



Revista Colombiana de Química





VOL. 53 NÚM. 2 - 2024

Revista Colombiana de Química

Revista semestral del Departamento de Química
Facultad de Ciencias
© Universidad Nacional de Colombia, Bogotá
ISSN: 0120-2804
ISSN-e: 2357-3791
DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim>
Correo electrónico: rcolquim_fcbog@unal.edu.co

Indexada

Publindex - Índice Bibliográfico Nacional (categoría C)
Scielo Colombia
Scopus Q4 (SJR/2024: 0,11)
Redalyc
Chemical Abstracts Service (CAS) Source Index
Latindex
Directory of Open Access Journals (DOAJ)
BIBLAT
Dialnet

Consulta Open Access

Todos los ejemplares de la Revista Colombiana de Química se encuentran disponibles en estos sitios web:

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

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0120-2804

<http://www.redalyc.org/revista.oa?id=3090>

El contenido se encuentra bajo una licencia de Creative Commons tipo Atribución Internacional (CC BY 4.0) que permite el acceso abierto con cualquier fin, siempre que se de el reconocimiento apropiado

Director de la revista

Carlos Eduardo Narváez Cuenca, Ph. D
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

Asistentes editoriales

Angie Carolina Guevara
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá
Carolina Gómez Pulido
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

Comité editorial y científico

Sonia Moreno Guaquetá
Universidad Nacional de Colombia, Colombia
Hector Fabio Zuluaga Corrales
Universidad del Valle, Colombia
Juscelino Tovar
Lund University, Suecia
Leonardo Castellanos Hernández
Universidad Nacional de Colombia, Colombia
Francisco Carrasco Marín
Universidad de Granada, España
Cristian Ochoa Puentes
Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Preparación editorial

Corrección de estilo:
Angie Carolina Guevara y Carolina Gómez Pulido
Diseño y maquetación:
Carolina Gómez Pulido
Diseño de cubierta:
Damian Medina Crofort
Fotografía de la cubierta:
Divulgación y Medios - Fac. Ciencias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Química Aplicada y Analítica

Integración de la química verde en el currículo educativo: un enfoque sostenible Composición química y capacidad antioxidante de tres variedades de cascarilla de café (*Coffea arabica*)

3-12

Chemical composition and antioxidant capacity of three varieties of coffee (*Coffea arabica*) husk

Composição química e capacidade antioxidante de três variedades de casca de café (*Coffea arabica*)

Mercedes Campo Fernández, María Cristina Palacios Marín, Andreina Priscilla Panta Cuenca, Nubia Lisbeth Matute Castro, Osmany Cuesta Rubio, Ingrid Márquez Hernández y Carmita Gladys Jaramillo Jaramillo

Detection and Characterization of Halogen Bonds by UV-Vis Spectrophotometry and Molecular Modelling

13-18

Detección y caracterización de enlaces halógenos por medio de espectrofotometría UV-Vis y modelado molecular

Detecção e caracterização de ligações halógenas através de espectrofotometria UV-Vis e modelagem molecular

Darío Jorge Roberto Duarte, Carlos Alberto Galarza y Matias Orlando Miranda

Fisicoquímica y Química Inorgánica

α -D-Glucose Adsorption on $Al_{24}N_{24}$ and Transition Metal-Doped $Al_{23}N_{24}$ Nanoclusters: New Insights for Biodetection

19-28

Adsorción de α -D-glucosa en nanoclústeres de $Al_{24}N_{24}$ y $Al_{23}N_{24}$ dopados con metales de transición: nuevas perspectivas para la biodetección

Adsorção de α -D-glicose em nanoaglomerados de $Al_{24}N_{24}$ e $Al_{23}N_{24}$ dopados com metal de transição: novas perspectivas para a biodeteção

Mohanned Al-Anber y Rasha Hameed

Estudio computacional de las transiciones morfológicas en la agregación del biosurfactante ácido láurico en agua

29-38

Computational Study of Morphological Transitions in the Aggregation of the Lauric Acid Biosurfactant in Water

Estudo computacional das transições morfológicas na agregação do biossurfactante ácido láurico em água

José G. Parra, Peter Iza y José A. Alcalá

Acoplamiento molecular entre fármacos para Alzheimer y la enzima γ -secretasa.

39-46

Molecular Docking between Alzheimer's Drugs and γ -secretase Enzyme

Acoplamento molecular entre medicamentos para Alzheimer e a enzima γ -secretase

Ana Paola Jara y Rivera, Andrea Moreno Ceballos, María Eugenia Castro, Francisco J. Melendez y Norma A. Caballero

Química Aplicada y Analítica

Detección y cuantificación de hidrocarburos en agua y sedimentos por medio de fluorescencia usando un espectrofluorómetro comercial

47-53

Approach to the Detection and Quantification of Hydrocarbons in Water and Sediments by Fluorescence Using a Commercial Spectrofluorometer

Detecção e quantificação de hidrocarbonetos em água e sedimentos por fluorescência usando um espectrofluorômetro comercial

Diego Mora Solarte, Angélica González Reina, Ivonne Calderón Delgado y Yohana Velasco Santamaría



Composición química y capacidad antioxidante de tres variedades de cascari-lla de café (*Coffea arabica*)

Resumen

La cascarilla de café es un residuo agrícola generado durante el procesamiento de granos de café que, aunque puede incidir en la contaminación ambiental, contiene metabolitos con actividad antioxidante. En esta investigación se propuso evaluar la composición química y la capacidad antioxidante de la cascarilla de tres variedades de café (*Coffea arabica*): Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS), cosechadas en la provincia de El Oro, Ecuador. Se cuantificó espectrofotométricamente el contenido de fenoles totales equivalente a ácido gálico y de taninos en los extractos hidroalcohólicos obtenidos mediante sonicación. Los resultados mostraron que las variedades CR y SS tenían niveles significativamente más altos de fenoles, la variedad CR también mostró mayor cantidad de cafeína. La cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) facilitó la identificación de dicha xantina, de ácidos clorogénicos y flavonoides, todos referidos para la especie. La capacidad antioxidante equivalente a Trolox, evaluada mediante los métodos de FRAP y DPPH, demostró que todas las muestras pueden ser aprovechadas por tal propiedad, ya que se evidenció una correlación fuerte y positiva con los contenidos de los compuestos fenólicos determinados. Estos hallazgos sugieren que la cascarilla de café puede ser una fuente valiosa de antioxidantes con potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria.

Palabras clave: cascarilla de café; residuo agroindustrial; *Coffea arabica*; antioxidante; cafeína; compuestos fenólicos.

Chemical composition and antioxidant capacity of three varieties of coffee (*Coffea arabica*) husk

Abstract

Coffee husk is an agricultural residue generated during the processing of coffee beans, which, although it can affect environmental pollution, contains metabolites with antioxidant activity. This research aimed to evaluate the chemical composition and antioxidant capacity of the husk of three varieties of coffee (*Coffea arabica*): Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA), and San Salvador (SS), harvested in the province of El Oro, Ecuador. The content of total phenols equivalent to gallic acid and tannins in the hydroalcoholic extracts obtained by sonication was quantified spectrophotometrically. The results showed that the CR and SS varieties had significantly higher levels of phenols and the CR variety also showed a greater amount of caffeine. High-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HPLC-MS) facilitated the identification of xanthine, chlorogenic acids, and flavonoids, all referred to the species. The Trolox equivalent antioxidant capacity, evaluated by FRAP and DPPH methods, demonstrated that all samples can be used for their antioxidant capacity, showing a strong and positive correlation with the determined contents of phenolic compounds. These findings suggest that coffee husks may be a valuable source of antioxidants with potential applications in the pharmaceutical and food industries.

Keywords: Coffee husks; agroindustrial residue; *Coffea arabica*; antioxidant; caffeine; phenolic compounds.

Composição química e capacidade antioxidante de três variedades de casca de café (*Coffea arabica*)

Resumo

A casca de café é um resíduo agrícola gerado durante o processamento dos grãos de café que, embora possa causar poluição ambiental, contém metabolitos com atividade antioxidante. A pesquisa teve como objetivo avaliar a composição química e a capacidade antioxidante da casca de três variedades de café (*Coffea arabica*): Catucaí Vermelho (CR), Catucaí Amarelo (CA) e San Salvador (SS), colhidas na província de El Oro, Equador. O teor de fenóis totais equivalentes a ácido gálico e taninos nos extratos hidroalcoólicos obtidos por sonicção foi quantificado espectrofotometricamente. Os resultados mostraram que as variedades CR e SS apresentaram níveis significativamente mais elevados de fenóis e a variedade CR também apresentou maior quantidade de cafeína. A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HLAE-MS) facilitou a identificação das referidas xantinas, ácidos clorogênicos e flavonóides, todos referentes à espécie. A capacidade antioxidante equivalente ao Trolox avaliada pelos métodos FRAP e DPPH demonstrou que todas as amostras podem ser utilizadas pela sua capacidade antioxidante, apresentando correlação forte e positiva com os conteúdos dos compostos fenólicos determinados. Estas descobertas sugerem que a casca do café pode ser uma fonte valiosa de antioxidantes com aplicações potenciais nas indústrias farmacêutica e alimentar.

Palavras-chave: casca; resíduos agroindustriais; *Coffea arabica*; antioxidante; cafeína; compostos fenólicos.



Introducción

El café es un producto muy consumido a nivel mundial y es reconocido como un alimento funcional debido a su rico contenido de metabolitos antioxidantes, así como por sus efectos biológicos beneficiosos [1]. Aunque existen más de 100 especies del género *Coffea*, las de mayor relevancia económica son la *Coffea canephora* (café robusta) y la *Coffea arabica* (café arábico), esta última representa aproximadamente el 60% de la producción mundial de café [2]. Ecuador es uno de los grandes productores de café, debido a la amplia variedad de ecosistemas presentes en las diferentes regiones del país [3]. Según datos de 2013, Ecuador contaba con aproximadamente 199.215 ha dedicadas al cultivo de café, de las cuales el 68% correspondía a la especie *C. arabica* y el 32% a la *C. canephora* [4]. Sin embargo, según datos de la Asociación Nacional de Exportadores de Café (ANECAPÉ) de 2019, la superficie dedicada al cultivo de café en Ecuador se redujo a aproximadamente 60.000 ha. En este mismo año, la provincia El Oro contaba con 9730 ha de superficie destinadas al cultivo de todas las variedades de *C. arabica* [5].

La gran demanda de café genera cantidades considerables de residuos agrícolas, los cuales representan un problema ambiental. La cascarilla de café es uno de los principales residuos sólidos obtenidos durante el procesamiento de café, su magnitud oscila entre el 30 y el 50% del peso total del café producido [6]. Generalmente, la cascarilla está conformada por la piel, la pulpa, el mucílago, el pergamino y partes de la piel plateada [7], esta se genera después de descascarar las cerezas de café.

Para extraerlos o separar los compuestos bioactivos de la cascarilla de café, es común emplear un proceso de extracción sólido-líquido. Tanto los métodos tradicionales (maceración o Soxhlet), así como los métodos innovadores (extracción asistida por ultrasonido, microondas y enzimas) han sido utilizados para los procesos de extracción. Estudios han demostrado la presencia de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante tanto en extractos acuosos de la pulpa de café obtenidos por maceración, como en extractos etanólicos de residuos de café extraídos mediante ultrasonido [8, 9].

Algunas indagaciones refieren que el café, incluyendo su cascarilla, ayuda para el fortalecimiento del sistema inmunológico, además de que protege al organismo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). Esto se debe a los diferentes compuestos bioactivos que contiene: cafeína, ácidos clorogénicos, flavonoides, taninos, entre otros [10]. Otros análisis describen que la cafeína es antioxidante y, por ende, está relacionada con la prevención de patologías asociadas con el estrés oxidativo [11]. Tamayo [12] sugiere que el consumo de antioxidantes puede ayudar a prevenir ECNT, por su papel protector frente al daño celular. Por lo tanto, la cascarilla de café puede ser un recurso innovador para las industrias alimenticias y farmacéuticas, debido a su contenido de micronutrientes, macronutrientes y metabolitos especializados con actividad antioxidante [13].

Debido al interés en aprovechar los compuestos bioactivos de la cascarilla de café que se obtiene en la finca "Don Ángel", ubicada en Las Lajas, provincia de El Oro, es necesario hacer un estudio fitoquímico de estas materias primas nunca antes investigadas, ya que podrían ser una opción viable y efectiva para el desarrollo de productos beneficiosos para la salud, en particular por su capacidad antioxidante. De tal manera, el objetivo propuesto fue evaluar la composición química y la capacidad antioxidante de tres variedades de cascarilla de café, mediante métodos cromatográficos y espectroscópicos, para que puedan ser aprovechadas en la industria farmacéutica y alimentaria.

Materiales y métodos

Material vegetal utilizado en el estudio

Las materias primas objeto de estudio fueron las cascarillas, obtenidas a partir del procesamiento por vía húmeda de los frutos maduros de tres variedades de *C. arabica*. Tales materiales fueron recolectados entre el mes de junio de 2023 y abril de 2024 en la finca "Don Ángel", ubicada en el cantón Las Lajas, provincia de El Oro. Se trabajaron las variedades Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS), todas híbridas de la especie *C. arabica*, cosechadas en un estado de madurez comercial.

Preparación del material vegetal

Las cascarillas de café recolectadas fueron desecadas a una temperatura de 45 ± 2 °C en una estufa (MEMMERT UF 55, Alemania), con circulación de aire forzado (velocidad al 100%) y trampilla abierta (100%), por un tiempo que osciló entre 24 y 48 h. Posteriormente, se trituraron en un procesador de alimentos (HAMMILTON BEACH) y se tamizaron a través de una malla (HUMBOLDT) de 850 µm. Cada materia prima fue embalada en bolsas plásticas de cierre hermético a temperatura ambiente (25 °C) y almacenadas en un desecador.

Análisis de la composición química proximal de las cascarillas de café

El contenido de humedad en las muestras se determinó mediante una termobalanza digital (Ohaus, modelo MB90, USA) con fuente de calentamiento halógena (modelo MB90). Para la determinación de materia inorgánica se cuantificaron las cenizas totales según el método 942.05 establecido por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), con algunas modificaciones [14]: las muestras, pesadas en crisoles previamente tarados, fueron incineradas por 7 h en una mufla (Nabertherm L-150 KICN) a una temperatura de 700 °C y pesadas en una balanza analítica (RICE LAKE).

El porcentaje de grasas totales se determinó según la metodología descrita por Pillco et al. [15], con algunas modificaciones: se colocaron 2 g de la muestra en un cartucho de papel filtro, se introdujo en un equipo de Soxhlet y se desengrasó con 200 mL de hexano grado HPLC (Fisher Chemical). La extracción se realizó durante 4 h, el disolvente se eliminó mediante un rotoevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 efficient) acoplado a un criostato (LAUDA/ALPHA RA-8) y a una bomba de vacío (VACUUBRAND PC 600, Alemania). Todas las determinaciones gravimétricas descritas se realizaron por triplicado.

La cuantificación de proteínas y minerales fue realizada en el laboratorio NEMALAB S.A. Para proteínas se utilizó la técnica de micro Kjeldahl y el factor de conversión de nitrógeno a proteínas 6,25; mientras que para la determinación de los minerales (mg/g de material vegetal seco) se empleó el método de digestión húmeda con una mezcla 2:1 de ácido nítrico y ácido perclórico.

Preparación de extractos y rendimiento de extracción

Para la preparación de los extractos se utilizó la relación 1:8 (m/v), según lo reportado por Pacheco et al. [16]. Como disolvente se empleó una mezcla hidroalcohólica de etanol absoluto (PanReac AppliChem) y agua destilada (80:20). La extracción se efectuó mediante sonicación en un baño ultrasónico (ULTRASONIC BATH 5.7 L, Fischer Scientific, 40 Hz) a una temperatura de 30 °C durante 30 min. Los extractos se filtraron con ayuda de un papel de filtro calidad analítica de 9 cm de diámetro (FILTRAK). Para el cálculo del rendimiento se consideró la relación entre la masa inicial de la materia vegetal seca que se sometió al proceso de extracción (100%) y la masa del extracto seco (ES) obtenido. Los resultados se refieren en porcentaje (%).

Análisis mediante cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-ESI/EM)

Las disoluciones del ES de cascarrilla fueron preparadas en concentraciones de 10 mg/mL, utilizando metanol calidad HPLC (FISHER CHEMICAL), y fueron filtradas a través de filtros de 0,20 µm. Se empleó la metodología descrita por Campo-Fernández *et al.* [17].

Cuantificación de metabolitos especializados

Determinación de fenoles totales (FT) mediante el método Folin-Ciocalteu

Para la determinación de fenoles totales (FT) se usó el reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich) y la metodología descrita por Campo-Fernández *et al.* [17]. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico 10 mg/mL (Sigma Aldrich) en concentraciones de 0,1 hasta 0,9 mg/mL, los resultados se reportaron como mg equivalentes a ácido gálico por gramos de materia vegetal seca (EAG/g). Las lecturas se realizaron a 765 nm utilizando microceldas de plástico (BRAND GMBH) de 1,5 mL y con la ayuda de un espectrofotómetro (UV-Visible SPECTROPHOTOMETER Evolution 201 Thermo Scientific, USA).

Determinación de taninos totales (TT)

Para la cuantificación de taninos totales (TT) se utilizó la metodología descrita por Mex-Álvarez *et al.* [18] con algunos cambios. El reactivo de gelatina se preparó mezclando 5 mL de una disolución acuosa de gelatina al 10% con 10 mL de disolución de NaCl al 10% en HCl al 1%, se agitó la mezcla y se aforó a 50 mL con agua destilada, se mantuvo en reposo por 30 min. Posteriormente, se mezclaron 500 µL del extracto con 500 µL del reactivo de gelatina, se incubó por 30 min en un baño de María a 37 °C y se centrifugó en una centrífuga (Table top centrifuge PLC-03) a 4500 rpm (2422 RCF) durante 10 min. Se tomaron 50 µL del sobrenadante y se realizó la determinación de FT según el método de Folin-Ciocalteu, antes descrito. El contenido de TT se determinó por diferencia entre el contenido de FT en el extracto, antes y después del tratamiento con gelatina.

Cuantificación de cafeína mediante espectrofotometría UV-Vis

Se realizó una curva de calibración a partir de una disolución metanólica madre de cafeína (0,4 mg/mL). Se prepararon concentraciones desde 1 hasta 16 µg/mL, a las cuales se le midió la absorbancia a una longitud de onda de 273 nm, para ello se utilizó el espectrofotómetro UV-Visible y celdas de cuarzo de 1 cm × 4 mL. Para la obtención de la fracción enriquecida con cafeína se partió del extracto hidroalcohólico (1:8 m/v) antes descrito. El procedimiento desarrollado se muestra en la **figura 1**.

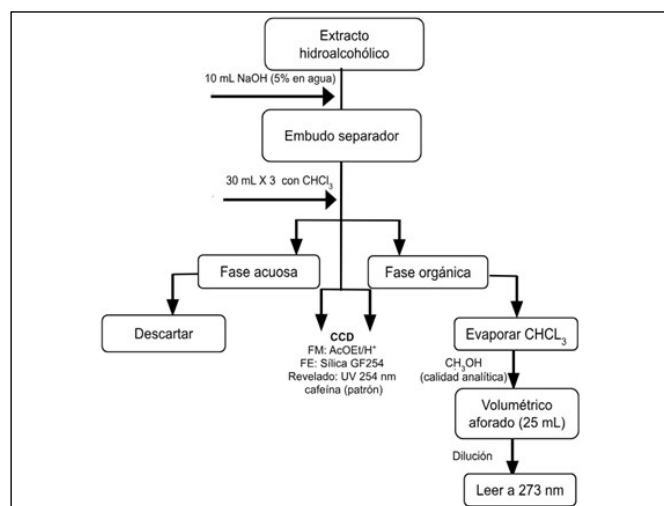


Figura 1. Procedimiento desarrollado para la cuantificación de cafeína a partir de extractos hidroalcohólicos de las cascarrillas de café.

Cuantificación de la capacidad antioxidante

Poder antioxidante reductor de iones férricos (FRAP)

La preparación del reactivo se realizó según la metodología descrita por Benzie *et al.* [19]. Se elaboró una curva de calibración con disoluciones etanólicas (etanol absoluto PANREAC APPLICHEM para análisis) del ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), en concentraciones de 0,027 a 0,227 mg/mL. Para el ensayo se mezcló 50 µL de cada uno de los estándares o de las muestras con 1,5 mL del reactivo FRAP; se esperó un tiempo de 5 min para hacer la lectura espectrofotométrica a 593 nm en las microceldas de 1,5 mL, para ello se utilizó como blanco el reactivo de FRAP. El resultado fue expresado como la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC, por sus siglas en inglés) por gramo de cascarrilla (TEAC/g).

Método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

La determinación de la capacidad secuestradora del radical libre DPPH se desarrolló mediante la metodología reportada por Brand-Williams *et al.* [20], con algunas modificaciones. Para la elaboración de la curva de calibración utilizando el análogo hidrosoluble de la vitamina E (Trolox), se prepararon disoluciones etanólicas en concentraciones de 0,027 a 0,277 mg/mL. De cada una de las diluciones del estándar se tomaron 200 µL y se mezclaron con 3,8 mL de la disolución etanólica de DPPH (0,1 mmol/L). La lectura se efectuó a 517 nm en el espectrofotómetro, usando las microceldas de 1,5 mL y empleando como blanco el etanol absoluto. Con los valores de absorbancia obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición, según la Ec. (1):

$$\% \text{ DPPH} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}})}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (1)$$

Donde % DPPH es el porcentaje de inhibición del radical libre, A_{control} es la absorbancia del control (DPPH 0,1 mmol/L) y A_{muestra} es la absorbancia de la muestra luego de reaccionar con la disolución de DPPH por 30 min y bajo condiciones de oscuridad.

El ensayo con cada una de las muestras a evaluar se desarrolló de la manera antes descrita. La cuantificación de la capacidad antioxidante expresada en miligramos equivalentes a Trolox por cada gramo de cascarrilla, se hizo a partir de curva de calibración.

Análisis estadístico

El análisis estadístico descriptivo se realizó con el software Jamovi versión 2.5 (media, desviación estándar y test de normalidad por la prueba de Shapiro-Wilk). La determinación de las posibles diferencias entre las variedades para un mismo factor, se realizó mediante un ANOVA (análisis Post Hoc de Tukey), previa determinación de la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene.

Resultados y discusión

Análisis de la composición química proximal de las cascarrillas de café

El resultado del análisis de la composición proximal se detalla en la **tabla 1**, para las tres variedades de cascarrillas de café en estudio. Cabe mencionar que la composición química de las cascarrillas de café puede ser susceptible a variaciones por diversos factores, como condiciones climáticas, variedades de la especie, entre otros [18, 19]. Como se puede apreciar, los valores de humedad residual obtenidos en las tres variedades de *C. arabica* están dentro del rango de referencia, que establece como límite máximo un 12% (p/p), según las Normas INEN 2392 [23] para hierbas aromáticas. El proceso de secado en materias vegetales es uno de los pasos primordiales, ya que un exceso de agua puede propiciar el deterioro y la posterior hidrólisis de los compuestos activos [24]. De esta manera, se asegura la conservación de los metabolitos durante su almacenamien-

to al detener los procesos de degradación que podrían resultar en hidrólisis, racemización, oxidación u otras alteraciones microbiológicas [25].

Con relación al porcentaje de grasas totales en las cascarillas se obtuvieron valores que oscilaron entre 2,07 y 5,22% (p/p). Todas las muestras están dentro del rango de resultados de otros estudios realizados en las cascarillas de café, que oscilan entre 1,70 y 5,78% (p/p) de grasa total [26–28]. Los porcentajes de proteínas en las matrices analizadas muestran valores entre 7,38 y 9,13% (p/p). Estos resultados también resultan similares a los referidos por otros autores en cascarillas de *C. arabica* procesadas por el método húmedo, donde se obtuvieron valores entre 6,59 y 10,23% (p/p) [25–28].

El contenido de cenizas totales es otro de los parámetros que inciden en la calidad de una materia prima de posible consumo humano, ya que valores elevados pueden indicar la presencia de materia inorgánica propia de la planta o contaminantes del suelo. Las cenizas totales en las tres variedades de cascarillas de *C. arabica* se encuentran por encima del límite establecido por las Normas INEN 1123 [31] para café tostado en grano o molido (5%, p/p), ya que no existe una norma para la cascarilla de dicho fruto. Este resultado podría estar relacionado con las condiciones del suelo donde se desarrolló la especie vegetal y con la capacidad de acumulación de ciertos minerales en las estructuras celulares de las plantas [32]. Estudios previos en cascarilla refieren valores entre 10,19 y 10,67% (p/p) [33], los cuales resultan superiores a los mostrados en la **tabla 1**. Tales valores elevados, aunque coinciden con investigaciones realizadas por otros autores, insisten en la necesidad de eliminar la presencia de metales pesados (arsénico, plomo, cadmio, etc.) en concentraciones nocivas para el consumo humano.

Tabla 1. Análisis proximal y determinación de minerales de las tres variedades de *C. arabica* (n = 3).

Parámetros (%)	CR (Media ± S)	CA (Media ± S)	SS (Media ± S)
Humedad residual	5,60 ± 0,13 a	5,95 ± 0,10 a	4,83 ± 0,16 b
Grasa total	2,07 ± 0,20 a	5,22 ± 3,52 b	2,09 ± 0,17 a
Proteínas	8,69	7,38	9,13
Cenizas totales	9,0 ± 0,13 a	6,99 ± 0,15 b	8,34 ± 0,02 c
Minerales (mg/g de materia vegetal en base seca)	CR	CA	SS
N	13,90	11,80	14,60
P	1,40	1,40	1,40
K	39,80	32,40	34,90
Ca	5,10	4,80	5,60
Mg	1,60	1,90	1,50
Zn	0,01	0,01	0,01
Cu	0,01	0,01	0,01
Fe	0,14	0,12	0,10
Mn	0,04	0,06	0,03
Na	0,05	0,05	0,06

S: desviación estándar. La cuantificación de minerales y de proteínas no se realizó por triplicado, razón por la que no se presenta la S.
Letras iguales dentro de una misma fila significan que no existen diferencias estadísticamente significativas (α = 0,05).
Variedades de *C. arabica*: Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS).

Considerando que minerales como el Ca, Na, Mg y P podrían tener relevancia desde el punto de vista nutricional [34], se cuantificaron algunos elementos inorgánicos (**tabla 1**). Silva *et al.* [35] refieren niveles similares de Cu, Mn, Zn y Na, mientras que los valores que informaron para N, P, K, Ca, Mg fueron inferiores a los obtenidos en esta investigación. Puerta [36] indica que el contenido de K constituye, aproximadamente, entre el 40 y el 45% del total del peso de las cenizas del grano de café; el S representa alrededor del 7,9%, el Mg el 3,9%, el P el 3,4% y el Ca el 2,1%; estos elementos suman cerca del 60% de la masa total de las cenizas del café. Este resultado guarda estrecha relación con lo obtenido en este estudio (**tabla 1**), en el cual el K fue el mineral que se encontró en mayor cantidad en todas las muestras, seguido por el N, Ca, Mg y P, lo que puede justificar los elevados valores de cenizas totales.

Análisis mediante cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-ESI/EM)

La extracción por sonicación de las tres variedades de *C. arabica* evidenció un rendimiento extractivo muy similar que osciló entre 20,83 y 23,76%. Los cromatogramas obtenidos para los extractos hidroalcohólicos de cada una de las muestras presentaron una gran similitud, sobre todo para las variedades CR y SS, en los tiempos de retención donde eluyen los picos de mayor intensidad (**figura 2**).

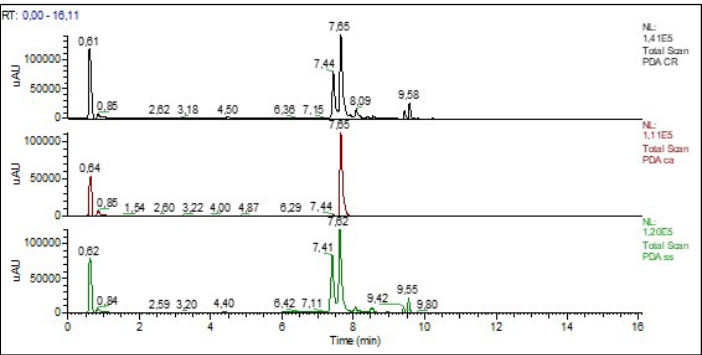


Figura 2. Cromatogramas UV de las tres variedades de la especie *C. arabica*: Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS).

El análisis de los datos de espectrometría de masas sugirió la existencia de los compuestos químicos que se exponen en la **tabla 3**, los que coinciden en todos los casos con estudios realizados por otros autores en la planta de café [7, 34–38]. Aunque en el espectrómetro de masas se ensayaron los dos modos de ionización, los mejores resultados para los compuestos de naturaleza fenólica se obtuvieron en el modo ion negativo. Sin embargo, para la cafeína el modo ion positivo resultó de mayor utilidad.

Los ácidos clorogénicos son metabolitos de naturaleza fenólica que se han identificado por diversos investigadores en el fruto de café [7, 14, 39, 40]. Estructuralmente se definen como ésteres de ácido trans-cinámico y se caracterizan por poseer actividad antioxidante, hipoglucemiante, antiviral, hepatoprotectora y nutracéutica, entre otras [44]. Según los resultados obtenidos, estos metabolitos están presentes en todas las muestras. Los espectros de masas para tales compuestos muestran los iones característicos del ácido clorogénico (ácido-5-cafeoilquinico) o su isómero el ácido neoclorogénico (ácido-3-cafeoilquinico) los que eluyeron a un tiempo de retención (TR) de 9,6 min. La presencia de uno de estos isómeros se sustenta en los iones fragmentos (MS²), otras investigaciones refieren que en ambos el pico base del espectro es el de m/z 191, se observa, además, los m/z 179, 135, 161 y 173 [34, 42–43]. Adicionalmente, al analizar el espectro UV-vis, estos presentan dos máximos de absorción en 300 (hombro) y 325 nm, característicos para tales isómeros, según la bibliografía consultada [47]. Se debe señalar que trabajos realizados por otros autores informan la presencia mayoritaria del ácido-5-cafeoilquinico [48].

Tabla 3. Compuestos identificados mediante CLAE-ESI/MS con ionización en modo negativo.

Compuesto (muestra)	TR (min)	[M-H] ⁻ (m/z)	MS ² (m/z)	Referencias
Catequina/Epicatequina (CR, SS)	6,8	289	271, 245 , 227, 205, 203, 179, 161	[7, 34, 38]
Ácido 5-feruloilquínico* (SS)	7,2	367	191 , 173, 127	[34, 37, 38]
Dímero de uno de los isómeros del ácido cafeoilquínico (CR, SS)	7,4-7,5	707	353, 191	[48]
Procyanidin B (CR, SS)	8,0	577	299, 289 , 287, 273, 245	[7, 34-35]
Apigenina 6,8-di-C-glucosido (CA)	8,2	593	503, 473 , 383, 353	[37]
Ácido quínico (CA, CR, SS)	7,4-7,5	191	173, 127, 111, 93, 84	[37]
Rutina glicosidada (CR, SS)	8,4	771	367, 355, 343, 301 , 300, 271	[37]
Soforósido de quercetina (SS)	8,6	625	341, 301, 300 , 271, 255, 179	[37]
Rutina (CR, SS)	9,1	609	343, 301 , 271, 179	[34, 38]
Kaempferol-3-O-ramnosilglucósido (CA, CR, SS)	9,5	593	285 , 267, 257, 241	[37]
Ácido dicafeoilquínico* (CA, CR, SS)	9,5	515	353 , 335, 255, 191, 179, 173	[34, 38]
Ácido 5-cafeoilquínico* (CR, SS)	9,6	353	191 , 179, 173, 161, 135	[34, 36]
Ácido 4-cafeoilquínico* (CR, SS)	9,8	353	191, 179, 173 , 161, 135	[34, 36]

Variedades de *C. arabica*: Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS).

TR: tiempo de retención.

[M-H]⁻: ion molecular desprotonado.

MS²: iones fragmentos, se resalta en negrita el pico base de espectro.

*Puede ser cualquiera de los isómeros que la bibliografía ha informado para esta especie.

Para esta materia vegetal también se ha identificado la presencia del ácido 4-cafeoilquínico, para el cual la fragmentación característica, según Weisz *et al.* y Gras *et al.* [43, 46], muestra al ion *m/z* 173 como el pico base del espectro, seguido de las *m/z* 179 y 191. Este resultado fue corroborado en este análisis para el pico que eluye a un TR de 9,8 min en CR y SS.

Según Aerts *et al.* [50] la concentración de ácidos clorogénicos en el café puede variar dependiendo de la altura donde se cosecha el café, la intensidad lumínica, incluso el grado de maduración de la especie. Estos ácidos son solubles en agua y son responsables del sabor y de los pigmentos que presenta el café tostado [51]. Estos metabolitos fenólicos poseen efectos antioxidantes y anticancerígenos, por lo que se relacionan con la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo [52].

Los ácidos dicafeoilquínicos, también denominados isoclorogénicos, han sido encontrados en el café, en particular el ácido 3,4-dicafeoilquínico, el ácido 3,5-dicafeoilquínico y el ácido 4,5-dicafeoilquínico [37]. En la investigación actual sólo apreció una señal con un [M-H]⁻ en *m/z* 515 que podría corresponder a cualquiera de estos isómeros, ya que todos muestran un pico base en *m/z* 353. Algo similar sucede con el ácido 5-feruloilquínico identificado en la variedad SS; pudiera ser su isómero el ácido 4-feruloilquínico, también informado para el café, los que muestran un [M-H]⁻ en *m/z* 367 y el ion fragmento *m/z* 191 como el pico base del espectro.

Para las variedades CR y SS, el cromatograma UV muestra una señal a un TR de 7,4 min, para la cual el espectro de masas arrojó el ion dimérico [2M-H]⁻ en *m/z* 707, con iones fragmentos en *m/z* 191 (100%) y *m/z* 353. Tal metabolito ha sido previamente referido por Esquivel *et al.* [48] en el análisis de pulpa y piel de *C. arabica*. Según comunicación personal del especialista, los dímeros pudieron originarse tras el proceso de ionización que acontece en la fuente de ionización del espectrómetro de masas.

Con respecto al ácido quínico, este es un metabolito que se encuentra en diversas especies vegetales, incluyendo *C. arabica*. Según los resultados obtenidos, está presente en las tres muestras de estudio CR, CA y SS. En la investigación de Cangeloni *et al.* [37] se logró identificar tal molécula en las hojas de *C. arabica*, esto se constató mediante la *m/z* 191 ([M-H]⁻), acompañada por los iones fragmentos *m/z* 127, 173, 111 y 93, hallazgo que concuerda con los resultados obtenidos en este estudio.

Con relación a la catequina y la epicatequina, estos compuestos son dos flavanoles epímeros, se encuentran en una amplia variedad de alimentos de origen vegetal y resaltan por su capacidad antioxidante [50, 51]. Dicho compuesto se identificó en las variedades CR y SS, ya que se observó la *m/z* 289 ([M-H]⁻) y el pico base a *m/z* 245, característico de estos isómeros [7, 34].

Otro de los compuestos identificados en las variedades CR y SS fue el flavonoide rutina, con un [M-H]⁻ en *m/z* 609 y un pico base en *m/z* 301, esto se constata en la investigación realizada por Esquivel *et al.* [48]; sin embargo, sólo lo detectaron en las cáscaras de café (epicarpio) y no en la pulpa. La presencia de rutina en las cascarrillas de este estudio puede deberse a que, durante el procesamiento húmedo del café, el subproducto que se desecha contiene cáscara y parte de la pulpa de café.

En cuanto al kaempferol-3-O-ramnosilglucósido, su presencia se identifica en las tres variedades de cascarrilla de *C. arabica*. Este metabolito había sido previamente reportado por Cangeloni *et al.* [37], quienes evidenciaron al ion *m/z* 285 como pico base en el espectro de masas, junto con iones fragmentos de *m/z* 267, 257 y 241, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio.

El ion [M-H]⁻ a *m/z* 577 y los iones fragmentos *m/z* 451, 425, 407, 289 y 273 son representativos de las procianidinas B [34-35, 45]. En el estudio actual se observó una señal en *m/z* 577 ([M-H]⁻) para CR y SS, que coincide con dos iones fragmentos, el de pico base de este estudio *m/z* 289 y la *m/z* 273. Las procianidinas B son el tipo más predominante en la naturaleza, y entre ellas, las procianidinas B1, B2, B3 y B4 son las más comunes. Estas procianidinas son flavonoides que destacan por su marcada capacidad antioxidante, siendo capaces de neutralizar una amplia variedad de especies de radicales libres y compuestos nitrogenados [55].

Se evidenció la presencia de apigenina 6,8-di-C-glucósido, exclusivamente en la variedad CA, en el ion [M-H]⁻ de *m/z* 593; iones fragmentos como *m/z* 503, 383, 353 y un pico base de *m/z* 473, representativo para este compuesto [34, 53]. La apigenina es una flavona conocida por sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias, según lo documentado por Liao *et al.* [57].

Estudios han corroborado que ejerce un efecto inhibitor en la progresión y desarrollo de tumores, mediante un mecanismo que involucra la apoptosis en las células cancerosas [58].

Además, se identificaron otros metabolitos, como la rutina glicosada en las variedades CR y SS y el soforósido de quercetina, que solo se observó en la variedad SS. La evidencia para tales compuestos se sustenta en el [M-H]⁻ y sus iones fragmentos acorde a lo informado en la **tabla 3** [37].

La detección de cafeína mediante espectrometría de masas (EM) tuvo lugar en el modo positivo. Todas las variedades presentaron una señal a un TR alrededor de los 10 min, que en todos los casos resultó ser la de mayor intensidad. El análisis del espectro de masas conjuntamente con el espectro de absorción UV obtenido para dicho alcaloide (**figura 3**) permitió sugerir la estructura de la cafeína. Esta xantina presenta un máximo de absorción alrededor de 273 nm y su ion fragmento de mayor intensidad es el *m/z* 138 (100%) [34, 44].

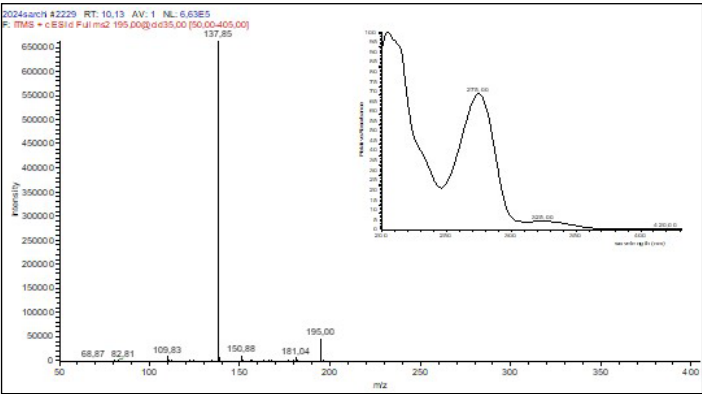


Figura 3. Espectro UV e iones fragmentos (MS2) de la señal correspondiente a cafeína.

Cuantificación de metabolitos especializados y capacidad antioxidante

Todos los análisis cuantitativos de los metabolitos especializados, así como de la capacidad antioxidante, se realizaron mediante curvas de calibración. El análisis de regresión lineal para cada ensayo se presenta en la **tabla 4**, en la cual se constata, a través del coeficiente de determinación, una relación fuerte y positiva entre las variables. En la tabla también se presenta la ecuación utilizada para la cuantificación en cada caso.

Tabla 4. Ecuaciones de las curvas de calibración utilizadas en los ensayos de cuantificación de fenoles totales (FT), cafeína y de la capacidad antioxidante equivalente Trolox.

Ensayo	Ecuación	R ²
FT	Absorbancia = 1,0082 × concentración (mg/mL) – 0,0114	0,9963
Cafeína	Absorbancia = 0,0494 × concentración (µg/mL) – 0,0391	0,9935
TEAC-FRAP	Absorbancia = 4,9793 × concentración (mg/mL) – 0,0013	0,9984
TEAC-DPPH	%Inh = 3,6507 + 308,13 × concentración(mg/mL)	0,9941

FT: fenoles totales.

TEAC-DPPH: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, utilizando el radical libre DPPH.

TEAC-FRAP: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, determinada mediante el poder reductor de iones férricos.

R²: coeficiente de determinación.

%Inh: porcentaje de inhibición del radical libre DPPH.

