

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS**



SÍNTESIS DE NUEVOS SENSORES QUÍMICOS BASADOS EN PERILENO MONOIMIDAS

**Trabajo para optar el Título a Nivel Licenciatura en Ciencias
Químicas**

Postulante : Marcos Heriberto Quiroz Mendoza

Asesora : Ph.D. Giovanna Almanza V.

Tribunal ; M.Sc. Carlos Santelices G.

**La Paz – Bolivia
2017**

INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	3
2.1 Formación de Imidas	3
2.2 Monobromación	3
2.3 Reacción de Suzuki	4
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo general	6
3.2 Objetivos específicos	6
4. MATERIALES Y REACTIVOS	6
5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	7
5.1 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida	7
5.2 Síntesis de N-(1-(1adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida	9
5.3 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida.	10
5.4 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida.	11
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES	13
7. CONCLUSIONES	19
8. BIBLIOGRAFÍA	20

ANEXO (TRABAJO REALIZADO EN LA EMPRESA HISPANAGAR)

1. INTRODUCCIÓN	22
2. DATOS DE LA EMPRESA	23
2.1 Compañía	23
2.2 Materias primas	24
2.3 Productos	24
2.4 El agar	25
2.4.1 Agarosa	25
2.4.2 Agarpectina	26
2.5 Especies tratadas	27
2.6 Tipos de agar producido	29
2.6.1 Agar alimenticio	29
2.6.2 Agar bacteriológico	31
2.7 Aplicaciones	31
2.7.1 Alimentación	31
2.7.2 Microbiología	32
2.7.3 Biología molecular	32
3 OBJETIVOS	32
4 TRABAJO REALIZADO EN LA EMPRESA	33
4.1 Determinación de los rendimientos por especie:	33
4.1.1 Pesaje de la muestra:	33
4.1.2 Reacción con el agente alcalino:	33
4.1.3 Tratamiento sólido-líquido	34
4.1.4 Regulación del pH	34
4.1.5 Extracción Térmica	34
4.2 Separación por membrana	34

4.2.1	Gelificación	35
4.2.2	Prensado	35
4.2.3	Preparación del gel	35
4.2.4	Ensayo Fisicoquímico	36
4.3	Medición de la saturación de la base	36
4.4	Optimización del proceso de extracción	37
4.5	Ensayo de tamizado	37
4.6	Medición de la fuerza de gel	38
5	RESULTADOS	38
6	COMPETENCIAS QUE ME FUERON FAVORABLES	39
7	VALORACIONES PERSONALES	40
8	CONCLUSIONES:	41
9	BIBLIOGRAFIA	42

1. INTRODUCCIÓN:

Las perileno monoimidadas (PMI) y perilenobisimidadas (PBI) son derivados de perileno altamente fluorescentes, estables y pueden ser fácilmente modificadas en sus estructuras sin pérdida de sus propiedades fotofísicas, así, las perilenomonoimidadas y diimidadas son altamente solubles en disolventes orgánicos comunes y muestran un color intenso con una fuerte fluorescencia¹. Debido a estas características, las perileno monoimidadas y bisimidadas se han empleado como sondas fluorescentes o como componentes en la transferencia de electrones².

En general, los derivados del perileno se han utilizado en el campo de los sensores actuando como sondas fluorescentes en imagen de células vivas, por ejemplo, como sensores químicos para glucagón, dopamina, o para detectar la dinámica de membrana. Debido a su color intenso y su estabilidad se han utilizado también como pigmentos orgánicos, como colorantes en aplicaciones láser o como colectores de fluorescencia³, entre otros ejemplos del uso generalizado de los colorantes fluorescentes en el diagnóstico molecular y microscopía de fluorescencia. Su utilidad se debe sobre todo a su estabilidad térmica y su estabilidad fotoquímica⁴.

Debido a esa estabilidad se han utilizado también en la industria de pinturas y lacas, particularmente en la industria del automóvil y como cromóforos clave para aplicaciones de alta tecnología tales como los procesos de reprografía, o colectores solares fluorescentes⁵.

Un patrón de sustitución común de estos colorantes está en las posiciones exteriores *peri*, que suelen estar sustituidas con funciones de imida que conducen a las respectivas monoimidadas o bisimidadas. Debido a que son grupos aceptores de electrones, su presencia aumenta drásticamente la fotoestabilidad del cromóforo⁶.

Los colorantes y pigmentos derivados del perileno se han utilizado en diferentes campos científicos que van desde la química supramolecular a la electrónica orgánica y la investigación de células solares⁷.

Especialmente los derivados de 3,4,9,10-perileno-tetracarboxilo bisanhídrido (PBA) han sido punto de partida de muchos colorantes y pigmentos sintetizados. El acceso industrial hacia esta clase de sustancias fue desarrollado por Kardos en 1912-1913 utilizando acenapteno como material de partida. En un primer paso una oxidación con pentóxido de vanadio como catalizador dio lugar a 1,8-naftaleno-2 dicarboxanhídrido. La formación de imidas con amoníaco produjo 1,8-naftaleno-dicarboximida. Un acoplamiento oxidativo final en una fusión alcalina dio lugar al perileno 3,4,9,10-tetracarboxibisimida (PBI), que fue hidrolizado con ácido sulfúrico a altas temperaturas (220 °C) para dar lugar al perileno-3,4,9,10-tetracarboxilo bisanhídrido (PBA), que suele ser el punto de partida de la síntesis de derivados más complejos.

Otra aplicabilidad de los derivados de perileno con monoimidias es la de agentes para la angiogénesis (esencial para el crecimiento tumoral y la metástasis)⁸, son eficaces para la terapia del cáncer, así también dentro el campo de la medicina, algunos derivados de perileno monoimida se han utilizado como un materiales fluorescentes anisotrópicos⁹, de la misma manera se investigó si algunos compuestos de estas familias podrían regular la expresión génica de VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), en células de cáncer de pulmón.

Una aplicación de las perileno monoimidias, está en el campo de los sensores químicos, actuando como un sensor fotosensible a diversos agentes ya sean iones, especies oxidantes o especies reductoras, a partir del estudio de la sensibilidad que tendría una disolución frente a los analitos respectivos, y estudiando las variaciones en la fluorescencia del reactivo de partida (figura 1).

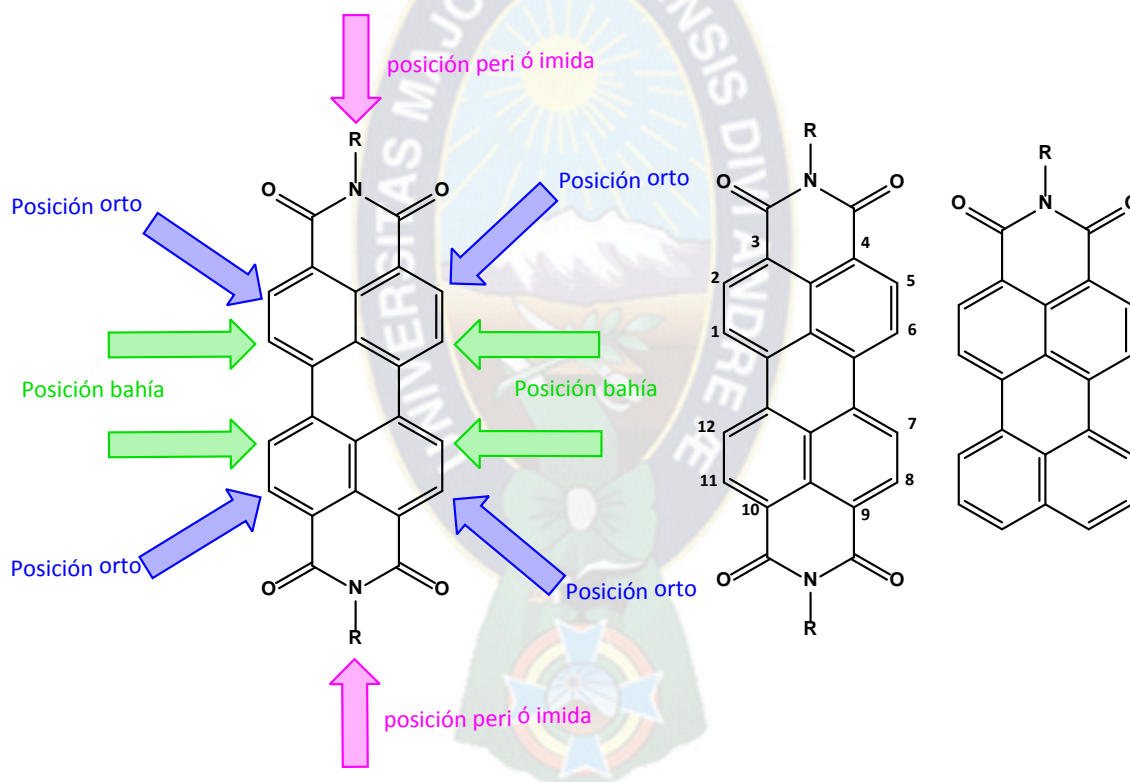


Figura 1: Descripción de las posiciones de la perilendiimida y un ejemplo de perileno monoimida

2. FUNDAMENTO TEÓRICO:

2.1 Formación de Imidas:

En química orgánica, imida es un grupo funcional que consiste en dos grupos carbonilo enlazados a un átomo de nitrógeno. Las imidas generalmente son preparadas partiendo de amoníaco o una amina primaria y un ácido carboxílico o anhídrido acético.

Muchas imidas son monómeros usados en la preparación de poliimidas. Las imidas más comúnmente usadas para esto, están basadas en ácidos di carboxílicos aromáticos de peso molecular moderadamente alto. Algunas imidas están contenidas en heterociclos, como por ejemplo la ftalamida, la cual es derivada del ácido ftálico. Esta imida es un intermediario en la preparación del colorante ftalocianina. Algunas ftalimidas tienen propiedades luminiscentes.

El grupo funcional imida está presente en la base nitrogenada uracilo del ARN y en la timina del ADN, así como también participa en los puentes de hidrógeno de Watson-Crick cuando el nitrógeno de la imida actúa como un donador de enlace de hidrógeno y el oxígeno carbonílico actúa como aceptor.

Las imidas pueden ser utilizadas en combinación con moléculas de perileno para dar paso a compuestos con aplicabilidad de colorantes en celdas solares, en el campo de la medicina, como colorantes en pinturas de laca, o como detector de compuestos ya que sumado al perileno muestra una fluorescencia típica.

2.2 Monobromación:

Es la preparación de un bromuro de arilo a partir de un compuesto aromático con bromo molecular y hierro. Debido a que se usa bromo molecular, un reactivo oxidante poderoso, corrosivo, tóxico y contaminante, la reacción resulta extremadamente peligrosa, además de costosa. Además, en la reacción de bromación de anillos aromáticos de los dos átomos de bromo (Br_2) que constituyen la molécula únicamente se aprovecha uno, el otro se desperdicia al generarse bromuro de hidrógeno.

La reacción de sustitución electrofílica aromática ocurre por la interacción entre un intermediario positivo o electrófilo y los electrones del anillo aromático, el bromo es muy selectivo y sustituye los hidrógenos que se encuentran en los carbonos más sustituidos (carbonos de los que parten más cadenas)¹⁰

La molécula Br_2 , interacciona con el átomo de hierro del FeBr_3 de forma que uno de los pares electrónicos libres del átomo de bromo llena un orbital vacío del hierro. Esta interacción ácido-base de Lewis genera un intermedio reactivo porque el enlace Br-Br se ha debilitado como consecuencia de la polarización del enlace. De hecho sobre uno de los átomos de bromo existe una carga parcial positiva (figura 2).

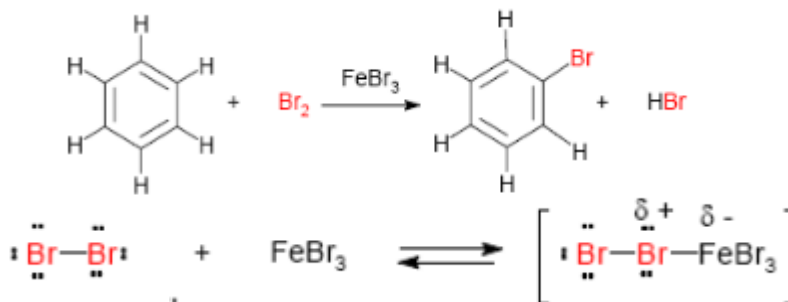


Figura 2: Monobromación

2.3 Reacción de Suzuki:

Un proceso fundamental catalizado por paladio es el conocido como reacción de Suzuki, la cual consiste en la formación de enlaces carbono-carbono catalizada por paladio mediante el uso de organoboranos. La aplicación más extendida de esta reacción consiste en la preparación de estructuras acopladas (unión de dos moléculas iguales o diferentes), las cuales son de gran importancia en áreas como la preparación de moléculas biológicamente activas o materiales conjugados con aplicaciones tecnológicas.

Desde que fue descrita por primera vez en el año 1979 por Suzuki esta reacción ha estado sometida a un constante proceso de mejora, enfocado a conseguir condiciones de reacción cada vez más suaves y tolerantes con el mayor número de sustratos posibles. Estas mejoras se han centrado principalmente en el desarrollo de aditivos diseñados para actuar como ligandos.

