



## **Reducción de organohalogenados mediada por vitamina B<sub>12</sub> y citrato de titanio (III) en microemulsiones bicontinuas**

**Lorean Madriz<sup>1</sup>, Hermes Carrero<sup>1\*</sup> y Aivlé Cabrera<sup>2</sup>**

- 1) Universidad Simón Bolívar, Departamento de Química, Laboratorio de Electroanálisis. Apartado 89000, Caracas 1080 A, Venezuela.
- 2) Universidad Simón Bolívar, Departamento de Química, Laboratorio de Cromatografía. Apartado 89000, Caracas 1080 A, Venezuela.

(\*) [hcarrero@usb.ve](mailto:hcarrero@usb.ve)

**Recibido:** 18/11/2011

**Revisado:** 24/01/2012

**Aceptado:** 25/01/2012

---

### **Resumen:**

Se estudió el comportamiento electroquímico, tanto del citrato de titanio como de la vitamina B<sub>12</sub>, en microemulsiones bicontinuas para la reducción de compuestos organo-halogenados. La forma reducida del complejo de citrato de titanio, cit-Ti(III), preparado por electrólisis, transforma homogéneamente la vitamina B<sub>12</sub> a sus formas reducida (B<sub>12r</sub>) y superreducida (B<sub>12s</sub>); esta última forma (B<sub>12s</sub>) promueve fácilmente la deshalogenación de compuestos orgánicos en la microemulsión. El cloruro de bencilo, por ejemplo, se deshalogenó en corto tiempo entre un 46 y un 85 %; por otro lado, el lindano desapareció completamente cuando estuvo en presencia de la vitamina B<sub>12s</sub> pero no se observó influencia sobre el 1,2-dicloroetano.

**Palabras clave:** citrato de titanio (III); compuestos organohalogenados; microemulsión bicontinua; vitamina B<sub>12</sub>.

### **Abstract**

We studied the electrochemical behavior of both the titanium citrate and the vitamin B<sub>12</sub> in bicontinuous microemulsions for the reduction of halogenated organic compounds. The reduced form of titanium citrate complex, Ti(III)-cit, prepared by electrolysis, transforms, in a homogeneous way, the vitamin B<sub>12</sub> to their reduced (B<sub>12r</sub>) and super reduced (B<sub>12s</sub>) forms; the latter form (B<sub>12s</sub>) easily promotes dehalogenation of organic compounds in microemulsion. Benzyl chloride, for example, was dehalogenated in a short period of time transforming the original amount between 46 and 85%; on the other hand, lindane disappeared completely when it was in the presence of vitamin B<sub>12</sub> while no effect was observed for 1,2-dichloroethane.

**Keywords:** bicontinuous microemulsion; organ-halide compounds; titanium (III) citrate; vitamin B<sub>12</sub>.

### **Introducción**

Las microemulsiones son sistemas coloidales ópticamente transparentes y termodinámicamente estables, constituidos por agua/surfactante/cosurfactante/aceite<sup>1-2</sup>. Éstas son útiles como medios para el desarrollo de un amplio rango de reacciones químicas, tales como síntesis orgánica y bio-orgánica, preparación de nanopartículas, polimerización, formación de complejos metal-ligando, procesos enzimáticos, etc<sup>3</sup>. El uso de microemulsiones permite la compartimentalización de los reactivos y productos, los cuales se distribuyen en las fases de acuerdo a su polaridad, permitiendo la extracción selectiva de los productos<sup>3</sup>. El éxito de la descontaminación química en una solución micelar depende mayormente del carácter lipofílico de los compuestos modelo; los surfactantes pueden promover la formación de monocapas muy bien organizadas en las distintas interfases y

ayudar a la formación de agregados en la solución, produciendo una suspensión de objetos microscópicos y dando lugar a las fases heterogéneas dentro de un líquido<sup>3</sup>.

Una microemulsión bicontinua, donde las fases acuosa y aceitosa son continuas, presenta una conductividad suficientemente alta para desarrollar procesos electroquímicos que involucran reacciones de hidrólisis, polimerización, deshalogenación, etc., prescindiendo incluso de electrolito soporte<sup>4-8</sup>. La capacidad de solubilización de las microemulsiones permite el contacto directo de los componentes de una reacción dentro de una micela que funciona como un micro-reactor<sup>9</sup>, compuestos que de otra manera estarían separados sin poder reaccionar de manera efectiva<sup>2,4-8,10</sup>; por esta razón es que pueden ser utilizadas en la limpieza o recuperación de derrames orgánicos, así como en estudios electrocatalíticos y fotocatalíticos de compuestos

halogenados poco solubles en agua<sup>9</sup>. El problema de la eliminación del surfactante puede ser superado mediante la optimización del comportamiento de las fases y por la transición a un sistema polifásico que permita la separación de los productos y el surfactante<sup>3</sup>, así como mediante la degradación fotoquímica en presencia de catalizadores como el  $\text{TiO}_2$ <sup>11-14</sup>.

Los compuestos organohalogenados, que por lo general se encuentran presentes en tales derrames, se descomponen muy lentamente por la vía de la biodegradación o requieren un alto consumo de energía en procesos de incineración<sup>15-16</sup>, por tal motivo, es conveniente tratar esos compuestos previamente antes de aplicar cualquier otro tratamiento y una forma de hacerlo es por la vía electroquímica<sup>17</sup>. La deshalogenación reductiva hidrogeno-catalítica, una reacción que implica la sustitución del átomo de halógeno por hidrógeno, es el mecanismo predominante para su transformación en un ambiente anaeróbico; la remoción de cloro del 1,2-dicloroetano se hace efectiva al ser asistida por hidrógeno sobre catalizadores de Pt-Sn/SiO<sub>2</sub><sup>18</sup>, y compuestos como el 1,1,1-tricloroetano se pueden reducir a través del hierro cero-valente<sup>19</sup>. De igual forma, se ha estudiado la reacción electroquímica de 1,2-dicloroetano en un medio sintético de aguas subterráneas utilizando electrodos de acero inoxidable<sup>20</sup> y se han evaluado las reacciones de deshalogenación de 1,2-dibromobutano y los *trans*- y *cis*-dibromohexano en medio orgánico y en medio líquido/líquido<sup>21</sup>; los resultados sugieren que los caminos de reacción observados en ambientes homogéneos son totalmente diferentes respecto a los ambientes líquido/líquido, donde se hallan presentes los efectos asociados a la separación de fase aceite/agua y a la polaridad del solvente.

La vitamina B<sub>12</sub> es un complejo organometálico y cofactor asociado con tres subfamilias de enzimas B<sub>12</sub>, entre ellas las deshalogenasas<sup>22</sup>. Esta vitamina es soluble en agua y se encuentra por lo general en alimentos de origen animal; su estructura está conformada por un grupo corrinoide coordinado con cobalto y los grupos funcionales asociados dan origen a diferentes formas de la vitamina; por la presencia del metal cobalto en su estructura se las conoce regularmente como cobalaminas<sup>23</sup>. La cobalamina (B<sub>12</sub>) trabaja junto al ácido fólico (B<sub>9</sub>) en muchos procesos del cuerpo humano incluyendo la síntesis de ADN, los glóbulos rojos y la cubierta de aislamiento (mielina) que rodea las células nerviosas<sup>24</sup>. La mayoría de las deshalogenasas reductivas conocidas dependen del cofactor corrinoide, la vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina), por ejemplo, cataliza la deshalogenación reductiva *in vitro*, cuando se la acompaña con el agente reductor apropiado<sup>22</sup>. La forma reducida de la vitamina B<sub>12</sub> (Co<sup>II</sup>) presenta

carácter súper nucleofílico, ya que reacciona 10<sup>5</sup> veces más rápido que los nucleófilos comunes<sup>26</sup> y ha sido efectiva en la deshalogenación de compuestos organohalogenados como el toxafeno<sup>5</sup>.

El titanio(III) complejado con citrato es reconocido como un fuerte agente reductor, puede obtenerse electroquímicamente a partir de su forma oxidada (Ti<sup>IV</sup>) y facilita ese tipo de procesos de deshalogenación; estos dos compuestos han sido utilizados, en conjunto, para reducir el hexaclorociclohexano en medio acuoso<sup>25</sup>; así como la misma vitamina en presencia de citrato de titanio (III) puede catalizar la desfluoración del pentafluorooctano, ya que el complejo de titanio actúa como agente reductor en solución acuosa libre de oxígeno<sup>27</sup>.