En la **tabla 5** se pueden apreciar los resultados correspondientes a las cuantificaciones realizada en las cascarillas de café. Como puede apreciarse, las cascarillas de CR y SS poseen la mayor cantidad de FT y de TT, en comparación con CA, valores que resultan estadísticamente diferentes. Los compuestos fenólicos conforman un grupo diverso de metabolitos especializados presentes en plantas superiores, que incluyen desde moléculas simples como los ácidos fenólicos y flavonoides, hasta polímeros más complejos como los taninos condensados y lignina [59]. Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes significativas al reducir la peroxidación de lípidos y el impacto de los radicales libres, lo que ayuda a disminuir el riesgo de contraer diversas enfermedades [60].

Tabla 5. Cuantificación de metabolitos especializados y de la capacidad antioxidante en las tres variedades de *C. arabica*.

Variedad	FT (Media ± S)	TT (Media ± S)	Cafeína (Media ± S)	TEAC-DPPH (Media ± S)	TEAC-FRAP (Media ± S)
CR	9,21 ^a ± 0,25	4,36 ^a ± 0,28	6,39 ^a ± 0,09	13,30 ^a ± 0,25	7,80 ^a ± 0,56
CA	2,30 ^b ± 0,09	0,49 ^b ± 0,02	4,83 ^b ± 0,11	0,91 ^b ± 0,04	0,98 ^b ± 0,06
SS	8,88 ^a ± 0,26	3,96 ^a ± 0,22	3,93 ^c ± 0,05	10,40 ^c ± 0,09	5,10 ^c ± 0,26

S: desviación estándar.

FT: fenoles totales.

TT: taninos totales.

TEAC-DPPH: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, utilizando el radical libre DPPH.

TEAC-FRAP: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, determinada mediante el poder reductor de iones férricos.

Letras iguales dentro de una misma columna significa que no existen diferencias estadísticamente significativas (α = 0,05).

Variedades de *C. arabica*: Catucaí rojo (CR), Catucaí amarillo (CA) y San Salvador (SS).

Según Esquivel *et al.* [61], alrededor del 42,2% de los compuestos fenólicos identificados en la pulpa de café derivan del ácido clorogénico, metabolitos que han demostrado tener propiedades antioxidantes [44, 59]. Estos resultados cuantitativos constatan valores similares a los informados por Ribeiro *et al.* [63] en extractos etanólicos de cascarillas de *C. arabica*, recolectadas en Brasil; los que oscilaron entre 1,71 y 7,24 mg EAG/g de muestra seca. Cabe destacar que dichas cascarillas fueron obtenidas también mediante procesamiento húmedo y las muestras fueron sometidas a condiciones similares de extracción que las del presente estudio (mezcla de etanol y agua, 8:2). You Chen *et al.* [64] determinaron FT en sub-productos de *C. arabica* provenientes de un proceso húmedo, utilizando como disolvente de extracción varias concentraciones etanólicas (0, 50, 70 y 99,5%) y una relación entre materia vegetal seca y disolvente de 0,5 a 8 (m/v). Obtuvieron valores de fenoles totales de 8,65 hasta 23,16 mg EAG/g de muestra seca, lo que guarda alguna relación con los resultados obtenidos en la presente investigación. Cabe resaltar que se empleó también una extracción mediante ultrasonido a 30 °C por 15 min.

Con relación a los taninos, estos son sustancias de carácter fenólico que tienen efectos benéficos para la salud debido a que poseen propiedades astringentes, antiinflamatorias, cicatrizantes, antioxidantes y antibacterianas, entre otras. Sin embargo, en altas concentraciones, pueden limitar la absorción y digestibilidad de algunos nutrientes, como el hierro y las proteínas [65]. Entre los taninos condensados, las procianidinas son las que más han sido reportadas como componentes de la pulpa de café tanto fresca como seca [45, 63].

Por su parte, la cafeína es un alcaloide del tipo metilxantinas, se encuentra en múltiples especies vegetales y se destaca como marca-

dor químico en las diferentes variedades de café [8]. Los valores obtenidos en esta investigación mediante espectroscopía UV-visible oscilaron entre 3,93 y 6,39 mg/g de muestra seca y se destaca la variedad CR con un nivel estadísticamente superior. Resultados similares se obtuvieron en un estudio realizado por Cangussu *et al.* [67] al comparar dos muestras de cascarillas que diferían en el porcentaje de cáscara, pulpa y pergamino, en sus resultados informan valores de cafeína entre 6,18 y 6,96 mg/g de cascarilla seca. Pacheco *et al.* [16] obtuvieron cantidades de cafeína superiores al someter las cascarillas de un café boliviano a una extracción hidroalcohólica similar, reportan valores de 8,28; 8,64 y 11,84 mg/g de muestra seca. Las variaciones de resultados que se obtienen de un estudio a otro pueden deberse a factores intrínsecos o extrínsecos asociados a la especie vegetal o a la variedad objeto de estudio, también pueden estar relacionados no solo con el disolvente de extracción sino, además, con el método utilizado.

Dada la evidente presencia de compuestos fenólicos en las muestras de cascarillas analizadas, se puede esperar una capacidad antioxidante de interés para aprovechar tales residuos. Como se observa en la **tabla 5**, los resultados obtenidos, aunque responden a dos mecanismos de acción diferentes, evidencian que el CR es quien posee mayor capacidad antioxidante, seguido del SS y el CA, todos son significativamente diferentes entre sí. Según Naczki *et al.* [68], la capacidad antioxidante de los diferentes compuestos bioactivos que puede contener un alimento de origen vegetal puede estar relacionada directamente al grado de madurez, factores genéticos y condiciones ambientales para el cultivo de dicho recurso vegetal, además del método de extracción. Silva *et al.* [69] demostraron mayor eficiencia en la extracción por ultrasonido con una mezcla hidroalcohólica (1:1) en cascarilla deshidratada, ya que obtuvieron extractos con altos porcentajes de inhibición de DPPH (84,20%), mientras que para el método FRAP se encontró mayor eficiencia en el extracto etanólico, con un resultado de 0,78 mg de TEAC/g de muestra seca.

La actividad antioxidante no se debe únicamente a la presencia de compuestos fenólicos, sino también a la presencia de cafeína. Este alcaloide tiene la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica causada por radicales hidroxilos (–OH), peróxidos (ROO–) y oxígeno singlete, lo que la convierte en un antioxidante potente, con una eficacia comparable a la del glutatión y superior a la del ácido ascórbico [70].

Para la variedad CA se debe realizar una acotación, dado que en todas las cuantificaciones sus resultados han sido inferiores. Se sugiere realizar estudios posteriores relacionados con el tratamiento postcosecha de la materia vegetal, ya que las cascarillas frescas fueron almacenadas a temperatura de congelación, a diferencia de las restantes (CR y SS), las que se sometieron inmediatamente al proceso de secado. Se recomienda para estudios futuros determinar el impacto de dicho proceso de preservación en la cuantificación de compuestos fenólicos y en la actividad antioxidante.

Correlación entre la composición química determinada y la actividad antioxidante

Los análisis con DPPH y FRAP se han empleado extensamente para evaluar las propiedades antioxidantes de los extractos de origen vegetal y han demostrado tener una estrecha relación con la concentración de compuestos fenólicos, que son los que más contribuyen a las propiedades antioxidantes [60, 68].

Al analizar la composición química (FT y TT) versus la capacidad antioxidante, se puede apreciar que las muestras CR y SS son las que tienen mayor diversidad y cantidad de tales moléculas especializadas y, por lo tanto, son las que tienen una mayor actividad antioxidante en ambos mecanismos ensayados, como se observa en

las **tablas 3 y 5**. En la **tabla 6** se puede observar el comportamiento de las tres variedades analizadas, según el coeficiente de correlación de Pearson.

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Pearson determinados entre la composición química de carácter fenólico y la capacidad antioxidante de las tres variedades de cascarilla de *C. arabica*.

	FT	TT	TEAC-DPPH
TT	0,997***	—	—
TEAC-DPPH	0,981***	0,987***	—
TEAC-FRAP	0,929***	0,939***	0,980***

*** p < 0,001

FT: fenoles totales.

TT: taninos totales.

TEAC-DPPH: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, utilizando el radical libre DPPH.

TEAC-FRAP: capacidad antioxidante equivalente a Trolox, determinada mediante el poder reductor de iones férricos.

Los resultados muestran que existe una correlación fuerte y positiva entre todos los parámetros analizados, destaca que el valor más alto para el coeficiente de Pearson es en la relación entre TT y FT. En menor medida se correlacionan tales parámetros con la capacidad antioxidante determinada por el método de FRAP.

Hernández-Moreno *et al.* [72] informaron que al correlacionar la actividad antioxidante con la cuantificación de compuestos polifenólicos y flavonoides, obtenida por los ensayos FRAP y DPPH, sólo los compuestos polifenólicos mostraron una fuerte correlación positiva (0,93) con el método capaz de reducir el complejo de iones férricos (Fe³⁺) a ferrosos (Fe²⁺).

Al apreciar la fuerte correlación entre la capacidad antioxidante medida por ambos métodos (0,98), se deduce que los compuestos presentes en las cascarillas, capaces de secuestrar al radical libre DPPH, también fueron capaces de reducir los iones férricos a ferrosos; resultados análogos han sido referidos por otros autores al evaluar la capacidad antioxidante de extractos de plantas por métodos similares [73].

Debe considerarse que la determinación de Folin-Ciocalteu es utilizada para compuestos fenólicos; sin embargo, la capacidad antioxidante que pudiera tener un extracto no es exclusivamente atribuida a compuestos de naturaleza fenólica [74]. No se descarta, además, el hecho de que metabolitos de naturaleza química diferente contribuyan de manera sinérgica con tal efecto biológico [75].

Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se considera que los residuos de café, que se generan en cantidades nada despreciables, podrían ser aprovechados por su contenido de micronutrientes y metabolitos bioactivos. Dicha materia prima, debidamente procesada, podría tener un interés comercial en la elaboración de bebidas o suplementos nutricionales estimulantes por la presencia de cafeína, y con actividad antioxidante atribuible, fundamentalmente, a los compuestos fenólicos.

Referencias

[1] L. Fonseca-García, L. S. Calderón-Jaimes y M. E. Rivera, “Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia)”, *Vitae*, vol. 21, núm. 3, pp. 228–236, 2014. DOI: <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.17258>

[2] Anacafé, *Guía de variedades de café y selección de semilla*, 4.ª ed. Guatemala, 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.anacafe.org/uploads/file/bb091944490b490482f329b0ea0e-c6bd/Guia-variedades-y-seleccion-semilla.pdf>

[3] A. Jiménez-Torres y P. Massa-Sánchez, “Producción de café y

- variables climáticas: El caso de Espíndola, Ecuador”, *Economía*, vol. XL, núm. 40, pp. 117–137, 2015. [En línea]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195648804006>
- [4] S. Sánchez, Venegas, D. Orellana Bueno y P. Pérez Jara, “La realidad ecuatoriana en la producción de café”, *RECIMUNDO*, vol. 2, núm. 2, pp. 72–91, 2018. DOI: [https://doi.org/10.26820/recimundo/2.\(2\).2018.24-44](https://doi.org/10.26820/recimundo/2.(2).2018.24-44)
- [5] Cofenac, “Situación del Sector Cafetalero Ecuatoriano”. [En línea]. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/read/31064219/situacion-sector-cafe-ecu-2013-consejo-cafetalaro-nacional>
- [6] L. S. Oliveira y A. S. Franca, “An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks”, *Coffee Health Dis. Prev.*, 2015, 31, pp. 283–291. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00031-0>
- [7] M. Rebollo-Hernanz, S. Cañas, D. Taladrid, V. Benítez, B. Bartolomé, Y. Aguilera y M. A. Martín-Cabrejas, “Revalorization of Coffee Husk: Modeling and Optimizing the Green Sustainable Extraction of Phenolic Compounds”, *Foods*, vol. 10, núm. 653, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10030653>
- [8] J. A. Serna-Jiménez, L. S. Torres-Valenzuela, K. Martínez Cortínez y M. C. Hernández Sandoval, “Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorización de subproducto”, *Revista ION*, vol. 31, núm. 1, pp. 37–42, 2018. DOI: <https://doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018006>
- [9] R. Marcelo-Díaz et al., “Fenólicos a partir de residuos de café: Optimización del proceso de extracción”, *Rev. Investig. Altoandín.*, vol. 19, núm. 4, pp. 405–410, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18271/ria.2017.315>
- [10] B. Açıkalin y N. Sanlier, “Coffee and its effects on the immune system”, *Trends Food Sci Technol*, vol. 114, pp. 625–632, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.023>
- [11] J. R. León-Carmona y A. Galano, “Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals?”, *J. Phys. Chem. B*, vol. 115, núm. 15, pp. 4538–4546, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp201383y>
- [12] A. Tamayo Verdecia, “Prevención de enfermedades crónicas no transmisibles: a propósito de una reflexión”, *Revista Finlay*, vol. 9, núm. 4, 2019. Disponible en: <https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/725>
- [13] L. Castaldo et al., “Study of the Chemical Components, Bioactivity and Antifungal Properties of the Coffee Husk”, *J Food Res*, vol. 7, núm. 4, pp. 43–54, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n4p43>
- [14] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 15.^a ed., vol. 1. 1990. [En línea]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
- [15] C. J. Pillco Cochán, D. Guzmán Loayza y J. E. Cuéllar Bautista, “Composición físico química y análisis proximal del fruto de so-faique *Geoffroea decorticans* (Hook. et Arn.) procedente de la región Ica-Perú”, *Rev. Soc. Quím. Perú*, vol. 87, núm. 1, pp. 14–25, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i1.319>
- [16] T. M. Pacheco, S. Torres Álvarez y G. R. Almanza, “Cuantificación de compuestos bioactivos en cáscara de *Coffea arabica* en Bolivia”, *Rev. boliv. quim.*, vol. 35, núm. 5, pp. 123–132, 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000500001&lng=es&nrm=iso
- [17] M. Campo-Fernández, D. F. Granja-Rizzo, N. L. Matute-Castro, O. Cuesta-Rubio y I. Márquez-Hernández, “Microencapsulación mediante secado por atomización a partir de un extracto de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.”, *Rev. Colomb. Quím.*, vol. 50, núm. 1, pp. 40–50, 2020. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v50n1.88424>
- [18] R. M. de J. Mex-Álvarez et al., “Actividad Antioxidante de *Cochlospermum vitifolium*”, *J. Agric. Sci. Res.*, vol. 2, núm. 15, pp. 2–11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.9732152212114>
- [19] I. F. Benzie y J. J. Strain, “The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay”, *Anal Biochem*, vol. 239, núm. 1, pp. 70–76, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- [20] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier y C. Berset, “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity”, *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, núm. 1, pp. 25–30, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [21] S. Miranda Calero, J. Esquivel Quezada, J. Ruíz Urbina y E. RIVERS Carcache, “Análisis proximal de granos de arroz, frijol, maíz y café comercializados en el mercado Roberto Huembes de Managua”, *Revista Universidad y Ciencia*, vol. 8, núm. 13, pp. 41–46, 2015.
- [22] F. M. Fon Fay Vásquez y H. Zumbado Fernández, *Análisis proximal en alimentos Fundamentos teóricos y técnicas experimentales*, Quevedo, 2019.
- [23] NTE INEN 2392, “Norma Técnica Ecuatoriana. Hierbas aromáticas. Requisitos”, 2017.
- [24] Y. Mena Linares, D. M. González Mosquera, A. Valido Díaz, A. Pizarro Espín, O. Castillo Alfonso y R. Escobar Román, “Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidioscolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya)”, *Rev. Cubana Plantas Med.*, vol. 21, núm. 4, 2016. Disponible en: <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/390>
- [25] R. Rojas-Angulo, F. Yanez-Jara, I. Márquez-Hernández y M. Campo-Fernández, “Evaluación farmacognóstica de hojas y extractos de *Coriandrum sativum* L. de diferentes procedencias”, *Revista Ciencia UNEMI*, vol. 13, núm. 33, pp. 73–84, 2020. DOI: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss33.2020pp73-84p>
- [26] N. Fierro-Cabrales, A. Contreras-Oliva, O. González-Ríos, E. S. Rosas-Mendoza y V. Morales-Ramos, “Caracterización química y nutrimental de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.)”, *Agroproductividad*, vol. 11, núm. 4, pp. 9–13, 2018. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/261/192/435>
- [27] S. Cañas et al., “Critical Evaluation of Coffee Pulp as an Innovative Antioxidant Dietary Fiber Ingredient: Nutritional Value, Functional Properties, and Acute and Sub-Chronic Toxicity”, *Proc West Mark Ed Assoc Conf*, vol. 70, núm. 65, pp. 1–8, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/foods_2020-07623
- [28] M. Machado et al. “Bioactive Potential and Chemical Composition of Coffee By-Products: From Pulp to Silverskin”, *Foods*, vol. 12, núm. 2354, pp. 1–13, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12122354>
- [29] A. L. Woiciechowski, A. Pandey, C. M. M. Machado, E. B. Cardoso y C. R. Soccol, “Hydrolysis of Coffee Husk: Process Optimization to Recover Its Fermentable Sugar”, en *Coffee Biotechnology and Quality*, 2000, pp. 409–417. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-017-1068-8_38
- [30] B. M. Gouvea, C. Torres, A. S. Franca, L. S. Oliveira y E. S. Oliveira, “Feasibility of ethanol production from coffee husks”, *Biotechnology Lett*, vol. 31, núm. 9, pp. 1315–1319, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0023-4>
- [31] NTE INEN 1123, “Norma Técnica Ecuatoriana. Café tostado en grano o molido. Requisitos”, 2016. [En línea]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/404281951/ntenin-1123-2-1>
- [32] M. Vidaurre Martínez, L. Querevalú García, E. De los Ríos Martínez y S. Ruiz Reyes, “Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*”, *Rev. Med. Vallejana*, vol. 4, núm. 2, pp. 121–131, 2007. DOI: <https://doi.org/10.18050/revista-medicavallejana.v4i2.2235>
- [33] L. A. Aguirre, Z. Rodríguez, V. Saca y V. Apolo, “Bromatological characterization of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for animal feeding purposes”, *Cuban J. Agric. Sci.*, vol. 52, núm. 2, pp. 165–172, 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802018000200165&lng=es&nrm=iso
- [34] M. Campo-Fernández, C. Cruz-Alvia, G. Cunalata-Cueva y N. Matute-Castro, “Infusiones de *Moringa oleifera* (moringa) com-

- binada con *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Lippia alba* (mastranto)", *Revista Ciencia UNEMI*, vol. 13, núm. 34, pp. 114-126, 2020. DOI: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss34.2020pp114-126p>.
- [35] M. C. S. Da Silva et al., "Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks", *Food Chem*, vol. 131, núm. 2, pp. 558-563, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.023>.
- [36] G. I. Puerta Quintero, "Composición química de una taza de café", en *Ciencia, tecnología e innovación para la caficultura colombiana*, 2011. [En línea]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/324065737>
- [37] L. Cangeloni et al., "Characterization of Extracts of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.) by Spectroscopic and Chromatographic/Spectrometric Techniques", *Foods*, vol. 11, núm. 16, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11162495>.
- [38] J. E. Wong-Paz, S. Guyot, P. Aguilar-Zárate, D. B. Muñoz-Márquez, J. C. Contreras-Esquivel, y C. N. Aguilar, "Structural characterization of native and oxidized procyanidins (condensed tannins) from coffee pulp (*Coffea arabica*) using phloroglucinolysis and thioglycolysis-HPLC-ESI-MS", *Food Chem*, vol. 340, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127830>.
- [39] C. Mayorga, M. Vargas, D. López, S. Pascual y M. Trejo. "Caracterización química de los residuos del fruto de café para su aprovechamiento en el desarrollo de una bebida tipo tisana", *Rev. Iber. Tecnol. Postcosecha*, vol. 24, núm. 2, pp. 215-229, 2023.
- [40] L. Regazzoni et al., "Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity", *J Funct Foods*, vol. 20, pp. 472-485, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.027>.
- [41] W. Mullen, B. Nemzer, A. Stalmach, S. Ali y E. Combet, "Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from China, India, and Mexico", *J. Agric. Food Chem*, vol. 61, núm. 22, pp. 5298-5309, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf4003126>.
- [42] C. Marín-García y G. I. Puerta-Quintero, "Contenido de ácidos clorogénicos en granos de *Coffea arabica* y *C. canephora*, según el desarrollo del fruto", *Cenicafé*, vol. 59, núm. 1, pp. 7-28, 2008. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10778/60>
- [43] A. Vega, J. A. De León, S. M. Reyes y S. Y. Miranda, "Componentes bioactivos de diferentes marcas de café comerciales de Panamá. Relación entre ácidos clorogénicos y cafeína", *Inf. Tecnol.*, vol. 29, núm. 4, pp. 43-54, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000400043>.
- [44] C. E. Chaves-Ulate y P. Esquivel-Rodríguez, "Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante", *Agron. Mesoam*, vol. 30, núm. 1, pp. 299-311, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>.
- [45] M. N. Clifford, K. L. Johnston, S. Knight y N. Kuhnt, "Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids", *J. Agric. Food Chem*, vol. 51, núm. 10, pp. 2900-2911, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf026187q>.
- [46] G. M. Weisz, D. R. Kammerer y R. Carle, "Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn", *Food Chem*, vol. 115, núm. 2, pp. 758-765, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.074>.
- [47] N. P. Rodrigues y N. Bragagnolo, "Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC-DAD-MSn", *J. Food Compos. Anal.*, vol. 32, núm. 2, pp. 105-115, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.002>.
- [48] P. Esquivel et al., "Coffee (*Coffea arabica* L.) by-Products as a Source of Carotenoids and Phenolic Compounds—Evaluation of Varieties With Different Peel Color", *Front. Sustain. Food Syst.*, vol. 4, núm. 590597, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsu-2020.590597>.
- [49] C. C. Gras, H. Bogner, R. Carle y R. M. Schweiggert, "Effect of genuine non-anthocyanin phenolics and chlorogenic acid on color and stability of black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) anthocyanins", *Food Research International*, vol. 85, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.006>.
- [50] R. J. Aerts y T. W. Baumann, "Distribution and utilization of chlorogenic acid in *Coffea* seedlings", *J. Exp. Bot.*, vol. 45, núm. 273, pp. 497-503, 1994.
- [51] R. F. A. Moreira, L. C. Trugo, C. A. B. De Maria, A. G. B. Matos, S. M. Santos, y J. M. C. Leite, "Discrimination of Brazilian arabica green coffee samples by chlorogenic acid composition", *Arch Latinoam Nutr*, vol. 51, núm. 1, pp. 95-99, 2001. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11515239/>
- [52] H. Morishita y M. Ohnishi, "Absorption, metabolism and biological activities of chlorogenic acids and related compounds", *Stud. Nat. Prod. Chem.*, vol. 25, pp. 919-953, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1572-5995\(01\)80024-7](https://doi.org/10.1016/s1572-5995(01)80024-7).
- [53] P. Valverde, "La Epicatequina. Un flavonoide para recordar", *Renut*, vol. 1, núm. 1, pp. 7-10, 2007. Disponible en: <https://revistarenut.org/index.php/revista/article/download/29/31/>
- [54] E. A. Eugène, N. B. Robert, A. Ganiyou, Y. K. Denis, A. Ané y B. E. H. Sawaliho, "Catechin and Epicatechin. What's the More Reactive?", *Comput. Chem.*, vol. 10, núm. 2, pp. 53-70, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4236/cc.2022.102003>.
- [55] M. A. Vázquez-Núñez, P. Aguilar-Zarate, A. Reyes-Munguía, C. Carranza-Álvarez, M. Aguilar-Zárate y M. R. Michel-Michel, "Procianidinas obtenidas de residuos de café y litche: una revisión general", *Rev. Int. Investig. Innov. Tecnol.* vol. 10, núm. 60, 2023. Disponible en: https://riiit.com.mx/apps/site/files_v2450/litche_cd_valles_2_riiit_div_ene-feb_2023.pdf
- [56] M. Delcourt-García, M. T. Escribano-Bailón y M. Dueñas, "Determinación de la composición fenólica en granos ancestrales de uso alimentario. Comparación de métodos analíticos y de actividad antioxidante", *FarmaJournal*, vol. 5, núm. 2, pp. 27-41, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14201/fj2020522741>.
- [57] Y. Liao, W. Shen, G. Kong, H. Lv, W. Tao y P. Bo, "Apigenin induces the apoptosis and regulates MAPK signaling pathways in mouse macrophage ANA-1 cells", *PLoS One*, vol. 9, núm. 3, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092007>.
- [58] B. Mafuvadze, Y. Liang, C. Besch-Williford, X. Zhang y S. M. Hyder, "Apigenin induces apoptosis and blocks growth of medroxyprogesterone acetate-dependent BT-474 xenograft tumors", *HORM CANC*, vol. 3, núm. 4, pp. 160-171, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12672-012-0114-x>.
- [59] D. A. Martín G., "Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica", *Rev. Investig. Agrar. Ambient.*, vol. 9, núm. 1, pp. 81-104, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>.
- [60] E. Bedascarrasbure, L. Maldonado, A. Alvarez y E. Rodríguez, "Contenido de fenoles y flavonoides del propoleos argentino", *Acta Farm. Bonaerense*, vol. 23, núm. 3, pp. 369-372, 2004.
- [61] P. Esquivel y V. M. Jiménez, "Functional properties of coffee and coffee by-products", *Food Res. Int.*, vol. 46, núm. 2, pp. 488-495, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>.
- [62] Y. Sato et al., "In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid", *Int J Pharm*, vol. 403, núm. 1-2, pp. 136-138, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035>.
- [63] E. F. Ribeiro, D. M. M. Luzia y N. Jorge, "Antioxidant compounds extraction from coffee husks: the influence of solvent type and ultrasound exposure time", *Acta Scientiarum. Technology*, vol. 41, núm. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v41i1.36451>.
- [64] C. Cheng-You et al., "Antioxidation and tyrosinase inhibitory ability of coffee pulp extract by ethanol", *J Chem*, vol. 2021, núm. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/8649618>.
- [65] Á. M. Velásquez Valderrama, "Extracción de taninos presentes en el banano verde", *Rev Lasallista Investig*, vol. 1, núm. 2, pp. 17-22, 2004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/695/69510203.pdf>

- [66] M. A. Ramirez-Coronel, N. Marnet, V. S. K. Kolli, S. Roussos, S. Guyot y C. Augur, "Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by Thiolytic-High-Performance Liquid Chromatography", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, núm. 5, pp. 1344–1349, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf035208t>.
- [67] L. B. Cangussu, J. C. Melo, A. S. Franca y L. S. Oliveira, "Chemical characterization of coffee husks, a by-product of *Coffea arabica* production", *Foods*, vol. 10, núm. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10123125>.
- [68] M. Naczek y F. Shahidi, "Extraction and analysis of phenolics in food", *J Chromatogr A*, vol. 1054, núm. 1–2, pp. 95–111, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.
- [69] M. de O. Silva, J. N. B. Honfoga, L. L. Medeiros, M. S. Madruga y T. K. A. Bezerra, "Obtaining bioactive compounds from the coffee husk (*Coffea arabica* L.) using different extraction methods", *Molecules*, vol. 26, núm. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26010046>.
- [70] M. Gotteland y S. De Pablo, "Algunas verdades sobre el café", *Rev. Chil. Nutr.*, vol. 34, núm. 2, pp. 105–115, 2007. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0717-75182007000200002>.
- [71] S. Dudonné, X. Vitrac, P. Coutière, M. Woillez y J.-M. Mérillon, "Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, núm. 5, pp. 1768–1774, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf803011r>.
- [72] L. V. Hernández-Moreno, J. R. Salazar, L. C. Pabón y P. Hernández-Rodríguez, "Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias", *Revista U.D.C.A Actualidad and Divulgación Científica*, vol. 25, núm. 1, 2022. DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1690>.
- [73] C.-C. Wong, H.-B. Li, K.-W. Cheng y F. Chen, "A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay", *Food Chem.*, vol. 97, núm. 4, pp. 705–711, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.049>.
- [74] F. Odabasoglu et al., "Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species", *Fitoterapia*, vol. 76, núm. 2, pp. 216–219, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.05.012>.
- [75] D. K. Asami, Y. J. Hong, D. M. Barrett y A. E. Mitchell, "Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, núm. 5, pp. 1237–1241, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf020635c>.

Citación del artículo:

M. Campo Fernández, M. C. Palacios Marín, A. P. Panta Cuenca, N. L. Matute Castro, O. Cuesta Rubio, I. Márquez Hernández y C. G. Jaramillo Jaramillo, "Composición química y capacidad antioxidante de tres variedades de cascarilla de café (*Coffea arabica*)", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, nro. 2, pp. 3–12, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.117439>



Detection and Characterization of Halogen Bonds by UV-Vis Spectrophotometry and Molecular Modelling

Abstract

This study investigates halogen bonds (XBs) in bromine-acetone complexes ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) using UV-Vis spectrophotometry and computational methods. Electronic structure calculations, including geometry optimizations and excited-state calculations, were carried out using the Gaussian 16 program. Time-Dependent Density Functional Theory (TD-DFT) method, with the M06-2X functional and def2-TZVP basis set, was employed to determine absorption energies corresponding to HOMO→LUMO transitions. Acetone solvation was simulated using the Polarizable Continuum Model (PCM). Experimental UV-Vis spectra of gaseous Br_2 revealed two absorption peaks at 238 nm ($\lambda_{1,\text{exp}}$) and 454 nm ($\lambda_{2,\text{exp}}$). Upon dissolution in acetone, $\lambda_{2,\text{exp}}$ underwent a hypsochromic (blue) shift, reaching 395 nm and 365 nm at 0.04 and 0.01 M Br_2 , respectively. This shift is attributed to XB formation, supported by theoretical spectra showing peaks at 390 nm ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) and 360 nm ($\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$). The 238 nm peak in $\text{Br}_2(\text{g})$ is associated with $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$ complexes, corroborated by a theoretical peak at 240 nm. A single peak at 415 nm in $\text{Br}_2(\text{g})$ diluted in air is attributed to $\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$ complexes, with a corresponding theoretical peak at 417 nm. Theoretical and experimental data align well, validating the methodology and highlighting the role of XBs and electronic transitions in modulating Br_2 spectrophotometric properties.

Keywords: Halogen bonds; UV-Vis spectrophotometry; molecular modelling; electronic transitions.

Detección y caracterización de enlaces halógenos por medio de espectrofotometría UV-Vis y modelado molecular

Resumen

Este estudio analiza los enlaces de halógeno (XBs) en complejos de bromo y acetona ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) mediante espectrofotometría UV-Vis y métodos computacionales. Se realizaron cálculos de estructura electrónica, optimización geométrica y estados excitados con el programa Gaussian 16. Se empleó el método de la teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT), con el funcional M06-2X y la base def2-TZVP, para calcular energías de absorción correspondientes a transiciones HOMO→LUMO. La solvatación en acetona se simuló usando el Modelo de Continuo Polarizable (PCM). Los espectros UV-Vis experimentales de Br_2 gaseoso mostraron picos de absorción a 238 nm ($\lambda_{1,\text{exp}}$) y 454 nm ($\lambda_{2,\text{exp}}$). Al disolverse en acetona, $\lambda_{2,\text{exp}}$ presentó un corrimiento hipsoacrómico que se observó a 395 y 365 nm para concentraciones de 0,04 y 0,01 M, respectivamente. Este cambio se atribuye a la formación de XBs, respaldado por espectros teóricos con picos a 390 nm ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) y 360 nm ($\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$). El pico a 238 nm se asocia con complejos $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$, confirmado teóricamente a 240 nm. Un único pico a 415 nm en Br_2 diluido en aire se atribuye a complejos $\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$, con pico teórico a 417 nm. La concordancia entre datos teóricos y experimentales valida la metodología y destaca el papel de los XBs en las propiedades espectrofotométricas del Br_2 .

Palabras clave: enlaces de halógeno; espectrofotometría UV-Vis; modelado molecular; transiciones electrónicas.

Detecção e caracterização de ligações halógenas através de espectrofotometria UV-Vis e modelagem molecular

Resumo

Este estudo investiga as ligações de halogênio (XBs) em complexos de bromo e acetona ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) por meio de espectrofotometria UV-Vis e métodos computacionais. Realizaram-se cálculos de estrutura eletrônica, otimizações geométricas e estados excitados com o programa Gaussian 16. O método da teoria funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT) foi empregado, com o funcional M06-2X e o conjunto de base def2-TZVP, para calcular as energias de absorção correspondentes às transições HOMO→LUMO. A solvatação em acetona foi simulada com o Modelo de Continuum Polarizável (PCM). Os espectros UV-Vis experimentais de Br_2 gasoso revelaram picos de absorção em 238 nm ($\lambda_{1,\text{exp}}$) e 454 nm ($\lambda_{2,\text{exp}}$). Ao ser dissolvido em acetona, $\lambda_{2,\text{exp}}$ apresentou um deslocamento hipsoacrômico, observando-se em 395 e 365 nm para concentrações de 0,04 e 0,01 M, respectivamente. Esse deslocamento é atribuído à formação de XBs, sustentada por espectros teóricos com picos em 390 nm ($\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$) e 360 nm ($\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$). O pico em 238 nm está relacionado a complexos $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$, confirmado por cálculo teórico em 240 nm. Um único pico em 415 nm para Br_2 diluído em ar é atribuído a complexos $\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$, com pico teórico em 417 nm. Os dados teóricos e experimentais mostram boa concordância, validando a metodologia e destacando o papel dos XBs nas propriedades espectrofotométricas do Br_2 .

Palavras-chave: ligações de halogênio; espectrofotometria UV-Vis; modelagem molecular; transições eletrônicas.



Introduction

Halogen bonds (XBs) have recently attracted considerable attention due to their distinctive characteristics and wide range of applications [1–3]. Typically, an XB is formed through an interaction between a covalently bonded halogen atom ($X = \text{I}, \text{Br}, \text{Cl}$, and, less commonly, F) and a Lewis base (B), represented as $\text{R-X}\cdots\text{B}$ [4]. This type of interaction has been investigated in crystal structure analyses, which shows that the angle bond $\text{R-X}\cdots\text{B}$ is approximately 180° [5, 6]. This is consistent with theoretical predictions [7, 8]. Furthermore, analyses of the molecular electrostatic potential (MEP) [8], the Laplacian of the electron density $L(\mathbf{r})$ [9, 10], and the potential acting on one electron in a molecule (PAEM) [11, 12] indicate that the electron density around the halogen atom is anisotropic. This anisotropy results in a region of depleted electron charge in the outer part of the R-X bond, known as the σ -hole, which facilitates the XB formation. Based on numerous studies employing MEP, the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) has defined XBs as primarily electrostatic [13]. However, this definition is still subject of debate.

Despite the growing interest in XBs, there is a limited amount of research that directly correlates spectrophotometric data with theoretical chemistry parameters [14]. In 2006, Gogoi *et al.* [15] studied the XBs formed between 2-chloropyridine and iodine monochloride (ICl) in different solvent media, using ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometry and computational methods. Both their experimental and theoretical results confirmed that the absorption maximum (λ_{max}) is dependent on solvent polarity, with an observed blue shift explained by the formation of an XB between 2-chloropyridine and ICl. Analyses of Natural Bond Orbitals (NBO) [16], Natural Resonance Theory (NTR), and Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM) show an increase of the E_{int} as well as the covalent character with the solvent polarity. More recently, Xu and Guan explored the role of XBs in poly(vinylpyrrolidone)- I_2 (PVPI) chemistry using computational and experimental techniques, including UV-Vis spectrophotometry. They identified an XB between the carbonyl oxygen's lone pair and the σ -hole of I_2 . In addition, iodide and iodine form various polyiodides via XBs, and iodine molecules can form iodine groups, also via XBs. The E_{int} of these XBs are less than -33 kJ mol^{-1} , which facilitates the release of I_2 molecules into the medium by PVPI, iodide, and polyiodide ions [17].

Bromine-acetone complex ($\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$) is one known XB. Hassel and Strømme reported the first crystal structure of this XB when short $\text{Br}\cdots\text{O}$ distances were found [6]. These interactions present an infinite double-chain assembly, with the Br_2 facing the lone pairs of nearest O atoms with a $\text{Br-Br}\cdots\text{O}$ angle of 110° . The carbonyl groups and the Br_2 molecules are in the same plane. The Br_2 molecules showed a negligible bond elongation [$d_{\text{Br}\cdots\text{Br}} = 2.280 \text{ \AA}$] in connection with pure bromine (Br) in the solid state [$d_{\text{Br}\cdots\text{Br}} = 2.286 \text{ \AA}$]. Powel *et al.* determined the crystal structure of solid Br_2 at 250 K, using the neutron dust profile refinement technique [18]. Jones *et al.* in 2013 have used a combination of single-crystal X-ray (at 110 and 200 K) and high-resolution powder neutron diffraction (110 K only) to determine the crystal structure of the known $\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$ complex [19]. In these works, the authors have found several significant differences in geometrical parameters. For instance, the $d_{\text{Br}\cdots\text{Br}}$ in this XB shows an increase compared to the same molecule in the gas and crystalline phases. As the temperature increases, the length of this bond decreases, and this change seems to coincide with an increase in the $d_{\text{Br}\cdots\text{O}}$ with temperature. In addition, when acetone is deuterated ($\text{D} = \text{deuterium}$), a short $\text{C-D}\cdots\text{O}$ distance is observed.

However, working with Br in the gas phase or solution is challenging due to its high reactivity, toxicity, and volatility. Moreover, its exothermic interaction with solvents like acetone requires addi-

onal precautions, especially due to its low boiling point of 58.8°C [20]. Thus, the experimental characterization of $\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$ complexes in solution has not been exhaustively studied. Given these complexities and the limited correlation between spectrophotometric and theoretical data for XBs in literature, this study aims to provide a comprehensive investigation of $\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$ complexes using both UV-Vis spectrophotometry and computational methods. Specifically, the objectives are to experimentally characterize the UV-Vis spectral changes of Br and acetone, to attribute these changes to the formation of XBs supported by theoretical calculations, and to validate the combined experimental and computational methodology as an effective approach for detecting and characterizing XBs in different environments. This work seeks to enhance the understanding of how intermolecular interactions and electronic transitions influence the spectrophotometric properties of Br and provide a basis for future spectrophotometric XB studies.

Materials and Methods

Experimental Methods

Experimental UV-Vis spectra were performed on a UV-Vis spectrophotometer (SpectraMax M2e, USA) using SoftMax Pro 6.3 software. A vapor-tight quartz cell with 1 cm path length and 3 mL capacity was used. The wavelength range for the measurements was between 200 and 700 nm. Spectra of Br vapor [$\text{Br}_{2(\text{g})}$], both saturated and mixed with air [$\text{Br}_{2(\text{g})} + \text{air}$], were analyzed. Additionally, measurements of Br_2 dissolved in acetone were performed at concentrations of 0.01 M [$\text{Br}_{2(\text{dil})}$] and 0.04 M [$\text{Br}_{2(\text{cc})}$]. Br (99.8%) and acetone ($\geq 99.8\%$) were purchased from Sigma-Aldrich (Merck kGaA).

Computational Methods

Electronic structure calculations were performed using the Gaussian 16 program [21]. These calculations included geometry optimization, excited state, and energy calculations. All geometries were optimized using Time-Dependent Density Functional Theory (TD-DFT) with the M06-2X functional [22] and the def2-TZVP basis set [23]. M06-2X functional is recommended for the calculation of non-covalent interactions and electronic excitation energies [24, 25]. For all calculations, acetone solvation was simulated using the polarizable continuum model (PCM) [26, 27].

Theoretical UV-Vis absorption wavelengths (λ_{theor}) were obtained from TD-DFT calculations, performed with the same M06-2X functional and def2-TZVP basis set as used for geometry optimization. These calculations were carried out for isolated Br_2 and for the specific complexes $\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$, $\text{Ac}\cdots\text{Br}_2\cdots\text{Ac}$, $\text{Br}_2\cdots\text{Br}_2$ and $\text{Br}_2\cdots\text{N}_2$ to simulate the different experimental conditions. The λ_{theor} values correspond to the maximum absorption calculated for the electronic transitions in these molecular systems.

Interaction energies (E_{int}) of the studied XBs were calculated with Eq. (1) to assess the stability of the formed complexes:

$$E_{\text{int}} = E_{\text{AB}} - (E_{\text{A}} + E_{\text{B}}) \quad (1)$$

Where E_{AB} is the energy of the complex AB, and E_{A} and E_{B} are the energies of the monomers A and B, respectively. The calculated intermolecular distances were compared with the sum of the van der Waals radii to characterize the interactions.

