevada, fueron empleados en varios ciclos de reacción y las especies metálicas (u óxidos metálicos) fueron debidamente caracterizadas por técnicas apropiadas, como XPS.

La utilización de catalizadores de osmio sobre magnetita (OsO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) también es frecuente en literatura. Cano *et al.* (52) sintetizaron este tipo de catalizadores, empleándolos con éxito en reacciones de dihidroxilación de alquenos para producir dioles en conformación *syn* (Figura 13). El catalizador se preparó a partir de magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) comercial de tamaño micrométrico (< 5  $\mu$ m) y una solución acuosa de OsCl<sub>3</sub>, por el método de impregnación húmeda. Las imágenes obtenidas por SEM y TEM mostraron una distribución homogénea de las partículas de osmio (de aproximadamente 2 nm) que corresponden a dos especies características OsO<sub>2</sub> y OsO<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub> sobre la superficie de la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

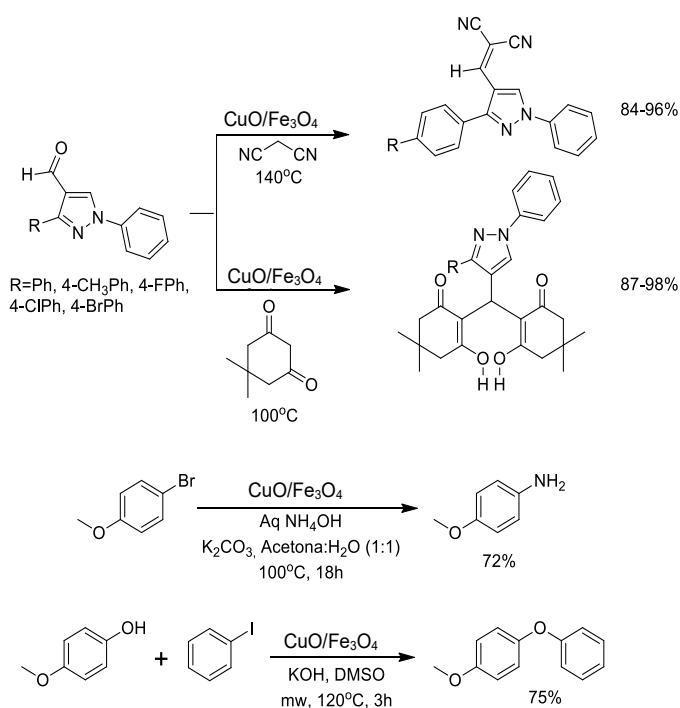




**Figura 13.** Reacción de dihidroxilación de alquenos, catalizada por  $\text{OsO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Se empleó N-óxido de N-metilmorfolina (NMO) como oxidante.

Recientemente se publicó la síntesis de nanopartículas de  $\text{CuO}$ , con tamaño entre 20 y 30 nm, soportadas sobre  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (53). La preparación de este catalizador se llevó a cabo mediante precipitación-depositación (aunque los autores lo describen como una impregnación) de las especies de cobre formadas a partir del precursor  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en medio acuoso básico. El análisis por EDX (energía dispersiva de rayos X) mostró señales correspondientes a los elementos Fe y Cu como componentes mayoritarios, como consecuencia de la impregnación de las nanopartículas de  $\text{CuO}$  en la superficie de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . El catalizador  $\text{CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  mostró actividad en la condensación de Knoevenagel de aldehídos pirazólicos con malononitrilo o con dimedona para la obtención de derivados pirazólicos. También catalizó eficientemente reacciones tipo condensación de Ullmann y reacciones para la síntesis de 4-metoxianilina como se muestra en la Figura 14.

Los derivados pirazólicos son compuestos de gran importancia por su actividad farmacológica, así como los productos de las reacciones de condensación de Ullmann que exhiben excelente actividad biológica (54). El catalizador  $\text{CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  fue magnéticamente separado del medio de reacción y reutilizado hasta en seis ensayos consecutivos sin pérdida de eficiencia (53).



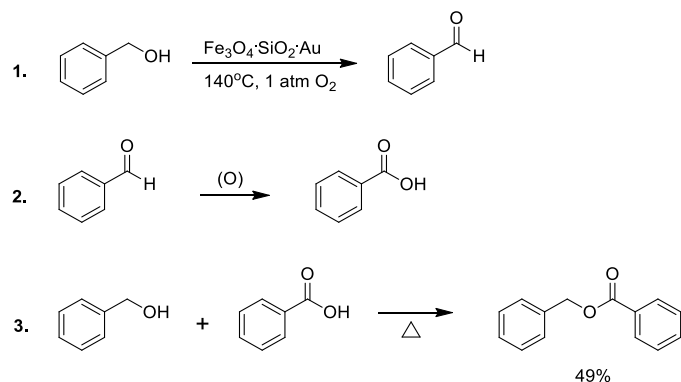
**Figura 14.** Reacción de Knoevenagel para la obtención de derivados pirazólicos, síntesis de 4-metoxianilina y reacción de condensación de Ullmann, catalizadas por  $\text{CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Se observaron rendimientos elevados en los 3 tipos de reacciones, llevadas a cabo desde el primer ensayo hasta el sexto, lo que lo hace un catalizador estable y promisorio a nivel industrial.

Otros autores han sintetizado  $\text{CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  para diferentes aplicaciones catalíticas, como la preparación de propargilaminas mediante síntesis multicomponente (reacción tipo Mannich) usando alquinos terminales, aminas secundarias y aldehídos o cetonas (55). Adicionalmente, en Pérez *et al.* (56) se sintetizó el sistema mixto  $\text{CuO-NiO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  y se usó exitosamente en reacciones de cicloadición multicomponente a partir de alquinos terminales, azida de sodio y derivados de bromuro de bencilo. Se encontró un posible efecto sinérgico en el óxido mixto cuya actividad catalítica se conservó hasta en diez ensayos sucesivos. Por otra parte, en Cano *et al.* (57) se demostró la síntesis eficiente y selectiva de benzofuranos e indoles catalizada por  $\text{CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  y  $\text{Pd-CuO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ , respectivamente, vía reacción de acoplamiento tipo Sonogashira.

Kokate *et al.* (58) abordaron la síntesis del nanomaterial  $\text{Au-SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ , otro tipo de catalizador de magnetita que incluye Au en su estructura, mediante reacciones simultáneas (coprecipitación de sales de hierro, reducción de cloruro de oro y formación de sílice) en un solo paso. El tamaño promedio de las partículas del catalizador osciló entre 30 y 40 nm, las imágenes obtenidas por TEM y HRTEM (TEM de alta resolución) revelaron la distribución de partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y Au (menor tamaño) en los poros de la sílice. El material sintetizado mostró actividad catalítica con rendimiento promedio para la oxidación-esterificación de alcohol bencílico, libre de solventes en el proceso, que fue magnéticamente separable y reutilizable.

La oxidación total del alcohol en presencia de oxígeno como agente oxidante se lleva a cabo en tres pasos como se muestra en la Figura 15. Inicialmente se da la conversión de alcohol bencílico a benzaldehído en presencia de  $\text{Au-SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ ; el benzaldehído continúa la oxidación hasta ácido benzoico; finalmente, el alcohol bencílico, no oxidado hasta el momento, reacciona con el ácido para formar benzoato de bencilo como producto final (58).



**Figura 15.** Pasos consecutivos llevados a cabo en la oxidación-esterificación de alcohol bencílico catalizada por  $\text{Au-SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ .

Recientemente, en Shah *et al.* (59) se inmovilizó  $\text{SiO}_2$  en la superficie de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  utilizando TEOS (tetraóxido de silicio) como precursor, por el método de coprecipitación. Los análisis de FTIR y TEM confirmaron la formación de nanopartículas de  $\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$  con estructura *core-shell*. Este sólido catalizó la hidrogenación de acetona a isopropanol (Figura 16), con rendimientos de reacción apropiados y una cinética de reacción de segundo orden, mediada por un mecanismo de Langmuir-Hinshelwood.

La máxima eficiencia catalítica en términos de rendimiento se presentó bajo condiciones de reacción modificables, que involucran irradiación con microondas, efecto de NaBH<sub>4</sub>, tiempo y dosificación del catalizador. El catalizador fue magnéticamente reciclado y reutilizado hasta en cuatro ensayos de reacción.

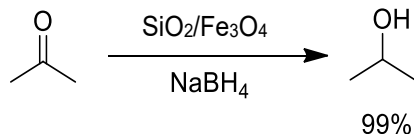


Figura 16. Reacción de reducción de cetonas catalizada por nanopartículas de SiO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

### Magnetita como soporte para el anclaje de ligantes orgánicos en el diseño de catalizadores heterogéneos

Es necesario mencionar algunos estudios en los que este tipo de óxido (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) actúa como soporte de catalizadores heterogéneos separables magnéticamente, en los cuales los metales o iones metálicos no se anclan directamente sobre la superficie de la magnetita sino a través de ligantes y/o conectores específicos funcionales. En general, para el anclaje de las especies SiO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> metálicas, las partículas de magnetita previamente modificadas se hacen reaccionar con los metales o iones metálicos requeridos, a menudo usando grupos funcionales que actúen como una base (1). Los grupos funcionales de interés, actuando frecuentemente como una base de Lewis, coordinan sobre el metal o ion metálico para fijar la especie metálica generando un ambiente químico que opera como sitio activo. Este tipo de catalizadores es comúnmente utilizado en catálisis asimétrica, donde se aprovecha el entorno estereoquímico generado por los grupos funcionales.

La catálisis asimétrica constituye una forma altamente valiosa de obtener moléculas ópticamente activas, que son utilizadas como precursores de compuestos de importancia farmacéutica (60). Uno de los métodos favorables para sintetizar compuestos enantioméricamente puros (síntesis enantioselectiva) es el empleo de catálisis asimétrica por complejos de metales de transición, para lo cual se requieren complejos metálicos quirales que actúen como catalizador. Para lograr altas eficiencias es necesario seleccionar el metal y los ligantes quirales apropiados que generen el ambiente estereoquímico deseado. De nuevo, la recuperación del catalizador es esencial debido a los costos de los metales preciosos y a la necesidad de eliminar posibles contaminaciones en el producto final. BINAP (2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno) es un ligante quiral organofosforado usado frecuentemente en síntesis asimétrica.

En Hu *et al.* (61) se sintetizó un catalizador soportando el complejo de rutenio BINAP(4,4'-sustituido)-Ru-DPEN (DPEN: 1,2-difeniletlenodiamina) sobre nanopartículas de magnetita. Este material con propiedades magnéticas catalizó eficientemente la hidrogenación asimétrica de cetonas aromáticas (Figura 17), mostrando elevada enantioselectividad (98%) y conversiones mayores al 99%.

Una investigación anterior (60) permitió establecer claramente las características superparamagnéticas de las nanopartículas de magnetita funcionalizadas, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BINAP-Ru-DPEN, garantizando también la alta eficiencia de los procesos de separación del catalizador mediante campos magnéticos.

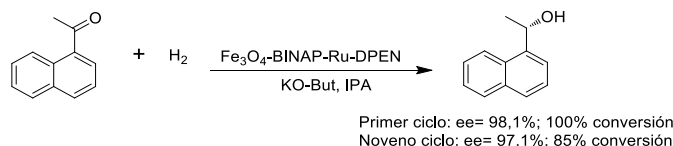
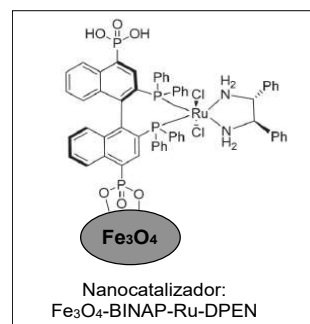


Figura 17. Estructura del catalizador Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-BINAP-Ru-DPEN y la reacción de hidrogenación asimétrica de cetonas catalizada por dicho sólido.

En otro estudio, Zeng *et al.* (32) diseñaron un catalizador de cobre (I) soportando un ligante tipo pibox [bis(oxazolinil)piridina] sobre nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, recubiertas con SiO<sub>2</sub> (tipo core-shell), con posterior coordinación de dicho ligante al ion Cu(I). El catalizador se diseñó para la síntesis de propargilaminas, obteniendo excelentes rendimientos y enantioselectividad. Las reacciones se llevaron a cabo tras la adición directa de alquinos terminales a iminas, como se muestra en la Figura 18. La síntesis de propargilaminas es de gran interés en la actualidad debido a sus propiedades neuroprotectoras, antioxidantes y antiapoptóticas (62).

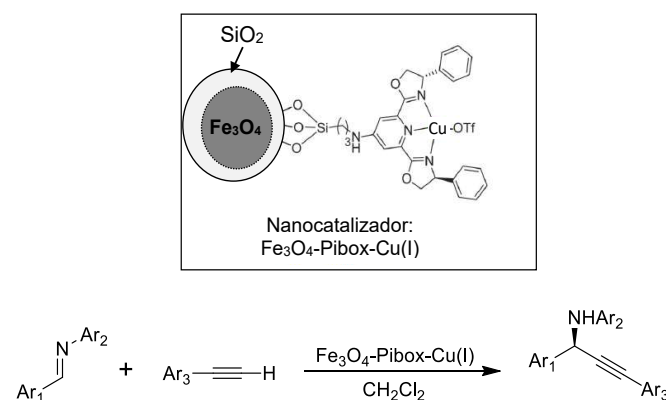
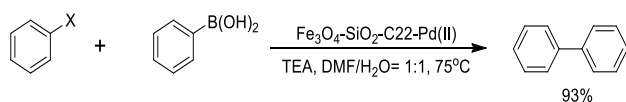


Figura 18. Estructura del catalizador y reacción de alquinos terminales con iminas catalizada por Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-pibox-Cu(I).

Movassagh *et al.* (63) anclaron el complejo C22-Pd(II), formado a partir del éter tipo corona 1,4,10,13-tetraoxo-7,16-diazaciclooctadecano (conocido como criptando 22), sobre nanopartículas tipo core-shell de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>. La estructura del catalizador se corroboró mediante análisis IR, XPS y TEM. La actividad catalítica se midió en reacciones de acoplamiento Suzuki-Miyaura de haluros de arilo con ácidos aril borónicos (Figura 19) y de haluros de arilo con tioles. Las reacciones se llevaron a cabo bajo diferentes condiciones de temperatura, solventes y tiempos de reacción. Las características superparamagnéticas del catalizador fueron evidentes mediante las curvas de magnetización y su separación magnética eficiente.



**Figura 19.** Reacción de haluros de arilo con ácidos aril borónicos (reacción Suzuki-Miyaura) catalizada por  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-C22-Pd(II)}$ .

### Organocatalizadores soportados en nanopartículas de magnetita

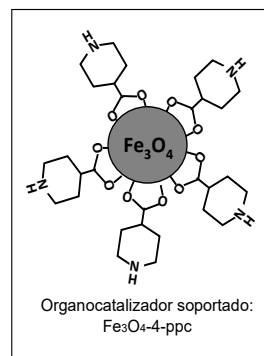
Los organocatalizadores son moléculas o especies químicas puramente orgánicas (compuestas principalmente de carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo), de peso molecular relativamente bajo, capaces de catalizar reacciones químicas (64, 65). Contrario a los catalizadores típicos de complejos con ligandos orgánicos unidos a metales de transición, en los organocatalizadores la actividad catalítica no reside en un metal o ion metálico, sino en la molécula orgánica (64).

La prolina (un aminoácido) es una molécula prototípica empleada exitosamente como organocatalizador en ciertas reacciones de catálisis asimétrica, como reacciones aldólicas, reacciones de Mannich y reacciones de Michael, entre otras. Típicamente, las reacciones organocatalizadas requieren entre 10 y 30% molar de catalizador y su separación y reciclaje del medio de reacción es un trabajo dispendioso (1). Con el fin de utilizar cantidades menores de catalizador y realizar procesos económicamente favorables, actualmente los estudios se centran en inmovilizar los organocatalizadores sobre superficies sólidas apropiadas, como es el caso de la magnetita.

La inmovilización o anclaje covalente de prolina sobre la superficie de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , mediada por el anclaje primario de un derivado de ácido fosfónico, permitió la síntesis del catalizador  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -(derivado)-prolina y su evaluación catalítica en reacciones de acoplamiento tipo Ullmann a 110 °C, para la arilación de varios heterociclos a partir de bromuros de arilo (66). Los rendimientos de reacción fueron excelentes, en su mayoría mayores al 80%. Después de cada proceso, el catalizador fue separado magnéticamente, conservando su actividad hasta en cuatro ciclos de reacción.

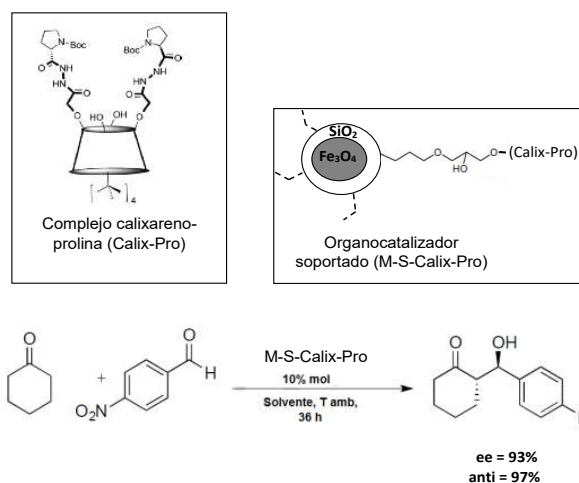
Generalmente se han fijado diversos grupos amino a las nanopartículas de magnetita para obtener organocatalizadores soportados de carácter básico con propiedades magnéticas (67). En particular, el ácido 4-piperidincarboxílico (4-ppc) fue anclado sobre partículas nanométricas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  mediante el grupo carboxílico, exponiendo los grupos amino de las moléculas inmovilizadas como sitios activos para la síntesis catalizada de nitroalquenos mediante la reacción de Knoevenagel (68). Los rendimientos de la reacción elevados (Figura 20) y la separación magnética exitosa del catalizador, además de las caracterizaciones realizadas y su reutilización en cuatro ciclos de reacción sin pérdida considerable de actividad, indican la potencialidad y las ventajas de este sistema soportado.

Una de las estrategias más comunes para anclar covalentemente los organocatalizadores a núcleos de magnetita es el empleo de recubrimientos de  $\text{SiO}_2$  o materiales similares sobre las partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . La sílice, además de proteger la partícula de magnetita del medio de reacción, provee grupos -Si-O-Si- y -Si-OH que facilitan la reactividad y formación de enlaces covalentes con ciertas especies orgánicas.



**Figura 20.** Representación del organocatalizador soportado  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-4-ppc}$  (magnetita funcionalizada con el ácido 4-piperidincarboxílico) y de la síntesis (catalizada) de nitroalquenos mediante una reacción de condensación de Knoevenagel.

Recientemente, en Akceylan *et al.* (69) se inmovilizó el complejo calixareno-prolina sobre un sistema *core-shell* de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  con tamaño aproximado de 15 nm, obteniendo un organocatalizador quiral reciclable. La actividad catalítica del organocatalizador nanoestructurado  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-calixareno-prolina}$  (M-S-Calix-Pro) se midió en reacciones aldólicas asimétricas entre ciclohexanona y aldehídos aromáticos (Figura 21). Los productos obtenidos mostraron buena diastereoselectividad (anti/syn, 97:3) y enantioselectividad (93%) usando agua como solvente y reutilizando el catalizador en cinco oportunidades.



**Figura 21.** Representación de la estructura del organocatalizador soportado  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-calixareno-prolina}$  (M-S-Calix-Pro) y de la reacción aldólica de ciclohexanona con un aldehído aromático catalizada bajo condiciones óptimas.

Actualmente existe un creciente interés por la síntesis de organocatalizadores elaborados mediante el anclaje de diversas estructuras (desde aminoácidos hasta polímeros, vitaminas y líquidos iónicos) con actividad catalítica en diferentes reacciones orgánicas.

