



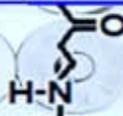
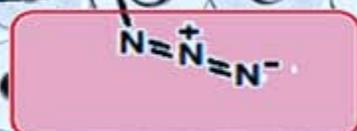
Avances en Química

Volumen 18

Número 3

Septiembre - Diciembre

2023



Avances en Química

Contenido

Volumen 18, número 3, Cuatrimestre septiembre – diciembre 2023

Página

Artículos científicos

Caracterización estructural de aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos.....	83
Patricia Tirado¹, Asilóé J. Mora¹, Teresa González², Jines E. Contreras¹, Gerzon E. Delgado*	
Venezuela	
Manejo integral de residuos de formaldehído: una evaluación in situ de su toxicidad.....	91
Irene Fuentes-Domínguez, Carlos Lobato-García, Marcia Ojeda-Morales, Lorena Vázquez-Vázquez, Sugey López-Martínez, Carlos M. Morales-Bautista	
México	

Avances en Química

Consejo Editorial

Comité Editorial	Editor Jefe
Dra. Marcela Pascu de Burguera, pascu@ula.ve Dr. Issa Katime, issakatime@ehu.es Dr. Wilmer Olivares, wilmer@ula.ve Dr. Jairo Márquez, jamar@ula.ve Dr. Enrique Millán Barrios, ejmb@ula.ve	Dr. Cristóbal Lárez Velásquez, clarez@ula.ve

Consejo de Editores por Área

Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas	Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas
Análítica	Froylan Contreras	fcontrer@ula.ve	Productos Naturales	Juan M. Amaro	jamaro@ula.ve
	Alexis Zambrano	alexisz@ula.ve		Carmelo Rosquete	carmelor@ula.ve
Electroquímica	Enrique Millán B.	ejmb@ula.ve	Cinética y Catálisis	Freddy Imbert	imberty@ula.ve
	Yris Martínez	ymartin@ula.ve		Pedro Rodríguez	pedrojrs@ula.ve
Orgánica	Alí Bahsas	bahsas@ula.ve	Química Ecológica	María P. Calcagno	mariapia@ula.ve
	Andrés Abad	abadjos@ula.ve		Alberto Oliveros	aloliver@ula.ve
Polímeros	Hugo Martínez P.	hmartin@ula.ve	Espectroscopia Analítica	Xiomara de Navarro	roxio@ula.ve
	Cristóbal Lárez V.	clarez@ula.ve		María A. Sánchez	angelisa@ula.ve
Inorgánica y Organometálicos	Bernardo Fontal	fontal@ula.ve	Espectroscopia Molecular	Pablo Carrero	pcarrero@ula.ve
	Ricardo Contreras	ricardo@ula.ve		Carlos Rondón	crondon@ula.ve
Química Teórica	Wilmer Olivares	wilmer@ula.ve	Cristalografía	Graciela Díaz	diaz@ula.ve
	Luis Rincón	lrincon@ula.ve		Gerzon Delgado	gerzon@ula.ve
Farmacia	Alfredo Usubillaga	usubilla@ula.ve			
	Sabino Menolasina	sabino@ula.ve			

Consejo editorial

Comité Editorial

Dra. Marcela Pascu de Burguera, pascu@ula.ve

Dr. Issa Katime, issakatime@ehu.es

Dr. Wilmer Olivares, wilmer@ula.ve

Dr. Jairo Márquez, jamar@ula.ve

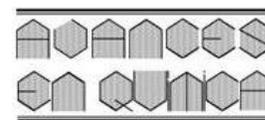
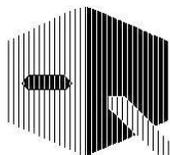
Dr. Enrique Millán Barrios, ejmb@ula.ve

Editor Jefe

Dr. Cristóbal Lárez Velásquez, clarez@ula.ve

Consejo de Editores por Area

Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas	Área	Principales Suplentes	Direcciones electrónicas
Analítica	Froylan Contreras	fcontrer@ula.ve	Productos Naturales	Juan M. Amaro	jamaro@ula.ve
	Alexis Zambrano	alexisz@ula.ve		Carmelo Rosquete	carmelror@ula.ve
Electroquímica	Enrique Millán B.	ejmb@ula.ve	Cinética y Catálisis	Freddy Imbert	imberty@ula.ve
	Yris Martínez	ymartin@ula.ve		Pedro Rodríguez	pedroirs@ula.ve
Orgánica	Ali Bahsas	bahsas@ula.ve	Química Ecológica	María P. Calcagno	mariapia@ula.ve
	Andrés Abad	abadjos@ula.ve		Alberto Oliveros	aloliver@ula.ve
Polímeros	Hugo Martínez P.	hmartin@ula.ve	Espectroscopia Analítica	Xiomara de Navarro	roxio@ula.ve
	Cristóbal Lárez V.	clarez@ula.ve		María A. Sánchez	angelisa@ula.ve
Inorgánica y Organometálicos	Bernardo Fontal	fontal@ula.ve	Espectroscopia Molecular	Pablo Carrero	pcarrero@ula.ve
	Ricardo Contreras	ricardo@ula.ve		Carlos Rondón	crondon@ula.ve
Química Teórica	Wilmer Olivares	wilmer@ula.ve	Cristalografía	Graciela Díaz	diaz@ula.ve
	Luis Rincón	lrincon@ula.ve		Gerzon Delgado	gerzon@ula.ve
Farmacia	Alfredo Usubillaga	usubilla@ula.ve			
	Sabino Menolasina	sabino@ula.ve			



Caracterización estructural de aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos

Patricia Tirado¹, Asiloé J. Mora¹, Teresa González², Jines E. Contreras¹, Gerzon E. Delgado^{1*}

¹Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

²Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas IVIC, Caracas, Venezuela

(*) gerzon@ula.ve

Recibido: 03/10/2023

Revisado: 26/11/2023

Aceptado: 03/12/2023

Resumen

Los aminoácidos no-proteinogénicos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos del tipo Accⁿ, con $n = 3, 4, 5, y 6$, han sido recristalizados y caracterizados mediante las técnicas de espectroscopia FT-IR, análisis térmico (TGA-DSC), difracción de rayos-X en muestras policristalinas (XRPD) y cristal único (XRD). Los resultados espectroscópicos son consistentes con los grupos funcionales amino y ácido presentes en la familia de aminoácidos. El análisis térmico confirma la presencia de agua de cristalización en los aminoácidos Acc³, Acc⁴, y Acc⁵. Los patrones de difracción de rayos-X en polvo confirman la pureza de las muestras cristalinas. El análisis por difracción de cristal único del aminoácido 1-amino-1-ciclopentano carboxílico Acc⁵, indica que el compuesto cristaliza en el grupo espacial monoclinico $P2_1/c$ ($N^\circ 14$), en forma de zwitterión al igual que los demás aminoácidos. El empaquetamiento cristalino se estabiliza mediante la formación de interacciones intermoleculares del tipo de enlace de hidrógeno N-H...O y O-H...O entre moléculas vecinas y moléculas de agua de cristalización. Estos enlaces de hidrógeno dan lugar a la formación de estructuras supramoleculares formando anillos de 8 y 12 miembros descritas por en los grafos $R^2_4(8)$ y $R^4_4(12)$, respectivamente.

Palabras claves: Aminoácidos no-proteinogénicos, ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos, Difracción de rayos-X.

Abstract

Structural characterization of 1-amino-1-cycloalkane carboxylic acids The non-photogenic amino acids 1-amino-1-cycloalkane carboxylic of type Accⁿ, with $n = 3, 4, 5, y 6$, has been recrystallized and characterized by spectroscopic FT-IR technique, thermal analysis (TGA-DSC), X-ray powder diffraction (XRPD) and single-crystal (XRD). Spectroscopy results are consistent with the functional group's amino and acid present in the amino acid family. Thermal analysis confirms the presence of crystallization water in the amino acids Acc³, Acc⁴, and Acc⁵. The powder X-ray diffraction data confirm the phase purity of the crystalline samples. Single-crystal X-ray diffraction analysis of 1-amino-1-cyclopentane carboxylic acid, Acc⁵, indicated that crystallizes in the monoclinic space group $P2_1/c$ ($N^\circ 14$), in the form of zwitterion like the other amino acids. The crystalline packing is stabilized by the formation of intermolecular interactions of the hydrogen bond type N-H...O and O-H...O between neighboring molecules and water crystallization molecules. These hydrogen bonds give rise to the formation of 8 and 12-membered ring-type supramolecular structures described by the graph-sets $R^2_4(8)$ and $R^4_4(12)$, respectively.

Keywords: Non-proteinogenic amino acids, 1-amino-1-cycloalkane carboxylic acids, X-ray diffraction.

Introducción

Técnicamente hablando, cualquier compuesto orgánico con un grupo funcional amino ($-NH_2$) y un grupo ácido carboxílico ($-COOH$) se conoce como un aminoácido. De todos los aminoácidos naturales conocidos, los más comunes son aquellos que forman parte de las proteínas y que están codificados en el material genético. Estos aminoácidos son los que se conocen como aminoácidos proteinogénicos. Todos los aminoácidos proteinogénicos naturales tienen los dos grupos funcionales unidos al primer carbono de la cadena, esta es la posición alfa, de ahí que se conozcan como α -aminoácidos¹.