El poder reductor de Ti(III) por sí solo, o combinado con la vitamina B<sub>12</sub> presentado en este reporte, es estudiado por primera vez en microemulsiones, un medio electrolítico que se puede considerar no convencional. Estos sistemas micro-heterogéneos pueden utilizarse para recolectar los contaminantes del ambiente y reducirlos electroquímicamente con la ayuda de la vitamina B<sub>12</sub> y el complejo de titanio; por tanto la evaluación de sistemas de reacción bien sea de laboratorio, *in situ* o industriales, resulta conveniente. La microemulsión es útil para aplicar la deshalogenación en derrames de contaminantes orgánicos o en el tratamiento de compuestos poco solubles donde el proceso de reducción permita generar especies químicas de mayor valor agregado o de más fácil degradación. El surfactante de la microemulsión suele reaccionar mucho más lentamente que los contaminantes orgánicos típicos<sup>11,12,14,17,28</sup>, por tanto se puede establecer un sistema de reutilización de este compuesto para maximizar su uso, y cuando su degradación sea necesaria se pueden utilizar diferentes procesos de oxidación avanzada para removerlo<sup>11,12,14,17,28</sup>. En la presente investigación se reporta la eficiencia del citrato de titanio (III) y la vitamina B<sub>12</sub> transformada en vitamina superreducida B<sub>12s</sub>, para catalizar (*in situ*) la reducción de compuestos organohalogenados como el cloruro de bencilo, el 1,2-dicloroetano y el  $\gamma$ -hexaclorociclohexano (lindano) en microemulsiones bicontinuas.

### Parte experimental

**Reactivos:** el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y el 1-pentanol (99%) fueron adquiridos de la casa Aldrich. El tetracloruro de titanio (99%) y el 1,2-dicloroetano (99%) fueron de la marca Fisher Scientific, la cianocobalamina (99%), el citrato de sodio (99%) y el *n*-tetradecano (99+%) se adquirieron de la casa Sigma, y el cloruro de bencilo (99%) de la marca Merck. Los demás reactivos fueron de grado analítico. Se prepararon las soluciones con agua destilada y desmineralizada, filtrada a través de un sistema

Milli-Q Reagent Water System con una resistencia mayor a  $15\text{M}\Omega\text{-cm}$ .

*Equipos:* para desarrollar los experimentos electroquímicos se utilizó un potencióstato/galvanostato Princeton Applied Research (PAR) modelo 273A. Estos experimentos se llevaron a cabo en una celda de vidrio de un compartimiento. Se purgó la solución electrolítica con nitrógeno antes de aplicar el potencial al electrodo y se selló con Teflón<sup>®</sup> para evitar la entrada de oxígeno y la pérdida del organoclorado o sus posibles productos durante la reacción. El electrodo auxiliar se separó de la solución electrolítica a través de un puente de vidrio poroso para evitar que los compuestos generados en el contraelectrodo interfirieran en la reacción estudiada.

Se empleó un electrodo de carbón vítreo ( $0,56\text{cm}^2$ ) como electrodo de trabajo para los estudios sobre el comportamiento electroquímico de los compuestos, y una malla de carbón para realizar las electrólisis; se utilizó un alambre de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

Los productos de la electrólisis se analizaron con un cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama, Hewlett Packard 5890 series (GC/FID), y con un cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas, Hewlett Packard 5973 (GC/MS).

*Preparación de la microemulsión:* la microemulsión bicontinua se preparó de acuerdo a lo reportado por Gao y colaboradores<sup>29</sup> mezclando agua, aceite, surfactante y alcohol. La composición de la microemulsión se mantuvo en las proporciones requeridas para obtener una fase homogénea, utilizando las proporciones siguientes (% p/p): CTAB/1-pentanol/tetradecano/agua, 17,5: 35: 12,5: 35 (conductividad específica  $2,0 \times 10^{-3} \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

*Preparación de citrato de titanio (IV):* el citrato de titanio (IV) se sintetizó de acuerdo al procedimiento reportado por Deng *et al.*<sup>30</sup>, a partir de tetracloruro de titanio (IV) en lugar de tetrakisopropóxido de titanio, el tetracloruro se estabilizó en HCl 2M para dar una solución 25% p/v de  $\text{TiCl}_4$  y se mezcló con ácido cítrico monohidratado. Se aumentó el pH agregando una solución de amoníaco para obtener el complejo de titanio precipitado, el cual resultó en un sólido de color blanco representado por  $(\text{NH}_4)_2[\text{Ti}(\text{H}_2\text{cit})_3]\text{H}_2\text{O}$ , éste se filtró y se recristalizó en agua, se filtró nuevamente y se secó para finalmente incorporarlo a la microemulsión.

*Experimentos electrocatalíticos:* se realizaron estudios de voltametría cíclica para analizar el comportamiento electroquímico de la vitamina, el citrato de titanio y los compuestos organohalogenados. La deshalogenación de dichos compuestos se llevó a cabo una vez que se

completó la electrólisis del complejo de titanio o de la vitamina  $\text{B}_{12}$ ; la electrólisis se desarrolló a potenciales determinados por su comportamiento voltamétrico, todos ellos frente al electrodo de referencia Ag/AgCl en KCl saturado. Se aplicó un potencial que permitió la electrogeneración de Ti(III) y/o  $\text{B}_{12r}$ , pero no la generación de la vitamina  $\text{B}_{12s}$ , la cual se produjo en el seno de la solución bajo la acción reductora del citrato de Ti(III). Se realizaron varias series de experimentos: En la serie (1), se desarrolló la electrólisis del citrato de Ti(IV) solo, a un potencial de  $-0,75\text{V}$ , en otra serie (2), la única sustancia electroactiva presente fue la vitamina  $\text{B}_{12}$  y el potencial aplicado en este caso fue de  $-0,90\text{V}$ , en otra serie (3) se repitió la reducción del citrato de Ti(IV) solo ( $-0,75\text{V}$ ) para luego agregar la vitamina  $\text{B}_{12}$ . La última serie de experimentos (4) se realizó teniendo en la microemulsión tanto el citrato de Ti(IV) como la vitamina  $\text{B}_{12}$  bajo un potencial aplicado de  $-0,90\text{V}$ . Las electrólisis para las series de experimentos (1) y (2) se desarrollaron por 30 minutos, y para las series (3) y (4) (que contenían ambos, citrato de titanio y vitamina) los tiempos fueron de 30, 60 y 120 minutos. Luego se les agregó el cloruro de bencilo para llevar a cabo las reacciones de reducción.

*Pretratamiento de la muestra:* a las microemulsiones se les agregó citrato de titanio, vitamina  $\text{B}_{12}$ , o una mezcla de ellos. Se evaluó el cambio de concentración de un compuesto organohalogenado como el cloruro de bencilo, debido a la forma reducida del complejo de titanio o debido a la vitamina superreducida ( $\text{B}_{12s}$ ). Se tomó un volumen de 2mL de la solución tratada y se colocó en una columna empacada para realizar cromatografía de adsorción, dicha columna contenía 8g de sílica gel y, sobre ésta, 3g de sulfato de sodio anhidro para retener el agua contenida en la muestra. Luego se eluyó con 40mL de una solución 1% de acetato de etilo en hexano, y una vez realizada la elución, la solución resultante, libre de surfactante y agua, se analizó mediante cromatografía de gases con detector de ionización en llama. Para los otros halogenados (1,2-dicloroetano y lindano) se realizó el mismo procedimiento.

*Experimentos cromatográficos:* los análisis cromatográficos para cada microemulsión electrolizada se llevaron a cabo mediante cromatografía de gases con detector de ionización en llama (GC/FID) empleando una columna cubierta con una película de 5% fenil metil silicona Supelco (longitud 30m, d.i. 0,25mm y 0,25 $\mu\text{m}$  de espesor). Las condiciones cromatográficas para el análisis de las muestras fueron: Volumen de inyección: 1 $\mu\text{L}$ ; temperatura del inyector y del detector: 270°C. Para el cloruro de bencilo: temperatura del horno: 50°C, durante 4min, y luego una programación de 6°C/min hasta 280°C; para el 1,2-dicloroetano: temperatura del horno: 50°C, durante 4min, y luego una programación de

2°C/min hasta 150°C y 8°C/min hasta 280°C; y para el lindano, el análisis se realizó por GC/MS para detectar la presencia del compuesto.