Son ejemplos ilustrativos de la variedad de estructuras orgánicas catalíticamente activas con las que puede funcionalizarse la magnetita para este tipo de aplicaciones los trabajos de Kalhafi-Nezhad *et al.* (70) y Gawande *et al.* (71), relacionados al anclaje de cisteína sobre magnetita; el estudio de Arundhathi *et al.* (72) sobre polianilina soportada en Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; el trabajo publicado por Saberi *et al.* (73), quienes inmovilizaron vitamina C en la superficie de magnetita y el diseño de un organocatalizador soportado mediante anclaje de un líquido iónico sobre nanopartículas tipo *core-shell* de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, desarrollado por Isaad (74).

## Empleo de magnetita en catálisis ambiental

El uso de magnetita ha potencializado los estudios actuales sobre tratamientos de remediación ambiental que buscan eliminar materia orgánica y otros tipos de contaminantes del agua y del aire, como alternativa de control ante las emisiones provenientes de muchos procesos industriales. En este contexto, los procesos avanzados de oxidación (PAOs), en los cuales se producen radicales hidroxilo y perhidroxilo (OH y HO<sub>2</sub>) altamente oxidantes en medio acuoso, se han desarrollado vía catálisis heterogénea con peróxido de hidrógeno o mediante fotocatalisis empleando magnetita o magnetita modificada como catalizador eficiente.

Algunos estudios comprenden la mineralización (oxidación total hasta CO<sub>2</sub>, agua y otros subproductos) de pentaclorofenol (75); la degradación total de p-nitrofenol logrando conversiones mayores al 90% en 10 horas de reacción y lixiviaciones de hierro menores a 0,25 ppm (76) y la oxidación total de nitrobenzono (77). Todos los estudios anteriores emplearon procesos tipo Fenton bajo condiciones ambientales de temperatura y presión, usando peróxido de hidrógeno en medio acuoso diluido y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> como catalizador. El proceso Fenton (la reacción entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y Fe(II)/Fe(III) en medio acuoso) es uno de los PAOs más usados para la producción de radicales hidroxilo y perhidroxilo.

De acuerdo con Muñoz *et al.* (78), las investigaciones sobre el desempeño catalítico de la magnetita en procesos tipo Fenton son relativamente recientes. Es probable que el trabajo de Zhang *et al.* (79) sobre la degradación de fenol como contaminante, haya sido el primero en ser publicado. Desde entonces, el empleo de magnetita y magnetita modificada tanto natural (80) como sintética (81) en procesos tipo Fenton, destinados a la eliminación de contaminantes orgánicos ha aumentado (78, 82).

También vale la pena resaltar el empleo de radiación ultravioleta (UV) para evaluar el desempeño de la magnetita en procesos de fotocatalisis. Por ejemplo, se realizó la degradación de azul de metileno en solución acuosa mediante un proceso tipo Fenton foto asistido con radiación UV, en el que se empleó Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> como fotocatalizador. Se alcanzaron niveles de conversión cercanos al 80% a 25 °C (83). También se realizó la oxidación total de fenol en medio acuoso mediante procesos tipo foto-Fenton heterogéneos, utilizando cuatro tipos de magnetita sintética (81).

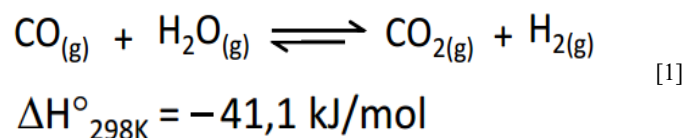
Adicionalmente, el acoplamiento de ultrasonido al sistema tipo Fenton heterogéneo, basado en Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluido, incrementó la eficiencia en la degradación de tetraciclina (considerada un contaminante emergente en aguas residuales de ciertas industrias farmacéuticas) en medio acuoso, a temperatura ambiente y presión atmosférica, permitiendo elevada remoción de esta molécula durante 60 min de reacción (84).

Por otra parte, Costa *et al.* (11) diseñó un fotocatalizador magnético con estructura *core-shell* (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub>) compuesto por una capa exterior de TiO<sub>2</sub> sobre núcleos de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, separados por una capa de SiO<sub>2</sub>; se utilizó un proceso de heterocoagulación coloidal y secado por secado por atomización. Los resultados mostraron la preparación eficiente del sistema *core-shell* con actividad catalítica elevada en la degradación del colorante rojo de metilo en solución acuosa, bajo irradiación con luz UV: se alcanzó 90% de conversión en 60 min de reacción. Este tipo de sistemas jerárquicamente nanoestructurados (magnetita-SiO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub>) también han sido sintetizados por otro método (sol-gel), consiguiendo el anclaje de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> sobre la superficie del *core-shell* de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub> y buena actividad en la degradación fotocatalítica del colorante rodamina B en medio acuoso (85).

Finalmente, la eliminación de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en fase gaseosa mediante combustión catalítica también es un tema ambiental que se ha abordado empleando magnetita o magnetita modificada como catalizador. Aunque en este tema ambiental se encuentran muy pocos trabajos con aplicación de magnetita, vale la pena mencionar como ejemplos de la utilización de magnetita en el diseño de catalizadores para la eliminación de COVs: por un lado, la remoción (oxidación total) de isopropanol, empleando Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> como catalizador en procesos asistidos por microondas (86) y, por otro lado, la combustión catalítica de 1,2-diclorobenceno sobre partículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> recubiertas con TiO<sub>2</sub> (87).

## Magnetita en las reacciones de desplazamiento de vapor de agua y en la síntesis de amoníaco

El uso de hidrógeno de alta pureza para procesos como el funcionamiento de celdas combustibles y la síntesis de amoníaco ha mantenido en la actualidad el interés por reacciones catalíticas que conduzcan a la formación predominante de hidrógeno, con la menor cantidad posible de productos gaseosos diferentes y de gases de reacción remanentes. La reacción de desplazamiento de vapor de agua (en inglés water gas shift reaction) (88) es de gran interés industrial. En ella el agua (gaseosa) desplaza el equilibrio hacia la formación de hidrógeno (ecuación [1]).



Dicha reacción, una de las más antiguas en catálisis heterogénea industrial (89), favorece la producción de hidrógeno a partir de la mezcla de gases conocida como gas de síntesis (CO + H<sub>2</sub>), la cual se obtiene preliminarmente mediante reacciones como el reformado de hidrocarburos o el reformado de alcoholes (por ejemplo el reformado de metano o el reformado de etanol). Los catalizadores clásicos para esta reacción contienen magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) como fase activa, promovida por óxidos de cromo o de cobre. El sólido mixto conformado por Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> fue patentado en 1911 por la empresa BASF, como catalizador de la reacción de desplazamiento de vapor de agua (90). Posteriormente, variadas modificaciones de este catalizador con diferentes promotores han permitido mejorar su actividad catalítica en dicha reacción y su estabilidad frente a la desactivación (90, 91).

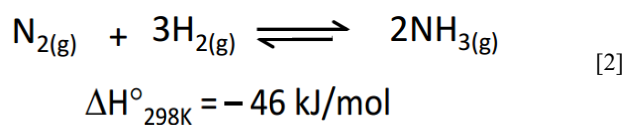
La reacción de desplazamiento de vapor de agua es un proceso reversible y moderadamente exotérmico, por lo que se ve favorecida a temperaturas relativamente bajas (91, 92). Debido a que la reacción se favorece termodinámicamente a temperaturas relativamente bajas, pero la elevación de la temperatura aumenta la velocidad de reacción, es necesario desarrollarla en dos etapas (89, 91, 93): en la primera etapa (300 a 500 °C) se emplea Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-CuO como catalizador para reducir rápidamente los contenidos de CO a concentraciones cercanas al 3% molar (91). En la segunda etapa (200 a 250 °C) se emplean catalizadores de CuO-ZnO-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> alcanzando la reducción de CO a valores de 0,3% molar (91).

Así, en la primera etapa de reacción la fase activa es la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), el óxido de cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) se utiliza para aumentar la estabilidad térmica de la ferrita ya que ésta puede sinterizar rápidamente. Trabajos anteriores (94, 95) indican que la estabilidad puede ser explicada mediante la sustitución de cantidades iguales de los cationes Fe<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup> (de los sitios octaédricos de la magnetita) por cationes Cr<sup>3+</sup>. De igual manera, el catalizador, contiene pequeñas cantidades de Cu<sup>2+</sup> como promotor para una mejor selectividad y actividad catalítica (91).

Estudios recientes muestran diferentes estrategias relacionadas con la optimización de catalizadores basados en magnetita para ser utilizados en la reacción de desplazamiento de vapor de agua. Subramanian *et al.* (93) publicaron la síntesis de catalizadores de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> con cationes Al<sup>3+</sup> y Cu<sup>2+</sup> incorporados, mediante el método sol-gel y el uso de ácido cítrico como agente quelante, para la producción de H<sub>2</sub> a partir de gas de síntesis derivado de residuos. La reacción mostró 80% de conversión de CO, sin reducción previa del catalizador. La elevada actividad que presentó el catalizador es asociada a la formación de complejos citrato-metal que finalmente condujo a elevar la dispersión y el área superficial.

En otras investigaciones, se sintetizaron catalizadores con Cr<sup>3+</sup> y Cu<sup>2+</sup> incorporados en nanocristales de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> mediante el método de pirólisis y se emplearon para la obtención (89) y purificación (92) de H<sub>2</sub> mediante la reacción de desplazamiento de vapor de agua, mostrando mayor actividad catalítica en comparación con los catalizadores comerciales utilizados para el mismo proceso. Sin embargo, el uso de catalizadores de cromo incorporado causa elevado impacto ambiental, por lo que la sustitución de cromo por molibdeno ha resultado apropiada. Martos *et al.* (91) sintetizaron catalizadores de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Mo-Cu y encontraron que la actividad catalítica de estos sólidos, en la reacción de desplazamiento de vapor de agua, es similar a la de catalizadores con cromo incorporado, por lo que resultan potencialmente aplicables en este proceso.

Por otra parte, la síntesis de amoníaco es una reacción de elevado interés industrial a nivel mundial en la cual se emplea típicamente la magnetita como precursor catalítico (96, 97). El empleo de amoníaco como fuente de nitrógeno en la síntesis de muchos compuestos químicos y la demanda de enormes cantidades de fertilizantes, en cuya preparación es fundamental el amoníaco como materia prima, motivó el desarrollo del proceso Haber-Bosch hace ya cien años (98). Dicho proceso permite la conversión de nitrógeno e hidrógeno gaseosos en amoníaco, a temperaturas y presiones elevadas (alrededor de 450 °C y presiones superiores a 100 atmósferas, ecuación [2]) (99, 100).



Aunque esta reacción es moderadamente exotérmica y favorecida a bajas temperaturas, la elevación de la temperatura aumenta la velocidad de reacción y las limitaciones termodinámicas se reducen mediante el aumento de presión. Esto permite el desplazamiento del equilibrio de reacción hacia la formación del amoníaco con la consecuente formación del producto en cantidades importantes. El catalizador clásico para el proceso Haber-Bosch se prepara fundiendo Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> junto con diversos promotores catalíticos, como óxidos o carbonatos de Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup>, entre otros (96, 97, 101) y reduciendo parcialmente el óxido de hierro.

La magnetita se ha empleado como precursor del catalizador fundido para el proceso Haber-Bosch durante más de cien años (98) y diversos estudios han confirmado su valiosa utilidad en la preparación de este catalizador (97, 98, 102). Sin embargo, en la actualidad se han desarrollado optimizaciones de este catalizador, entre las cuales vale la pena mencionar el empleo de óxidos de tierras raras (óxidos de cerio, lantano, praseodimio y de neodimio) como promotores catalíticos (97). También se conocen estudios sobre el diseño de catalizadores de Ru y Os soportados en alúmina y nitruros de cobalto y molibdeno como catalizadores potenciales para el proceso Haber-Bosch (97, 98). Recientemente se ha encontrado que la wüstita (FeO) como precursor permite la preparación de catalizadores fundidos con mejor desempeño en la síntesis de amoníaco (101, 102).

## Aplicaciones de la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) en otros campos

Aunque la presente revisión se centra en las aplicaciones de la magnetita en catálisis heterogénea, debido a la versatilidad de este material, es pertinente mencionar brevemente algunos enfoques promisorios en otros campos de la ciencia, como la biología, la paleontología, la medicina, la astronomía y la física. En este sentido, algunas aplicaciones biomédicas y biotecnológicas se centran en el análisis de células y especies animales que pueden sintetizar sus propios cristales de magnetita, los cuales hacen parte de mecanismos especiales de magneto-recepción. Los estudios sobre la biomineralización de magnetita bacteriana (103) se han centrado en analizar la formación de magnetosomas en el interior de bacterias (*Candidatus Desulfamplus magnetomotoris* strain BW-1), lo que permite contar con nuevas posibilidades para el diseño y producción sostenible de partículas magnéticas con propiedades relevantes a nivel celular. El uso de la magnetita en el campo de la medicina ha cobrado interés en los últimos años, no sólo por sus propiedades magnéticas sino por su alto grado de biocompatibilidad. De esta manera, muchos tratamientos terapéuticos se centran en el uso de este óxido de hierro capaz de introducirse en el metabolismo regular de los sistemas biológicos.

Por otro lado, en Long *et al.* (104) se presentó un método simple para desarrollar nanopartículas de quitosano/carragenina/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> por síntesis *in situ* en condiciones suaves. Estos autores evaluaron el potencial de este nanomaterial en la liberación controlada de macromoléculas (albúmina de suero de bovinos), mostrando ventajas potenciales en la administración de fármacos dirigidos y otras aplicaciones biomédicas.

Dentro de este tipo de aplicaciones se incluyen otros materiales nanocompuestos magnéticos biocompatibles (CMC/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; CMC: carboximetilcelulosa), capaces de fijar y luego liberar el medicamento 5-fluorouracil (5-FU), utilizado en quimioterapias contra el cáncer (105). Las nanopartículas transportan el compuesto 5-FU y son dirigidas hacia los tejidos afectados mediante un campo magnético externo. Igualmente, en Ivashchenko *et al.* (106) se prepararon nanocompuestos a partir de la adsorción de diferentes moléculas (clorhidrato de doxorubicina, rifampicina, clorhidrato de doxiciclina, cefazolina sódica, ceftriaxona disódica, cefotaxima sódica, clorhidrato de ciprofloxacina) sobre la estructura de Ag/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y se evaluó su capacidad como antibióticos para la terapia microbiana dirigida.

Otras aplicaciones importantes comprenden: la síntesis de liposomas magnéticos, usados como medios de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética (107); la preparación de polímeros mediante la incorporación de magnetita para obtener copolímeros con capacidad de magnetización (108-110); el mejoramiento en la producción de biogás (111) y la preparación de sistemas *core-shell* Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, funcionalizados con propiedades adsorbentes para la eliminación de iones cromato y dicromato de aguas residuales industriales (112).

## Panorama general de la magnetita en Colombia

Como parte final de esta revisión es pertinente mencionar algunas características mineralógicas referentes a la presencia de la magnetita en el territorio colombiano, resaltando la importancia de encontrar este mineral naturalmente y, a su vez, describir algunos estudios colombianos relacionados con este mineral y los alcances científicos que se han logrado en la materia.

A lo largo del territorio colombiano existe una diversidad de minerales cuya formación se atribuye a procesos mineralógicos llevados a cabo durante el precámbrico, ya que más de la mitad de la producción mundial de minerales de origen no orgánico provienen de mineralizaciones depositadas en este período de tiempo (113). Se considera que la magnetita es proveniente de este tipo de mineralizaciones en el territorio colombiano (114). En la Figura 22 se muestra la localización de los yacimientos de este mineral, que son atribuidos a procesos de formación mediante el contacto entre rocas ígneas y sedimentarias. Debe tenerse en cuenta que en la actualidad algunos depósitos ya han sido objeto de explotación y en otros la magnetita no es el componente mayoritario.

Los yacimientos de magnetita están comúnmente asociados con otros minerales como hematita, piritas, silicatos y cuarzo (114, 115). Los minerales inorgánicos hematita, ilmenita, limonita y magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) aparecen localizados principalmente en regiones específicas y sólo hasta la década de los 60 fueron estudiados durante el Inventario Minero Nacional. A partir de este inventario se puede establecer que las mineralizaciones llevadas a cabo en lugares específicos (como la Sierra Nevada de Santa Marta, por ejemplo) pueden generar interés no sólo en lo que se refiere a los óxidos de hierro, sino también a la existencia de vanadio, que se presenta en más de 1% en magnetitas de este origen (113).

Ahora bien, dentro de esta revisión cabe mencionar brevemente los alcances de algunos estudios desarrollados en Colombia. Durante la última década, la magnetita de origen natural ha sido objeto de análisis de algunas investigaciones orientadas a la caracterización y usos específicos de este mineral. Forero y Díaz (117) utilizaron magnetita como fuente de hierro metálico, procedente de la región de Payandé (Tolima) para la producción de pellets destinados a procesos de reducción directa antes de la hematización para obtener un prereducido de hierro con un grado de metalización óptimo. Vargas *et al.* (118) emplearon arenas de playas del departamento del Atlántico (desembocadura del río Magdalena) ricas en magnetita para la obtención de hierro metálico mediante procesos de reducción. Trabajos importantes sobre el diseño de fluidos magneto-reológicos destinados a procesos de separación industrial de minerales (119, 120) muestran el empleo de magnetita de origen natural; por ejemplo, muestras de magnetita provenientes del Hobo (Huila) y de arenas negras del Río Magdalena (Puerto Colombia, Atlántico).

Otros estudios a nivel de física computacional han sido abordados por Mazo-Zuluaga y Restrepo (20), quienes utilizando un modelo de Ising-Monte Carlo 3D estudiaron la evolución térmica de la magnetización y el comportamiento histerético de la magnetita con el fin de elucidar algunas propiedades magnéticas de este sólido. Estudios teóricos adicionales de estos autores colombianos se encuentran referenciados en una revisión publicada sobre aplicaciones tecnológicas y biomédicas de la magnetita (18).

Finalmente, aunque a nivel científico se prefiere la síntesis de magnetita debido a las posibilidades de control en el tamaño de las partículas (algo muy importante para obtener las propiedades deseadas del material), a nivel tecnológico e industrial es preferible el uso de magnetita natural ya que implica reducción de costos. Por ello, en la actualidad también es pertinente profundizar la investigación referente a la caracterización completa de yacimientos minerales y las diferentes rutas de modificación del material natural para los usos deseados. Algunos estudios, como el abordado por Kumar *et al.* (21), demostraron la obtención de nanopartículas de magnetita con tamaño promedio de 14 nm (determinado por la ecuación de Scherrer) a partir de residuos de minerales de hierro recogidos de plantas de procesamiento. El tratamiento llevado a cabo consistió inicialmente en una fase de molienda mecánica seguida de una ruta química relativamente sencilla (lixiviación ácida y posterior hidrólisis con urea).

En este sentido, la industria colombiana Green Magnetita S.A.S. está dedicada a la producción de grandes volúmenes de magnetita sintética a partir de residuos minerales de siderúrgicas, con el fin de proveer de este óxido a otras industrias para diferentes usos. De otro lado, en el grupo de investigación Estado Sólido y Catálisis Ambiental (ESCA), de la Universidad Nacional de Colombia, se adelantan estudios sobre la caracterización completa de esta magnetita sintetizada industrialmente y su empleo en el diseño de estructuras sólidas inorgánicas tipo *core-shell* con posible actividad catalítica. Esto abre las puertas hacia aplicaciones potenciales de este mineral sintético industrial en el campo de la catálisis heterogénea y también en otros campos científicos y tecnológicos.