To characterize the charge distribution and explore the nature of the interatomic interactions within the complexes, a topological analysis of the electron density [$\rho(\mathbf{r})$] was performed. The Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM) provides a framework to characterize the charge distribution of the molecular electron density [28]. Particularly, the topological analysis of the $L(\mathbf{r})$ function is an excellent tool to address a deep investigation of the electronic properties of a molecular system, allowing the exploration of inte-

atomic interactions. The topology of the $L(r)$ function allows us to identify areas of concentration [$L(r) > 0$] and depletion of electron charge [$L(r) < 0$], and the localization of bond critical points (BCPs) and atomic interaction lines (AILs). This analysis helps to visualize and understand the Lewis acid-base nature of the interactions. QTAIM calculations were performed using the wave function obtained with Gaussian 16, and visualized with the AIMAll package [29].

Results and Discussion

Geometrical structures, intermolecular distances, and the E_{int} of the XBs studied are shown in **Figure 1**. The fully optimized geometries with bond angles $Br-Br\cdots Y$ ($Y = Br, N, O$) are always close to 180° . In all cases, the intermolecular equilibrium distances $Br\cdots Y$ are shorter than the sum of the van der Waals radii [30] of the interacting atoms [$r_{vdW}(Br) + r_{vdW}(Y)$]. This indicates that the $Br\cdots Y$ interactions are stabilizing. The $Br\cdots Y$ intermolecular distances ranges from 2.730 to 3.356 Å. These values agree with recently reported values for $F-Br\cdots Br-F$ (2.993 Å) and $F-Br\cdots Br-H$ (3.019 Å) complexes calculated at MP2/aug-cc-pVTZ level [31].

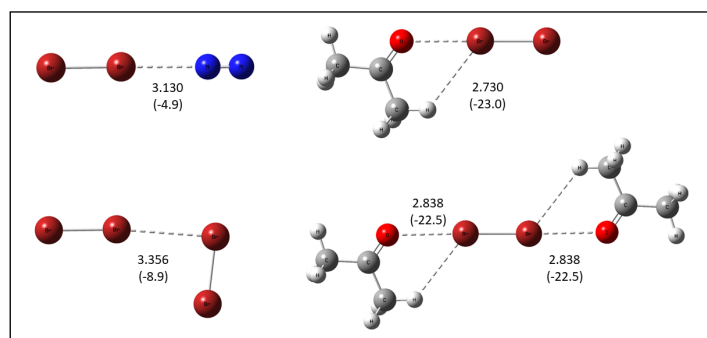


Figure 1. Geometrical structures of halogen bonds (XBs). The values of the $O\cdots Y$ ($Y = N, O, Br$) distances (in Å) are given and the E_{int} (in kJ mol^{-1}) are in parentheses.

It is well established that XBs represent Lewis acid-base interactions [32]. Br_2 molecule can act as a Lewis acid in the axial regions, as is observed in **figure 1** with the N_2 molecule, the carbonyl O of acetone, and other Br_2 molecules. **Figure 1** also shows examples where the Br_2 molecule can act as a Lewis base in the equatorial region, for example, against another Br_2 molecule acting as an acid or against the H atoms of acetone. **Figure 2** illustrates the molecular graph and contour maps of the $L(r)$ function of the $Br-Br\cdots O=C(CH_3)_2$ complex. It is well documented that regions of maximum charge concentration behave as Lewis bases, whereas regions of charge depression act as Lewis acids [33, 34].

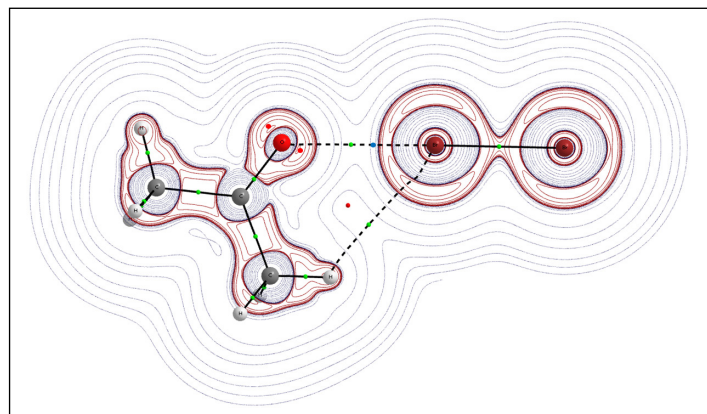


Figure 2. Contour maps of $L(r)$ for $(CH_3)_2C=O\cdots Br-Br$ complex. Red and blue dots indicate the locations of the maximum and minimum charge concentrations, respectively.

Figure 2 shows that between the carbonyl oxygen ($C=O$) and the Br atom there is a dotted line (AIL) with its corresponding bond critical point (BCP, green dot), an AIL and a BCP are also observed between a methyl hydrogen (CH_3) and the Br atom, indicating that there are bonding interactions between these atoms. In addition, **figure 2**

also shows that the ($C=O$) exhibits two concentration maxima (red dots). One of these maxima is coordinated with the charge-depressed regions of the Br_2 molecule (blue dots). In other words, the principle of complementarity, as established by Bader [35], is observed, which tells us that maximum is coordinated with minimum of the $L(r)$ function.

Figure 3 displays the experimental spectra conducted in this study. It is observed that saturated gaseous Br_2 exhibits two distinct absorption peaks, namely $\lambda_{1,exp} = 238 \text{ nm}$ and $\lambda_{2,exp} = 454 \text{ nm}$ (green line, saturated $Br_{2(g)}$). These absorption peaks indicate specific wavelengths at which Br_2 strongly interacts with light. This finding suggests that concentrated $Br_{2(g)}$ has different energy levels associated with its electronic transitions, resulting in two distinct absorption bands. In contrast, when gaseous Br_2 is present in low concentrations with air [yellow line, $Br_{2(g)} + \text{Air}$], a different absorption pattern emerges. In this case, only one absorption peak is observed: $\lambda_{2,exp} = 415 \text{ nm}$. The change in the absorption wavelength suggests that the electronic transitions of Br_2 molecules in lower concentrations are different from those observed in saturated $Br_{2(g)}$. This variation in absorption behavior could be attributed to changes in the electronic environment and intermolecular interactions as the concentration of Br_2 decreases. Similar vertical excitations have been found for molecular Br_2 in dilute carbon tetrachloride solution, with $\lambda = 420 \text{ nm}$ [36].

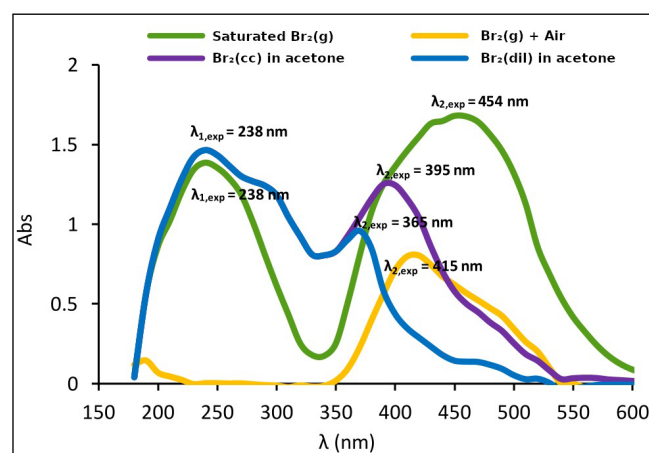


Figure 3. UV-Vis spectra of saturated $Br_{2(g)}$ (green line), $Br_{2(g)}$ diluted in air (yellow line), and Br_2 solutions in acetone at 0.04 M (purple line) and 0.01 M (blue line).

The spectra of Br_2 in acetone were obtained at the concentrations of 0.01 and 0.04 M ($Br_{2(cc)}$ and $Br_{2(dil)}$, respectively), which are presented in **figure 3** through the blue and purple curves, respectively. At wavelengths below 350 nm, the curves for Br_2 in solution overlap with that for saturated $Br_{2(g)}$, maintaining a $\lambda_{1,exp}$ of 238 nm. However, this same $\lambda_{1,exp}$ is not observed in the case of $Br_{2(g)} + \text{Air}$, suggesting that Br_2 does not interact with the gasses present in the air as it does with itself at higher concentrations (in the case of saturated $Br_{2(g)}$) or with acetone molecules of the environment in solution. At wavelengths longer than 350 nm, a shift of $\lambda_{2,exp}$ towards shorter wavelengths is observed, which accompanies as Br_2 is diluted in acetone, showing values of $\lambda_{2,exp} = 454, 395$ and 365 nm for saturated $Br_{2(g)}$, $Br_{2(cc)}$, and $Br_{2(dil)}$, respectively. A decrease in the peak height of λ_{max} is also observed, which is characteristic of a dilution of the molecules of Br_2 in the environment.

The results observed in **figure 3** suggest that the solvent environment (acetone, in this case) influences the electronic transitions of Br_2 molecules, causing a modification in their absorption behaviour. The observed changes in the absorption wavelengths provide valuable information on the interactions that may exist between Br_2 and the solvent molecules, whether the latter is acetone or other molecules in the gas-phase environment.

Figure 4 shows the molecular orbitals corresponding to the characteristic electronic transitions of molecular Br_2 (**figure 4A**) and of the $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$, $\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$, and $\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ complexes (**figures 4B**, **4C**, and **4D**, respectively), together with their respective absorption maxima (λ_{theor}). The theoretical results reveal that the presence of $\lambda_{1,\text{exp}} = 238 \text{ nm}$ of saturated $\text{Br}_{2(\text{g})}$ (green line in **figure 1**) is attributed to the formation of XBs between molecules of the same gas (see **figure 4B**), with a $\lambda_{1,\text{theor}} = 240 \text{ nm}$. Furthermore, the observed $\lambda_{2,\text{exp}}$ shift between saturated $\text{Br}_{2(\text{g})}$ ($\lambda_{2,\text{exp}} = 454 \text{ nm}$), $\text{Br}_{2(\text{cc})}$ ($\lambda_{2,\text{exp}} = 395 \text{ nm}$), and $\text{Br}_{2(\text{dil})}$ ($\lambda_{2,\text{exp}} = 365 \text{ nm}$) correlates with the number of XBs formed between Br_2 and acetone, where $\lambda_{\text{theor}} = 444 \text{ nm}$ for the Br_2 molecule (without XB), $\lambda_{2,\text{theor}} = 390 \text{ nm}$ for the $\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ complex (with 1 XB) and $\lambda_{2,\text{theor}} = 360 \text{ nm}$ for the $\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ complex (with 2 XBs). The geometric structures found theoretically for $\text{Br} \cdots \text{O}$ interactions (see **figure 1**) are similar to those reported by Nenajdenko *et al.* [37].

The λ_{theor} were calculated for a series of $\text{Br}_2 \cdots (\text{Ac})_n$ complexes with $n = 0-6$, where the maximum number of XBs observed was two between Br_2 and acetone. These XBs can only be formed by the axial regions of the Br_2 molecule with the free O pair of the acetone ($\text{Br} \cdots \text{O}=\text{C}$). The rest of the interactions observed in the complexes obtained correspond to hydrogen bonds (HBs) that are established by the equatorial region of each Br atom (results not presented). However, regardless of the complex considered, it was observed that the λ_{theor} only varies with the number of XBs formed. In **figure 4** only the electronic transitions most relevant between $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$ and $\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ complexes, with one XB (**figure 4B** and **4C**) and with two XBs (**figure 4D**), are presented.

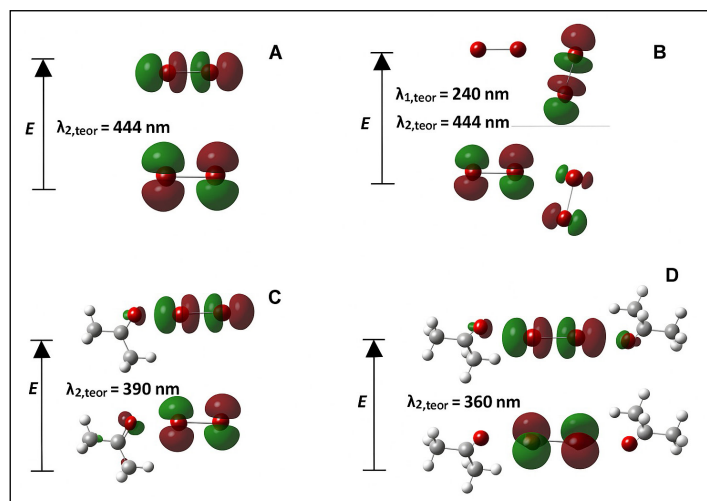


Figure 4. Canonical Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) and Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) of Br_2 (A), of $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$ (B), $\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ (C), and $\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$ (D) complexes, with their respective theoretical λ_{max} .

The $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$ complex (**figure 4B**) presents a similar characteristic λ_{theor} of an isolated Br_2 molecule (444 nm in **figure 4A**), which is in reasonable agreement with saturated $\text{Br}_{2(\text{g})}$ presented with a green line in **figure 3** ($\lambda_{2,\text{exp}} = 454 \text{ nm}$). However, none of the electronic transitions shown in **figure 4** can explain the experimental UV-Vis spectrum of $\text{Br}_{2(\text{g})} + \text{air}$ (yellow line in **figure 3**). Considering that air contains 78% $\text{N}_{2(\text{g})}$, the complex $\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$ was chosen as the simulation molecular system, whose Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) and Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) are presented in **figure 5** together with the characteristic λ_{theor} value of 417 nm. This result agrees with the λ_{exp} of $\text{Br}_{2(\text{g})} + \text{Air}$ (415 nm). It is crucial to highlight that in the $\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$ complex, the electronic transition takes place in the Br_2 monomer, which serves as a Lewis acid. This is much more visible in the other complexes.

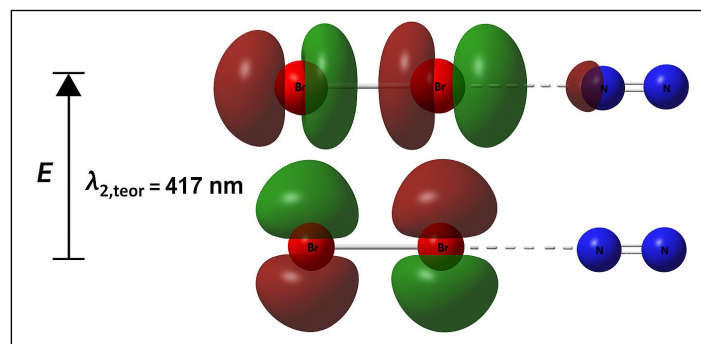


Figure 5. Canonical Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) and Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) of the $\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$ complex with its respective characteristic λ_{theor} .

Table 1 summarizes the values of the experimental ($\lambda_{i,\text{exp}}$) and theoretical ($\lambda_{i,\text{theor}}$) absorption maxima obtained for each system studied, with their respective percentage errors [$\mathcal{E}\%(\lambda_i)$], calculated using Eq. (2).

$$\mathcal{E}\%(\lambda_i) = \frac{|\lambda_{i,\text{theor}} - \lambda_{i,\text{exp}}|}{\lambda_{i,\text{exp}}} 100 \quad (2)$$

Where $\lambda_{i,\text{exp}}$ and $\lambda_{i,\text{theor}}$ represent the absorption wavelengths of the experimentally and theoretically observed peaks, respectively, for system i . The $\mathcal{E}\%(\lambda_i)$ values show errors of less than 3%, indicating that the molecular systems used as models successfully reproduce the experimental UV-Vis spectra.

Table 1. Experimental and theoretical absorption maxima obtained for each system studied.

System	Simulation	$\lambda_{1,\text{exp}}$ (nm)	$\lambda_{1,\text{theor}}$ (nm)	$\mathcal{E}\%(\lambda_i)$ (%)	$\lambda_{2,\text{exp}}$ (nm)	$\lambda_{2,\text{theor}}$ (nm)	$\mathcal{E}\%(\lambda_2)$ (%)
$\text{Br}_{2(\text{g})}$	$\text{Br}_2 \cdots \text{N}_2$	238	240	0.8	454	444	2.2
$\text{Br}_{2(\text{g})} + \text{Air}$	$\text{Br}_2 \cdots \text{Br}_2$	-	-	-	415	417	0.5
$\text{Br}_{2(\text{dil})}$	$\text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$	238	240	0.8	395	390	1.3
$\text{Br}_{2(\text{cc})}$	$\text{Ac} \cdots \text{Br}_2 \cdots \text{Ac}$	238	240	0.8	365	360	1.4

$\lambda_{1,\text{exp}}$: Experimental maxima wavelengths.

$\lambda_{1,\text{theor}}$: Theoretical maxima wavelengths, obtained from the systems used as models to reproduce the spectrum of each simulation.

$\mathcal{E}\%(\lambda_i)$: Values of the percentage error.

The results of these experimental studies contribute to our understanding of the spectrophotometric properties of Br_2 and its behaviour in different states and environments. The change in absorption wavelengths at different concentrations and environments highlights the importance of intermolecular interactions and electronic factors in determining the spectrophotometric properties of Br_2 . This information can help to interpret the experimental data and lay the foundation for future research and applications related to Br_2 in different environments. Finally, there are strong correlations between the experimental and theoretical results, indicating that the methodology employed in this work could be applied to the detection and characterization of certain XBs present both in the gas phase and in solution.

Conclusions

Experimental UV-Vis spectra revealed two distinct absorption peaks for saturated gaseous Br_2 , specifically at 238 nm ($\lambda_{1,\text{exp}}$) and 454 nm ($\lambda_{2,\text{exp}}$). Upon dissolution and dilution in acetone, at concentrations of 0.04 and 0.01 M, a significant hypsochromic shift (towards shorter wavelengths) of $\lambda_{2,\text{exp}}$ was observed, shifting to 395 and 365 nm, respectively. These experimental shifts are strongly correlated with the formation of XBs between Br_2 and acetone molecules, as evidenced by our theoretical simulations.

The strong agreement between experimental and theoretical absorption maxima obtained for all studied systems, with percentage of errors typically less than 3%, solidly validates the combined experimental UV-Vis spectrophotometry and computational methodology employed in this study for detecting and characterizing XBs in different environments. This work effectively demonstrates the clear effect of XBs on the UV-Vis absorption spectrum of Br₂ in various media.

Finally, our findings underscore the importance of integrating experimental and computational approaches for exploring and understanding subtle non-covalent interactions, providing a foundation for further studies on other halogenated compounds and their potential applications.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support from the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET-Argentina) and Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (SGCyT-UNNE) (PI-22V002). M.O.M. is a research fellow of CONICET.

References

- [1] G. Cavallo *et al.*, "The halogen bond," *Chem Rev*, vol. 116, no. 4, pp. 2478–2601, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00484>.
- [2] P. Politzer, P. Lane, M. C. Concha, Y. Ma, and J. S. Murray, "An overview of halogen bonding," *J Mol Model*, vol. 13, pp. 305–311, 2007.
- [3] H. Yang and M. W. Wong, "Application of halogen bonding to organocatalysis: A theoretical perspective," *Molecules*, vol. 25, no. 5, p. 1045, 2020.
- [4] P. Metrangolo and G. Resnati, "Halogen bonding: a paradigm in supramolecular chemistry," *Chemistry—a European journal*, vol. 7, no. 12, pp. 2511–2519, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20010618\)7:12<2511::AID-CHEM25110<3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20010618)7:12<2511::AID-CHEM25110<3.0.CO;2-T).
- [5] P. Metrangolo, H. Neukirch, T. Pilati, and G. Resnati, "Halogen bonding based recognition processes: a world parallel to hydrogen bonding," *Acc Chem Res*, vol. 38, no. 5, pp. 386–395, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar0400995>.
- [6] O. Hassel, K. O. Strømme, E. Stenhagen, G. Andersson, E. Stenhagen, and H. Palmstierna, "Crystal structure of the 1:1 addition compound formed by acetone and bromine," *Acta Chem. Scand*, vol. 13, no. 2, pp. 275–280, 1959. DOI: <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.13-0275>.
- [7] L. P. Wolters, P. Schyman, M. J. Pavan, W. L. Jorgensen, F. M. Bickelhaupt, and S. Kozuch, "The many faces of halogen bonding: A review of theoretical models and methods," *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci*, vol. 4, no. 6, pp. 523–540, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/wcms.1189>.
- [8] P. Politzer, J. S. Murray, and T. Clark, "Halogen bonding and other σ -hole interactions: A perspective," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 15, no. 27, pp. 11178–11189, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3cp00054k>.
- [9] K. Eskandari and H. Zariny, "Halogen bonding: A lump-hole interaction," *Chem Phys Lett*, vol. 492, no. 1–3, pp. 9–13, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2010.04.021>.
- [10] D. J. R. Duarte, E. L. Angelina, and N. M. Peruchena, "On the strength of the halogen bonds: mutual penetration, atomic quadrupole moment and Laplacian distribution of the charge density analyses," *Comput Theor Chem*, vol. 998, pp. 164–172, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2012.07.019>.
- [11] E. Bartashevich and V. Tsirelson, "A comparative view on the potential acting on an electron in a molecule and the electrostatic potential through the typical halogen bonds," *J Comput Chem*, vol. 39, no. 10, pp. 573–580, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.25112>.
- [12] D. J. R. Duarte, G. J. Buralli, and N. M. Peruchena, "Is σ -hole an electronic exchange channel in YX... CO interactions?," *Chem Phys Lett*, vol. 710, pp. 113–117, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2018.08.060>.
- [13] G. R. Desiraju *et al.*, "Definition of the halogen bond (IUPAC Recommendations 2013)," *Pure and applied chemistry*, vol. 85, no. 8, pp. 1711–1713, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-12-05-10>.
- [14] R. Shi, D. Yu, F. Zhou, J. Yu, and T. Mu, "An emerging deep eutectic solvent based on halogen-bonds," *Chemical Communications*, vol. 58, no. 29, pp. 4607–4610, 2022. <https://doi.org/10.1039/D2CC00745J>.
- [15] P. Gogoi, U. Mohan, M. P. Borpuhari, A. Boruah, and S. K. Baruah, "UV-Visible spectroscopy and density functional study of solvent effect on halogen bonded charge-transfer complex of 2-Chloropyridine and iodine monochloride," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 8, pp. 4522–4532, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.07.011>.
- [16] A. E. Reed, L. A. Curtiss, and F. Weinhold, "Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint," *Chem Rev*, vol. 88, no. 6, pp. 899–926, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr00088a005>.
- [17] X. Xu and Y. Guan, "Investigating the complexation and release behaviors of iodine in Poly (vinylpyrrolidone)-Iodine systems through experimental and computational approaches," *Ind Eng Chem Res*, vol. 59, no. 52, pp. 22667–22676, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c04766>.
- [18] B. M. Powell, K. M. Heal, and B. H. Torrie, "The temperature dependence of the crystal structures of the solid halogens, bromine and chlorine," *Mol Phys*, vol. 53, no. 4, pp. 929–939, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1080/00268978400102741>.
- [19] R. H. Jones, K. S. Knight, W. G. Marshall, S. J. Coles, P. N. Horton, and M. B. Pitak, "The competition between halogen bonds (Br center dot center dot center dot O) and CH center dot center dot center dot O hydrogen bonds: the structure of the acetone-bromine complex revisited," *CrystEngComm*, vol. 15, no. 42, pp. 8572–8577, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3ce41472h>.
- [20] D. L. Perry, *Handbook of inorganic compounds*. CRC press, 2016.
- [21] M. J. Frisch *et al.*, "Gaussian[®] 16 Revision C.01," 2016.
- [22] Y. Zhao and D. G. Truhlar, "The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals," *Theor Chem Acc*, vol. 120, no. 1, pp. 215–241, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>.
- [23] J.-D. Chai and M. Head-Gordon, "Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 10, no. 44, pp. 6615–6620, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1039/B810189B>.
- [24] W. Kohn, A. D. Becke, and R. G. Parr, "Density functional theory of electronic structure," *J Phys Chem*, vol. 100, no. 31, pp. 12974–12980, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp960669L>.
- [25] B. P. Pritchard, D. Altarawy, B. Didier, T. D. Gibson, and T. L. Windus, "New basis set exchange: An open, up-to-date resource for the molecular sciences community," *J Chem Inf Model*, vol. 59, no. 11, pp. 4814–4820, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00725>.
- [26] E. Cancès, B. Mennucci, and J. Tomasi, "A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics," *J Chem Phys*, vol. 107, no. 8, pp. 3032–3041, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.474659>.
- [27] J. Tomasi, B. Mennucci, and R. Cammi, "Quantum mechanical continuum solvation models," *Chem Rev*, vol. 105, no. 8, pp. 2999–3094, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr9904009>.
- [28] F. Richard and R. Bader, "Atoms in molecules: a quantum theory," 1990, Oxford University Press, Oxford.

- [29] Á. M. Pendás and C. Gatti, "Quantum theory of atoms in molecules and the AIMAll software," *Complement. Bond. Anal.*, vol. 43, 2021.
- [30] A. van Bondi, "van der Waals Volumes and Radii," *J Phys Chem*, vol. 68, no. 3, pp. 441–451, 1964. DOI: <https://doi.org/10.1021/j100785a001>.
- [31] D. J. R. Duarte, G. L. Sosa, N. M. Peruchena, and I. Alkorta, "Halogen bonding. The role of the polarizability of the electron-pair donor," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 18, no. 10, pp. 7300–7309, 2016.
- [32] G. J. Buralli, D. J. R. Duarte, G. L. Sosa, and N. M. Peruchena, "Lewis acid-base behavior of hypervalent halogen fluorides in gas phase," *Struct Chem*, vol. 28, pp. 1823–1830, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11224-017-0973-5>.
- [33] S. J. Grabowski, "Halogen bonds with carbenes acting as Lewis base units: complexes of imidazol-2-ylidene: theoretical analysis and experimental evidence," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 25, no. 13, pp. 9636–9647, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2CP05046K>.
- [34] P. R. Varadwaj, "Halogen Bond via an Electrophilic σ -Hole on Halogen in Molecules: Does It Exist?," *Int J Mol Sci*, vol. 25, no. 9, p. 4587, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25094587>.
- [35] R. F. W. Bader, P. L. A. Popelier, and C. Chang, "Similarity and complementarity in chemistry," *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, vol. 255, pp. 145–171, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(92\)85008-4](https://doi.org/10.1016/0166-1280(92)85008-4).
- [36] S. Hubinger and J. B. Nee, "Absorption spectra of Cl₂, Br₂ and BrCl between 190 and 600 nm," *J Photochem Photobiol A Chem*, vol. 86, no. 1–3, pp. 1–7, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/1010-6030\(94\)03947-F](https://doi.org/10.1016/1010-6030(94)03947-F).
- [37] V. G. Nenajdenko et al., "Structural organization of dibromodiazadienes in the crystal and identification of Br $\cdots$ O halogen bonding involving the nitro group," *Molecules*, vol. 27, no. 16, p. 5110, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27165110>.

Citación del artículo:

C. A. Galarza, M. O. Miranda, and D. J. R. Duarte, "Detection and characterization of halogen bonds by UV-Vis spectrophotometry and molecular modelling", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, no. 2, pp. 13–18, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.116648>



α -D-Glucose Adsorption on $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and Transition Metal-Doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ Nanoclusters: New Insights for Biodetection

Abstract

This work examines the structural and electrical characteristics of pristine $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and X-doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ nanoclusters (X = Co, Ni, or Si) in their interaction with α -D-glucose molecules. Utilizing B3LYP/6-311+G(d,p) computational methods, we examine the optimal geometries, binding energies, cohesive energies, and electrical properties of these nanoclusters. Our results indicate that $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ has the maximum binding energy, whereas $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ presents just a marginal positive binding energy. The adsorption energies of glucose on these nanoclusters suggest a chemisorption mechanism. The study found that hexagonal $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ and tetrahedral $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ exhibited the most promising characteristics for glucose sensing due to significant bandgap changes, charge transfer, and high sensitivity. Additionally, octagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ showed potential as a ϕ -type glucose sensor.

Keywords: Nanoclusters; glucose adsorption; binding energy; density of states; biosensors.

Adsorción de α -D-glucosa en nanoclústeres de $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ y $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ dopados con metales de transición: nuevas perspectivas para la biodetección

Resumen

Este trabajo examina las características estructurales y eléctricas de nanoagrupaciones de $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ virgen y $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ dopado con X (X = Co, Ni o Si) en su interacción con moléculas de α -D-glucosa. Utilizando métodos computacionales B3LYP/6-311+G(d,p), examinamos las geometrías óptimas, las energías de enlace, las energías de cohesión y las propiedades eléctricas de estas nanoagrupaciones. Nuestros resultados indican que $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ tiene la máxima energía de enlace, mientras que $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ presenta solo una energía de enlace positiva marginal. Las energías de adsorción de glucosa en estas nanoagrupaciones sugieren un mecanismo de quimisorción. El estudio encontró que $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ hexagonal y $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ tetraédrico exhibieron las características más prometedoras para la detección de glucosa debido a cambios significativos de banda prohibida, transferencia de carga y alta sensibilidad. Además, $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ octagonal mostró potencial como un sensor de glucosa de tipo ϕ .

Palabras clave: nanoclusters; adsorción de glucosa; energía de enlace; densidad de estados; biosensores.

Adsorção de α -D-glicose em nanoaglomerados de $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ e $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ dopados com metal de transição: novas perspectivas para a biodeteção

Resumo

Este trabalho examina as características estruturais e elétricas de nanoaglomerados virgens de $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ e $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ dopados com X (X = Co, Ni, Si) em relação à sua interação com moléculas de α -D-glicose. Utilizando métodos computacionais B3LYP/6-311+G(d,p), examinamos as geometrias ótimas, as energias de ligação, as energias coesivas e as propriedades elétricas destes nanoaglomerados. Os nossos resultados indicam que o $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ apresenta a energia de ligação máxima, enquanto que o $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ apresenta apenas uma energia de ligação positiva marginal. As energias de adsorção da glicose nestes nanoaglomerados sugerem um mecanismo de quimisorção. o estudo descobriu que o $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ hexagonal e o $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ tetraédrico exibiram as características mais promissoras para a detecção de glicose devido a alterações significativas no bandgap, transferência de carga e alta sensibilidade. Além disso, o $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ octogonal apresentou potencial como sensor de glicose do tipo ϕ .

Palavras-chave: nanoclusters; adsorção de glicose; energia de ligação; densidade de estados; biossensores.

Introduction

The increase in diabetes prevalence and associated metabolic problems has heightened the necessity for efficient glucose monitoring devices. These systems are vital for regulating blood glucose levels and supplying critical information to avert issues related to diabetes. Conventional glucose monitoring methods, such as electrochemical sensors, have considerable limitations, including sensitivity, selectivity, and vulnerability to interference from other biomolecules. Consequently, there is an increasing interest in testing new materials and techniques to improve sensor efficacy.

Nanoclusters have emerged as particularly interesting options among these materials because of their distinctive electrical characteristics, elevated surface area, and capacity to promote improved interactions with glucose molecules [1]. Nanoclusters are defined as collections of atoms or molecules that exhibit unique electrical, optical, and chemical capabilities relative to their bulk equivalents. Recently, nanoclusters made of aluminium nitride (AlN) and its doped derivatives have attracted significant interest in biosensing applications. The capacity of these nanoclusters to establish stable complexes with biomolecules, along with their adjustable electrical properties, renders them outstanding candidates for glucose detection [2, 3]. The introduction of transition metal dopants, including cobalt (Co), nickel (Ni), and silicon (Si), into AlN nanoclusters can markedly modify their electrical structures and functional properties [4]. These adjustments increase the adsorption of energy and facilitate efficient charge transfer mechanisms, which are essential for enhancing sensor sensitivity and selectivity.

The adsorption of glucose onto nanoclusters is influenced by several parameters, including the geometric configuration of the nanocluster, the characteristics of the dopant, and the electrical interactions between the glucose molecule and the nanocluster surface. Prior research indicates that distinct adsorption configurations—namely, tetrahedral, hexagonal, and octagonal arrangements—result in differing contact strengths and electronic reactions [5]. Comprehending these arrangements and their related energetic properties is crucial for enhancing sensor design and efficacy. Theoretical simulations, especially those using density functional theory (DFT), offer significant insights into the adsorption energies and electrical characteristics of glucose-nanocluster complexes. These computational methods enable researchers to determine the optimal configurations for sensing applications, improving the design of next-generation glucose sensors [6].

The interaction between glucose and nanoclusters goes beyond simple physical adsorption; it includes intricate chemical interactions that can profoundly influence the electrical characteristics of the materials involved. For example, glucose may function as an electron donor, while the nanocluster surface could work as an electron acceptor. This interaction is essential for the design of efficient biosensors, as it directly influences the sensor's sensitivity and response time. Research has demonstrated that optimizing the orientation and position of the glucose molecules in relation to the nanocluster surfaces can enhance charge transfer efficiency [7]. This highlights the need to investigate multiple dopant combinations and structural topologies to improve the overall efficacy of glucose sensors.

Recent improvements in computational techniques have facilitated an extensive investigation of the interactions between glucose and nanoclusters, leading to novel sensor designs. The computation of Gibbs free energy changes (ΔG) throughout the adsorption process is essential, as it signifies the spontaneity and stability of the resultant complexes—critical criteria for sensor dependability [8]. Furthermore, examining the density of states (DOS) and variations in the highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) energy gap (E_g) provides insights

into the electrical properties of glucose-nanocluster systems. These findings clarify the mechanisms underlying electron transport and conductivity alterations following glucose adsorption [9]. Thermodynamic evaluations are essential for comprehending the energetics of the adsorption process. Configurations exhibiting lower ΔG values signify greater stability of adsorption complexes. This stability is essential in sensing applications, as it guarantees that the sensor can reliably respond to glucose levels without frequent recalibration or deterioration. Furthermore, the alterations in work function ($\Delta\phi$) due to glucose adsorption can offer insights into the sensor's efficacy.

A notable $\Delta\phi$ may signify a robust connection between the glucose molecule and the nanocluster surface, thereby increasing the sensor's sensitivity [10]. The electrical characteristics of glucose-nanocluster systems are similarly affected by the presence of dopants. Doping with transition metals can alter the electronic structure, resulting in variations in conductivity and reactivity. Research indicates that Ni doping in AlN nanoclusters increases their electron transfer efficiency and enhances their interaction with glucose molecules [11]. This improvement is due to the formation of localized states in the band structure, which promote charge transfer processes. Comprehending these alterations is essential for the development of sensitive glucose sensors.

Furthermore, the examination of the DOS and the E_g is crucial for evaluating the sensitivity of these systems. A reduced E_g often signifies that a molecule is more readily excited, indicating alterations in the system's conductivity. Studies demonstrate that glucose adsorption can substantially reduce the E_g , thus improving the sensor's sensitivity [12]. The correlation between electronic structure and sensor efficacy highlights the necessity of optimizing nanocluster architecture and dopant selection for efficient glucose detection. This investigation of glucose sensing by nanoclusters also includes the development of hybrid materials that integrate the benefits of nanostructures with alternative sensing methods. Integrating nanoclusters with optical sensors or using them with microfluidic systems could facilitate the development of multifunctional glucose monitoring platforms [13]. These developments may provide real-time monitoring of glucose levels with improved precision and faster reaction times.

This work examines the adsorption of α -D-glucose on both pristine and transition metal-doped AlN nanoclusters ($\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$) to determine the most advantageous configurations and evaluate their potential as glucose sensors. Furthermore, this study investigates the stability of different adsorption patterns and their influence on electrical properties to enhance the sensitivity and reliability of glucose detection systems. Our research will explain the complex interactions between glucose molecules and nanocluster surfaces, establishing a basis for future sensor development.

Materials and Methods

A popular exchange-correlation functional in DFT is the Becke Three-Parameter Hybrid Functional (B3), introduced by Becke in 1993. This functional, commonly referred to as B3LYP, integrates three components: Exact exchange energy from Hartree-Fock theory, exchange energy from a generalized gradient approximation, and correlation energy from methods such as the Lee-Yang-Parr (LYP) approach [14, 15]. B3LYP has proven to be effective for calculations involving III-V semiconductors [16]. The weak long-range interaction was corrected by adopting the empirical dispersion correction (DFT-D3(BJ)): Grimme's D3 correction with Becke-Johnson damping [17]. A popular basis set used is 6-311+G(d,p), which is a split-valence basis set enhanced with polarization functions, frequently applied in computational quantum chemistry [18–20]. Complete optimization was conducted using the B3LYP

functional with the 6-311+G(d,p) basis set, utilizing the Gaussian 09 program package (energy convergence = 10⁻⁶ a.u., force tolerance = 0.00045 a.u./Å) for all theoretical computations [21, 22]. Input files and output interpretation were managed using Gauss View 5.0 [23]. The DOS for all studied structures was plotted using the Gauss Sum 3.0 program [24]. The binding energy (E_{BE}) for the X (Co, Si, and Ni) doped Al₂₃N₂₄ nanocluster is defined in Eq. (1) [25]:

$$E_{BE} = E_{X\text{-nanocluster}} - (E_{\text{nanocluster}} + E_X) \quad (1)$$

Where $E_{X\text{-nanocluster}}$ and $E_{\text{nanocluster}}$ represent the total energies of the X-doped Al₂₃N₂₄ and Al₂₃N₂₄, respectively, and E_X denotes the energy of an isolated X atom.

To evaluate the sensing ability, the adsorption energy (E_{ads}) of the glucose molecule on the nanoclusters was calculated with Eq. (2):

$$E_{ads} = E_{\text{Glucose} + X\text{-nanocluster}} - (E_{X\text{-nanocluster}} + E_{\text{Glucose}}) \quad (2)$$

A negative E_{ads} indicates spontaneous adsorption, with more negative values suggesting greater stability [26–28]. If the absolute value of negative adsorption energy $E_{ads} > 0.5$ eV, the adsorption process can be judged as chemical adsorption; otherwise, it is physical adsorption [29, 30].

In this work, the adsorption behavior of glucose molecules on nanoclusters and X-doped nanoclusters was calculated at room temperature (298.15 K). Also, the band gap energy (E_g), the global hardness (η), and the electrophilicity index (ω) were calculated.

$$E_g = [E_{LUMO} - E_{HOMO}] \quad (3)$$

$$\eta = [E_{LUMO} - E_{HOMO}] / 2 \quad (4)$$

$$\omega = [E_{LUMO} - E_{HOMO}] / 2 / 8\eta \quad (5)$$

Here, E_{LUMO} and E_{HOMO} refer to the lowest unoccupied molecular orbital and highest occupied molecular orbital, respectively [14, 15, 31]. Furthermore, we evaluated the sensitivity of the pristine and X-doped nanoclusters for glucose detection by calculating the percentage change in the band gap energy with Eq. (6):

$$\Delta E_g\% = [(E_{g2} - E_{g1}) / E_{g1}] \times 100\% \quad (6)$$

Where E_{g1} and E_{g2} are the E_g values before and after the adsorption of the glucose molecule, respectively. To investigate the interaction between the nanoclusters and glucose molecules, we calculated the Hirshfeld charge to determine the corresponding charge transfer (Q_{CT}) using the Eq. (7) [28]:

$$Q_{CT} = Q(\text{Glucose})_A - Q(\text{Glucose})_B \quad (7)$$

Where $Q(\text{Glucose})_A$ and $Q(\text{Glucose})_B$ represent the charge numbers of the target molecules after and before adsorption, respectively. A positive charge transfer ($Q_{CT} > 0$) indicates that electrons are transferred from the glucose molecule to the nanocluster, while a negative value suggests that electrons are transferred from nanoclusters to the glucose molecule.