Además de estos, existen otros aminoácidos naturales con función biológica que no forman parte de las proteínas, estos son

los aminoácidos no-proteinogénicos. Estos aminoácidos suelen ser resultado de modificaciones postraduccionales de proteínas, mecanismo fundamental de regulación de su actividad biológica, o por reacciones de biosíntesis a partir de otras sustancias por ejemplo el ácido γ -aminobutírico (GABA), la triiodotirofina, la hidroxiprolina, o la selenometionina². Muchos aminoácidos no-proteinogénicos son importantes como intermediarios en la biosíntesis, en la formación postraduccionales de proteínas, como compuestos farmacológicos naturales o artificiales, además de ser utilizados en experimentos prebióticos³. Algunos de estos aminoácidos no proteicos tienen una estructura similar a otros aminoácidos proteicos y pueden competir con ellos en una variedad de procesos biológicos, incluida la incorporación errónea a proteínas. Además de su relevancia biológica, los

aminoácidos no-proteinogénicos sirven como compuestos modelo útiles para estudiar la interacción entre la estructura de los aminoácidos y las propiedades termoquímicas⁴.

Un interesante grupo de aminoácidos no-proteinogénicos son los ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos, los cuales son ácidos carboxílicos que contienen un grupo amino y un anillo cicloalcano fusionado al carbono alfa del grupo carboxilo. Estos α -aminoácidos cuaternarios denominados Acc^n , donde n es el número de átomos de carbono en el anillo, son considerados no metabolizables y se caracterizan por ser solubles en agua y disolventes orgánicos polares. En general los aminoácidos con anillo ciclopropano ($n=3$), ciclobutano ($n=4$), ciclopentano ($n=5$), ciclohexano ($n=6$), debido a su amplia actividad biológica, tienen diferentes aplicaciones en el crecimiento de algunas plantas y en el campo de la industria farmacéutica⁵. En la figura 1 se muestran los esqueletos moleculares de los cuatro aminoácidos Acc^n mencionados.

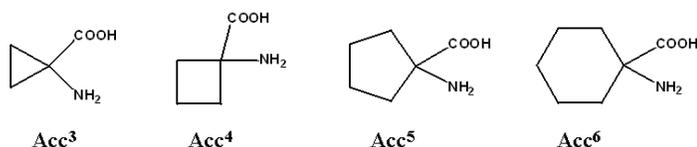


Fig. 1: Diagrama estructural de los aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos (Acc^n) con $n=3, 4, 5, y 6$.

Estos compuestos tienen diferentes propiedades dependiendo de su estructura. El aminoácido Acc^3 se encuentra comúnmente en frutas como manzanas, peras, y arándanos⁶, y juega una función importante en la biosíntesis del etileno⁷. El etileno regula una amplia gama de procesos de desarrollo y respuestas al estrés biótico y abiótico, en parte mediante complejas interacciones con otras fitohormonas. También se ha demostrado que los aminoácidos Acc^3 y Acc^4 se unen como agonistas al receptor NMDA, N-metil-D-aspartato presente en el funcionamiento del cerebro, en el sitio de unión de glicina, por tanto, podrían ser utilizados como agentes anticonvulsivos con propiedades neuroprotectoras⁸. Por el contrario, el aminoácido Acc^5 es un NMDA antagonista de la glicina⁸. Sin embargo, este último, también conocido como cicloleucina, se utiliza en la preparación de compuestos con potencial actividad analgésica y anti-convulsivante⁹. Además, los aminoácidos Acc^5 y Acc^6 se han utilizado muy recientemente como intermediarios en la preparación de péptidos como posibles fármacos en la terapia del cáncer de colon¹⁰. En particular el aminoácido Acc^6 se asemeja estructuralmente a otro distinguido aminoácido no-proteinogénico como lo es la gabapentina, ácido 1-aminometil-ciclohexanoacético, el cual es un medicamento originalmente desarrollado para el tratamiento de la epilepsia pero que actualmente se utiliza en el tratamiento del dolor de origen neuropático⁴.

Desde el punto de vista estructural se conocen las estructuras cristalinas de los aminoácidos Acc^3 , Acc^4 , y Acc^6 , reportadas en la base de datos Cambridge Crystallographic Data Centre (versión 5.44, sept. 2023)¹¹. El aminoácido Acc^3 cristaliza con media molécula de agua en la unidad asimétrica, en una celda

triclínica¹². Acc^4 cristaliza con una molécula de agua y simetría monoclinica¹³, y Acc^6 cristaliza sin solvente ocluido en el sistema monoclinico¹⁴. En el caso del aminoácido Acc^5 se reportó un estudio estructural utilizando intensidades colectadas mediante estimaciones visuales a partir de fotografías Weissenberg¹⁵, lo que derivó en un modelo estructural incompleto, posiciones atómicas desordenadas y en consecuencia con un elevado factor de confiabilidad. Por otra parte, los patrones de difracción de polvo de estos aminoácidos Acc^n no se encuentran reportados en la base de datos del International Centre for Diffraction Data¹⁶.

Como parte de nuestro continuo interés en el estudio estructural de pequeñas moléculas biológicamente activas como aminoácidos naturales y no-naturales, y sus derivados¹⁷⁻²², en este trabajo se presenta la cristalización y caracterización estructural, FT-IR, TGA-DSC, y XRPD, de los aminoácidos no-proteinogénicos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos Acc^3 , Acc^4 , Acc^5 , y Acc^6 , con énfasis en la determinación de la estructura cristalina, por difracción de cristal único XRD del aminoácido 1-amino-1-ciclopentano carboxílico Acc^5 y su comparación con los otros miembros de la familia Acc^n .

Parte experimental

Se utilizaron los aminoácidos 1-amino-1-ciclopropano Acc^3 (Aldrich 98%), 1-amino-1-ciclobutano Acc^4 (Aldrich 97%), 1-amino-1-ciclopentano Acc^5 (Aldrich 98%), y 1-amino-1-ciclohexano carboxílico Acc^6 (Aldrich 98%) con grado analítico. Los mismos se recrystalizaron con el propósito de obtener cristales apropiados para el posterior estudio por difracción de rayos-X de cristal único. 1,0 mol de cada uno de los aminoácidos se disolvieron en 5 mL de agua. Las soluciones se llevaron a reflujo con agitación constante, durante 30 minutos. Mediante evaporación lenta de los solventes se obtuvieron cristales adecuados al cabo de varias semanas. Los cristales formados son incoloros con forma de pequeños bloques. Para los estudios espectroscópicos, térmicos y difracción de rayos-X se utilizaron los materiales recrystalizados.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Electrothermal modelo 9100. Los espectros de FT-IR se obtuvieron utilizando pastillas de KBr en un equipo Perkin-Elmer 1600. El estudio térmico se realizó en un analizador SDT Q600 de AT Instruments, en atmósfera de N_2 , mediante un flujo del gas de 100mL/min, a una velocidad de $10^\circ/\text{min}$. Los datos de difracción de rayos-X en muestra policristalina se registraron en un difractómetro Siemens D5005 utilizando radiación de $CuK\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). Los datos se colectaron en un rango de $5-55^\circ$ en 2θ con pasos de $0,02^\circ$ y un tiempo de 10 segundos por paso. Se utilizó cuarzo como estándar externo. Los datos de difracción de rayos-X de cristal único para el ácido 1-amino-1-ciclopentano carboxílico Acc^5 , se midieron en un difractómetro Rigaku AFC7S Mercury equipado con radiación de $MoK\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). Los datos se corrigieron por efectos de absorción y polarización.

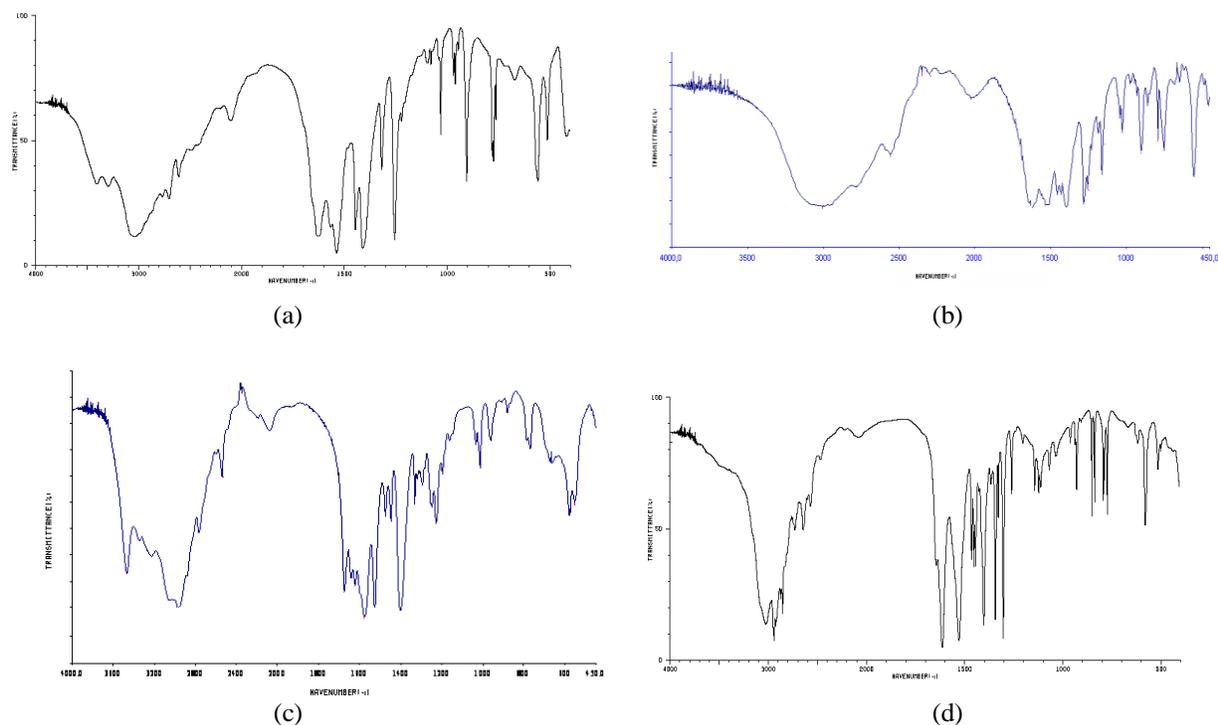


Fig. 2: Espectros FT-IR de los aminoácidos a) Acc^3 , b) Acc^4 , c) Acc^5 , y d) Acc^6 .