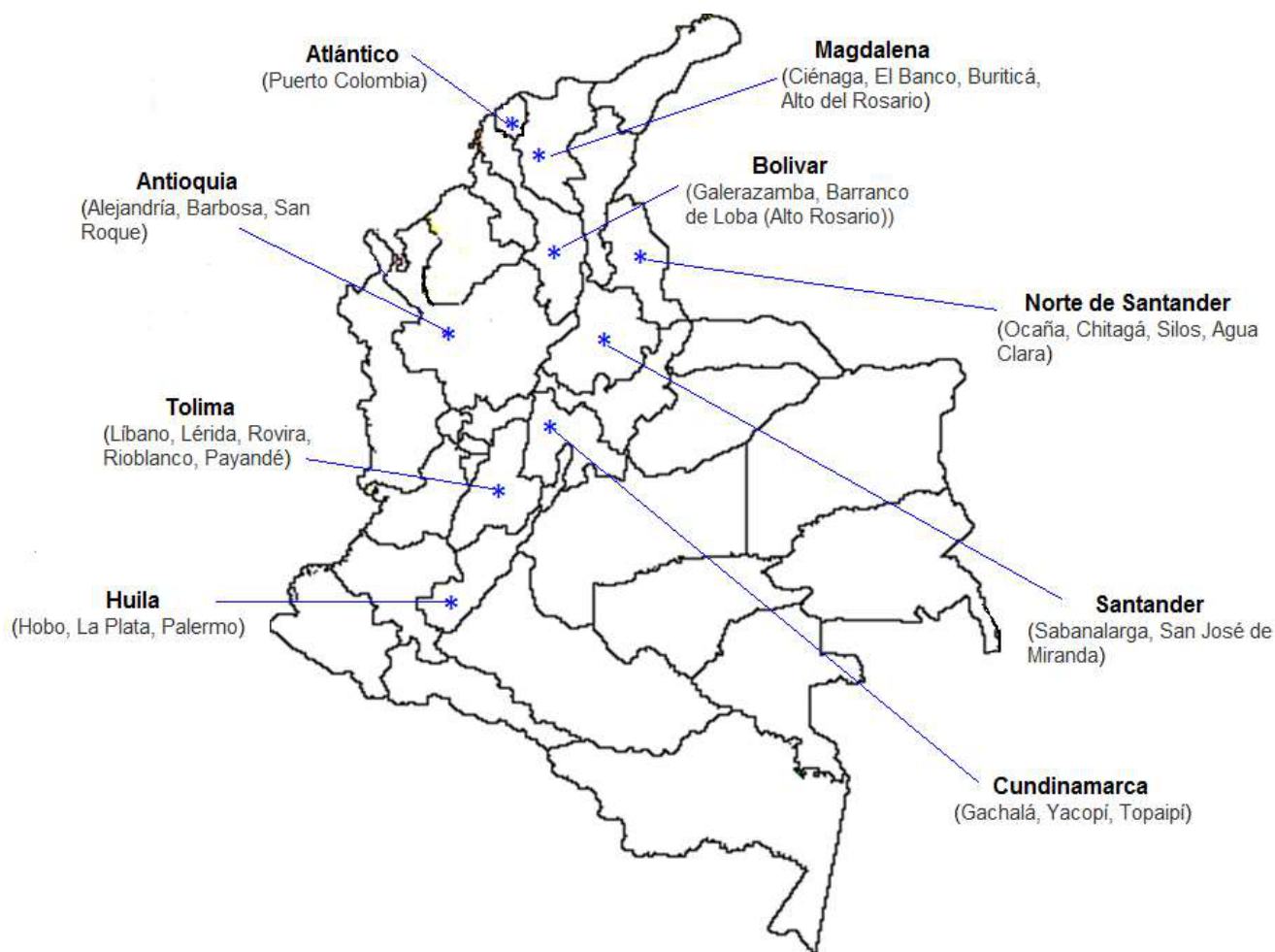


Figura 22. Localización de algunos yacimientos minerales de magnetita en Colombia, según la información de literatura (114, 116).

## Conclusiones

Evidentemente, las propiedades superficiales y estructurales de la magnetita ( $\text{FeFe}_2\text{O}_4$  o  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) proveen ciertas habilidades ácido-base y de óxido-reducción que potencializan el desempeño catalítico de esta estructura sólida en diversas reacciones de interés científico y tecnológico, debido a la presencia de especies  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{O}^{2-}$  accesibles en la superficie y al contenido coexistente de los cationes de hierro ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ). Adicionalmente, su estabilidad química y sus propiedades magnéticas han permitido dirigir la atención hacia este material como pieza clave en el diseño de nuevos catalizadores con tamaños nanométricos, fácilmente separables mediante la aplicación de campos magnéticos moderados, reutilizables en múltiples ciclos de reacción y con ventajas sobresalientes en la aplicación de catálisis heterogénea con énfasis en procesos ambientalmente favorables.

En la última década, este mineral de hierro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) se ha utilizado ampliamente en catálisis heterogénea: como catalizador másico particulado (en polvo); como soporte de nanopartículas metálicas y de óxidos de metales (por ejemplo, Pt, Pd, Au, Ir, Ru, Rh, Cu, Ni, Mo) activas para ciertas reacciones; en el diseño de sistemas core-shell con actividad catalítica y en el anclaje de complejos de iones metálicos, de organocatalizadores y de variados grupos funcionales capaces de catalizar reacciones orgánicas.

La magnetita como catalizador másico y los diversos catalizadores sólidos preparados mediante modificaciones de este óxido se han empleado con éxito en el desarrollo de reacciones orgánicas de oxidación-reducción, de síntesis multicomponente, de acoplamiento C-C, de alquilación y síntesis asimétricas, entre otras. Muchas de dichas reacciones se enmarcan en el contexto de la química fina, de la química verde, de la catálisis ambiental (fotocatálisis, procesos avanzados de oxidación y eliminación de compuestos orgánicos volátiles, COVs) y en general en el marco de la síntesis orgánica para la obtención de moléculas con actividad biológica y de productos e intermediarios de interés farmacéutico.

Finalmente, es necesario destacar los elevados niveles de conversión y de selectividad alcanzados en la gran mayoría de los sistemas catalíticos diseñados a partir de la magnetita y evaluados en las reacciones mencionadas, lo que genera gran expectativa sobre la versatilidad y la potencialidad de este mineral en el desarrollo de nuevos materiales sólidos con actividad catalítica en reacciones deseadas.

## Agradecimientos

Los autores ofrecen sus agradecimientos al Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por el apoyo logístico para el desarrollo completo de este trabajo.

## Referencias

- Gawande, M. B.; Branco, P. S.; Varma, R. S. Nano-magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) as a support for recyclable catalysts in the development of sustainable methodologies. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3371-3393. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3cs35480f>.
- Xu, L.; Ma, Y.; Zhang, Y.; Jiang, Z.; Huang, W. Direct evidence for the interfacial oxidation of CO with hydroxyls catalyzed by Pt/oxide nanocatalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16366-16367. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja908081s>.
- Anand, N.; Reddy, K.; Satyanarayana, T.; Rao, K.; Burri, D. A magnetically recoverable  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocatalyst for the synthesis of 2-phenylquinazolines under solvent-free conditions. *Catal. Sci. & Technol.* **2012**, *2*, 570-574. DOI: <https://doi.org/10.1039/c1cy00341k>.
- Rostamizadeh, S.; Shadjou, N.; Azad, M.; Jalali, N. ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)-MCM-41 as a magnetically recoverable nanocatalyst for the synthesis of pyrazolo[4,3-c]pyridines at room temperature. *Catal. Commun.* **2012**, *26*, 218-224. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2012.05.022>.
- Reddy, L. H.; Arias, J. L.; Nicolas, J.; Couvreur, P. Magnetic nanoparticles: Design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5818-5878. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr300068p>.
- Yang, C.; Wub, J.; Hou, Y. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanostructures: synthesis, growth mechanism, properties and applications. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5130-5141. DOI: <https://doi.org/10.1039/c0cc05862a>.
- Hu, F.; Mac Renaris, K. W.; Waters, E. A.; Liang, T.; Schultz-Sikma, E. A.; Eckermann, A. L. *et al.* Ultrasmall water-soluble magnetite nanoparticles with high relaxivity for magnetic resonance imaging. *J. Phys. Chem. C.* **2009**, *113*, 20855-20860. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp907216g>.
- Xiao, L.; Li, J.; Brougham, D. F.; Fox, E. K.; Feliu, N.; Bushmelev, A. *et al.* Water-soluble superparamagnetic magnetite nanoparticles with biocompatible coating for enhanced magnetic resonance imaging. *ACS Nano.* **2011**, *5*, 6315-6324. DOI: <https://doi.org/10.1021/nn201348s>.
- Pletneva, V. A.; Molchanov, V. S.; Philippova, O. E. Viscoelasticity of smart fluids based on wormlike surfactant micelles and oppositely charged magnetic particles. *Langmuir.* **2015**, *31*, 110-119. DOI: <https://doi.org/10.1021/la504399e>.
- Marková, Z.; Šišková, K.; Filip, J.; Šafářová, K.; Pucek, R.; Panáček, A. *et al.* Chitosanbased synthesis of magnetically-driven nanocomposites with biogenic magnetite core, controlled silver size, and high antimicrobial activity. *Green Chem.* **2012**, *14*, 2550-2558. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2gc35545k>.
- Costa, A.; Ballarin, B.; Spagni, A.; Casoli, F.; Gardini, D. Synthesis of nanostructured magnetic photocatalyst by colloidal approach and spray-drying technique. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *388*, 31-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.077>.
- Klein, C.; Hurlbut, C. S. Manual de mineralogía, vol. 2, ed. 21. Reverté: Barcelona, España, 1997; pp. 429-430.
- Rivas, J.; Iñiguez, J.; Moreno, E. A simple model for magnetic after-effects in magnetite at room temperature. *Appl. Phys. A.* **1987**, *42*, 133-137. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00616723>.
- Li, C.; Wei, R.; Xu, Y.; Sun, A.; Wei, L. Synthesis of hexagonal- and triangular Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanosheets via seed-mediated solvothermal growth. *Nano Res.* **2014**, *7*, 536-543. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12274-014-0421-3>.
- Wang, Z. L. Transmission Electron Microscopy of shape-controlled nanocrystals and their assemblies. *J. Phys. Chem. B.* **2000**, *104*, 1153-1175. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp993593c>.
- Cornell, R. M.; Schwertmann, U. The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses, 2th ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2003; pp. 32, 87-92.
- Schwertmann, U.; Cornell, R. M. The Iron Oxides in the Laboratory: preparation and characterization, 2th ed. Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 2000; pp. 135-140.
- Mazo-Zuluaga, J. Una mirada al estudio y las aplicaciones tecnológicas y biomédicas de la magnetita. *Revista EIA.* **2011**, *16*, 207-223.
- Callister, W. Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales, Vol. 2, ed. 3, Reverte: Barcelona, España, 2007; pp. 695-697.
- Mazo-Zuluaga, J.; Restrepo, J. Estudio Monte Carlo del comportamiento magnético e histerético de la magnetita. *Rev. Colomb. Fis.* **2006**, *38*, 1539-1542.
- Kumar, R.; Sakthivel, R.; Behura, R.; Mishra, B. K.; Das, D. Synthesis of magnetite nanoparticles from mineral waste. *J. Alloys Compd.* **2015**, *645*, 398-404. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.05.089>.
- Hou, Y.; Yua, J.; Gao, S. Solvothermal reduction synthesis and characterization of superparamagnetic magnetite nanoparticles. *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 1983-1987. DOI: <https://doi.org/10.1039/B305526D>.
- Bean, C.; Livingston, J. Superparamagnetism. *J. Appl. Phys.* **1959**, *30*, 120S-129S. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.2185850>.
- Yang, T.; Wen, X.; Cao, D.; Li, Y.; Wang, J.; Huo, C. Structures and energetics of H<sub>2</sub>O adsorption on the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (111) surface. *J. Fuel Chem. Technol.* **2009**, *37*, 506-512. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1872-5813\(10\)60006-0](https://doi.org/10.1016/s1872-5813(10)60006-0).
- Rim, K. T.; Eom, D.; Chan, S. W.; Flytzani-Stephanopoulos, M.; Flynn, G. W.; Wen, X. D. *et al.* Scanning Tunneling Microscopy and theoretical study of water adsorption on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: Implications for catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18979-18985. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja305294x>.
- Polshettiwar, V.; Varma, R. S. Green chemistry by nano-catalysis. *Green Chem.* **2010**, *12*, 743-754. DOI: <https://doi.org/10.1039/b921171c>.
- Ranganath, K.; Glorius, F. Superparamagnetic nanoparticles for asymmetric catalysis—a perfect match. *Catal. Sci. Technol.* **2011**, *1*, 13-22. DOI: <https://doi.org/10.1039/c0cy00069h>.
- Rajabi, F.; Karimi, N.; Saidi, M. R.; Primo, A.; Varma, R. S.; Luque, R. Unprecedented selective oxidation of styrene derivatives using a supported iron oxide nanocatalyst in aqueous medium. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 1707-1711. DOI: <https://doi.org/10.1002/adsc.201100630>.
- Vaddula, B. R.; Saha, A.; Leazer, J.; Varma, R. S. A simple and facile Heck-type arylation of alkenes with diaryliodonium salts using magnetically recoverable Pd-catalyst. *Green Chem.* **2012**, *14*, 2133-2136. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2gc35673b>.
- Barbaro, P.; Liguori, F.; Linares, N.; Marrodan, C. M. Heterogeneous bifunctional metal/acid catalysts for selective chemical processes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *24*, 3807-3823. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejic.201200529>.
- Polshettiwar, V.; Luque, R.; Fihri, A.; Zhu, H. B.; Bouhrara, M.; Bassett, J. M. Magnetically Recoverable Nanocatalysts. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3036-3075. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr100230z>.



32. Zeng, T.; Yang, L.; Hudson, R.; Song, G.; Moores, A. R.; Li, C. J. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticlesupported Cu(I) pybox catalyst: Magnetically recoverable catalyst for enantioselective direct-addition of terminal alkynes to imines. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 442-445. DOI: <https://doi.org/10.1021/ol102759w>.
33. Baeza, A.; Guillena, G.; Ramón, D. J. Magnetite and metal-impregnated magnetite catalysts in organic synthesis: A very old concept with new promising perspectives. *ChemCatChem.* **2016**, *8*, 49-67. DOI: <https://doi.org/10.1002/cctc.201500854>.
34. Martínez, R.; Ramón, D.; Yus, M. Selective N-monoalkylation of aromatic amines with benzylic alcohols by a hydrogen autotransfer process catalyzed by unmodified magnetite. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2176-2181. DOI: <https://doi.org/10.1039/b901929d>.
35. Zhang, Z.; Lu, H.; Yang, S.; Gao, J. Synthesis of 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones by three-component coupling of isatoic anhydride, amines, and aldehydes catalyzed by magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in water. *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 643-646. DOI: <https://doi.org/10.1021/cc100047j>.
36. Karami, B.; Hoseini, S. J.; Eskandari, K.; Ghasemi, A.; Nasrabadi, H. Synthesis of xanthene derivatives by employing Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as an effective and magnetically recoverable catalyst in water. *Catal. Sci. Technol.* **2012**, *2*, 331-338. DOI: <https://doi.org/10.1039/c1cy00289a>.
37. Firouzabadi, H.; Iranpoor, N.; Gholinejad, M.; Hoseini, J. Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticlescatalyzed Sonogashira-Hagihara reactions in ethylene glycol under ligand-free conditions. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*: 125 - 132. DOI: <https://doi.org/10.1002/adsc.201000390>.
38. Mojtahedi, M.M.; Saeed-Abae, M.; Rajabi, A.; Mahmoodi, P.; Bagherpoor, S. Recyclable superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for efficient catalysis of thiolysis of epoxides. *J. Mol. Catal. A.* **2012**, *361-362*, 68-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2012.05.004>.
39. Parella, R.; Naveen; Babu, S. A. Magnetic nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> as heterogeneous catalysts: A green method for the stereo- and regioselective reactions of epoxides with indoles/pyrroles. *Catal. Commun.* **2012**, *29*, 118-121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2012.09.030>.
40. Saadatjoo, N.; Golshekan, M.; Shariati, S.; Azizi, P.; Nemati, F. Ultrasound-assisted synthesis of β-amino ketones via a Mannich reaction catalyzed by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetite nanoparticles as an efficient, recyclable and heterogeneous catalyst. *Arabian J. Chem.* **2017**, *10* (1), S735-S741. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.11.018>.
41. Gawande, M.; Rathi, A.; Branco, P.; Nogueira, I.; Velhinho, A.; Shrikhande, J. et al. Regioand chemoselective reduction of nitroarenes and carbonyl compounds over recyclable magnetic ferrite-nickel nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Ni) by using glycerol as a hydrogen source. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 12628-12632. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.201202380>.
42. Gawande, M.; Branco, P.; Nogueira, I.; Ghumman, C.; Bundaleski, N.; Santos, A. et al. Catalytic applications of a versatile magnetically separable Fe-Mo (Nanocat-Fe-Mo) nanocatalyst. *Green Chem.* **2013**, *15*, 682-689. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3gc36844k>.
43. Lin, F.; Doong, R. Bifunctional Au-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> heterostructures for magnetically recyclable catalysis of nitrophenol reduction. *J. Phys. Chem.* **2011**, *115*, 6591-6598. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp110956k>.
44. Huang, J.; Dai, W. L.; Fan, K. Remarkable support crystal phase effect in Au/FeO<sub>x</sub> catalyzed oxidation of 1,4-butanediol to γ-butyrolactone. *J. Catal.* **2009**, *266*, 228-235. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2009.06.011>.
45. Goergen, S.; Yin, C.; Yang, M.; Lee, B.; Lee, S.; Wang, C. et al. Structure sensitivity of oxidative dehydrogenation of cyclohexane over FeO<sub>x</sub> and Au/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocrystals. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 529-539. DOI: <https://doi.org/10.1021/cs3007582>.
46. Cano, R.; Yus, M.; Ramón, D. J. Impregnated platinum on magnetite as an efficient, fast, and recyclable catalyst for the hydrosilylation of alkynes. *ACS Catal.* **2012**, *2*, 1070-1078. DOI: <https://doi.org/10.1021/cs300056e>.
47. Liu, J.; Pen, X.; Sun, W.; Zhao, Y.; Xia, C. Magnetically separable Pd catalyst for carbonylative Sonogashira coupling reactions for the synthesis of α,β-alkynyl ketones. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3933-3936. DOI: <https://doi.org/10.1021/ol801478y>.
48. Sá, S.; Gawande, M. B.; Velhinho, A.; Veiga, J. P.; Bundaleski, N.; Trigueiro, J. et al. Magnetically recyclable magnetite-palladium (Nanocat-Fe-Pd) nanocatalyst for the Buchwald-Hartwig reaction. *Green Chem.* **2014**, *16*, 3494-3500. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4gc00558a>.
49. Cano, R.; Yus, M.; Ramón, D. J. First practical cross-alkylation of primary alcohols with a new and recyclable impregnated iridium on magnetite catalyst. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 7628-7630. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2cc33101b>.
50. Kotani, M.; Koike, T.; Yamaguchi, K.; Mizuno, N. Ruthenium hydroxide on magnetite as a magnetically separable heterogeneous catalyst for liquid-phase oxidation and reduction. *Green Chem.* **2006**, *8*, 735-741. DOI: <https://doi.org/10.1039/b603204d>.
51. Nishizawa, K.; Kato, H.; Mimori, K.; Yoshida, T.; Hasegawa, N.; Tsuji, M. et al. Methanation of carbon deposited directly from CO<sub>2</sub> on rhodium-bearing activated magnetite. *J. Mater. Sci.* **1994**, *29*, 768-772. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00445992>.
52. Cano, R.; Pérez, J.; Ramón, D. Osmium impregnated on magnetite as a heterogeneous catalyst for the syn-dihydroxylation of alkenes. *Appl. Catal. A.* **2014**, *470*, 177-182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2013.10.050>.
53. Shelke, S.; Bankar, S.; Mhaske, G.; Kadam, S.; Murade, D.; Bhorkade, S. et al. Iron oxidesupported copper oxide nanoparticles (Nanocat-Fe-CuO): Magnetically recyclable catalysts for the synthesis of pyrazole derivatives, 4-methoxyaniline, and Ullmann-type condensation reactions. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2014**, *2*, 1699-1706. DOI: <https://doi.org/10.1021/sc500160f>.
54. Rojas, F.; Merchan, D.; Pellón, R.; Kouznetsov, V. Síntesis de ácidos n-fenil y nbencilantránílicos mediante reacción de Ullmann y evaluación de su actividad antioxidante e inhibidora de acetilcolinesterasa. *Revista CENIC Ciencias Químicas.* **2010**, *41*, 123-129.
55. Aliaga, M. J.; Ramón, D. J.; Yus, M. Impregnated copper on magnetite: an efficient and green catalyst for the multicomponent preparation of propargylamines under solvent free conditions. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 43-46. DOI: <https://doi.org/10.1039/b917923b>.
56. Pérez, J. M.; Cano, R.; Ramón, D. Multicomponent azide-alkyne cycloaddition catalyzed by impregnated bimetallic nickel and copper on magnetite. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 23943-23951. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4ra03149k>.
57. Cano, R.; Yus, M.; Ramón, D. J. Impregnated copper or palladium-copper on magnetite as catalysts for the domino and stepwise Sonogashira-cyclization processes: a straightforward synthesis of benzo[b]furans and indoles. *Tetrahedron.* **2012**, *68* 1393-1400. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.12.042>.