Ya que muchas reacciones de acoplamiento incluyen reactivos que son muy susceptibles a la presencia de agua o de oxígeno, sería razonable suponer que todas las reacciones de acoplamiento se deben realizar con la estricta exclusión de agua, es posible realizar reacciones de acoplamiento basadas en compuestos de paladio en soluciones acuosas. En general, el oxígeno del aire posee mayor capacidad para alterar las reacciones de acoplamiento, ya que muchas de estas reacciones se producen a través de complejos metálicos insaturados que tienen 18 electrones de valencia. Por ejemplo, en los acoplamientos cruzados basados en compuestos de níquel o paladio, un complejo de valencia cero con dos sitios vacíos (o ligandos lábiles) reacciona con el enlace carbono-halógeno para formar un enlace metal-halógeno y un enlace metal-carbono. Tales complejos de valencia cero con ligandos lábiles o sitios de coordinación vacíos suelen ser muy reactivos frente al oxígeno.

La reacción es descrita como:

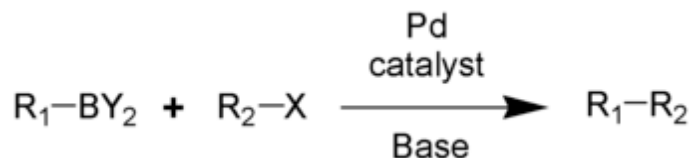


Figure 3: Reacción de Suzuki

La reacción sigue en los siguientes pasos:

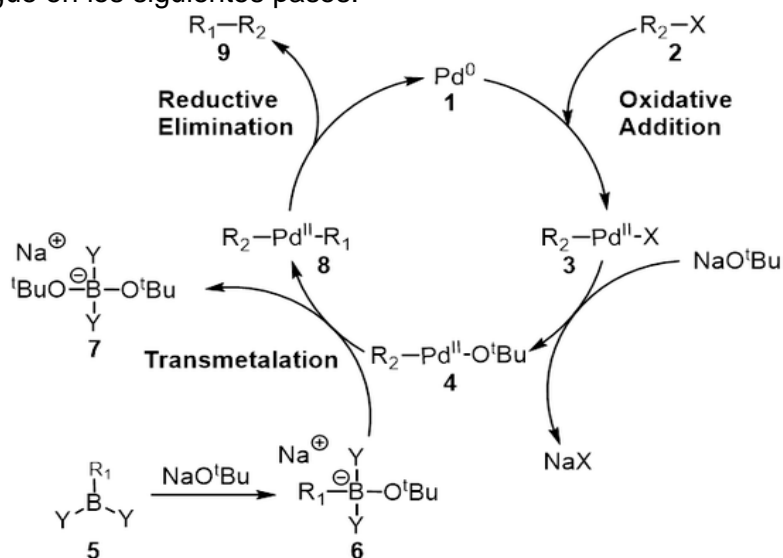


Figure 4: Mecanismo de Reacción síntesis de Suzuki

- **Adición Oxidativa:**

Durante esta etapa, el catalizador de paladio se oxida de paladio (0) a paladio (II) (figura 3). El catalizador paladio (paso 1), se acopla con dos haluros de alquilo para producir un complejo de organopaladio (paso 3). Como puede verse en el diagrama (figura 4) los halógenos de carbono-halógeno, donde el paladio está unido a halógeno y el grupo R.

- **Transmetalación:**

La transmetalación es una reacción organometálica en la que los ligandos se transfieren de una especie a otra. En el caso del acoplamiento de Suzuki, los ligandos se transfieren de la especie organoboro (paso 6) al paladio (II) (paso 4) donde se ha añadido la base en la etapa anterior con el sustituyente R1 de la especie organoboro para dar el nuevo complejo de paladio (II) (paso 8). Los compuestos de organoboro se someten a transmetalación en presencia de base y por lo tanto se cree ampliamente que el papel de la base es activar el compuesto de organoboro y facilitar la formación de los intermedios (figura 4).

- **Eliminación Reductora:**

El paso final es la eliminación reductora donde el complejo (paso 8) de paladio (II) elimina el producto (paso 9) y regenera el catalizador de paladio (0) (figura 4.)

3. OBJETIVOS:

3.1 OBJETIVO GENERAL:

El objetivo de este trabajo es la síntesis de nuevos sensores químicos basados en perilenmonoimida para uso posterior en el campo de la detección química de iones, especies oxidantes o especies reductoras.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Síntesis del compuesto perilenmonoimida requerido.
- Bromación de la perilenmonoimida.
- Realizar la reacción de Suzuki para la formación de la N - (1- (1- adamantil) etil) -8- ([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida, y la N - (1- (1- adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4dicarboxilmonoimida

4. MATERIALES Y REACTIVOS:

Tanto las soluciones preparadas como las muestras sólidas tuvieron un estudio muy minucioso para el tratamiento de las mismas obteniéndose así la tabla de reactivos y materiales bajo las cuales se basa el presente trabajo (Tabla 1):

Reactivo	Procedencia	Calidad
Perileno tetracarboxil dianhidrida	Sigma Aldrich	97 -99%
DABCO [1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano]	Acros	97 -99%
1-(1-adamantil)etilamina)	Sigma Aldrich	97 -99%
NMP (N-Metil-2-pirrolidona)	Sigma Aldrich	98%
H ₂ O destilada	Laboratorio de Organica	99%
CH ₂ Cl ₂	Scharlab. S.L	98%
Br ₂	Sigma Aldrich	97 -99%
Ester borónico	Frontier Scientific	97 -99%
Na ₂ CO ₃	Sigma Aldrich	97 -99%
THF	Sigma Aldrich	99%
Tolueno	Sigma Aldrich	98%
Butanol	Sigma Aldrich	98%

Tabla 1 Reactivos y Solventes

El material utilizado fue el siguiente:

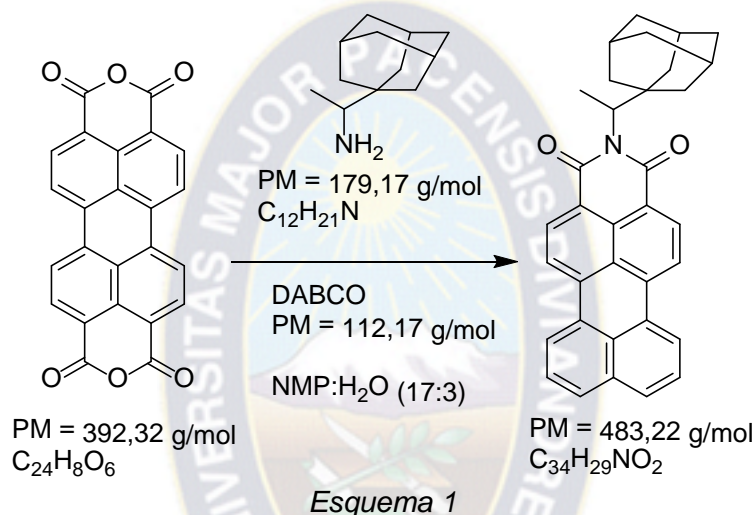
- Equipamiento básico (Vaso de precipitación de 50 – 500mL, probetas de 10 – 100 mL, matraz graduado y aforado de 50 – 250 mL, columnas cromatográficas, entre los mas usados.
- Equipo de reflujo, acoplado a un baño de arena, con un agitador automático que también consta de regulador de temperatura.
- Equipo rota-evaporador, ya sea con una bomba de membrana o con vacío producido por trompa de agua.

- Equipo de ultrasonidos.
- Equipo de microondas (Biotage con una potencia de magnetrón: 0-400W a 2,45 GHz)

5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

5.1 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-perilen-3,4-dicarboxilmonoimida

La reacción (esquema 1) viene representada por:



En un vial de 20 mL que sea específicamente para microondas se añaden 0,5 g de perileno-tetracarboxilo dianhídrido (1,28 mmol), este procedimiento se debe de realizar con mucho cuidado dado que este tipo de compuestos tiene alta cantidad de color lo cual produce una tinción rápida ante cualquier superficie que no sea el vial¹¹.

Seguidamente se añaden los 0,72 g (6,4 mmol), de DABCO¹² (1,4 diazabicyclo[2.2.2]octano), con 359,6 mg de 1-(1-adamantil)etilamina, (2,18 mmol), además de la inclusión de un pequeño agitador magnético previamente adecuado para la síntesis.

Esta mezcla de sólidos es disuelta en una mezcla de solventes NMP (N-Metil-2-pirrolidona)¹³:H₂O en relación (17:3), en cantidad de 20 mL de solución total (tabla 2).

MUESTRA	mmol	MASA (mg)	VOLUMEN (mL)
Perileno-tetracarboxilo dianhídrido	1,28	500	-
DABCO ¹² (1,4 diazabicyclo[2.2.2]octano))	6,4	720	-
1-(1-adamantil)etilamina	2,048	370	-

NMP (N-Metil-2-pirrolidona)	-	-	17
H ₂ O destilada	-	-	3

Tabla 2 Reactivos utilizados

La solución es sometida como primera instancia al equipo de agitación, el cual homogenizará la muestra, este procedimiento se deberá realizar durante 4 a 6 minutos, el vial para esto es cerrado con la ayuda de un tapón de goma que tenga acoplada una jeringuilla la cual liberará la presión excesiva del sistema, el siguiente paso será llevar la solución al equipo de ultrasonidos, el cual desgasificará la muestra liberándola del oxígeno excesivo presente en la muestra, además de realizar la disolución total de cualquier tipo de muestra que no se haya disuelto en la agitación; este procedimiento se regulará durante 15 minutos, verificando que la superficie de la solución esté cubierta por el agua del sistema.

El proceso seguirá en un equipo de microondas (Biotage con una potencia de magnetrón: 0-400W a 2,45GHz), el cual procesará la muestra siguiendo los parámetros marcados en el equipo (temperatura 220 °C, tipo de vial 10-20, tiempo 60 minutos), además del ajuste de señal; la muestra debe ser depositada asegurándose que la tapa este bien sellada y que el tapón del equipo no se mueva.

Una vez transcurrido el tiempo de reacción el equipo autorregulará la temperatura del mismo hasta tenerla a una temperatura ambiente tomando un tiempo de cinco minutos de enfriado.

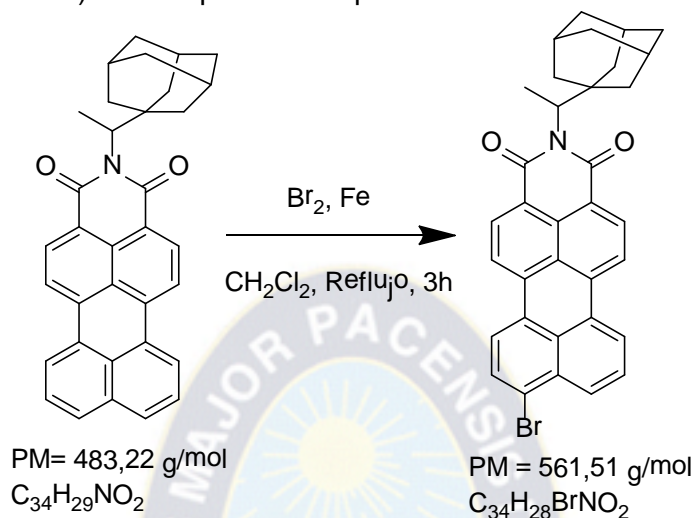
Cuando la reacción haya terminado, la muestra es llevada a un matraz de 100 mL con 50 mL de HCl 1M, el matraz conteniendo la muestra es sometido a agitación durante 30 minutos; seguidamente la muestra es filtrada al vacío con un embudo buchner y un papel de filtro, realizando la filtración con ayuda de diclorometano, para terminar la filtración con agua destilada y secando la muestra con unas gotas de acetona.

Todo el proceso se repite por tres veces, esto para que la masa del producto sea suficiente para realizar las posteriores reacciones que necesitarán como masa de partida el producto que se sintetiza en este apartado.

El producto sólido es llevado a una columna cromatografica la cual tendrá como solvente inicial Hexano, la muestra es corrida en una polaridad inicial de Hexano:DCM (9:1); la concentración de DCM será gradualmente incrementada hasta poder observar la solución de perileno (fracción de color amarilla), luego la polaridad es incrementada hasta tener un 100% de DCM que permita obtener el producto (fracción naranja), las demás fracciones que queden rezagadas serán minoritarias tal es el caso de la bisimida. **Rendimiento: 45%**

5.2 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

La reacción (esquema 2) viene representada por:



Esquema 2

En un matraz de 100 mL, se introducen 407 mg de muestra (0,84 mmol) de N-(1-(1-adamantil)etil)-perileno-3,4-dicarboxilmonoimida, esta solución es disuelta en 150 mL de CH_2Cl_2 . Siendo luego añadido con una espátula una pizca de polvo de hierro.

Luego 0,5 mL de Br_2 (9,54 mmol) es diluido en 8 mL de CH_2Cl_2 y es añadido lentamente a la solución previa (Tabla 3).