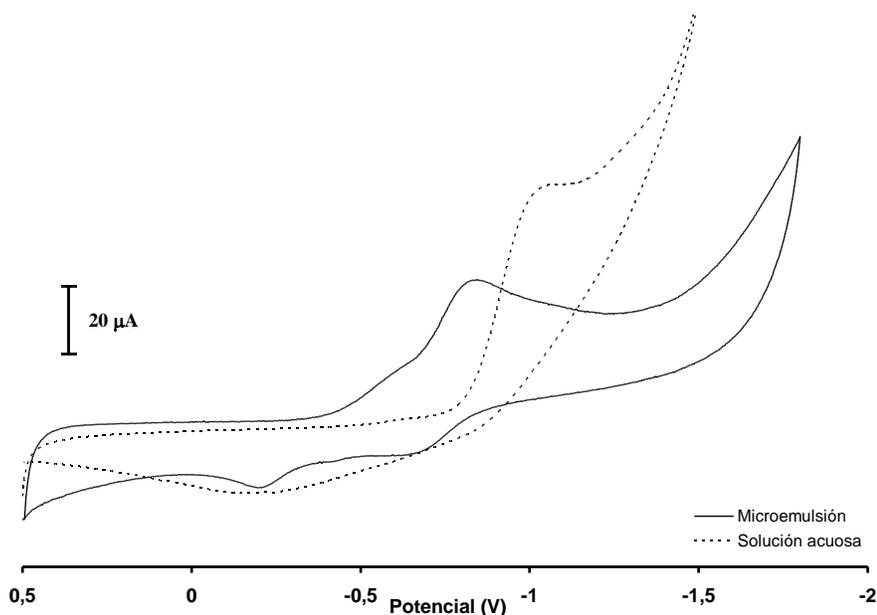
Los análisis por GC/MS que se realizaron para detectar los productos, se llevaron a cabo en modo de ionización química positiva (CI) utilizando helio como gas de arrastre y una columna de 5% difenil 95% dimetil-silicona (Restek RTX-5, 60m de longitud, d.i. y espesor 250µm); siendo las condiciones del análisis las siguientes: volumen de inyección = 1µL; temperatura del inyector = 275°C y del detector = 250°C. La rampa de temperatura del horno fue de 50°C aumentando a razón de 10°C/min hasta 310°C.

## Resultados y discusión

### Comportamiento electroquímico

El voltamograma cíclico del citrato de titanio (IV) en microemulsión (Figura 1) muestra dos pares de picos redox, lo cual sugiere la presencia de al menos dos formas del complejo, siendo esto verificado mediante estudios de Resonancia Magnética Nuclear<sup>9,30</sup>. Siguiendo un barrido directo del voltamograma, el primer pico corresponde a la

transformación de Ti(IV) a Ti(III) a -0,65V de una de las formas del complejo, y el segundo pico puede ser debido a la transformación de otra de las formas de dicho complejo a un potencial de -0,80V. El barrido de potencial inverso muestra también dos picos, los cuales se producen debido al proceso de oxidación, Ti(III) a Ti(IV), el cual ocurre entre -0,57V y -0,24V. Se pudo apreciar una diferencia significativa entre las señales obtenidas para la especie en solución acuosa (buffer de pH 7) y en microemulsión, lo cual demuestra que utilizando ésta como medio de reacción, se disminuye el consumo de energía. La transformación de Ti(III) a un estado de oxidación menor, es poco probable debido a que el Ti (II) no es estable en medio acuoso. El complejo contiene anillos quelato de cinco miembros y debido a la desprotonación de los carboxilatos periféricos, la molécula puede estar cargada negativamente<sup>31</sup>, de esta forma, el complejo cargado estaría presente probablemente en la fase acuosa de la microemulsión. Dicha desprotonación y la disociación de los ligandos citrato enlazados, aumenta cuando el valor de pH se incrementa<sup>32</sup>, generando varias formas del complejo y dando origen a la doble señal redox observada en el voltamograma.



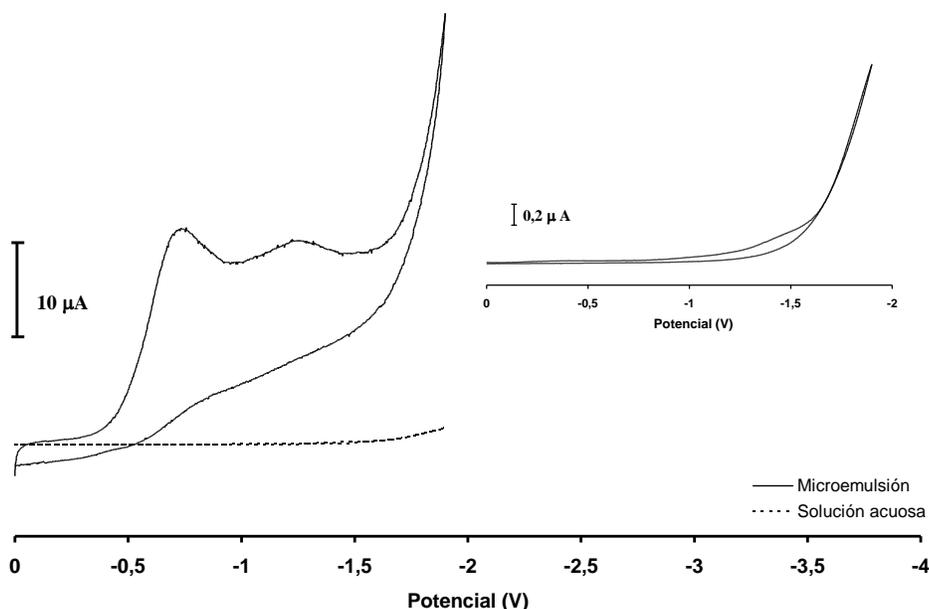
**Fig. 1:** Voltamogramas cíclicos del citrato de titanio 6,17mM (-) en microemulsión y (-) en solución acuosa (buffer de fosfatos pH 7) vs. Ag/AgCl, a 100mV/s sobre electrodo de carbón vítreo.

Por otro lado, el comportamiento voltamétrico de la cianocobalamina en microemulsión (Figura 2) también mostró dos picos de reducción bien definidos; sin embargo, no se observaron los picos de oxidación en el barrido voltamétrico inverso, lo que representa un comportamiento irreversible que puede ser debido a que la vitamina se adsorbe sobre la superficie del electrodo<sup>33</sup>, o que el surfactante de la microemulsión se adsorbe formando capas sobre la superficie

electrónica afectando el comportamiento voltamétrico de la vitamina. La fuerte influencia de los surfactantes en las reacciones electroquímicas ya ha sido reportada ampliamente<sup>29,34</sup>; sin embargo, en esta circunstancia particular, ese tipo de conformación pudiera estar enmascarando la oxidación de la cianocobalamina. El pico de reducción a -0,73V fue asignado a la transformación de B<sub>12</sub> a B<sub>12r</sub>, mientras que el segundo pico a -1,3V puede

corresponder a la transformación de  $B_{12r}$  a  $B_{12s}$ , para lo cual se observa un cambio de coloración<sup>5</sup>; cabe resaltar que la actividad electroquímica de la vitamina es superior en

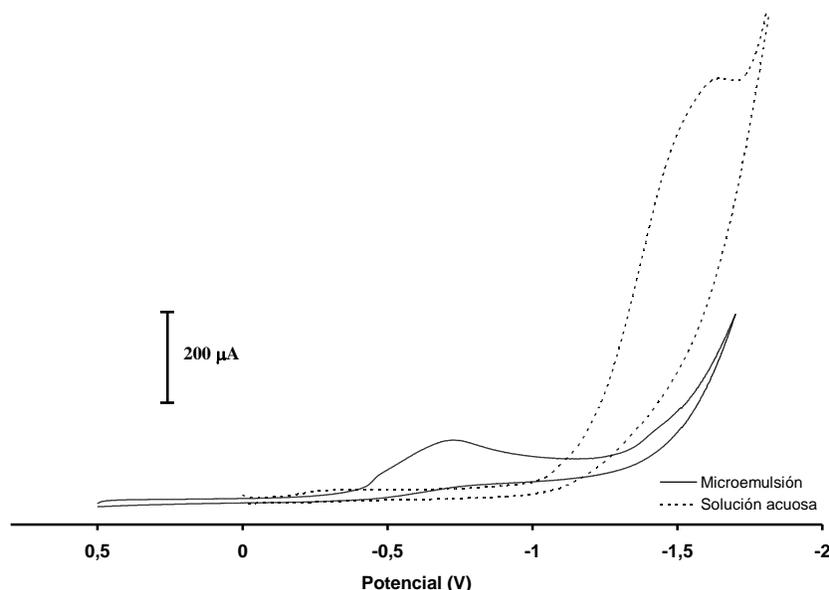
microemulsión que en solución acuosa (buffer de fosfatos pH 7) (ver Figura 2).



**Fig. 2:** Voltamogramas cíclicos de la vitamina  $B_{12}$  0,07mM (—) en microemulsión y (---) en solución acuosa (buffer de fosfatos pH 7) vs Ag/AgCl, a 100mV/s sobre electrodo de carbón vítreo. El recuadro superior derecho muestra una ampliación del comportamiento observado para la vitamina  $B_{12}$  en agua.