58. Kokate, M.; Dapurkar, S.; Garadkar, K.; Gole, A. Magnetite–silica–gold nanocomposite: One-pot single-step synthesis and its application for solvent-free oxidation of benzyl alcohol. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 14214–14223. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b03077>.
59. Shah, M. T.; Balouch, A.; Rajar, K.; Sirajuddin; Brohi I. A.; Umar A. A. Selective heterogeneous catalytic hydrogenation of ketone (C=O) to alcohol (OH) by magnetite nanoparticles following Langmuir–Hinshelwood kinetic approach. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 6480–6489. DOI: <https://doi.org/10.1021/am507778a>.
60. Hu, A.; Yee, G. T.; Lin, W. Magnetically recoverable chiral catalysts immobilized on magnetite nanoparticles for asymmetric hydrogenation of aromatic ketones. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12486–12487. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja053881o>.
61. Hu, A.; Liu, S.; Lin, W. Immobilization of chiral catalysts on magnetite nanoparticles for highly enantioselective asymmetric hydrogenation of aromatic ketones. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 2576–2580. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2ra01073a>.
62. Kupersmidt, L.; Weinreb, O.; Amit, T.; Mandel, S.; Bar-Am, O.; Youdim, M. Novel molecular targets of the neuroprotective/neurorescue multimodal iron chelating drug M30 in the mouse brain. *Neuroscience* **2011**, *189*, 345–358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.03.040>.
63. Movassagh, B.; Takallou, A.; Mobaraki, A. Magnetic nanoparticle-supported Pd(II)-cryptand 22 complex: An efficient and reusable heterogeneous precatalyst in the Suzuki–Miyaura coupling and the formation of aryl–sulfur bonds. *J. Mol. Catalysis A* **2015**, *401*, 55–65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2015.03.002>.
64. Berkessel, A.; Groger, H. Asymmetric organocatalysis—From biomimetic concepts to applications in asymmetric synthesis. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.: Weinheim, Germany, 2005; pp. 1–2.
65. Gruttadauria, M.; Giacalone, F.; Noto, R. Supported proline and proline-derivatives as recyclable organocatalysts. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1666–1688. DOI: <https://doi.org/10.1039/b800704g>.
66. Chouhan, G.; Wang, D.; Alper, H. Magnetic nanoparticle-supported proline as a recyclable and recoverable ligand for the CuI catalyzed arylation of nitrogen nucleophiles. *Chem. Commun.* **2007**, *45*, 4809–4811. DOI: <https://doi.org/10.1039/b711298j>.
67. Mrówczyński, R.; Nan, A.; Liebscher, J. Magnetic nanoparticle-supported organocatalysts: an efficient way of recycling and reuse. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 5927–5952. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3ra46984k>.
68. Karaoglu, E.; Baykal, A.; Senel, M.; Sözüer, H.; Toprak, M. S. Synthesis and characterization of piperidine-4-carboxylic acid functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as a magnetic catalyst for Knoevenagel reaction. *Mater. Res. Bull.* **2012**, *47*, 2480–2486. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2012.05.015>.
69. Akceylan, E.; Uyanik, A.; Eymur, S.; Sahin, O.; Yilmaz, M. Calixarene-proline functionalized iron oxide magnetite nanoparticles (Calix-Pro-MN): An efficient recyclable organocatalysts for asymmetric aldol reaction in water. *Appl. Catal. A* **2015**, *499*, 205–212. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2015.04.018>.
70. Kalhafi-Nezhad, A.; Nourisefat, M.; Panahi, F. L-Cysteine functionalized magnetic nanoparticles (LCMNPs): a novel magnetically separable organocatalyst for one-pot synthesis of 2-amino-4H-chromene-3-carbonitriles in water. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7772–7779. DOI: <https://doi.org/10.1039/c5ob01030f>.
71. Gawande, M.; Belhindo, A.; Nogueira, I.; Ghumman, C.; Teodoro, O.; Branco, P. A facile synthesis of cysteine–ferrite magnetic nanoparticles for application in multicomponent reactions—a sustainable protocol. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 6144–6149. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2ra20955a>.
72. Arundhathi, R.; Damodara, D.; Likhar, P.; Kantam, M.; Saravanan, P.; Magdaleno, T. et al. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@mesoporous polyaniline: A highly efficient and magnetically separable catalyst for cross-coupling of aryl chlorides and phenols. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 1591–1600. DOI: <https://doi.org/10.1002/adsc.201000977>.
73. Saberi, D.; Cheraghi, S.; Mahdudi, S.; Akbari, F.; Heydari, A. Dehydroascorbic acid (DHAA) capped magnetite nanoparticles as an efficient magnetic organocatalyst for the one-pot synthesis of  $\alpha$ -aminonitriles and  $\alpha$ -aminophosphonates. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6403–6406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.09.032>.
74. Isaad, J. Acidic ionic liquid supported on silica-coated magnetite nanoparticles as a green catalyst for one-pot diazotization–halogenation of the aromatic amines. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 49333–49341. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4ra05705h>.
75. Xue, X.; Hanna, K.; Abdelmoula, M.; Deng, N. Adsorption and oxidation of PCP on the surface of magnetite: Kinetic experiments and spectroscopic investigations. *Appl. Catal. B.* **2009**, *89*, 432–440. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2008.12.024>.
76. Sun, S. P.; Lemley, A. T. p-nitrophenol degradation by a heterogeneous Fenton-like reaction on nano-magnetite: Process optimization, kinetics, and degradation pathways. *J. Mol. Catal. A.* **2011**, *349*, 71–79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2011.08.022>.
77. Lee, H. K.; Do, S. H.; Kong, S. H. The role of magnetite nano particle (MNP) to oxidize nitrobenzene using heterogeneous Fenton reaction. Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science. International Association of Engineers: San Francisco, USA, 2010; p.p. 717–720.
78. Muñoz, M.; de Pedro, Z. M.; Casas, J. A.; Rodríguez, J. J. Preparation of magnetite-based catalysts and their application in heterogeneous Fenton oxidation – A review. *Appl. Catal. B.* **2015**, *176–177*, 249–265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.04.003>.
79. Zhang, J.; Zhuang, J.; Gao, L.; Zhang, Y.; Gu, N.; Feng, J. et al. Decomposing phenol by the hidden talent of ferromagnetic nanoparticles. *Chemosphere.* **2008**, *73*, 1524–1528. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.05.050>.
80. He, H.; Zhong, Y.; Liang, X.; Tan, W.; Zhu, J.; Wang, C. Y. Natural Magnetite: an efficient catalyst for the degradation of organic contaminant. *Sci. Rep.* **2015**, *5* (10139), 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep10139>.
81. Minella, M.; Marchetti, G.; de Laurentiis, E.; Malandrino, M.; Maurino, V.; Minero, C. et al. Photo-Fenton oxidation of phenol with magnetite as iron source. *Appl. Catal. B.* **2014**, *154–155*, 102–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.02.006>.
82. Pouran, S. R.; Raman, A. A.; Daud, W. M. Review on the application of modified iron oxides as heterogeneous catalysts in Fenton reactions. *J. Cleaner Prod.* **2014**, *64*, 24–35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.09.013>.
83. Reza, K. M.; Kurny, A.; Gulshan, F. Photocatalytic degradation of methylene blue by magnetite + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + UV Process. *Int. J. Environ. Sci. Dev.* **2016**, *7*, 325–329. DOI: <https://doi.org/10.7763/ijesd.2016.v7.793>.

84. Hou, L.; Wang, L.; Royer, S.; Zhang, H. Ultrasound-assisted heterogeneous Fenton-like degradation of tetracycline over a magnetite catalyst. *J. Hazard. Mater.* **2016**, *302*, 458–467. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.09.033>.
85. Cheng, J. P.; Ma, R.; Li, M.; Wu, J. S.; Liu, F.; Zhang, X. B. Anatase nanocrystals coating on silica-coated magnetite: Role of polyacrylic acid treatment and its photocatalytic properties. *Chem. Eng. J.* **2012**, *210*, 80–86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.08.059>.
86. Chang, Y. J.; Lin, C. H.; Hwa, M. Y.; Hsieh, Y. H.; Cheng, T. C.; Chang, C. Y. Study on the decomposition of isopropyl alcohol by using microwave/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> catalytic system. *J. Environ. Eng. Manage.* **2010**, *20*, 63–68.
87. Choi, J. S.; Youn, H. K.; Kwak, B. H.; Wang, Q.; Yang, K. S.; Chung, J. S. Preparation and characterization of TiO<sub>2</sub>-masked Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for enhancing catalytic combustion of 1,2-dichlorobenzene and incineration of polymer wastes. *Appl. Catal. B.* **2009**, *91*, 210–216. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2009.05.026>.
88. Meshkani, F.; Rezaei, M. Preparation of mesoporous nanocrystalline iron based catalysts for high temperature water gas shift reaction: Effect of preparation factors. *Chem. Eng. J.* **2015**, *260*, 107–116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.08.080>.
89. Meshkani, F.; Rezaei, M. A facile method for preparation of iron based catalysts for high temperature water gas shift reaction. *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, *20*, 3297–3302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.12.011>.
90. Lei, Y.; Cant, N. W.; Trimm, D. L. Kinetics of the water–gas shift reaction over a rhodiumpromoted iron–chromium oxide catalyst. *Chem. Eng. J.* **2005**, *114*, 81–85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2005.09.012>.
91. Martos, C.; Dufour, J.; Ruiz, A. Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-based catalysts for the high-temperature water gas shift reaction. *Int. J. Hydrogen Energy.* **2009**, *34*, 4475–4481. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.08.042>.
92. Meshkani, F.; Rezaei, M. Simplified direct pyrolysis method for preparation of nanocrystalline iron based catalysts for H<sub>2</sub> purification via high temperature water gas shift reaction. *Chem. Eng. Res. Des.* **2015**, *95*, 288–297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.11.006>.
93. Subramanian, V.; Jeong, D. W.; Han, W. B.; Jang, W. J.; Shim, J. O.; Roh, H. S. H<sub>2</sub> production from high temperature shift of the simulated waste derived synthesis gas over magnetite catalysts prepared by citric acid assisted direct synthesis method. *Int. J. Hydrogen Energy.* **2013**, *38*, 8699–8703. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.05.022>.
94. Topsøe, H.; Boudart, M. Mössbauer spectroscopy of CO shift catalysts promoted with lead. *J. Catal.* **1973**, *31*, 346–359. DOI: [https://doi.org/10.1016/0021-9517\(73\)90304-7](https://doi.org/10.1016/0021-9517(73)90304-7).
95. Rangel, M. C.; Sasaki, R. M.; Galembeck, F. Effect of chromium on magnetite formation. *Catal. Lett.* **1995**, *33*, 237–254. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00814228>.
96. Lendzion-Bielun, Z.; Jedrzejewski, R.; Ekiert, E.; Arabczyk, W. Heterogeneity of ingot of the fused iron catalyst for ammonia synthesis. *Appl. Catal. A.* **2011**, *400*, 48–53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2011.04.010>.
97. Yu, X.; Lin, B.; Lin, J.; Wang, R.; Wei, K. A novel fused iron catalyst for ammonia synthesis promoted with rare earth gangue. *J. Rare Earths.* **2008**, *26*, 711–716. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1002-0721\(08\)60168-4](https://doi.org/10.1016/s1002-0721(08)60168-4).
98. Liu, H. Ammonia synthesis catalyst 100 years: Practice, enlightenment and challenge. *Chin. J. Catal.* **2014**, *35*, 1619–1640. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(14\)60118-2](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(14)60118-2).
99. Cinti, G.; Frattini, D.; Jannelli, E.; Desideri, U.; Bidini, G. Coupling solid oxide electrolyser (SOE) and ammonia production plant. *Appl. Energy.* **2017**, *192*, 466–476. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.09.026>.
100. Giddey, S.; Badwal, S.P.S.; Kulkarni, A. Review of electrochemical ammonia production technologies and materials. *Int. J. Hydrogen Energy.* **2013**, *38*, 14576–14594. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.09.054>.
101. Liu, H.; Li, X. Precursor of iron catalyst for ammonia synthesis: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Fe<sub>1-x</sub>O, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> or their mixture? *Stud. Surf. Sci. Catal.* **2000**, *130*, 2207–2212. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0167-2991\(00\)80796-x](https://doi.org/10.1016/s0167-2991(00)80796-x).
102. Zheng, Y. F.; Liu, H. Z.; Liu, Z. J.; Li, X. N. In situ X-ray diffraction study of reduction processes of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>- and Fe<sub>1-x</sub>O based ammonia-synthesis catalysts. *J. Solid State Chem.* **2009**, *182*, 2385–2391. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2009.06.030>.
103. Prozorov, T. Magnetic microbes: Bacterial magnetite biomineralization. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2015**, *46*, 36–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.09.003>.
104. Long, J.; Yu, X.; Xu, E.; Wu, Z.; Xu, X.; Jin, Z. et al. In situ synthesis of new magnetite chitosan/carrageenan nanocomposites by electrostatic interactions for protein delivery applications. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *131*, 98–107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.058>.
105. Sivakumar, B.; Aswathy, R.; Nagaoka, Y.; Suzuki, M.; Fukuda, T.; Yoshida, Y. et al. Multifunctional carboxymethyl cellulose-based magnetic nanovector as a theragnostic system for folate receptor targeted chemotherapy, imaging, and hyperthermia against cancer. *Langmuir.* **2013**, *29*, 3453–3466. DOI: <https://doi.org/10.1021/la305048m>.
106. Ivashchenko, O.; Lewandowski, M.; Peplińska, B.; Jarek, M.; Nowaczyk, G.; Wiesner, M. et al. Synthesis and characterization of magnetite/silver/antibiotic nanocomposites for targeted antimicrobial therapy. *Mater. Sci. Eng. C.* **2015**, *55*, 343–359. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.023>.
107. German, S.; Navolokin, N.; Kuznetsova, N.; Zuev, V.; Inozemtseva, O.; Anis, A. et al. Liposomes loaded with hydrophilic magnetite nanoparticles: Preparation and application as contrast agents for magnetic resonance imaging. *Colloids and Surf. B.* **2015**, *135*: 109–115. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.042>.
108. Petcharoen, K.; Sirivat, A. Magneto-electro-responsive material based on magnetite nanoparticles/polyurethane composites. *Mater. Sci. Eng. C.* **2016**, *61*: 312–323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.014>.
109. Jiang, F.; Zhang, Y.; Wang, Z. Combination of magnetic and enhanced mechanical properties for copolymer-grafted magnetite Composite thermoplastic elastomers. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2015**, *7*, 10563–10575. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.5b02208>.
110. Jiang, F.; Wang, Z.; Qiao, Y.; Wang, Z.; Tang, C. A novel architecture toward thirdgeneration thermoplastic elastomers by a grafting strategy. *Macromolecules.* **2013**, *46*, 4772–4780. DOI: <https://doi.org/10.1021/ma4007472>.
111. Suanon, F.; Sun, Q.; Mama, D.; Li, J.; Dimon, B.; Yu, C. Effect of nanoscale zero-valent iron and magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) on the fate of metals during anaerobic digestion of sludge. *Water Res.* **2016**, *88*, 897–903. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.014>.

112. Hozhabr, S.; Entezari, M.; Chamsaz, M. Modification of mesoporous silica magnetite nanoparticles by 3-aminopropyltriethoxysilane for the removal of Cr (VI) from aqueous solution. *Microporous Mesoporous Mater.* **2015**, *218*, 101-111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2015.07.008>.
113. Galvis, J. Análisis de la génesis mineral en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exactas, Fis. Nat.* **1990**, *17*, 753-777.
114. Ulloa-Melo, C. Minerales de Hierro. Recursos Minerales de Colombia, Tomo I, 2ª ed. Villegas-Betancourt A., Ed.; Ingeominas: Bogotá, Colombia, 1987; pp. 220-249.
115. Manosalva, S. R.; Naranjo, W. E. Caracterización metalográfica de las manifestaciones de mineral de hierro, Paipa (Boyacá, Colombia). *Boletín de Ciencias de la Tierra.* **2007**, *20*, 89-99.
116. Mutis, V. Catálogo de los yacimientos, prospectos y manifestaciones minerales de Colombia. Ingeominas: Bogotá, Colombia, 1983; pp. 186-196.
117. Forero, A.; Díaz, S. Beneficio de una magnetita para producción de pellets utilizados en procesos de reducción directa. *Scientia et Technica.* **2007**, *36*, 793-796.
118. Vargas, J.; Castañeda, E.; Forero, A.; Díaz, S. Obtención de hierro a partir de arenas negras del Atlántico colombiano desembocadura Río Magdalena. *Revista de la Facultad de Ingeniería.* **2011**, *26*, 19-26.
119. Ardila, M.; Triviño, P.; Torres, E.; Molina, C. Desarrollo de materiales, procesos y equipos magnetorreológicos para beneficio de minerales. Segundo Congreso Internacional sobre Tecnologías Avanzadas de Mecatrónica, Diseño y Manufactura - AMDM. Ediciones Universidad Central: Bogotá, Colombia, 2014; p.p. 1-6.
120. Triviño, M.; Ardila, M.; Torres, E. A. Implementación de fluidos magnetorreológicos para beneficio de minerales. *Prospectiva.* **2010**, *8*, 77-86.

**Article citation:**

Noval, V. E.; Ochoa-Puentes, C.; Carriazo, J. G. Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 42-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n1.62831>.



Davier Olarte Cárdenas<sup>1</sup>, Luis Carlos Moreno Aldana<sup>1</sup>,  
Edgar Delgado Mejía<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia,  
Carrera 30 No 45-03

\*Autor para correspondencia: edelgadam@unal.edu.co

Recibido: 25 de Agosto de 2016. Aceptado: 12 de Diciembre de 2016.

## Síntesis de monetita pura por reacción heterogénea ácido-base

### Resumen

Se estudiaron cinco variaciones del procedimiento de síntesis de monetita modificando la agitación, la velocidad de adición de ácido fosfórico, la homogenización y la temperatura de secado. Los productos se caracterizaron por difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS), relación Ca/P (por titulación de calcio con permanganato de potasio y valoración colorimétrica de fósforo por la formación del complejo azul de molibdeno) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Los resultados de DRX, espectroscopía infrarroja y la relación Ca/P señalan que el fosfato sintetizado corresponde a monetita pura. Se encontró que los factores de síntesis que más afectan las propiedades de composición, estructura cristalina, relación Ca/P y forma y tamaño de grano de los fosfatos sintetizados son la relación estequiométrica de los reactantes y la mecanoactivación de sólido con sobrenadante.

**Palabras clave:** monetita, brushita, DCPA, fosfatos de calcio, DCPD, hidroxiapatita, síntesis de fosfatos.

## Synthesis of pure monetite by heterogeneous acid-base reaction

### Abstract

Five variations of the monetite (M) synthesis were evaluated modifying the stirring, the phosphoric acid addition rate, the homogeneity and the drying temperature. Products were assessed by means of XRD, FTIR, SEM-EDS analysis and chemical assay of Ca/P (calcium by titration with potassium permanganate and phosphorus by colorimetric assessment of the molybdenum blue complex). X-ray diffraction, infrared spectroscopy and Ca/P ratio indicate that the synthesized phosphate corresponds to pure monetite. It was found that the most influential factors affecting grain composition, crystal size, shape and structure as well as Ca/P molar ratio of synthesized phosphates were stoichiometry and ballmilling mechanoactivation.

