

**ISOMERIZACIÓN CATALÍTICA DEL ESTRAGOL AL ANETOL A PARTIR
DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida***

LILIANA ROCÍO BERNAL RUEDA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2018

**ISOMERIZACIÓN CATALÍTICA DEL ESTRAGOL AL ANETOL A PARTIR
DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida***

Trabajo de grado para optar al título de Química

LILIANA ROCÍO BERNAL RUEDA

DIRECTORA:

ELENA E. STASHENKO, QUÍMICA, Ph.D.

CO-DIRECTORES:

JAIRO RENÉ MARTÍNEZ, QUÍMICO, Ph.D.

YURI CÓRDOBA CAMPO, QUÍMICA, M. Sc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2018

DEDICATORIA

A mis amados padres y hermana

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por iluminarme siempre el camino a seguir y acompañarme en cada uno de los momentos difíciles.

A mi familia, mis padres Salvador y Matilde, mi hermana Jenny, y mi prima Estefanía por el apoyo y amor incondicional durante este proceso de formación.

A la profesora Elena Stashenko y al profesor Jairo René Martínez, por todos los conocimientos transmitidos y por darme la oportunidad de ser parte del centro de investigación CENIVAM.

A los grandes amigos que hice durante estos años de universidad, Gonzalo, Luz, Luis Miguel, Leydé, Xuxan, Sofía y Damian, por la fuerza que me dieron, el apoyo y todos los momentos compartidos.

A todos los integrantes de CENIVAM y CROM-MASS, en especial a Yuri Córdoba, Andres Ramírez y Rogerio Saavedra por sus conocimientos y aportes en este trabajo. Al ingeniero Oscar Morales por su valiosa colaboración en trámites de cartas y solicitudes y a José Cárdenas por sus enseñanzas en la propagación de *T. lucida*.

A COLCIENCIAS-Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas, Contrato RC-0572-2012. A los laboratorios de Difracción de Rayos X y CICAT de la Universidad Industrial de Santander y Catálisis Ambiental de la Universidad de Antioquia.

A la Universidad Industrial de Santander y a la Escuela de Química por abrirme sus puertas y ser el alma mater de mi formación profesional.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO	24
1.1. <i>Tagetes lucida</i>	24
1.2. GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	26
1.2.1. Definición.	26
1.2.2. Composición química de los aceites esenciales.	27
1.3. ESTRAGOL	28
1.4. <i>trans</i> -ANETOL	29
1.5. TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA DE LOS ACEITES ESENCIALES	30
1.5.1. Hidrotalcitas.	31
1.6. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DEL CATALIZADOR	34
1.6.1. Difracción de rayos X.....	34
1.6.2. Espectroscopía de Infrarrojo	34
1.6.3. Fisisorción de nitrógeno, según el método Brunauer, Emmett y Teller.....	35
1.6.4. Desorción de CO ₂ a temperatura programada.....	36
1.7. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES	37
1.7.1. Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.....	37
1.8. TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS	37
1.8.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	37
1.8.2. Cromatografía de gases con detector de ionización en llama.....	38

2. CIENCIOMETRÍA	39
3. PARTE EXPERIMENTAL	44
3.1. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO	44
3.2. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	45
3.3. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes lucida</i>	46
3.4. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes lucida</i> y DE LOS PRODUCTOS DE SU TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA.....	47
3.5. CUANTIFICACIÓN DE COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes lucida</i> y DE LOS PRODUCTOS DE SU TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA.....	49
3.6. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL CATALIZADOR	50
3.6.1. Síntesis del catalizador.....	51
3.6.2. Caracterización del catalizador.....	52
3.6.2.1. Difracción de rayos X.....	52
3.6.2.2. Espectroscopía de infrarrojo	52
3.6.2.3. Fisisorción de nitrógeno por el método BET	52
3.6.2.4. Desorción de CO ₂ a temperatura programada.....	53
3.7. Diseño experimental del proceso catalítico.....	53
3.7.1. Proceso de reacción catalítica	54
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	57
4.1. Rendimiento del aceite esencial de <i>T. lucida</i>	57
4.2. Composición química del aceite esencial de <i>T. lucida</i>	57
4.3. Estudios en medios ácido y básico	62
4.4. Caracterización del catalizador	64

4.4.1. Determinación de la fase cristalina por difracción de rayos X.....	64
4.4.2. Determinación de los grupos funcionales presentes en el catalizador.....	65
4.4.3. Análisis textural mediante isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno.....	66
4.4.4. Determinación de la fuerza básica del catalizador.....	69
4.5. Transformación catalítica del estragol	72
4.5.1. Diseño experimental e identificación de los productos de la reacción	72
4.5.2. Reutilización del catalizador.....	88
5. Costos	90
6. CONCLUSIONES	91
7. RECOMENDACIONES.....	93
8. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	94
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
BIBLIOGRAFÍA.....	107
ANEXOS.....	120