Luego del estudio voltamétrico se procedió a estudiar la reacción de algunos compuestos organohalogenados, estos fueron: el cloruro de bencilo, el 1,2-dicloroetano y el hexaclorociclohexano (lindano). El comportamiento electroquímico del cloruro de bencilo en la microemulsión (Figura 3), mostró un cambio de potencial de reducción hacia

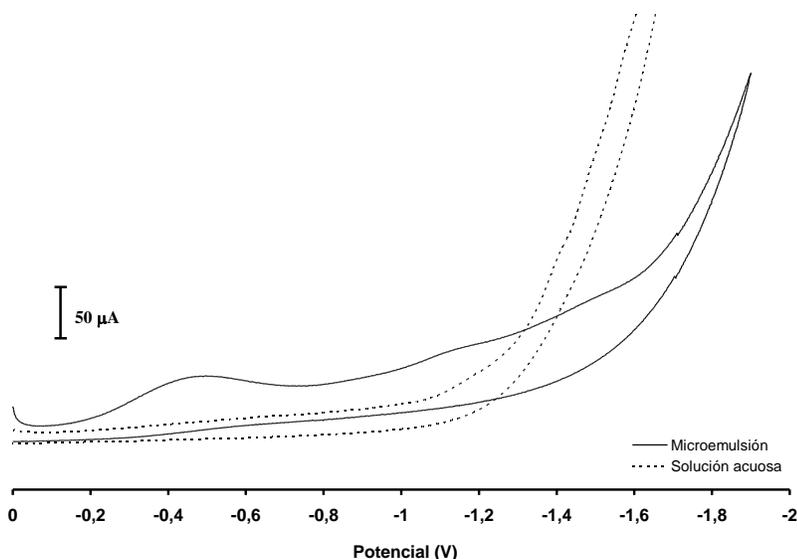
valores más positivos (-0,70V) comparado con el mostrado en solución acuosa (-1,6V), la diferencia en corriente entre los dos medios se debe a que la microemulsión no contiene el usual electrolito soporte que es esencial tanto en medio acuoso como en medio orgánico<sup>1</sup>.



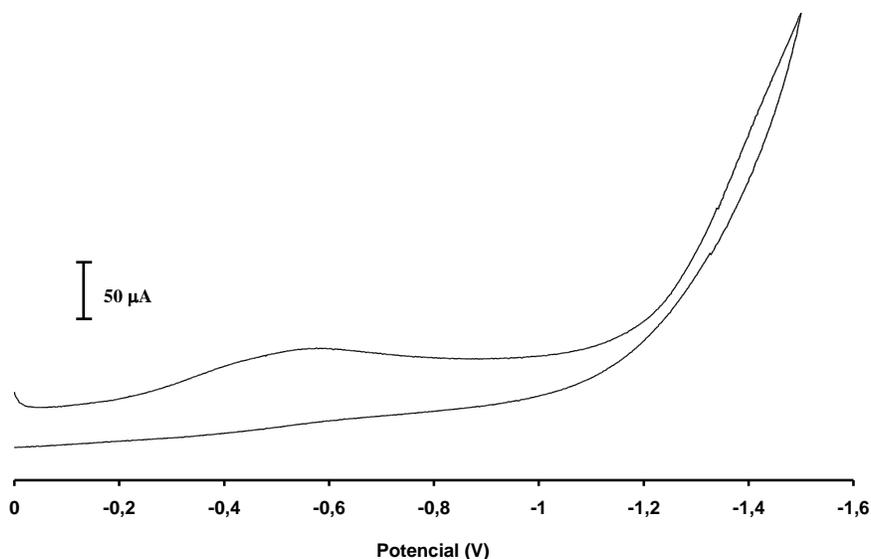
**Fig. 3:** Voltamogramas cíclicos del cloruro de bencilo 86,3mM (—) en microemulsión y (---) en solución acuosa (buffer de fosfatos pH 7) a 100mV/s vs Ag/AgCl sobre electrodo de carbón vítreo.

En los voltamogramas cíclicos del 1, 2 – dicloroetano, en microemulsión (Figura 4), se observaron picos de reducción a -0,5V (bien definido) y dos picos apenas perceptibles a -1,2 y -1,5V. En solución acuosa no se

observó comportamiento voltamétrico claro. El lindano mostró un pico pequeño en -0,5V, en microemulsión (Figura 5), pero en solución acuosa no se observó un comportamiento definido.



**Fig. 4:** Voltamogramas cíclicos del 1,2-dicloroetano 124mM (—) en microemulsión y (---) en solución acuosa (buffer de fosfatos pH 7) a 100mV/s vs Ag/AgCl sobre electrodo de carbón vítreo.



**Fig. 5:** Voltamograma cíclico del lindano 1,66mM en microemulsión a 100mV/s vs Ag/AgCl sobre electrodo de carbón vítreo.

#### *Deshalogenación de cloruro de bencilo*

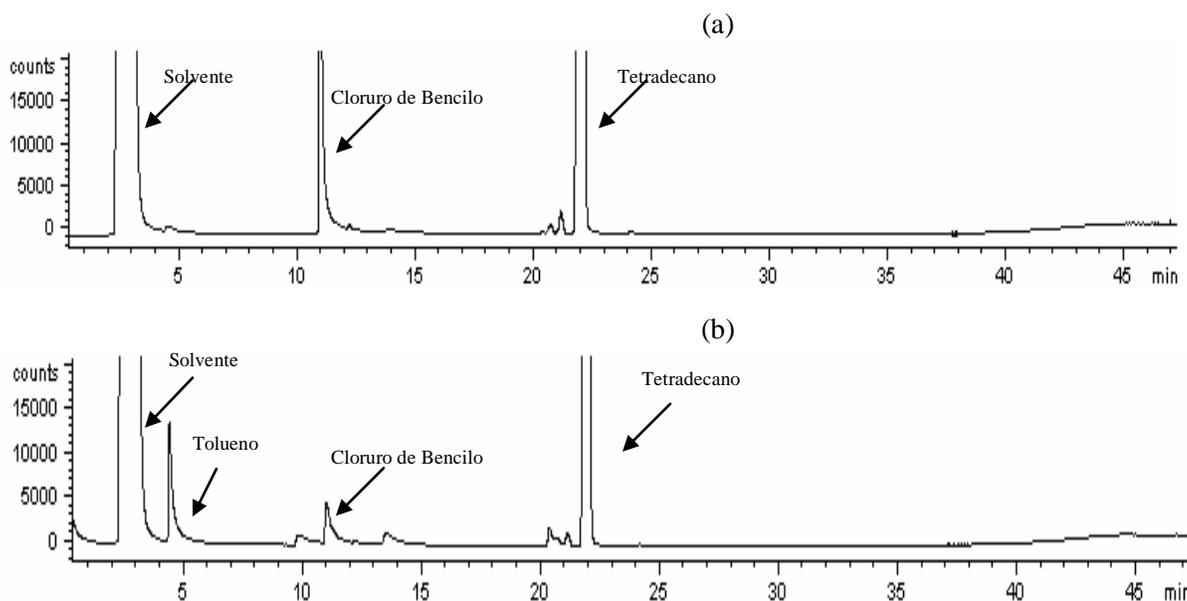
Citrato de Ti(III) como mediador: se agregó 6,17mM de complejo de titanio a la microemulsión y luego se le añadió 86,3mM de cloruro de bencilo para ser electrolizada a -0,75V. Las soluciones resultantes, después de tratadas, se analizaron por cromatografía de gases, obteniéndose los cromatogramas mostrados en la Figura 6. El cromatograma de una solución no electrolizada (Figura

6a) muestra el pico de cloruro de bencilo a un tiempo de retención ( $t_R$ ) de 11 minutos, mientras que el cromatograma de la solución electrolizada (Figura 6b) muestra un pequeño pico de organoclorado, remanente, y un nuevo pico en 4,5 minutos, el cual se identificó como tolueno. Se detectó la presencia de pequeñas cantidades de bromuro de bencilo, lo cual puede ser debido a que el bromuro, contraión del surfactante, interviene en el proceso.

En este sistema, el citrato de titanio (IV) es reducido a citrato de titanio (III) y actúa sobre el organoclorado que se encuentra en la superficie de la fase orgánica continua, sustrayendo un cloruro ( $\text{Cl}^-$ ); el radical resultante toma un protón para originar tolueno, mientras que el titanio vuelve a su forma oxidada. Cuando en lugar de cloruro de bencilo se usa cloruro de benzal (tres cloruros en lugar de uno) los radicales generados interactúan entre sí favoreciendo la formación del enlace carbono-carbono y produciendo estilbeno o bibencilo como lo reportan Carrero y colaboradores<sup>4</sup>, sin embargo, en esta investigación, se obtiene tolueno como único componente, lo cual sugiere que la reacción ocurre en la interfase y, preferencialmente,

en el lado de la fase acuosa. El cloruro de bencilo es difícil de degradar y tiene la desventaja que su reducción ocurre a potenciales muy negativos donde podría también llevarse a cabo la reducción de  $\text{CO}_2$ , lo cual originaría la obtención de productos no deseados y disminuiría la eficiencia faradámica<sup>35</sup>.

Los resultados de la deshalogenación del cloruro de bencilo (86,3mM) mediada por citrato de Ti(III), se muestran en la Tabla 1, en la cual, el potencial señalado se refiere al empleado para llevar a cabo las electrólisis, garantizando la reducción del compuesto, la cual fue alrededor de  $48 (\pm 11)\%$ .