**Keywords:** monetite, brushite, DCPA, calcium phosphates, DCPD, hydroxyapatite, phosphates synthesis.

## Síntese de monetita pura por reação heterogênea ácido-base

### Resumo

Foram estudadas cinco variações do método de síntese de monetita (M) modificando a agitação, a velocidade de adição do ácido fosfórico, a homogeneização e a temperatura de secagem. Os produtos foram caracterizados por difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (SEM-EDS), relação Ca/P (Titulação de cálcio com permanganato de potássio e titulação de fósforo pela avaliação colorimétrica do complexo azul de molibdênio), e espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os resultados de DRX, FTIR e relação Ca/P indicam que o fosfato sintetizado corresponde a monetita pura. Foi encontrado que os fatores de síntese que mais afetam as propriedades da composição, estrutura cristalina, relação Ca/P e a forma e tamanho de grão dos fosfatos sintetizados são a proporção estequiométrica e a mecanoativação do sólido com o sobrenadante.

**Palavras-Chave:** monetita, brushita, DCPA, fosfatos de cálcio, DCPD, hidroxiapatita, síntese de fosfatos.

## Introducción

Los fosfatos de calcio son abundantes en la naturaleza y son parte mayoritaria de los compuestos inorgánicos presentes en muchos seres vivos por lo que son importantes en la tecnología, la química, la geología, la odontología y la medicina en donde sobresalen por su aplicación como biomateriales. Hay más de una docena de fases de ortofosfatos cálcicos, los más estudiados han sido la hidroxiapatita (HA) y el fosfato tricalcico (TCP por su sigla inglesa). Las fases más ácidas también tienen aplicaciones pero en comparación han sido menos estudiadas. Dentro de las cuatro fases ácidas se encuentran la brushita (B), también conocida como fosfato dicalcico dihidratado, DCPD (dicalcium phosphate dihydrate), calcio monohidrógeno ortofosfato dihidrato (nombre IUPAC) o  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , y la monetita (M) o DCPA (dicalcium phosphate anhydrous), calcio monohidrógeno ortofosfato anhidro (nombre IUPAC) o  $\text{CaHPO}_4$  (1).

Las fracturas, la mineralización anormal y muchos otros desordenes patológicos hacen necesaria la sustitución, la reparación de los tejidos duros o el estudio detallado de materiales en que la M o la B (llamadas DCPs de aquí en adelante cuando se trate de ambas) juegan un papel importante en forma directa o como parte de cementos biocompatibles para adhesión o relleno de defectos (2). En algunos cementos los DCPs no son componentes de partida sino productos del fraguado y posteriormente por la acción biológica y fisicoquímica se convierten en fases más estables como la apatita (A) (2-7).

La B se encuentra en mineralizaciones patológicas como en la pseudogota (o condrocalcinosis, un desorden reumatológico) en donde se halla DCPD, A y pirofosfato dicálcico dihidratado (8); también se encuentra en cálculos renales, dentales, urinarios y en lesiones cariosas (9). Las M y B no existen en tejidos duros sanos y son importantes porque cuando se someten a condiciones fisiológicas normales (implantes) desaparecen convirtiéndose en apatitas de tejidos duros sanos.

Los DCPs son metaestables (10) razón por la que se les adicionan en diferentes proporciones estabilizadores como el pirofosfato de sodio o el ortofosfato trimagnésico octahidratado, para evitar la degradación que puede convertirlos en HA, especialmente cuando los DCPs entran en contacto con agua y medios fisiológicos (11). De aquí se puede inferir que el sodio, el magnesio, el fosfato y/o el pirofosfato estabilizan los DCPs, es decir, inhiben las diferentes cinéticas de sus múltiples transformaciones.

Numerosos estudios han demostrado que son muchos los iones que afectan las propiedades y reacciones de los DCPs estabilizándolos o también orientando sus reacciones hacia productos diferentes. LeGeros *et al.* (12) encontraron que siempre que usaban soluciones acuosas de  $\text{Ca}^{2+}$  con concentraciones entre 1 y 3 mM y  $\text{PO}_4^{3-}$  menor a 10 mM, se producía por nucleación heterogénea octacalciofosfato (OCP), si además se encontraba  $\text{Mg}^{2+}$  con una relación Mg/Ca menor o igual a 1. En el mismo experimento con relación Mg/Ca mayor que 1 no se produce OCP sino B. Este OCP con más tiempo se convierte en apatita.

LeGeros *et al.* (12) no mencionan transformaciones de la B formada y se puede entender que esto sucedió porque se tiene una B que contiene magnesio y por lo tanto está estabilizada y no se modifica. Los resultados fueron muy diferentes cuando se emplearon soluciones con  $\text{Ca}^{2+}$  en concentración 3 mM y  $\text{PO}_4^{3-}$  igual o superior a 10 mM, en donde se obtuvo una nucleación homogénea de un fosfato cálcico-magnésico amorfo inestable que se transformó en HA, en B, en whitlockita (W) o en newberyita, dependiendo del valor del cociente Mg/Ca y de la concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Madsen y Pedersen (13) estudiaron el efecto de 14 iones metálicos di y trivalentes sobre las transformaciones de la B. El magnesio en concentraciones de  $10^{-4}$  M dirige la reacción de B convirtiéndose en W y no en OCP o en HA; el plomo induce la precipitación de fosfato de calcio y el cobre inhibe la conversión de B en OCP. Concluyen que la mayoría de iones di y trivalentes inhiben la conversión de la B. Si no se tiene un control de las impurezas, los cementos y demás materiales preparados por reacción de B o de M pueden terminar en productos diferentes a las apatitas deseadas (OCP, A, W o fosfatos de calcio amorfos o ACPs por su sigla inglesa) (ver Tabla 1) que tienen diferentes propiedades mecánicas y biofisicoquímicas.

En el caso de cementos de fosfatos de calcio que forman B y/o M se ha encontrado que la adición de NaCl (ejemplo de iones monovalentes) en alta concentración facilita la precipitación de M en tiempos más cortos y que se obtiene una mezcla de B/M cuyo cociente disminuye de forma inversamente proporcional con la concentración de NaCl (14).

Suguna y Sekar (15) estudiaron el efecto del Sr sobre la síntesis y formación de cristales de B y encontraron que en la síntesis se obtiene B con M y HA. Estos resultados coinciden más o menos con otros estudios del sistema de DCPs con Sr, pero queda una sombra de duda ya que la M o B empleada por estos autores se obtuvo por reacción líquido-líquido de una solución de nitrato de calcio y otra de fosfato de potasio, sin especificar los efectos del anión nitrato ni del catión potasio sobrantes de la reacción (nitrato de potasio que queda incluido dentro del sólido de fosfatos de calcio). Ya se ha demostrado que estos iones monovalentes también tienen efectos sobre las propiedades, la cinética y las reacciones (14).

Los fosfatos de calcio, en particular la M y la B, se obtienen por numerosos métodos, entre los cuales se encuentran la síntesis por vía húmeda, síntesis por vía seca, proceso sol-gel, proceso hidrotermal y reacción ácido-base, entre otros (16-22). A través de estos métodos generalmente se obtienen mezclas de varios fosfatos de calcio con otras impurezas orgánicas y/o inorgánicas.

Ahora bien, los iones foráneos en la producción de DCPs provienen de los materiales de partida y del método de síntesis empleado. Aquellos que se generan en los materiales de partida se minimizan escogiendo materiales que contengan contaminantes en concentraciones conocidas y muy pequeñas, además, que el contenido de estabilizantes sea informado correctamente por el fabricante. La exigencia de estudiar, comprobar y cuantificar las impurezas y aditivos de los reactivos hace que sea preferible la síntesis *in situ*.

Los que se generan por el método de síntesis se controlan seleccionando una ruta que no introduzca iones y que no genere iones diferentes a los de la red cristalina de los fosfatos de calcio. Se deben evitar métodos que usen sales solubles como nitratos, acetatos o cloruros de calcio, fosfatos de sodio, potasio o amonio, que inevitablemente quedan incluidos en los sólidos aún después de sinterizar, cosa imposible con la M o B. Algunos contaminantes se eliminan cuando se sinterizan los sólidos para mejorar su cristalinidad, terminar la reacción y eliminar aditivos como es el caso del amonio, pero dejan vacantes que alteran la estequiometría del producto. Los métodos que utilizan tensoactivos, polímeros, defloculantes, emulsionantes pueden producir iones indeseados. Son numerosos los artículos en que la síntesis se hace en solución por ser mucho más expedita y fácil. Por ejemplo, el uso de cloruro de calcio y fosfato de sodio como sales solubles también forman NaCl y este afecta la cinética y la relación M/B en el producto final (14).

Otros autocontaminantes son el agua y los iones de calcio y fosfatos cuando no se encuentran en proporciones exactamente estequiométricas e idénticas con la fase que se desea obtener, debido a que inducirán en alguna proporción otras fases fosfocálcicas como MCPM, MCPA (ver Tabla 1) para reactantes con Ca/P <1,0 y TCP, OCP, ACP, HA para Ca/P > 1. La forma de controlar la autocontaminación es trabajar con una estequiometría precisamente calculada y evitar perder cualquiera de los iones en los pasos de la síntesis. El control del agua en el producto final es importante pues de lo contrario se puede terminar con mezclas de M y B que no permiten hacer cálculos estequiométricos precisos y pueden conducir a fases indeseadas si están en una reacción.

Con sales como los dos DCPs (M y B) hay factores limitantes adicionales como su sensibilidad a la temperatura, por lo que no se pueden terminar las reacciones por tratamiento térmico pues la B sólida se convierte en M a aprox. 220 °C. Si se calienta en suspensión, la transformación se da a unos 80 °C (23) y si se calienta M por encima de 420 °C se convierte en pirofosfato de calcio que inhibe aún más la conversión en HA.

La transformación de B en M no es tan sencilla según lo descrito en el artículo de Dosen (23) pues claramente dice que la temperatura de deshidratación es aproximadamente 220 °C pero que también se deshidrata a más bajas temperaturas con tiempos más largos. En este estudio se hallaron dos fases intermedias entre B y M como una fase amorfa con 0,75 moléculas de agua; la M, si se sigue deshidratando, sigue perdiendo agua en proporciones no estequiométricas.

La única reacción que no produce especies residuales diferentes a calcio, fosfato y agua es la de hidróxido de calcio con ácido fosfórico. Si se desea facilitar esta reacción realizándola en solución y no en suspensión se debe usar solución de Ca(OH)<sub>2</sub> que es impráctica debido a la baja solubilidad del hidróxido en agua [K<sub>ps</sub> = 5,5 x 10<sup>-6</sup> o 0,173 g en 100 mL esto es 0,025 M a 20 °C (solubilidad retrógrada)] y para obtener una mol de B se necesita más de 23 litros de agua (24). El uso de glicerina apenas aumenta la solubilidad en aprox. 50% (25).

Por lo anterior, en este trabajo se empleó suspensión acuosa del hidróxido. Por tratarse de una reacción heterogénea L/S, los tiempos se pueden hacer demasiado largos para obligar al H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> líquido a reaccionar con el sólido. Del mismo modo, se ensayaron tres formas de agitación: la agitación magnética, la mecánica con aspas de teflón® y el impacto en un molino de bolas. Este último puede romper los granos de Ca(OH)<sub>2</sub> que se recubren rápidamente con B u OCP (octacalcio fosfato, ver Tabla 1) o ACP o hasta HA al contacto con el fosfórico, que por su baja solubilidad (B es la más soluble con K<sub>ps</sub> = 2,57 x 10<sup>-7</sup> o 0,0088 g en 100 mL; OCP 2,51 x 10<sup>-99</sup>) (26) obstaculizan la reacción (asi como el aluminio detiene su oxidación debido al óxido que se forma en su superficie a pesar de que exista mucho aluminio metálico adentro y oxígeno afuera en el aire).

Como estos fosfatos son mucho menos solubles que el hidróxido, pueden parar la reacción por lo que conviene romperlos para continuar la reacción y lograr una distribución completamente homogénea de todos los iones. De lo contrario, se tendrán zonas con diferentes fases de fosfatos de calcio y el producto será una mezcla de ellos como en las referencias anteriormente citadas. Calentar la reacción no sirve de mucho pues las solubilidades de B, M e hidróxido de calcio son retrógradas y casi constantes.

La falta de homogeneidad incrementa las reacciones consecutivas y favorece la formación de fases con alto cociente molar Ca/P como la W, el OCP y la HA obtenidas en las referencias. El tiempo de reacción debe ser corto pues el contacto de DCPs con agua los hidroliza y los convierte en otras fases, principalmente HA, pero también fases intermedias como OCP y ACPs que van a contaminar el producto. De esta forma, lograr una gran homogeneidad ayuda a eliminar la contaminación tipo tres (autoimpurezas) y elimina el efecto de las reacciones sucesivas y paralelas (reacciones [5], [6] y [7], entre otras) por concentraciones locales elevadas de calcio y/o bajas de fosfato alrededor de las partículas sólidas.

Los fosfatos de calcio se caracterizan por su relación molar de calcio y fósforo (Ca/P) que para M es 1,00. En la tabla 1 se muestran las relaciones Ca/P para algunos fosfatos de calcio.

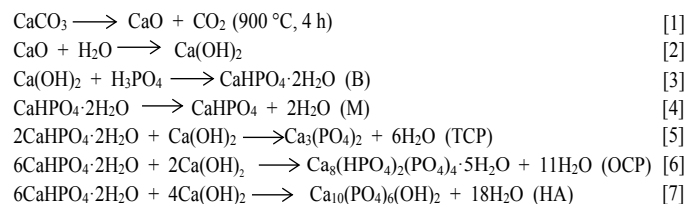
**Tabla 1.** Relaciones Ca/P para algunos fosfatos de calcio de importancia biológica (I).

Nombre	Fórmula	Ca/P	Abreviatura
Fosfato tetracálcico	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	2,00	TTCP
Hidroxiapatita (estequiométrica)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	1,67	HA
Hidroxiapatita deficiente en calcio	Ca <sub>10-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	1,5	CDHA
Fosfato de calcio amorfo	Ca <sub>10-x</sub> H <sub>2x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	-	ACP
Fosfato tricálcico (α, β, super α)	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,5	TCP
Fosfato octacálcico	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1,33	OCP
Fosfato dicálcico anhidro (M)*	CaHPO <sub>4</sub>	1,00	DCPA*
Fosfato dicálcico dihidratado (B)*	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1,00	DCPD*
Fosfato monocálcico anhidro	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,5	MCPA
Fosfato monocálcico monohidratado	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,5	MCPM

\*Las abreviaturas M y B son de origen geológico y las abreviaturas DCPA y DCPD de la última columna son las más empleadas en biomateriales y todas se usan indistintamente.

En este trabajo se estudió la síntesis de M (CaHPO<sub>4</sub>) por vía ácido-base en fase heterogénea a partir de ácido fosfórico e hidróxido de calcio y el efecto de los diferentes factores de síntesis sobre su pureza, composición, estructura cristalina y morfología.

Las principales reacciones involucradas en esta síntesis son:



## Materiales y métodos

El óxido de calcio empleado en la síntesis de la M se preparó calcinando carbonato de calcio grado USP (United States Pharmacopoeia, calidad farmacopea para uso en humanos, Hermann Schlattermund,  $\text{CaCO}_3$  sintético de baja densidad,  $\text{CaCO}_3 > 99,0\%$ , partes insolubles en agua  $< 0,3\%$ ; en ácido acético  $< 0,2\%$ ; en HCl  $< 0,2\%$ ; Cl  $< 0,025\%$ ; F  $< 0,005\%$ ;  $\text{SO}_4 < 0,02\%$ ; Pb  $< 10$  ppm; As  $< 3$  ppm; Ba no detectable; Fe 0,002%) a  $900^\circ\text{C}$  hasta peso constante (aproximadamente 4 h). Posteriormente, se sometió a un proceso de pulverización en un molino de bolas (tanque de 12 cm de altura por 10 cm de diámetro, con 24 bolas de alúmina de 2,5 cm de diámetro) a 74 rpm durante 4 h. Una suspensión de hidróxido de calcio se obtuvo por adición cuidadosa de polvo de óxido de calcio sobre exceso de agua desmineralizada bajo continua agitación magnética. La B se sintetizó agregando sobre la suspensión de hidróxido de calcio una cantidad estequiométrica de ácido fosfórico (ácido ortofosfórico, 85%,  $d = 1,71$  g/L, Merck) bajo agitación continua con agitación magnética a 106 rpm o con agitador de aspas de teflón a 210 rpm a temperatura ambiente.

Se realizaron cinco procedimientos de síntesis (Tabla 2) en los cuales se varió: velocidad de adición del ácido fosfórico, sistema de agitación, tiempo adicional de agitación luego de agregar el ácido fosfórico, tiempo de molienda en molino de bolas del producto de reacción antes de secado y temperatura de secado. En los procedimientos P1, P2 y P3 se descartó la solución sobrenadante y en P4 y P5 los sobrenadantes no se descartaron sino que se vertieron dentro del tanque del molino de bolas junto con el sólido y se molió. El producto de la reacción de todos los procedimientos se secó y transformó en M en estufa a temperaturas entre  $70$  y  $150^\circ\text{C}$  durante 20 h.

A todos los productos se les realizó el análisis cuantitativo de calcio por formación de oxalato de calcio y su posterior titulación con permanganato de potasio y análisis cuantitativo de fósforo colorimétricamente por la formación de un complejo azul con molibdeno medido a 810 nm, empleando una curva de calibración con concentración de fósforo entre 2,5 y 5,0 ppm (27, 28).

Las propiedades cristalográficas de las muestras de fosfatos se determinaron en un equipo de difracción de rayos X (DRX), marca PANalytical modelo X'Pert MPD y los resultados fueron analizados empleando los programas PowderX (29) y X'Pert® High Score. La morfología por microscopía electrónica de barrido y la composición por EDS se determinaron en un equipo FEI QUANTA 200, equipado con un analizador de energía dispersiva de rayos X acoplado al microscopio y detectores de electrones secundarios (SE) y retrodispersados (BSE).

Se realizó el análisis por infrarrojo con transformadas de Fourier FTIR en un equipo Nicolet iS 10 sobre pastillas de KBr. Las muestras de M se secaron a  $120^\circ\text{C}$  durante 72 h inmediatamente antes de realizar los diferentes análisis.

## Resultados y discusión

En la Tabla 3 se muestran los resultados del análisis de composición de calcio y fósforo de las muestras obtenidas por los diferentes procedimientos. En los procedimientos P1, P2 y P3 el cociente molar Ca/P tiene desviaciones por exceso del 12, 14 y 15% respectivamente respecto del cociente para M o B puros. Este aparente exceso se debe a que hay demasiado calcio o defecto de fósforo. El hidróxido de calcio y los fosfatos de calcio son poco solubles y se encuentran dentro del sólido, mientras que el ácido fosfórico es muy soluble y se encuentra en el líquido sobrenadante.

Al desechar el sobrenadante suponiendo que la reacción ya está completa, se elimina ácido fosfórico y sólido sin reaccionar, y el sólido por lo tanto queda con calcio sin reaccionar y esto incrementa el cociente Ca/P, como se observa en la Tabla 3 para los tres primeros procesos.

En los procedimientos P4 y P5, se mecanoactivó en molino de bolas el ácido fosfórico del sobrenadante junto con el fosfato de calcio formado para que, por rompimiento mecánico de las partículas insolubles formadas, se completara la reacción del exceso de hidróxido de calcio atrapado dentro de los granos con el ácido fosfórico que no reaccionó. La confirmación de esta hipótesis se da con el resultado de cociente Ca/P de los productos P4 y P5. El exceso de calcio favorece la formación de fosfatos ricos en calcio como ocurrió en P3, donde se encontraron evidencias de HA, cuyo Ca/P esta entre 1,50 y 1,67

Tabla 2. Condiciones de síntesis.