Discusión de resultados

Los puntos de fusión medidos en el fusiómetro para los aminoácidos fueron: Acc^3 230-232 °C, Acc^4 260-262 °C, Acc^5 319-321 °C, y Acc^6 348-350 °C.

Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

En la figura 2 se observan los espectros FT-IR obtenidos para cada uno de los aminoácidos. En los espectros se pueden apreciar las bandas de absorción características correspondientes a la estructura molecular de los ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos. Para los aminoácidos Acc^3 , Acc^4 y Acc^5 se destacan las bandas, en la región 3000-3400 cm^{-1} correspondientes a vibración de tensión del grupo O-H de posible agua presente en la red cristalina. Para todos los aminoácidos se encuentra una señal amplia en los 3000 cm^{-1} que corresponde a los modos de estiramiento del grupo NH_3^+ , además de una señal cerca de los 2800 cm^{-1} que indica la presencia de vibraciones de tensión de grupos C-H alifáticos. Las bandas de flexión simétrica y asimétrica del grupo NH_3^+ aparecen entre 1620-1520 cm^{-1} . Cerca de los 1550 cm^{-1} aparece una banda como producto de la vibración de estiramiento asimétrico del grupo (O-C-O), y una banda con intensidad mucho más fuerte cerca de los 1400 cm^{-1} producto de la vibración de tensión simétrica del grupo (O-C-O). La aparición de estas señales junto con la ausencia de las bandas -HO-C-H y C=O características de los grupos carboxílicos, evidencian el posible carácter zwitteriónico de los diferentes aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos.

Análisis térmico (TGA-DSC)

En la figura 3 se muestran las curvas TGA y DSC (análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido) para cada

uno de los aminoácidos. En el caso de los compuestos Acc^3 , Acc^4 , y Acc^5 las curvas muestran como la descomposición térmica ocurre en dos etapas. En los TGA la primera transición ocurre a temperaturas de 92 °C Acc^3 , 98 °C Acc^4 y 84 °C Acc^5 , respectivamente, correspondientes a la descomposición de agua de cristalización. La segunda transición ocurre por encima de los 320 °C y corresponde con la descomposición de los aminoácidos. En el caso del Acc^6 solo se aprecia una transición que aparece a una temperatura superior a 300 °C lo que indica que no existen moléculas de agua de cristalización en su estructura. Por su parte, en las curvas DSC se observa un pico endotérmico principal que corresponde a la temperatura de fusión de cada material. El ácido Acc^3 funde a 231 °C (figura 3a). El ácido Acc^4 funde a 262 °C (figura 3b). El ácido Acc^5 funde a 318 °C (figura 3c). El ácido Acc^6 funde a 351 °C (figura 3d). Los puntos de fusión obtenidos en el análisis térmico concuerdan muy bien con los medidos en el fusiómetro.

El análisis espectroscópico y análisis térmico permitieron dilucidar el posible carácter zwitteriónico de cada uno de los aminoácidos y la presencia de agua de cristalización en los aminoácidos Acc^3 , Acc^4 , y Acc^5 .

Difracción de rayos-X en muestras policristalinas (XRPD)

Los patrones de difracción de los diferentes aminoácidos indican la presencia de una sola fase (Figura 4) y se indexaron utilizando el programa Dicvol06²³. Acc^3 cristaliza en una celda triclinica mientras Acc^4 , Acc^5 y Acc^6 cristalizan en celdas monoclinicas con los parámetros de celda unidad mostrados en la tabla 1. En esta tabla se indican también las figuras de mérito del indexado^{24,25}.

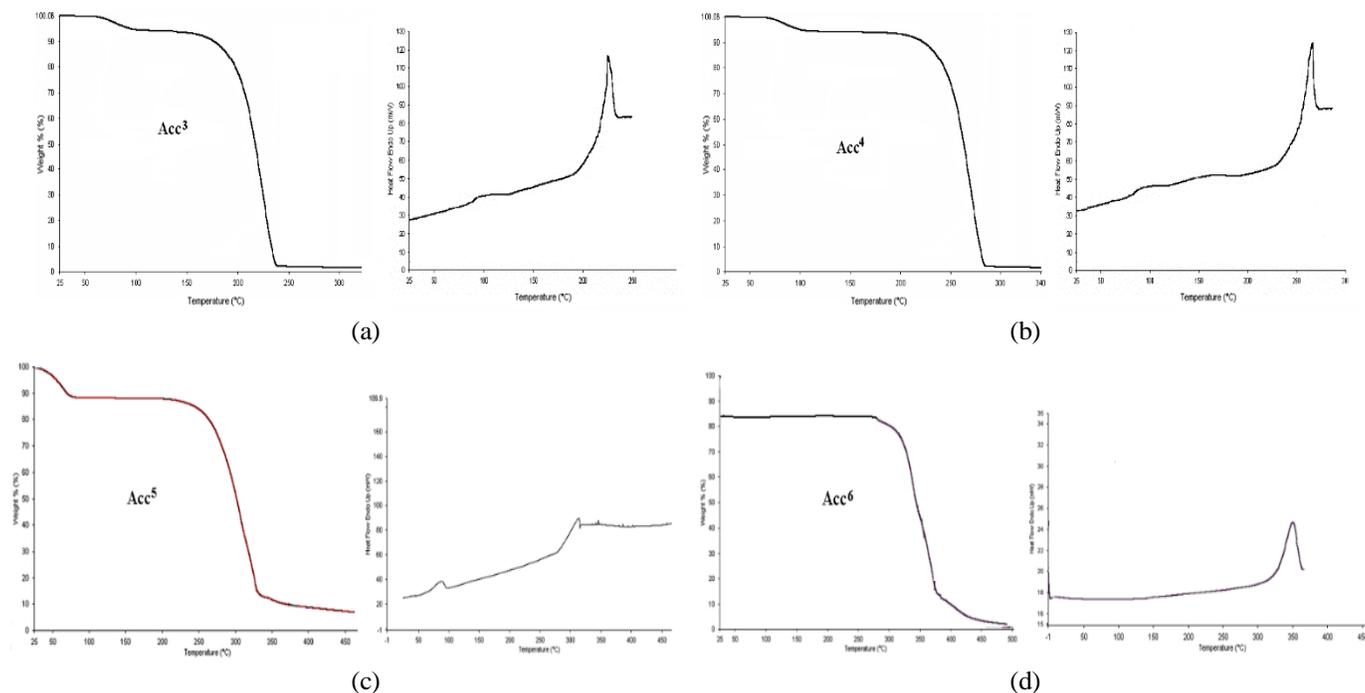


Fig. 3: Curvas TGA y (Accⁿ) con $n = 3, 4, 5, \text{ y } 6$.

Tabla 1. Parámetros de celda unidad obtenidos para cada aminoácido Accⁿ luego del indexado de los patrones de difracción.

Aminoácido	Acc ³	Acc ⁴	Acc ⁵	Acc ⁶
Parámetros de celda (Å, °)	$a=6,271, b=8,553$ $c=10,15, \alpha=101,76$ $\beta=96,73, \gamma=94,05$	$a=10,310$ $b=6,135$ $c=10,931$ $\beta=100,80$	$a=11,147$ $b=6,217$ $c=11,084$ $\beta=97,50$	$a=11,052$ $b=6,498$ $c=10,829$ $\beta=95,97$
Tipo de celda	triclinica	monoclinica	monoclinica	monoclinica
Volumen (Å ³)	V= 526,8	V= 679,1	V= 761,5	V= 773,5
M ₍₂₀₎ ²⁴	31,7	29,2	36,3	38,6
F ₍₃₀₎ ²⁵	35,7 (0,0078,107)	30,8 (0,0043, 151)	42,6 (0,0059, 79)	43,2 (0,0069, 67)
Le Bail				
R _{exp}	7,1	7,6	6,7	6,9
R _p	9,5	9,0	8,9	9,2
R _{wp}	10,1	9,5	9,1	9,3
S	1,4	1,3	1,3	1,3

Las celdas obtenidas se refinaron sin modelo estructural por el método de Le Bail²⁶ utilizando el programa Fullprof²⁷. La figura 4 muestra el resultado de los refinamientos observándose un buen ajuste entre los patrones observado y calculado para cada uno de los aminoácidos. Las figuras de mérito del refinamiento se muestran en la tabla 1.

Difracción de rayos-X en monocristal (XRD)

La estructura cristalina del aminoácido 1-amino-1-ciclopentano carboxílico Acc⁵, se determinó utilizando el método de fase intrínseca empleando el programa OLEX-2²⁸ y se refinó mediante cálculos de mínimos cuadrados de matriz completa utilizando el programa SHELXL²⁹. Los átomos de hidrógeno unidos al N1 se ubicaron en el mapa de diferencias de Fourier.

Los demás átomos de H se colocaron en posiciones calculadas y tratados usando un modelo rígido con distancias C-H 0,96-0,98 Å y Uiso(H) = 1,2 Ueq(C)], O-H 0,82 Uiso(H) = 1,2 Ueq(O)].

Los datos cristalográficos aquí reportados se depositaron en la base de datos Cambridge Crystallographic Data Centre¹¹. En la tabla 2 se muestran los datos cristalográficos para los diferentes aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos. La información de los aminoácidos Acc³, Acc⁴ y Acc⁶ se recopiló de la literatura reportada¹²⁻¹⁴. Los parámetros de celda concuerdan muy bien con los encontrados con difracción en muestra policristalina, lo cual es un indicativo de la homogeneidad de las muestras cristalizadas.