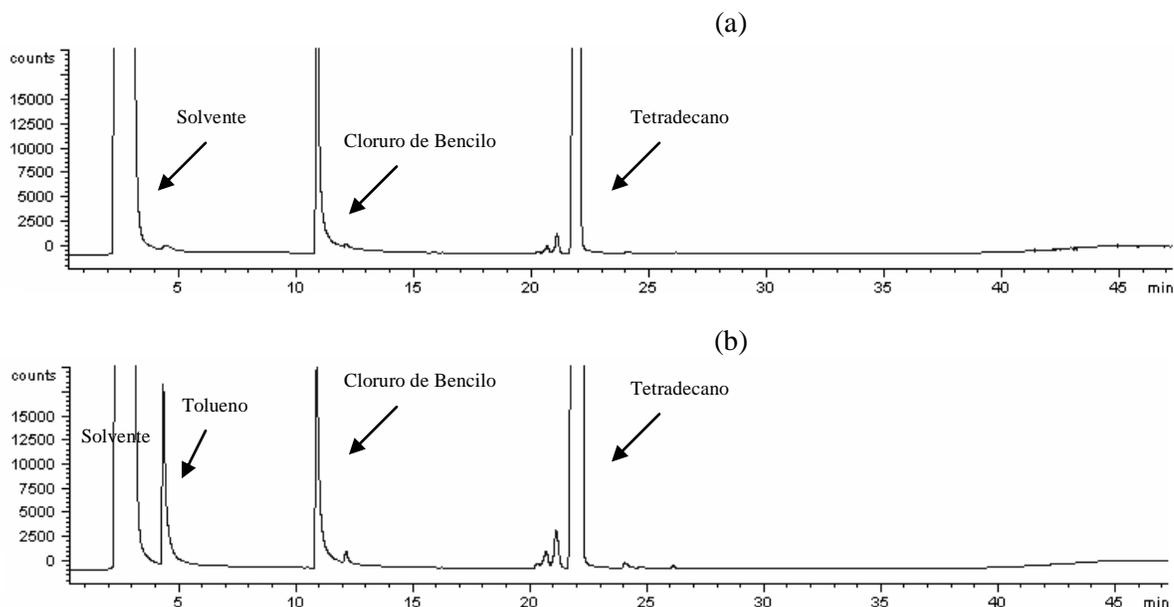
**Fig. 6:** (a) Cromatograma de una muestra de 6,17mM de citrato de titanio y 86,3mM de cloruro de bencilo sin electrolizar y (b) después de la electrólisis por 30 minutos en presencia de 6,17mM del citrato de titanio en  $-0,75\text{V vs Ag/AgCl}$  y posterior adición de 86,3mM de cloruro de bencilo.

**Vitamina  $B_{12}$  como mediador:** para estudiar el comportamiento de la vitamina  $B_{12}$  como mediador se desarrollaron tres diferentes enfoques, uno fue la reducción heterogénea de la vitamina sobre el electrodo para obtener vitamina  $B_{12r}$ , otro fue la reducción homogénea de la vitamina mediante el citrato de Ti(III) electrogenerado para obtener vitamina  $B_{12s}$  y el último fue la electrólisis de la mezcla de los componentes (vitamina, citrato y organoclorado).

#### a) Vitamina $B_{12r}$

A una microemulsión 0,07mM de vitamina  $B_{12}$  y 85,4mM de cloruro de bencilo, se le aplicó un potencial de  $-0,90\text{V}$  durante 30, 60 y 120min para generar la forma reducida de la vitamina,  $B_{12r}$  (Figura 2). La vitamina al transformarse a su forma superreducida ( $\text{Co(I)}$ ), actúa sobre el cloruro de bencilo sustrayendo un  $\text{Cl}^-$  para dar origen al tolueno. El  $\text{Co(II)}$  puede reducir otra molécula de cloruro de bencilo, sin embargo esta es una reacción más lenta<sup>1</sup>.

Los cromatogramas de la figura 7 muestran que la deshalogenación del cloruro de bencilo mediada por vitamina  $B_{12}$  y por el complejo de Ti(III) origina los mismos productos; una deshalogenación similar ha sido reportada por otros autores<sup>4,5,25</sup>. El cromatograma de la figura 7 ( $B_{12}$  como mediador) muestra un pico en 11 minutos, el cual corresponde al compuesto de partida, mientras que a 4,5 minutos aparece el pico del tolueno, siendo el mayor producto de la reacción. Se identificó bromuro de bencilo por GC/MS, sin embargo, éste apareció antes de la electrólisis, debido a la sustitución electrofílica espontánea pero lenta del cloruro contenido en el cloruro de bencilo cuando está en microemulsión. Adicionalmente, la microemulsión desplaza el potencial del organoclorado a valores menos negativos, por ejemplo, disminuyendo la energía requerida para deshalogenar el compuesto. La deshalogenación del organoclorado bajo este sistema fue de  $49(\pm 13)\%$  (Tabla 1). Este resultado es similar al obtenido utilizando el complejo de titanio.

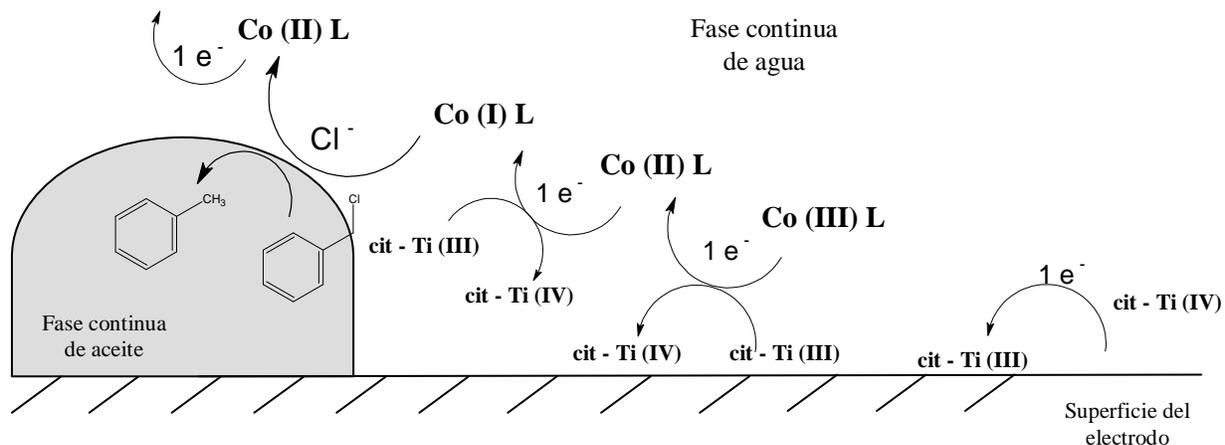


**Fig. 7:** (a) Cromatograma de una muestra de 0,07mM de vitamina B<sub>12</sub> y 85,4mM de cloruro de bencilo sin electrolizar y (b) después de la electrolisis por 30 minutos en presencia de 0,07mM de vitamina B<sub>12</sub> en -0,90V vs Ag/AgCl y posterior adición de 85,4mM de cloruro de bencilo.

#### b) Vitamina B<sub>12s</sub>.

En el proceso para obtener B<sub>12s</sub>, se electrolizó a -0,90V la microemulsión conteniendo 6,17mM de citrato de Ti(IV); este potencial fue suficientemente negativo para cambiar el estado de oxidación y generar citrato de Ti(III). Entonces, se agregó 7mM de vitamina B<sub>12</sub> a la microemulsión y 86,3mM de órgano-clorado. La transformación de B<sub>12</sub> a B<sub>12s</sub> fue observada visualmente a través de un cambio de color en la microemulsión.

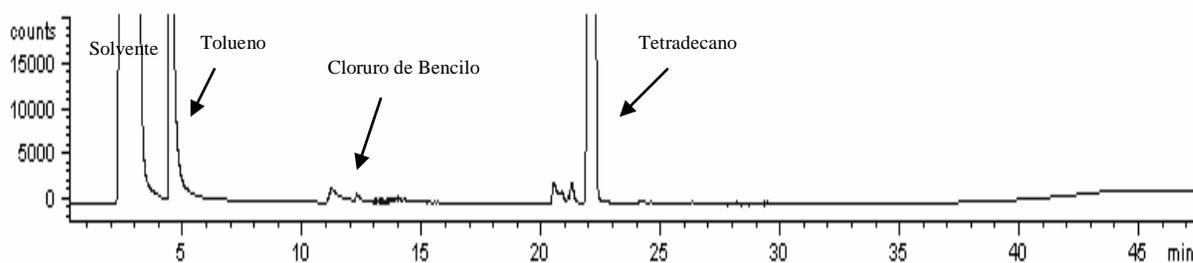
En la Figura 8 se muestra un esquema propuesto del proceso de reducción del cloruro de bencilo mediado por vitamina B<sub>12</sub> en presencia de citrato de titanio (III). En primer lugar, el cit-Ti(IV) es reducido a la forma cit-Ti(III) sobre el electrodo; después el cit-Ti(III) actúa sobre la vitamina B<sub>12</sub> llevándola de su forma B<sub>12a</sub> (Co(III)), a su forma B<sub>12r</sub> (Co(II)) y finalmente a B<sub>12s</sub> (Co(I)); esta última (forma más activa del catalizador) sustrae un anión Cl<sup>-</sup> del cloruro de bencilo y lo transforma en tolueno.