Número de procedimiento	P1	P2	P3	P4	P5
Agitación del $\text{Ca(OH)}_2$	Agit.AM*	Agit.AM	Agit.A	Agit.A	Agit.A
Tiempo de agitación del $\text{Ca(OH)}_2$ (h)	2	2	2	12	6
Velocidad de adición de ácido (mL/min)	40	40	1,5	1,5	1,5
Agitación durante la reacción	Agit.AM	Agit.AM	Agit.A	Agit.A	Agit.A
Tiempo adicional de agitación (min)	180	5	10	10	5
Tiempo de mecanoactivación (molino de bolas) antes de secado (h)	0	6	6	6	6
Mecanoactivación con sobrenadante	No	No	No	Si	Si
Temperatura de secado ( $^\circ\text{C}$ )	70	70	150	70	70

\*Agit. AM = Agitación magnética, Agit. A = Agitación con aspas

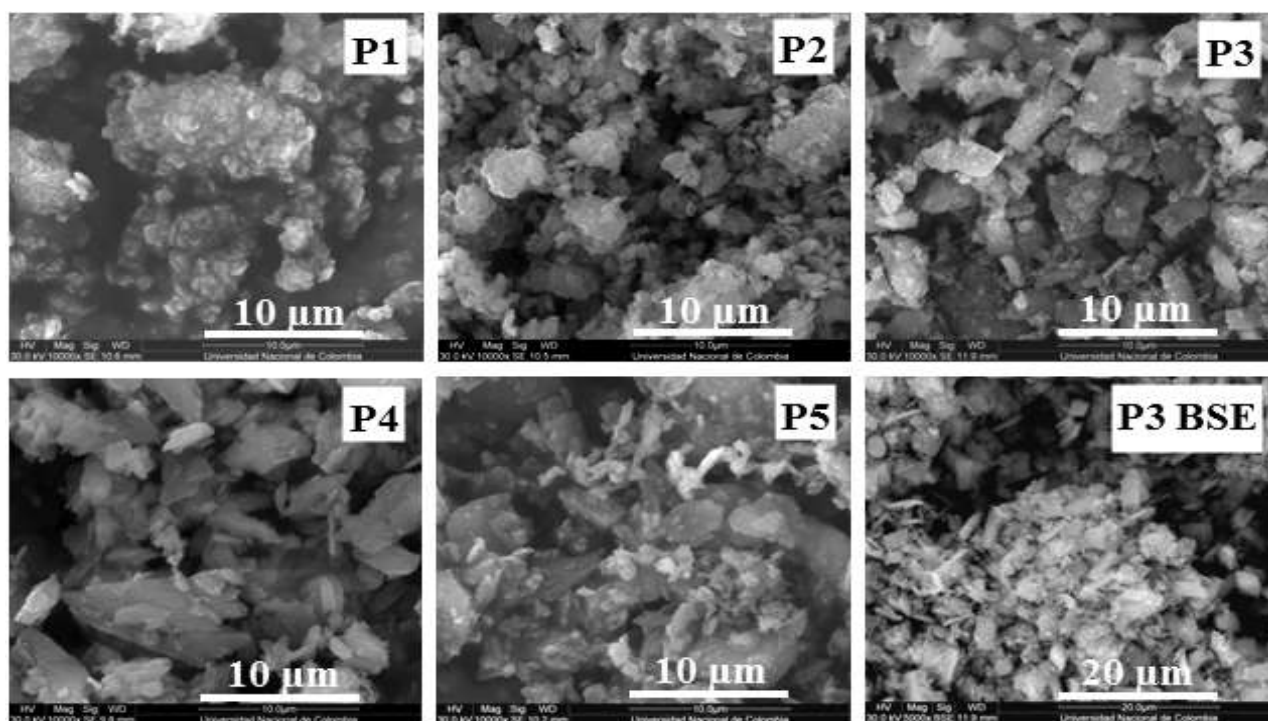


**Tabla 3.** Resultados del análisis químico de las muestras.

Procedimiento	Masa de muestra (g)	Moles de Ca/g muestra	Relación Ca/P
P1	0,5130	0,0249	1,12
P2	0,5105	0,0253	1,14
P3	0,5025	0,0276	1,15
P4	0,5242	0,0260	1,01
P5	0,5241	0,0257	1,00

De los resultados mostrados en la Tabla 3 y los datos de la Tabla 2 se puede decir que las condiciones de agitación con aspas o magnética durante la formación del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y la reacción de síntesis del fosfato, la velocidad de adición del ácido fosfórico y el tiempo adicional de agitación empleado en este trabajo, no tienen ningún efecto sobre la composición del producto obtenido y expresado como relación Ca/P. Los factores que afectan apreciablemente la relación de Ca/P son, por un lado, conservar toda la mezcla (sólido y sobrenadante) y, por otro lado, el tratamiento en molino de bolas o mecanoactivación que ayuda a la interacción y a completar la reacción entre el hidróxido de calcio y el ácido fosfórico adicionados estequiométricamente. Estos resultados confirman los obtenidos en la síntesis de HA pura en un trabajo anterior (30).

Esta mecanoactivación también ayuda a la disminución de tamaño de partícula como se observa en las imágenes de microscopía electrónica de la Figura 1. Del mismo modo, aumenta la velocidad de reacción favoreciendo un tamaño y forma de partícula más homogénea. En las imágenes se observa que en las muestras preparadas por el procedimiento P1, sin mecanoactivación, se presentan algunas partículas de gran tamaño cuyo rango es más amplio que en las muestras preparadas por los otros procedimientos. La composición de las muestras preparadas por los procedimientos P4 y P5 indican que en estas muestras se encuentra un fosfato dicálcico con relación de Ca/P de 1,01 y 1,00 respectivamente; esto se confirma con los resultados de infrarrojo, rayos X y EDS. El tiempo de agitación con aspas durante la formación del hidróxido de calcio no afecta las propiedades de composición, estructurales y morfológicas de los fosfatos sintetizados, como se puede observar de los resultados de microscopía electrónica, FTIR y difracción de rayos X para las diferentes muestras.

**Figura 1.** Imágenes de microscopía electrónica de los fosfatos sintetizados.

En la Figura 1 también se observa que en todas las muestras se presentan partículas con forma y tamaño irregular. En el caso del procedimiento P1 se observan aglomerados de gran tamaño, constituidos por granos policristalinos cuyo tamaño de cristalito se halló por la ecuación de Scherrer. Esto se debe a que esta es la única muestra que no se sometió al proceso de mecanoactivación en donde, por un lado, se disminuye el tamaño de partícula y, por otro lado, el mayor tiempo de agitación después de la reacción posiblemente favoreció la aglomeración de partículas puesto que no se observan muchas partículas pequeñas sueltas.

En la imagen correspondiente al fosfato sintetizado por el procedimiento P3 se observan partículas de menor tamaño y con forma prismática. Lo anterior, permite deducir que la adición lenta del ácido fosfórico favorece la formación de partículas más pequeñas y el secado a mayor temperatura favorece la mejor cristalinidad sin modificar apreciablemente la composición del fosfato obtenido, como lo confirman los resultados de difracción de rayos X.

En la imagen de microscopía electrónica con electrones retrodispersados (BSE) para la muestra sintetizada por el procedimiento P3 se observa que la muestra presenta una composición homogénea de calcio y fósforo a pesar de la presencia de la autoimpureza de HA ( $1,67 \geq \text{Ca/P} \geq 1,5$ ). Este resultado de microscopía fue similar para las muestras preparadas por los otros procedimientos.

Los espectros de infrarrojo de los fosfatos sintetizados por los 5 procedimientos se muestran en la Figura 2. En todos los productos se observa la presencia de pequeñas bandas a  $3427 \text{ cm}^{-1}$  (O-H) y  $1654 \text{ cm}^{-1}$  (H-O-H) que indican presencia de agua adsorbida superficial libre en las muestras de fosfato de calcio (31); las bandas a  $2852$  y  $2397 \text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones (P-O-H) características de los fosfatos. Las bandas de  $1406 \text{ cm}^{-1}$  (P-O-H),  $1132 \text{ cm}^{-1}$  (P-O),  $1068 \text{ cm}^{-1}$  (P-O),  $997 \text{ cm}^{-1}$  (P-O),  $902 \text{ cm}^{-1}$  (P-O-H),  $582 \text{ cm}^{-1}$  (O-P-O),  $528 \text{ cm}^{-1}$  (O-P-O) son características de los fosfatos ácidos (32-35).

Para la muestra sintetizada por el procedimiento P3 se observa una menor transmitancia en la banda localizada a  $582 \text{ cm}^{-1}$  y una pequeña banda adicional a aproximadamente a  $3570 \text{ cm}^{-1}$  que corresponde a estiramientos de  $\text{OH}^-$  de HA, esta pequeña banda indica un tamaño del orden nanométrico de las partículas del sólido obtenido (36).

Los difractogramas mostrados en la Figura 3 muestran que todos los fosfatos sintetizados presentan la estructura de M ( $\text{CaHPO}_4$ ) con fase triclinica; las señales de todas las muestras corresponden al patrón del archivo JCPDS 009-0080. En todas las muestras, excepto en la muestra obtenida por procedimiento P3, sólo se observan señales de la fase M. La muestra preparada por el procedimiento P3 presenta una pequeña cantidad de fase de HA  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  como impureza y los picos más intensos de esta fase se presentan a valores de  $2\theta$  de  $26,0$ ;  $31,9$  y  $34,3^\circ$ . No se observan picos correspondientes a las sustancias precursoras de óxido de calcio o hidróxido de calcio u otros subproductos de reacción, los subproductos de reacción de los procedimientos P1, P2 y P3 con relación Ca/P mayor que 1,0 no se pudieron determinar por esta técnica por que posiblemente están en fase amorfa o en cantidades inferiores a la sensibilidad del equipo.

Así mismo, estos difractogramas indican que si se aumenta la temperatura de secado hasta  $150^\circ\text{C}$ , se favorece la formación de HA por hidrólisis de B como proceso simultáneo al secado y se mejora la cristalinidad de los fosfatos obtenidos. En las muestras preparadas por los procedimientos P3, P4 y P5 la fase M cristaliza preferencialmente en el plano (2-20), mientras que en las muestras preparadas por los procedimientos P1 y P2 se observa una disminución en el crecimiento en esta dirección preferencial y aumenta el crecimiento en el plano (-112). Con los resultados obtenidos en este trabajo se puede deducir que el único factor que posiblemente puede favorecer el crecimiento en esta orientación es la mayor velocidad de adición del ácido fosfórico.

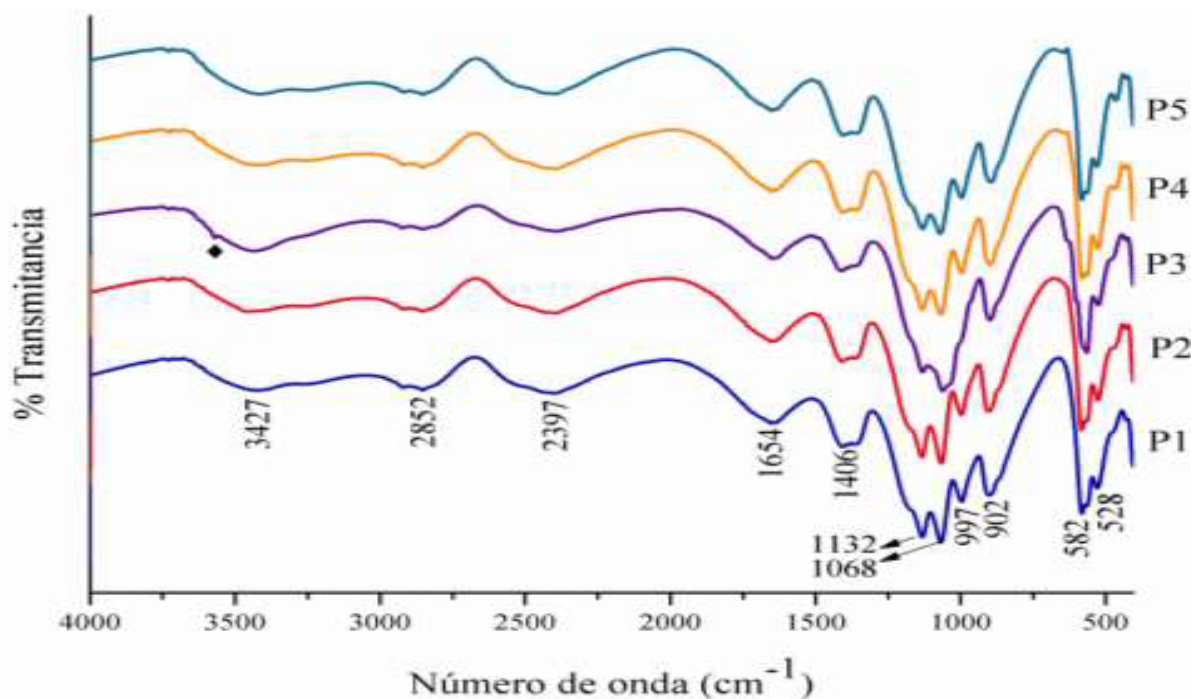


Figura 2. Espectros de infrarrojo de los fosfatos sintetizados. ♦ Señal de hidroxiapatita.

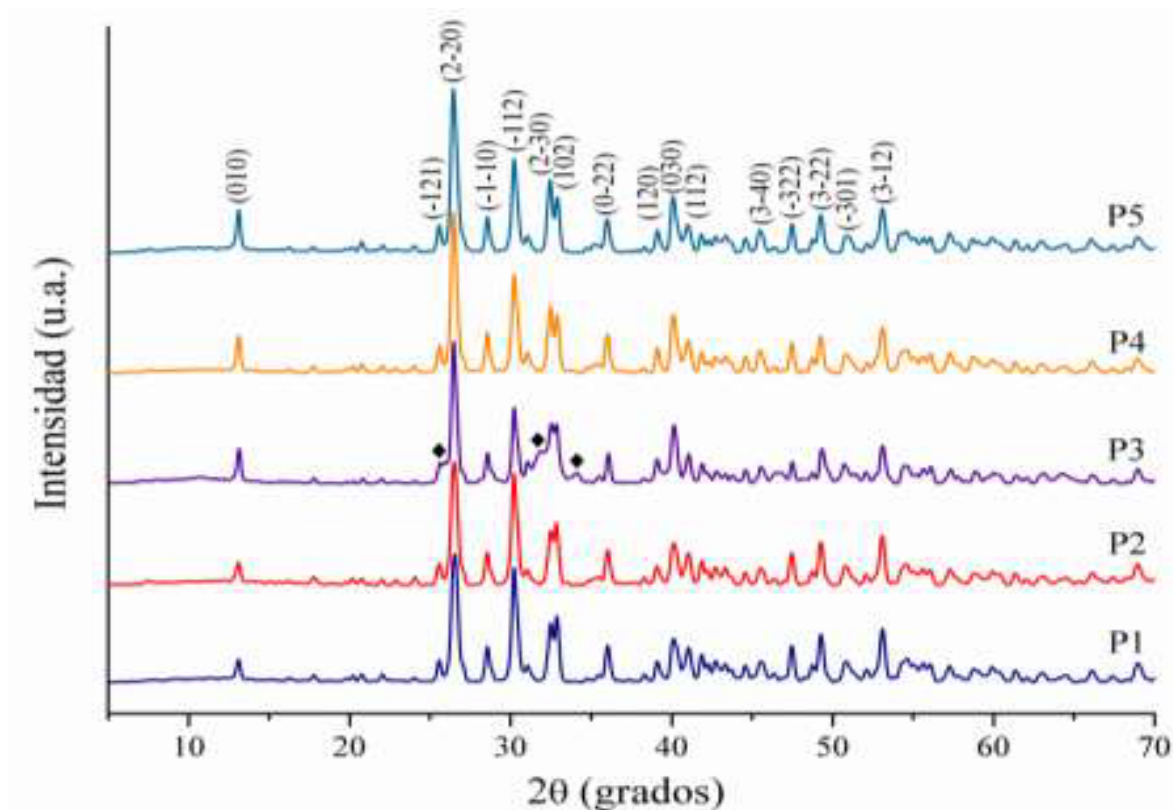


Figura 3. Difractogramas de los fosfatos sintetizados. (♦ Picos de hidroxiapatita).

El tamaño de cristalitas determinado con la fórmula de Scherrer, empleando el pico de mayor intensidad situado a  $26,43^\circ$  varía entre 23 y 66 nm, para las muestras preparadas por P1 y P3 respectivamente. Las otras muestras presentan cristalitas con tamaños intermedios, lo que indica que por este procedimiento de síntesis se obtienen fosfatos con tamaño de cristalito nanométrico. El fosfato sintetizado por el procedimiento P3 presenta un mayor tamaño de cristalito debido a la mayor temperatura de secado de  $150^\circ\text{C}$ .

En la Figura 4 se muestran los resultados de análisis de composición por EDS (calibrado con muestras de HA, TCP y MCPM puros tomados 5 veces con áreas de  $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ ) de la muestra de fosfato sintetizado por el procedimiento P5. Con estos resultados la relación de Ca/P es de 1,00 que es igual al resultado obtenido por análisis químico como se observa en la Tabla 3. Se obtuvo una concordancia similar para las muestras preparadas por los demás procedimientos. Para determinar la fase sintetizada y su pureza es importante conjugar los resultados de las cuatro técnicas analíticas empleadas en este trabajo.

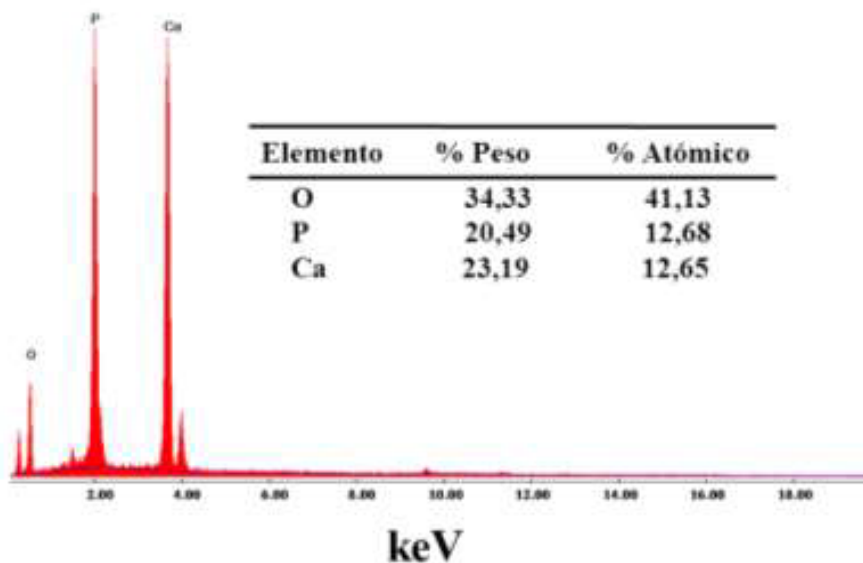


Figura 4. Resultados del análisis por EDS del fosfato preparado por el procedimiento P5.

## Conclusiones

Se sintetizaron fosfatos con fase M a través de cinco procedimientos diferentes de reacción entre  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y  $\text{H}_3\text{PO}_4$  en fase heterogénea. Los factores que más afectan las propiedades de composición y morfología de los fosfatos sintetizados son el grado de reacción entre los reactantes agregados estequiométricamente y la mecanoactivación para garantizar la homogeneidad. La temperatura de secado de 150 °C favorece la formación de HA y una mejor cristalinidad en los fosfatos sintetizados por este procedimiento.

Para obtener un fosfato de calcio con fase M es necesario garantizar la reacción completa entre el hidróxido de calcio y el ácido fosfórico por mecanoactivación, incluyendo el sobrenadante y secar el producto de reacción a 70 °C, como en el caso del procedimiento P5. Por lo anterior, el fosfato de calcio sintetizado por este procedimiento es el fosfato que presenta las mejores propiedades de composición química y pureza correspondiente a la fase de M.