Results and Discussion

Structure and geometry of pristine Al₂₄N₂₄, CoAl₂₃N₂₄, NiAl₂₃N₂₄, SiAl₂₃N₂₄ nanoclusters and α-D-glucose molecule

Figure 1 presents the optimized geometries of the pristine Al₂₄N₂₄, CoAl₂₃N₂₄, NiAl₂₃N₂₄, and SiAl₂₃N₂₄ nanoclusters, as well as the α-D-glucose molecule, using the B3LYP/6-311+G(d,p) method. Each nanocluster consists of twelve tetragons, eight hexagons, and six octagons, differing from the football shape of fullerene C₆₀. Among these, SiAl₂₃N₂₄ exhibits the largest E_{BE} with the Si atom, accompanied by shorter bond lengths. In contrast, CoAl₂₃N₂₄ shows a slightly positive E_{BE} , while NiAl₂₃N₂₄ has a small negative E_{BE} with the Al₂₃N₂₄ nanocluster (refer to figure 1). Additionally, the aggregation potential of the X atom (where X = Co, Ni, or Si) within the X-Al₂₃N₂₄ nanocluster was investigated by calculating the cohesive energy (E_{coh}), using Eq. (8):

$$E_{coh} = (E_{X\text{-doped nanocluster}} - E_{iso-X}) / N \quad (8)$$

Where E_{iso-X} is the energy of a single atom and N is the number of atoms in the volume [32]. All four nanoclusters exhibit similar negative cohesive energies. Notably, NiAl₂₃N₂₄ and SiAl₂₃N₂₄ have EBE values exceeding the cohesive energy (E_{coh}) of their respective nanoclusters, indicating a relatively stable configuration. Overall, there are no significant differences in the cohesive energies of CoAl₂₃N₂₄, NiAl₂₃N₂₄, SiAl₂₃N₂₄, and the pristine Al₂₄N₂₄. The diffusion activation barrier (E_{act}) on the Al₂₃N₂₄ nanocluster characterizes the stability of Co, Ni, and Si-doped atoms. Machine learning calculations indicate that, for single atoms of various species, their energy barriers are proportional to E_{BE} and (E_{coh}). This relationship can be estimated using Eq. (9) [33]:

$$E_{act} = 0.637 [E_{BE}^2 / E_{coh}] - 0.203 \quad (9)$$

It is essential for E_{BE} to be higher than E_{coh} to prevent the formation of doping clusters within the nanocluster, as such clusters could diminish the ability to interact with other molecules by reducing the number of available adsorption sites. The trend observed for E_{act} is as follows: SiAl₂₃N₂₄ > NiAl₂₃N₂₄ > CoAl₂₃N₂₄, though the differences among these values are not significant. Additionally, all the doped

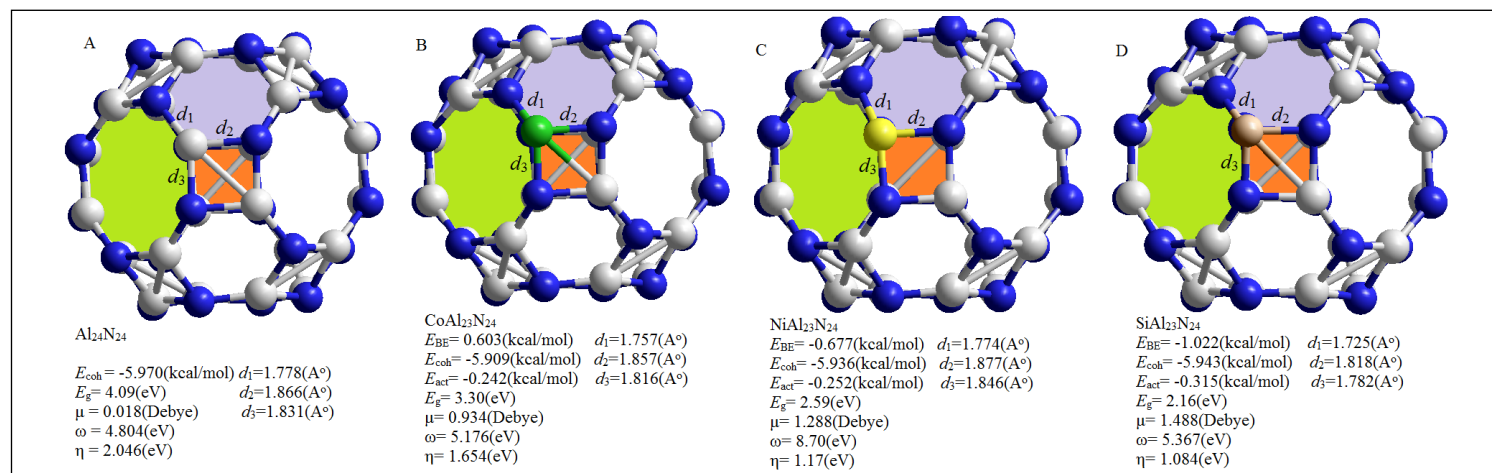


Figure 1. Geometrically optimized models. A: Al₂₄N₂₄, B: CoAl₂₃N₂₄, C: NiAl₂₃N₂₄, and D: SiAl₂₃N₂₄ nanocluster. These models were generated using the B3LYP/6-311+G(d,p) method. In the visualization, the colours represent different atoms: white for aluminium, blue for nitrogen, brown for silicon, green for cobalt, and yellow for nickel.

atoms exhibit binding energies equal to or smaller than 1 eV, indicating weak interactions between the doped atoms and the nanocluster [34]. In addition, substitutions can alter the electronic structure, including the band gap, where $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$, $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, and $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ have gotten 4.09, 3.30, 2.59, and 2.38 eV, respectively, which affects charge transfer and reactivity. Changes in the electronic properties can enhance or diminish stability depending on the specific interactions with surrounding molecules. Typically, $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ exhibits uniform bond lengths due to its symmetrical structure. Due to silicon's different atomic size and electronegativity, the presence of silicon in $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ may lead to shorter Si-N bond lengths than Al-N bonds in $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$. Transition metal binding (Co and Ni), in $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ and $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, often results in variable bond lengths due to *d*-orbital participation, which can cause slight elongation or contraction in Al-N bonds compared to $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$.

The α -D-glucose molecule adsorption on the pristine $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and X- $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$

Figure 2 presents the most favorable adsorption configurations of α -D-glucose on pristine $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and X-doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ nanoclusters (where X = Co, Ni, and Si). The most stable complexes were identified from various initial configurations, with the glucose molecule positioned to have its surface parallel to the tetrahedral, hexagonal, and octagonal sides of the nanoclusters. The calculated adsorption energies (E_{ads}) for glucose on the nanoclusters show that the tetrahedral $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, hexagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, tetrahedral $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, and octagonal $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ configurations yielded the highest values: -55.514, -44.441, -42.292, and -40.325 kcal/mol, respectively. These values indicate a chemisorption process.

Additionally, Figure 2 illustrates that glucose adsorption on octagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, octagonal $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$, hexagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, octagonal $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$, hexagonal $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$, and hexagonal $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ substrates resulted in minimal deformation. The corresponding adsorption distances (charge transfer QCT) for these configurations are 1.995 Å (-0.5091e), 1.990 Å (-0.499e), 2.009 Å (-0.483e), 2.055 Å (-0.4513e), 2.007 Å (-0.437e), and 2.080 Å (0.3944e), respectively, indicating that glucose acts as an electron donor while the nanoclusters serve as electron acceptors. Furthermore, the thermodynamic parameters, specifically the Gibbs free energy (ΔG) for adsorbed glucose, were calculated.

As illustrated in Figure 2, the negative ΔG values indicate spontaneous glucose adsorption. Notably, the tetrahedral $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, hexagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose, octagonal $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, and hexagonal $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose configurations exhibit the highest spontaneous adsorption tendencies. This means that, under the given conditions, the system can move to the adsorbed state without additional energy.

Overall, tetrahedral $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, hexagonal $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, and tetrahedral $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ got the highest negative ΔG values, which are crucial for understanding the energetics of adsorption and the stability of adsorbed complexes. They provide insights into the feasibility and efficiency of the interactions between α -D-glucose and the various nanocluster configurations. When α -D-glucose approaches the nanocluster, an initial interaction occurs due to electrostatic forces, van der Waals forces, or hydrogen bonding. This proximity is critical for electron transfer to take place.

The DOS at the Fermi level can indicate how readily electrons are transferred between glucose and the nanocluster. Higher resonance peaks in the DOS suggests stronger interactions. The DOS for

the lowest-energy configuration of glucose on pristine $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ is illustrated in Figure 3. The DOS of glucose exhibits localized states, with resonance peaks observed between glucose and both hexagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and tetrahedral- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$; however, these peaks diminish with octagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$.

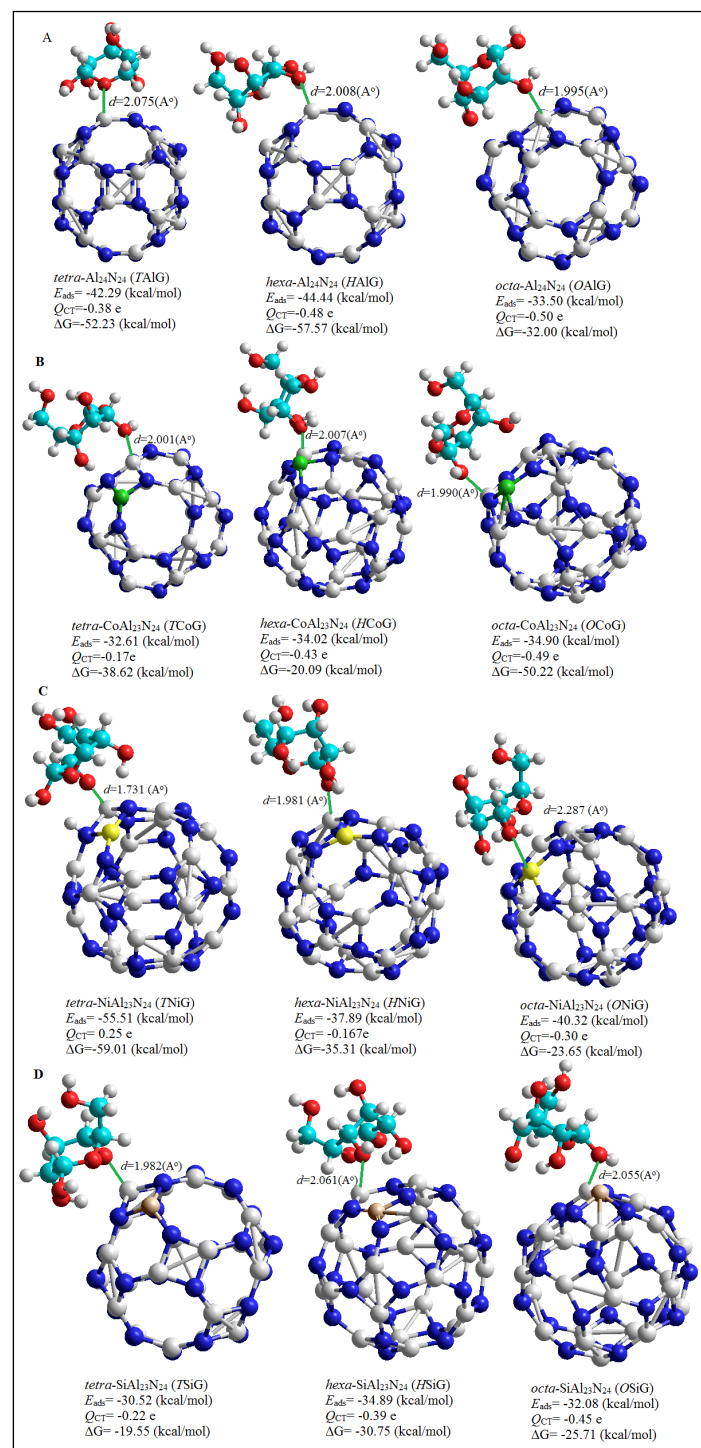


Figure 2. Geometrically optimized models. A: hexagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose, tetrahedral- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose, octagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose; B: hexagonal- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, tetrahedral- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, octagonal- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose; C: hexagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, octagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose; D: hexagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, tetrahedral- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, and octagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, respectively. These models were generated using the B3LYP/6-311+G(d,p) method. In the visualization, the colors represent different atoms: white for aluminium, grey for carbon, red for oxygen, white for hydrogen, blue for nitrogen, brown for silicon, green for cobalt, and yellow for nickel.

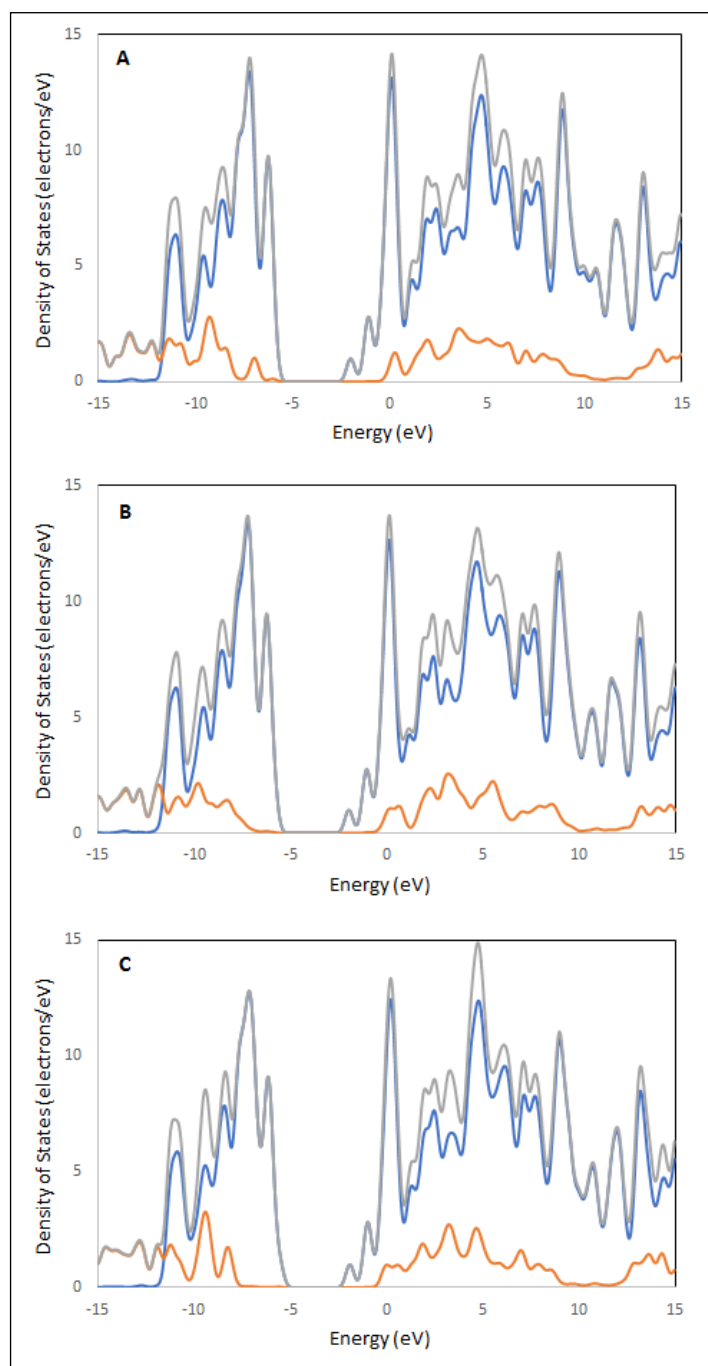


Figure 3. DOS of glucose and $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ with A: tetrahedral- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose, B: hexagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose, and C: octagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ -glucose. The orange, blue, and grey lines represent the levels of glucose, nanocluster, and glucose-nanocluster, respectively. The Fermi level is set to zero.

Figure 5A highlights a strong resonance peak between the glucose molecule and tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, indicating a significant interaction in the tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose adsorption system. Conversely, the octagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose and hexagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose configurations exhibit reduced resonance, as shown in **figures 5B** and **5C**. In contrast, the $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose and $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose systems (**figures 4** and **6**) demonstrate only minimal interaction with glucose as compared to tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$.

Generally, the type of dopant (e.g., Ni, Co, Si) affects electronic properties, influencing how the nanocluster interacts with glucose. For instance, Ni may enhance electron transfer and strengthen interactions. This suggests that the Ni-doped atom acts as an effective electron bridge, enhancing interactions between glucose and the adsorbent. Consequently, the $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ nanocluster emerges as a promising candidate for glucose adsorption in biosensor applications.

These findings illustrate that the interactions between glucose and the four nanoclusters are not weak and mainly do not rely on van der

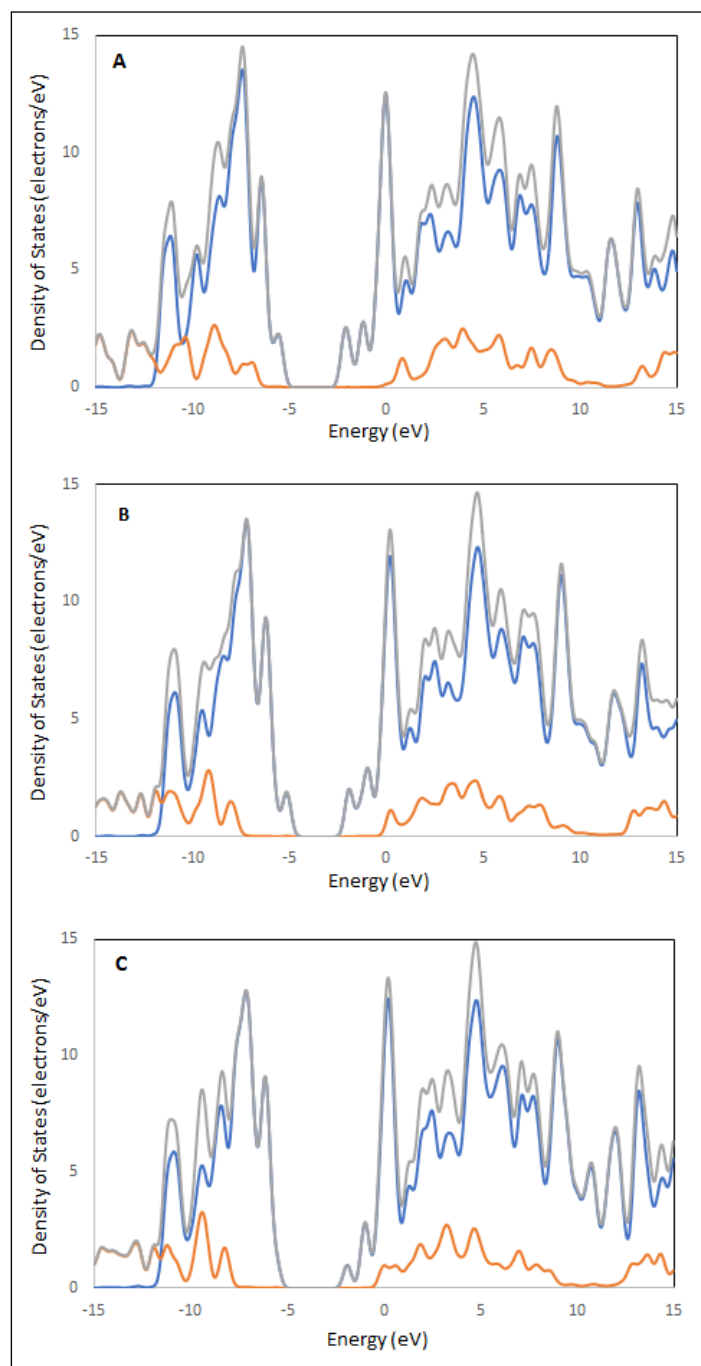


Figure 4. DOS of glucose and $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ with A: tetrahedral- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, B: hexagonal- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, and C: octagonal- $\text{CoAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose. The orange, blue, and grey lines represent the levels of glucose, nanocluster, and glucose-nanocluster, respectively. The Fermi level is set to zero.

Waals forces [35]. Thus, these nanoclusters are good bio-sensing materials for glucose due to their adsorption capacity. The orientation and position of the glucose molecule relative to the nanocluster (e.g., tetrahedral, octagonal, hexahedral arrangements) can lead to varying interaction strengths. Optimal alignment facilitates better overlap of electron orbitals. Overall, while all configurations perform well, $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ and $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ stand out as the most effective. A smaller gap indicates that the molecule can more easily undergo oxidation (donate electrons) or reduction (accept electrons).

The adsorption of glucose molecules on pristine tetrahedral- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and hexagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ had minimal impact on its electronic properties, as evidenced by the insignificant change in HOMO-LUMO gap (E_g) with the increasing rate (ΔE_g 2.7 and 5.8%, respectively, while octagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ was increased ($\Delta E_g = 10.5\%$), see **table 1**. This suggests that pristine octagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ exhibits high sensitivity towards glucose adsorption and detection. Doped with Si, Co, and Ni atoms, however, significantly alter the electronic structure. The

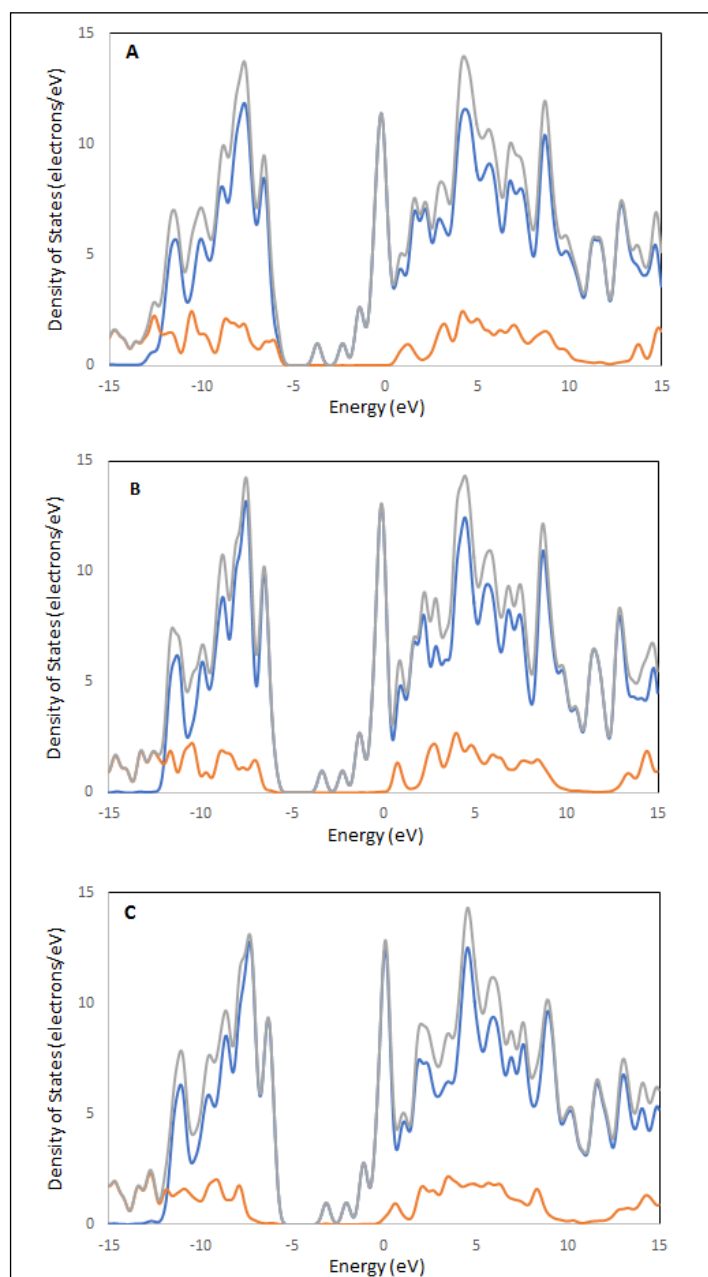


Figure 5. DOS of glucose and $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ with A: tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, B: hexagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, and C: octagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose. The orange, blue, and grey lines represent the levels of glucose, nanocluster, and glucose-nanocluster, respectively. The Fermi level is set to zero.

HOMO and LUMO levels undergo a substantial shift towards higher energies (table 1), leading to a concomitant narrowing of the E_g . These modifications potentially enhance the interaction between the X-doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ and glucose molecules, suggesting an improved sensitivity for glucose detection, where tetrahedral- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$, tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, and hexagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ have insignificant change ratios in HOMO-LUMO gap (ΔE_g) equal to 10.8, 15.7, and 32.4%, respectively. Generally, hexagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ is favored.

The global hardness (η) of a material is defined as its intrinsic resistance to the transmission of electric charge. A positive correlation exists between a higher E_g value and reduced chemical reactivity, which leads to enhanced chemical stability. As shown in figures 1 and 2, η of Si, Co, and Ni-doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ systems shows minimal variation before and after the presence of the glucose molecule. Notably, the highest difference ($\Delta\eta = 0.32$) occurs in the hexagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose complex, followed by tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose ($\Delta\eta = 0.20$). In contrast, the electrophilicity index (ω) of these systems exhibits more significant fluctuations before and after glucose adsorption, particularly in the octagonal- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose complex. These findings suggest that the

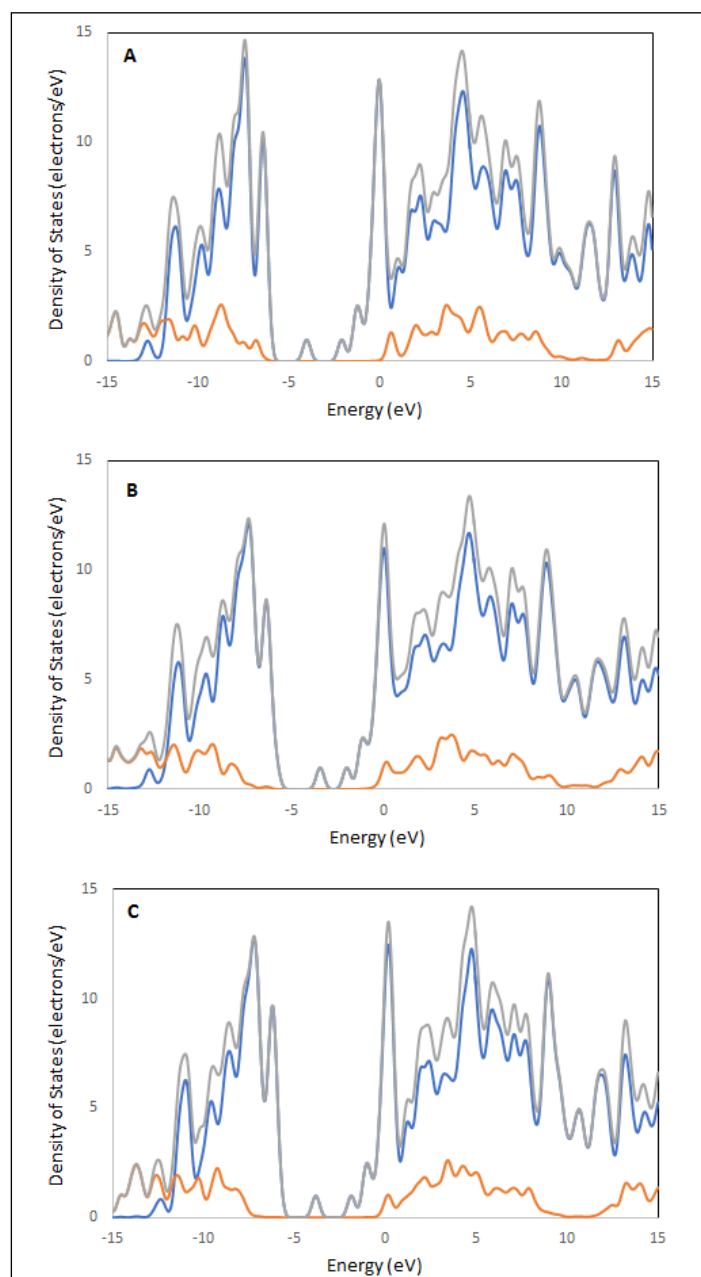


Figure 6. DOS of glucose and $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ with A: tetrahedral- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, B: hexagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose, and C: octagonal- $\text{SiAl}_{23}\text{N}_{24}$ -glucose. The orange, blue, and grey lines represent the levels of glucose, nanocluster, and glucose-nanocluster, respectively. The Fermi level is set to zero.

$\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$ nanocluster demonstrates a more pronounced affinity for the glucose molecule compared to the other adsorbents.

Analysis of the Sensing Mechanism

The preceding sections highlight the strong stability and adsorption capacity of tetrahedral- $\text{NiAl}_{23}\text{N}_{24}$, hexagonal- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$, and tetrahedral- $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ nanoclusters, making them suitable candidates for glucose sensing materials. In this section, we further analyze the sensitivity and desorption time of these nanoclusters to gain insight into the microscopic sensing mechanism. Generally, the E_g serves as an evaluation criterion for the excitability of a molecule; a smaller E_g typically indicates a molecule that is easier to excite, reflecting changes in the system's conductivity. According to figure 3, all nanoclusters exhibit a predominantly nonmetallic character, with the electronic E_g showing minimal variation after glucose adsorption, except for five specific nanoclusters. This suggests that the conductive behavior between the glucose molecule and these nonmetallic nanoclusters remains relatively stable, indicating poor glucose sensitivity. It is well-established that sensitivity can be assessed by examining the variation in electrical conductivity of the glucose-na-

Table 1. The energy Gap (*E_g*), energy gap change ratio ($\Delta E_g\%$), work function ($\Delta\phi$), global hardness (η), electrophilicity index (ω), electric dipole moment (μ), the desorption time (τ), and sensitivity (*S*).

Structure	<i>E_g</i> (eV)	$\Delta E_g\%$	$\Delta\phi\%$	η (eV)	ω (eV)	μ (Debye)	τ (s)	<i>S</i>
tetrahedral-Al ₂₄ N ₂₄ -glucose	3.98	-2.72	-9.74	1.99	4.02	9.91	$6.34 \times 10^{+14}$	7.77
hexagonal-Al ₂₄ N ₂₄ -glucose	3.85	-5.80	-12.33	1.92	3.91	11.21	$2.33 \times 10^{+16}$	$1.018 \times 10^{+2}$
octagonal-Al ₂₄ N ₂₄ -glucose	3.66	-10.54	-16.30	1.83	3.76	15.62	$2.52 \times 10^{+8}$	$4.45 \times 10^{+3}$
tetrahedral-SiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	1.93	-10.85	-0.48	0.96	4.80	7.59	$1.69 \times 10^{+6}$	$9.64 \times 10^{+1}$
hexagonal-SiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	1.46	-32.47	-11.67	0.73	4.99	11.63	$2.60 \times 10^{+9}$	$8.87 \times 10^{+5}$
octagonal-SiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	1.95	-9.79	-6.95	0.97	4.14	13.85	$2.33 \times 10^{+7}$	$6.11 \times 10^{+1}$
tetrahedral-CoAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	3.31	0.12	-7.44	1.65	4.42	7.56	$5.68 \times 10^{+7}$	1.71×10^{-1}
hexagonal-CoAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	3.15	-4.64	-15.37	1.57	3.88	14.16	$6.08 \times 10^{+8}$	$3.81 \times 10^{+2}$
octagonal-CoAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	3.23	-2.28	-13.41	1.61	3.97	14.85	$2.66 \times 10^{+9}$	$1.76 \times 10^{+1}$
tetrahedral-NiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	2.18	-15.8	-1.08	1.09	10.49	7.21	$2.70 \times 10^{+24}$	$7.47 \times 10^{+6}$
hexagonal-NiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	2.63	1.65	-3.68	1.31	8.24	6.08	$3.95 \times 10^{+11}$	4.27
octagonal-NiAl ₂₃ N ₂₄ -glucose	2.86	10.63	-5.29	1.43	7.32	8.01	$2.34 \times 10^{+13}$	$4.21 \times 10^{+4}$

nocluster adsorption system. The variation in sensitivity (*S*) can be calculated with Eq. (10) [36, 37]:

$$S = \exp[(E_{g2} - E_{g1})/kBT] - 1 \tag{10}$$

In this equation, *k_B* is the Boltzmann constant (8.62×10^{-5} eV/K) and *T* is the working temperature of the molecular sensor. According to Eq. (10), sensor sensitivity is dependent on the variation of the *E_g* after glucose adsorption. Therefore, the hexagonal-SiAl₂₃N₂₄-glucose, tetrahedral-NiAl₂₃N₂₄-glucose, octagonal-NiAl₂₃N₂₄-glucose, and octagonal-Al₂₄N₂₄-glucose systems could exhibit high sensitivity as glucose sensors. Generally, if the energy gaps remain unchanged, it indicates minimal effects on the resistivity when glucose is adsorbed onto the nanoclusters, suggesting that the sensitivity of these nanoclusters to glucose molecules is poor.

The present study investigated the impact of glucose molecules on the Fermi levels (*E_F*) and the work function (ϕ), where $\phi = -E_F = [E_{LUMO} - E_{HOMO}]/2$ denotes the energy required to remove an electron from the Fermi level. The $\Delta\phi$ measured by the Kelvin oscillator influences the gate voltage in the sensor. This variation generates an electrical signal that can be correlated with the concentration of the adsorbed glucose, facilitating quantitative analysis [38, 39]. The $\Delta\phi$ resulting from the adsorption of a substance affects the gate voltage and generates an electrical signal that aids in recognizing the chemical [40, 41]. The $\Delta\phi$ values for pristine and Co, Si, and Ni-doped nanoclusters after glucose adsorption are presented in **figure 3**. The $\Delta\phi\%$ values for the nanoclusters upon glucose adsorption are as follows:

- 16.3% for octagonal-Al₂₄N₂₄-glucose
- 15.3% for hexagonal-CoAl₂₃N₂₄-glucose
- 13.4% for octagonal-CoAl₂₃N₂₄-glucose
- 12.3% for hexagonal-Al₂₄N₂₄-glucose
- 11.6% for hexagonal-SiAl₂₃N₂₄-glucose

These results indicate that the most significant $\Delta\phi$ occurs in the octagonal-Al₂₄N₂₄ upon interaction with glucose, followed closely by the hexagonal-CoAl₂₃N₂₄ system. The ϕ serves as a valuable metric for assessing the effectiveness of the sensor. In summary, “octa” and “hexa” are crucial for understanding the structural characteristics and potential performance of nanoclusters in sensing applications.

The dipole moment, resulting from unequal charge distribution in nanostructures, is crucial for comprehending the interaction between glucose and Al₂₄N₂₄. We calculated dipole moments for both the adsorbent and substrate before and after contact (**figure 1**, **table 1**). A notable discovery is the substantial increase in dipole

moment after glucose adsorption. The dipole moments of the glucose-nanocluster complexes produced were much more significant than those of the isolated glucose molecules or nanocages. This enhancement indicates a substantial alteration in the distribution of charges post-adsorption due to the charge exchange between the glucose molecule and the nanocage. The following dipole moments for the glucose-nanocluster complexes were documented:

- 15.62 D for octagonal-Al₂₄N₂₄-glucose
- 14.85 D for octagonal-CoAl₂₃N₂₄-glucose
- 14.16 D for hexagonal-CoAl₂₃N₂₄-glucose
- 13.85 D for hexagonal-SiAl₂₃N₂₄-glucose
- 11.63 D for hexagonal-Al₂₄N₂₄-glucose

These findings show that glucose and the Al₂₄N₂₄ nanocluster have a strong interaction that is mediated by charge transfer. The considerable rise in dipole moment upon glucose adsorption suggests that the interaction is not just happening on the surface but also involves a significant change in where the electrons are distributed. This charge transfer and the increased dipole moment that follows are probably crucial for the binding affinity that was seen and could be used for sensing purposes. It’s also worth noting that the dipole moment changes between doped and undoped nanocluster structures, as well as between hexagonal and octagonal structures. This suggests that the composition and shape of the nanocluster can affect how strongly it interacts with glucose [42].

Furthermore, the desorption property (τ) is crucial for assessing the repeatability of a sensor. Moderate interactions between nanoclusters and molecules facilitate the desorption of the adsorbate in a short time, allowing for sustainable device utilization. Based on the transition state theory, we calculated the desorption time (τ) using Eq. (11) [43]:

$$\tau = f_0^{-1} \exp[-E_{abs}/kBT] \tag{11}$$

Where *f₀* is the attempt frequency, *E_{abs}* is the adsorption energy, *k_B* is the Boltzmann constant (8.62×10^{-5} eV/K), and *T* is the temperature. In this study, we adopted an attempt frequency value of 1×10^{-16} s⁻¹, as reported in the literature [44, 45]. The desorption times for glucose over the nanoclusters at the working temperature of 298 K are shown for hexagonal-SiAl₂₃N₂₄-glucose, octagonal-SiAl₂₃N₂₄-glucose, and tetrahedral-NiAl₂₃N₂₄-glucose, as illustrated in **figure 3**.

Conclusions

This study demonstrates how nanoclusters shape and doping collaboratively influence glucose sensing efficacy, providing design

principles for advanced sensors. These findings reveal that doping plays a critical role in determining sensing mechanisms. Ni-doped clusters exhibit strong chemisorption (-55.51 kcal/mol) due to Ni's high d-electron affinity, which facilitates charge transfer from glucose ($Q_{CT} = 0.25e$). This suggests that Ni sites act as electron sinks, making them well-suited for redox-based detection. In contrast, silicon-doped clusters demonstrate substantial bandgap modulation (-32.4%), which is attributed to silicon's capacity to disrupt the delocalized π -electron networks within AlN frameworks, a property advantageous for electronic (*Eg*-type) sensors. Additionally, the work function change ($\Delta\phi$) in pristine $Al_{24}N_{24}$ (-16.3%) highlights the importance of surface dipole effects in field-effect transistor (FET) sensing platforms.

The study also establishes clear topology-property relationships: structural geometry impacts sensor performance. The hexagonal $SiAl_{23}N_{24}$ cluster exhibits exceptional sensitivity (8.87×10^5) due to its open framework, which enhances glucose accessibility to active silicon sites. Conversely, the compact tetrahedral structure of $NiAl_{23}N_{24}$ improves adsorption stability but restricts bandgap response, emphasizing the trade-offs between steric constraints and electronic effects. These insights underscore the necessity of balancing dopant-induced electronic modulation with geometric accessibility in sensor design.

For practical implementation, further research should assess potential interference from biomolecules such as fructose to validate clinical applicability. Additionally, the distinct work function variations in $Al_{24}N_{24}$ suggest its compatibility with FET-based platforms, while Ni-doped clusters may be better suited for electrochemical strips. Overall, this work identifies Ni/Si-doped AlN nanoclusters as promising candidates for glucose sensing and establishes a framework for optimizing doping strategies and nanostructure design in next-generation detectors.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the support provided by the Molecular Engineering and Computational Modeling Lab, Department of Physics, College of Science, University of Basrah, for facilitating the computational resources and research environment essential for this study.