**Fig. 8:** Representación esquemática propuesta del proceso de reducción del cloruro de bencilo bajo la acción del citrato de titanio (III) y la vitamina B<sub>12</sub>.

El cromatograma obtenido del análisis realizado para determinar el porcentaje de deshalogenación del cloruro de bencilo para este caso, en un tiempo de 30 minutos, se

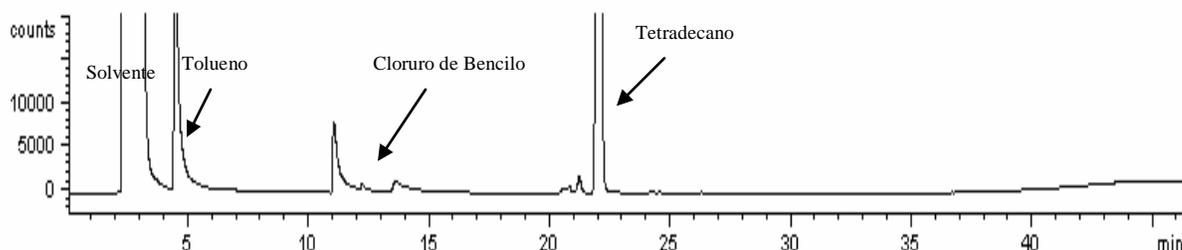
muestran en la Figura 9; un comportamiento similar con el mismo producto (tolueno), se obtuvo para los tiempos de tratamiento de 60 y 120 minutos



**Fig. 9:** Cromatograma de una muestra conteniendo 6,17mM de citrato de titanio después de la electrólisis por 30 minutos a -0,90V vs. Ag/AgCl, con la posterior adición de 7mM de vitamina B<sub>12</sub> y 86,3mM de cloruro de bencilo. Se observó un comportamiento similar para los tiempos de 60 minutos y 120 minutos, originando tolueno como producto.

El estudio se llevó a cabo mediante la aplicación de -0,90V a la microemulsión conteniendo 6,17mM de citrato de titanio, 7mM de vitamina B<sub>12</sub> y 86,3mM de cloruro de bencilo; la respuesta obtenida para este caso es un aumento en la reacción de deshalogenación del organoclorado a medida que aumenta el tiempo, para 30 y 60 minutos, indicando que a mayor tiempo de electrólisis ocurre una mayor deshalogenación, lo que puede deberse a que

simultáneamente se están reduciendo el titanio, la vitamina y el cloruro de bencilo. Sin embargo luego de dos horas de reacción ocurre una disminución, probablemente debido a la desactivación del electrodo de trabajo durante el proceso. El cromatograma obtenido para el análisis con 30 minutos de tratamiento, se muestra en la Figura 10, observándose un comportamiento equivalente para tiempos mayores.



**Fig. 10.** Cromatograma de una muestra conteniendo 6,17mM de citrato de titanio, 7mM de vitamina B<sub>12</sub> y 86,3mM de cloruro de bencilo después de la electrólisis por 30 minutos a -0,90V vs Ag/AgCl. Se observó un comportamiento similar para los tiempos de 60 minutos y 120 minutos, originando tolueno como producto.

**Tabla 1.** Porcentaje de deshalogenación para la reducción del cloruro de bencilo mediada por citrato de titanio (III) y vitamina B<sub>12</sub> en microemulsión bicontinua <sup>a</sup>.

Catalizador electrolizado	- E <sub>ap</sub> <sup>b</sup> vs. Ag/AgCl (V)	Tiempo de electrólisis (min)	Concentración de cloruro de bencilo (μM)	Deshalogenación <sup>c</sup> (%)
<b>Citrato de Ti (IV)</b>	0,75	30	44 ± 13	48 ± 11
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b>	0,90	30	49 ± 10	49 ± 13
<b>Citrato de Ti(IV) + Vitamina B<sub>12</sub><sup>d</sup></b>	0,90	30	13 ± 4	85 ± 5
		60	14 ± 5	83 ± 6
		120	19 ± 9	77 ± 11
<b>Citrato de Ti(IV) + Vitamina B<sub>12</sub> + cloruro de bencilo<sup>e</sup></b>	0,90	30	46 ± 11	46 ± 13
		60	22 ± 9	74 ± 10
		120	28 ± 10	67 ± 12

<sup>a</sup> Composición de la microemulsión: CTAB/agua/1 – pentanol/tetradecano = 17,5:35:35:12,5 (%p/p)

<sup>b</sup> Potencial aplicado para llevar a cabo la electrólisis de la muestra

<sup>c</sup> Datos obtenidos de los análisis GC/FID basados en la cantidad de cloruro de bencilo reaccionado.

<sup>d</sup> La Vitamina B<sub>12</sub> no fue electrolizada sino agregada a la microemulsión una vez completada la electrólisis del citrato de titanio.

<sup>e</sup> La Vitamina B<sub>12</sub> electrolizada junto con el citrato de titanio y el cloruro de bencilo en la microemulsión

En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de deshalogenación para todos los sistemas estudiados, así como los potenciales aplicados para llevar a cabo las electrólisis y sus determinados tiempos. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 1, no hay mucha variación en los porcentajes de reacción del cloruro de bencilo al modificar el tiempo de electrólisis del complejo de titanio, lo cual quiere decir que la transformación del titanio se desarrolla al menos en media hora. Al resultado que parece discordante ( $77(\pm 11)\%$ ), en los análisis con cit-Ti+B<sub>12</sub>, se le realizó la prueba de comparación de medias, mediante el método de hipótesis nula para una probabilidad de 95%, arrojando como resultado que no hay diferencia significativa entre las medias.

Por otro lado, la vitamina B<sub>12s</sub> es un nucleófilo muy fuerte y puede reaccionar con compuestos organohalogenados mediante mecanismos de sustitución nucleofílica, adición, o transferencia de electrones<sup>36</sup>; también pueden formarse radicales que participen como intermediarios en las reacciones de deshalogenación; esto da origen a la formación de varios productos, ya que dichos radicales pueden reaccionar con algún nucleófilo presente<sup>36</sup>. Por ejemplo, el anión bencilo participa como intermediario en la formación de tolueno, debido a que los potenciales a los cuales es reducido, la favorecen<sup>37</sup>. Podría asumirse, por tanto, que este mecanismo probablemente sea el que tiene lugar en este proceso de reducción, donde el tolueno fue el producto principal.

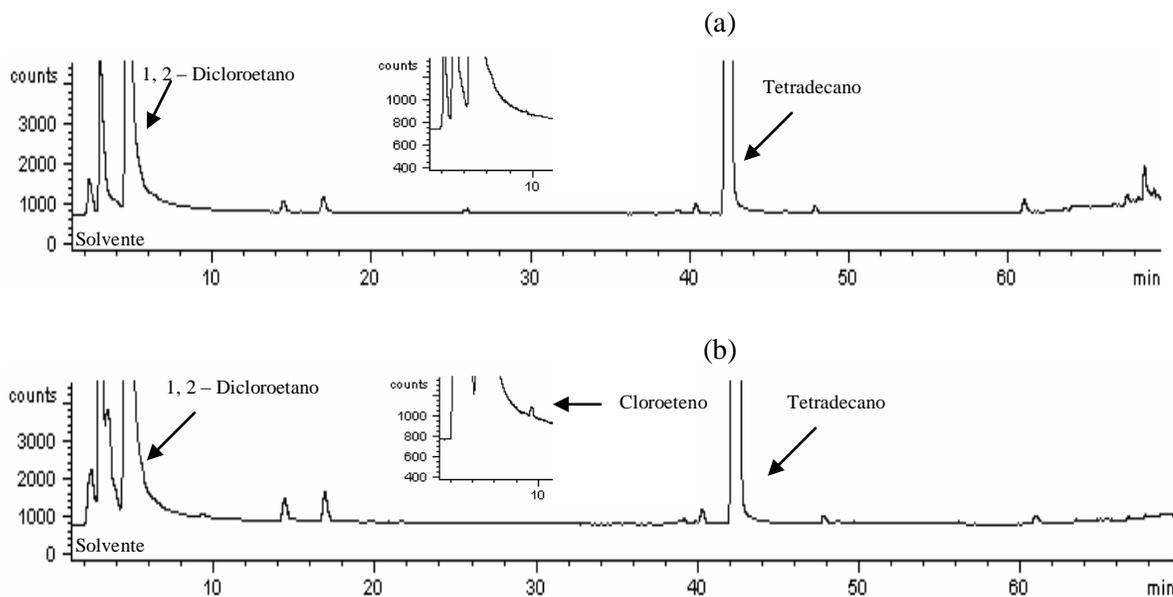
Los resultados obtenidos reflejan una alta eficiencia en un menor tiempo al utilizar la microemulsión como medio de estudio en lugar de solución acuosa, ya que se encuentra

que la deshalogenación fue de 85% para 30 minutos de electrólisis.