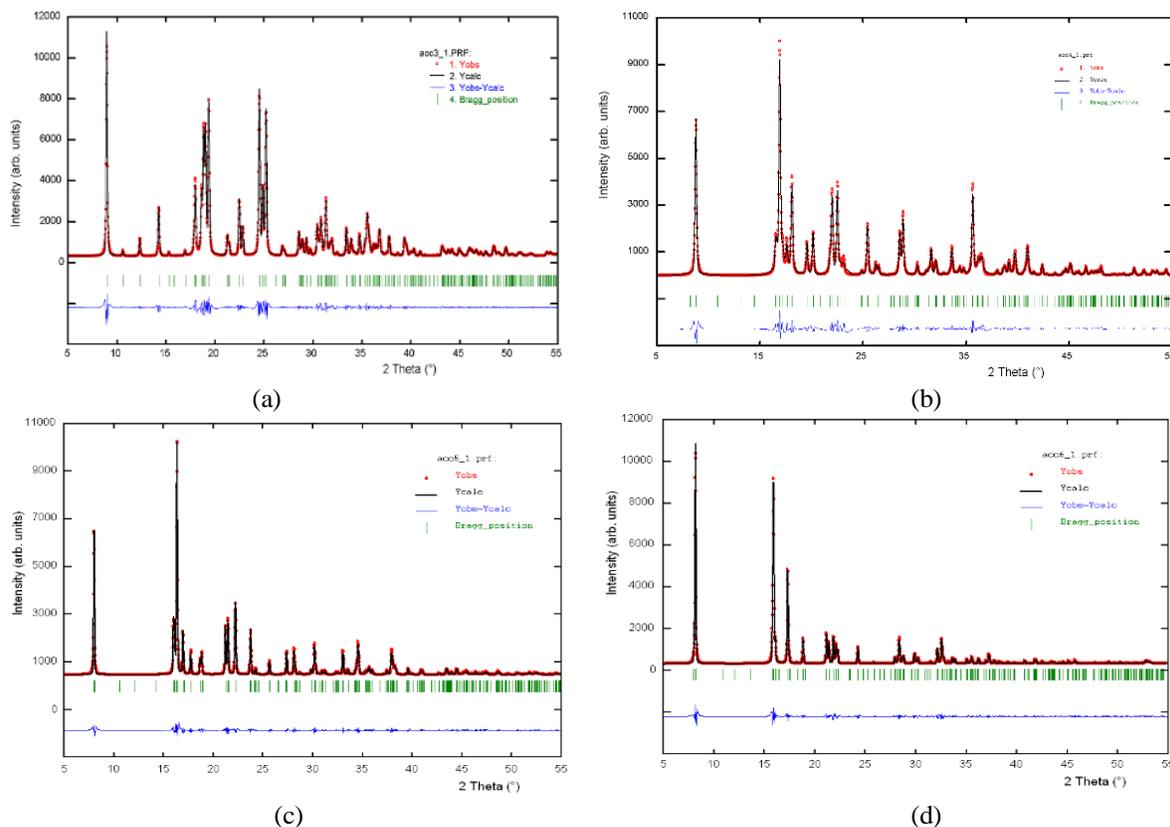


Fig. 4: Gráficas del ajuste de las celdas encontradas para los aminoácidos a) Acc^3 , b) Acc^4 , c) Acc^5 , y d) Acc^6 utilizando el método de Le Bail.

Tabla 2. Datos cristalográficos de los ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos Acc^n obtenidos por difracción de rayos-X de monocristal.

	$\text{Acc}^3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ¹²	$\text{Acc}^4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ¹³	$\text{Acc}^5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ *	Acc^6 ¹⁴
Código CSD	FOBJUB	GISGIA	-	ACYHXA01
Formula química	$\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_2$	$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2$	$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NO}_2$
Peso fórmula	110,11	133,15	147,17	193,20
Sistema cristalino	triclinico	monoclinico	monoclinico	monoclinico
Grupo espacial	P-1 (N°1)	P2 ₁ /c (N°14)	P2 ₁ /c (N°14)	P2 ₁ /a (N°14)
a (Å)	6,2687(4)	10,2508(2)	11,076(4)	11,047(3)
b (Å)	8,5514(11)	6,1312(1)	6,212(2)	6,494(3)
c (Å)	10,1467(11)	10,9209(2)	11,145(4)	10,831(3)
α (°)	101,76(1)			
β (°)	96,71(1)	100,87(0)	97,50(1)	95,9(3)
γ (°)	94,06(1)			
V (Å ³)	526,3(1)	674,05(2)	760,28(10)	772,89(24)
Z	4	4	4	4
Pcalc (g/cm ³)	1,389	1,312	1,286	1,230
R(F ²) [I > 2 σ (I)]	0,0388	0,0382	0,0563	0,0370

Tabla 3: Algunas distancias de enlace en los aminoácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos Acc^n (Å). [*] Este trabajo.

	Acc^3 ¹²	Acc^4 ¹³	Acc^5 *	Acc^6 ¹⁴
O1 - C1	1,246(2)	1,254(1)	1,255(2)	1,241(3)
O2 - C1	1,257(2)	1,257(1)	1,240(3)	1,243(3)
C2 - N1	1,471(2)	1,482(1)	1,497(3)	1,506(3)
C2 - C1	1,507(2)	1,533(1)	1,538(3)	1,558(3)
C2 - C3	1,502(2)	1,553(2)	1,526(3)	1,525(3)

Todos los aminoácidos cristalizan en forma de zwitterión. La estructura Acc^3 contiene 2 moléculas del aminoácido por una de agua. Las estructuras Acc^4 y Acc^5 contienen una molécula del aminoácido por una de agua, mientras que la estructura Acc^6 no contiene agua de solvente. Estos resultados concuerdan con el análisis térmico.

La existencia de la forma zwitteriónica de cada uno de los aminoácidos se confirma por la presencia de tres átomos de H unidos al átomo N1 y los grupos carboxilato casi simétricos con distancias de enlace C1-O1 y C1-O2 muy similares (Tabla 3).

En la figura 5 se muestra la unidad asimétrica de cada uno de los compuestos. Todas las distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos de torsión se ajustan al rango de valores normales reportados en la base de datos de Cambridge (versión 5.44, sept. 2023)¹¹ para moléculas similares.

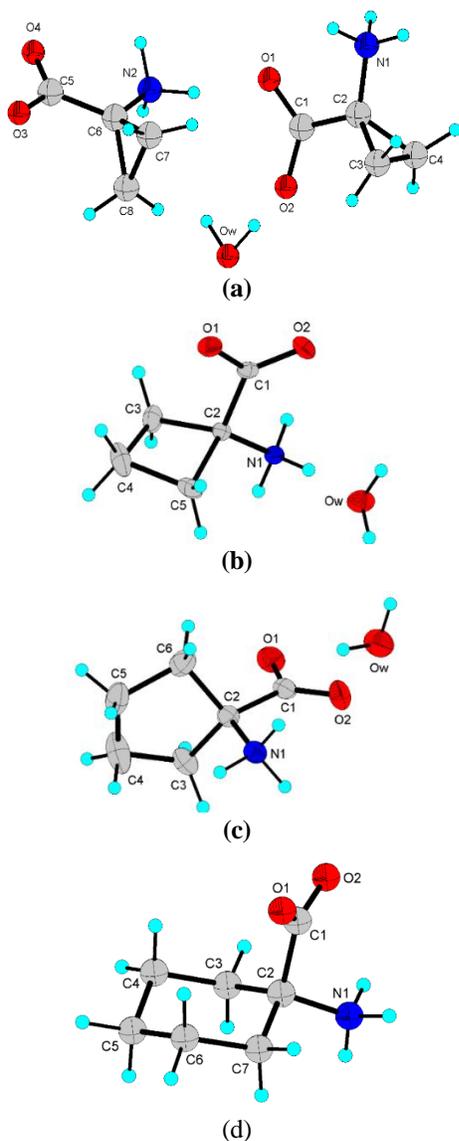


Fig. 5: Estructura molecular de cada uno de los ácidos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos a) $\text{Acc}^3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, b) $\text{Acc}^4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, c) $\text{Acc}^5 \cdot \text{H}_2\text{O}$, y d) Acc^6 . Los elipsoides se dibujaron con una probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno se muestran como esferas con radio arbitrario.

La estructura cristalina del aminoácido Acc^5 se encuentra estabilizada por 5 enlaces de hidrógeno intermoleculares. En la tabla 4 se muestran los parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno en cada uno de los aminoácidos. El empaquetamiento cristalino de los diferentes aminoácidos está conformado por interacciones de enlace de hidrógeno del tipo $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ para todos los Acc^n , y también del tipo $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ para los aminoácidos Acc^4 y Acc^5 .

Para el Acc^5 el grupo NH_3^+ interviene en tres interacciones. Los hidrógenos N1-H1 y N1-H2 forman enlaces con los oxígenos O1 y O2 de moléculas vecinas, y el hidrógeno N1-H3 interactúa con la molécula de agua presente en la unidad asimétrica. De esta manera la molécula de agua sirve de puente entre dos moléculas de aminoácido actuando como doble donador de sus dos hidrógenos Hw1 y Hw2 hacia átomos O1 y O2, haciendo a cada uno de los oxígenos del grupo carboxilato doble receptor de hidrógenos (figura 6). Todas estas interacciones construyen un enrejado tridimensional de enlaces de hidrógeno. La figura 7 muestra en más detalle los conglomerados moleculares formados en la estructura. Los enlaces de hidrógeno forman anillos de ocho miembros que se describen mediante el grafo $\text{R}^2_4(8)$ ³⁰. Además, también se forman anillos de doce miembros descritos por el grafo $\text{R}^4_4(12)$. La repetición por simetría de estos patrones da como resultado un empaquetamiento cristalino compacto con porcentaje de espacio lleno de 68,5%.