MUESTRA	mmol	MASA (mg)	VOLUMEN (mL)
N-(1-(1-adamantil)etil)-perileno-3,4-dicarboxilmonoimida	0,822	407	-
CH_2Cl_2	-	-	150
Br_2	9,54		0,5
CH_2Cl_2	-	-	8
NaHSO_3 (c)	-	-	475,5

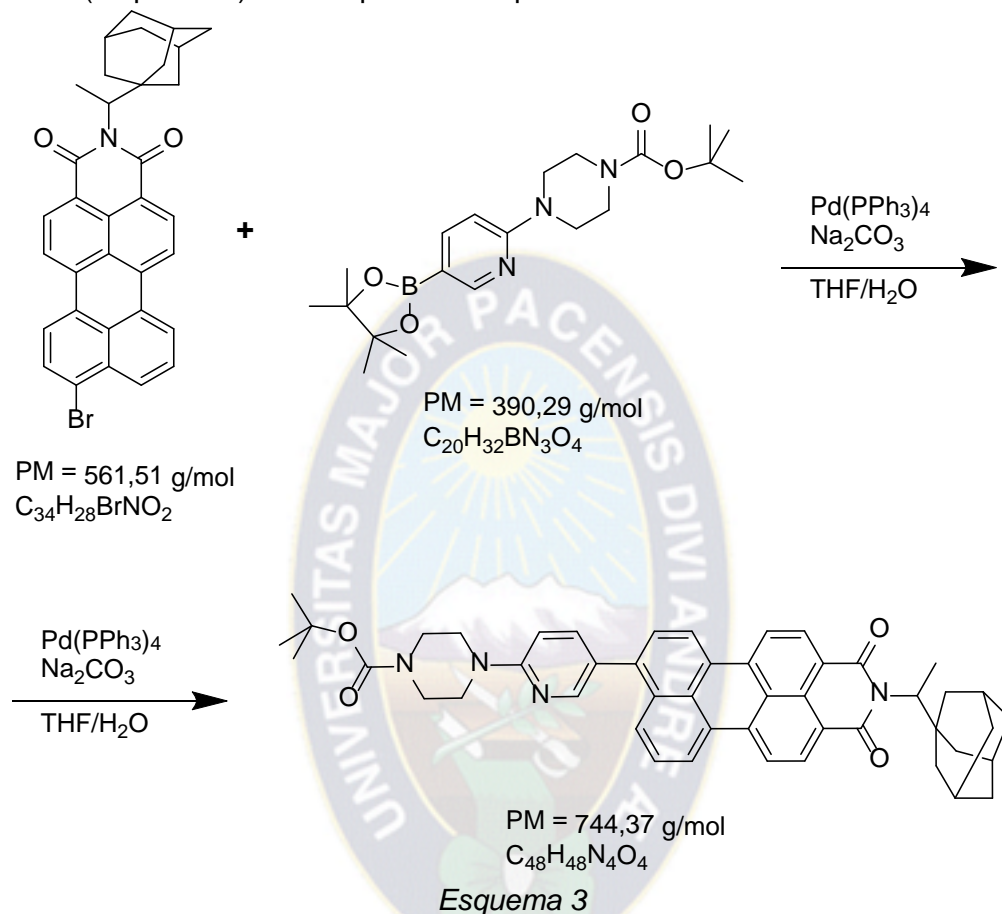
Tabla 3 Reactivos utilizados

La solución total es calentada a reflujo durante 3 horas en un equipo de reflujo equipado con un baño de arena para proporcionar al sistema un contacto homogéneo de temperatura, la temperatura del sistema estará dentro el rango de reflujo de la disolución. Para eliminar el bromo de la disolución ésta es extraída con CH_2Cl_2 añadiendo disolución saturada de sulfito o bisulfito de sodio 3 veces en relación volumen – volumen (1:1).

El producto obtenido es estudiado mediante técnicas de elucidación estructural RMN (resonancia magnética nuclear la cual despejará las dudas acerca de la pureza del compuesto). **Rendimiento: 41%**

5.3 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

La reacción (esquema 3) viene representada por:



En un matraz de 100 mL provisto de un agitador magnético, es disuelto el N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida (0,178 mmol), éster borónico (2,57 mmol), y Na_2CO_3 (112,25 mg, 1,062 mmol), la muestra es sometida a atmosfera inerte (introduciendo nitrógeno al sistema).

Para diluir la muestra le son añadidos una mezcla de THF:H₂O (40:4, 45 mL), esta mezcla de solventes es previamente tratada con un burbujeo constante de nitrógeno por un lapso de 6 minutos (tabla 4).

MUESTRA	mmol	MASA (mg)	VOLUMEN (mL)
N-(1-(1adamantil)etil)-perilen-8-bromo-3,4-dicarboxilmonoimida	0,178	100	-
Ester borónico	0,192	75	-
Na_2CO_3	1,062	112,25	-
THF	-	-	4

H ₂ O	-	-	0,5
Pd(PPh ₃) ₄	-	0,5	-

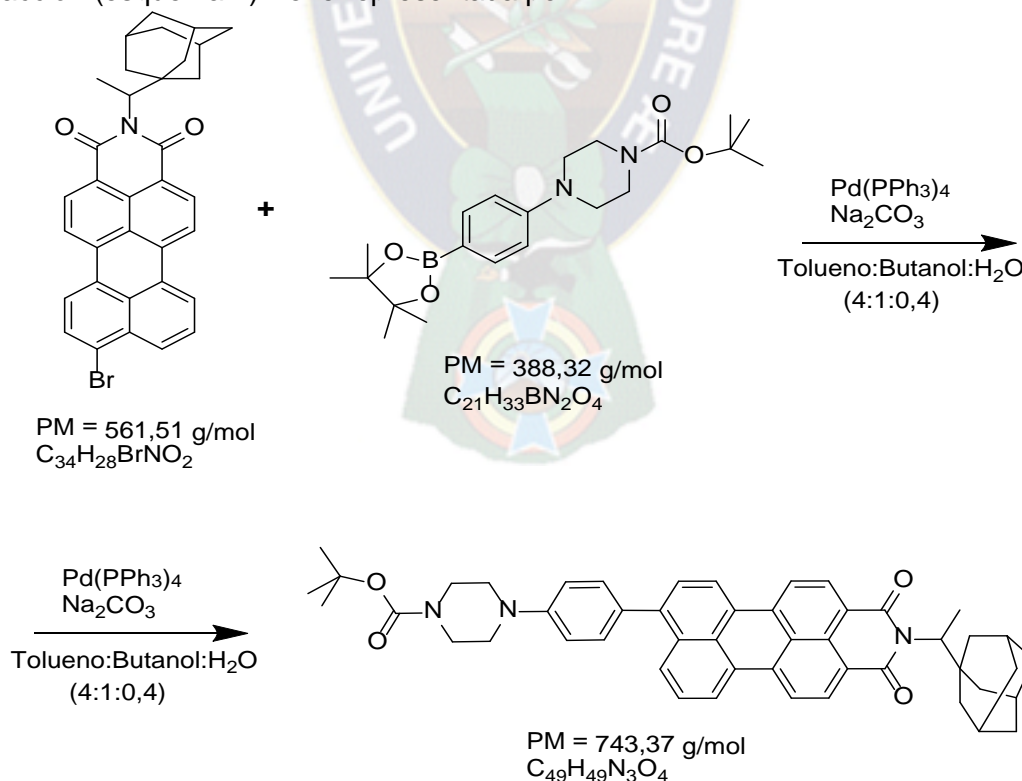
Tabla 4 Reactivos utilizados

La mezcla de disolventes es añadida lo más rápido que se pueda ya que ésta tiene que seguir con la atmósfera de nitrógeno, luego se añade Pd(PPh₃)₄ (0,5 mg), y la disolución final es calentada a reflujo durante 24 horas en un equipo de reflujo calentado con un baño de arena para proporcionar al sistema un contacto homogéneo de temperatura, la temperatura del sistema estará dentro el rango de reflujo de la disolución (75-80 °C). A la mezcla se le añade agua (100 mL) y después es extraída con DCM (3 veces, adicionando 75 mL en cada adición), la fase orgánica es secada con (Na₂SO₄) hasta ver que la presencia de gotas de agua en la solución ha desaparecido.

El producto como resultado de la reacción es purificado mediante técnicas cromatográficas dando como resultado un sólido (color naranja), N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida. **Rendimiento: 47%**

5.4 Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

La reacción (esquema 4) viene representada por:



Esquema 4

En un matraz de 100 mL provisto de un agitador magnético, es disuelto el N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-8-bromo-3,4-dicarboxilmonoimida (0,178 mmol), éster borónico (0,1993 mmol), y Na_2CO_3 (112,25 mg, 1,062 mmol), la muestra es sometida a atmósfera inerte (introduciendo nitrógeno al sistema).

Para diluir la muestra se le añade una mezcla de Tolueno, Butanol y agua (4:1:0,4), esta mezcla de disolventes es previamente tratada con un burbujeo constante de nitrógeno por un lapso de 6 minutos.

MUESTRA	mmol	MASA (mg)	VOLUMEN (mL)
N-(1-(1adamantil)etil)-perilen-8-bromo-3,4-dicarboxilmonoimida	0,178	100	-
Ester boronico	0,199	0,0746	-
Na_2CO_3	1,062	112,25	-
Tolueno	-	-	3,33
Butanol	-	-	0,81
H_2O	-	-	0,36
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	-	0,5	-

Tabla 5 Reactivos utilizados

La mezcla de solventes es añadida lo más rápido que se pueda ya que esta tiene que seguir con la atmósfera de nitrógeno, luego se añade $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,5 mg), la solución total es calentada a reflujo durante 24 horas en un equipo de reflujo calentado con un baño de arena para proporcionar al sistema un contacto homogéneo de temperatura, la temperatura del sistema estará dentro el rango de reflujo de la solución (75-80 °C)

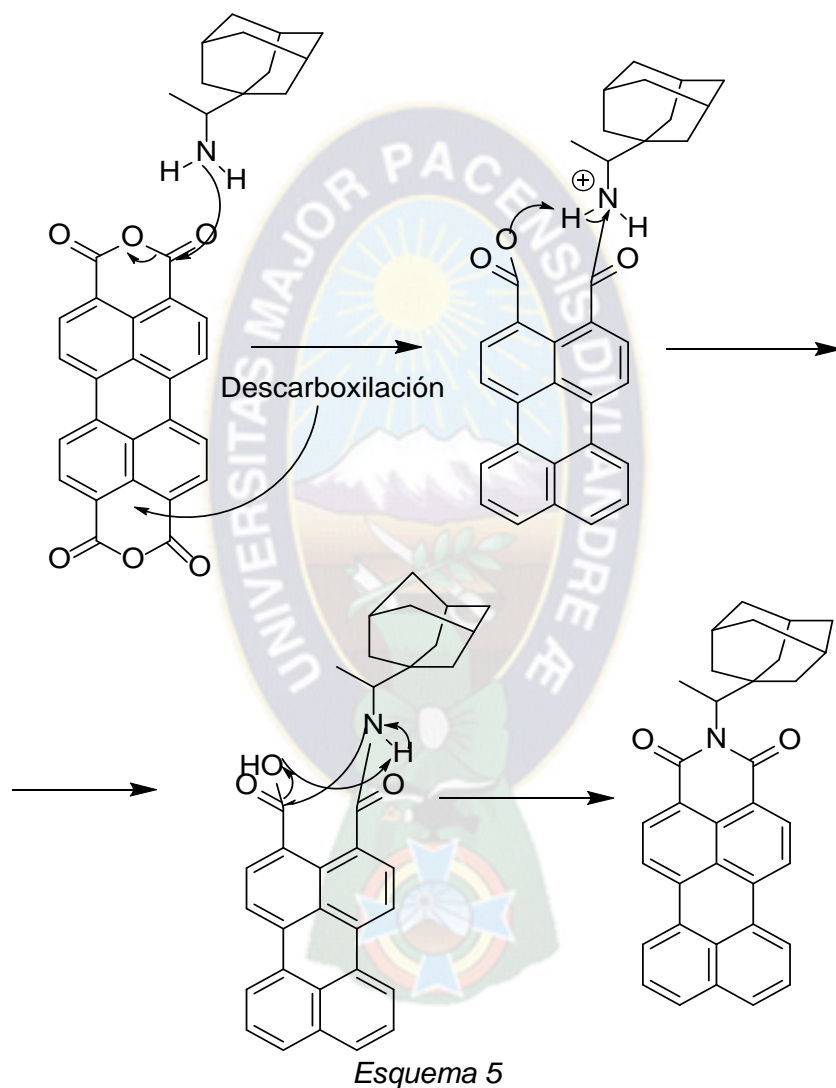
A la mezcla se le añade agua (100 mL) y es extraída con DCM (3 veces, adicionando 75 mL en cada adición), la fase orgánica es secada con Na_2SO_4 hasta ver que la presencia de gotas de agua en la solución han sido atrapadas por el desecante.

El producto como resultado de la reacción es purificado mediante técnicas cromatográficas dando como resultado un sólido N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida. **Rendimiento: 56%**

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES:

- Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida

El mecanismo de reacción (esquema 5) viene representado por:



El proceso de obtención de N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida da lugar a un sólido de color naranja.