## Referencias

- Dorozhkin, S.V. Calcium orthophosphate ( $\text{CaPO}_4$ ): occurrence and properties. *Prog. biomater.* **2016**, *5*, 9-70. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40204-015-0045-z>.
- Tamimi, F.; Sheikh, Z.; Barralet J. Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite. *Acta Biomater.* **2012**, *8*, 474-487. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.08.005>.
- Sergey, V.; Matthias, E. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 3130-3146. DOI: [http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773\(20020902\)41](http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773(20020902)41).
- Gbureck, U.; Dembski, S.; Thull, R.; Barralet, J.E. Factors influencing calcium phosphate cement shelf-life. *Biomaterials.* **2005**, *26*, 3691-3697. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.036>.
- Kumar, R.R.; Wang, M., Biomimetic deposition of hydroxyapatite on brushite single crystals grown by the gel technique. *Mater. Lett.* **2001**, *49*, 15-19. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0167-577x\(00\)00333-5](https://doi.org/10.1016/s0167-577x(00)00333-5).
- Charrière, E.; Terrazzoni, S; Pittet, C; Mordasini, P.H.; Dutoit, M.; Lemaître, J. et al. Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements. *Biomaterials.* **2001**, *22*, 2937-2645. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(01\)00041-2](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(01)00041-2).
- Theiss, F.; Apelt, D.; Brand, B.; Kutter, A.; Zlinszky, K.; Bohner, M. et al. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials.* **2005**, *26*, 4383-4394. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.11.056>.
- Dieppe, P. New knowledge of chondrocalcinosis. *J. Clin. Pathol.* **1978**, *31* suppl. 12, 214-222. DOI: [https://doi.org/10.1136/jcp.31.suppl\\_12.214](https://doi.org/10.1136/jcp.31.suppl_12.214).
- Dorozhkin, S.V.; Calcium orthophosphates as biomaterials and bioceramics. En: *Bioceramics properties, preparation and applications*. Kossler, W.; Fuchs, J. Eds. Nova Biomedical Books: New York, 2009; p. 73.
- De Aza, P.N.; De Aza, S. Biocerámicas. En: *Biomaterials*. Sastre, R.; De Aza, S.; San Roman, J. Eds. Litográfica Faenza: Faenza (Italia), 2004; p. 55.
- Corbridge, D.E.C (Ed). Phosphorus. En: *Studies in inorganic chemistry vol. 20*. Elsevier Science B.V., 1995; pp. 169-305.
- Cheng, P.T.; Grabber J.J.; LeGeros, R.Z. Effects of magnesium on calcium phosphate formation. *Magnesium.* **1988**, *7*, 123-132.
- Lundager Madsen, H.E.; Pedersen, J.B. Influence of foreign metal ions on crystal morphology and transformation of brushite ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). En: *Advances in crystal growth inhibition technologies*. Amjad, Z. Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2000; p. 1.
- Sahin, E.; Ciftcioglu, M. Monetite promoting effect of NaCl on brushite cement setting kinetics. *J. Mater. Chem. B.* **2013**, *1*, 2943-2950. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3TB20130A>.
- Suguna, K.; Sekar, C. Role of Strontium on the Crystallization of Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate (CHPD). *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* **2011**, *10*, 625-636. DOI: <https://doi.org/10.4236/jmmce.2011.107048>.
- Anee, T.K.; Meenakshi, S. N.; Arivuoli, D.; Ramasamy, P.; Kalkura, N.S. Influence of an organic and an inorganic additive on the crystallization of dicalcium phosphate dehydrate. *J. Cryst. Growth.* **2005**, *285*, 380-387. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2005.08.036>.
- Xian, D. K.; Xiao, D. S.; Jun, B. L.; Fu, Z, C. Mineralization of calcium phosphate in reverse microemulsion. *Curr. Appl. Phys.* **2005**, *5*, 519-521. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2005.01.024>.
- Ruiz, S. C. Propuesta y evaluación de una síntesis rápida y selectiva de algunos fosfatos de calcio por el método ácido-base., Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C. Colombia, junio 2005.
- Kuznetsov, V.N.; Yanovska, A.A.; Stanislavov, A.S.; Danilchenko, S.N.; Kalinkevich, A.N.; Sukhodub, L.F. Controllability of brushite structural parameters using an applied magnetic field. *Mater. Sc. Eng. C.* **2016**, *60*, 547-553. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.066>.
- Arifuzzaman, S.M.; Rohani, S. Experimental study of brushite precipitation. *J. Cryst Growth.* **2004**, *267*, 624-634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2004.04.024>.
- Duncan, J.; MacDonald, J.F.; Hanna, J.V.; Shirotsaki, Y.; Hayakawa, S.; Osaka, A.; Skakle, J.M.S. Gibson, I. R. The role of the chemical composition of monetite on the synthesis and properties of  $\alpha$ -tricalcium phosphate. *Mater. Sci. Eng. C.* **2014**, *34*, 123-129. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.08.038>.
- Higueta, L.P.; Vargas, A.F.; Gil, M.J.; Giraldo, L.F. Synthesis and characterization of nanocomposite based on hydroxyapatite and monetite. *Mater. Lett.* **2016**, *175*, 169-172. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.04.011>.
- Dosen, A.; Giese, R. F. Thermal decomposition of brushite  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  to monetite  $\text{CaHPO}_4$  and the formation of an amorphous phase. *Am. Mineralogist.* **2011**, *96*, 368-373. DOI: <http://dx.doi.org/10.2138/am.2011.3544>.
- Selected solubility products and formation constants. Disponible en: [www.csudh.edu/oliver/chemdata/data-ksp.htm](http://www.csudh.edu/oliver/chemdata/data-ksp.htm). [consultado el 7 mayo de 2016].
- Venter, A.C. U.S. Patent WO2012176151A1, 2012.
- Dorozhkin, S. Calcium orthophosphates Occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. *Biomater.* **2011**, *1*, 121-164. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/biom.18790>.
- Murphy J.; Riley J.P. A single solution method for the determination of soluble phosphate in sea water. *J. Mar. Biol. Assoc.* **1958**, *37*, 9-14.

28. ISO 8556 Aluminium ores – Determination of phosphorus content – Molybdenum blue spectrophotometric method. 1986.
29. Dong, C. PowderX: Windows-95-based program for powder X-ray diffraction data processing. *J. Appl. Cryst.* **1999**, *32*, 838-838.
30. Ruiz, S.C.; Moreno, L.C.; Delgado E. Abridged acid-base wet-milling synthesis of high purity hydroxyapatite. *Mater. Res.* **2008**, *11*, 187-192. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1516-14392008000200013>.
31. Djosic, M.S.; Miskovic-Stankovic, V.B.; Kacarevic-Popovic, Z. M.; Jokic, B.M.; Bibic, N.; Mitric, M. et al. Electrochemical synthesis of nanosized monetite powder and its electrophoretic deposition on titanium. *Colloids Surf., A.* **2009**, *341*, 110-117. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.03.046>.
32. Tortet, L.; Gavarrí, J. R. Study of protonic mobility in  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (brushite) and  $\text{CaHPO}_4$  (monetite) by infrared spectroscopy and neutron scattering. *J. Solid State Chem.* **1997**, *132*, 6-16. DOI: <https://doi.org/10.1006/jssc.1997.7383>.
33. Jingwei, X.; Ian, B.S.; Gilson, F.R. FT-Raman and high-pressure infrared spectroscopic studies of dicalcium phosphate dehydrate ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) and anhydrous dicalcium phosphate ( $\text{CaHPO}_4$ ). *Spectrochim. Acta. Part A.* **1999**, *55*, 2801-2809. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1386-1425\(99\)00090-6](https://doi.org/10.1016/s1386-1425(99)00090-6).
34. Trpkovska, M.; Bojan S.; Pavle M. FTIR reinvestigation of the spectra of synthetic brushite and its partially deuterated analogues. *J. Mol. Struct.* **1999**, *480-481*, 661-666. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0022-2860\(98\)00923-5](https://doi.org/10.1016/s0022-2860(98)00923-5).
35. Elliot, J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Elsevier: Amsterdam, London, 1994; pp 305-310.
36. Mir, M.; Leiteb, F.L.; Herrmann Junior, P.S.P.; Pissetti, F.L.; Malta Rossi A.; Lima Moreira, E. et al. XRD, AFM, IR and TGA Study of Nanostructured Hydroxyapatite. *Mater. Res.* **2012**, *15*, 622-627. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1516-14392012005000069>.

**Article citation:**

Olarte-Cárdenas, D. Moreno-Aldana, L. C.; Delgado-Mejía, E. Síntesis de monetita pura por reacción heterogénea ácido-base *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (1), 60-68. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n1.59760>.

Los manuscritos enviados a la Revista Colombiana de Química para su posible publicación deben ser inéditos (no sometidos al mismo tiempo a ninguna otra revista impresa o digital). Los autores son responsables de las opiniones e ideas declaradas en el manuscrito. La precisión de la información en los manuscritos, incluyendo figuras y tablas, es responsabilidad completa del autor o de los autores.

Los manuscritos serán recibidos **ÚNICAMENTE** a través de la plataforma en línea Open Journal System (OJS) de la Revista (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>). Se recomienda a los autores la publicación de artículos en inglés, pues esto contribuye a la visualización y citación internacional del artículo y de la Revista.

## Requisitos generales de envío

1. El autor debe estar registrado en el portal, de no ser el caso debe registrarse siguiendo los pasos necesarios. Antes de comenzar, es importante que compruebe que su envío cumple escrupulosamente todos los requisitos solicitados por la revista, de lo contrario se devolverán sin ser evaluados (Ver sección Preparación para el envío online).

2. Debe adjuntarse una carta de presentación del artículo, donde se incluyan los aspectos más relevantes del artículo y una lista de cuatro posibles evaluadores que sean externos tanto a la institución del autor como a la Universidad Nacional de Colombia, incluyendo todas sus sedes, con sus respectivos datos de contacto. Esta carta de presentación debe estar firmada por todos los autores (Ver formato carta autoría en: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/downloadSuppFile/10124/20981>).

3. La versión del documento en línea no debe incluir ningún dato de autoría ni filiación institucional, con el fin de garantizar una revisión por pares anónima. Estos datos se incluyen en el formulario de envío a través del portal y también deben adjuntarse en un documento adicional (se carga como archivo complementario).

4. Tanto las figuras como las tablas deben aparecer en el documento en el orden correspondiente para facilitar el proceso de revisión. Sin embargo, dado que Word baja la resolución de las imágenes, es necesario que también las adjunte en un archivo aparte, en formato TIFF o JPEG al tamaño en que van a salir, con 300 dpi de resolución. Si las gráficas corresponden a archivos trabajados en Excel o Word se deben enviar en dichos programas, pero abiertas, no como imagen para que se puedan editar.

## Formato

El documento se debe presentar en archivo Word .doc o .docx, tamaño carta, interlineado 2,0, con márgenes superior e inferior de 2,5 cm y 3,0 cm en los lados, con letra Times New Roman 12, páginas numeradas de inicio a fin. Se deben usar los títulos: **Resumen**, **Abstract**, **Resumo**, **Introducción**, **Materiales y métodos**, **Resultados y discusión**, **Conclusiones**, **Agradecimientos** (opcional) y **Referencias**.

## Idioma

Los manuscritos se aceptan en español o inglés. Sin embargo, siempre el **título**, **resumen** y **palabras claves** deben presentarse en los tres idiomas (incluyendo portugués). Como estrategia para aumentar la difusión y visibilidad de los resultados, se sugiere presentar los manuscritos en inglés.

## Página inicial

### Título

El título debe ir en minúscula, a menos que la mayúscula sea mandatoria. Debe ser conciso pero informativo y no debe exceder 120 caracteres incluyendo los espacios. Debe aparecer siempre en español, inglés y portugués. Por ejemplo:

- Oxidación catalítica de tolueno y 2-propanol sobre óxidos mixtos de Mn y Co obtenidos por coprecipitación.
- Catalytic oxidation of toluene and 2-propanol over Mn and Co mixed oxides obtained by coprecipitation method.
- A oxidação catalítica de tolueno e 2-propanol em óxidos mistos de Mn e de Co, obtidos por coprecipitação.

## Autor(es) y filiación

- Nombres y apellidos completos.
- Último título profesional.
- Institución en la cual trabaja.
- País y ciudad de residencia.
- Correo electrónico (de cada autor).

En los datos de filiación se debe conservar el orden categórico: Laboratorio, instituto, universidad, ciudad, estado, país, e-mail. Cada filiación debe ser enlistada con números en superíndice y referenciada a cada autor. El autor de correspondencia debe ir denotado con asterisco. Por ejemplo:

Mauricio Acelas<sup>1</sup>, Elizabeth Gil<sup>2</sup>, Markus Doerr<sup>3</sup>, Martha Daza<sup>3</sup>, Juan Manuel Urbinal\*

<sup>1</sup>Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular - LQOBio, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá D.C., Colombia.

<sup>3</sup>Grupo de Bioquímica Teórica - GBQT, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

\* Autor para correspondencia: [jurbina@uis.edu.co](mailto:jurbina@uis.edu.co)

## Cuerpo del artículo

Todo el texto debe venir justificado (alineado a izquierda y derecha), con las páginas numeradas continuamente. Todos los títulos y subtítulos primarios y secundarios deben ir justificados a la izquierda. Para los títulos (**Resumen**, **Palabras clave**, **Abstract**, **Keyword**, **Resumo**, **Palavras-Chave**, **Introducción**, **Materiales y métodos**, **Resultados y discusión**, **Agradecimientos**, **Conclusiones** y **Referencias**) la primer letra va en mayúscula y las demás deben ir en minúscula y negrilla. Los *subtítulos primarios* en minúsculas sostenida y en cursiva. Los **subtítulos secundarios** con minúscula sostenida y en negrilla.

Siempre se deben definir los términos estadísticos, abreviaturas y los símbolos la primera vez que se usan en el artículo. Para las unidades de medida se debe usar el sistema métrico internacional. Cuando no van seguidos de unidades, los números enteros hasta diez se escriben con la palabra (uno, dos, diez) y mayores de diez con números (11, 12, 102). Cuando se utilicen números, estos deben ir seguidos de sus unidades y se mantendrá un espacio entre uno y otro (100 m, 50 mL). Si se trata de porcentaje no deje espacio entre el número y la unidad (80%). En manuscritos escritos en español las cifras decimales irán separadas por coma (,) y en inglés por punto (.). Cite cada figura y tabla en el texto de acuerdo al orden de aparición y en el siguiente formato: Figura 1 o Figuras 1 y 2 o Figuras 1A-1F o Tabla 1.

### Resumen

Resumen de máximo 200 palabras. Se sugiere poner una frase introductoria. Deben mencionarse los propósitos de la investigación, los resultados relevantes (proporcionando datos específicos y, de ser posible, su significación estadística), y las conclusiones principales sin incluir citas bibliográficas. Se debe hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio. Debe evitar presentarse un resumen descriptivo (aquel donde no se presentan datos), en cambio, debe presentarse un resumen analítico (aquel en donde se presentan los datos relevantes obtenidos en la investigación). Debe aparecer siempre en español, inglés y portugués.

### Palabras clave

Deben listarse de 3 a 6 palabras claves. No se deben emplear las palabras ya usadas en el título del manuscrito. Deben aparecer siempre en **español, inglés y portugués**.

### Introducción

Deben presentarse los fundamentos lógicos para la realización del trabajo. Solo se dan las referencias estrictamente oportunas y no se deben incluir datos o conclusiones del trabajo que se está publicando. Al final de la introducción, debe presentarse el objetivo del trabajo.

## Materiales y métodos

En una subsección deben listarse los reactivos utilizados, la marca y el país. Se deben usar subtítulos en los procedimientos utilizados. Los procedimientos deben tener el detalle suficiente para permitir a otros profesionales reproducir la investigación. Se deben incluir los equipos empleados, incluyendo nombre del fabricante y país, además de las referencias de la metodología y métodos estadísticos. Deben describirse los métodos nuevos o los que han sido sustancialmente modificados, sustentando las razones para utilizarlos y evaluando sus limitaciones.

Los autores que envíen artículos de revisión, deberán describir los métodos empleados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar la información. Siempre que se hagan pruebas estadísticas, debe usarse un subtítulo "*Análisis estadístico*" para su descripción.

## Resultados y discusión

Los resultados deben presentarse en un orden lógico y concordante con el orden de los métodos. Se deben destacar los resultados que contribuyen a la generación de nuevo conocimiento. La información contenida en tablas no debe repetirse en figuras y viceversa.

En la discusión deben destacarse los aspectos nuevos y relevantes del estudio, y evitar repetir información ya facilitada en la sección **Introducción**. Se recomienda evaluar posibles relaciones entre los resultados obtenidos, juzgar los resultados en relación con los obtenidos por otros autores, y proponer hipótesis que expliquen los datos obtenidos.

## Conclusiones

Debe aparecer mínimo un párrafo con las conclusiones, vinculado a los objetivos del estudio, evitando enumerarlas o presentarlas como frases sueltas. Se deben realizar afirmaciones plenamente respaldadas por los datos.

## Agradecimientos

Deben mencionarse las fuentes de financiación de los proyectos de investigación y/o apoyos recibidos para la realización del estudio (becas, equipos, reactivos, entre otros). Pueden nombrarse a aquellas personas que hayan prestado su ayuda intelectual al trabajo, pero cuyas contribuciones no justifiquen la autoría, describiendo la contribución llevada a cabo, por ejemplo, "apoyo técnico", "revisión crítica del escrito", "recolección de muestras".

## Referencias

El formato está basado en la guía de estilos de la American Chemical Society (ACS).

- **Referencias en texto:** Todas las citas que aparecen en el texto deben coincidir con las presentadas en la sección Referencias, y viceversa. Las citas deben realizarse con números itálicos en paréntesis en la línea del texto y dentro de la puntuación. Por ejemplo:

-Las condiciones de extracción se encuentran reportadas en otros estudios (1).

Si hay varias citas se separan con coma (,) sin espacios entre los números; si son citas consecutivas, se separan con guión (-). Por ejemplo:

- Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por otros autores (8, 26-30).

Las citas se deben escribir con números naturales acorde a su orden de aparición. Si dentro de la redacción del texto se debe mencionar el autor, entonces la citación debe ser:

- Un autor: Duque (2)
- Dos autores: Duque y Palomeque (3)
- Más de dos autores: Duque *et al.* (4)

• **Formato de referencias:** Las referencias deben ser organizadas en el mismo orden numérico en el que fueron presentadas a lo largo del texto.

#### Revistas

Se debe anotar el apellido y las iniciales del nombre de todos los autores. Apellidos se separan de las iniciales del nombre con coma. Las iniciales de los nombres de autores se acompañan con punto. Los autores se separan con punto y coma. Luego se escribe el título. El nombre abreviado de la revista en cursiva, de acuerdo al Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI, <http://cassi.cas.org/search.jsp>). El año en negrilla, el volumen en itálica y las páginas (separadas por guión). De igual manera, si el artículo cuenta con DOI es necesario incluirlo al final de la referencia ([www.crossref.org](http://www.crossref.org)).

- Hasta seis autores: se incluyen todos los autores.

Da Silva, R.; Nissim, I.; Brosnan, M.; Brosnan, J. Creatine synthesis: Hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat in vitro and in vivo. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2009**, *296*, 256-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90547.2008>.

- Más de seis autores: incluir hasta los seis primeros autores y a continuación escribir *et al.*

#### Libros y otras monografías

- Libros sin editores

- Stout, J.; Antonio, J.; Kalman, D. *Essentials of creatine in sports and health*. Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2008; pp 30-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-573-2>.

- Budavari, S.; O'Neil, M. J.; Smith, A.; Heckelman, P. E.; Obenchain, J. R., Jr.; Gallipeau, J. A. R.; D'Arecea, M. A. *The merck index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 13th ed. Merck & Co., Inc.: Whitehouse Station, NJ, 2001; pp 1768-1769.

- Libros con editores

-Rowe, R. C.; Sheskey, P. J.; Owen, S. C. (eds.). *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association: Grayslake, IL, 2006; pp 798-799.

- Capítulo en libro editado

McBrien, M. Selecting the Correct pH Value for HPLC. In *HPLC made to measure: A practical handbook for optimization*; Kromidas, S., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006; pp 89-103.

#### Tesis doctoral (o similar)

- Impreso

King, K. J. Development of a pressurized system for oxidation studies of volatile fluids. M.S. Thesis, The Pennsylvania State University, State College, PA, Marzo 1983.