#### Reducción de otros órgano-halogenados

Deshalogenación de 1,2-dicloroetano: se realizó la electrólisis a -0,5V de una microemulsión 6,17mM en citrato de titanio, 7mM en vitamina B<sub>12</sub> y 124mM en 1,2-dicloroetano. Los productos obtenidos por GC/MS de la reducción del 1,2-dicloroetano fueron el cloroetano y trazas de eteno. El cloroetano se pudo haber originado a partir de una eliminación  $\beta$ -, o deshidrohalogenación llevada a cabo en el proceso<sup>38</sup>. Éste se detectó en la fase gaseosa analizada, en la cual también se halló 1,2-dicloroetano que no se degradó; y en la fase líquida sólo se encontró el compuesto de partida en una concentración representativa, a pesar que el mediador fue totalmente reducido. De acuerdo a estos resultados, se puede decir que la reducción ocurre lentamente. Cabe destacar que el 1,2-dicloroetano es un compuesto de alta volatilidad, con una presión de vapor de 387 mm Hg a 25°C, y cuyos subproductos esperados en la reducción se encuentran en estado gaseoso a temperatura ambiente (cloroetano y eteno).

No se observó efectividad de este sistema en la reacción del 1,2-dicloroetano debido probablemente a que su baja polaridad y pequeño tamaño favorecieron que se alojara en la fase orgánica de la microemulsión; esto lo alejó de la vitamina y del titanio evitando su reducción. En la Figura 11 se pueden observar los cromatogramas de gases de la reducción del 1,2-dicloroetano.

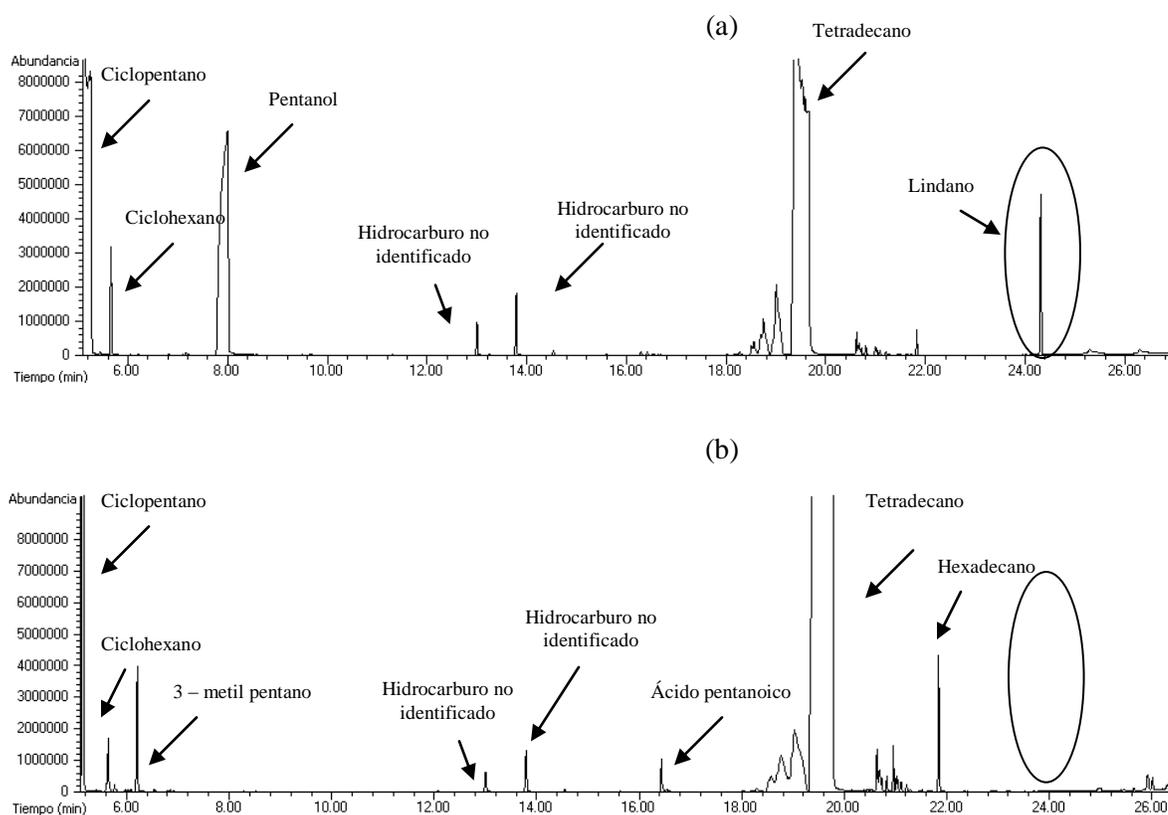


**Fig. 11:** Cromatograma de una muestra de 6,17 mM de citrato de titanio, 7 mM de vitamina B<sub>12</sub> y 124 mM de 1,2 – dicloroetano en microemulsión sin electrolizar (fase gaseosa) y (b) después de electrolizar en -0,90 V vs Ag/AgCl por dos horas (fase gaseosa). El cromatograma superior representa una ampliación de los primeros 10 minutos de la corrida donde aparece el producto cloroetano.

**Deshalogenación del  $\gamma$ -hexaclorociclohexano (lindano):** El estudio se llevó a cabo en una microemulsión conteniendo 6,17mM de citrato de titanio, 7mM de vitamina B<sub>12</sub> y 1,66mM de lindano; aplicándosele un potencial de -0,9V para desarrollar la electrólisis. La reducción del hexaclorociclohexano (HCH) se estudió por GC/MS. El cromatograma de iones totales obtenido antes de la electrólisis (Figura 12a) mostró un pico en 24,4 minutos identificado como lindano, el cual desapareció completamente una vez que la microemulsión fue electrolizada (Figura 12b). Después del proceso de reducción, aparecieron algunos componentes no identificados, sin embargo, los productos esperados tales como pentaclorociclohexano, no se detectaron. Rodríguez-Garrido y colaboradores<sup>25</sup> utilizaron hidroxocobalamina y

citrate de titanio (III) en medio acuoso para degradar los isómeros del HCH; los resultados indicaron la reducción de la mayoría de los isómeros en unos pocos minutos.

El presente estudio fue realizado con cianocobalamina como catalizador y citrato ácido de titanio como agente reductor, pH 2-3 en un intervalo de tiempo de 120 minutos, con los cuales se obtuvo la deshalogenación completa del lindano. Esta rápida reacción puede ser debido a que el lindano tiene un solo átomo de cloro en posición ecuatorial, lo que lo hace poco estable termodinámicamente y fácil de degradar vía electroquímica<sup>25</sup>. Los resultados de la presente investigación son similares a los obtenidos por Rodríguez-Garrido y colaboradores<sup>25</sup>.



**Fig. 12:** (a) Cromatograma de iones totales de una muestra de 6,17mM de citrato de titanio, 7mM de vitamina B<sub>12</sub> y 1,66mM de lindano, en microemulsión sin electrolizar y (b) electrolizados en -0,90V vs. Ag/AgCl por 120 minutos, donde el pico del lindano desapareció.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos para la deshalogenación del cloruro de bencilo y el lindano indican que el ambiente microheterogéneo proporcionado por la microemulsión en combinación con las capacidades reductoras del citrato de titanio y la vitamina B<sub>12</sub>; trae como consecuencia el contacto de la materia orgánica con estos agentes reactivos en volúmenes de solución considerablemente pequeños

(micro-reactor de gotas nanométricas); ocasionando así, un aumento de la eficiencia en las reacciones de deshalogenación de estos compuestos. Los porcentajes de deshalogenación para la reacción del cloruro de bencilo se encontraron entre 46 y 85 %; los cambios de concentración del 1,2-dicloroetano resultaron pequeños, y en el caso del lindano se reportó su desaparición total.