La purificación del compuesto fue comprobada mediante elucidación estructural RMN (resonancia magnética nuclear), dando como resultado los siguientes espectros (figura 5):

Espectro del protón ^1H (300 MHz, CDCl_3):

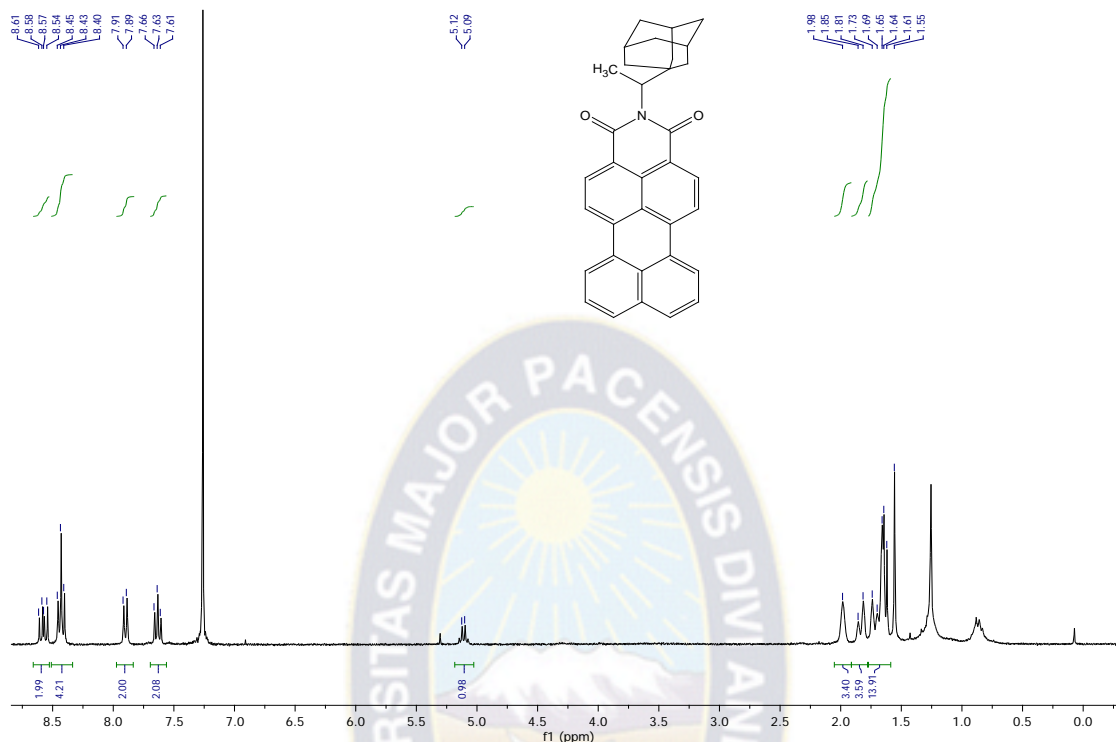


Figura 5: Datos del espectro RMN [Rto: 45%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 8.48 (m, 2H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}=\text{O}$), 8.30 (m, 4H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 7.83 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 7.56 (t, 2H, $J=7.2$ Hz, $\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}-\text{C}_{\text{Ar}}\text{H}$), 5.10 (m, 1H, N-CH), 1.97 (s, 3H, CH_2), 1.84-1.64 (m, 15H, CH + CH_3).

La concordancia de los protones en la molécula ilustrada demuestra que el producto se encuentra con una elevada pureza, ya que el espectro muestra señales características del producto.

- Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

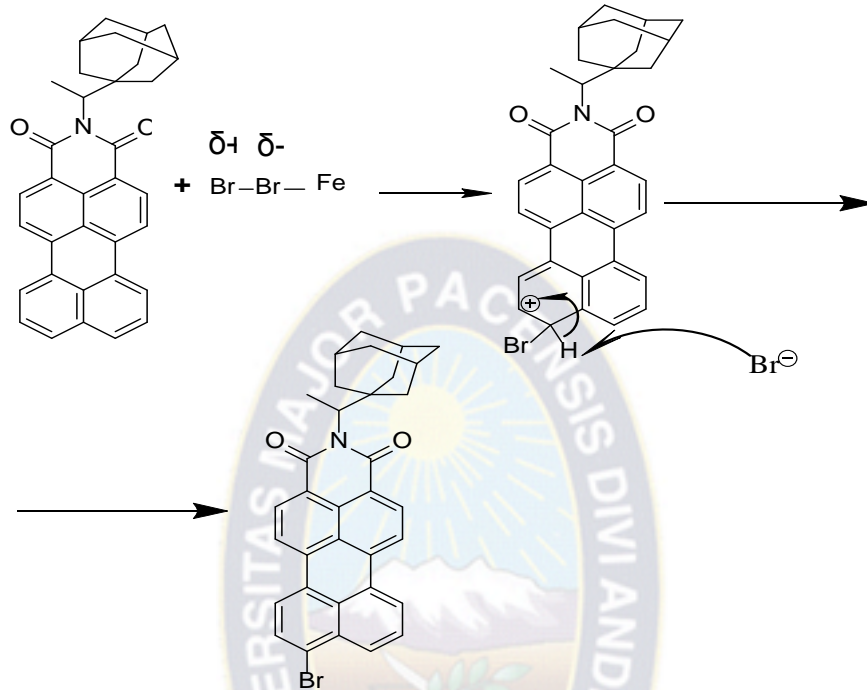
Algunos tipos de compuestos aromáticos, tales como fenol, van a reaccionar sin un catalizador, pero para los derivados del benceno típicos frente a sustratos menos reactivos es necesario un ácido de Lewis como catalizador¹⁴.

Entre los ácidos Lewis que actúan como catalizadores habituales tenemos al AlCl_3 , FeCl_3 , FeBr_3 y ZnCl_2 .

Estos actúan formando un gran complejo electrofílico que ataca al anillo de benceno. La reacción se inactiva si reacciona con el agua, incluyendo la humedad del aire. Por lo tanto, son generados in situ mediante la adición de limaduras de hierro al bromo¹⁵.

Teniendo un átomo de bromo unido al núcleo perileno se abre el camino para una rápida y fácil funcionalización del cromóforo, una vez realizada la conversión, el producto exhibe un color amarillo-naranja de tono brillante y una fuerte fluorescencia en el estado sólido.

El mecanismo de reacción (esquema 6) viene dado por:



Esquema 6

Espectro de protón ^1H (300MHz, CDCl_3) (figura 6):

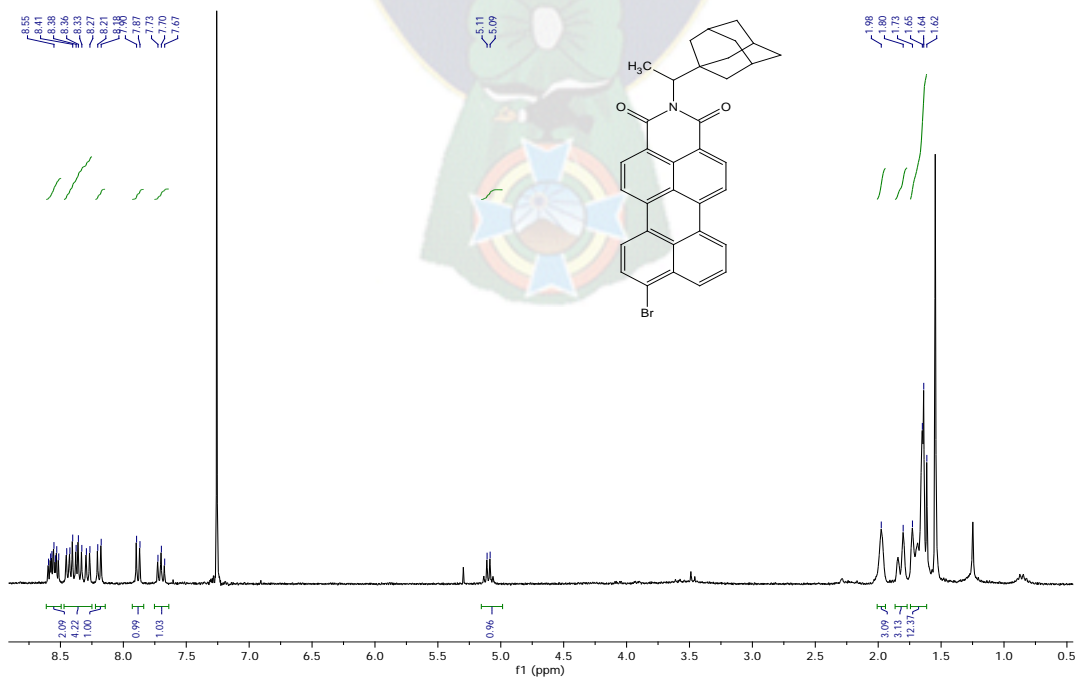
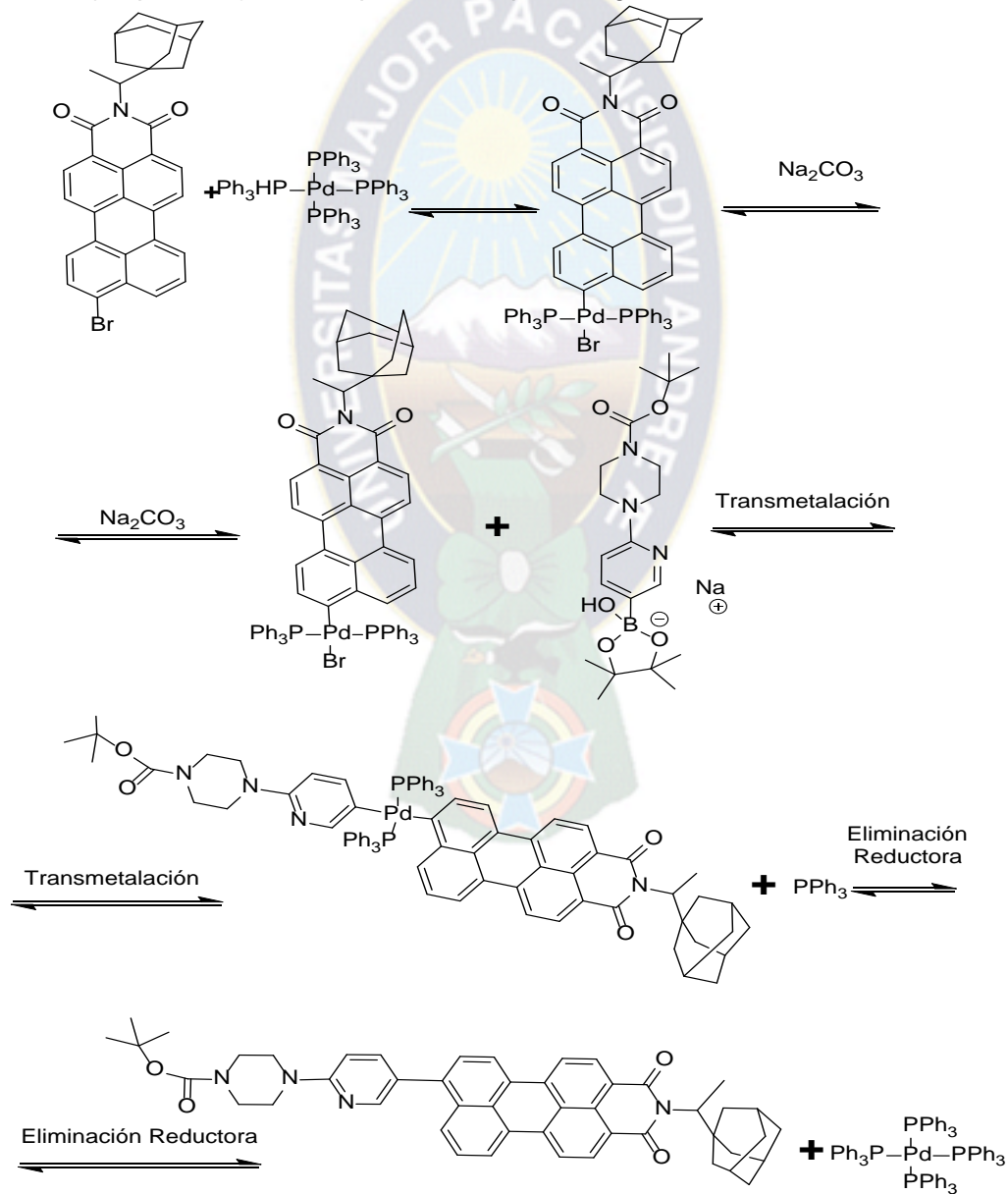


Figura 6: Datos del espectro RMN [Rto: 41%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.62 – 8.50 (m, 2H, CHAr), 8.37 (ddd, $J = 27.5, 16.8, 8.0$ Hz, 4H, CHAr), 8.19 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, CHAr), 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, CHAr), 7.70 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, CHAr-CHAr-CHAr), 5.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, CH-N), 1.98 (s, 3H, CH_2), 1.80 (s, 3H, CH_2), 1.66 (dd, $J = 18.7, 15.5$ Hz, 12H, $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$)].

El espectro ilustrado muestra una pureza elevada tomando en cuenta que durante el procedimiento se realizaron varias purificaciones mediante columna cromatográfica.

- Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

La reacción (esquema 7) viene representada por el siguiente mecanismo:



Espectro del protón ^1H (300 MHz, CDCl_3) (figura 7) fue:

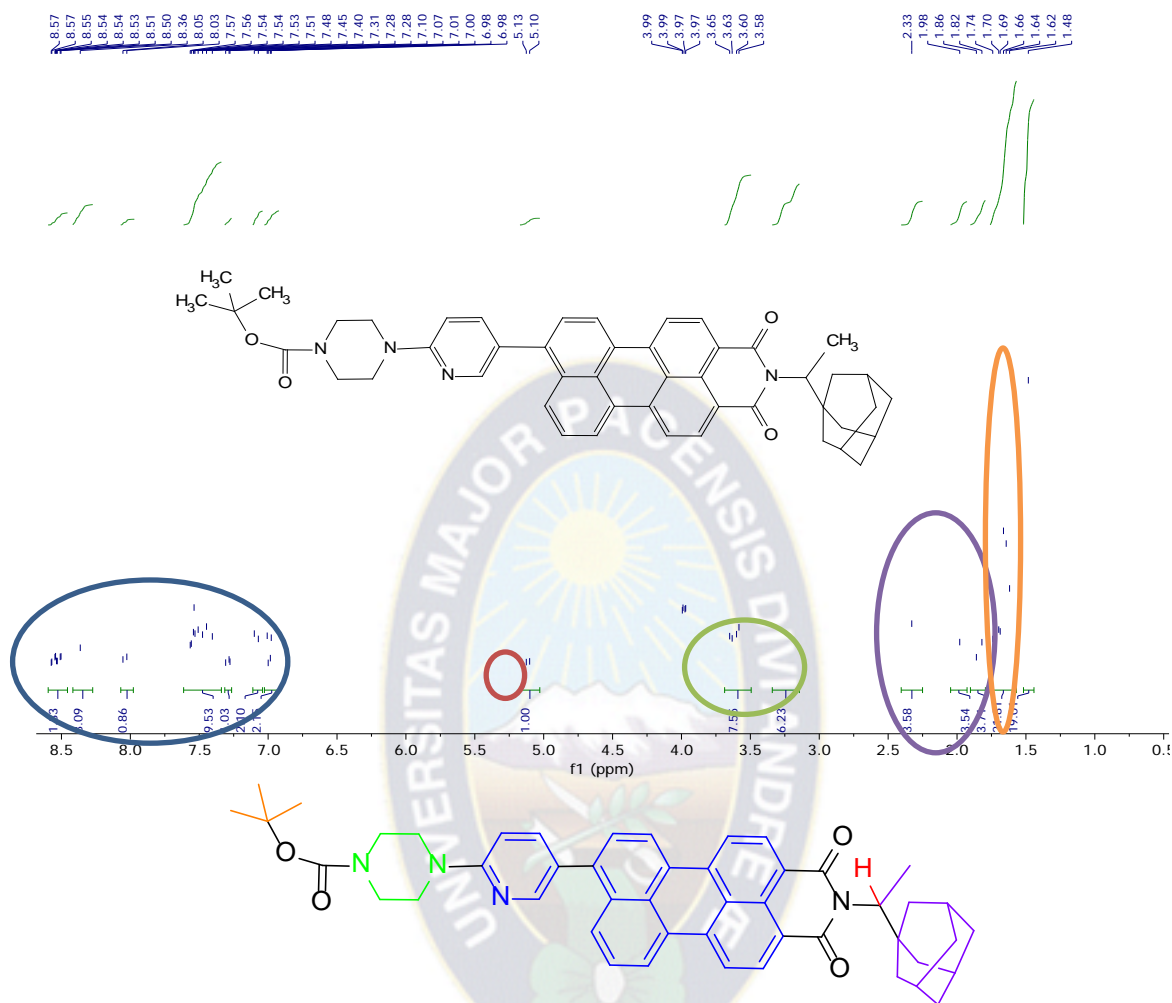
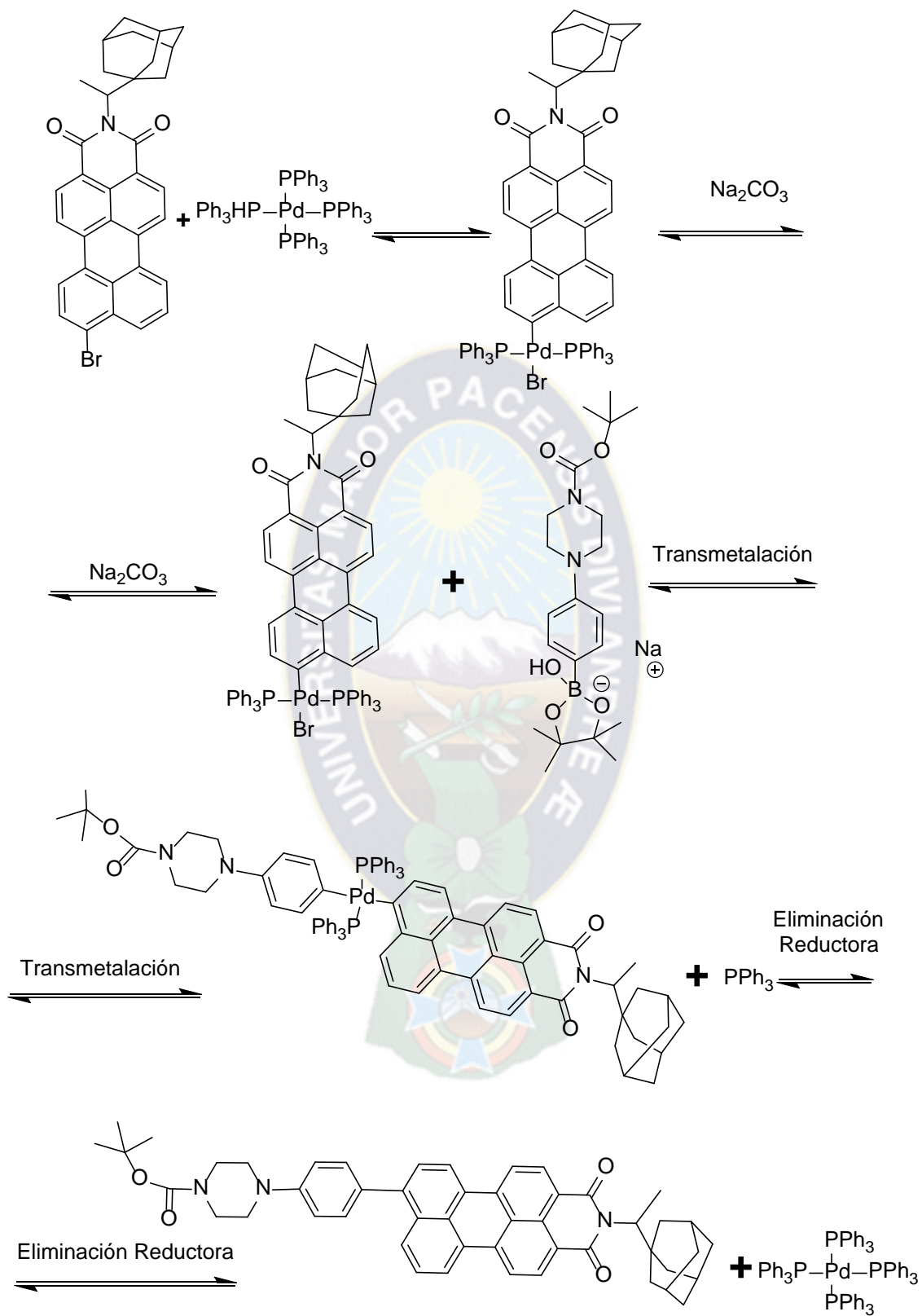


Figura 7: Datos del espectro RMN [Rto: 47%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,54 (m, 1H, CHAr-N), 8,36 (m, 3H, CHAr), 8,04 (d, 1H, CHAr), 7,57-7,40 (m, 2H, CHAr), 7,28 (m, 1H, CHAr-N), 7,10 (d, 2H, CHAr), 6,98 (m, 2H, CHAr), 5,11 (m, 1H, CH-N), 3,60-3,2 (m, 8H, CH-N), 1,98 (m, 3H, CH_2), 1,86-1,62 (m, 12H, CH_2), 1,48 (m, 9H, CH_3).

- Síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida:

El mecanismo de la reacción (esquema 8) viene representado por:



Esquema 8

Espectro del protón ^1H (300 MHz, CDCl_3) (figura 8) fue:

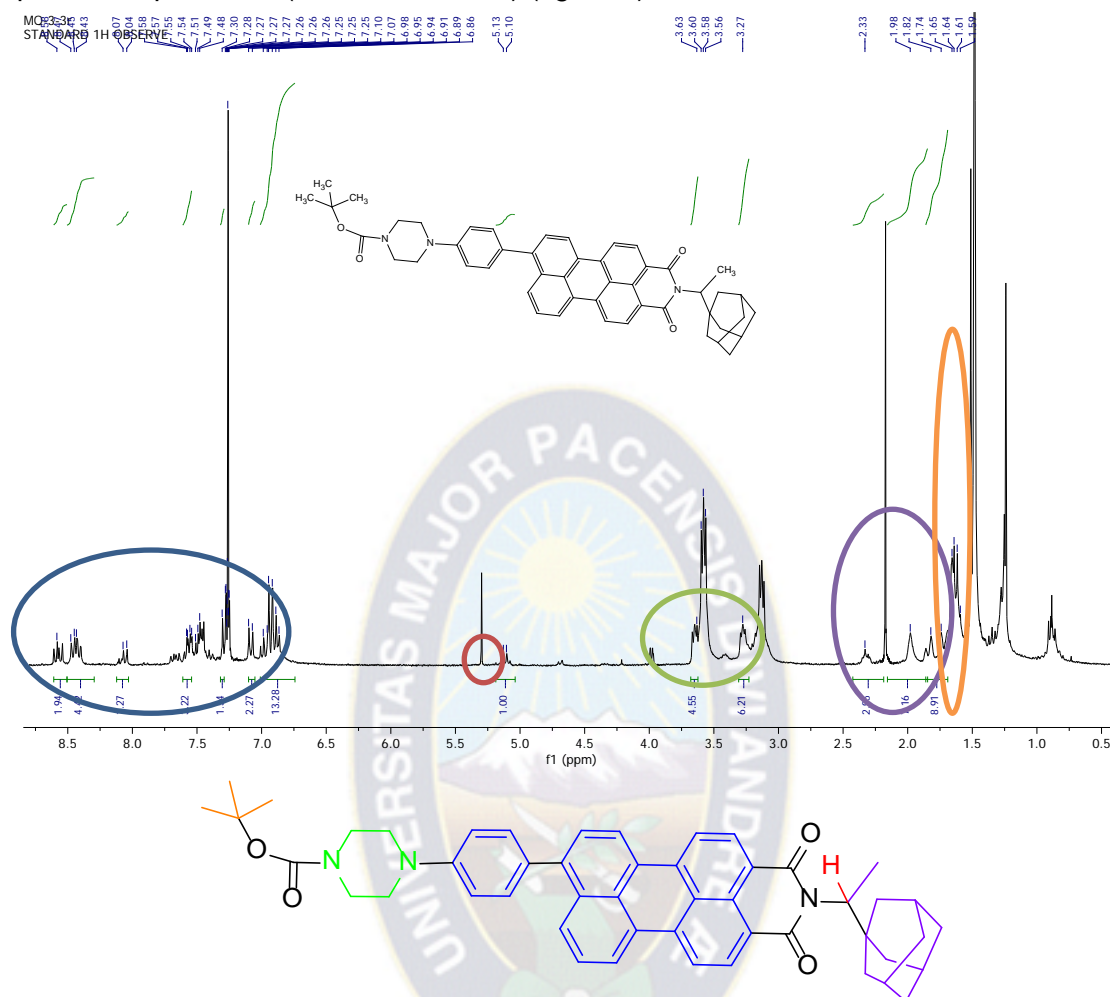


Figura 8: Datos del espectro RMN [Rto: 56%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,58 (m, 2H, CHAr), 8,43 (m, 4H, CHAr), 8,06 (m, 1H, CHAr), 7,58-6,86 (m, 6H, CHAr), 5,13 (m, 1H, CH-N), 3,58 (m, 4H, CH_2), 3,27 (m, 4H, CH_2), 2,33 (m, 3H, CH_2), 1,98-1,61 (m, 12H, CH-N), 1,48 (m, 9H, CH_3)].