Tabla 4. Parámetros geométricos de los enlaces de hidrógeno presentes en los diferentes aminoácidos Acc^n .

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (°)
$\text{Acc}^3 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$				
N1-H1...O4	0,95(2)	1,87(2)	2,810(2)	170(2)
N1-H2...O3	1,01(2)	1,89(2)	2,882(2)	170(2)
N1-H3...O3	0,98(2)	1,85(2)	2,824(2)	169(2)
N2-H4...O4	0,98(2)	1,90(2)	2,857(2)	163(2)
N2-H5...Ow	0,93(2)	1,91(2)	2,823(2)	167(2)
$\text{Acc}^4 \cdot \text{H}_2\text{O}$				
O1-H1...Ow	0,88(2)	1,92(2)	2,794(1)	175(1)
O1-H2...O2	0,82(2)	2,01(2)	2,287(1)	176(1)
N1-H3...O2	0,92(2)	1,92(2)	2,809(1)	161(1)
N1-H4...Ow	0,93(2)	1,91(2)	2,835(1)	171(2)
$\text{Acc}^5 \cdot \text{H}_2\text{O}$				
N1-H1...O1	1,01(2)	1,91(2)	2,898(3)	167(2)
N1-H2...O2	0,91(2)	1,95(2)	2,829(3)	162(2)
N1-H3...Ow	1,00(3)	1,83(3)	2,806(3)	166(3)
Ow-Hw1...O1	0,90(3)	2,01(3)	2,790(3)	179(3)
Ow-Hw2...O2	0,90(3)	1,99(3)	2,894(3)	178(3)
Acc^6				
N1-H1...O1	1,02(2)	1,76(2)	2,773(3)	174(2)
N1-H2...O1	0,84(3)	2,47(3)	3,245(3)	154(2)
N1-H2...O2	0,83(3)	2,14(3)	2,888(3)	149(2)
N1-H3...O2	0,99(3)	2,48(2)	3,072(3)	167(2)

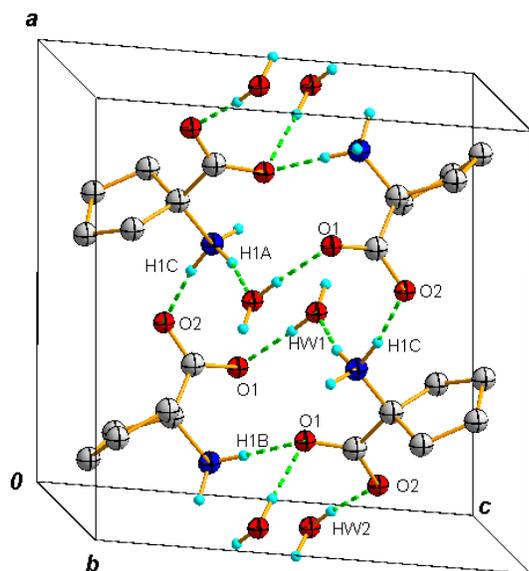


Fig. 6: Vista de las interacciones enlace de hidrógeno en el $\text{Acc}^5 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

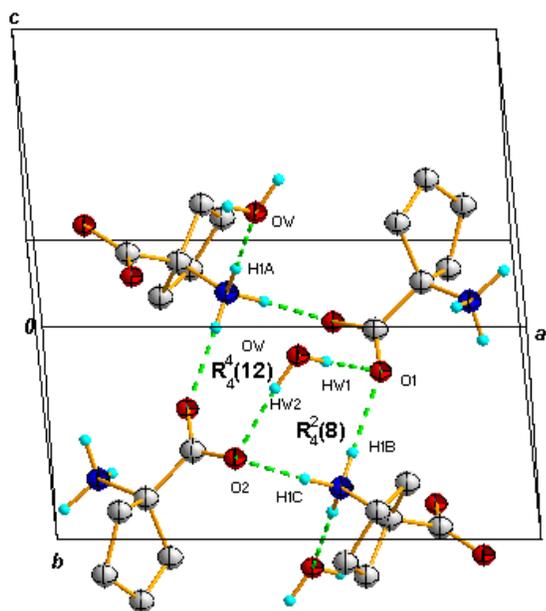


Fig. 7: Vista de los patrones de enlace de hidrógeno formados mediante grafos en el aminoácido $\text{Acc}^5 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Conclusiones

Los aminoácidos no-proteinogénicos 1-amino-1-cicloalcano carboxílicos del tipo Acc^n , con $n = 3, 4, 5$, y 6 , se recrystalizaron utilizando la técnica de evaporación de solvente. Los datos espectroscópicos, FT-IR, permitieron identificar los grupos funcionales presentes y fueron consistentes. El análisis térmico, TGA-DSC, permitió elucidar la presencia de agua de cristalización en los aminoácidos Acc^3 , Acc^4 , y Acc^5 . Los patrones de difracción de rayos-X son novedosos y son indicativos de la homogeneidad de las muestras cristalizadas. La estructura cristalina del aminoácido Acc^5 confirma que este cristaliza con una molécula de agua de cristalización. El empaquetamiento cristalino de la familia de aminoácidos Acc^n está gobernado por interacciones intermoleculares de enlace de

hidrógeno del tipo $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ y $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ que le confieren mayor estabilidad a la estructura cristalina de los cuatro aminoácidos. En el caso particular del Acc^5 , los enlaces de hidrógeno presentes permiten la formación de estructuras supramoleculares descritas por los grafos $\text{R}_4^2(8)$ y $\text{R}_4^4(12)$.

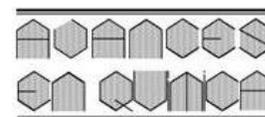
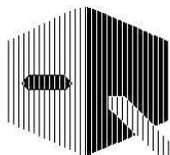
Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al CDCHT-ULA y al CONICIT (LAB-97000821).

Referencias

1. A Ambrogelly, S Palioura, D Söll. Natural expansion of the genetic code. *Nature Chem. Biol.*, **3**(1), 29-35 (2007).
2. Y Lu, S Freeland. On the evolution of the standard amino-acid alphabet. *Genome Biol.*, **7**(1), 102 (2006).
3. JM Rogersa, H Suga. Discovering functional, non-proteinogenic amino acid containing, peptides using genetic code reprogramming. *Org. Biomol. Chem.*, **13**, 9353-9363 (2015).
4. E Rubenstein. Biological effects of and clinical disorders caused by non-protein amino acids. *Medicine*, **79**, 80 (2000).
5. KC da Silva, AG Fett-Neto. Abiotic stresses and non-protein amino acids in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, **38**(5-6), 411-430 (2019).
6. D Li, W Mou, B Van de Poel, C Chang. Something old, something new: Conservation of the ethylene precursor 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid as a signaling molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **65**, 102116 (2022).
7. JK Polko, JJ Kieber. 1-Aminocyclopropane 1-carboxylic acid and its emerging role as an ethylene-independent growth regulator. *Front. Plant Sci.*, **10**, 1602 (2019).
8. A Inanobe, H Furukawa, E Gouaux. Mechanism of partial agonist action at the NR1 subunit of NMDA receptors. *Neuron*, **47**, 71 (2005).
9. API Gargiulo *et al.* Effects of cycloleucine in the nucleus Accumbens Septi on the elevated plus maze test in rats. *Neuropsychobiology*, **79**(3), 191-197 (2020).
10. M Szaryńska, A Olejniczak-Kęder, K Podpłowska, A Prahl, E Iłowska. Bradykinin and Neurotensin analogues as potential compounds in colon cancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 9644 (2023).
11. CR Groom, IJ Bruno, MP Lightfoot, SC Ward. The Cambridge structural database. *Acta Cryst.*, **B72**, 171-179 (2016).
12. MC Pirrung. Ethylene biosynthesis. 8. Structural and theoretical studies. *J. Org. Chem.*, **52**(19), 4179-4184 (1987).
13. RJ Butcher, G Brewer, AS Burton, JP Dworkin. 1-Azaniumylcyclobutane-1-carboxylate monohydrate. *Acta Cryst.*, **E70**, o217-o218 (2014).
14. G Valle, M Crisma, C Toniolo, N Sen, M Sukumar, P Balaram. Crystallographic characterization of the conformation of the 1-aminocyclohexane-1-carboxylic acid residue in simple derivatives and peptides. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2**(3), 393-398 (1988).
15. M Mallikarjunan, KK Chacko, R Zand. Studies in molecular