## Referencias

1. J Rusling. Electrochemistry and Electrochemical Catalysis in Microemulsions. **Modern Aspects of Electrochemistry**, **26**, 40–104 (1994).
2. J Salager, R Antón, D Sabatini, J Harwell, E Acosta, L Tolosa. **J. Surfactants and Detergents**, **8(1)**, 3–21 (2005).
3. I Rico-Lattes, E Pérez, S Francheschi-Messant, A Lattes. Organized molecular systems as reaction media. **Comptes Rendus Chimie**, **14 (7-8)**, 700–715 (2011).
4. H Carrero, J Gao, J Rusling, C Lee, A Fry. Direct and catalyzed electrochemical syntheses in microemulsions. **Electrochimica Acta**, **45**, 503–512 (1999).
5. S Ruppe, A Neumann, G Diekert, W Vetter. Abiotic transformation of Toxaphene by superreduced vitamin B<sub>12</sub> and dicyanocobinamide. **Environmental Science and Technology**, **38**, 3063–3067 (2004).
6. J Hao. Effect of the structures of microemulsions on chemical reactions. **Colloid Polymer Science**, **278(2)**, 150–154 (2000).
7. D Zhou, J Gao, J Rusling, Kinetic control of reactions of electrogenerated Co(I) macrocycles with alkyl bromides in a bicontinuous microemulsion. **J. Am. Chem. Soc.**, **117(3)**, 1127–1134 (1995).
8. Q Huang, J Rusling. Formal Reduction Potentials and Redox Chemistry of Polyhalogenated Biphenyls in a Bicontinuous Microemulsion. **Environmental Science and Technology**, **29**, 98–103 (1995).
9. L Madriz, H Carrero, J Herrera, A Cabrera, N Canudas, L Fernández. Photocatalytic activity of metalloporphyrin–titanium mixtures in microemulsions. **Topics in Catalysis**, **54**, 236–243 (2011).
10. A Malaviya, J Gomes. Nutrient Broth/PEG200/Triton X114/Tween80/Chloroform microemulsion as a reservoir of solubilised sitosterol for biotransformation to androstenedione. **J. Industrial Microbiology Biotechnology**, **35**, 1435–1440 (2008).
11. G Pardo, R Vargas, O Núñez. Photocatalytic TiO<sub>2</sub>-assisted decomposition of Triton X-100: Inhibition of p-nitrophenol degradation. **J. Physical Organic Chemistry**, **21**, 1072–1078 (2008).
12. S Horikoshi, D Minami, S Ito, H Sakai, D Kitamoto, M Abe, N Serpone. Molecular dynamics simulations of adsorption of hydrophobic 1,2,4-trichlorobenzene (TCB) on hydrophilic TiO<sub>2</sub> in surfactant emulsions and experimental process efficiencies of photo-degradation and -dechlorination. **J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, **217**, 141–146 (2011).
13. N Barrios, P Sivov, D D'Andrea, O Núñez. Conditions for selective photocatalytic degradation of naphthalene in Triton X-100 water solutions. **International Journal of Chemical Kinetics**, **37(7)**, 414–419 (2005).
14. R Vargas, O Núñez. The photocatalytic oxidation of dibenzothiophene (DBT). **J. Molecular Catalysis A: Chemistry**, **294**, 74–81 (2008).
15. M Monagheddu, G Mulas, S Doppiu, G Cocco, S Racanelli. The Reduction of Polychlorinated Dibenzodioxins and Dibenzofurans in Contaminated Muds by Mechanically Induced Combustion Reactions. **Environmental Science and Technology**, **33**, 2485–2488 (1999).
16. K Rajeshwar, J Ibáñez. Environmental Electrochemistry. Fundamentals and Applications in Pollution Abatement. Editorial Academic Press. California, Estados Unidos, p. 373, (1997).
17. M Panizza, G Cerisola. Electrochemical oxidation as a final treatment of synthetic tannery wastewater. **Environmental Science and Technology**, **38**, 5470–5475 (2004).
18. W Rhodes, J Margitfalvi, I Borbáth, K Lázár, V Kovalchuk, J d'Itri. Hydrogen-Assisted 1,2-Dichloroethane Dechlorination Catalyzed by Pt-Sn/SiO<sub>2</sub> Catalysts of Different Preparation. **Journal of Catalysis**, **230**, 86–97 (2005).
19. R Lookman, L Bastiaens, B Borremans, M Maesen, J Gemoets, L Diles. Batch-test study on the dechlorination of 1,1,1-trichloroethane in contaminated aquifer material by zero-valent iron. **Journal of Contaminant Hydrology**, **74** (1-4), 133–144 (2004).
20. R Bejankiwar, J Lalman, R Seth, N Biswas. Electrochemical Degradation of Dichloromethane in a Synthetic Groundwater Matrix. **Water Research**, **39**, 4715–4724 (2005).
21. T Davies, A Garner, S Davies, R Compton. Cyclic voltammetry at microdroplet modified electrodes. A comparison of the reaction of vicinal dibromides with vitamin B<sub>12s</sub> at the liquid/liquid interface with the corresponding homogeneous process: evidence for polar-solvent effects at the liquid/liquid interface. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **570(2)**, 171–185 (2004).
22. R Banerjee, S Ragsdale. The many faces of vitamin B<sub>12</sub>: catalysis by cobalamin-dependent enzymes. **Annual Review in Biochemistry**, **72**, 209–247 (2003).
23. V Singh, N Sachan, Vitamin B<sub>12</sub>-A Vital Vitamin for Human Health: A Review. **American Journal of Food Technology**, **6(10)**, 857–863 (2011).
24. A Kumari, A Garg, K Makeen, M Lal, C Gupta, S Chandra. A bacteriocin production on Soya Nutri Nuggets extract medium by *Lactococcus lactis* Subsp. *Lactis*. **Int. J. Dairy Science**, **3(1)**, 49–54 (2008).
25. B Rodríguez-Garrido, M Camps Arbestain, M Monterroso, F Macías. Reductive dechlorination of  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -hexachlorocyclohexane isomers by hydroxocobalamin in the presence of ester dithiotreitol or Ti(III) citrate as reducing agents. **Environmental Science Technology**, **38(19)**, 5046–5052 (2004).

26. J Haglund, V Silvani, E Esmans, M Törnqvist. Cobalamin as an analytical tool for analysis of oxirane metabolites of 1,3-butadiene: Development and validation of the method. **Journal of Chromatography A**, **1119**(1-2), 246-250 (2006).
27. V Ochoa-Herrera, R Sierra-Alvarez, A Somogyi, N Jacobsen, V Wysocki, J Field. Reductive Defluorination of Perfluorooctane Sulfonate. **Environmental Science and Technology**, **42**(9), 3260–3264 (2008).
28. J Liu, R Han, H Wanga, Y Zhao, Z Chu, H Wu. Photoassisted degradation of pentachlorophenol in a simulated soil washing system containing nonionic surfactant Triton X-100 with La–B codoped TiO<sub>2</sub> under visible and solar light irradiation. **Applied Catalysis B: Environmental**, **103**, 470–478 (2011).
29. J Gao, J Rusling, D Zhou. Carbon – carbon bond formation by electrochemical catalysis in conductive microemulsions. **The Journal of Organic Chemistry**, **61**(17), 5972–5977 (1996).
30. Y Deng, Z Zhou, H Wan. pH-dependent isolations and spectroscopic, structural, and thermal studies of citrate complexes. **Inorganic Chemistry**, **43**(20), 6266–6273 (2004).
31. J Paradies, J Crudass, F MacKay, L Yellowlees, J Montgomery, S Parsons, I Oswald, N Robertson, P Sadler. Photogeneration of titanium (III) from titanium (IV) citrate in aqueous solution. **Journal of Inorganic Biochemistry**, **100**(7), 1260–1264 (2006).
32. Y Deng, Y Jiang, Q Hong, Z Zhou. Speciation of water-soluble titanium citrate: Synthesis, structural, spectroscopic properties and biological relevance. **Polyhedron**, **26**(8), 1561-1569 (2007).
33. E – I Ochiai. Bioinorganic Chemistry. An Introduction. Editorial Alan and Bacon, Inc. Boston, U.S.A., p. 515 (1977).
34. J Rusling. Green synthesis via electrolysis in micro-emulsions. **Pure and Applied Chemistry**, **73**(12), 1895–1905 (2001).
35. A Isse, A Gennaro. Electrocatalytic carboxylation of benzyl chlorides at silver cathodes in acetonitrile. **Chemical Communications**, **23**, 2798-2799 (2002).
36. G Glod, W Angst, C Holliger, R Schwarzenbach. Corrinoid-Mediated Reduction of tetrachloroethene, trichloroethene, and trichlorofluoroethene in homogeneous aqueous solution: Reaction kinetics and reaction mechanisms. **Environmental Science and Technology**, **31**, 253–260 (1997).
37. D Zhou, H Carrero, J Rusling. Radical vs. anionic pathway in mediated electrochemical reduction of benzyl bromide in a bicontinuous microemulsion. **Langmuir**, **12**, 3067–3074 (1996).
38. H Song, E Carraway. Reduction of Chlorinated Ethanes by Nanosized Zero – Valent Iron. Kinetics, Pathways, and effects of reaction conditions. **Environmental Science and Technology**, **39**(16), 6237–6245 (2005).