7. CONCLUSIONES:

Los resultados de las experiencias realizadas pueden ser resumidos en las siguientes conclusiones

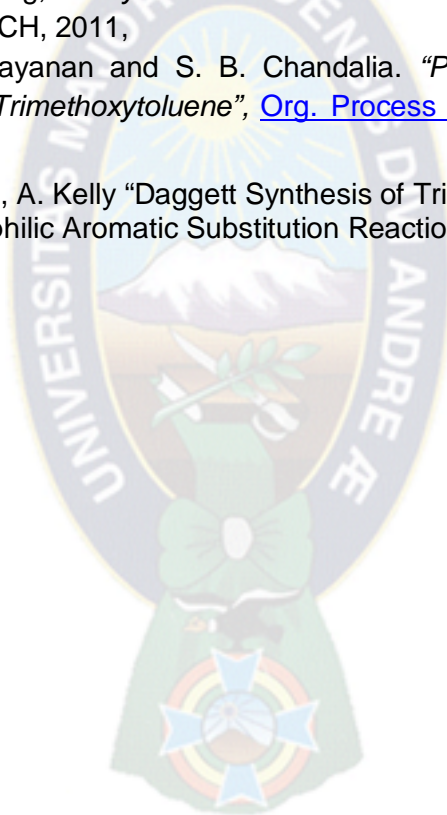
- La reacción de una amina con un perileno fue realizada con éxito obteniendo como producto la N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida.

- La síntesis del N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida fue realizada con éxito mediante la bromación catalizada por hierro de la N-(1-(1-adamantil)etil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida.
- La síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]pirid-3-il)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida fue realizada con éxito mediante un acoplamiento de Suzuki catalizado por paladio(0) entre la N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida y la 4-(5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-yl)piperazina-1-carboxilato de ter-butilo.
- La síntesis de N-(1-(1-adamantil)etil)-8-([4-N-BOC-piperazin-1-il]fenil)perileno-3,4-dicarboxilmonoimida fue realizada con éxito mediante un acoplamiento de Suzuki catalizado por paladio(0) entre la N-(1-(1-adamantil)etil)-8-bromoperileno-3,4-dicarboxilmonoimida y la 4-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)piperazina-1-carboxilato de ter-butilo.
- La síntesis de los compuestos estudiados tiene como meta final la aplicación de los mismos para la preparación de sensores químicos, actuando como sondas fluorescentes frente diversos analitos ya sean iones, especies oxidantes, especies reductoras, viendo la sensibilidad que tendría una disolución frente a esos analitos, mostrando una variación en la fluorescencia de la sonda fluorescente.

8. BIBLIOGRAFIA:

- [1] H. Langhals, *"Brightly Shining Nano Particles: Lipophilic Perylene Bisimides in Aqueous Phase"*, Chem. Ber 1985, 118, 4641–4645.
- [2] S. E. Miller, Y. Zhao, R. Schaller, V. Mulloni, E. M. Just, R. C. Johnson, M. R. Wasielewski, *"Ultrafast electron transfer reactions initiated by excited CT states of push-pull perylenes"*, Chem. Phys, 2002, 275, 167–183.
- [3] G. Seybold, G. Wagenblast, *"Supramolecular Construction of Fluorescent J-Aggregates Based on Hydrogen-Bonded Perylene Dyes, Dyes Pigments"* Angewandte Chemie, 1989, 11, 303–317.
- [4] K. Peneva, A. Herrmann, K. Müllen, *"Water-soluble, Rylene dyes methods for preparation thereof and their use as fluorescent labels of biomolecules"* Gutenberg University. 2007, 5-28
- [5] A. Rademacher, Maerkle S., H. Langhals., *"Soluble perylene fluorescent dyes with high photostability"*, Chem. Ber 1982, 115, 2927
- [6] H. Langhals, *"Heterocycles: Cyclic carboxylic imide structures as structure elements of high stability"*, Chem. Ber. 1995, 40, 477-500.
- [7] C. Li and H. Wonneberger, *"Perylene Imides for Organic Photovoltaics: Yesterday, Today, and Tomorrow"*, Adv. Mater. 2012, 24, 613-636.
- [8] J. Folkman, *"Tumor angiogenesis: therapeutic implications"*. N. Engl. J. Med, 1971, 285, 1182.

- [9] L. Huang, S.-W. Tam-Chang, W. Seo, K. Rove, "Down-regulation of the human VEGF gene expression by perylene monoimide derivatives", *Adv. Mater.* 2007, 19, 4169
- [10] A. Romero-Martínez, J. A. Haro-Castellanos, G. James-Molina, "Bromación amigable de anillos aromáticos", *Educación en Química* 118-120
- [11] F. Würthner, "Perylene Bisimide Dyes as Versatile Building Blocks for Functional Supramolecular Architectures". University of Wurzburg 2004, 1564-1579.
- [12] R. Luque, D. J. Macquarrie,. "Efficient solvent- and metal-free Sonogashira protocol catalysed by 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octane (DABCO)". *Organic and Biomolecular Chemistry*, (2009) (8): 1627–1632.
- [13] A. L. Harreus, R. Backes, J.-O. Eichler, R. Feuerhake, C. Jäkel, U. Mahn, R. Pinkos, R. Vogelsang, "2-Pyrrolidone" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, 2011,
- [14] S. Sankaranarayanan and S. B. Chandalia. "Process Development of the Synthesis of 3,4,5-Trimethoxytoluene", [Org. Process Res. Dev.](#) (2006), 10: 487–492.
- [15] J. V. McCullagh, A. Kelly "Daggett Synthesis of Triarylmethane and Xanthene Dyes Using Electrophilic Aromatic Substitution Reactions", *J. Chem. Educ.* 2007, 84, 1799



ANEXO I

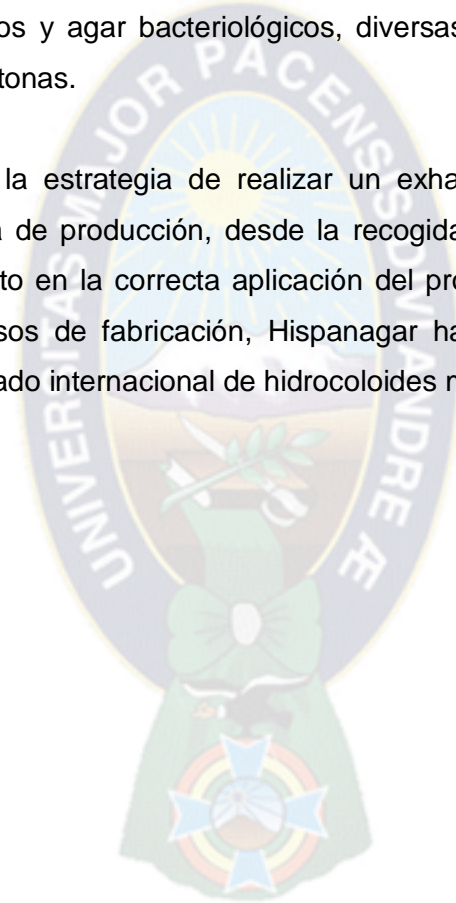
TRABAJO REALIZADO EN LA EMPRESA HISPANAGAR

1. INTRODUCCION:

La empresa “Hispanagar” es una de las fabricantes de hidrocoloides con mayor conocimiento y experiencia en el mundo, con una trayectoria en este campo de más de medio siglo.

En sus fábricas procesa algas recogidas en aguas de todo el mundo, sometiéndolas a sofisticadas operaciones de extracción. Como resultado se obtienen distintos tipos de productos: agar alimenticios y agar bacteriológicos, diversas variedades de agarosas y una línea completa de peptonas.

La compañía opera bajo la estrategia de realizar un exhaustivo y estricto control de calidad en toda la cadena de producción, desde la recogida de las materias primas, la fabricación y asesoramiento en la correcta aplicación del producto final. Perfeccionando continuamente sus procesos de fabricación, Hispanagar ha obtenido una posición de liderazgo clave en el mercado internacional de hidrocoloides marinos.



2. DATOS DE LA EMPRESA:

2.1 Compañía:

Hispanagar es el resultado de la asociación de siete fabricantes de agar alimenticio que se unen bajo el liderazgo de la alta tecnología desarrollada íntegramente en España en los años 40. Desde entonces Hispanagar sigue una política de continuas mejoras en la tecnología empleada, encontrando nuevas aplicaciones del agar – agar, y logrando mediante la investigación la consecución de productos innovadores con mayor valor añadido¹.

A principios de los 70 Hispanagar desarrolla la primera producción en España de carragenatos e inicia la producción de agar bacteriológico y purificado. Más adelante realiza un plan concertado de investigación, mediante el cual desarrolla un proceso de producción industrial de agarosas¹.

A principios de los noventa se inician los estudios que conducirán a la preparación de resinas o perlas de agarosa, para su aplicación en cromatografía en gel, cromatografía de afinidad y como soporte de biocatálisis. En el 2000 se realizan trabajos de activación y derivatización de las perlas de agarosa¹.

Es en el 2000 cuando Hispanagar amplía su gama de extractos de algas Euchema, con la fabricación de carragenatos semi refinados (Algas Euchema Procesadas o PES). A principios de los 80 se comienzan a distribuir peptonas (junto al agar, ingrediente básico para la fabricación de medios de cultivo)¹.

A través de su Instituto de Investigación Aplicada, Hispanagar ha estado formando personal científico mediante la colaboración en tesis doctorales, trabajos de fin de grado, y trabajos de fin de master de la UBU (UNIVERSIDAD DE BURGOS), con el objetivo de incrementar su política de investigación y desarrollo en productos derivados de algas marinas para el siglo XXI¹.

2.2 Materias primas:

El factor más importante y determinante a la hora de conseguir la mejor calidad es sin ninguna duda la selección y el tratamiento de las mejores materias primas para los mejores hidrocoloides marinos. El mundo de la recogida y procesado de algas es muy complejo, pero los más de cincuenta años de experiencia de Hispanagar, le han permitido obtener un profundo conocimiento de las algas más idóneas para cada aplicación, sus métodos de recolección y tratamiento.

Hispanagar es una de las pocas empresas en el mundo que trabaja una línea completa de hidrocoloides derivados de algas marinas. Por esta razón selecciona y recoge diversas especies de algas en diferentes lugares del hemisferio (España, Portugal, México, Marruecos, Chile, Indonesia, Filipinas, etc.).

La empresa cuenta con una organización recolectora propia que sigue el más estricto control y supervisión de la calidad. Los principales tipos de algas utilizados en la producción son: *Chondrus crispus*, *Euchema cottoni*, *Euchema Spinosum*, *Gelidium*, *Gigartina* y *Gracilaria*¹.

La fábrica dispone de 6000 m² de superficie para almacenar la materia prima. Estos almacenes permiten tener un stock de algas garantizando el suministro a todos los clientes incluso en épocas de escasez.

2.3 Productos:

Un elemento clave de la estrategia de Hispanagar es la especialización en su actividad principal: la fabricación de productos derivados de algas marinas.

Este enfoque le ha permitido investigar y desarrollar productos innovadores en campos como la alimentación, microbiología y biología molecular.

Los productos innovadores y de calidad que produce Hispanagar son el resultado de un profundo conocimiento de los hidrocoloides, de la cuidadosa selección y tratamiento de las algas, además de un eficaz y controlado proceso de producción.

2.4 El agar:

El agar, o agar - agar, es un polisacárido que se obtiene de algas del género *Gelidium*, algas que se han utilizado en la cocina tradicional japonesa, por sus propiedades gelificantes, desde hace muchos siglos. También se obtiene de otras algas, entre ellas especies de los géneros *Gracilaria*, de las que procede actualmente la mayoría del agar, y de *Gelidiella* y *Pterocladia*, que aportan pequeñas cantidades. El agar de mejor calidad se obtiene de *Gelidium*, aunque en los últimos años se ha extendido mucho la obtención a partir de cultivos marinos de *Gracilaria*, que son ahora la fuente principal de este polisacárido. En España se obtiene sobre todo de *Gelidium corneum*. En el listado de aditivos alimentarios de la Unión Europea, el agar² es el E-406.

En su estructura, el agar (figura 1), se considera formado por la mezcla de dos tipos de polisacáridos, la agarosa y la agarpectina. La agarosa es el componente principal, representando alrededor del 70% del total. Tanto la agarosa como la agarpectina tienen la misma estructura básica³.

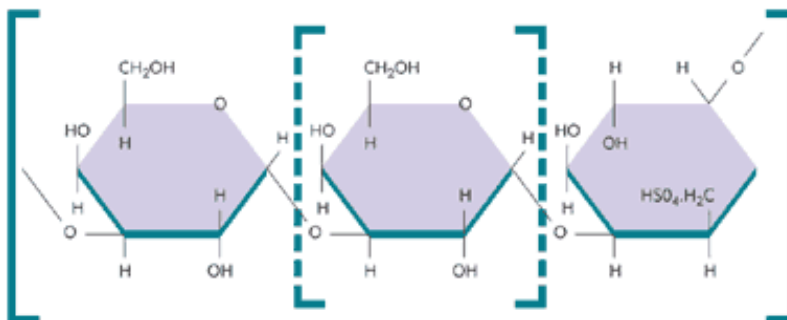


Figura 1. Estructura polimérica del Agar

(Fuente: Miguel Calvo, "Bioquímica de los alimentos")

Esta molécula está compuesta principalmente por dos polímeros:

2.4.1 Agarosa:

La agarosa es un polímero natural, polisacárido formado por galactosas alfa y beta que se extrae de las algas de los géneros *Gelidium* y *Gracilaria*. La agarosa es soluble en agua a temperaturas superiores a los 65°C, dependiendo del grado de sustituciones hidroxietílicas de sus cadenas laterales. Sustituciones las cuales, se pueden modificar para provocar que la temperatura de gelificación varíe entre los 17 y los 40°C.