- structure, symmetry and conformation VI. Crystal and molecular structure of 1-aminocyclopentane carboxylic acid monohydrate. **J. Cryst. Mol. Struct.**, **2**, 53-66 (1972).
16. International Centre for Diffraction Data. PDF-ICDD-Powder Diffraction File (Set 1-71). Newtown Square: International Centre for Diffraction Data (2019).
17. GE Delgado, AJ Mora, LE Seijas, R Almeida, C Chacón, L Azotla-Cruz *et al.* N-acetyl-5-isopropyl-2-tioximidazolidin-4-one: Synthesis, spectroscopic characterization, crystal structure, DFT calculations, Hirshfeld surface analysis and energy framework study. **J. Mol. Struct.**, **1219(1)**, 128630(13) (2020)
18. GE Delgado, AJ Mora, LE Seijas, L Rincón, G Marroquin, J Cisterna *et al.* Combined DFT calculation, Hirshfeld surface analysis, and Energy framework study of non-covalent interactions in the crystal structure of (Z)-5-ethylidene-2-thiohydantoin determined by powder X-ray diffraction. **J. Mol. Struct.**, **1236(1)**, 130361 (11) (2021).
19. R Márquez, LM Belandria, M Guillen, T González, AJ Mora, GE Delgado. Síntesis y caracterización estructural del compuesto hidantoina de *D,L*-valina. **Av. Quím.**, **16(3)**, 49-55 (2021).
20. GE Delgado, C Chacón, G Marroquin, J Cisterna, I Brito. X-ray powder diffraction data for the two new polymorphs of 1-methylhydantoin. **Powder Diffr.**, **37(2)**, 108-114 (2022).
21. GE Delgado, AJ Mora, P Narea, C Chacón, G Marroquin, B Hernández *et al.* Synthesis, crystal structure, hydrogen bond patterns and Hirshfeld surface analysis of (*S*)-5-(4-hydroxybenzyl)-imidazolidine-2,4-dione. **J. Mol. Struct.**, **1250(1)**, 131757(7) (2022).
22. JL Fonseca, AJ Mora, GE Delgado. Caracterización estructural por métodos espectroscópicos y difracción de rayos-X de un nuevo compuesto hidantoina. **Av. Quím.**, **18(2)**, 61-66 (2023).
23. A Boulouf, D Löuer. Powder pattern indexing with the dichotomy method. **J. Appl. Cryst.**, **37**, 724-731 (2004).
24. PM de Wolff. A simplified criterion for the reliability of a powder pattern indexing. **J. Appl. Cryst.**, **1**, 108-113 (1968).
25. GS Smith, RL Snyder. F_N : A criterion for rating powder diffraction patterns and evaluating the reliability of powder-pattern indexing. **J. Appl. Cryst.**, **12**, 60-65 (1979).
26. A Le Bail. Whole powder pattern decomposition methods and applications: A retrospection. **Powder Diffr.**, **20**, 316-326 (2005).
27. J Rodríguez-Carvajal, FULLPROF, versión 7.95, LLB, CEA-CNRS, France (2023).
28. O Dolomanov, LJ Bourhis, RJ Gildea, JAK Howard, H Puschmann. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **J. Appl. Cryst.**, **42(2)**, 339-341 (2009).
29. GM Sheldrick. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Cryst.**, **C71(1)**, 3-8 (2015).
30. MC Etter, JC MacDonald, J Bernstein. Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals. **Acta Cryst.**, **B46(2)** 256-262 (1990).



Manejo integral de residuos de formaldehído: una evaluación *in situ* de su toxicidad

**Irene Fuentes-Domínguez, Carlos E. Lobato-García, Marcia E. Ojeda-Morales,
L. Lorena Vázquez-Vázquez, Sugey López-Martínez, Carlos M. Morales-Bautista***

Laboratorio de Análisis de Suelos e Hidrocarburos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México. Tabasco, C.P 86690. Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez Kilómetro 1, La Esmeralda, 86690 Cunduacán, Tabasco México.

(*) carlos.morales@ujat.mx

Recibido: 11/07/2023

Revisado: 09/09/2023

Aceptado: 31/12/2023

Resumen

Como parte de la gestión integral de residuos de contenedores de formaldehído se evaluó la toxicidad de aguas residuales contaminadas con este compuesto. Para esto, se realizaron dos ensayos de toxicidad aguda (*Artemia salina* y *Escherichia coli*). Se encontró que el formaldehído tiene efectos sobre el crecimiento (50%) de *E. Coli* a concentraciones mayores de 6 mg/L a 24 h y a 48 h solo se inhibe el desarrollo de esta bacteria a partir de concentraciones mayores de 125 mg/L. En contraste, el ensayo de mortandad de *A. salina* alcanzó un 70% a una hora de observación a partir de concentraciones de 6 mg/L y un 100% para 3 h. Se concluye que, aunque ambos organismos presentan toxicidad a valores por debajo del límite normativo mexicano (0,9 mg/L en agua), *A. salina* es la especie más sensible y cuyas concentraciones coinciden con otros reglamentos internacionales. Por estas razones, *A. salina* puede emplearse como prueba de campo para la movilidad y manejo integral de contenedores de formaldehído que han sido tratados y son enviados a disposición final.

Palabras claves: agua residual; crecimiento; formaldehído; mortandad; toxicidad.

Abstract

As part of the comprehensive management of formaldehyde packaging waste, the toxicity of wastewater contaminated with this compound was evaluated. For this, two acute toxicity tests were carried out (*Artemia salina* and *Escherichia coli*). It was found that formaldehyde has effects on the growth (50%) of *E. Coli* at concentrations higher than 6 mg/L at 24 h and at 48 h the development of this bacteria is only inhibited from concentrations higher than 125 mg/L. On the contrary, the mortality test for *A. salina* reached 70% after one hour of observation from concentrations of 6 mg/L and 100% for 3 h. It is concluded that, although both organisms present toxicity at values below the Mexican regulatory limit (0.9 mg/L in water), *A. salina* is the most sensitive species whose concentrations coincide with other international regulations. For these reasons, *A. salina* can be used as a field test for the mobility and comprehensive management of formaldehyde containers that have been treated and sent for final disposal.

Keywords: residual water; growth; formaldehyde; mortality; toxicity.

Introducción

En la última década la industria petrolera mexicana ha tenido diversos cambios en materia legislativa, en los que destaca la reforma energética de 2013. Este evento permitió la reactivación de diversos sitios petroleros, pero a la vez se identificaron diversas zonas contaminadas. Actualmente, solo un bajo porcentaje de estos sitios han sido saneados, esto se debe a que en la mayoría de los casos no se han identificado los componentes que podrían representar riesgos a la salud y el medio ambiente^{1,2}. Por estas razones, una de las grandes problemáticas ambientales que enfrenta la industria petrolera mexicana es la remediación de pasivos ambientales, la cual conlleva la aplicación de tecnologías específicas y la gestión integral de los residuos peligrosos (RP)^{3,4}.

En el caso de los residuos, la composición suele depender del proceso donde son generados. Por ejemplo, durante exploración y producción de pozos petroleros, se generan aguas resi-

duales con altos contenidos de sólidos y sales metálicas, así como sólidos impregnados con hidrocarburos; en cambio, en los procesos petroquímicos se generan residuos ácidos (nitrógeno y sulfúrico), solventes (residuos de formaldehído y sales de urea) y fondos de tanques (asfáltenos). Un caso especial son los residuos peligrosos, ya que la normativa mexicana clasifica a estas sustancias como corrosivas, reactivas (compatibilidad química), explosivas, tóxicas e infecto-biológicas. Además, se debe tener en cuenta que estas propiedades se les confieren a los recipientes que las contengan, por lo que se les debe dar gestión y disposición final^{4,5,6}.

En este sentido, algunos reportes mencionan que en los sitios petroleros reactivados en México se han identificados diversos componentes situados en fosas de residuos y antiguas líneas de producción (recortes de perforación, derrames de hidrocarburos y alta conductividad eléctrica de derrames de aguas de producción)⁷. Así mismo, diversos residuos fueron retirados de

grandes contenedores y enviados a disposición final⁸. Por consiguiente, es necesario realizar la limpieza de los tanques y establecer concentraciones por debajo de los límites normativos, de modo que se realicen los trabajos de desmantelamiento para el envío a confinamiento, tratamiento o disposición final.

Por estas razones, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar dos pruebas toxicológicas en campo, en las cuales se estimó la inhibición de crecimiento y la mortandad de organismos sometidos a diferentes concentraciones de formaldehído comercial. Lo anterior, con el fin de estimar las concentraciones de formaldehído en el agua que se empleó en el tratamiento de tanques que contuvieron formaldehído, y de este modo, poder realizar el desplazamiento y desmantelamiento dentro de un complejo petroquímico, así como su envío a disposición final de forma segura considerando la salud pública y la prevención de la contaminación del agua.

Sección experimental

El sitio de estudio se sitúa en el Complejo petroquímico Pajaritos en Coatzacoalcos, Veracruz, México (15 Q 339596,00 m E, 2005838,82 m N). Esta zona industrial ha operado durante décadas y es uno de los principales productores de gasolinas y otros derivados del petróleo en el sureste mexicano. No obstante, paralelamente se han suscitado emergencias ambientales y sanitarias debido a diversos accidentes industriales mayores, así como derrames accidentales, algunos de ellos han causado contaminación del medio ambiente y pérdidas humanas^{9,10}. Además, se han reportado impactos acumulativos en la zona, principalmente de metales pesados e hidrocarburos que ponen en riesgo la salud pública, el equilibrio ambiental y la producción de otros sectores económicos^{11,12}. Por estas razones, todos los trabajos que se realicen dentro del Complejo deben cumplir con protocolos señalados en las normas de seguridad e higiene en el trabajo, así como de protección ambiental^{13,14}.

En este sentido, dentro del complejo industrial existen diversas líneas de producción que fueron rehabilitadas. Los residuos generados fueron gestionados, pero en algunos casos como en la línea de urea, existen diversos contenedores (12 m³) de formaldehído cuyo contenido fue recolectado y enviado a disposición final. Pero, debido a que la normativa mexicana establece la peligrosidad que dicha sustancia le confiere a los contenedores, se lavó un tanque (7 m³) con soluciones de espuma dispersante (5% en agua potable), en total se aplicaron 5 lavados de 0,5 m³. Luego de cada lavado, se recolectó el agua residual y fue almacenada en recipientes, de los cuales se recolectó 1 L (n=3) y se les nombró como muestras problemas. Además, con el fin de reducir los riesgos de trabajos en sitios confinados, cada trabajador portaba equipo de respiración autónomo (ERA), equipo de seguridad para trabajos con sustancias químicas¹⁵ y un detector de formaldehído (HCHO/TVOC, Tangxi, con rango de detección para concentraciones > 0,004 mg/L).