References

- [1] A. J. González Fà, V. Orazi, E. A. González, A. Juan, and I. López-Corral, "DFT study of β -D-glucose adsorption on single-walled carbon nanotubes decorated with platinum. A bonding analysis," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 423, pp. 542–548, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.05.227>.
- [2] E. A. Eno et al., "Molecular modeling of Cu-, Ag-, and Au-decorated aluminum nitride nanotubes for hydrogen storage application," *ACS Appl. Energy Mater.*, vol. 6, no. 8, pp. 4437–4452, 2023.
- [3] F. Kamali, G. Ebrahimzadeh-Rajaei, S. Mohajeri, A. Shamel, and M. Khodadadi-Moghaddam, "A computational design of $X_{24}Y_{24}$ ($X = B, Al$, and $Y = N, P$) nanoclusters as effective drug carriers for metformin anticancer drug: A DFT insight," *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 141, p. 109527, Jul. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2022.109527>.
- [4] I. Benjamin et al., "Transition metal-decorated $B_{12}N_{12}-X$ ($X = Au, Cu, Ni, Os, Pt$, and Zn) nanoclusters as biosensors for carboplatin," *ACS omega*, vol. 8, no. 11, pp. 10006–10021, 2023.
- [5] Q. He et al., "Phase engineering and synchrotron-based study on two-dimensional energy nanomaterials," *Chem. Rev.*, vol. 123, no. 17, pp. 10750–10807, 2023.
- [6] T. Saha et al., "Wearable electrochemical glucose sensors in diabetes management: a comprehensive review," *Chem. Rev.*, vol. 123, no. 12, pp. 7854–7889, 2023.
- [7] R. Jin, G. Li, S. Sharma, Y. Li, and X. Du, "Toward active-site tailoring in heterogeneous catalysis by atomically precise metal nanoclusters with crystallographic structures," *Chem. Rev.*, vol. 121, no. 2, pp. 567–648, 2020.
- [8] X. Du et al., "CO₂ and CH₄ adsorption on different rank coals: A thermodynamics study of surface potential, Gibbs free energy change and entropy loss," *Fuel*, vol. 283, p. 118886, 2021.
- [9] T. Yoon, W. Park, J. You, and S. Na, "Investigation of Direct Electron Transfer of Glucose Oxidase on a Graphene-CNT Composite Surface: A Molecular Dynamics Study Based on Electrochemical Experiments," *Nanomaterials*, vol. 14, no. 13, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano14131073>.
- [10] Y. Han, P. Zhang, X. Duan, X. Gao, and L. Gao, "Advances in precise synthesis of metal nanoclusters and their applications in electrochemical biosensing of disease biomarkers," *Nanoscale*, 2025.
- [11] E. Hosseinzadeh, A. Foroumadi, and L. Firoozpour, "A DFT study on the transition metal doped BN and AlN nanocages as a drug delivery vehicle for the cladribine drug," *J. Mol. Liq.*, vol. 374, p. 121262, 2023.
- [12] K. K. Singh, "A DFT studies on absorbing and sensing possibilities of glucose on graphene surface doped with Ag, Au, Cu, Ni & Pt atoms," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 13, p. 100287, 2023.
- [13] A. Saikia, R. Newar, S. Das, A. Singh, D. J. Deuri, and A. Baruah, "Scopes and challenges of microfluidic technology for nanoparticle synthesis, photocatalysis and sensor applications: A comprehensive review," *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 193, pp. 516–539, 2023.
- [14] P. K. Chattaraj and D. R. Roy, "Update 1 of: electrophilicity index," *Chem. Rev.*, vol. 107, no. 9, pp. PR46–PR74, 2007.
- [15] T. Koopmans, "Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms," *Physica*, vol. 1, no. 1, pp. 104–113, 1934. DOI: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2).
- [16] X. Jia, H. Zhang, Z. Zhang, and L. An, "First-principles investigation of vacancy-defected graphene and Mn-doped graphene towards adsorption of H₂S," *Superlattices Microstruct.*, vol. 134, no. July, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.spmi.2019.106235>.
- [17] T. Sato and H. Nakai, "Density functional method including weak interactions: Dispersion coefficients based on the local response approximation," *J. Chem. Phys.*, vol. 131, no. 22, 2009.
- [18] S. Tomić, B. Montanari, and N. M. Harrison, "The group III–V's semiconductor energy gaps predicted using the B3LYP hybrid functional," *Phys. E Low-dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 40, no. 6, pp. 2125–2127, 2008.
- [19] A. A. Salari, "Are the inorganic $B_{24}N_{24}$, $Al_{24}N_{24}$, $B_{24}P_{24}$ and $Al_{24}P_{24}$ nanoclusters synthesizable or not? A DFT study," *Inorganica Chim. Acta*, vol. 456, pp. 18–23, Feb. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ICA.2016.11.006>.
- [20] A. Wang, J. Cui, L. Zhang, L. Liang, Y. Cao, and Q. Liu, "The chemical recognition of hydrogen fluoride via $B_{24}N_{24}$ nanocage: quantum chemical approach," *J. Mol. Model.*, vol. 29, no. 12, p. 386, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-023-05727-w>.
- [21] A. Frisch, "gaussian 09W Reference," Wallingford, USA, 25p, vol. 470, 2009.
- [22] M. Caricato, M. J. Frisch, A. Frisch, J. Hiscoks, and M. J. Frisch, Gaussian 09 IOps reference manual. 2013. [Online]. Available: http://www.gaussian.com/g_tech/g_iops/iops2.pdf
- [23] M. García-Valverde, N. A. Cordero, and E. S. de la Cal, "GAUSSVIEW® as a tool for learning organic chemistry," in *EDULEARN15 Proceedings*, IATED, 2015, pp. 4366–4370.
- [24] A. N. D. L. Duality and I. Im, "GAUSSIAN SUM RULES IN QUANTUM CHEMODYNAMICS I?," vol. 250, pp. 61–108, 1985.
- [25] S. Resan, R. Hameed, A. Al-Hilo, and M. Al-Anber, "The impact of torsional angles to tune the nonlinear optical response of

- chalcone molecule: Quantum computational study,” *Rev. Cuba. Fis.*, vol. 37, no. 2, pp. 95–100, 2020.
- [26] M. J. Al-anber, “Theoretical Semi-empirical Study of the Glycine Molecule Interaction with Fullerene C_{60} ,” *Orbital Electron. J. Chem. North Americ*, 2014, [Online]. Available: <http://www.orbital.ufms.br/index.php/Chemistry/article/view/491>
- [27] H. Xiong, B. Liu, H. Zhang, and J. Qin, “Theoretical insight into two-dimensional M-Pc monolayer as an excellent material for formaldehyde and phosgene sensing,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 543, p. 148805, 2021. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.148805>.
- [28] R. Xue, C. Wang, Y. Wang, Q. Guo, E. Dai, and Z. Nie, “Metal Embedded Phthalocyanine Monolayers as Promising Materials for Toxic Formaldehyde Gas Detection: Insights from DFT Calculations,” *Metals (Basel)*, vol. 12, no. 9, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/met12091442>.
- [29] Y. Yong, H. Cui, Q. Zhou, X. Su, Y. Kuang, and X. Li, “ C_{2}N monolayer as NH_3 and NO sensors: A DFT study,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 487, pp. 488–495, 2019. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.05.040>.
- [30] B. Gergen, H. Nienhaus, W. H. Weinberg, and E. W. McFarland, “Chemically induced electronic excitations at metal surfaces,” *Science*, vol. 294, no. 5551, pp. 2521–2523, 2001.
- [31] G. Hoffmann, H. Chermette, and C. Morell, “Revisiting nucleophilicity: an index for chemical reactivity from a CDFT approach,” *J. Mol. Model.*, vol. 30, no. 7, pp. 0–23, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-024-06020-0>.
- [32] I. Torres, S. Mehdi Aghaei, A. Rabiei Baboukani, C. Wang, and S. Bhansali, “Individual Gas Molecules Detection Using Zinc Oxide–Graphene Hybrid Nanosensor: A DFT Study,” *C*, vol. 4, no. 3, p. 44, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/c4030044>.
- [33] Y. Q. Su et al., “Stability of heterogeneous single-atom catalysts: a scaling law mapping thermodynamics to kinetics,” *npj Comput. Mater.*, vol. 6, no. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41524-020-00411-6>.
- [34] B. J. Cid et al., “Metal-decorated siligene as work function type sensor for NH_3 detection: A DFT approach,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 610, no. October 2022, pp. 1–8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.155541>.
- [35] A. Manuscript et al., “Manuscript version : Accepted Manuscript van der Waals forces in density functional theory: The vdW-DF method”.
- [36] T. Lenhart, K. Eckhardt, N. Fohrer, and H.-G. Frede, “Comparison of two different approaches of sensitivity analysis,” *Phys. Chem. Earth, Parts A/B/C*, vol. 27, no. 9–10, pp. 645–654, 2002.
- [37] T. Most and J. Will, “Sensitivity analysis using the Metamodel of Optimal Prognosis,” *arXiv Prepr. arXiv2408.03590*, 2024.
- [38] J. Wang, “Electrochemical glucose biosensors,” *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 2, pp. 814–825, 2008.
- [39] M. Shokrehodaie and S. Quinones, “Review of non-invasive glucose sensing techniques: optical, electrical and breath acetone,” *Sensors*, vol. 20, no. 5, p. 1251, 2020.
- [40] H. Li et al., “Chemical and biomolecule sensing with organic field-effect transistors,” *Chem. Rev.*, vol. 119, no. 1, pp. 3–35, 2018.
- [41] A. Panahi et al., “DNA adsorption monitoring with interdigital open-gate junction field effect transistor for DNA storage applications: MD modeling, design, and experimental results,” *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 381, p. 116076, 2025.
- [42] M. M. R. Nayini, H. Sayadian, N. Razavipour, and M. Rezazade, “Chemical-sensing of Amphetamine drug by inorganic AlN nano-cage: A DFT/TDDFT study,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 121, no. July, p. 108237, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108237>.
- [43] P. A. Monson, “Understanding adsorption/desorption hysteresis for fluids in mesoporous materials using simple molecular models and classical density functional theory,” *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 160, pp. 47–66, 2012.
- [44] A. Sharma, M. S. Khan, and M. Husain, “Adsorption of phosgene on Si-embedded MoS_2 sheet and electric field-assisted desorption: insights from DFT calculations,” *J. Mater. Sci.*, vol. 54, pp. 11497–11508, 2019.
- [45] K. Patel, B. Roondhe, S. D. Dabhi, and P. K. Jha, “A new flatland buddy as toxic gas scavenger: A first principles study,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 351, pp. 337–345, 2018. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.006>.

Citación del artículo:

R. Hameed and M. Al-Anber, “ α -D-Glucose Adsorption on $\text{Al}_{24}\text{N}_{24}$ and Transition Metal-Doped $\text{Al}_{23}\text{N}_{24}$ Nanoclusters: New Insights for Biodetection”, *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, no. 2, pp. 19–28, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.118870>



Estudio computacional de las transiciones morfológicas en la agregación del biosurfactante ácido láurico en agua

Resumen

En este estudio se evaluaron las transiciones morfológicas en la agregación del ácido láurico en agua mediante simulaciones de dinámica molecular (DM) y utilizando el campo de fuerza GROMOS53A6 y el modelo de carga puntual simple (SPC). Para ello, se evaluaron sistemas con concentraciones variables de ácido láurico (de 1 a 80 moléculas) para analizar la formación, la estabilidad y los cambios estructurales de los agregados micelares. Los resultados mostraron que la morfología de los agregados depende de la concentración: a bajas concentraciones se formaron micelas esféricas, mientras que a mayores concentraciones se observaron estructuras elipsoidales. El radio de giro (R_g) y la excentricidad (e) confirmaron estas transiciones y se identificaron tres zonas de agregación. Además, se analizaron las interacciones tipo enlaces de hidrógeno, cruciales para la estabilidad micelar, mediante funciones de distribución acumulada (CDF). Este trabajo proporciona una visión a nivel molecular sobre el autoensamblaje de ácidos grasos, relevante para aplicaciones en nanotecnología y biomedicina.

Palabras clave: ácido láurico; dinámica molecular; transiciones morfológicas; sistemas micelares; biosurfactantes.

Computational Study of Morphological Transitions in the Aggregation of the Lauric Acid Biosurfactant in Water

Abstract

In this study, morphological transitions in the aggregation of lauric acid in water were evaluated by molecular dynamics (MD) simulations using the GROMOS53A6 force field and Simple Point Charge (SPC) model. For this purpose, systems with varying concentrations of lauric acid (for 1 to 80 molecules) were evaluated to analyze the formation, stability, and structural changes of micellar aggregates. The results showed that the morphology of the aggregates was concentration-dependent: at low concentrations spherical micelles were formed, while at higher concentrations ellipsoidal structures were observed. The radius of gyration (R_g) and eccentricity (e) confirmed these transitions, and three aggregation zones were identified. In addition, hydrogen bond type interactions, crucial for micellar stability, were analyzed using cumulative distribution functions (CDF). This work provides molecular-level insight into the self-assembly of fatty acids, relevant to applications in nanotechnology and biomedicine.

Keywords: Lauric acid; molecular dynamics; morphological transitions; micellar systems; biosurfactants.

Estudo computacional das transições morfológicas na agregação do biossurfactante ácido láurico em água

Resumo

Neste estudo, as transições morfológicas na agregação de ácido láurico em água foram avaliadas usando simulações de dinâmica molecular (MD) usando os campos de força GROMOS53A6 e o modelo de carga pontual simples (SPC). Para este fim, sistemas com concentrações variadas de ácido láurico (de 1 a 80 moléculas) foram testados para analisar a formação, estabilidade e mudanças estruturais de agregados micelares. Os resultados mostraram que a morfologia dos agregados é dependente da concentração: em baixas concentrações, micelas esféricas foram formadas, enquanto em concentrações mais altas, estruturas elipsoidais foram observadas. O raio de giração (R_g) e a excentricidade (e) confirmaram essas transições, e três zonas de agregação foram identificadas. Além disso, as interações de ligação de hidrogênio, cruciais para a estabilidade micelar, foram analisadas usando funções de distribuição cumulativas (CDF). Este trabalho fornece insights em nível molecular sobre a automontagem de ácidos graxos, relevantes para aplicações em nanotecnologia e biomedicina.

Palavras-chave: ácido láurico; dinâmica molecular; transições morfológicas; sistemas micelares; biossurfactantes.



Introducción

Las micelas son partículas coloidales autoensambladas de tamaño nanométrico, caracterizadas por un empaquetamiento geométrico definido y una estructura supramolecular flexible. Estas estructuras presentan un núcleo hidrófobo y una parte hidrófila en contacto con el agua, la cual está formada por la agregación de moléculas anfifílicas o tensioactivos en medio acuoso [1]. Las micelas tienen una estructura de relativa flexibilidad respecto a los enlaces entre las moléculas o en la estructura cristalina [2], esto les permite modular algunas de sus propiedades cuando son expuestas a diferentes procesos mecánicos. Algunos ejemplos de este fenómeno, comúnmente relacionados con los sistemas micelares, incluyen: coloides, polímeros, cristales líquidos, geles, emulsiones, espumas, materiales granulares y biomateriales [3]. Además, debido a su diversidad estructural y funcional, las micelas están presentes en numerosos productos con diferentes aplicaciones industriales [4, 5].

La capacidad de respuesta macroscópica de los sistemas micelares se basa en la capacidad de reaccionar a escalas microscópicas o mesoscópicas. En particular, los tensioactivos sensibles a estímulos, como los ácidos grasos, pueden cambiar su estructura como respuesta a variaciones en el pH, la temperatura, la luz o la presencia de un campo magnético. Este comportamiento ha despertado gran interés debido a sus versátiles aplicaciones en diversos campos, como la industria de alimentos, la farmacéutica, la biomedicina y la nanotecnología [6]. Un cambio en la estructura molecular del tensioactivo puede afectar la organización de los agregados en agua y su actividad interfacial, lo que a su vez puede modular las propiedades a escala macroscópica, como la viscosidad, la capacidad para formar emulsiones y la estabilidad del sistema [7].

Los ácidos grasos de origen oleoquímico son tensioactivos versátiles derivados de fuentes renovables, lo que les confiere ventajas significativas, como su alta disponibilidad en la naturaleza y su biocompatibilidad [8]. Debido a estas propiedades, tienen una amplia variedad de aplicaciones: se utilizan en la elaboración de productos de limpieza, en procesos de recuperación de materiales, en biorremediación, e incluso para la encapsulación y administración de fármacos. Desde un punto de vista molecular, los ácidos grasos están compuestos por una cadena alifática hidrófoba y un grupo de cabeza polar. En función de las condiciones del medio, la cola alquílica puede estar en estado cristalino o líquido y el grupo de cabeza puede estar en su forma ácida ($-\text{COOH}$) o básica ($-\text{COO}^-$), dependiendo del pH. Estas características hacen que los ácidos grasos sean tensioactivos sensibles a cambios en el pH.

Recientemente, algunos estudios se han centrado en el uso de las transformaciones estructurales de los autoensambles a base de ácidos grasos que se producen a escala mesoscópica para controlar con precisión las propiedades físicas a escala macroscópica. Se han encontrado propiedades macroscópicas versátiles, como espumas, y la generación de interfaces con respuesta térmica [9–11], propiedades que no suelen observarse en tensioactivos sintéticos convencionales de bajo peso molecular.

Debido a su baja polaridad, los ácidos grasos tienen valores de concentración micelar crítica (CMC) en agua muy bajos. Valores de 1100 y 300 μM fueron determinados experimentalmente por fluorescencia para los ácidos esteárico y oleico, respectivamente, con un $\text{pH} = 7,2$ [12]. Estos valores de CMC coinciden con la baja solubilidad en agua de los ácidos. Por su parte, valores de solubilidad de 0,0550 y 0,0029 g L^{-1} para el ácido láurico y el ácido esteárico, respectivamente, han sido reportados en agua destilada a 20 °C [13].

En la actualidad, el uso de herramientas y técnicas computacionales para simular y comprender a una escala atómica el com-

portamiento y las interacciones presentes en los sistemas micelares es cada vez más frecuente. Entre las técnicas más empleadas para estudiar y caracterizar sistemas micelares se encuentra la dinámica molecular (DM) [14–16]. Esta técnica permite analizar, a nivel molecular, los comportamientos de fase de los sistemas en función a la naturaleza de las moléculas surfactantes presentes.

Diferentes estudios han evaluado la agregación y el comportamiento en solución de diferentes ácidos grasos mediante simulaciones. Por ejemplo, Hossain *et al.* [17] estudiaron el comportamiento de agregación de ácidos grasos de cadenas de longitud media (C8, C10 y C12) en agua mediante dinámica molecular de grano grueso (CG-MD). En ese trabajo, los valores teóricos de CMC fueron inferiores a los resultados experimentales. También, Morrow *et al.* [18] realizaron simulaciones de dinámica molecular controlando el pH (método CpHMD) para evaluar el comportamiento de fase y el autoensamblaje de moléculas de ácido láurico en agua. En su trabajo, los campos de fuerza CHARMM27 y TIP3P fueron usados en la descripción molecular el sistema. Ellos encontraron la formación de bicapas con $\text{pH} < 7$ y la formación de micelas esféricas con $\text{pH} > 7$ para el ácido láurico.

Del mismo modo, Joel *et al.* [19] evaluaron la agregación micelar del ácido oleico en agua con DM. En ese trabajo, la agregación de monómeros a micelas, bicapas y vesículas fueron observadas como consecuencia del grado de deprotonación del ácido oleico utilizando el campo de fuerza MARTINI. Adicionalmente, Abel *et al.* [20] estudiaron micelas de ácido linoleico mediante autoagregación espontánea y en equilibrio. Ellos observaron una autoagregación muy rápida en agua y la formación de micelas elipsoidales en ambos sistemas.

En otro estudio, micelas de ácidos grasos (ácido láurico, ácido esteárico, ácido oleico y ácido linoleico) fueron usadas para el encapsulamiento de compuestos biliares mediante dinámica molecular [21]. Este estudio sugiere que el aumento en la longitud de la cadena del ácido graso y el grado de insaturación conducen a micelas con fracciones más bajas de sales biliares con densidades de empaquetamiento más bajas, menor orden de las colas lipídicas y, por lo tanto, estructuras internas más fluidas. También el efecto del ácido láurico sobre la estabilidad de oligómeros con ciertos poros fue evaluado mediante simulaciones moleculares con campos de fuerzas *all-atom* [22]. En el estudio el ácido láurico estabiliza las fibrillas $\alpha\beta 42$ con morfologías en forma de barril y anillos.

En resumen, en estos trabajos, un número definido de moléculas de ácidos grasos en agua fueron usados en las simulaciones para explorar la formación de los agregados moleculares. Sin embargo, la agregación en agua de estos compuestos, utilizando otros campos de fuerza y considerando la influencia de las interacciones tipo enlaces de hidrógenos y el efecto del número de moléculas en los cambios morfológicos de los agregados en agua, mediante simulaciones moleculares, no ha sido explorada ampliamente. De acuerdo con la bibliografía especializada consultada, los estudios que muestran los números de agregación y los cambios de morfología de los agregados de ácidos grasos de cadenas medias y largas en medios acuosos mediante simulación molecular son escasos.

Por tal motivo, en este trabajo se realizó un estudio sistemático de sistemas micelares formados por moléculas de ácido láurico en medio acuoso mediante simulaciones de DM. Para ello, se utilizó el campo de fuerza GROMOS53A6 para describir las moléculas de ácido graso y el modelo de carga puntual simple (SPC) para representar las moléculas de agua. Este enfoque permite evaluar las propiedades dinámicas, morfológicas y estructurales en los agregados formados, lo cual permite una comprensión detallada del mecanismo de autoensamblaje de estos sistemas modelo de surfactantes no iónicos de baja polaridad.

Materiales y métodos

Construcción de los sistemas usados

Se prepararon sistemas con 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 y 80 moléculas de ácido láurico dentro de una caja de simulación con agua. La estructura molecular del ácido láurico y una representación del sistema inicial son mostradas en la **figura 1**.

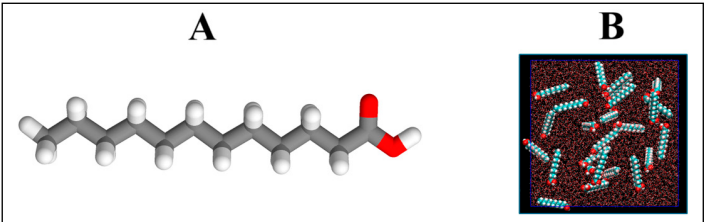


Figura 1. A: estructura molecular del ácido láurico. B: representación de la configuración inicial del sistema agua/ácido láurico con 25 moléculas.

Las dimensiones de las celdas de simulación fueron de 70 × 70 × 70 Å³, respectivamente. Se emplearon condiciones de contorno periódicas en las tres direcciones espaciales (xyz). Las moléculas se construyeron usando el programa Avogadro 1.2.0 [23] y la configuración final obtenida se cargó al servidor web Automated Topology Builder (ATB) [24] con el fin de obtener los parámetros enlazantes de la molécula para ser usada en el software GROMACS-2019.1 [25], el cual permite la construcción de topologías de diferentes moléculas y diferentes sistemas de energía potencial. La geometría optimizada generada por la página ATB se utilizó posteriormente para generar las coordenadas iniciales que se usaron en la construcción de los sistemas micelares propuestos. En la **tabla 1** se muestra la lista de especies moleculares que se utilizaron en el modelado de los sistemas micelares que fueron simulados en este estudio.

Tabla 1. Listado de moléculas utilizadas para la construcción y modelado de los sistemas micelares.

Grupo de moléculas	Nombre de la molécula	Modelo empleado
Solvente	Agua	SPC
Ácido graso libre	Ácido láurico	GROMOS53A6

SPC: modelo de carga puntual simple.
GROMOS53A6: Groningen Molecular Simulation software, versión 53A6.

Seguidamente, después de construir una caja de simulación con 11.433 moléculas de agua, las moléculas de ácido láurico fueron insertadas en ella. Los sistemas ácido láurico/agua con su composición se muestran en la **tabla 2**. En estos sistemas, la concentración

de ácido láurico se incrementa como función del número de moléculas de este ácido graso y como función de la reducción del número de moléculas de agua. Las concentraciones de estos sistemas tienen valores entre 0,005 y 0,431 mol/kg. Para el desarrollo de los análisis de resultados fue utilizado el número total de moléculas de ácido láurico en los sistemas.

Campos de fuerza (force fields)

En este trabajo, los sistemas fueron descritos utilizando la combinación de los campos de fuerza GROMOS53A6 y SPC [26, 27]. Los parámetros del campo de fuerza GROMOS53A6 fueron empleados para describir el ácido láurico y los parámetros del modelo SPC fueron usado para describir a las moléculas de agua. Los parámetros de interacción no-enlazantes tipo Lennard-Jones fueron obtenidos a partir del repositorio del software GROMACS-2019.1 [25]. En previos trabajos, este campo de fuerza ha sido empleado para la estimación de propiedades estructurales y macroscópicas de forma aceptable [28, 29].

Tabla 3. Carga total de los grupos moleculares presentes en el ácido láurico mediante cálculos mecánico-cuánticos.

Grupo molecular	Carga total
-CH ₃ (1)	-0,095e
-CH ₂ (2)	+0,117e
-CH ₂ (3)	+0,002e
-CH ₂ (4)	-0,040e
-CH ₂ (5)	+0,017e
-CH ₂ (6)	-0,001e
-CH ₂ (7)	-0,001e
-CH ₂ (8)	-0,018e
-CH ₂ (9)	+0,009e
-CH ₂ (10)	+0,108e
-CH ₂ (11)	-0,064e
-C(12)	+0,645e
=O(1)	-0,562e
-O(2)	-0,576e
-H(1)	+0,441e

Los grupos de carga se ajustaron teniendo en cuenta los grupos funcionales presentes en la estructura molecular de los componentes para cada sistema modelado (ver **tabla 3**). Para esto, las cargas atómicas de los átomos en el ácido láurico fueron determinadas me-

Tabla 2. Número de moléculas presentes en las configuraciones iniciales para el ensamble NPT (con número de moléculas, presión y temperatura constantes) de los sistemas ácido láurico/agua.

Sistema	N.º de moléculas de ácido láurico insertadas	N.º de moléculas de agua		Concentración (mol/kg)
		Iniciales	Posterior a la inserción de ácido láurico	
Ácido láurico/Agua	1	11.433	11.419	0,005
	5		11.367	0,024
	10		11.291	0,049
	15		11.223	0,074
	20		11.146	0,100
	25		11.092	0,125
	30		11.016	0,151
	40		10.864	0,205
	50		10.749	0,258
	60		10.557	0,316
	80		10.320	0,431

diante cálculos mecánico-cuánticos con el software GAMESS-US [30] usando el funcional B3LYP/3-61G(d,p) en combinación con el método de cargas atómicas determinadas a partir de potenciales electrostáticos mediante una red de puntos (CHELPG), propuesto por Breneman y Wiberg [31], el cual permite obtener cargas centradas en los átomos ajustadas al mejor potencial electrostático molecular.

En diferentes trabajos se ha indicado que estas cargas atómicas son las más adecuadas para la descripción de las interacciones electrostáticas [28, 29]. Las coordenadas de la configuración final del ácido láurico obtenidas con el servidor ATB [24] fueron utilizadas para la optimización geométrica en el software GAMESS-US [30].

Condiciones de las simulaciones

Todas las simulaciones de DM de los sistemas micelares fueron realizadas con el software GROMACS-2019.1 [25]. Para ello, se empleó el ensamblaje NPT (con número de moléculas, presión y temperatura constantes) en los sistemas. El campo de fuerza GROMOS53A6 [26] se utilizó para describir las moléculas de ácido láurico y el modelo SPC [27] para las moléculas de agua. Todos los sistemas inicialmente se minimizaron con el algoritmo de descenso pronunciado (*steepest descent*) con una tolerancia de $1000 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ para reducir la tensión entre moléculas. Posteriormente, las configuraciones finales obtenidas se utilizaron para realizar las simulaciones.

Inicialmente, las simulaciones fueron llevadas a cabo a 300 K con un ensamblaje NVT (con número de moléculas, volumen y temperatura constantes) para equilibrar los sistemas. El tiempo de equilibrio de estos sistemas se estableció en 5 ns. A continuación, se realizaron simulaciones DM de producción a 300 K en el ensamblaje NPT para los sistemas con el fin de explorar la agregación molecular del surfactante ácido láurico en función del número de moléculas en solución acuosa.

Aquí, las simulaciones DM se realizan por 50 ns con un paso de tiempo de 1 fs. La componente de presión en todos los ejes fue mantenida en $P = 1 \text{ bar}$ usando el método de Berendsen [32] con un coeficiente de compresibilidad de $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ y una constante de tiempo de 2,0 ps. La temperatura se controló con el método escalado de velocidad [33] utilizando un tiempo de acoplamiento de 0,1 ps. Las interacciones de Van der Waal (VdW) se calcularon utilizando una distancia de corte de 1,4 nm y las trayectorias se al-

macenaron cada 5,0 ps durante el proceso de simulación. Para la integración de las ecuaciones de movimiento de Newton se utilizó el algoritmo de Verlet [34], con un paso de tiempo de 1 fs. En todos los sistemas se aplicaron condiciones de contorno periódicas en las direcciones xyz.

El algoritmo Linear Constraint Solver (LINCS) [35] se utilizó para restringir las longitudes de enlace y para determinar las interacciones electrostáticas de largo alcance se utilizó el método Particle Mesh Ewald (PME) [36]. Por último, para el análisis de las propiedades estructurales de los sistemas, se recopilaron trayectorias cada 5,0 ps. Las propiedades estructurales y los parámetros morfológicos se estimaron a partir de los últimos 20 ns de las simulaciones DM en el ensamblaje NPT.

Resultados y discusión

Comportamiento de agregación micelar

Inicialmente, el proceso de agregación molecular fue evaluado a lo largo de las simulaciones moleculares. Tras una exploración visual, se determinó que la autoagregación molecular se produce por etapas en un intervalo de tiempo de 50 ns. En este caso, para mostrar la evolución de la autoagregación se utilizó como referencia un sistema con 30 moléculas de ácido láurico (ver **figura 2**). En el periodo inicial, entre 0 y 10 ns, los ácidos grasos libres dispersos aleatoriamente en el medio acuoso comienzan a formar estructuras agregadas ordenadas con características esféricas (micelas esféricas), así se define la evolución de la agregación por un proceso de nucleación molecular.

Luego, a partir de los 15 ns, los pequeños agregados comienzan a unirse formando un único agregado molecular. En el tiempo final de las simulaciones, entre 45 y 50 ns, se observa la compactación del agregado formando una micela completamente esférica. En los sistemas con 20, 25 y 30 moléculas de ácido láurico, después de los 15 ns, se observa que los agregados formados tienen formas esféricas (ver **figura 3A**).

En los sistemas con 40, 50, 60 y 80 moléculas de ácido láurico, la formación de agregados alargados o elipsoidales fueron observados a partir de los 35 ns de la simulación, con los grupos hidrofílicos interactuando con el agua y las cadenas lipofílicas en el interior de los agregados (ver **figura 3A**). Además, los agregados permanecie-

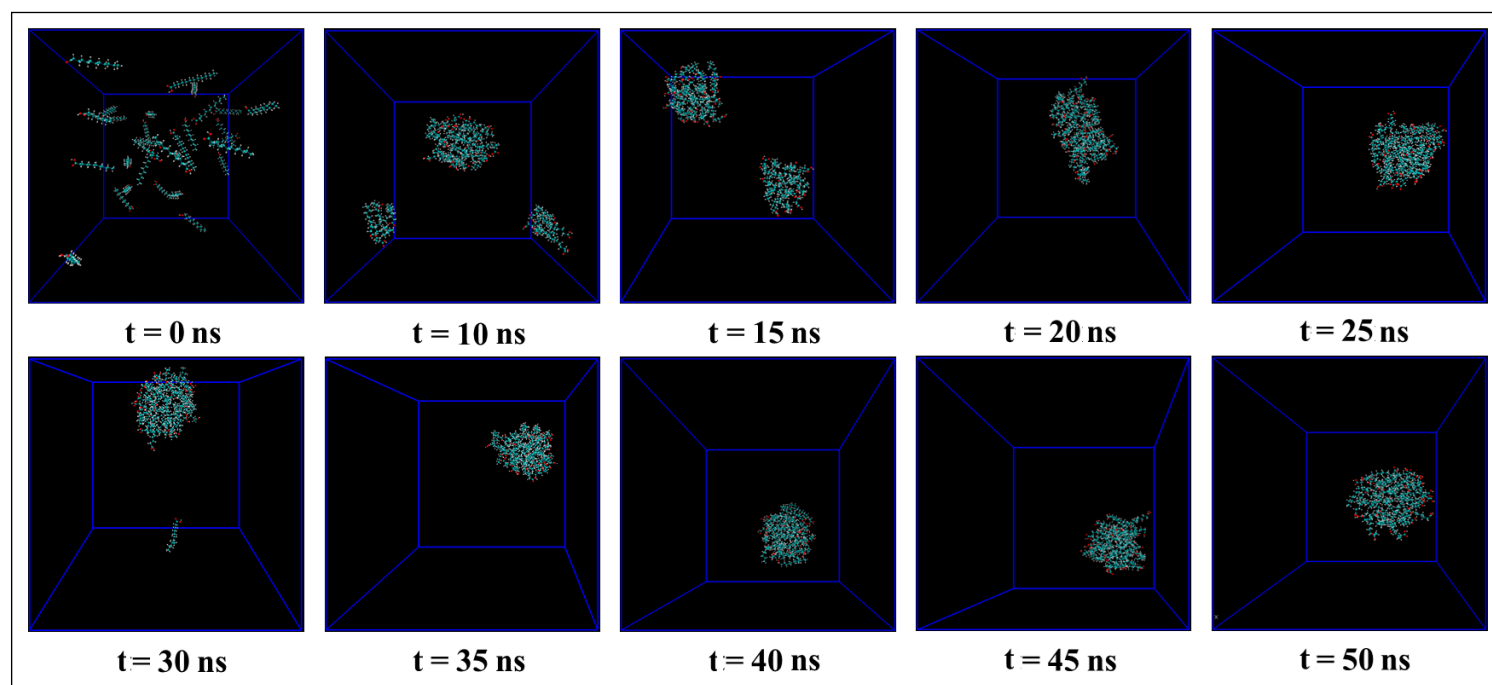


Figura 2. Evolución de la agregación molecular del ácido láurico en función del tiempo de simulación. Este sistema corresponde a 30 moléculas de ácido láurico en agua y simulado con el ensamblaje NPT (con número de moléculas, presión y temperatura constantes).

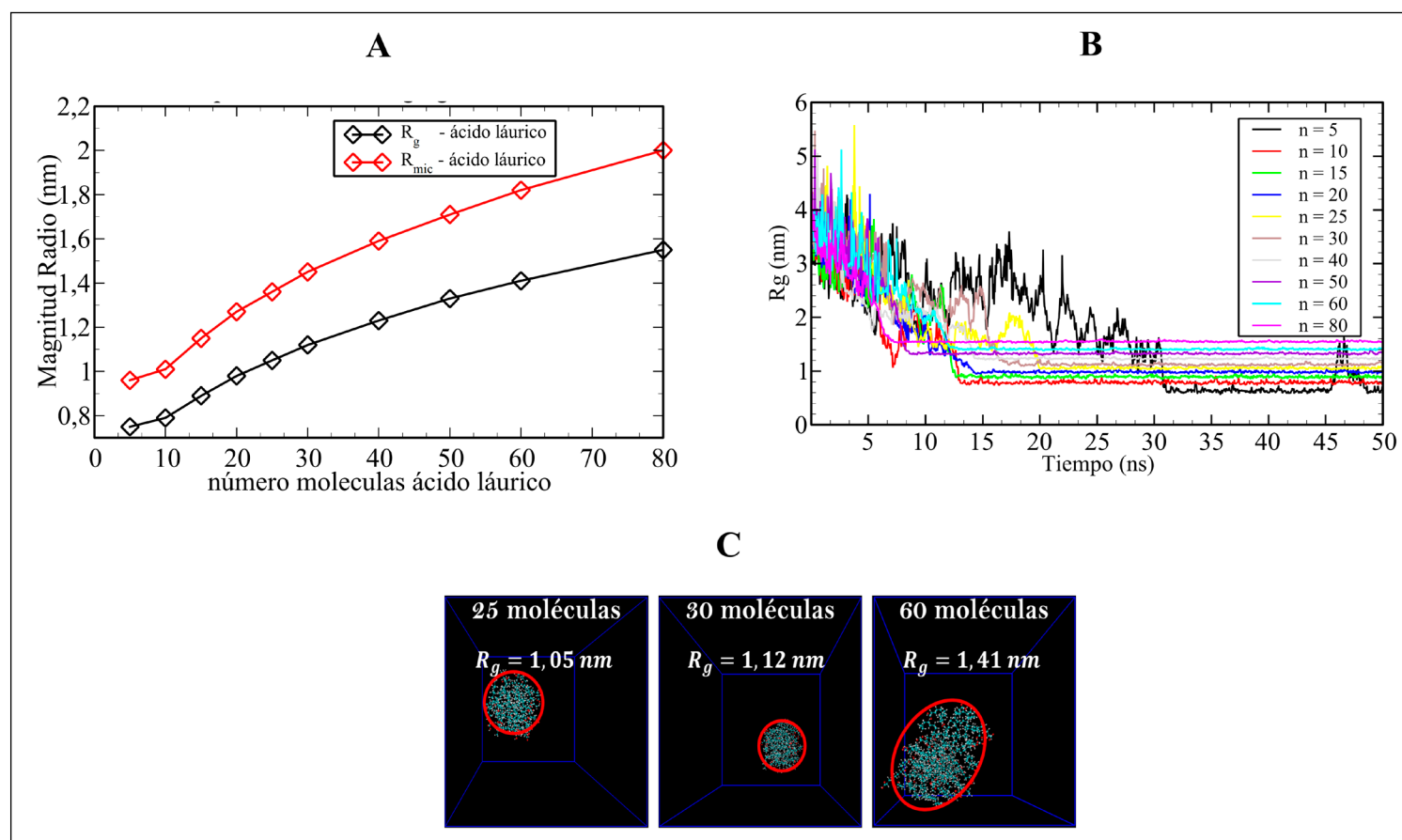


Figura 3. A: comportamiento del Radio de Giro (Rg) en función del número de moléculas de ácido láurico en los sistemas simulados. B: variación del radio de giro (Rg) en función del tiempo de simulación. C: forma de las micelas obtenidas para los sistemas con 25, 30 y 60 moléculas.

ron con una estructura uniforme y homogénea, sin evidencia de migración de moléculas individuales de ácido láurico al medio acuoso hasta el final de la simulación ($t = 50 \text{ ns}$).

Para caracterizar la estructura de los agregados, estimamos el radio de giro (R_g) de las simulaciones moleculares fue determinado utilizando la herramienta “gmx gyrate” del software GROMACS [25]. Además, el radio micelar (R_{mic}) de los agregados se calculó utilizando la Ec. (1), bajo la suposición de que los agregados tienen forma esférica [37].

$$R_{mic} = 5/3 \times 1/2 \times R_g \quad (1)$$

En este modelo, el radio efectivo de la micela depende del R_g medio de una esfera sólida con densidad uniforme. El estudio de la evolución del mecanismo de agregación es fundamental para explorar los cambios morfológicos de las micelas, la distribución del tamaño de los agregados y su interacción con otras especies en solución.

En la **figura 3B**, el R_g se muestra como una función del tiempo en la simulación de los sistemas; también se observa cómo el R_g presenta considerables fluctuaciones entre 0 y 20 ns para los sistemas con 5, 10 y 15 moléculas de ácido láurico en solución. Estas fluctuaciones son más amplias para el sistema con 5 moléculas de ácido láurico, lo cual sugiere una alta dispersión de estas moléculas en solución a lo largo de la simulación. Para los sistemas con mayor número de moléculas de ácido láurico en solución, las fluctuaciones a lo largo del tiempo desaparecen después de los 15 ns, lo cual sugiere que las moléculas se mantienen agregadas sin la presencia de moléculas libres en solución.

En la **figura 3C**, el R_g promedio y el R_{mic} se muestra como una función del número de moléculas de ácido láurico proporcionando una estimación del tamaño típico de la micela y su agregación. Los resultados indican que el R_g de las micelas de ácido láurico se encuentra dentro del rango esperado, en concordancia con los valores reportados en estudios teóricos previos [38, 39].

A nivel experimental se han reportado valores de radios de vesículas de ácido láurico de $63,12 \pm 20,07 \text{ nm}$, que indican que estas vesículas son más grandes comparados con las micelas [40]. Además, el R_g de los agregados aumenta en función del número de moléculas de ácido láurico en el medio acuoso (ver **figura 3C**). La forma micelar obtenida para los sistemas con 20, 25 y 30 moléculas fue esférica. En contraste, para los sistemas con 40, 50, 60 y 80 moléculas tienen forma elipsoidal (ver **figura 3C**).

Para corroborar los resultados obtenidos por inspección visual y los R_g , la excentricidad (e) fue calculada para los diferentes sistemas moleculares simulados. Para ello, se utilizó la Ec. (2) para estimar esta propiedad empleando los valores de momento de inercia mínimo y promedio del agregado molecular [37]. Estos valores son mostrados en la **tabla 4**.

$$e = 1 - \frac{I_{\text{mínimo}}}{I_{\text{promedio}}} \quad (2)$$

Donde $I_{\text{mínimo}}$ e I_{promedio} son los momentos de inercia mínimo en una dirección y promedio en todas las direcciones, respectivamente. Como se observa en la **tabla 4**, estos valores sugieren que los sistemas moleculares con 5, 10 y 15 moléculas de ácido láurico tienen micelas con formas esféricas (valores de e entre 0,99 y 0,90). En cambio, los sistemas con 20, 25, 30 y 40 moléculas de ácido láurico son menos esféricas, según sus valores de e . A su vez, los valores de e obtenidos para los sistemas con 50, 60 y 80 moléculas de ácido láurico sugieren que los agregados formados no presentan formas esféricas, esto confirma lo observado por inspección visual, debido a que los agregados moleculares muestran formas extendidas elipsoidales.

Los resultados indican que el mecanismo de agregación molecular muestra transiciones morfológicas o de fase, las cuales son dependientes del número total de moléculas de ácido láurico en solución. A bajas concentraciones, se observan micelas de naturaleza esférica.

Tabla 4. Valores de excentricidad (e) como función del número de moléculas de ácido láurico en los agregados micelares de los sistemas ácido láurico/agua.

Número de moléculas	Excentricidad (e)
5	0,99
10	0,97
15	0,95
20	0,94
25	0,90
30	0,87
40	0,89
50	0,73
60	0,66
80	0,67

En cambio, con el incremento de la concentración, el agregado muestra una tendencia a extenderse, adoptando una forma de varilla o bastón. Este tipo de comportamiento es observado en sistemas de surfactantes característicos por debajo y encima de su valor de CMC.

Para los sistemas simulados, esta transición morfológica se observa en el rango medio de concentración de ácidos grasos. Cuando el número de moléculas de surfactante (ácido láurico) aumenta, las micelas cambian su forma morfológica de esférica a elipsoidal para minimizar el contacto de las colas hidrofóbicas con el agua. En este sentido, es posible identificar el número de moléculas en el ácido láurico para que ocurra una transición morfológica en el agregado micelar. Para ello, se realizó una revisión detallada de la curva del Rg, ya que esta propiedad muestra puntos de inflexión en su comportamiento en función del número de moléculas de ácido láurico (ver figura 4).

Con base en esto, como se observa en la figura 4, se identifican tres zonas en la curva del Rg como función del número de moléculas de ácido láurico. En la zona I todas las micelas formadas tienen preferencialmente formas esféricas. Luego, la curva del Rg sugiere una transición morfológica de esférica a elipsoidal, a partir de 16 moléculas de ácido láurico en solución. En este caso, se observa una zona II, la cual está comprendida entre sistemas con 16 y 37 moléculas de ácido láurico. A su vez, se observa una transición morfológica de forma elipsoidal a elipsoidal alargado y extendido en solución a partir de 37 moléculas de ácido láurico en solución, lo que sugiere la existencia de una zona III en la curva. En esta zona III, los sistemas con un alto número de moléculas de ácido láurico (60 y 80 moléculas) en solución acuosa forman agregados con estructuras elipsoidales extendidas.