La agarosa es un producto natural que forma una matriz inerte y no tóxica que supone una herramienta indispensable en gran cantidad de técnicas de Biología Molecular, Bioquímica y Biología Celular. Su uso más extendido es para preparar geles que permitan separar moléculas de ADN mediante electroforesis, además de ser utilizada para fijar moléculas a su estructura como anticuerpos o antígenos. Igualmente se utiliza en cultivos celulares y en microbiología. Otros usos menos extendidos son la utilización de estos geles como matrices en la reparación de tejidos dañados⁴ (Figura 2).

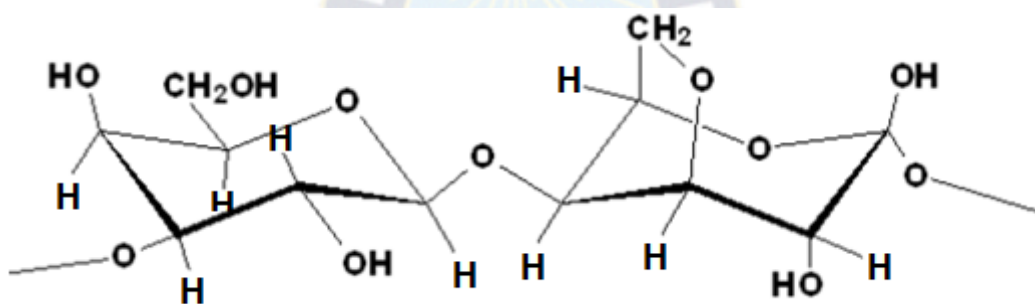


Figura 2 Estructura polimérica de la Agarosa

(Fuente: Laboratorios Microkit)

La estructura macroreticular de los geles de agarosa se forma por uniones de puentes de hidrógeno que hacen que el gel sea termo-reversible, y por lo tanto que se funda cuando es sometido a calentamiento. La histéresis (diferencia entre la temperatura gelificación y de fusión) es mayor que en otros hidrocoloides, lo cual es una gran ventaja en muchas aplicaciones. Adicionalmente, la ausencia de grupos iónicos hace que el gel tenga una naturaleza neutra e inerte, por lo que se evita la interacción de las moléculas con la estructura del gel⁵.

2.4.2 Agarpectina:

Agarosa y agarpectina se diferencian en la presencia de restos de sulfato y piruvato, relativamente abundantes en la agarpectina y muy escasos (idealmente, ausentes) en la agarosa. Los restos de sulfato aparecen sobre unidades de galactosa, que entonces ocupan el lugar de una anhidrogalactosa en la secuencia alterna (figura 3).

Existe una gradación de tipos entre la agarosa y la agarpectina muy sulfatada. Precisamente las algas sintetizan el agar en forma sulfatada, produciéndose la anhidrogalactosa en la eliminación enzimática del sulfato. Esto es un detalle muy importante, dado que el contenido de sulfato decrece con la madurez de la planta, a la vez que aumenta mucho la resistencia de los geles del agar obtenido a partir de ella. También, dependiendo de las especies, algunos restos de galactosa tienen grupos metilo en el carbono.

La cantidad y calidad del agar acumulado depende de diversos factores biológicos y ambientales, en incluso es distinto en distintas zonas del alga.

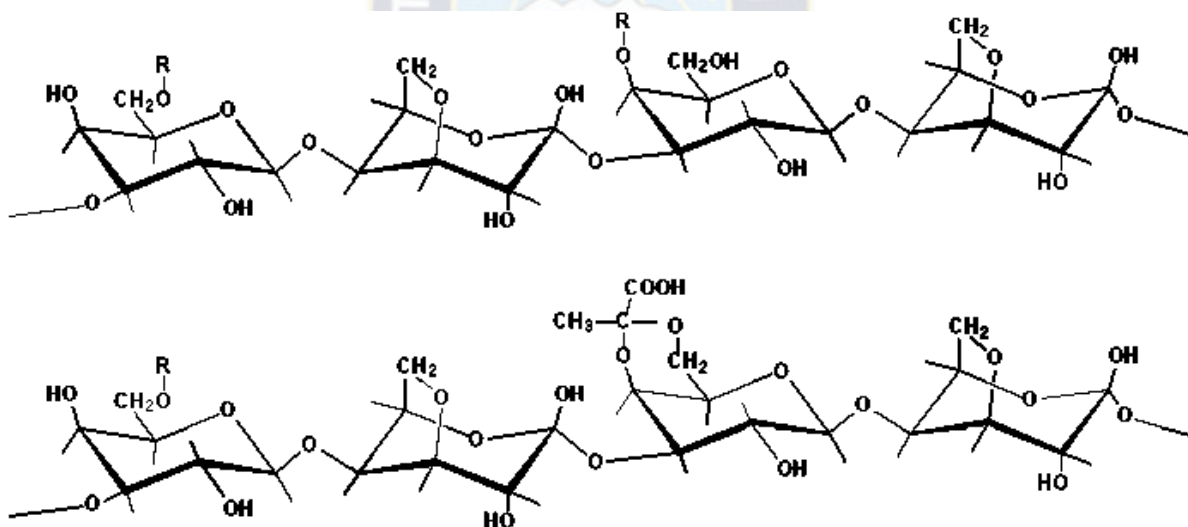


Figura 3 Estructura polimérica de Agarpectina ($R = H$ o $-SO_3^-$)

(Fuente: Laboratorios CONDA)

2.5 Especies Tratadas:

Las algas tratadas durante la realización de las prácticas en la empresa HISPANAGAR, fueron las especies (figura 4): gracilaria⁶ (tabla 1), gelidium⁷ (tabla 2), pterocladia⁸ (tabla 3).

Tabla 1. Descripción botánica de alga *Gracilaria*

GRACILARIA	
FAMILIA	Gracilariaceae.
NOMBRE CIENTÍFICO	Gracilaria
NOMBRE COMÚN	Alga
DESCRIPCIÓN	Alga de unos 10 cm. de tamaño, de color rojo oscuro y ramificación irregularmente dicótoma que da a los tallos un aspecto palmeado, los ápices son agudos o algo redondeados

Tabla 2. Descripción botánica de alga *Gelidium*

GELIDIUM	
FAMILIA	Gelidiaceae
NOMBRE CIENTÍFICO	Gelidium
NOMBRE COMÚN	Alga
DESCRIPCIÓN	Tallo de hasta 40 cm de longitud, formado por frondes erectas y ejes postrados, a menudo en grandes matas. Los ejes principales, de unos 2 mm de anchura, frecuentemente no se ramifican en su mitad inferior. La ramificación es variable, pero los últimos ejes o ramas son cortos y de igual longitud, formando un margen paralelo a la rama de la que surgen.

Tabla 3. Descripción botánica de alga *Pterocladia*

PTEROCLADIA	
FAMILIA	Pterocladaceae
NOMBRE CIENTÍFICO	Pterocladia
NOMBRE COMÚN	Alga

DESCRIPCIÓN	Eje postrado cilíndrico, de 1-2 mm de diámetro y fronde erecto hasta 30 cm, cilíndrico o aplastado (de 4 mm de diámetro), ramificación variable, algunos ejes no están ramificados y otros hasta 3-4 veces, con ramificación opuesta o alterna, produciendo frondes de contorno triangular, color purpura rojo o rosa.
-------------	--

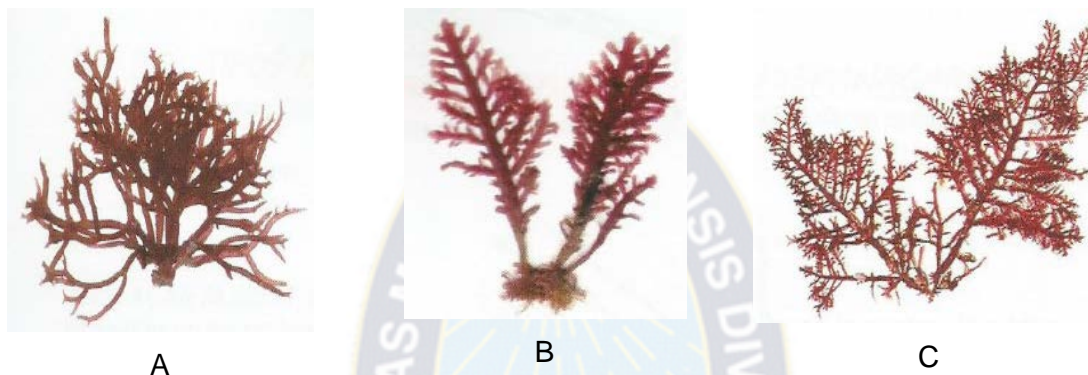


Figura 4 Algas utilizadas: A) Gracilaria, B) Gelidium, C) Pterocladia
(Fuente: Laboratorios de control de calidad "HISPANAGAR")

2.6 Tipos de agar producido:

2.6.1 Agar alimenticio

El agar forma parte de la familia de hidrocoloides marinos fabricados por la empresa, como ingrediente alimentario. De origen asiático, se ha consumido durante siglos como elemento básico en las dietas tradicionales de numerosas poblaciones en Extremo Oriente.

Los distintos tipos de algas de los que se puede obtener el agar-agar (Gelidium, Gracilaria y Gelidiella) dan lugar a productos con diferentes características, siendo los agares provenientes de algas Gelidium y Gracilaria los más utilizados y disponibles en la cartera de productos de Hispanagar. La amplia variedad de agar alimentario que ofrece Hispanagar permite su empleo en un amplio número de formulaciones. Hispanagar le aconsejará sobre el producto específico que proporcionará los mejores resultados en cualquier producto alimenticio.

El agar es un excelente agente gelificante y espesante, además de una fuente natural de fibra alimentaria de origen vegetal. La compañía ofrece una gama completa de distintos agares que cubren todas las aplicaciones alimentarias:

3. **Gold Agar:** Con un temperatura de gelificación baja, se recomienda para pastelería y rellenos, lácteos y productos cárnicos.
4. **Agarite:** Tiene una gran compatibilidad con productos de alto contenido en azúcar y alto punto de gelificación. Este producto es ideal para productos que requieren una gelificación más rápida.
5. **Grand Agar:** Posee propiedades únicas, gran transparencia, alto punto de gelificación y mejor solubilidad a temperaturas bajas.

Los principales campos de aplicación en alimentación son:

- Confitería (gelatinas, caramelos y dulces, rellenos de caramelos, mermeladas).
- Pastelería y bollería (recubrimiento de pasteles y tartas, donuts).
- Productos lácteos (yogures, postres lácteos, leches fermentadas).
- Productos cárnicos enlatados.

El uso del agar-agar en alimentación se basa en sus propiedades inherentes:

- Gran poder gelificante.
- Aplicable en un amplio rango de pH.
- Resistente al tratamiento térmico.
- Gran histéresis entre el punto de fusión y gelificación.

- No enmascara sabores.
- Geles reversibles.
- Estabilidad de geles.

2.6.2 Agar bacteriológico:

El agar bacteriológico se utiliza como agente gelificante en la preparación de medios de cultivo, así como en crecimiento y propagación in vitro de tejido vegetal.

La principal ventaja de este agar es la ausencia de inhibidores que puedan enmascarar el óptimo desarrollo de microorganismos. Además posee otras propiedades como transparencia, gran histéresis y reproducibilidad lote a lote.

El agar bacteriológico de Hispanagar es sometido a estrictos controles que determinan sus parámetros físico-químicos y garantizan la ausencia de sustancias hemolíticas e inhibidores. Todos los lotes son rigurosamente controlados para verificar su comportamiento biológico frente a diversos cultivos de conocidas bacterias y para asegurar las adecuadas características de crecimiento bacteriano.

2.7 Aplicaciones:

2.7.1 Alimentación:

Hispanagar es una de las pocas empresas del mundo que fabrica el hidocoloide derivado de algas marinas más empleado en la industria alimentaria, esencial para la preparación de alimentos. La compañía procesa diferentes tipos de algas, obteniendo una amplia gama de productos para numerosas aplicaciones tanto industriales como en restauración.

El agar es un hidocoloide natural empleado desde hace siglos en la cocina, principalmente en Asia. Es un excelente gelificante y espesante de alimentos, además de

ser una fuente sana de fibra dietética de origen vegetal. Las variedades de agar que Hispanagar ofrece permiten su uso en cualquier formulación.

2.7.2 Microbiología:

El agar bacteriológico es un agente gelificante en la preparación de medios de cultivo para identificar microorganismos. Estos medios juegan un papel importante en diagnóstico clínico, en control de calidad y seguridad de alimentos. Su uso también se extiende al cultivo de tejidos de plantas in vitro. El agar es ideal para estas aplicaciones debido a que mantiene la estabilidad del medio, a su ausencia de inhibidores y a su gran reproducibilidad.

2.7.3 Biología molecular:

Desde hace décadas Hispanagar desarrolla y fabrica una completa gama de agaros, empleadas en biología molecular, genética y bioquímica. La agarosa forma una matriz inerte utilizada principalmente en la separación de ácidos nucleicos y proteínas. Además de la electroforesis, otras aplicaciones importantes son las técnicas de cromatografía (gel, afinidad, cambio iónico), la inmunodifusión, como soporte para biocatálisis, uso en medios de cultivo sólidos y crecimiento de cristales de proteínas

3 OBJETIVO:

El objetivo general:

- Completar la formación teórico-práctica y adquirir las competencias necesarias para el desarrollo de futuras actividades profesionales.