Las variables analizadas fueron la concentración del formaldehído en muestras problemas y la respuesta toxicidad aguada de *E. coli* y *A. salina*. Para esto, se determinó la concentración

de formaldehído por cromatografía de líquidos con detector UV-Vis (10 µL de muestra, 70 °C, 360 nm, disolvente A: H₂O 4 mg del RP/mL agua ultrapura, disolvente B: Acetonitrilo 500 mg de RP/mL de acetonitrilo, columna analítica Agilent Zorbax XDB-C18, modo isocrático (equipo Agilent Serie 1200 con límite de detección (LD) = 0,0341 µg/mL)¹⁶. Con la finalidad de comparar las concentraciones de los diversos componentes, se empleó como testigo formaldehído comercial (Baker, 40% en agua-alcohol).

Para cada prueba de toxicidad, primero se esterilizó todo el material de vidrio mediante calor seco a una temperatura 180 °C por 4 h en estufa Memmert y, luego calor en húmedo (autoclave modelo Felisa FE-396, condiciones: 121 °C/15 min, P=1,3 Kg/cm²). También, se preparó una solución problema, este proceso consistió en pesar 500 mg de formaldehído comercial (Baker, 40% en agua-alcohol), el cual se transfirió a un matraz y se aforó con agua a un volumen de 0,5 L. A partir de esta solución, se prepararon diferentes soluciones de formaldehído de entre 1000 mg/L a 6 mg/L¹⁷.

Prueba de toxicidad por inhibición en el crecimiento de E. coli

Para evaluar los efectos del formaldehído sobre *E. coli*, primero se preparó el medio de cultivo agar Mueller-Hinton (Sigma-Aldrich), posteriormente se inoculó *E. coli* en este medio (condiciones axénicas). Previo a realizar el vaciado se agregó 1 mL de la muestra problema con 9 mL del agar Mueller-Hinton, se homogeneizó hasta solidificarse. Así mismo, se preparó una solución madre, la cual consistió en tomar biomasa de la caja de Petri que contenía la bacteria y fue agregada en un tubo de ensayo que contenía 3 mL de solución salina (0,9 % PiSA) hasta alcanzar una turbidez. Posteriormente, se introdujo un asa en la suspensión (biomasa-agua salina) y fue sembrada en forma de zigzag en toda la superficie de la placa. Finalmente, fue llevada a incubación durante 24 y 48 h a 35 °C. Durante este tiempo se observó el crecimiento de colonias bacterianas¹⁸.

Prueba de letalidad de A. salina

Para la prueba de letalidad de *A. salina* se usaron especímenes maduros (~1 cm de longitud). Las condiciones de la solución salina donde se desarrollaron fueron de 22,7 °C; pH 7,45; salinidad 9,27 mS/cm y turbidez de 1 mg/Kg. Para el ensayo, se colocaron diez especímenes en cada una de las cajas de Petri empleadas en el experimento (8 concentraciones con 5 repeticiones cada una). Cada caja contenía un volumen de 9 mL de solución salina y a cada una de ellas se agregó 1 mL de la solución de formaldehído preparadas con las concentraciones establecidas. La evaluación consistió en observar el movimiento de los nauplios durante 3 h, detectando aquellos especímenes que mostraran falta de respuesta a estímulos, falta de movimiento autónomo y deformación en sus extremidades¹⁹.

Finalmente, se realizó una prueba ANOVA (valor *p*, $\alpha = 0,05$) y un análisis de Tukey (diferencia honestamente significativa o HSD y nivel de significancia de 0,05) en Project-R para determinar diferencias significativas entre las muestras analizadas²⁰.

Discusión de resultados

Durante los trabajos de limpieza, los detectores manuales de formaldehído no registraron lecturas, aunque los trabajos se realizaron en ambientes confinados, se retiraron tapas y bridas, lo que posiblemente favoreció la dispersión de vapores. Además, los detectores de gases explosivos de la planta (que incluyen el formaldehído) tampoco registraron lecturas. Por su parte, las concentraciones de formaldehído encontradas en las mues-

tras de agua residual, se observó que la concentración decrece con respecto al número de lavados (tabla 1) y que las muestras presentan diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$). Así mismo, se observó que después de cada lavado se reduce la concentración de formaldehído, haciendo evidente su disolución en agua y que el tratamiento es efectivo. Ambos comportamientos coinciden con la literatura^{21,22}.

Tabla 1. Concentración de formaldehído en agua residual de lavado de tanques.

Componente (mg/L)	Tr (min)	Testigo	Número de lavado				
			1	2	3	4	5
Formaldehído	6	56,11 ± 0,43	11,10 ± 0,01	2,50 ± 0,01	1,21 ± 0,01	0,80 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Acetaldehído	8	36,12 ± 0,21	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Butanal	16	5,32 ± 0,03	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Hexanal	26	1,10 ± 0,01	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

Tabla 2. Efectos de formaldehído sobre el *E. coli* y *A. salina*.

Formaldehído (mg/L)	<i>E. coli</i>		<i>A. salina</i>	
	24h	48h	% de mortandad 1 h	% de mortandad 3 h
1000	N	N	100	100
500	I	I	100	100
250	I	P	100	100
125	P	P	90	100
63	P	A	90	100
31	P	A	80	100
16	P	A	80	100
6	A	A	70	100

N (crecimiento nulo), I (crecimiento de colonias < 25%), P (crecimiento de colonias entre un 25-50%) y A (crecimiento de colonias > 50%).

Con el fin de determinar la fracción remanente de formaldehído en los tanques según el número de lavados, se realizó el cociente entre las concentraciones de este componente encontradas después de cada lavado (donde Cf = a las concentraciones de 11,100; 2,5011; 1,2112; 0,8011 y 0,1010 mg/L de formaldehído, respectivamente) con respecto a la concentración del formaldehído comercial empleado como testigo (Ci = 56,1120 mg/L). Posteriormente, se contrastó con la cantidad de agua potable añadida (figura 1). Se encontró que para cumplir con la concentración límite marcado por la norma mexicana NOM-201-SSA1-2002 (0,9 mg/L), para un tanque de 12 m³, se necesitarían un mínimo de 1,63 m³ de agua potable con dispersante²³⁻²⁶.

Por otro parte, los resultados de las pruebas toxicológicas muestran que el formaldehído tiene efectos sobre el crecimiento (50%) de *E. Coli* a concentraciones mayores de 6 mg/L a 24 h, en contraste, a 48 h solo se inhibe el desarrollo de esta bacteria a partir de concentraciones mayores de 125 mg/L (tabla 2).

Debido a que esta prueba expone actividad de la bacteria *E. Coli* a concentraciones por encima de la norma NOM-201-SSA1-2002²³ (0,9 mg/L) y que las operaciones son de 8 h, no

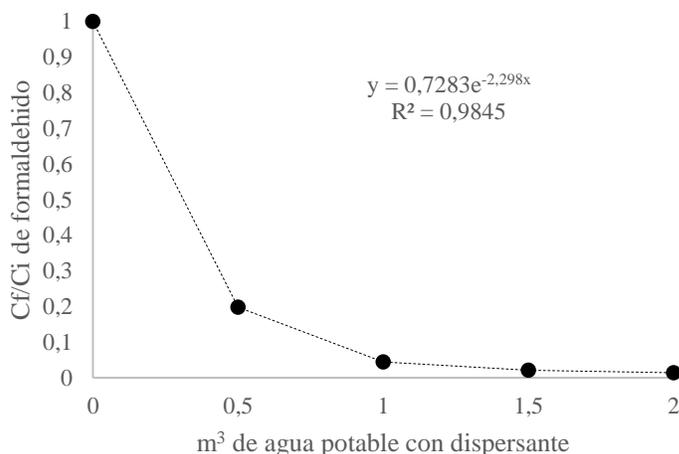


Fig. 1: Fracción de formaldehído remanente según la cantidad de agua añadida a los tanques.

se considera una prueba adecuada para emplearla en el sitio.

Por su parte, en el ensayo de mortandad de *A. salina*, ésta alcanzó un 70% a una hora de observación a partir de concentraciones de 6 mg/L y un 100% para 3 h en todas las muestras

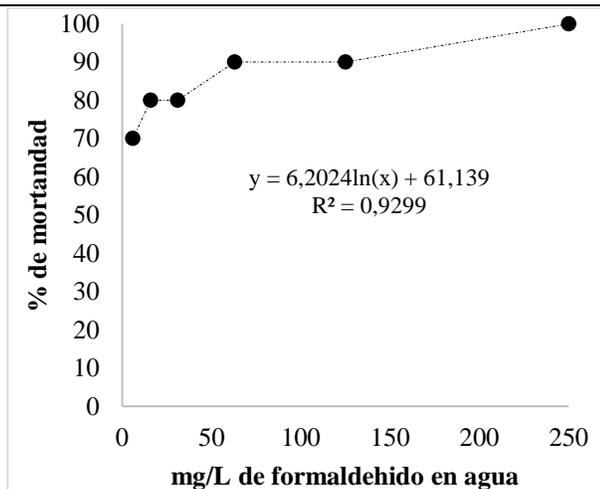


Fig. 2: Mortandad de *A. salina* en formaldehído a 1 h.

($p > 0,05$), por lo que se considera que este organismo un mejor indicador para una evaluación *in situ*.