De igual manera, como se observa en la figura 4, una curva ajustada de color rojo fue obtenida. En este caso, la función que más se ajusta al comportamiento del Rg es de tipo potencial, como se observa en la Ec. (3).

$$y = 0,3765 \times x^{0,3229} \tag{3}$$

El valor de coeficiente de correlación es $R^2 = 0.9999$. Esta curva de correlación permite predecir el Rg para diferentes agregados comprendidos entre 5 y 80 moléculas de ácido láurico en solución. Los resultados obtenidos indican que la naturaleza del ácido graso y el método de dispersión empleado en los sistemas simulados influyen en el factor de empaquetamiento molecular, lo que conduce a diversas morfologías de autoensamblaje en un medio acuoso diluido (> 90% en peso de agua), incluyendo morfologías de autoensamblaje típicas (micelas esféricas y esfero-cilíndricas) y morfologías más complejas tales como membranas curvadas o bicapas [41, 42].

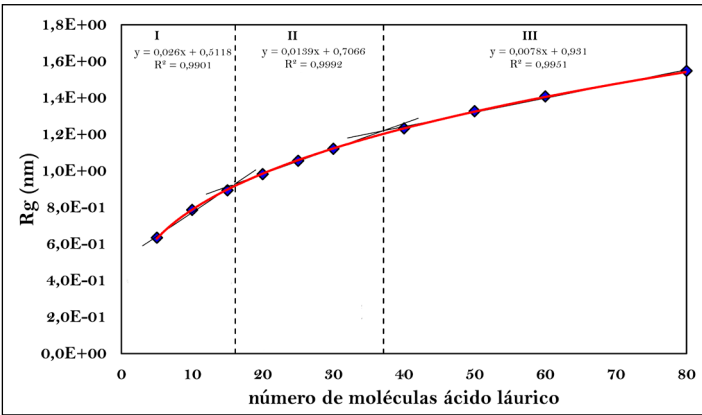


Figura 4. Radio de giro (Rg) en función del número de moléculas de ácido láurico presentes en los sistemas. Zona I: micelas esféricas, Zona II: micelas con formas elipsoidal y Zona III: micelas elipsoidales alargadas.

Finalmente, las características morfológicas de las micelas sugieren una transición estructural a lo largo del tiempo de simulación. Se observa una evolución significativa con respecto al número de moléculas de ácido láurico. A concentraciones más bajas, las micelas mantenían una morfología esférica. Sin embargo, al aumentar la concentración, las micelas evolucionan de una forma esférica a una forma elipsoidal y, posteriormente, adquieren una morfología de tipo esfero-cilíndrica. Esta transición estructural se atribuye a la geometría molecular del ácido láurico y al equilibrio entre interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas, lo que conlleva a un incremento en el empaquetamiento del ácido láurico a medida que aumenta la concentración de esta especie en el medio acuoso.

Enlaces de hidrógeno formados entre los sistemas micelares y el agua

Las interacciones entre el agua y el grupo hidrofílico del ácido láurico se manifiestan a través de los enlaces de hidrógeno formados entre el grupo ácido (-COOH) de las moléculas de ácido láurico y las moléculas de agua en la región interfacial micela-agua. En GRO-MACS, el número total de los enlaces de hidrógeno entre moléculas pueden ser estimados a una distancia máxima de 2,5 Å (enlaces de hidrógeno de corto alcance) y una distancia máxima de 3,5 Å (enlaces de hidrógeno de largo alcance).

A nivel experimental, en soluciones concentradas pueden existir interacciones de largo alcance entre las micelas, lo cual favorece la formación de agregados de mayor tamaño e incluso fases cristalinas líquidas. Estas interacciones pueden modificar significativamente las propiedades reológicas de una solución [11, 13].

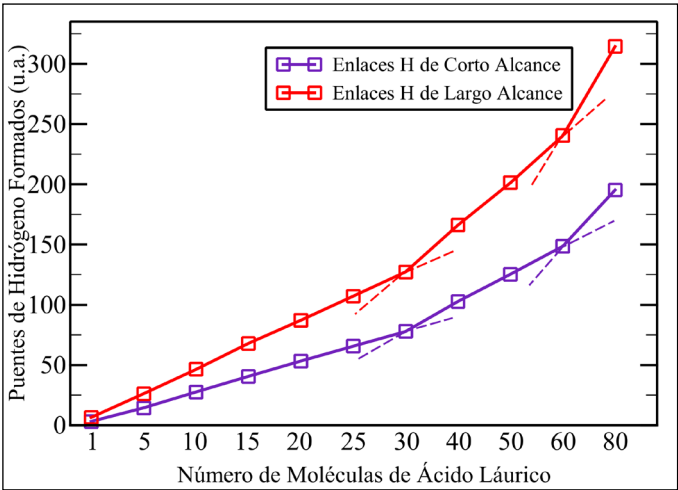


Figura 5. Número de enlaces de hidrógeno entre sistemas micelares con agua para las distancias de largo y corto alcance.

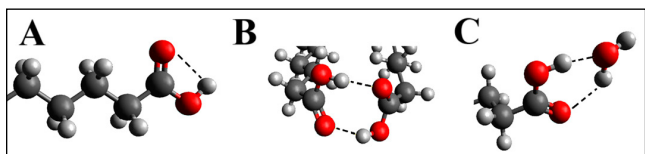


Figura 6. Representación de las diferentes interacciones tipo enlaces de hidrógeno (líneas punteadas). A: interacción intramolecular tipo enlace de hidrógeno en el ácido láurico. B: interacción intermolecular tipo enlace de hidrógeno entre moléculas de ácido láurico en la micela. C: interacción intermolecular tipo enlace de hidrógeno entre el ácido láurico y el agua.

En este trabajo, como se observa en la **figura 5**, los resultados revelan un aumento significativo en el número de interacciones de enlace de hidrógeno a medida que aumenta el número de moléculas de ácido láurico en las micelas. También se observa que las transiciones morfológicas de las micelas conducen al cambio de inflexión del número total de enlaces de hidrógeno entre la micela formada y las moléculas de agua presentes en la solución. En este caso, los cambios de inflexión son observados en los sistemas con 30 y 60 moléculas de ácido láurico.

Al analizar la configuración estructural de las micelas, se observó que el ácido láurico forma enlaces de hidrógeno intramoleculares en el grupo ácido (-COOH) y enlaces intermoleculares entre las propias moléculas de ácido láurico. A su vez, como se observa en la **figura 6**, se presentan enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el ácido láurico con las moléculas de agua. También se aprecia un aumento drástico de las interacciones de tipo enlace de hidrógeno en las zonas de transición morfológica de las micelas.

Según los resultados obtenidos, a medida que se incrementa el número de moléculas de ácido láurico, se observa una marcada tendencia en la formación de puentes de hidrógeno de largo alcance, en comparación con los de corto alcance (ver **figura 5**). Por lo general, en las estructuras micelares típicas, predominan los enlaces de hidrógeno de corto alcance, estos involucran los grupos de ácido carboxílico de las moléculas de surfactante y las moléculas de agua en la primera capa de solvatación.

Sin embargo, bajo determinadas condiciones, los enlaces de hidrógeno de largo alcance pueden volverse más prominentes. Este cambio puede deberse a variaciones en el arreglo conformacional y movilidad de las moléculas de ácido láurico con respecto al tamaño de los agregados formados o fluctuaciones de la geometría en la zona interfacial. Ahora bien, cuando los enlaces de hidrógeno de largo alcance superan en magnitud a los enlaces de hidrógeno de corto alcance dentro de las micelas de ácido láurico, puede producirse una reorganización, como en efecto ocurre, de la estructura micelar.

Este fenómeno puede atribuirse al comportamiento dinámico de la capa de solvatación, ya que los enlaces de hidrógeno de largo alcance a menudo implican moléculas de agua en la segunda capa de solvatación que rodea la micela. En este sentido, el aumento de estas interacciones produce una mayor estructuración de agua alrededor de la micela, esto da lugar a una red de enlaces de hidrógeno más extendida y estabilizada.

Comportamiento de los enlaces de hidrógeno usando la función de distribución acumulada (CDF)

Para explorar los detalles estructurales y dinámicos de los enlaces de hidrógeno en los sistemas micelares de ácido láurico, la función de distribución radial (RDF) [43], la función de distribución angular (ADF) y la función de distribución acumulada (CDF) [44] fueron usadas para obtener información cuantitativa sobre la distribución espacial y angular de las interacciones intermoleculares.

La RDF describe cómo varía la densidad de las partículas en función de la distancia a una partícula de referencia. En el contexto de los enlaces de hidrógeno, la RDF permite identificar las distancias preferidas entre donantes y aceptores, donde la aparición de picos

señala las regiones con alta probabilidad de formación de enlaces de hidrógeno. La ADF proporciona información sobre la orientación angular de tres átomos involucrados en el enlace de hidrógeno. En este caso, se evaluó la interacción molecular del agua con el grupo carboxílico del ácido láurico en los sistemas con 25, 30 y 60 moléculas de esta especie en agua, con el fin de explorar los diferentes tipos de enlaces de hidrógeno formados (ver **figura 7**).

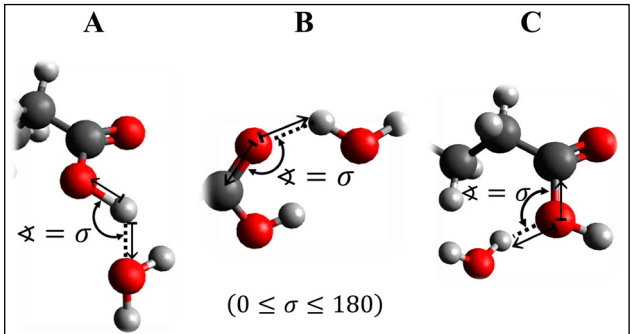


Figura 7. Componentes angulares y espaciales de los vectores de referencia que definen los enlaces de hidrógeno en los sistemas simulados. A: agua como grupo aceptor. B: agua como grupo donador del hidrógeno 1. C: agua como grupo donador del hidrógeno 2.

La CDF integra la información de la RDF y la ADF para proporcionar una visión completa del comportamiento de los enlaces de hidrógeno, tanto a corto como a largo alcance. En este trabajo se logró estimar la probabilidad acumulativa de encontrar interacciones de enlace de hidrógeno dentro de ciertas distancias o ángulos específicos. La CDF representa la probabilidad de encontrar un átomo a una distancia r y ángulo σ de otro átomo de referencia, normalizados por la densidad promedio. Las morfologías de los sistemas evaluados son diferentes, como se observa en la **figura 8A**: forma esférica para 25 moléculas, forma esférica para 30 moléculas y forma elipsoidal para 60 moléculas.

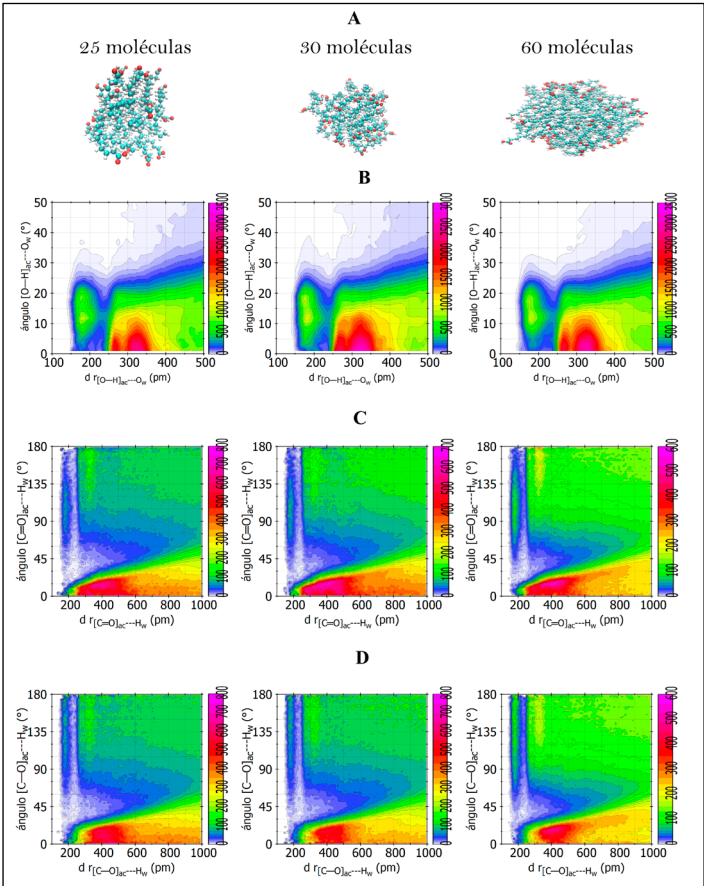


Figura 8. Evolución de la intensidad de las interacciones tipo puente de hidrogeno obtenidas con la CDF. A: transiciones geométricas de las micelas de ácido láurico obtenidas para los sistemas de 25, 30 y 60 moléculas. B: puente de hidrógeno 1/agua como grupo aceptor. C: puente de hidrógeno 2/agua como grupo donador 1. D: puente hidrógeno 3/agua como grupo donador 2.

En las **figuras 8B, 8C y 8D** se muestran los CDF para los tres tipos de interacciones representadas en la **figura 6**. Las regiones normalizadas naranja-fucsia indican una mayor probabilidad de encontrar interacciones entre los átomos de referencia para las distancias y ángulos definidos, lo que sugiere una fuerte interacción por puentes de hidrógeno. Las regiones normalizadas azul-amarillo indican una menor probabilidad de interacción molecular.

En la **figura 8B** se muestra la interacción entre el átomo de oxígeno del agua y el átomo de hidrógeno del grupo $-OH$ del ácido láurico. La distancia óptima para la formación de puentes de hidrógeno es entre 1,50 y 2,50 Å [45]. Sin embargo, este criterio general no descarta la formación de estas interacciones a otras distancias preferenciales en función de la morfología del sistema. Para el agregado de 25 moléculas, la interacción del átomo de hidrógeno con los átomos de oxígeno del agua se encuentra a una distancia entre 1,50 y 2,25 Å para la primera capa de solvatación (zona en color verde-amarillo en la **figura 8B**) y a una distancia entre 2,50 y 3,50 Å para la segunda capa de solvatación (zona en color fucsia y rojo en la **figura 8B**).

Sin embargo, a medida que aumenta el número de agregación se puede observar que la distancia del enlace de hidrógeno aumenta ligeramente. En este caso, los agregados con 30 y 60 moléculas muestran una distancia de interacción entre 1,50 y 2,40 Å para la primera capa de solvatación con un ángulo asociado a la formación del enlace comprendido entre 0 y 25° (ver regiones en color verde y amarillo en **figura 8B**). A su vez, para la segunda capa de solvatación, la distancia del enlace de hidrógeno está comprendido entre 2,50 y 4,00 Å (ver zonas en color fucsia y rojo en **figura 8B**).

Con la agregación del ácido láurico se incrementan los puentes de hidrógeno entre los grupos hidrofílicos del ácido graso, lo cual causa cambios en el proceso de solvatación de la micela. Este comportamiento produce la reorganización de las moléculas de agua alrededor del grupo carboxílico presente en las moléculas de ácido láurico en el sistema, lo que afecta la formación de puentes de hidrógeno entre los átomos de hidrógeno de los grupos $-OH$ del ácido láurico y los átomos de oxígeno de la capa de agua en la primera y segunda capa de solvatación.

En las **figuras 8C y 8D** se muestran las gráficas CDF de la interacción entre los átomos de hidrógeno del agua y el oxígeno del grupo $C=O$ del ácido láurico. En este caso, el comportamiento es similar para los dos átomos de hidrógeno del agua, lo cual indica que son equivalentes. Las distancias entre enlaces hidrógeno tienen entre 2,00 y 6,50 Å, lo cual indica la formación de tres capas de solvatación alrededor del grupo polar del ácido láurico.

La primera capa asociada a la solvatación del grupo $-COOH$ con agua tiene una distancia entre 1,85 y 2,50 Å, la segunda capa entre 2,50 y 4,00 Å, y la tercera capa entre 4,00 Å y 6,50 Å, esta última involucra la interacción molecular entre las moléculas de agua localizadas en la segunda y la tercera capa de solvatación [46]. A su vez, los ángulos formados para las interacciones asociadas a los enlaces de hidrógeno están comprendidos entre 0 y 30°. Esto resalta la disposición angular para la formación de los puentes de hidrógeno, la cual se ajusta a la geometría típica de estos tipos de enlaces.

Cuando el número de moléculas de ácido láurico en el sistema aumenta, se observa que los enlaces de hidrógeno se mantienen en distancias similares (aproximadamente 2,00 Å). Sin embargo, la intensidad en estas zonas tiende a disminuir. Esto indica que a medida que se forman los agregados, los grupos carbonilo del ácido láurico se ven menos expuestos al agua debido a los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre los grupos $-COOH$ del ácido láurico, lo que reduce la cantidad de interacciones de tipo puente de hidrógeno con las moléculas de agua. Es decir, la morfología micelar interfiere con la formación de estos puentes de hidrógeno.

Perspectivas finales

Los resultados revelaron una estrecha relación entre el comportamiento micelar y las interacciones tipo puente de hidrógeno.

Estabilidad micelar

El análisis CDF mostró que los enlaces de hidrógeno entre grupos carboxílicos de la micela con el agua están comprendidos entre 1,8 y 2,5 Å en la región interfacial micela-agua. Estos enlaces intramicelares más fuertes favorecen a la solvatación micelar, lo que contribuye a la estabilidad del agregado micelar en la solución acuosa.

Estructuración interfacial del agua

En la región interfacial micela-agua, los enlaces de hidrógeno entre los grupos de cabeza del ácido láurico y las moléculas de agua circundantes mostraron un comportamiento dinámico, como indican las distribuciones más amplias en la CDF. Este comportamiento dinámico facilita la formación de una capa de hidratación estructurada, que modula la tensión interfacial y mejora la solubilidad y estabilidad de la micela en agua.

Comportamiento de agregación

La tendencia del ácido láurico a formar micelas está fuertemente influenciada por las interacciones de enlace de hidrógeno. El análisis de la CDF reveló que las interacciones entre los grupos hidrofílicos promueven la agregación y el crecimiento de las micelas en la solución acuosa. En este caso, las redes de enlaces de hidrógeno actúan como fuerzas impulsoras del proceso de agregación, minimizando las interacciones hidrofóbicas desfavorables.

Conclusiones

Este estudio computacional sobre los mecanismos de autoensamblaje y transiciones morfológicas del ácido láurico en medio acuoso ha proporcionado valiosos conocimientos a nivel molecular mediante el uso de simulaciones de dinámica molecular. Los resultados obtenidos demuestran claramente la relación entre la concentración del surfactante y la morfología de los agregados formados, revelando un comportamiento estructural complejo y altamente dependiente de las condiciones del sistema.

Los resultados mostraron que las micelas son esféricas a bajas concentraciones y el ácido láurico forma agregados elipsoidales a concentraciones más altas. Se identificaron tres zonas de agregación: formación de micelas esféricas, formación de micelas elipsoidales y formación de micelas elipsoidales alargadas. El R_g y el R_{mic} se calcularon para caracterizar el tamaño y la forma de los agregados, confirmando que las micelas más grandes tienden a ser más elipsoidales.

Además, se observó que las interacciones de puentes de hidrógeno juegan un papel crucial en la estabilidad y estructura de las micelas. Estas interacciones influyen en la capa de hidratación y en la organización molecular, lo que afecta las propiedades macroscópicas del sistema. Por ejemplo, el número total de enlaces de hidrógeno se correlaciona con el tamaño y la forma de la micela. Las micelas más pequeñas presentaban enlaces de hidrógeno más fuertes y persistentes, mientras que los agregados más grandes mostraban una mayor flexibilidad debido a interacciones interfaciales más débiles.

Este estudio demuestra que los enlaces de hidrógeno desempeñan un papel fundamental en la determinación de las propiedades estructurales y dinámicas de las micelas de ácido láurico en agua. Con el uso de la CDF como herramienta analítica, pudimos cuantificar aspectos clave de las interacciones de los enlaces de hidrógeno y desarrollar un marco teórico para explicar sus efectos. Esta herramienta proporcionó información valiosa sobre la distribución de interacciones en los sistemas simulados que nos permitió desentrañar su contribución específica sobre el mecanismo de agregación micelar.

Desde una perspectiva teórica, este trabajo valida el uso combinado de los campos de fuerza GROMOS53A6 y SPC para el estudio de sistemas anfílicos, demostrando su capacidad para reproducir fenómenos de autoensamblaje complejos. La metodología computacional desarrollada, que incluyó análisis de Rg, excentricidad y CDF, se muestra como una herramienta poderosa para caracterizar sistemas coloidales.

Este trabajo no solo avanza en la comprensión fundamental de los sistemas micelares de ácidos grasos, sino que también establece bases metodológicas para el estudio computacional de otros sistemas anfílicos de interés industrial y farmacéutico. Los conocimientos generados contribuyen a cerrar la brecha entre los fenómenos moleculares y las propiedades macroscópicas en sistemas coloidales complejos.

Referencias

- [1] A. K. Goyal, T. Garg, S. Bhandari y G. Rath, "Advancement in pulmonary drug delivery systems for treatment of tuberculosis", in *Nanostructures for drug delivery*, pp. 669–695, 2017, Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00022-1>.
- [2] A. H. Maboudi, M. H. Lotfipour, M. Rasouli, M. H. Azhdari, R. MacLoughlin, S. Bekeschus y M. Doroudian, "Micelle-based nanoparticles with stimuli-responsive properties for drug delivery", *Nanotechnology Reviews*, vol. 13, nro. 1, pp. 20230218, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2023-0218>.
- [3] S. Mondal, S. Das y A. K. Nandi, "A review on recent advances in polymer and peptide hydrogels", *Soft Matter*, vol. 16, nro. 6, pp. 1404–1454, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9SM02127B>.
- [4] L. Chen, T. Jiang, C. Cai, L. Wang, J. Lin y X. Cao, "Polypeptide-Based "Smart" Micelles for Dual-Drug Delivery: A Combination Study of Experiments and Simulations", *Advanced healthcare materials*, vol. 3, nro. 9, pp. 1508–1517, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201300638>.
- [5] S. Honarmand, M. Mehraei, Z. A. Radmoghaddam, E. Mohammadi, M. Dastjerdi, S. Akbari y A. Akbari, A, "Micelles-based systems and their versatile application in different industries", *NanoScience Technology*, Vol. 10, pp. 1–31, 2023. DOI: <https://doi.org/10.52319/j.nanoscitec.2023.24>
- [6] P. Brown, C. P. Butts y J. Eastoe, "Stimuli-responsive surfactants", *Soft Matter*, vol. 9, nro. 8, pp. 2365–2374, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3SM27716J>.
- [7] I. Johansson y M. Svensson, "Surfactants based on fatty acids and other natural hydrophobes", *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol. 6, pp. 178–88, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(01\)00076-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(01)00076-0).
- [8] A. L. Fameau, J. P. Douliez, F. Boue, F. Ott y F. Cousin, "Adsorption of multilamellar tubes with a temperature tunable diameter at the air/water interface", *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 362, pp. 397–405, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.06.080>.
- [9] A.-L. Fameau et al., "Smart Foams: Switching Reversibly between Ultrastable and Unstable Foams", *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 50, pp. 8264–8269, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201102115>
- [10] L. R. Arriaga, D. Varade, D. Carriere, W. Drenckhan, D. Langevin, "Adsorption, organization and rheology of catanionic layers at the air/water interface", *Langmuir*, vol. 29, pp. 3214–22, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/la304868n>.
- [11] L. M. Walker, "Rheology and structure of worm-like micelles", *Current opinion in colloid & interface science*, vol. 6, nro. 5–6, pp. 451–456, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(01\)00116-9](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(01)00116-9)
- [12] G. M. Demirbolat, G. P. Coskun, O. Erdogan y O. Cevik, "Long chain fatty acids can form aggregates and affect the membrane integrity", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 204, pp. 111795, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111795>.
- [13] H. Arellano, V. Nardello-Rataj, S. Szunerits, R. Boukherroub y A. L. Fameau, "Saturated long chain fatty acids as possible natural alternative antibacterial agents: Opportunities and challenges", *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 318, pp. 102952, 2023.
- [14] Y. Ruiz-Morales y A. Romero-Martínez, "Coarse-Grain Molecular Dynamics Simulations to Investigate the Bulk Viscosity and Critical Micelle Concentration of the Ionic Surfactant Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) in Aqueous Solution", *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 122, nro. 14, pp. 3931–3943, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b10770>.
- [15] S. Illa-Tuset, D. C. Malaspina y J. Faraudo, "Coarse-grained molecular dynamics simulation of the interface behaviour and self-assembly of CTAB cationic surfactants", *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 20, nro. 41, pp. 26422–26430, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8CP04505D>.
- [16] D. Jones, J. E. Allen, Y. Yang, W. F. Drew Bennett, M. Gokhale, N. Moshiri y T. S. Rosing, "Accelerators for classical molecular dynamics simulations of biomolecules", *Journal of chemical theory and computation*, vol. 18, nro. 7, pp. 4047–4069, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c01214>.
- [17] S. Hossain, S. Berg, C. Bergström y P. Larsson, "Aggregation Behavior of Medium Chain Fatty Acids Studied by Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulation", *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, vol. 20, pp. 61, 2019.
- [18] B. H. Morrow, P. H. Koenig y J. K. Shen, "Atomistic simulations of pH-dependent self-assembly of micelle and bilayer from fatty acids", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 137, nro. 19, pp. 1–5, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.4766313>
- [19] J. J. Joel, B. W. Drew y T. D. Peter, "Oleic Acid Phase Behavior from Molecular Dynamics Simulations", *Langmuir*, vol. 30, nro. 35, pp. 10661–10667, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/la501962n>
- [20] S. Abel, J. Attia, S. Rémita, M. Marchi, W. Urbach y M. Goldmann, "Atomistic simulations of spontaneous formation and structural properties of linoleic acid micelles in water", *Chemical Physics Letters*, vol. 481, nro. 1–3, pp. 124–129, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2009.09.033>
- [21] E. Tunçer y B. Bayramoğlu, "Molecular dynamics simulations of duodenal self-assembly in the presence of different fatty acids", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, vol. 644, pp. 128866, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128866>
- [22] P. Khatua, A. Jana y U. Hansmann, "Effect of lauric acid on the stability of Aβ42 oligomers", *ACS omega*, vol. 6, nro. 8, pp. 5795–5804, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06211>
- [23] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek y G. R. Hutchison, "Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform", *J. Cheminform*, vol. 4, nro. 17, pp. 1758–2946, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>.
- [24] A. K. Malde, L. Zuo, M. Breeze, M. Stroet, D. Poger, P. C. Nair, C. Oostenbrink y A. E. Mark, "An Automated force field Topology Builder (ATB) and repository: version 1.0", *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 7, pp. 4026–4037, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/ct200196m>
- [25] M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Páll, J. C. Smith, B. Hess y E. Lindahl, "GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers", *SoftwareX*, vol. 1–2, pp. 19–25, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>.
- [26] C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark y W. F. van Gunsteren, "A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6", *Journal of Computational Chemistry*, vol. 25, nro. 13, pp. 1656–1676, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.20090>.

- [27] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren y J. Hermans, "Interaction models for water in relation to protein hydration", in *Intermolecular Forces: Proceedings of the 14th Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry held in Jerusalem, Israel, April 13-16, 1981*, pp. 331-342. Dordrecht, D. Reidel Publishing Company. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-015-7658-1_21.
- [28] J. G. Parra, G. Rodríguez, P. Iza, X. Zarate y E. Schott, "Evaluation of the affinity of asphaltene molecular models A1 and A2 by the water/oil interfaces based on a novel concept of solubility parameter profiles obtained from MD simulations", *Journal of Molecular Liquids*, vol. 376, pp. 121430, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121430>
- [29] J. G. Parra, P. Iza, H. Domínguez, E. Schott y X. Zarate, "Unveiling the hydrophilic nature of SDS surfactant through molecular simulations: Exploring the influence of charge distribution on interfacial properties in the vacuum/SDS/water system", *Journal of Molecular Liquids*, vol. 401, pp. 124692.
- [30] G. M. Barca et al., "Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system", *J. Chem. Phys.*, vol. 152, nro. 15, pp. 154102, 2020.
- [31] C. M. Breneman y K. B. Wiberg, "Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis", *Journal of computational chemistry*, vol. 11, nro. 3, pp. 361-373, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.540110311>
- [32] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. Dinola y J. R. Haak, "Molecular dynamics with coupling to an external bath", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 81, nro. 8, pp. 3684-3690, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.448118>.
- [33] G. Bussi, D. Donadio y M. Parrinello, "Canonical sampling through velocity rescaling", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 126, nro. 1, pp. 014101, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.2408420>.
- [34] H. Grubmüller, H. Heller, A. Windemuth y K. Schulten, "Generalized Verlet Algorithm for Efficient Molecular Dynamics Simulations with Long-range Interactions", *Molecular Simulation*, vol. 6, nro. 1-3, pp. 121-142, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1080/08927029108022142>.
- [35] B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen y J. G. Fraaije, "LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations", *Journal of Computational Chemistry*, vol. 18, nro. 12, pp. 1463-1472, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199709\)18:12%3C1463::AID-JCC4%3E3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12%3C1463::AID-JCC4%3E3.0.CO;2-H).
- [36] T. Darden, D. York y L. Pedersen, "Particle mesh Ewald: An N·log(N) method for Ewald sums in large systems", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 98, nro. 12, pp. 10089-10092, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.464397>.
- [37] C. D. Bruce, M. L. Berkowitz, L. Perera y M. D. Forbes, "Molecular dynamics simulation of sodium dodecyl sulfate micelle in water: micellar structural characteristics and counterion distribution", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 106, nro. 15, pp. 3788-3793, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp013616z>
- [38] B. J. Chun, J. I. Choi y S. S. Jang, "Molecular dynamics simulation study of sodium dodecyl sulfate micelle: Water penetration and sodium dodecyl sulfate dissociation", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 474, pp. 36-43, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.03.002>.
- [39] J. G. Parra, P. Iza, H. Domínguez y M. Salas, "Molecular aggregation of Muricatacin in water using MD simulations", *Conferencia LatinXchem*, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/scimeetings.3c00461>.
- [40] W. Xu, X. Wang, Z. Zhong, A. Song y J. Hao, "Influence of counterions on lauric acid vesicles and theoretical consideration of vesicle stability", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 117, nro. 1, 242-251, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp306630n>
- [41] A. L. Fameau, A. Arnould y A. Saint-Jalmes, "Responsive self-assemblies based on fatty acids", *Current opinion in colloid and interface science*, vol. 19, nro. 5, pp. 471-479, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.08.005>.
- [42] J. P. Douliez, B. Pontoire y C. Gaillard, "Lipid tubes with a temperature-tunable diameter", *Chemphyschem*, vol. 7, pp. 2071-2073, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/cphc.200600264>
- [43] A. Kabedev, M. S. Hossain y P. Larsson, "Molecular dynamics simulations as a tool to understand drug solubilization in pharmaceutical systems", *Comprehensive Computational Chemistry*, vol. 3, pp. 865-885, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821978-2.00114-8>.
- [44] M. Brehm, M. Thomas, S. Gehrke y B. Kirchner, "TRAVIS-A free analyzer for trajectories from molecular simulation", *The Journal of chemical physics*, vol. 152, nro. 16, pp. 164105, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0005078>
- [45] J. M. MacLeod y F. Rosei, *Directed Assembly of Nanostructures, Comprehensive Nanoscience and Technology*, Academic Press, pp. 13-68, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374396-1.00098-2>.
- [46] L. Kunche y U. Natarajan, "Structure and dynamics of aqueous solutions containing poly-(acrylic acid) and non-ionic surfactant pentaethylene glycol n-octyl ether (C8E5): A molecular simulations study", *Computational Materials Science*, vol. 186, pp. 110043, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2020.110043>.

Citación del artículo:

J. G. Parra, J. Alcalá y P. Iza, "Estudio computacional de las transiciones morfológicas en la agregación del biosurfactante ácido láurico en agua", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, nro. 2, pp. 29-38, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.119290>



¹ Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. ana.jarayrivera@alumno.buap.mx

² Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. andrea.morenoce@alumno.buap.mx, francisco.melendez@correo.buap.mx

³ Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. mareug.castro@correo.buap.mx

⁴ Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. norma.caballero@correo.buap.mx

*Autor para correspondencia: norma.caballero@correo.buap.mx

Recibido: 20/11/2024. Última revisión: 09/05/2025. Aceptado: 22/07/2025.

Acoplamiento molecular entre fármacos para Alzheimer y la enzima γ -secretasa

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia y consiste en un deterioro cognitivo y conductual que afecta principalmente a los adultos mayores. Se estima que, en los próximos 30 años, 115 millones de personas en todo el mundo estarán afectadas por esta enfermedad. Ante el aumento previsto de casos, los investigadores están buscando alternativas para controlar la EA. Un enfoque importante es el estudio de la proteína γ -secretasa, relacionada con la neurotoxicidad de los péptidos involucrados en la cascada amiloide, una vía bioquímica fundamental en el desarrollo de la EA.

En este trabajo se realizaron estudios *in silico* con los fármacos JNJ-40418677, GSM-1, bexaroteno y trodusquemina para evaluar su eficacia como moduladores del sitio activo de la subunidad catalítica presenilina 1 (PSEN-1), que forma parte del complejo γ -secretasa. Según los valores de energía de afinidad obtenidos en el acoplamiento molecular, JNJ-40418677 fue identificado como el compuesto con mayor potencial de unión a PSEN-1, seguido de trodusquemina, bexaroteno y GSM-1. Los resultados obtenidos aportan información relevante sobre las características químicas y físicas básicas que deberán ser consideradas en el diseño de moléculas con potencial inhibitorio sobre la γ -secretasa que, como consecuencia, tendrían implicaciones en el tratamiento de la EA.

Palabras clave: acoplamiento molecular; diseño de fármacos; enfermedad de Alzheimer; γ -secretasa; presenilina 1.

Molecular Docking between Alzheimer's Drugs and γ -secretase Enzyme

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia, characterized by cognitive and behavioral decline, and primarily affects older adults. It is estimated that worldwide, 115 million people will be affected by the disease in the next 30 years. Given the anticipated increase in cases, researchers are exploring various alternatives to control AD. One area of focus is the study of the γ -secretase protein, which is linked to peptide neurotoxicity involved in the amyloid cascade, a key biochemical pathway in the development of AD.

In this study, *in silico* studies were conducted with the drugs JNJ-40418677, GSM-1, bexarotene, and trodusquemine to evaluate their efficacy as modulators of the active site of the presenilin catalytic subunit 1 (PSEN-1), which is part of the γ -secretase complex. According to the affinity energy values obtained from molecular docking, JNJ-40418677 was identified as the compound with the greatest binding potential to PSEN-1, followed by trodusquemine, bexarotene, and GSM-1. The results obtained provide relevant information on the basic chemical and physical characteristics that should be considered in the design of molecules with inhibitory potential on γ -secretase, which, as a result, would have implications for the treatment of AD.

Keywords: Molecular docking; drug design; Alzheimer's disease; γ -secretase; presenilin 1.

Acoplamiento molecular entre medicamentos para Alzheimer e a enzima γ -secretase

Resumo

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência e consiste em comprometimento cognitivo e comportamental, que afeta principalmente adultos mais velhos. Estima-se que, nos próximos 30 anos, 115 milhões de pessoas em todo o mundo serão impactadas pela doença. Diante do aumento previsto de casos, pesquisadores estão investigando diversas alternativas para o controle da DA. Um dos focos de estudo é a proteína γ -secretase, associada à neurotoxicidade dos peptídeos envolvidos na cascata amiloide, uma via bioquímica crucial para o desenvolvimento da DA.

Neste estudo, realizamos análises *in silico* com os medicamentos JNJ-40418677, GSM-1, bexaroteno e trodusquemina, visando avaliar sua eficácia como moduladores do sítio ativo da subunidade catalítica presenilina 1 (PSEN-1), parte do complexo γ -secretase. De acordo com os valores de energia de afinidade obtidos na metodologia de acoplamento molecular, o fármaco JNJ-40418677 foi identificado como o que apresenta o maior potencial de ligação com a subunidade PSEN-1, seguido pela trodusquemina, bexaroteno e GSM-1. Os resultados obtidos fornecem informações relevantes sobre os primeiros passos no design de moléculas com potencial inibitório sobre a γ -secretase o que, como consequência, teriam implicações no tratamento da EA.

Palavras-chave: acoplamento molecular; concepção de medicamentos; doença de Alzheimer; γ -secretase; presenilina 1.



Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas son procesos patológicos asociados con la agregación de proteínas anormales dentro o fuera de las células; sin embargo, aún queda mucho por entender sobre los factores que las causan. La enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica y la enfermedad de Alzheimer (EA) son algunas enfermedades neurodegenerativas. En particular, la EA posee una fisiopatología muy compleja debido a que hay múltiples factores implicados en su manifestación.

La EA se caracteriza por la muerte de las células nerviosas del cerebro y normalmente se presenta en la edad adulta. Las funciones cognitivas se deterioran de forma progresiva e irreversible, en especial la memoria a corto plazo. Por lo general, comienza paulatinamente y sus primeros síntomas suelen atribuirse a la vejez o al olvido común. A medida que la enfermedad avanza, se va haciendo más evidente el deterioro de las capacidades cognitivas, como la capacidad para tomar decisiones y llevar a cabo las tareas cotidianas, asimismo pueden surgir modificaciones de la personalidad y conductas problemáticas. En sus etapas avanzadas, la EA conduce a la demencia y finalmente a la muerte [1, 2].

Hasta el momento, se han establecido dos hipótesis sobre el desarrollo de la EA (**figura 1**). Por un lado, la hipótesis de cascada amiloidea propone que tanto el exceso como la acumulación de péptido β -amiloide (βA) se debe a un cambio en el metabolismo de la proteína precursora de amiloide (APP). Este cambio se considera como la causa principal del daño neurodegenerativo presente en los pacientes con Alzheimer, con la posterior hiperfosforilación de la proteína tau (τ).

Por otro lado, la hipótesis de τ sugiere que el mecanismo de ensamblaje y estabilización de los microtúbulos en el citoesqueleto se ve afectado de manera directa a causa de la hiperfosforilación de la proteína τ , esto causa inconsistencia en su estructura y la formación de agregados de la proteína, lo cual, eventualmente, induce daño y muerte neuronal. Una vez sucedida la hiperfosforilación se forman las placas amiloides [3, 4].

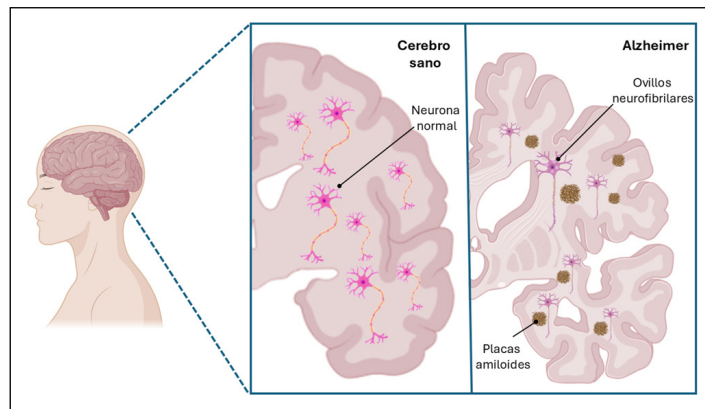


Figura 1. Neurona en estado normal (izquierda) frente a neuronas en estado anormal (derecha) afectadas por la acumulación de péptido β -amiloide debido a una hiperfosforilación de la proteína τ . Elaboración propia en BioRender.

Se han realizado diversos estudios con el objetivo de identificar blancos terapéuticos específicos para el desarrollo de fármacos que provoquen el mínimo de efectos secundarios; sin embargo, no ha resultado una tarea sencilla. Tal es el caso de una serie de ensayos clínicos para eliminar los agregados de proteína amiloide en el cerebro, los cuales resultaron ser ineficaces contra los síntomas del paciente [5, 6]. Por otra parte, hallazgos recientes obtenidos mediante técnicas avanzadas, como el análisis completo del proteoma, revelaron cambios moleculares previos a la agregación de proteínas en el cerebro [7]. Con este panorama, es fundamental realizar nuevas investigaciones, implementar nuevas técnicas de diagnóstico y

desarrollar fármacos novedosos lo suficientemente efectivos, que no afecten otras actividades del sistema nervioso central (SNC).