- Electrónico

Abrams, N. M. Efficiency enhancement in dye-sensitized solar cells through light manipulation. Ph.D. Dissertation [Online], The Pennsylvania State University, University Park, PA, December 2005. <http://etda.libraries.psu.edu/theses/approved/WorldWideIndex/ETD-1061/index.html> (consultado el 2 de abril de 2014).

#### Sitios web

Penn State Department of Chemistry. <http://www.chem.psu.edu/> (consultado el 7 de junio de 2014).

Mallet Chemistry Library, University of Texas Libraries. ThermoDex home page: An index of selected thermodynamic and physical property resources. <http://www.lib.utexas.edu/thermodex/> (consultado el 19 de marzo de 2014).

#### En prensa

Martínez, F.; Jouyban, A.; Acree, W. E., Jr. Comments on "Solubility and thermodynamic function of a new anticancer drug ibrutinib in 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol + water mixtures at different temperatures". *J. Chem. Thermodyn.* **2015**. In press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2015.11.031>

#### Tablas y figuras

- Las tablas deben estar en el cuerpo del artículo, en el orden de aparición correspondiente. Tanto las tablas como las figuras deben ser autocontenidas (poder interpretarse sin necesidad de recurrir al cuerpo del artículo). En la leyenda de la figura, o en el título o pie de la tabla, deben describirse las claves, abreviaturas y demás explicaciones. Se recomienda proporcionar además de los promedios, las desviaciones estándar y demás información estadística relevante a los datos. Las fotos, diagramas, mapas y gráficas se clasifican como figuras. Evite redundancia entre tablas, figuras y texto.

- Además de relacionar las figuras y las tablas en el cuerpo del artículo, estas deben adjuntarse con sus respectivas leyendas individualmente en formato .TIFF de excelente calidad, con una resolución mínima de 300 dpi. Se debe utilizar escala de grises o tramas siempre que sea posible. Deben usarse colores cuando sea estrictamente necesario. Figuras que hayan sido creadas en Excel o Word deben ser enviadas en esos programas.



- La rotulación de cada tabla debe ir a la cabeza de la misma, mientras que en las figuras debe presentarse al pie. Evite figuras pequeñas aisladas: agrupe figuras con información relacionada en figuras compuestas rotuladas con letras (Figura 1a, Figura 3b, etc.). Si un artículo contiene tablas o figuras reproducidas (así sean del mismo autor), es obligación declarar el origen y presentar permiso para utilizarlas.

## Manuscrito aceptado para publicación

---

Si el editor le ha notificado que su manuscrito podría ser aceptado para publicación en caso de tener en cuenta las modificaciones sugeridas por los revisores, envíe la nueva versión del artículo acompañada de una carta donde detalle cada uno de los comentarios de los revisores, y justifique en caso de que no tenga en cuenta alguna de las sugerencias. Trabaje la nueva versión del artículo con control de cambios o resalte los cambios en esta nueva versión, para que el editor pueda identificarlos con facilidad.

Una vez haya finalizado el proceso de revisión por pares, el Editor enviará un correo electrónico al(os) autor(es) del manuscrito manifestando la decisión del Comité Editorial. Si el manuscrito ha sido aceptado para publicación, se adjuntarán al correo las sugerencias, indicaciones y comentarios que cada evaluador efectuó sobre los aspectos de fondo y de forma del artículo. Para continuar con el proceso de publicación el(los) autor(es) deben enviar los siguientes archivos al correo de la revista (rcolquim\_fcbog@unal.edu.co):

- La nueva versión del documento en donde se trabaje con control de cambios o se resalten las modificaciones trabajadas.
- Una carta en la que se detallen cada uno de los comentarios de los revisores, justificando aquellos casos en los que no se siguió una determinada indicación o sugerencia.
- Las imágenes que se hayan modificado en virtud de los comentarios de los revisores y las necesidades de la nueva versión. Las imágenes deben estar en formato .TIFF con una resolución mayor a 300 dpi.

## Costo de la publicación

---

La publicación de un artículo, con una extensión no mayor a 3 páginas de la revista, tendrá un costo de \$30.000 pesos colombianos. Las páginas adicionales tendrán un costo de \$20.000 pesos colombianos cada una.

Manuscripts sent to the *Revista Colombiana de Química* (Colombian Journal of Chemistry) for possible publication must be original (not submitted at the same time to any other printed or digital journal). Authors are responsible for the opinions and ideas stated in the manuscript. The accuracy of the information in the manuscripts, including figures and tables, is the complete responsibility of the author or the authors. The manuscripts will be received **ONLY** through the Journal's Open Journal System (OJS) platform (<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>). The authors are recommended to publish articles in English, as this contributes to the international viewing and citation of the article and the Journal.

## General submission requirements

1. The author must be registered in the website, otherwise it should register according to the necessary steps. Before starting, it is important that you verify that your submission complies scrupulously with all the requirements requested by the journal, otherwise they will be returned without being evaluated (See section Preparing for online submission).

2. A letter of presentation of the article should be attached, including the most relevant aspects of the article and a list of four possible evaluators that are external to both the institution of the author and the Universidad Nacional de Colombia (National University of Colombia), including all its branches, with Their respective contact details. This cover letter must be signed by all authors (See format letter authorship in: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/downloadSuppFile/10124/20981>).

3. The version of the online document should not include any data of authorship or institutional affiliation, in order to guarantee an anonymous peer review. These data are included in the submission form through the website and must also be attached in an additional document (it is uploaded as a supplementary file).

4. Both figures and tables should appear in the document in the appropriate order to facilitate the review process. However, since Word lowers the resolution of the images, it is necessary to also attach them in a separate file, in TIFF or JPEG format to the size at which they will be output, with 300 dpi resolution. If the graphics correspond to files worked in Excel or Word should be sent in such programs, but open, not as an image so that they can be edited.

## Format

The document must be presented in Word file .doc or .docx, letter size, line spacing 2.0, with upper and lower margins of 2.5 cm and 3.0 cm on the sides, with Times New Roman 12, numbered pages From start to finish. The titles: **Resumen**, **Abstract**, **Resumo**, **Introduction**, **Materials and methods**, **Results and discussion**, **Conclusions**, **Acknowledgments** (optional) and **References** should be used.

## Language

Manuscripts are accepted in Spanish or English. However, the title, abstract and keywords should always be presented in all three languages (Spanish, English and Portuguese). As a strategy to increase the diffusion and visibility of the results it is suggested to present the manuscripts in English.

## Main Page

### Title

The title must be lowercase, unless the upper case is mandatory. It should be concise but informative and should not exceed 120 characters including spaces. It should always appear in Spanish, English and Portuguese. For example:

- Oxidación catalítica de tolueno y 2-propanol sobre óxidos mixtos de Mn y Co obtenidos por coprecipitación.
- Catalytic oxidation of toluene and 2-propanol over Mn and Co mixed oxides obtained by coprecipitation method.
- A oxidação catalítica de tolueno e 2-propanol em óxidos mistos de Mn e de Co, obtidos por coprecipitação.

## Author(s) and filiation

- Full names.
- Last professional title.
- Institution of work.
- Country and city of residence.
- Email (from each author).

In the filiation data, the categorical order must be kept: Laboratory, institute, university, city, state, country, e-mail. Each filiation must be listed with superscript numbers and referenced to each author. The correspondence author must be denoted with an asterisk. For example:

Mauricio Acelas<sup>1</sup>, Elizabeth Gil<sup>2</sup>, Markus Doerr<sup>3</sup>, Martha Daza<sup>3</sup>, Juan Manuel Urbina<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Organic and Biomolecular Chemistry - LQOBio, Faculty of Sciences, Industrial University of Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup>Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá D.C., Colombia.

<sup>3</sup>Group of Theoretical Biochemistry - GBQT, Faculty of Sciences, Industrial University of Santander, Ciudad Universitaria, AA 678, Bucaramanga, Colombia.

\*Author for correspondence: [jurbina@uis.edu.co](mailto:jurbina@uis.edu.co)

## Article body

---

All text should be justified (aligned left and right), with pages numbered continuously. All primary and secondary titles and subtitles must be justified to the left. For the titles (Abstract, Keywords, Abstract, Keyword, Abstract, Keywords, Introduction, Materials and methods, Results and discussion, Acknowledgments, Conclusions and References) the first letter is capitalized and the others must be lowercase and bold. *Primary subtitles* sustained lowercase and italics. **Secondary subtitles** sustained and bold lowercase.

Statistical terms, abbreviations and symbols should always be defined the first time they are used in the article. For units of measurement the international metric system must be used. When not followed by units, integers up to ten are written with the word (one, two, ten) and greater than ten with numbers (11, 12, 102). When numbers are used, they must be followed by their units and a space between them (100 m, 50 mL). If it is a percentage do not leave space between the number and the unit (80%). In manuscripts written in Spanish the decimal numbers will be separated by commas (,) and in English by period (.). Cite each figure and table in the text according to the order of appearance and in the following format: Figure 1 or Figures 1 and 2 or Figures 1A-1F or Table 1.

## Abstract

---

Summary of maximum 200 words. It is suggested to introduce an introductory phrase. The purposes of the research, the relevant results (providing specific data and, if possible, their statistical significance) should be mentioned, and the main conclusions not including bibliographical citations. Emphasis should be placed on the new and important aspects of the study. A descriptive summary should be avoided (where no data are presented), instead, an analytical summary should be presented (the one in which the relevant data obtained in the research are presented). It should always appear in Spanish, English and Portuguese.

## Keywords

---

3 to 6 keywords should be listed. Words already used in the title of the manuscript should not be used. They should always appear in **Spanish, English and Portuguese**.

## Introduction

---

The grounds for the completion of the work must be presented. Only strictly relevant references are given and data or conclusions of the work being published should not be included. At the end of the introduction, the objective of the work must be presented.

## Materials and methods

---

In a subsection should be listed the reagents used, the brand and the country. Subtitles should be used in the procedures used. The procedures should be detailed enough to allow other professionals to replicate the research. The equipment used should be included, including the name of the manufacturer and country, as well as the references of the methodology and statistical methods. New or substantially modified methods should be described, supporting the reasons for using them and assessing their limitations.

Authors submitting review articles should describe the methods used to locate, select, extract and synthesize information. Whenever statistical testing is done, a subheading "*Statistical analysis*" should be used for its description.

## Results and Discussion

---

The results must be presented in a logical order and consistent with the order of the methods. The results that contribute to the generation of new knowledge should be highlighted. The information contained in tables should not be repeated in figures and vice versa.

The discussion should highlight the new and relevant aspects of the study, and avoid repeating information already provided in the **Introduction** section. It is recommended to evaluate possible relationships between the results obtained, to judge the results in relation to those obtained by other authors, and to propose hypotheses that explain the data obtained.

## Conclusions

---

A paragraph should appear with the conclusions, linked to the objectives of the study, avoiding to list them or to present them as single sentences. Assertions must be made fully supported by the data.

## Acknowledgments

---

The sources of funding of the research projects and/or supports received for the study (scholarships, equipment, reagents, among others) should be mentioned. Individuals who have lent their intellectual support to the work, but whose contributions do not justify the authorship, can be named, describing the contribution made, eg "technical support", "critical review of the writing", "collection of samples".

## References

---

The format is based on the American Chemical Society (ACS) style guide.

- **References in text:** All quotations that appear in the text must match those presented in the References section, and vice versa. Citations should be made with italic numbers in parentheses in the text line and within the punctuation mark. For example:

-The extraction conditions are reported in other studies (*1*).

If there are multiple quotes they are separated by commas (,) with spaces between numbers; If they are consecutive citations, they are separated with hyphens (-). For example:

- The results obtained were similar to those reported by other authors (8, 26-30).

Citations should be written with natural numbers according to their order of appearance. If within the wording of the text should mention the author, then the citation should be:

- An author: Duque (2)
- Two authors: Duque and Palomeque (3)
- More than two authors: Duque *et al.* (4)

• **Formato de referencias:** The references must be organized in the same numerical order in which they were presented throughout the text.

#### Journals

The surname and initials of the name of all authors should be noted. Surnames are separated from the initials of the comma name. The initials of the names of authors are accompanied by dot. Authors are separated by semicolons. Then the title is written. The abbreviated name of the journal in italics, according to the Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI, <http://cassi.cas.org/search.jsp>). The year is written in bold, the volume in italics and the pages (separated by dash). Similarly, if the article has DOI it is necessary to include it at the end of the reference ([www.crossref.org](http://www.crossref.org)).

- Up to six authors: all authors included.

Da Silva, R.; Nissim, I.; Brosnan, M.; Brosnan, J. Creatine synthesis: Hepatic metabolism of guanidinoacetate and creatine in the rat in vitro and in vivo. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2009**, *296*, 256-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90547.2008>.

- More than six authors: include up to the first six authors and then write *et al.*

#### Books and other monographs

- Books without editors

- Stout, J.; Antonio, J.; Kalman, D. *Essentials of creatine in sports and health*. Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 2008; pp 30-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-573-2>.

-Budavari, S.; O'Neil, M. J.; Smith, A.; Heckelman, P. E.; Obenchain, J. R., Jr.; Gallipeau, J. A. R.; D'Arecea, M. A. *The merck index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 13th ed. Merck & Co., Inc.: Whitehouse Station, NJ, 2001; pp 1768-1769.

- Books with editors

-Rowe, R. C.; Sheskey, P. J.; Owen, S. C. (eds.). *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association: Grayslake, IL, 2006; pp 798-799.

- Chapter in edited book

McBrien, M. Selecting the Correct pH Value for HPLC. In *HPLC made to measure: A practical handbook for optimization*; Kromidas, S., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2006; pp 89-103.

#### PhD thesis (or similar)

- Printed

King, K. J. Development of a pressurized system for oxidation studies of volatile fluids. M.S. Thesis, The Pennsylvania State University, State College, PA, Marzo 1983.

- Electronic

Abrams, N. M. Efficiency enhancement in dye-sensitized solar cells through light manipulation. Ph.D. Dissertation [Online], The Pennsylvania State University, University Park, PA, December 2005. <http://etda.libraries.psu.edu/theses/approved/WorldWideIndex/ETD-1061/index.html> (consultado el 2 de abril de 2014).

#### Websites

Penn State Department of Chemistry. <http://www.chem.psu.edu/> (consultado el 7 de junio de 2014).

Mallet Chemistry Library, University of Texas Libraries. ThermoDex home page: An index of selected thermodynamic and physical property resources. <http://www.lib.utexas.edu/thermodex/> (consultado el 19 de marzo de 2014).

#### In press

Martínez, F.; Jouyban, A.; Acree, W. E., Jr. Comments on "Solubility and thermodynamic function of a new anticancer drug ibrutinib in 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol + water mixtures at different temperatures". *J. Chem. Thermodyn.* **2015**. In press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2015.11.031>

#### Tables and figures

- The tables should be in the body of the article, in the corresponding order of appearance. Both tables and figures must be self-contained (to be interpreted without having to resort to the body of the article). In the legend of the figure, or in the title or foot of the table, the keys, abbreviations and other explanations must be described. It is recommended to provide standard deviations and other statistical information relevant to the data in addition to the averages. Photos, diagrams, maps and graphs are classified as figures. Avoid redundancy between tables, figures and text.

- In addition to relating the figures and tables in the body of the article, they should be attached with their respective legends individually in excellent quality .TIFF format, with a minimum resolution of 300 dpi. Grayscale or weft should be used whenever possible. Color should be used when strictly necessary. Figures that have been created in Excel or Word must be sent in those programs.

- The labeling of each table should go above it, while in the figures must be presented at the bottom. Avoid Isolated Small Figures: Group figures with related information into compound letters labeled letters (Figure 1a, Figure 3b, etc.). If an article contains tables or figures reproduced (if they are from the same author), it is obligatory to declare the origin and to present permission to use them.

## Manuscript accepted for publication

---

If the editor has notified you that your manuscript could be accepted for publication if you take into account the modifications suggested by the reviewers, send the new version of the article accompanied by a letter detailing each of the reviewers' comments, and justify In case you do not consider any of the suggestions. Work on the new version of the article with change control or highlight the changes in this new version, so that the editor can easily identify them.

Once the peer review process has been completed, the editor will send an email to the author(s) of the manuscript stating the decision of the Editorial Committee. If the manuscript has been accepted for publication, the suggestions, indications and comments that each evaluator made on the substance and form aspects of the article will be attached to the mail. To continue with the publication process, the author(s) should send the following files to the Journal's e-mail (rcolquim\_fcbog@unal.edu.co):

- The new version of the document where you work with change control or highlight the modifications worked.
- A letter detailing each of the reviewers' comments, justifying those cases in which a particular indication or suggestion was not followed.
- Images that have been modified under the reviewers' comments and needs of the new version. Images must be in .TIFF format with a resolution greater than 300 dpi.

## Cost of publication

---

The publication of an article, with an extension not exceeding 3 printed pages of the journal, will cost \$30,000 Colombian pesos. The additional pages will cost \$20,000 Colombian pesos each.



## Contenido

Carta del editor  
Editor's letter

4

### Química Orgánica y Bioquímica

Dolabellane diterpenes from the Caribbean soft corals *Eunicea laciniata* and *Eunicea asperula* and determination of their anti HSV-1 activity

Dolabellanos de los octocorales caribeños *Eunicea laciniata* y *Eunicea asperula* y determinación de su actividad anti VHS-1

Dolabellanos dos octocorais caribenhos *Eunicea laciniata* e *Eunicea asperula* e determinação de sua atividade anti HSV-1

Fabián Amaya-García, María Leonisa Sanchez Nuñez, Freddy A. Ramos, Mónica Puyana, Izabel Christina Nunes de Palmer Paixão, Valeria Laneuville Teixeira, Leonardo Castellanos

5-12

### Química Aplicada y Analítica

Valores de colinesterasa plasmática y eritrocitaria con ácido 6-6'-ditioldinicotínico (DTNA) como indicador

Plasma and erythrocytic cholinesterase values with 6-6'-dithiodinicotinic acid (DTNA) as indicator

Valores da colinesterasa do plasma e dos eritrócitos utilizando o ácido 6-6'-ditioldinicotínico (DTNA) como indicador

Beatriz Restrepo Cortés, Ángela Liliana Londoño Franco, Juan Farid Sánchez López

13-19

Corrosion inhibition studies of the combined admixture of 1,3-diphenyl-2-thiourea and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde on mild steel in dilute acid media

Estudios de inhibición de la corrosión de la mezcla combinada de 1,3-difenil-2-tiourea y 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído en acero dulce en medio ácido diluido

Estudos de inibição da corrosão da mistura combinada de 1,3-difenil-2-tiourea e 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído em aço macio em meio ácido diluído

Roland T. Loto

20-32

Preparación de carbón activado a partir de residuos de palma de aceite y su aplicación para la remoción de colorantes

Preparation of activated carbon from palm oil wastes and their application for methylene blue removal

Preparação de carvão ativado a partir da resíduos de palmeira de óleo e sua aplicação para a remoção de corantes

Anyí P. Ramírez, Stephanie Giraldo, Elizabeth Flórez, Nancy Acelas

33-41

### Físicoquímica y Química Inorgánica

Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea

Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): An inorganic structure with many applications for heterogeneous catalysis

Magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>): Uma estrutura inorgânica com múltiplas aplicações em catálise heterogénea

Virginia E. Noval, Cristian Ochoa Puentes, José G. Carriazo

42-59

Síntesis de monetita pura por reacción heterogénea ácido-base

Synthesis of pure monetite by heterogeneous acid-base reaction

Síntese de monetita pura por reação heterogénea ácido-base

Davier Olarte Cárdenas, Luis Carlos Moreno Aldana, Edgar Delgado Mejía

60-68

Guía para autores  
Guide for authors

69-72



La Revista Colombiana de Química (Rev-Colomb Quím) se encuentra indexada y referenciada en: Publindex-Índice Bibliográfico Nacional (categoría A2 - dic 2013); Chemical Abstracts; SciELO Colombia; Scopus Q4 (SJR/2013: 0,112); Latindex; Redalyc y Directory of Open Access Journals (DOAJ).

Es publicada cuatrimestralmente por el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Se orienta a la divulgación científica de contribuciones provenientes de la investigación en las diversas áreas de la química.

**Open Access Journal:** full contents available on-line at:

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim>

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804&lng=es&nrm=iso)