Dichas prácticas se llevarán a cabo en la empresa “HISPANAGAR”, para lo cual el objetivo específico a alcanzar es:

- Realizar el control de calidad y análisis físico – químico de productos y componentes intermedios en la fabricación de Agar – Agar.
- Realizar la determinación de los rendimientos, por cada especie analizada.

4 TRABAJO REALIZADO EN LA EMPRESA

4.1 Determinación de los rendimientos por especie:

Como primer paso para la determinación del rendimiento de las especies (algas), a analizar se deberá realizar el secado de las mismas. Este proceso se hace en las instalaciones de la empresa diseñadas específicamente para este proceso, la muestra ya seca se trata bajo los parámetros establecidos por la empresa.

El tratamiento de extracción de algas se realizará según el siguiente procedimiento:

4.1.1 Pesaje de la muestra:

El tratamiento de extracción del agar empieza, con el pesaje de las muestras a trabajar (algas de diferente naturaleza), siendo pesadas con exactitud en una balanza analítica, de capacidad alta, a su vez es pesado con mucha precisión y cuidado el NaOH el cual es corrosivo al contacto con la piel, ésta se tratará con las precauciones debidas (guantes y gafas protectoras).

4.1.2 Reacción con el agente alcalino:

La reacción será llevada a cabo con un agente alcalino, el cual actuará en el alga, durante diferentes tiempos y temperaturas de extracción (según cada especie de algas).

4.1.3 Tratamiento sólido-líquido:

Este proceso se realiza después de la extracción con el agente alcalino, el tratamiento consiste en el lavado de las algas que ya fueron tratadas con H₂O para extraer la base en exceso, este proceso se realiza por triplicado.

4.1.4 Regulación del pH:

El tratamiento continúa mediante el ajuste del pH, este proceso se realiza con ayuda de diversos agentes ácidos hasta tener un pH de equilibrio.

4.1.5 Extracción Térmica:

La extracción viene dada en un reactor (autoclave) (figura 5), a una determinada presión y tiempo la solución de algas es tratada durante diferentes tiempos según la especie de las algas, este proceso se debe de realizar con el debido cuidado ya que las temperaturas en este equipo son altas.



Figura 5 Reactor autoclave

(Fuente: Laboratorio de control de calidad “HISPANAGAR”)

4.2 Separación por membrana:

La solución de algas resultante del tratamiento de la extracción térmica pasa a ser mezclada con tierras filtrantes, las cuales actuando con la solución pasan a ser filtradas en un equipo de filtración (figura 6) a presión, hasta obtener el gel.



Figura 6 Equipo de filtración

(Fuente: Laboratorio de control de calidad “HISPANAGAR”)

4.2.1 Gelificación:

El tratamiento que se realiza continuando el paso de filtración será el tratamiento del gel resultante, el cual tiene una temperatura elevada, esta muestra es llevada a envases de dimensiones específicas, para su posterior congelación.

4.2.2 Prensado:

La muestra congelada es llevada a una temperatura ambiente. Esto para ser tratada en una prensa (figura 6), la cual actuará llevando la muestra hasta sequedad parcial con la ayuda de membranas de filtración.

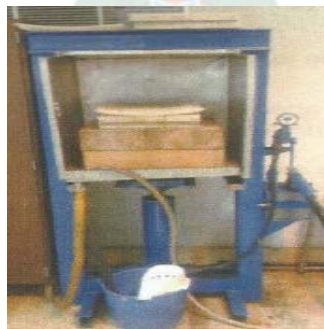


Figura 7 Equipo de prensado

(Fuente: Laboratorio de control de calidad “HISPANAGAR”)

4.2.3 Preparación del gel:

La muestra ya prensada es secada con ayuda de una estufa durante diferentes tiempos de secado (según la especie de la muestra), ésta seguidamente es pesada, de este podemos ver la cantidad de agua que pierde la muestra a lo largo del tratamiento. La muestra seca es triturada y disuelta para la preparación del gel (figura 8).



Figura 8 Preparación de geles

(Fuente: Laboratorio de control de calidad "HISPANAGAR")

4.2.4 Ensayo Físicoquímico:

La muestra, pasado el tratamiento en reflujo es llevada a un envase específico, el cual después de regularse térmicamente, será llevado a medición de fuerza de gel para luego comparar los resultados con los medidos en la fábrica.

4.3 Medición de la saturación de la base:

La medición de la saturación de la base se estudia mediante:

- La absorción de la base, por parte del alga a diferentes concentraciones de base añadida.
- La posible existencia de un límite de absorción conforme la variación de concentración de la base.

- El rendimiento de la muestra seca, midiendo seguidamente la fuerza de gel, obtenido en cada concentración de base.

El ensayo se realizó teniendo en cuenta las diferentes especies de algas existentes en el laboratorio, así como las muestras que son traídas de fábrica, las cuales fueron tratadas con diferentes concentraciones de base y temperatura.

Las muestras se analizan mediante la toma de muestras en periodos de tiempo marcados, estas muestras se miden para ver la variación de pH que se vea conforme pasa el tiempo, realizando como ensayo final la valoración con HCl a la última muestra tomada, para ver la cantidad de base que contiene la solución.

4.4 Optimización del proceso de extracción:

Se realizó un estudio con el equipo Autoclave, para ver la variación del rendimiento del gel conforme varía la presión ejercida en el equipo, este proceso consiste en llevar la muestra tratada con la base al equipo y realizar el variado de presión ejercida por el equipo. Este proceso es realizado para medir el mejor rendimiento de trabajo, el cual reflejará la presión más apta de trabajo.

4.5 Ensayo de tamizado:

Este estudio se realizará cuando la muestra ya haya pasado por el tratamiento con la base, presión en el autoclave, y filtrado en membranas. El ensayo consiste en realizar la molienda de las mismas para así poder realizar la fuerza de geles, tomando como partida la muestra homogénea viéndolo desde el punto de vista de partícula, esto es posible haciendo circular la muestra en un equipo que consiste en diferentes trampas de partícula (mallas), que homogenizan la muestra hasta tenerla de manera uniforme, seguidamente a este estudio se verán las fuerzas de gel de cada una de las muestras tratadas, comprobando el contraste con las muestras procesadas por procedimiento regular.

4.6 Medición de la fuerza de gel:

La medición de la fuerza de gel si bien es un proceso explicado con anterioridad, es también considerado como un análisis extra, realizando el mismo para diferentes muestras las cuales no pasan por el tratamiento con la base y el autoclave, siendo que son muestras traídas de fábrica las cuales muestran un tratamiento incompleto, este proceso se lleva a cabo para diferentes muestras, las cuales pasan por el equipo “Nikkan” (figura 9), el cual con la ayuda de diferentes pesas mide la resistencia de membrana que contiene cada gel en diferentes tipos de algas.

Este estudio es realizado tomando en cuenta que la fuerza de gel. Es la capacidad máxima de resistencia por parte de la membrana del gel al contacto, con el embolo de pesaje durante un tiempo de 20 segundos, esta práctica se realiza aumentando el peso hasta que la membrana del gel se rompa, este paso indica la máxima capacidad de resistencia por parte del gel.



Figura 9 Equipo Nikan

(Fuente: Laboratorio de control de calidad “HISPANAGAR”)

5 RESULTADOS:

La experimentación realizada en la empresa “HISPANAGAR”, dio resultados positivos, mostrando la preparación de geles con rendimientos bastante altos, poniendo a punto

nuevos métodos de extracción con diferentes parámetros y/o factores, ya sea desde el punto de vista térmico, concentración de la base o variación de la presión ejercida. Los mismos no pueden ser reflejados en el presente trabajo ya que por respeto a las normas de confidencialidad entre la empresa y mi persona estos no pueden ser mencionados.

6 COMPETENCIAS QUE ME FUERON FAVORABLES:

Durante el periodo de estancia en la empresa “Hispanagar”, puedo afirmar que he podido adquirir diversos conocimientos, como también haber demostrado una alta capacidad acorde a las exigencias de la empresa. Mencionando las competencias que he adquirido durante el periodo de formación académica, he podido realizar el desenvolvimiento independiente dentro del laboratorio, sin desmerecer el excelente apoyo que recibí por parte del equipo de la empresa en su gran variedad profesional.

Por lo mencionado debo reconocer las competencias que me fueron favorables durante el desarrollo de mi trabajo:

- Entendimiento y buena coordinación con la autoridad en el laboratorio.
- Capacidad de resolver problemas ante circunstancias imprevistas en el laboratorio.
- Buena toma de decisiones en el momento adecuado.
- Trabajar coordinadamente con diferentes equipos a lo largo del trabajo.
- Mostrar una iniciativa frente a diferentes sucesos.
- Adaptación a nuevas rutinas de trabajo.
- Gestionar la información de manera adecuada y reservada.
- Desarrollar el método científico frente a problemas presentados.
- Responsabilidad como analista.

Así mismo mencionando las competencias que me ha dejado la formación académica:

- Demostrar conocimientos de solución frente a problemas básicos en “Química General”.
- Interpretación de esquemas de trabajo.
- Procesamiento de datos (Química Analítica).
- Realizar un análisis minucioso de las variaciones térmicas durante la fase de tratamiento de gel (Química Física).
- Preparación de soluciones teniendo en cuenta la ficha técnica que éstas tienen para la protección del analista.
- Gestionar datos y cálculos matemáticos para posteriores trabajos basándonos en la estadística de rendimiento óptimo.
- Manejo de la seguridad básica en un laboratorio.

Sin desmerecer todas las asignaturas que no fueron mencionadas cabe mencionar que durante todo el trabajo que se realizó una gran parte del mismo estuvo dentro de los márgenes que comprende la química analítica, además de química general. Estas ramas de la química me ayudaron en una proporción más alta en la toma de decisiones correctas, frente a diversos procesos realizados en el laboratorio.

7 VALORACIONES PERSONALES:

Gracias a la ayuda del personal de la empresa HISPANAGAR, pude realizar un buen trabajo, acorde a mis expectativas.

Los responsables de mi persona en la empresa, el Dr. Domingo Ignacio Arias Llorente, la Dra. Magdalena Carrasco, y mi coordinador académico Dr. Gustavo Espino, han estado

pendientes de mi bienestar tanto en la fábrica como fuera de ella. Cabe mencionar que estas personas me han proporcionado un ambiente confortable y agradable, gracias a lo cual he desarrollado mis prácticas con naturalidad.

De la misma manera en el laboratorio de control de calidad mi tarea fue impulsada gracias al equipo que me liberó de muchas dudas, de la misma manera la realización de las tareas en el laboratorio me ha ayudado a despejar varias dudas acerca del trabajo industrial, esto ya que gracias a este proceso he aprendido que el trabajo multidisciplinario es el correcto para el buen funcionamiento de una empresa, El tratamiento de los datos durante el trabajo fue realizado y revisado por parte de los diferentes laboratorios en la empresa, esto para poder ver la eficiencia del método utilizado.

Así también el impulso de aprender nuevas técnicas de trabajo incentivó mi curiosidad de aprender más.

8 CONCLUSIONES:

La realización de las prácticas profesionales en la empresa “HISPANAGAR”, ha sido bastante beneficiosa para mi persona no solo mostrándome el ámbito industrial de una empresa, sino también las necesidades básicas de trabajo que una empresa debe de ejercer para poder posicionarse en el mercado mundial.

Las prácticas tuvieron como objetivo la culminación de la formación teórico práctica de mi persona frente al trabajo realizado en una empresa.

Así mismo también se propuso como equipo de trabajo la realización del control de calidad y análisis físico – químico de productos y componentes intermedios en la fabricación de Agar – Agar, los resultados fueron satisfactorios viendo diferentes contrastes y variaciones que se aplican a metodologías utilizadas en la empresa, pero debido al respeto de las normas de confidencialidad entre la empresa y mi persona los datos obtenidos no pueden ser mencionados.

9 BIBLIOGRAFIA:

- [1] <http://www.hispanagar.com/company.htm>
- [2] Martin Lersch, Ph.D, "*Texture – A hydrocolloid recipe collection*", v.3.0, February 2014
- [3] Miguel Calvo, "*Bioquímica de los alimentos*", milk science, 2004
- [4] Laboratorios Microkit, "*Medios de cultivo*", 2009
- [5] Laboratorios CONDA, "*Agarosas*", 2004
- [6] Steentoft, M. and Farham, W.F. 1997. Northern distribution boundaries and thermal requirements of *Gracilaria* and *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta) in Atlantic Europe and Scandinavia. *Nord. J. Bot.* 5: 87 – 93
- [7] <http://www.asturnatura.com/especie/gelidium-corneum.html>
- [8] Talarico, L. & Rasico, N. (1988), "*Ultrastructural and biochemical observations on phycobilisomes and phycobiliprotein composition of Pterocladia capillacea (Gmel.)*", *Born. et Thur., Gelidiaceae (Rhodophyta). Giornale Botanico Italiano* 122: 79-81