En los últimos años, la proteína γ -secretasa ha tomado relevancia en el tratamiento de la EA como posible diana terapéutica, particularmente la subunidad catalítica presenilina 1 (PSEN-1), cuya disfunción ha sido asociada con esta enfermedad [8]. La modulación del complejo interviene directamente en la actividad de la APP y, por consiguiente, en los niveles del péptido βA [9], frecuentemente de 40 ($\beta A40$) o 42 ($\beta A42$) aminoácidos en condiciones patológicas [10].

En este sentido, el uso de técnicas computacionales (*in silico*) se ha vuelto necesario para el desarrollo de nuevos fármacos. Entre estas técnicas, el acoplamiento molecular es ampliamente utilizado para identificar sitios de unión específicos en la estructura del receptor, que permitan establecer interacciones moleculares con el ligante para la formación de un complejo ligante-receptor estable (mínima energía) [11]. Usualmente, el proceso comienza con un blanco o diana molecular (receptor) de estructura conocida, tal como una enzima de interés médico, y una o varias estructuras más pequeñas (ligante) que puedan unirse a la misma [12].

Los programas computacionales que realizan este tipo de cálculos emplean mecánica molecular, como el programa AutoDock [13]. Este es un programa gratuito de código abierto, es uno de los más utilizados para el estudio de interacciones ligante-receptor, y ha sido diseñado para predecir las posiciones preferentes en la unión de moléculas pequeñas, como sustratos o candidatos a fármacos, con un receptor de estructura tridimensional conocida.

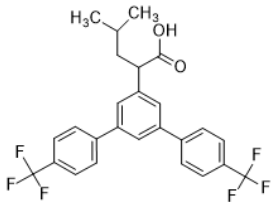
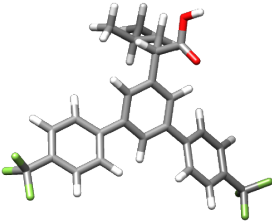
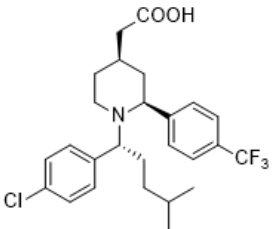
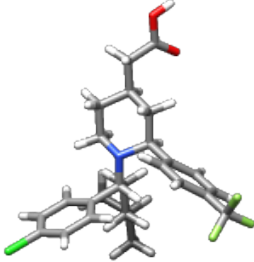
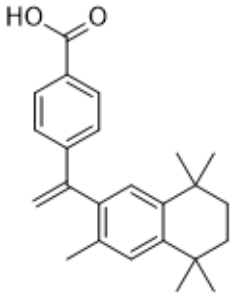
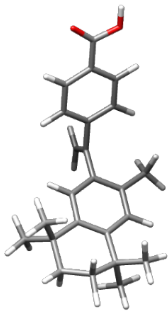
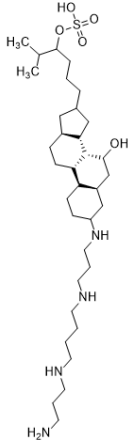
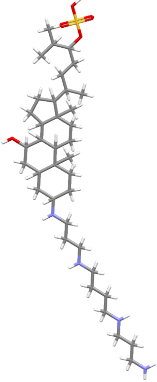
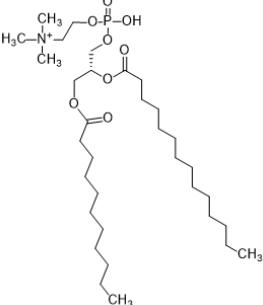
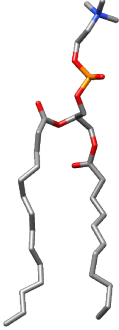
Esta y otras técnicas han sido de utilidad para predecir la conformación de la unión y la energía libre involucrada en la formación de complejos ligante-receptor. Como se ha expresado antes, una de las aplicaciones más importantes de esta técnica es en el diseño de fármacos, donde es posible realizar una exploración de compuestos en bibliotecas virtuales para, posteriormente, proponer una hipótesis sobre cómo los diferentes ligantes inhiben o no cierto blanco de interés de acuerdo con su estructura [12].

Por todo lo expuesto, el presente trabajo tiene como propósito identificar el papel que juega la γ -secretasa en la función biológica de los compuestos JNJ-40418677, GSM-1, bexaroteno y trodusquemina, que han sido utilizados ampliamente para tratar la EA [14–16]. Particularmente, los compuestos JNJ-40418677 y GSM-1 son reconocidos moduladores de la γ -secretasa, debido a su capacidad de modificar la producción de péptidos β -amiloides sin inhibir completamente la actividad enzimática, lo que reduce los efectos adversos relacionados con la inhibición total de esta enzima [17]. Por otro lado, el bexaroteno y la trodusquemina, aunque no actúan directamente como inhibidores clásicos de γ -secretasa, han mostrado influencias indirectas sobre su actividad o sobre rutas relacionadas con el metabolismo del péptido β -amiloide, mediante mecanismos de señalización celular o regulación de lípidos [18, 19].

En este estudio se evaluará, mediante cálculos de acoplamiento molecular, la efectividad de los cuatro compuestos como moduladores de la subunidad PSEN-1, por su papel central dentro del complejo enzimático γ -secretasa. Este complejo es responsable de la escisión intramembrana de múltiples proteínas sustrato, incluyendo la APP que da lugar a la formación de péptidos β -amiloides ($A\beta$), especialmente $A\beta42$, que se agrupan en placas seniles, una de las principales características neuropatológicas de la EA [20].

En este contexto, la evaluación de la interacción entre PSEN-1 y los compuestos seleccionados mediante acoplamiento molecular permitirá identificar interacciones necesarias y posibles mecanismos de inhibición, contribuyendo de esta manera al diseño racional de terapias dirigidas a esta subunidad del complejo γ -secretasa.

Tabla 1. Fármacos y sustrato natural de la γ-secretasa empleados en el acoplamiento molecular.

Nombre del fármaco	Estructura 2D	Estructura 3D	Descripción
JNJ-40418677		 Número de ER: 9/32	Presentó una concentración inhibitoria 50 (IC50) contra el porcentaje de actividad de la γ-secretasa de 200 nM. Podría aumentar la producción de otros βA [25]. PubChem CID: 52939724
GSM-1 (Modulador de la gamma secretasa)		 Número de ER: 10/32	Redujo los niveles de βA entre 38 y 48%. Después de 24 h los niveles regresaron a los valores iniciales, sin rebote que propiciara un incremento de los valores originales [25]. PubChem CID: 57987388
Bexaroteno		 Número de ER: 3/32	Retrasó la nucleación primaria en la agregación de βA42 [29]. PubChem CID: 13C4 CCDC ID: DAQCII
Trodusquemina		 Número de ER: 22/32	Aumentó la agregación de βA42, pero suprimió su toxicidad al desplazar los oligómeros de las membranas celulares [30]. PubChem CID: 9917968
PC1 (1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfocolina)		 Número de ER: 32/33	Ligante natural de la γ-secretasa. Responsable de la actividad proteolítica productora de βA [22, 29]. PubChem CID: 94190

ER: enlaces rotables.

Materiales y métodos

El proceso para el estudio computacional de la interacción entre la proteína γ -secretasa y los fármacos se realizó en tres pasos generales: selección y preparación estructural del blanco y los ligantes, cálculo de la energía de afinidad del complejo ligante-receptor mediante la técnica de acoplamiento molecular y evaluación de los resultados.

Selección y preparación de las moléculas

En primer lugar, se realizó la búsqueda de la estructura de la proteína γ -secretasa en la plataforma Protein Data Bank (PDB) [21]: su ID es 5A63 y su organismo de expresión es el *homo sapiens*. La proteína registrada en banco de datos se obtuvo mediante microscopía electrónica, con una resolución de 3,4 Å, y está formada por cuatro cadenas nombradas como A, B, C y D.



Figura 2. Proteína γ -secretasa. Se muestran las cuatro cadenas que la conforman, A (rojo), B (amarillo), C (azul) y D (negro). Se muestra en color café traslúcido la membrana simulada gráficamente que delimita la región transmembranal de la proteína [22]. Elaboración propia en BioRender.

Posteriormente, se aisló la estructura de la cadena B (color amarillo en la **figura 2**) que contiene a la subunidad PSEN-1, que a su vez contiene el sitio activo [22]. Para ello, se eliminaron las estructuras de cristalización no proteicas, las moléculas de agua y las cadenas duplicadas (A, C y D) con ayuda del programa USCF Chimera [23]. Este tratamiento es un paso esencial para eliminar las moléculas que no son útiles para este tipo de procedimiento. Después, en el programa AutoDockTools [24] se añadieron átomos de hidrógeno

(únicamente polares) y se asignaron las cargas atómicas, la información se guardó en un archivo con formato PDBQT.

Por otro lado, se obtuvieron las estructuras cristalinas del sustrato natural 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfolina (PC1) a partir de la entrada PDB ID: 5A63 [25], y del compuesto bexaroteno, identificado con el código CDCC ID: DAQCII [26]. Para el resto de los ligantes, su estructura tridimensional fue obtenida de la base de datos PubChem del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) [27]. Además, se realizaron cálculos de optimización de geometría utilizando el método semiempírico PM6 en el programa Gaussian 09 [28] con la finalidad de refinar las estructuras. Para finalizar, se agregaron las cargas atómicas y se optó por activar o desactivar los enlaces rotables (ER).

Debido a la naturaleza química de algunos ligantes (cadenas carbonadas o nitrogenadas largas con libre giro), se propuso tratarlos de dos formas, una con todos los posibles ER activos, y otra con estos enlaces desactivados, es decir, en una conformación completamente rígida con enlaces no rotables (ENR). El tratamiento flexible (ER activos) permite al ligando explorar su espacio conformacional durante la simulación, lo que refleja de manera más fidedigna su comportamiento dinámico. Esta condición favorece la identificación de modos de unión óptimos con la subunidad PSEN-1, potencialmente asociados a una mayor afinidad de unión y estabilidad del complejo, así como a la formación de interacciones moleculares importantes, que podrían no manifestarse en un sistema rígido. En contraste, los ENR restringen al ligante a una conformación única que, además de reducir la complejidad computacional, es útil para inferir la dependencia estructural de la unión y estimar la estabilidad farmacodinámica del compuesto.

Las estructuras bidimensionales y tridimensionales de los fármacos utilizados, así como el sustrato natural se presentan en la **tabla 1**. También se muestra una breve descripción de su funcionalidad y el número de ER presentes en cada uno.

Delimitación del sitio de búsqueda

Para continuar con la preparación previa al cálculo de acoplamiento molecular, fue necesario delimitar la zona donde se realizó la búsqueda de las conformaciones preferentes en la formación del complejo ligante-receptor. Por lo tanto, se establecieron los parámetros de la zona de búsqueda, conocida como caja de búsqueda o *grid box*, para cada uno de los sitios estudiados (**tabla 2**) y para el sitio del ligante natural (LN) (**figura 3**).

Tabla 2. Parámetros de la *grid box* utilizados para cada complejo fármaco- γ secretasa.

Área	Spacing (Å)	Coordenadas <i>grid box</i>			Tamaño <i>grid box</i>		
		X	Y	Z	X	Y	Z
SAP	0,357	114,004	114,102	103,310	40	40	40
P_0	0,614	127,434	108,814	106,310	40	40	40
P_1	0,658	140,081	133,914	120,044	40	40	40
P_2	0,586	113,671	109,362	105,148	40	40	40
P_3	0,581	130,635	122,710	102,234	40	40	40
P_4	0,597	111,364	117,118	136,084	40	40	40
P_5	0,577	126,895	127,556	112,567	40	40	40
P_6	0,525	136,596	125,760	111,741	40	40	40
P_7	0,475	121,884	116,309	121,642	40	40	40
LN	0,403	124,328	119,149	127,598	31	60	42

SAP: sitio activo de la presenilina.
LN: sitio del ligante natural.

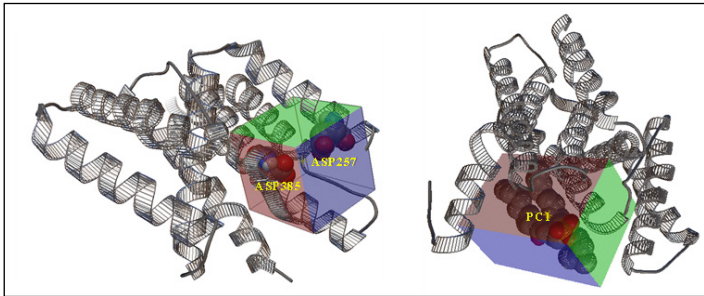


Figura 3. Subunidad presenilina 1 (PSEN-1) en formato de cinta y color gris, donde se visualizan los aminoácidos aspartato ASP 257 y ASP 385, componentes del sitio activo (izquierda), y el ligante natural PC1 en el sitio de cristalización (derecha).

Con ayuda del programa AutoDockTools [24] se delimitó el sitio activo de la subunidad PSEN-1, que se designó como SAP (sitio activo de la presenilina). Allí se encuentran dos residuos aminoácidos transmembranales conservados, aspartato ASP 257 y ASP 385, los cuales son críticos para la actividad de la γ -secretasa [22].

Asimismo, mediante la herramienta DoGSiteScorer de la plataforma Proteins Plus [31], se evaluaron los sitios de unión más favorables de la proteína y se estimó su farmacología en términos de residuos de aminoácidos. En la **tabla 3** se enlistan las áreas con mayor probabilidad de unión de ligantes y se muestran los puntajes farmacológicos (*druggability*) de cada sitio de unión, dichos valores se expresan en un intervalo de cero a uno, siendo uno el de mayor posibilidad farmacológica. Finalmente, se presenta el volumen que ocupa el sitio de unión (expresado en Å³).

Tabla 3. Sitios con mayor probabilidad de unión a un ligante obtenidas con la plataforma Proteins Plus [31].

Nombre del sitio de unión potencial	Puntaje farmacológico	Volumen (Å ³)
P_0	0,72	501,89
P_1	0,59	307,46
P_2	0,55	225,22
P_3	0,45	216,90
P_4	0,39	193,15
P_5	0,57	186,94
P_6	0,33	143,68
P_7	0,27	134,59

Con base en las predicciones de Proteins Plus [31] sobre las áreas con mayor probabilidad de formar interacciones con un ligante y el SAP, se ubicaron las *grid box* en las tres áreas con los más altos de puntajes farmacológicos: P_0 (0,72), P_1 (0,59) y P_5 (0,57), para finalmente realizar el acoplamiento molecular.

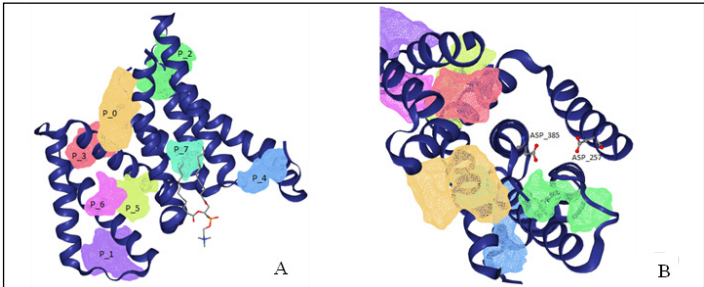


Figura 4. A: vista de las siete áreas con mayor posibilidad de unión de un ligante con la cadena B de la γ -secretasa, representada en formato de cinta de color azul. B: vista de los dos residuos aminoácidos que conforman el sitio activo de la cadena B (ASP 257 y ASP 385) con los átomos en un esquema de colores CPK.

Acoplamiento molecular

Una vez realizado el tratamiento previo a las estructuras y la delimitación de la zona de búsqueda, se llevó a cabo el acoplamiento molecular para obtener las poses preferentes en la formación del complejo ligante-receptor. Para ello, se utilizó el programa AutoDock Vina [32], que utiliza un método de optimización de gradiente y una función de puntuación simple (*score*). Además, para visualizar y analizar las interacciones existentes entre los residuos adyacentes a todos los ligantes se utilizó el paquete Discovery Studio [33]. Para validar la metodología, se realizó un *redocking* con el ligante PC1, cuyo resultado se muestra en la **figura 5**.

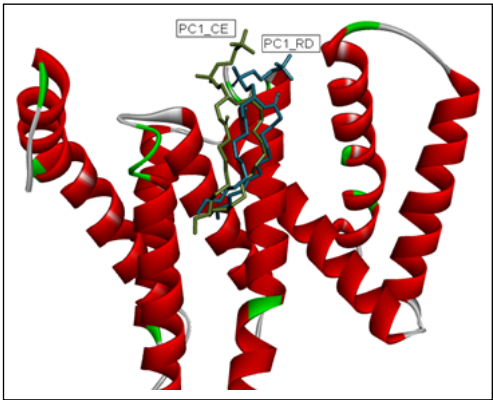


Figura 5. Visualización de las poses del ligante natural PC1 en el sitio de cristalización (PC1_CE) y en el resultado del *redocking* (PC1_RD).

Resultados y discusión

Los resultados del acoplamiento muestran nueve modos posibles de acoplamiento entre ligante y enzima. El primer modo presentó el mejor valor de energía de afinidad. En la **tabla 4** se resumen los valores obtenidos para los diferentes acoplamientos. Se observa que los valores de afinidad obtenidos con los ligantes con ENR son más negativos en comparación con los ligantes con ER.

En el caso específico de PC1, el *docking* flexible no logró reproducir adecuadamente la pose cristalográfica (Rx) debido a limitaciones en la búsqueda conformacional. Esta molécula, al igual que la trodusquemina, presenta múltiples grados de libertad rotacional derivados de cadenas alifáticas flexibles que conectan sus grupos funcionales, lo que conduce a conformaciones energéticamente estables, pero alejadas de la pose biológicamente relevante.

En cambio, al emplear una conformación rígida, se obtiene un mejor alineamiento con la estructura experimental y valores de energía de acoplamiento más consistentes con la interacción real ligante-receptor. Por lo tanto, para este tipo de compuestos, el uso del *docking* rígido no solo es justificable, sino preferible, ya que permite obtener poses más precisas y representativas desde el punto de vista bioquímico.

Cabe resaltar que, en las demás moléculas consideradas en este estudio, la tendencia de los valores de la afinidad por los sitios de unión no cambia de manera significativa (**tabla 4**); así que nos enfocamos exclusivamente en los ligantes con ENR. La mayoría de los valores de afinidad superan el valor de afinidad del ligante PC1 ($-8,1 \text{ kcal mol}^{-1}$) en su área natural, lo que sugiere que la acción de estos ligantes, además de la reportada con algún otro blanco terapéutico, podría ser mediante la interacción con la γ -secretasa.

Posteriormente, se hizo un análisis sobre las interacciones formadas entre los ligantes con ENR y los residuos aminoácidos adyacentes utilizando del visualizador Discovery Studio [33]. En la **figura 6** se muestran dos ejemplos de los diagramas 2D obtenidos: uno para el acoplamiento con el mejor valor de afinidad, correspondiente al

Tabla 4. Valores de energía de afinidad en kcal mol⁻¹ de los complejos fármaco-γ secretasa.

Área	PC1	JNJ-40418677	GSM-1	Bexaroteno	Trodusquemina
Ligantes con ER					
SAP	-4,8	-7,1	-6,3	-7,2*	-5,3
P_0	-4,5	-7,4*	-6,7	-6,9	-6,0
P_1	-5,1	-7,2	-7,3*	-7,3*	-6,2
P_5	-4,2	-7,3*	-6,8	-7,3*	-5,1
LN	-4,7	-7,5	-6,8	-8,2*	-5,6
Ligantes con ENR					
SAP	-7,5	-7,6	-6,5	-7,8	-8,2*
P_0	-7,8	-9,0*	-8,2	-8,2	-6,7
P_1	-7,9	-8,3*	-7,2	-8,3*	-8,2
P_5	-7,9	-8,6	-7,6	-8,3	-8,7*
LN	-8,1	-9,3**	-8,3	-8,5	-8,7

*Valores de energía de afinidad más altos en cada área con y sin enlaces rotables.

**Valor más alto de todos los acoplamientos realizados.

ER: enlaces rotables.

ENR: enlaces no rotables.

SAP: sitio activo de presenilina 1 (PSEN-1).

LN: sitio del ligante natural.

ligante JNJ-40418677 en su área natural, y otro para el complejo PC1 en la misma área, que se utilizó como referencia en todos los resultados para identificar los aminoácidos conservados. En general, los enlaces observados en ambos complejos son de tipo π-alquilo y fuerzas de Van der Waals, además de interacciones tipo π-σ, carbono-hidrógeno (C-H) y puente de hidrógeno. Entre los residuos con interacciones conservadas en ambos casos se encuentran THR 407, VAL 97, TRP 404, VAL 94, VAL 393 y PHE 411.

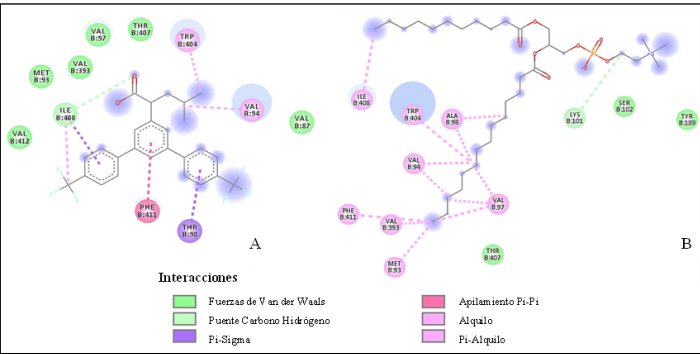


Figura 6. Diagramas 2D de las interacciones de los ligantes A: JNJ-40418677 y B: PC1 en complejo con el sitio del ligante natural (LN).

En relación con la modulación de γ-secretasa y su implicación en la EA, los resultados obtenidos a partir del acoplamiento molecular de los ligantes JNJ-40418677, trodusquemina, bexaroteno y GSM-1 muestran un panorama complejo. Por ejemplo, JNJ-40418677, uno de los fármacos más antiguos para tratar la EA [14], que es un modulador de la γ-secretasa de naturaleza ácida de segunda generación [34], presentó el mejor valor de afinidad (−9,3 kcal mol⁻¹) (ver **tabla 4**); además, mostró interacciones imprescindibles para la estabilización del complejo ligante-enzima [35] en múltiples áreas de la PSEN-1. Esta información justifica que su valor de afinidad sea el mejor en tres áreas: LN, P_0 y P_1, lo que indica una fuerte interacción con diversas áreas de la PSEN-1 y, por lo tanto, una mayor implicación en las funciones de la γ-secretasa.

Algunas investigaciones han demostrado que el péptido señal peptidasa (SPP) alberga un sitio de unión para este modulador de la γ-secretasa. SPP es homólogo a PSEN-1, pero funciona como un ho-

modímero sin proteínas accesorias, en donde los sustratos de γ-secretasa y SPP no muestran ninguna superposición. Lo anterior sugiere que la γ-secretasa contiene un sitio de unión para JNJ-40418677 que se conserva en SPP y, en consecuencia, debería estar presente en PSEN-1 [36], esto sugiere una posible implicación en la regulación alostérica. Sin embargo, se ha demostrado que la interacción entre el fármaco JNJ-40418677 y la γ-secretasa podría aumentar la concentración de otros tipos de βA aun cuando el fármaco ofrece selectividad para disminuir la cantidad de βA₄₂ [37].

En este contexto, la trodusquemina, que presenta un valor de −8,7 kcal mol⁻¹ en el sitio del ligante natural (LN) y P_5, actúa de manera similar a JNJ-40418677, pero presenta interacciones que dan lugar a una unión de nube electrónica-π entre los residuos aminoacídicos de la enzima y a un anillo aromático en la estructura de la trodusquemina. Gracias a la presencia de estos enlaces conjugados caracterizados por la deslocalización de los electrones en sus orbitales [38], se favorece una distribución entre varios átomos del ligante sobre esta área particular de la enzima.

La trodusquemina ha demostrado ser un inhibidor alostérico de la proteína tirosina fosfatasa PTP1B, involucrada directamente en la agregación del βA y el proceso inflamatorio generalizado que caracteriza a la EA [39]. No obstante, al no estar totalmente esclarecido el papel que juega la PTP1B en la patología, la analogía del funcionamiento de esta enzima con la γ-secretasa no es tan confiable para decir que modifica la actividad enzimática con este tipo de inhibición [16]. Sin embargo, la intervención que tiene la trodusquemina con la γ-secretasa indica que podría fungir como un ligante con una cinética enzimática de inhibición competitiva [40] contra el ligante natural PC1, debido a que tiene un valor de afinidad alto en el LN, contrario a lo que sucede con la tirosina fosfatasa (ver **tabla 4**). Esto podría implicar una modificación directa en el sitio activo y, por lo tanto, de la actividad enzimática y sus implicaciones a nivel de funcionalidad biológica.

Por otro lado, el bexaroteno, con un valor de −8,5 kcal mol⁻¹, se destaca por su capacidad de mantener sus efectos en la función biológica y suele ser de fácil liberación de la enzima [19]. Lo anterior no es un punto negativo si el propósito no es inhibir por completo la

actividad de la γ -secretasa, sino modularla selectivamente sin afectar otras funciones primordiales del SNC [41]. Estos resultados son consistentes con investigaciones realizadas en la enzima β -secretasa, donde la subunidad PSEN-1 ha presentado patrones de energía de unión factibles para este ligante [42], por lo que posiblemente actúe de forma similar en la γ -secretasa. Otros efectos de esta molécula para el tratamiento de la EA podrían ser la disminución del péptido β A en el cerebro, la obstaculización de su posterior agrupamiento y agregación [43], la inhibición de la escisión intramembranal de la γ -secretasa [15], el retraso de la formación de especies tóxicas en células de neuroblastoma en la nucleación primaria del β A₄₂, y la supresión completa de su deposición [41].

Por último, el GSM-1, que pertenece a una familia de moduladores de la actividad de la γ -secretasa que inhiben la producción de β A₄₂ con poco efecto sobre la generación de β A₄₀ y el procesamiento de otros sustratos importantes de la γ -secretasa [41], presenta un valor de afinidad de $-8,3 \text{ kcal mol}^{-1}$ en el LN. Si se analiza detenidamente la **figura 3** se observa que el LN, que es donde se encuentra PC1, está alejado del SAP que contiene los aminoácidos que le confieren la capacidad catalítica, por lo que el resultado del valor de afinidad se apoya con la teoría de que GSM-1 disminuye la producción de β A₄₂, posiblemente mejorando su conversión a β A₃₈ mediante un mecanismo alostérico al unirse a un área específica dentro de la PSEN-1. Esto ocurre debido a que se ha localizado el sitio de unión de GSM-1 en un subdominio dentro de un dominio transmembranal de la PSEN-1, la cual sufre cambios conformacionales al interactuar con este ligante [44].

De manera general, considerar áreas aledañas al sitio activo de la enzima permitió tener una gama de posibilidades de uniones distintas que, aunque no se traduzcan propiamente en función biológica, podrían operar de otras maneras, por ejemplo, modulando la actividad de la enzima positiva o negativamente [39]. En particular, se sugiere que el diseño de fármacos se dirija al LN buscando interacciones de tipo hidrofóbicas, principalmente con residuos de valina, isoleucina y triptófano. Las probables moléculas deberán ser de naturaleza orgánica e incluir, aunque no de forma exclusiva, anillos aromáticos y cadenas alifáticas cortas; además, no deben exceder un máximo de $1201,84 \text{ \AA}^2$ de superficie y $1676,80 \text{ \AA}^3$ de volumen.

Debido al funcionamiento parcialmente óptimo de los fármacos actualmente utilizados, las actividades de la enzima γ -secretasa de las neuronas han constituido uno de los aspectos en los que mayor esfuerzo se ha invertido al momento de identificar dianas terapéuticas específicas para la EA. Estas investigaciones parten de la hipótesis de que, si se consigue evitar o regular la sobreproducción del péptido β A, se podrá evitar en ciertos casos la aparición de la enfermedad o detener su avance [45].

Cabe mencionar que, a pesar de las limitaciones propias que presenta la metodología del acoplamiento molecular, este estudio es adecuado para describir una posible diana de fármacos usados en la actualidad como parte del tratamiento de la EA, cuyo mecanismo de acción biológica permanece desconocido debido a la falta de investigación experimental. En este sentido, este trabajo computacional aporta información valiosa para futuras investigaciones relacionadas con el diseño de fármacos que tengan como blanco terapéutico a la γ -secretasa, tanto experimentalmente como de manera teórica (*in silico*). Sin duda, sería relevante complementar este estudio con pruebas experimentales que validen los resultados obtenidos.

Conclusiones

Por medio de herramientas computacionales se logró hacer un análisis enzimático de la γ -secretasa en su interacción con otras moléculas. El análisis se realizó a través de un acoplamiento molecular de la enzima con distintos fármacos utilizados para el tratamiento

de la EA. Se identificaron las diferentes interacciones moleculares ligante-receptor y los aminoácidos clave para que se lleve a cabo dicha interacción, aun si no implican de manera directa el sitio catalítico. Finalmente, se distinguió el fármaco con el valor de afinidad más alto para los acoplamientos con la cadena B de la γ -secretasa, es decir, el ligante JNJ-40418677.

Toda la información obtenida a través del análisis de las interacciones químicas para detectar las ventajas y desventajas de los acoplamientos realizados proporciona una base para futuras investigaciones en el desarrollo de nuevas moléculas que modulen la actividad de la γ -secretasa de forma más precisa. Hasta el momento, podríamos inferir que moléculas con características fisicoquímicas semejantes a las del compuesto JNJ-40418677, en conjunto con las del sitio de unión del LN en la γ -secretasa, son relevantes en el diseño de fármacos específicos en el tratamiento de la EA. Se continuará el estudio de esta enzima empleando diversas técnicas computacionales que nos permitan estudiar más a fondo su comportamiento y proponer nuevos mecanismos de acción.

Agradecimientos

A.M.C. agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca de Estancia Posdoctoral (CVU: 769481). Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP-BUAP) (proyecto 100517029-VIEP2025), al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS-BUAP) por los recursos computacionales y al Cuerpo Académico BUAP-CA-263 de PRODEP (SEP, México).

Referencias

- [1] P. Scheltens et al. "Alzheimer's disease", *Lancet.*, vol. 397, pp. 1577–1590, 2021. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32205-4)
- [2] G. B. Frisoni et al. "The probabilistic model of Alzheimer disease: the amyloid hypothesis revised", *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 23, pp. 53–66, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00533-w>
- [3] X. Zhang et al. "Tau in neurodegenerative diseases: molecular mechanisms, biomarkers, and therapeutic strategies", *Transl. Neurodegener.*, vol. 13, pp. 40, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40035-024-00429-6>
- [4] A. D. Alonso et al. "Hyperphosphorylation of Tau Associates With Changes in Its Function Beyond Microtubule Stability", *Front. Cell. Neurosci.*, vol. 12, nro. 338. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00338>
- [5] S. Y. Hung y W. M. Fu, "Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease", *J. Biomed. Sci.*, vol. 24, nro. 47, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12929-017-0355-7>
- [6] G. Plascencia-Villa y G. Perry, "Chapter 16 - Lessons from anti-amyloid- β immunotherapies in Alzheimer's disease", *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 193, pp. 267–291, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85555-6.00019-9>
- [7] H. Okazawa, "Ultra-Early Phase pathologies of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases", *Proc. Jpn. Acad., Ser. B*, vol. 93, nro. 6, pp. 361–377, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.2183/pjab.93.022>
- [8] S.Y. Chen y M. Zacharias, "An internal docking site stabilizes substrate binding to γ -secretase: Analysis by molecular dynamics simulations", *Biophys. J.*, vol. 121, nro. 12, pp. 2330–2344, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.05.023>
- [9] P. C. Sánchez, "Regulación de la Gamma-Secretasa en la enfermedad de Alzheimer", *Cuadernos del Tomás*, nro. 9, pp. 97–105, 2017.
- [10] K. Strömberg et al. "Combining an amyloid-beta (A β) cleaving enzyme inhibitor with a γ -secretase modulator results in an additive reduction of A β production", *FEBS J.*, vol. 282, pp. 65–73, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.13103>

- [11] P. Cruz-Vicente, L. A. Passarinha, S. Silvestre y E. Gallardo, "Recent Developments in New Therapeutic Agents against Alzheimer and Parkinson Diseases: In-Silico Approaches", *Molecules*, vol. 26, pp. 2193, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26082193>
- [12] G. F. Ramírez-Reyes, "Estrategias en el diseño de fármacos", tesis de pregrado, Universidad de la Laguna, San Cristóbal de la Laguna, España, 2019.
- [13] S. Forli et al., "Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite", *Nat. Protoc.*, vol. 11, nro. 5, pp. 905, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>
- [14] H. J. Gijzen y M. Mercken, "γ-Secretase Modulators: Can We Combine Potency with Safety?", *Int. J. Alzheimer's Dis.*, vol. 2012, pp. 1–10, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/295207>
- [15] F. Kamp et al., "Binding of Bexarotene to the Amyloid Precursor Protein Transmembrane Domain in Liposomes Alters its α-Helical Conformation but Inhibits γ-Secretase Non-Selectively", *ACS Chem Neurosci*, vol. 9, nro. 7, pp. 1702, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00068>
- [16] K. M. Ricke et al., "Neuronal Protein Tyrosine Phosphatase 1B hastens Amyloid β-associated Alzheimer's disease in mice", *J. Neurosci.*, vol. 40, nro. 7, pp. 1581–1593, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2120-19.2019>
- [17] S. Mekala, G. Nelson y Y. M. Li, "Recent developments of small molecule γ-secretase modulators for Alzheimer's disease", *RSC Med. Chem.*, vol. 11, pp. 1003–1022, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0MD000196A>
- [18] B. Touse, "The emerging role of bexarotene in the treatment of Alzheimer's disease: current evidence", *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, vol. 11, pp. 311–315, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S61309>
- [19] R. Limbicker et al., "Trodoxamine enhances Aβ42 aggregation but suppresses its toxicity by displacing oligomers from cell membranes", *Nat. Commun.*, vol. 10, nro. 1, pp. 225, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07699-5>
- [20] J.Y. Hur, "γ-Secretase in Alzheimer's disease", *Exp. Mol. Med.*, vol. 54, nro. 4, pp. 433–446, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00754-8>
- [21] H. M., Berman et al., "The protein data bank", *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, nro. 1, pp. 235–242, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- [22] X. C. Bai et al., "An atomic structure of human γ-secretase", *Nature*, vol. 525, nro. 7568, pp. 212–217, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14892>
- [23] E. F. Pettersen et al., "UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis", *J. Comput. Chem.*, vol. 25, nro. 13, pp. 1605–12, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- [24] G. M. Morris et al., "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility", *J. Comput. Chem.*, vol. 30, nro. 16, pp. 2785–2791, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [25] A. Hall y T. R. Patel, "γ-Secretase modulators: current status and future directions", *Progress in medicinal chemistry*, vol. 53, nro. 1, pp. 101–145, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63380-4.00003-2>
- [26] J. O. Daiss et al., "Crystal Structure Analysis, and Pharmacological Characterization of Disila-bexarotene, a Disila-Analogue of the RXR-Selective Retinoid Agonist Bexarotene", *Organometallics*, vol. 24, nro. 13, pp. 3192, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/om040143k>
- [27] ACD/ChemSketch, version 2020.1.2, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2021.
- [28] Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
- [29] R. M. Page et al., "β-Amyloid precursor protein mutants respond to γ-secretase modulators", *J. Biol. Chem.*, vol. 285, nro. 23, pp. 17798–17810, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.103283>
- [30] W. R. Zhuang et al., "Applications of π-π stacking interactions in the design of drug-delivery systems", *J. Controlled Release*, vol. 294, nro. 28, pp. 311–326, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.014>
- [31] R. Fährrolfes et al., "Proteins Plus: a web portal for structure analysis of macromolecules", *Nucleic Acids Res.*, vol. 45, nro. 1, pp. 337–343, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx333>
- [32] O. Trott y A. J. Olson, "AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading", *J. Comput. Chem.*, vol. 31, nro. 2, pp. 455–461, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [33] Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, (Versión 20.1.0.19295), Windows, San Diego: Dassault Systèmes, 2016. Disponible en <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/>
- [34] T. Jumpertz et al., "Presenilin is the molecular target of acidic γ-secretase modulators in living cells", *PLoS One*, vol. 7, nro. 1, pp. e30484, 2012.
- [35] S. Jr. Bailey y C. A. Bailey, *Química Orgánica: Conceptos y Aplicaciones*, Ciudad de México, México, Pearson Educación, 2001.
- [36] T. E. Golde, E. H. Koo, K. M. Felsenstein, B. A. Osborne y L. Miele, "γ-Secretase inhibitors and modulators", *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, vol. 1828, nro. 12, pp. 2898–2907, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2013.06.005>
- [37] B. Van Broeck et al., "Chronic treatment with a novel γ-secretase modulator, JNJ-40418677, inhibits amyloid plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease", *Br. J. Pharmacol.*, vol. 163, nro. 2, pp. 375–389, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01207.x>
- [38] J. Karty, *Organic Chemistry: Principles and Mechanisms*, Nueva York, EUA, WW Norton Company, 2018.
- [39] J. M. Berg et al., *Biochemistry: student companion*, Nueva York, Macmillan, 2011.
- [40] H. Bisswanger, *Enzyme kinetics: principles and methods*, Weinheim, Alemania, John Wiley & Sons, 2017.
- [41] J. Habchi et al., "Systematic development of small molecules to inhibit specific microscopic steps of Aβ42 aggregation in Alzheimer's disease", *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 114, nro. 23, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1615613114>
- [42] S. Wajid, S. Khawal y S. Chandra, "In-silico scrutiny and molecular docking analysis for beta secretase-1 and presenilin-1", *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, vol. 5, nro. 4, pp. 274–292, 2014.
- [43] Z. Mirza y M. Amin Beg, "Possible molecular interactions of bexarotene-a retinoid drug and Alzheimer's Aβ peptide: A docking study", *Curr. Alzheimer Res.*, vol. 14, nro. 43, pp. 327–334, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2174/1567205013666161114115344>
- [44] Y. Ohki et al., "Phenylpiperidine-type γ-secretase modulators target the transmembrane domain 1 of presenilin 1", *EMBO J.*, vol. 30, nro. 23, pp. 4815–4824, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.372>
- [45] J. Pérez-Tur, "Presenilinas en la génesis de la enfermedad de Alzheimer", *Rev. Neurol.*, vol. 33, pp. 967–72, 2001. DOI: <https://doi.org/10.33588/rn.3310.2001397>

Citación del artículo:

A. P. Jara y Rivera, A. Moreno Ceballos, M. E. Castro, F. J. Melendez y N. A. Caballero, "Acoplamiento molecular entre fármacos para Alzheimer y la enzima γ -secretasa", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, nro. 2, pp. 39–46, 2025. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.117655>



Detección y cuantificación de hidrocarburos en agua y sedimentos por medio de fluorescencia usando un espectrofluorómetro comercial

Resumen

En este estudio se utilizó un espectrofluorómetro comercial (Cytation 3) para detectar hidrocarburos en muestras contaminadas artificialmente (dopadas) con agua y sedimentos por medio de fluorescencia de onda fija. Se identificaron los espectros de emisión y las señales de fluorescencia en pico de antraceno, fenantreno, pireno y fluoranteno con límites de detección 19, 89, 26 y 35 ppb, respectivamente. La recuperación de hidrocarburos en muestras dopadas de agua estuvo entre 86 y 100% individualmente, aunque en mezcla se observaron interferencias de señales por la cercanía en los picos de emisión generando aditividad. En muestras de sedimentos, la recuperación de hidrocarburos estuvo entre 10 y 25%, y hasta un 36% en mezcla.

Los resultados indican que la detección individual de los hidrocarburos es factible con base en las señales detectadas y las cuantificaciones realizadas; sin embargo, es necesario investigar interacciones con otros compuestos y su comportamiento en muestras dopadas o muestras de sitios con alta contaminación obtenidas en campo para validar su aplicación en el monitoreo ambiental.

Palabras clave: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP); contaminación ambiental; detección de bajo costo; fluorescencia.

Approach to the Detection and Quantification of Hydrocarbons in Water and Sediments by Fluorescence Using a Commercial Spectrofluorometer

Abstract

In this study, a commercial spectrofluorometer (Cytation 3) was employed to detect hydrocarbons in artificially contaminated (doped) water and sediment samples using fixed wavelength fluorescence. Emission spectra and peak fluorescence signal of anthracene, phenanthrene, pyrene, and fluoranthene were identified with detection limits of 19, 89, 26, and 35 ppb, respectively. The recovery of hydrocarbons in contaminated water samples ranged between 86 and 100% individually, although signal interferences were observed in mixture due to the proximity of the emission peaks, which generated additivity. In sediment samples, hydrocarbon recovery ranged from 10 to 25% and up to 36% in the mixture.