En este sentido, considerando el cociente de las concentraciones (fracción de la concentración de formaldehído respecto a la concentración inicial, $C_i = 1000$ mg/L y $C_f = 500, 250, 125, 63, 31, 16$ y 6 mg/L, respectivamente), se contrastó con los porcentajes de mortandad de *A. salina* a 1 h (de 100% a 70% según sus respectivos valores) (figura 2). Se encontró que el 50% de mortandad ocurriría a concentraciones menores de $0,16$ mg/L, el cual se encuentra por debajo del límite establecido por la NOM-201-SSA1-2002²³ ($0,9$ mg/L).

Es importante resaltar que los efectos del formaldehído a largo plazo (crónico) sigue siendo una frontera de la ciencia, pero algunos estudios en ratas expuestas a vapores e ingesta de formaldehído (concentraciones entre 1 y 10 mg/kg de formaldehído en agua), han reportado acumulación de entre $0,73 \pm 0,27$ mg/kg y $1,13 \pm 0,22$ mg/kg, las cuales son consideradas como peligrosas para seres humanos²⁴⁻²⁶. Por ello, aunque se considere que $1,63$ m³ de agua potable con dispersante son suficientes para reducir la concentración de formaldehído a valores $< 0,9$ mg/L²³ para tanques de 12 m³ y que no se registró lectura de gases de formaldehído durante los trabajos, no quiere decir que los operadores no se encuentren en riesgo. Por lo tanto, los trabajadores deberán portar su equipo de protección personal (EPP) tipo 3, así como su respirador autónomo (ERA) y los trabajos serán máximos de 1 h dentro de los tanques^{15,27}. En cuanto a los operarios, podrán realizar trabajos usando máscaras de media cara con filtro para solventes según las recomendaciones de la normativa para formaldehído^{8,15}. Así mismo, el encargado de seguridad debe tener vigilancia sintomática de signos como hiperreactividad bronquial, dermatitis atópica, irritación ocular y dérmica que han sido reportados como efectos agudos por exposición a formaldehído^{16,28-30}.

Conclusiones

Las pruebas de toxicidad utilizando organismos vivos indicaron alta sensibilidad para *A. salina* a formaldehído, en comparación con *E. coli*. Por lo tanto, *A. salina* se considera como un

buen indicador como método de prueba de trabajos en campo para realizar maniobras de materiales tratados dentro del complejo petrolero. No obstante, debido a que la literatura establece toxicidad crónica por exposición, es importante considerar que las jornadas laborales sean pausadas (turnos de 1 h con equipos de protección) y, en el caso de los trabajos en sitios confinados, es necesario el uso de equipos de respiración autónoma y detectores portátiles de formaldehído.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo de la beca de manutención para realizar los estudios de posgrado.

Referencias

1. RG Rodríguez. El Petróleo en México y sus impactos sobre el territorio. **Denarius**, (36), 209-209 (2019).
2. O Castrejon-Campos. Evolution of clean energy technologies in Mexico: A multi-perspective analysis. **Energy for Sustainable Development**, 67, 29-53 (2022).
3. N. Ferronato, V Torretta, Waste mismanagement in developing countries: A review of global issues. **International journal of environmental research and public health**, 16(6), 106 (2019).
4. LC Rodríguez-López, ME Ojeda-Morales, Y Córdova-Bautista, MA Hernández-Rivera, JS López-Lázaro. (2021). Recovery of impregnated hydrocarbon in drill cuttings using supercritical carbon dioxide. **Journal of Environmental Management**, 285, 112134 (2021).
5. D Pan, F Su, H Liu, C Liu, A Umar, L Castañeda, Z Guo. Research progress on catalytic pyrolysis and reuse of waste plastics and petroleum sludge. **ES Materials & Manufacturing**, 11(6), 3-15 (2021).
6. ML González-Arqueros, G Domínguez-Vázquez, R Alfaro-Cuevas-Villanueva, I Israde-Alcántara, O Buenrostro-Delgado. Hazardous solid waste confined in closed dump sites: an urgent environmental liability to attend. **Sustainability**, 13, 2557 (2021)
7. MM Yzquierdo-Ruíz, SA Torres-Sánchez, IM De la Garza-Rodríguez, ME Ojeda-Morales, E Hernández-Nuñez, CE Lobato-García, CM Morales-Bautista. Pre-evaluation of contaminated soil for oil field reactivation in Moloacan, Veracruz, Mexico. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, 21(2) (2022).
8. CM Morales-Bautista, QT Suaret, ME Morales-Ojeda, S Martínez-López. J Ramírez, JR Laines-Canepa, CE Lobato-García. Manejo integral del formaldehído como residuo peligroso generado en petroquímica: un caso práctico. **Avances en Química**, 17(2), 45-53 (2022).
9. NR Rivera. Asociaciones público-privadas en la reducción de riesgo de desastres. El caso de la industria química de Coatzacoalcos, México. **Gestión y política pública**, 26(1), 105-138 (2017).
10. HM Aquino-Gaspar, CO Díaz-Ovalle, A López-Molina, C Conde-Mejía, LM Valenzuela-Gómez. Incident analysis of the "Pajaritos" petrochemical complex. **Journal of Loss Prevention in the Process Industries**, 70, 104404 (2021).
11. MDC Cuevas-Díaz, AH Hernández-Romero, D Vázquez-Luna, DA Lara-Rodríguez, O Guzmán-López, JE González-Arvizu, JI

- Ontiveros. Efecto de las actividades antropogénicas sobre la cobertura de mangle en la cuenca baja del río Coatzacoalcos. **Ecosistemas**, **29(3)**, 1954-1954 (2020).
12. MA Morales-Mora, B. Rodríguez-Pérez, SA Martínez-Delgado, E Rosa-Domínguez, C Nolasco-Hipólito, C. Human and ecotoxicological impacts assessment from the Mexican oil industry in the Coatzacoalcos region, as revealed by the USEtox™ model. **Environmental Science and Pollution Research**, **21**, 9819-9831 (2014).
13. LG Pruneda-Alvarez, T Ruiz-Vera, IN Pérez-Maldonado, I. N. (2015). Exposición no ocupacional a tolueno en diferentes escenarios de México. **Rev. Iberoam. Cienc.**, **2(3)**, 1-8 (2015).
14. SM Duarte Castillo, MA Vega Campos. Perspectivas y retos de la NOM-035-STPS-2018 para la atención de riesgos psicosociales y la promoción de entornos organizacionales favorables en México. **Trascender, contabilidad y gestión**, **6(17)**, 48-86 (2021).
15. Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal-Selección, uso y manejo en los centros de trabajo. Disponible en: <https://www.gob.mx/stps/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-017-stps-2008-equipo-de-proteccion-personal-seleccion-uso-y-manejo-en-los-centros-de-trabajo>
16. MM Villadiego-Molinares, JA Ramírez-Martínez, AI Rodríguez-Pulido. Formaldehído en ambientes laborales: revisión de la literatura y propuesta de vigilancia ocupacional. **Revista de la Facultad de Medicina**, **68(3)**, 425-437 (2020).
17. J Cantillo, R Baldiris, B Jaramillo, J Olivero. Evaluación de la toxicidad aguda (CL50) frente a *Artemia franciscana* y la actividad hemolítica de los extractos acuosos, en diclorometano y metanólico parcial de Justicia secunda (Vahl.). **Scientia et Technica**, **13(33)**, 257-258 (2007).
18. T Madigan, J Michael, M Martinko, J Parker. Brock biology of microorganisms. Vol. 11. Upper Saddle River, NJ, Prentice Hall (1997).
19. O Pino Pérez, J Lazo. Ensayo de *Artemia*: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. **Rev. Protección Veg.**, **22(1)**, 34-43 (2021).
20. Y Wang, J Mi. Applying Statistical Methods to Library Data Analysis. The Serials Librarian. Vol. 76. Taylor & Francis Online (2019).
21. EFV Alamilla, JDU Contreras, JJR Hernández, LL Salas, SVF Córdova, A Metelin, AGB García. Evaluación de las concentraciones de formaldehído por la aplicación de aerosoles en espacios interiores. **Kuxulkab'**, **25(52)**, 15-21 (2019).
22. M Qu, J Lu, R He. Formaldehyde from Environment. In: Formaldehyde and Cognition. Springer, Dordrecht, 1-19 (2017).
23. Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015. Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015#gsc.tab=0.
24. P Paolini, L Mazón Cuadrado, M Rosado María, MV Sánchez-Cifuentes, E Colino Romay, P Ferrocál Fernández. ¿Se puede controlar el Formaldehído? **Revista de la Asociación Española de Especialistas en Medicina del Trabajo**, **25(4)**, 204-210 (2016).
25. M Naya, J Nakanishi, J. Risk assessment of formaldehyde for the general population in Japan. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, **43(3)**, 232-248 (2005).
26. R Tasdemir, E Acar, T Colak, F Hunc, B Bamac, H Kir, Maral, F Eraldemir, Fatma Ceyla. Investigation of Possible Oxidative Damage Caused by Formaldehyde Exposure in the Rat's Heart and Aorta Tissue. **International Journal of Morphology**, **39(4)**, 1042-1047 (2021).
27. National Research Council, & Committee on Acute Exposure Guideline Levels. (2010). Formaldehyde. In: *Eighteenth Interim Report of the Committee on Acute Exposure Guideline Levels*. National Academies Press (US) (2010).
28. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España. NTP 590: Prevención de la exposición a formaldehído (2010).
29. P Restani, AR Restelli, CL Galli, C. L. Formaldehyde, and hexamethylenetetramine as food additives: chemical interactions and toxicology. **Food Additives & Contaminants**, **9(5)**, 597-605 (1992).
30. EH Idrobo-Avila, JA Vasquez-López, R Vargas-Cañas. La exposición ocupacional al formol y la nueva tabla de enfermedades laborales. **Revista de Salud Pública**, **19**, 382-385 (2017).