The results indicate that the individual detection of hydrocarbons is feasible based on the signals detected and the quantifications performed, however, it is necessary to investigate interactions with other compounds and their behavior in doped samples or samples from highly contaminated sites obtained in the field to validate their application in environmental monitoring.

Keywords: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (HAP); environmental pollution; low-cost detection; fluorescence.

Detecção e quantificação de hidrocarbonetos em água e sedimentos por fluorescência usando um espectrofluorômetro comercial

Resumo

Neste estudo, um espectrofluorômetro comercial (Cytation 3) foi empregado para detectar hidrocarbonetos em amostras de água e sedimentos artificialmente contaminados por fluorescência de comprimento de onda fixo. Foram identificados os espectros de emissão e sinais de pico de fluorescência de antraceno, fenantreno, pireno e fluoranteno, com limites de detecção de 19, 89, 26 e 35 ppb, respectivamente. A recuperação de hidrocarbonetos em amostras de água contaminada variou entre 86 e 100% individualmente, mas foram observadas interferências de sinal devido à proximidade dos picos de emissão, o que gerou aditividade. Em amostras de sedimentos, as recuperações foram entre 10 e 25% e até 36% na mistura.

Os resultados indicam que a detecção individual de hidrocarbonetos é viável com base nos espectros detectados e nas quantificações realizadas. No entanto, é necessário investigar as interações com outros compostos e seu comportamento em amostras reais obtidas em locais altamente contaminados, a fim de validar sua aplicação no monitoramento ambiental.

Palavras-chave: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos-HAPs; poluição ambiental; detecção de baixo custo; fluorescência.



Introducción

La contaminación ambiental producto de acciones antrópicas genera un desbalance en el equilibrio de entornos naturales. Los impactos se observan en varios ecosistemas, por ejemplo, los sistemas acuáticos resultan altamente afectados por vertimientos industriales o urbanos, deposición de emisiones atmosféricas, escorrentías, desechos sólidos, entre otros [1]. La presencia de múltiples compuestos xenobióticos en el ambiente impacta los ecosistemas, esto se debe a que el nivel de toxicidad de un solo compuesto de alta peligrosidad puede generar alteraciones en los organismos, tanto a nivel individual como poblacional [2].

Según la clasificación de los compuestos tóxicos, su nivel de riesgo varía dependiendo de su concentración en el ambiente (biodisponibilidad), por ende, los compuestos orgánicos persistentes (COP), aquellos que son remanentes a permanecer en el sistema, son los de mayor riesgo y peligrosidad. Algunos compuestos como los policlorobifenilos (PCB), pesticidas, organoclorados e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) han sido estudiados alrededor del mundo y se ha determinado que han sido responsables de provocar múltiples alteraciones en aves, mamíferos, reptiles, peces, entre otros animales, e incluso en humanos.

La principal característica de los COP, además de su alta toxicidad, es que tienen una alta resistencia a la degradación biológica, fotolítica o química; por lo tanto, los COP se depositan en los sedimentos de cuerpos de agua lénticos o se transportan en la columna de agua en sistemas lóticos, esto ocasiona que aumente su impacto y que hagan parte de procesos de bioacumulación en la cadena trófica [3,4]. Además, desde una perspectiva toxicológica, algunos HAP, como el benzo[a]pireno (BaP), poseen propiedades cancerígenas, teratogénicas y mutagénicas. Por todo esto, la reducción de las emisiones y vertimientos industriales se han identificado como estrategias fundamentales para mitigar los riesgos asociados a estos compuestos [5].

En la Resolución 0631 del 17 de marzo del 2015, emitida por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia, se indica que el límite máximo permisible de hidrocarburos totales en un compuesto es de 10 mg/L; sin embargo, no se tienen en cuenta compuestos individuales como los aromáticos policíclicos que, debido a su estructura química, pueden llegar a tener un mayor impacto medioambiental. A nivel internacional, México permite la descarga de 15 mg/L de hidrocarburos en fuentes de agua descargadas en agua dulce, mientras que en zona costera y zona marina el valor es de 40 mg/L. En Estados Unidos, la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) estableció el límite de exposición permisible (PEL) para el BaP en 0,2 mg/m³, por su parte, la Environmental Protection Agency (EPA) estableció para el BaP un nivel máximo de 0,01 mg/L en zonas costeras no contaminadas por HAP.

El monitoreo de hidrocarburos es fundamental para evidenciar su impacto en el medio ambiente. En este sentido, se han desarrollado diferentes técnicas que permiten determinar la presencia y la concentración de HAP en diferentes matrices como agua, sedimentos, aire y en los propios organismos que absorben estos contaminantes [6]. La cromatografía, con sus diferentes variaciones, es la técnica que más ampliamente se ha utilizado para identificar y cuantificar este tipo de contaminantes. Esta técnica permite una alta precisión para la separación de los compuestos y para la cuantificación de la concentración de cada uno de ellos. Sin embargo, es una técnica costosa, por la complejidad de equipos y materiales que se requieren, demanda un tiempo considerable para su ejecución y, además, es fundamental que se realice por personal altamente calificado, lo cual la convierte en una técnica reservada para laboratorios o centros especializados [7, 8].

También existen diferentes técnicas de fluorescencia que permiten monitorear la contaminación de hidrocarburos en matrices como aire, agua y suelo: fluorescencia simultánea sincrónica [9, 10], fluorescencia de matriz de excitación-emisión [11–13], fluorescencia de onda fija [14–17], entre otras. Esta última es una técnica simple en la cual la longitud de onda de excitación se mantiene constante mientras se mide la emisión de fluorescencia. Esto permite analizar la intensidad de la fluorescencia en función de la concentración de la muestra o el tipo de fluoróforo [18]. A pesar de su simplicidad, esta técnica proporciona información preliminar relevante en sitios donde las limitaciones son dominantes.

Diferentes investigadores han desarrollado e implementado técnicas de fluorescencia para obtener una mejor identificación y una mayor selectividad de los diferentes hidrocarburos presentes en una matriz, específicamente de los HAP [19–21]. Además, la combinación con herramientas estadísticas o técnicas complementarias han convertido a la fluorescencia en una herramienta atractiva para ser implementada en diferentes laboratorios no especializados, principalmente por los bajos costos que requiere su implementación. Si bien existe una inversión inicial para la adquisición de un equipo fluorómetro de alta capacidad, no se utiliza una cantidad elevada de reactivos o solventes para la preparación de la muestra y el personal no necesita estar altamente calificado, además de que la inversión del equipo se compensa con un amplio rango de aplicaciones [22].

Considerando las limitaciones técnicas y presupuestales que tiene la ciencia en Colombia, se hace indispensable desarrollar estrategias u optimizar los elementos existentes para poder avanzar en el monitoreo ambiental. En este sentido, el objetivo de este estudio fue utilizar el lector multimodal Cytation 3 para la detección y medición de diferentes hidrocarburos en agua y en sedimentos, además de investigar su potencial aplicabilidad como herramienta de monitoreo de sitios potencialmente expuestos a HAP.

Materiales y métodos

Equipo para detección de fluorescencia

Los análisis fueron realizados en un lector multimodal Cytation 3 (BioTek®, USA), ubicado en el Laboratorio de Toxicología y Biotecnología de la Universidad de los Llanos, el cual tiene como fuente de excitación una lámpara laser de xenón (100 mW) y un cuádruple monocromador, además de un tubo fotomultiplicador para la detección de la emisión secundaria emitida por las moléculas. La amplitud de hendidura de la rejilla (*slit width*) del monocromador está fijada de fábrica a 16 nm. Todas las lecturas fueron realizadas en placas Nunc (Thermo Scientific) de 96 pozos de color negro en polipropileno.

Preparación de soluciones madre

Se utilizaron cuatro hidrocarburos de grado analítico 99%: fenantreno (PHE) (Sigma-Aldrich), antraceno (ANT) (Merck), fluoranteno (FLU) (Tokyo Chemical) y pireno (PYR) (Merck). De cada uno se prepararon soluciones stock a concentración de 1 ppt en metanol (para análisis, EMSURE® ACS, ISO, Merck) [23]. Las soluciones se almacenaron bajo refrigeración hasta por 30 días.

Determinación de espectros de emisión

Con el fin de identificar los espectros de excitación y emisión y las señales en pico con mayor fluorescencia, se hicieron lecturas para cada hidrocarburo a una concentración de 250 ppm. Para la medición del espectro de excitación se usó el intervalo desde los 250 hasta los 360 nm; mientras que para el espectro de emisión se usó el intervalo desde los 300 hasta los 500 nm. Adicionalmente, se preparó una solución con los cuatro HAP a una concentración de 250 ppm por cada uno para determinar el comportamiento fluorescente de los hidrocarburos en una mezcla.

Determinación del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ)

Para cada hidrocarburo, se preparó una curva estándar de dilución seriada con 9 diferentes puntos desde 0 hasta 1 ppm (1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,063; 0,031; 0,016; 0,008 y 0) usando metanol como diluyente. Este procedimiento se realizó por cuadruplicado, con el fin de reducir el error experimental y aumentar la precisión de la determinación. Teniendo como base la mayor señal espectral para cada compuesto, se midió la fluorescencia de onda fija de cada dilución a la excitación específica de cada uno de los hidrocarburos evaluados. Los valores de fluorescencia obtenidos se reportaron como unidades arbitrarias fluorescentes.

Los cálculos para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se calcularon con las Ec. (1) y (2):

$$\text{LOD} = Y_b + 3S_b \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = Y_b + 10S_b \quad (2)$$

Donde Y_b es la señal del blanco y S_b es la desviación estándar de la pendiente de la regresión lineal [24].

Preparación y extracción de muestras dopadas de agua

Este procedimiento se siguió de acuerdo con el método ASTM-D5412 [25], se utilizaron 500 mL de agua desionizada para cada hidrocarburo y se adicionaron de forma separada a una concentración de 50 ppb. Este proceso se realizó por triplicado para cada hidrocarburo.

Para la extracción se usó solvente diclorometano (para análisis, EM-SURE® ACS, ISO, Merck) al 20% del volumen total de la muestra preparada. El volumen de solvente se dividió en tres partes, cada parte se agitó individualmente con la muestra de agua en un embudo de decantación durante al menos 2 min con pausas para permitir la liberación de la presión de los gases. La mezcla de agua y diclorometano se dejó reposar a temperatura ambiente (25 °C) por al menos 10 min para permitir la separación de capas y proceder a retirar el solvente en un erlenmeyer. El procedimiento se repitió con las otras partes del solvente.

Una vez se obtuvieron las tres partes de solvente, se mezclaron y se llevaron al rotoevaporador RV 10 (IKA, USA) a una temperatura de 60 °C para concentrar la muestra hasta 1 mL. Finalmente, con el fin de evitar una pérdida por evaporación de diclorometano (presión de vapor = 0,533 bar, 24 °C) se realizó una dilución con metanol en una relación final 1:10 para su lectura en microplacas de polipropileno de 96 pozos.

A partir de la curva de calibración se calculó la concentración inicial y la concentración final se calculó con la Ec. (3):

$$\text{Concentración final} = C_c \times (V_s/V_T) \quad (3)$$

Donde C_c es la concentración inicial a partir de la curva de calibración, V_s es el volumen del solvente usado en la dilución de la muestra y V_T es el volumen de agua de la muestra de la cual fue extraído.

Preparación y extracción de muestras dopadas de sedimentos

Se colectaron sedimentos en el lecho de un riachuelo (4°04'42" N, 73°34'58" W), ubicado en una zona rural, sin intervención de actividades humanas circundantes y aparentemente libre de contaminación por hidrocarburos. Con ayuda de un tubo en PVC de 2,54 cm de diámetro y 25 cm de longitud se colectaron las muestras de sedimentos hasta alcanzar aproximadamente 1000 g. Esta actividad se realizó en un trayecto no mayor a 10 m río arriba, con el fin de no tomar muestras en el lecho del riachuelo intervenido.

Los sedimentos se transportaron hasta el Laboratorio de Toxicología y Biotecnología en bolsas plásticas resellables, se pesaron y después se pusieron a secar en horno durante 24 h, a una temperatura mayor a 60 °C para facilitar la volatilización de cualquier compuesto que pudiera intervenir con la medición. Una vez seco el material, y buscando tener un tamaño homogéneo de partícula que permitiera una mejor adherencia y extracción de los hidrocarburos [26, 27], las muestras se filtraron por un tamiz de acero inoxidable con ojo de malla menor a 300 µm de diámetro, esta fracción fue la que se usó para su contaminación.

Para realizar la contaminación individual de cada hidrocarburo, se usaron 7 g de sedimento en una caja de Petri y se les aplicó una solución de 50 ppb de cada hidrocarburo en 5 mL de metanol para cada uno, se hizo la exposición por triplicado. La solución se aplicó con una micropipeta, se distribuyó sobre toda la superficie para humedecer toda la muestra de sedimento, se dejó en reposo a temperatura ambiente y cubierta con la tapa de la caja Petri durante 10 min para aumentar el tiempo de contacto del sedimento. Posteriormente se abrió el recipiente y se cubrió con papel de aluminio perforado para permitir la evaporación del metanol y evitar algún efecto de degradación lumínica de los HAP [28].

Una vez se obtuvo la muestra contaminada, se introdujo en un papel filtro en la cámara de extracción del equipo Soxhlet y se agregó diclorometano en el balón de fondo redondo a una relación de 1:10 (sedimento:solvente). El equipo Soxhlet se configuró con el fin de realizar seis reflujos por hora durante 4 h con el fin de permitir la liberación de los analitos de la muestra.

Finalizadas las 4 h, el solvente se transfirió a un balón con acople para rotaevaporador y se concentró el extracto orgánico a una temperatura de 60 °C hasta 1 mL aproximadamente. Posteriormente, se diluyó con metanol en una relación 1:10, con el fin de realizar la lectura con las placas de poliestireno, el anterior procedimiento fue hecho con base al método EPA 3540B [1].

La concentración final de cada muestra de sedimento se calculó teniendo en cuenta el valor obtenido por medio del análisis de regresión lineal. El valor obtenido se multiplicó por el factor de dilución de la muestra. Finalmente, para obtener el porcentaje de recuperación se aplicó la Ec. (4) [30]:

$$\text{Porcentaje de recuperación} = C_i/C_f \times 100 \quad (4)$$

Dónde C_i es la concentración inicial aplicada a la muestra de suelo o agua y C_f es la concentración obtenida a partir de los cálculos para agua o suelo.

Tanto para los sedimentos como para el agua, se realizó una mezcla de los cuatro hidrocarburos (PHE, PYR, FLU y ANT) a una concentración de 50 ppb cada uno. Se realizó por triplicado para cada matriz con el fin de evaluar el método de recuperación y el comportamiento fluorescente en cada matriz con varios hidrocarburos. Los procedimientos se siguieron tal y como se describieron para cada matriz.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados en Excel 2016 (Microsoft, USA), en el programa se realizó el análisis regresión lineal sobre las curvas de calibración de cada hidrocarburo. Los datos de extracción, detección y cuantificación se presentan como la media $\pm$ desviación estándar. El análisis espectral y la elaboración de las gráficas se realizaron en Matlab (ver R2023b).

Resultados y discusión

Espectros de emisión

Fue posible identificar las señales de excitación en pico y las longitudes de emisión en pico utilizando escaneo espectral para los

cuatro diferentes HAP. Para ANT, PHE, FLU y PYR, las longitudes de excitación en pico fueron 330, 293, 329 y 330 nm, respectivamente, y las longitudes de emisión en pico fueron 401, 363, 459 y 384 nm, respectivamente (**figura 1**). A pesar de que el equipo Cytation 3 no tiene una buena definición espectral debido a su configuración de fábrica (*slit width*: 16 nm), es posible diferenciar cada espectro con base en la estructura de fluorescencia identificada particular para cada caso.

Los fluorómetros de alto rendimiento con apertura de hendidura variable permiten ajustar con precisión la selectividad y la sensibilidad en la discriminación y medición de fluoróforos. El aumento del ancho de banda de excitación conduce a una mayor energía de excitación, mientras que el aumento de la energía de excitación conduce a una mayor intensidad de fluorescencia [31]. Es importante destacar que la fluorescencia del blanco es insignificante respecto a la fluorescencia de los hidrocarburos evaluados.

Para el caso del PYR, se destaca un pico de emisión predominante a 459 nm, el cual puede ser provocado por el excímero generado entre el PYR y el metanol, el tiempo de vida de la fluorescencia y su estado entre los niveles vibracionales [32, 33].

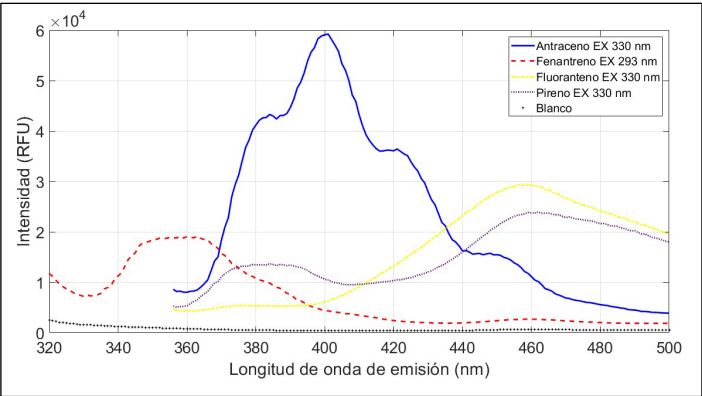


Figura 1. Espectro de emisión de antraceno (ANT), fenantreno (PHE), pireno (PYR) y fluoranteno (FLU) a concentración de 250 ppm en metanol.

En la **figura 1** es posible identificar los espectros de emisión de cada hidrocarburo de manera individual; sin embargo, los espectros de FLU y PYR se superponen, lo que conlleva a un reto mayor para identificarlos individualmente en mezcla como se evidencia en la **figura 2**, allí también se observa el espectro de la mezcla de los cuatro hidrocarburos en las dos excitaciones reportadas previamente. En ninguno de los dos espectros se pueden diferenciar claramente los espectros de FLU ni el segundo pico de PYR; en cambio, se observa una sola señal de fluorescencia en pico producto de una posible aditividad de señales, en el momento en que FLU y PYR tienen el pico de emisión en la misma longitud de onda (459 nm). Este comportamiento ha sido observado con otros fluoróforos con los que se realiza la determinación simultánea y se logra diferenciar cada uno de los espectros por medio de algoritmos de regresión lineal [34].

Por otro lado, como se observa en la **figura 2**, tanto ANT como PYR, que tienen una señal de fluorescencia en pico de emisión a 384 nm, son completamente diferenciables en la mezcla. Adicionalmente, el PHE aparentemente se mimetiza por la intensidad del ANT, el cual tiene una mayor intensidad (fluorescencia) y solo se observa un hombro a la longitud de onda de emisión de este hidrocarburo (363 nm). A partir de este análisis se puede establecer que el comportamiento fluorescente de los HAP evaluados es dependiente de los fluoróforos que se encuentran en la mezcla, y no de su estado individual.

De acuerdo con lo reportado por Patra y Mishra [23], la cantidad de hidrocarburos presentes en una mezcla puede modificar la calidad de identificación de los compuestos a nivel individual, e incluso modificar la efectividad de la medición si se desconocen los com-

puestos. Por otra parte, Sunuwar y Manzanare [35] reportan que la medición convencional de fluorescencia puede ser compleja y no necesariamente revelar la totalidad de los compuestos en la mezcla, por lo tanto, aseguran que la combinación de técnicas adicionales como la fluorescencia asincrónica y algunas herramientas computacionales pueden permitir realizar una medición mucho más completa y precisa. Esta premisa indica que el trabajo en perspectiva puede continuar con la integración de herramientas estadísticas o técnicas complementarias que aumenten la precisión en la detección de los compuestos tipo hidrocarburos.

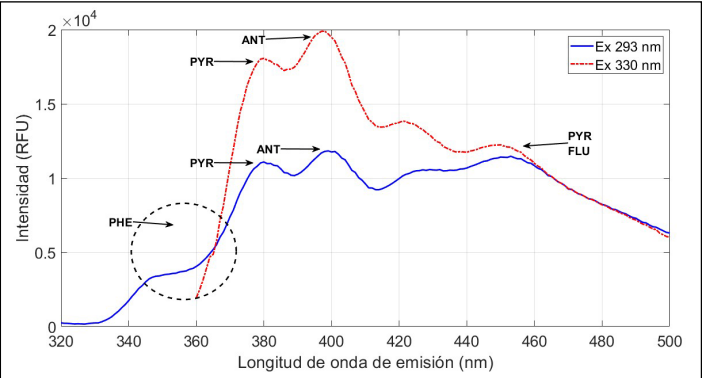


Figura 2. Espectros de emisión de una mezcla de pireno (PYR), antraceno (ANT), fenantreno (PHE) y fluoranteno (FLU) a concentración de 250 ppm cada uno.

Determinación del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ)

Con base en las curvas estándar y la regresión lineal se determinaron el LOD y el LOQ para el equipo Cytation 3, los cuales se reportan en la **tabla 1**. Los LOD estuvieron entre 0,0183 y 0,0891 ppm, siendo el más bajo para el ANT, mientras que los LOQ se ubicaron entre 0,0608 y 0,2816 ppm, siendo el menor valor también para el ANT. Estos datos nos indican que gracias a sus propiedades fluorescentes los compuestos pueden ser detectados a muy bajas concentraciones.

Tabla 1. Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) para antraceno (ANT), pireno (PYR), fluoranteno (FLU) y fenantreno (PHE).

Hidrocarburo	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
Antraceno	0,0183	0,0608
Fenantreno	0,0891	0,2816
Fluoranteno	0,0267	0,0844
Pireno	0,0357	0,1129

En la **tabla 2** se presenta el análisis de regresión lineal realizado para los hidrocarburos evaluados. Es posible identificar que para los cuatro HAP la regresión lineal se ajustó apropiadamente de acuerdo con el parámetro de determinación $R^2 > 0,99$; además, se evidencia una linealidad entre la concentración de los compuestos y la intensidad de fluorescencia.

Tabla 2. Análisis de regresión lineal a partir de la curva de calibración de HAP diluidos en metanol.

Hidrocarburo	Pendiente	Intercepto	R ²	Ecuación
Antraceno	1891,3	4,88	0,9999	$y = 4,88 + 1891,3x$
Fenantreno	530,4	83,51	0,9944	$y = 83,51 + 530,4x$
Fluoranteno	1798,3	16,64	0,9994	$y = 16,64 + 1798,3x$
Pireno	2957,8	36,49	0,9991	$y = 36,49 + 2957,8x$

Concentración final y porcentaje de recuperación de las muestras por extracción Soxhlet

Los resultados de la determinación en muestras de agua de forma individual permiten evidenciar que hay una variación en el porcentaje de recuperación entre el 86 y el 101% para los cuatro hidrocarburos, siendo la mayor para FLU y la menor para PHE (tabla 3). Considerando que el porcentaje de recuperación se debe acercar al 100%, los valores obtenidos son aceptables para el método desarrollado de manera individual para cada hidrocarburo.

Un comportamiento similar fue reportado por Kafizadeh et al. [36, 37] con porcentajes de recuperación para 16 hidrocarburos entre el 91 y el 96%. Caso contrario ocurrió con la medición de la mezcla de los cuatro hidrocarburos en agua porque los porcentajes de recuperación variaron considerablemente entre el 52 y el 146%, siendo el más alto para el ANT y el más bajo para el PHE (tabla 3). Esta variación en los valores de recuperación se puede explicar debido al comportamiento fluorescente observado para la mezcla de los cuatro hidrocarburos (figura 2), allí se genera posiblemente una interferencia de uno o más hidrocarburos al momento de realizar la detección de la emisión de cada hidrocarburo, esto ocasiona que haya valores de recuperación por encima del 100%, como se observa para el caso del PYR y el ANT.

Santa et al. [38] reportaron valores similares de extracción para hidrocarburos totales y volátiles usando extracción líquido-líquido, e indican que esto puede ocurrir por una volatilización de los analitos durante la etapa de evaporación previa a la determinación cromatográfica. Así mismo, destacan que el solvente diclorometano generó un solapamiento de señales y compuestos volátiles. En este sentido, se podría generar una coelución para la determinación fluorométrica de los compuestos.

Tabla 3. Concentración y porcentaje de recuperación de hidrocarburos en muestras dopadas de aguas y sedimentos con hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

Hidrocarburo patrón	Agua individual		Sedimento individual	
	Concentración (ppm)	Porcentaje de recuperación (%)	Concentración (ppm)	Porcentaje de recuperación (%)
Antraceno	0,048 ± 0,002	97	0,024 + 0,003	24
Fluoranteno	0,051 ± 0,009	101	0,005 + 0,001	10
Fenantreno	0,043 ± 0,003	86	0,008 ± 0,004	17
Pireno	0,048 ± 0,009	96	0,012 ± 0,005	25
	Agua con mezcla de cuatro hidrocarburos		Sedimento con mezcla de cuatro hidrocarburos	
	Concentración (ppm)	Porcentaje de recuperación (%)	Concentración (ppm)	Porcentaje de recuperación (%)
Antraceno	0,073 ± 0,003	146	0,003 ± 0,003	8
Fluoranteno	0,046 ± 0,007	92	0,006 ± 0,002	13
Fenantreno	0,025 ± 0,003	52	0,011 ± 0,004	24
Pireno	0,071 ± 0,009	142	0,018 ± 0,006	36

Con respecto a la determinación en muestras de sedimentos, la variación de los porcentajes de recuperación fue menor que en el agua. La medición individual de los cuatro hidrocarburos varió entre el 10 y 25%, siendo mayor para PYR y menor para FLU; mientras que la medición de la mezcla de los cuatro hidrocarburos varió entre el 8 y 36%, siendo mayor para PYR y menor para ANT. A partir de estos datos es posible inferir alguna de estas dos hipótesis:

1. La técnica de extracción Soxhlet con base en el tiempo y solvente usados no fueron adecuados para extraer y recuperar la muestra dopada (spike) de hidrocarburos, aunque existen reportes de la idoneidad de este método para la extracción de hidrocarburos en muestras sólidas en comparación con otras técnicas como baños de ultrasonido [39]. Así mismo, Castro-Guijarro et al. [40] reportan la importancia de utilizar un método de extracción mini Soxhlet acelerado que reduce el consumo de volumen de solvente y el tiempo de ejecución en un 90%. Esto indica una efectividad del método y una optimización de este. Por otro lado, si bien el método de ultrasonido es efectivo para la extracción de HAP en sedimentos, y es amigable con el medio ambiente debido a que el uso de solventes es menor o a que se puede sustituir un disolvente orgánico por otro tipo de sustancia como las micelas, los baños o las sondas de ultrasonido no son frecuentemente encontrados en los laboratorios [41].

2. La muestra dopada (spike) no se adhirió en su totalidad al sedimento, a pesar de contar con referencias que avalaban la prevalencia de adherencia a partículas de menor tamaño [26, 27]. La evaporación de los compuestos con el solvente (metanol) puede ser la causa; sin embargo, se debe considerar que la presión de vapor de los compuestos evaluados varía entre $1,75 \times 10^{-6}$ y $2,5 \times 10^{-6}$ mm Hg [42], mientras que la del metanol es de 127 mm Hg [43], considerablemente mucho más alta que la de los hidrocarburos.

Conclusiones

La fluorescencia se ha constituido como una herramienta fundamental para la química analítica, y en este estudio fue posible realizar la detección de HAP de manera individual con ANT, PYR, FLU y PHE, tanto como compuestos puros como en su adición en muestras de agua. Los coeficientes de determinación para cada hidrocarburo fueron mayores a 0,99, esto da cuenta de una linealidad entre la intensidad de fluorescencia y el incremento de la concentración. Entre las múltiples funciones del espectrofluorómetro Cytation 3, no se destaca su uso en este tipo de determinaciones, por lo tanto, es un valor agregado poder identificar que la señal fluorescente de los compuestos evaluados es fácilmente detectada por el equipo en concentraciones mayores o iguales a 19 ppb, este valor es cercano a los detectados por medio de cromatografía, técnica estandarizada a nivel mundial que implica un mayor número de retos técnicos y económicos, a diferencia de la fluorescencia.

A pesar de que individualmente la calidad espectral de los diferentes HAP evaluados cuenta con una buena resolución y son diferenciables, a nivel de mezcla se complejiza su identificación, principalmente por la aditividad de señales. En trabajos posteriores será conveniente evaluar un número de mediciones tanto en emisión como en excitación con el fin de integrar técnicas estadísticas como factores paralelos (PARAFAC).

Con respecto a la determinación en sedimentos, la solución en metanol-hidrocarburos no permitió asegurar la completa adhesión del hidrocarburo a las partículas, por lo que, en futuros ensayos, será conveniente el uso de otros solventes con un coeficiente de partición (KOW) más alto. En resumen, el equipo Cytation 3 tiene un uso potencial para la detección de hidrocarburos y se plantea continuar utilizando este equipo para evaluar un mayor número de hidrocarburos, así como muestras de agua o sedimentos contaminadas por HAP, todo con el objetivo de confirmar su aplicación en el monitoreo ambiental.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por Colciencias, ANH y la Universidad de los Llanos, proyecto número 112272151869, contrato 162-2016, convocatoria 721-2015 (Convocatoria para la formación de recurso humano en Colombia en el área de hidrocarburos, a través de proyectos de investigación). De igual manera agradecemos al Labora-

torio de Química y al Grupo de Investigación Elite de la Universidad de los Llanos por permitirnos usar sus instalaciones para realizar algunos procedimientos.

Referencias

- [1] B. Malmqvist y S. Rundle, "Threats to the running water ecosystems of the world", *Environ. Conserv.*, vol. 29, nro. 2, pp. 134–153, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0376892902000097>.
- [2] L. Dsikowitzky y J. Schwarzbauer, "Industrial organic contaminants: identification, toxicity and fate in the environment", *Environ. Chem. Lett.*, vol. 12, nro. 3, pp. 371–386, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0467-1>.
- [3] A. O. Adeniji, O. O. Okoh y A. I. Okoh, "Analytical Methods for the Determination of the Distribution of Total Petroleum Hydrocarbons in the Water and Sediment of Aquatic Systems: A Review", *J. Chem.*, vol. 2017, e5178937, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5178937>.
- [4] A. Mojiri, J. L. Zhou, A. Ohashi, N. Ozaki y T. Kindaichi, "Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments", *Sci. Total Environ.*, vol. 696, p. 133971, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133971>.
- [5] T. Ohe, T. Watanabe y K. Wakabayashi, "Mutagens in surface waters: a review", *Mutat. Res. Mutat. Res.*, vol. 567, nro. 2–3, pp. 109–149, 2004.
- [6] I. Dimbarre Lao Guimarães, F. Casanova Monteiro, J. Vianna da Anunciação de Pinho, P. de Almeida Rodrigues, R. Gomes Ferrari y C. Adam Conte-Junior, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic animals: a systematic review on analytical advances and challenges", *J. Environ. Sci. Health Part A*, vol. 57, nro. 3, pp. 198–217, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/10934529.2022.2048614>.
- [7] V. Bansal, P. Kumar, E. E. Kwon y K.-H. Kim, "Review of the quantification techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food products", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 57, nro. 15, pp. 3297–3312, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1116970>.
- [8] S. Felemban, P. Vazquez y E. Moore, "Future Trends for In Situ Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Sources: The Role of Immunosensing Techniques", *Biosensors*, vol. 9, nro. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios9040142>.
- [9] D.-L. Lin, Z.-X. Zou, L.-F. He y Y.-Q. Li, "Rapid screening method for simultaneous determination of four polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by derivative non-linear variable-angle synchronous fluorescence spectrometry", *Luminescence*, vol. 20, nro. 4–5, pp. 292–297, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/bio.834>.
- [10] Y. Q. Li et al., "Synchronous fluorescence spectroscopy and its applications in clinical analysis and food safety evaluation", en *Reviews in fluorescence 2010*, Springer, 2011, pp. 95–117.
- [11] W. G. Mendoza, D. D. Riemer y R. G. Zika, "Application of fluorescence and PARAFAC to assess vertical distribution of subsurface hydrocarbons and dispersant during the Deepwater Horizon oil spill", *Environ. Sci. Process. Impacts*, vol. 15, nro. 5, pp. 1017–1030, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3EM30816B>.
- [12] K. C. Araújo, E. T. Nóbrega, A. J. Moreira, S. G. Lemos, W. D. Frago y E. C. Pereira, "Fast and efficient processes for oxidation and monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental matrices", *Catal. Commun.*, vol. 187, p. 106834, 2024.
- [13] H. Wang et al., "Application of parallel factor analysis model to decompose excitation-emission matrix fluorescence spectra for characterizing sources of water-soluble brown carbon in PM_{2.5}", *Atmos. Environ.*, vol. 223, p. 117192, 2020.
- [14] A. K. Driskill, J. Alvey, A. D. Dotson y P. L. Tomco, "Monitoring polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) attenuation in Arctic waters using fluorescence spectroscopy", *Cold Reg. Sci. Technol.*, vol. 145, pp. 76–85, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2017.09.014>.
- [15] N. Hanson y Å. Larsson, "Fixed wavelength fluorescence to detect PAH metabolites in fish bile: Increased statistical power with an alternative dilution method", *Environ. Monit. Assess.*, vol. 144, nro. 1, pp. 221–228, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-007-9980-z>.
- [16] H. Vuontisjärvi, M. Keinänen, P. J. Vuorinen y K. Peltonen, "A Comparison of Hplc with Fluorescence Detection and Fixed Wavelength Fluorescence Methods for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolites in Fish Bile", *Polycycl. Aromat. Compd.*, vol. 24, nro. 4–5, pp. 333–342, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1080/10406630490468478>.
- [17] E. Aas, J. Beyer y A. Goksoyr, "Fixed wavelength fluorescence (FF) of bile as a monitoring tool for polyaromatic hydrocarbon exposure in fish: an evaluation of compound specificity, inner filter effect and signal interpretation", *Biomarkers*, vol. 5, nro. 1, pp. 9–23, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1080/135475000230505>.
- [18] J. R. Lakowicz (ed.), *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Boston, Springer US, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.
- [19] A. Baker et al., "Investigation of Pollution in Rivers and Groundwater by Fluorescence", en *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, 2019, pp. 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9412.pub2>.
- [20] M. Kim et al., "Hebei Spirit oil spill monitored on site by fluorometric detection of residual oil in coastal waters off Taean, Korea", *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 60, nro. 3, pp. 383–389, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.10.015>.
- [21] D. Patra, "Applications and New Developments in Fluorescence Spectroscopic Techniques for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 38, nro. 2, pp. 155–185, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1081/ASR-120021166>.
- [22] I. Nuñez et al., "Low cost and open source multi-fluorescence imaging system for teaching and research in biology and bioengineering", *PloS One*, vol. 12, nro. 11, e0187163, 2017.
- [23] D. Patra y A. K. Mishra, "Investigation on simultaneous analysis of multicomponent polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in water samples: a simple synchronous fluorimetric method", *Talanta*, vol. 55, nro. 1, pp. 143–153, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00404-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00404-0).
- [24] A. Shrivastava y V. B. Gupta, "Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods", *Chron Young Sci*, vol. 2, nro. 1, pp. 21–25, 2011.
- [25] ASTM, "ASTM D5412-93(2011) - Standard Test Method for Quantification of Complex Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Mixtures or Petroleum Oils in Water", 2011. [En línea]. Disponible en: <https://webstore.ansi.org/standards/astm/astmd5412932011>. [Último acceso: 04/08/2023].
- [26] X. Liao, D. Ma, X. Yan y L. Yang, "Distribution pattern of polycyclic aromatic hydrocarbons in particle-size fractions of coking plant soils from different depth", *Environ. Geochem. Health*, vol. 35, nro. 3, pp. 271–282, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10653-012-9482-y>.
- [27] L. Sun y S. Zang, "Relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and particle size in dated core sediments in Lake Lianhuan, Northeast China", *Sci. Total Environ.*, vol. 461–462, pp. 180–187, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.102>.
- [28] B. Sklářšová, P. Šimon, E. Kolek, P. Šimko y A. Bednářiková, "Non-isothermal Kinetics of Benzo[a]Pyrene Photooxidation in Glyceryl Trioctanoate", *Polycycl. Aromat. Compd.*, vol. 32, nro. 4, pp. 580–588, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1080/10406638.2011.645266>.
- [29] EPA, "SW-846 On-line | Test Methods | Wastes | US EPA-version 5", 2016. [En línea]. Disponible en: <https://archive.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/web/html/index-3.html#table>. [Último acceso: 08/08/2023].
- [30] MOE, "Protocol for Analytical Methods Used in the Assessment of Properties under Part XV.1 of the Environmental Protection

- Act and excess soil quality", 2004. [En línea]. Disponible en: <https://www.ontario.ca/page/updated-protocol-analytical-methods-used-assessment-properties-under-part-xv1-environmental>.
- [31] A. J. Gomes, C. N. Lunardi, F. S. Rocha y G. S. Patience, "Experimental methods in chemical engineering: Fluorescence emission spectroscopy", *Can. J. Chem. Eng.*, vol. 97, nro. 8, pp. 2168–2175, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/cjce.23506>.
- [32] G. K. Bains, S. H. Kim, E. J. Sorin y V. Narayanaswami, "The Extent of Pyrene Excimer Fluorescence Emission Is a Reflector of Distance and Flexibility: Analysis of the Segment Linking the LDL Receptor-Binding and Tetramerization Domains of Apolipoprotein E3", *ACS Publications*, vol. 51, nro. 31, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi3005285>.
- [33] J. Hoche, H.-C. Schmitt, A. Humeniuk, I. Fischer, R. Mitrić y M. I. Röhr, "The mechanism of excimer formation: an experimental and theoretical study on the pyrene dimer", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 19, nro. 36, pp. 25002–25015, 2017.
- [34] G. de Armas, M. Miró, J. M. Estela y V. Cerdà, "Simultaneous determination of fluorophores with overlapped spectra by sequential injection analysis coupled to variable angle scanning fluorescence spectrometry and multivariate linear regression algorithms", *Anal. Chim. Acta*, vol. 471, nro. 2, pp. 173–186, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00929-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00929-7).
- [35] S. Sunuwar y C. E. Manzanares, "Excitation, emission, and synchronous fluorescence for astrochemical applications: Experiments and computer simulations of synchronous spectra of polycyclic aromatic hydrocarbons and their mixtures", *Icarus*, vol. 370, p. 114689, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2021.114689>.
- [36] F. Kafilzadeh, "Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediments of the Soltan Abad River, Iran", *Egypt. J. Aquat. Res.*, vol. 41, nro. 3, pp. 227–231, 2015.
- [37] F. Kafilzadeh, A. H. Shiva y R. Malekpour, "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water and sediments of the Kor River, Iran", *Middle-East J. Sci. Res.*, vol. 10, nro. 1, pp. 1–7, 2011.
- [38] J.-R. Santa, M. Serrano y E. Stashenko, "Análisis comparativo de diferentes métodos de extracción de hidrocarburos presentes en aguas residuales industriales", *Cienc. Tecnol. Futuro*, vol. 2, nro. 3, pp. 49–60, 2002.
- [39] O. M. Viera Ribot, S. Morales Fernández, O. M. Viera Ribot y S. Morales Fernández, "Comparación de los métodos de extracción para hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos marinos empleando soxhlet y baño ultrasónico", *Cent. Azúcar*, vol. 47, nro. 3, pp. 14–23, 2020.
- [40] P. A. Castro-Guijarro, E. R. Álvarez-Vázquez y A. J. Fernández-Espinosa, "A rapid Soxhlet and mini-SPE method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particles", *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 413, nro. 8, pp. 2195–2206, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03188-9>.
- [41] M. de las M. Aramburu Domínguez, "Extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos de muestras de interés medioambiental mediante ultrasonidos", *MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, nro. 25, 2017.
- [42] M. K. Patel, H. K. Sahoo, M. K. Nayak y C. Ghanshyam, "Plausibility of variable coverage high range spraying: Experimental studies of an externally air-assisted electrostatic nozzle", *Comput. Electron. Agric.*, vol. 127, pp. 641–651, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.021>.
- [43] National Center for Biotechnology Information, "PubChem Compound Summary for CID 887, Methanol". [En línea]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methanol>. [Último acceso: 31/08/2023].

Citación del artículo:

D. A. Mora Solarte, A. González Reina, I. Calderón Delgado y Y. Velasco Santamaría, "Detección y cuantificación de hidrocarburos en agua y sedimentos por medio de fluorescencia usando un espectrofluorómetro comercial", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 53, nro. 2, pp. 47–53, 2025. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v53n2.115720>.