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. <i>Tagetes lucida</i> . A. Arbusto. B. Flor. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, octubre 20 de 2015.....	24
Figura 2. Estructura química del estragol (1-alil-4-metoxibenceno).	28
Figura 3. Estructura química del <i>trans</i> -anetol (trans-1-metoxi-4-(prop-1-enil)benceno).	30
Figura 4. Estructura de la hidrotalcita, $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2][A^{n-}_{x/n}].mH_2O$. Capas laminares formadas por cationes de magnesio y aluminio, coordinadas octaédricamente a grupos hidroxilo, con la presencia de iones carbonato y moléculas de agua en su espacio interlaminares. Tomado de [64].	32
Figura 5. Posible mecanismo de isomerización del estragol al anetol promovido por MgAl-4HT [67].....	33
Figura 6. Cuatro tipos de isothermas de adsorción de nitrógeno establecidos por la IUPAC [70].	36
Figura 7. Número de publicaciones por año durante el período de 2000-2017. Fuente: <i>Scopus (Elsevier)</i> . Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY ("Tagetes lucida")</i> . Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.....	39
Figura 8. Número de publicaciones, según el país, durante los años 2000-2017. Fuente: <i>Scopus (Elsevier)</i> . Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY ("Tagetes lucida")</i> . Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.....	40
Figura 9. Número de publicaciones por año en el periodo de 2000-2017. Fuente: <i>Scopus (Elsevier)</i> . Ecuación de búsqueda: <i>TITLE-ABS-KEY ("transformation" and "essential oil")</i> . Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.	41
Figura 10. Propagación de <i>Tagetes lucida</i> . A. Siembra del material vegetal. B. Cultivo de <i>T. lucida</i> establecido. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de	

Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, junio 16 de 2015.....	45
Figura 11. Proceso de obtención del aceite esencial. A. Montaje de hidrodestilación asistida por microondas. B. Material vegetal dispuesto en balones de 2 L. C. Aceite esencial aislado en la trampa <i>Dean-Stark</i> . Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, septiembre 21 de 2016.....	46
Figura 12. Cromatógrafo de gases GC AT 6890 <i>Plus</i> (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas AT <i>MSD 5973 Network</i> . Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 6 de julio de 2017.	48
Figura 13. Cromatógrafo de gases AT 6890N (Agilent, Palo Alto, California, EE. UU.) acoplado a un FID. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 6 de julio de 2017.....	50
Figura 14. Síntesis de la hidrotalcita, MgAl-4HT.	51
Figura 15. Montaje de reacción catalítica del AE de <i>T. lucida</i> . Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, junio 11 de 2016.....	55
Figura 16. Cromatograma del AE de <i>Tagetes lucida</i> . Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. MSD (EI, 70). La identificación de los componentes aparece en la Tabla 5	58
Figura 17. Clasificación, por familias, de compuestos presentes en el AE de <i>T. lucida</i> , obtenido por MWHD.	59
Figura 18. A. Espectro de masas (EI, 70 eV) del estragol, componente mayoritario del AE de <i>T. lucida</i> . B. Espectro de masas del patrón de referencia certificado del estragol.	60
Figura 19. Posible ruta de fragmentación del estragol.	61
Figura 20. Porcentaje de conversión (%) del estragol al <i>trans</i> -anetol en medios ácido y básico, usando el AE de <i>T. lucida</i>	63

Figura 21. Difractograma de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT.	64
Figura 22. Espectro infrarrojo de hidrotalcita sintetizada. Equipo de infrarrojo con transformada de Fourier modelo CARY 630F de <i>Agilent Technologies</i>	66
Figura 23. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno, para MgAl-4HT.....	67
Figura 24. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno tipo IVa, según la IUPAC [70].....	67
Figura 25. Distribución del diámetro del poro, para MgAl-4HT.....	68
Figura 26. A. Perfil de desorción a temperatura programada TPD-CO ₂ de MgAl-4HT. B. Deconvolución de los picos con el <i>software</i> Fityk, con sus respectivas temperaturas de desorción.	70
Figura 27. Esquema de la reacción de isomerización del estragol al <i>trans</i> -anetol sobre la hidrotalcita, MgAl-4HT.....	73
Figura 28. Diagrama de Pareto para la isomerización del estragol al <i>trans</i> -anetol, a partir del AE de <i>T. lucida</i> , sobre MgAl-4HT.....	75
Figura 29. Superficie de respuesta estimada para la relación AE: catalizador y temperatura, en el nivel inferior del tiempo.	76
Figura 30. Superficie de respuesta estimada para la relación AE: catalizador y temperatura, en el nivel superior del tiempo.	76
Figura 31. Resultados del diseño experimental 2 ³ y coordenadas experimentales.	78
Figura 32. A. Cromatograma del AE de <i>T. lucida</i> y B. AE de <i>T. lucida</i> después del tratamiento con MgAl-4HT durante 2 h, 200 °C, 1 g AE, 0,2 g de hidrotalcita. Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1:30. GC-FID. ISTD: <i>n</i> -tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en la Tabla 13	79
Figura 33. Estructura química de los principales productos de la reacción del estragol tratado con MgAl-4HT.	82
Figura 34. Espectros de masas (EI, 70 eV) de A. Producto 1 y B. Producto 2 correspondientes a los picos 20 y 21 (Tabla 13), en tiempos de retención de 47,72 y 48,10 respectivamente en la Figura 32-B	84
Figura 35. Estructura propuesta para el Producto 1 y 2.....	85

Figura 36. Porcentajes de conversión y selectividad de la transformación del estragol al <i>trans</i> -anetol empleando estragol puro (patrón certificado) y AE de <i>T. lucida</i>	86
Figura 37. Porcentajes de conversión, con el cambio de la temperatura, en ausencia y presencia de MgAl-4HT.	88
Figura 38. Pruebas de reutilización de MgAl-4HT en la conversión del estragol al <i>trans</i> -anetol a partir del AE de <i>T. lucida</i>	89

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Identificación botánica de <i>Tagetes lucida</i>	25
Tabla 2. Contenido (%) de estragol y <i>trans</i> -anetol en los AE de algunas plantas aromáticas [35, 42, 43-45].	28
Tabla 3. Reactivos, materiales y equipos utilizados.	44
Tabla 4. Parámetros establecidos para el diseño experimental 2 ³ con réplicas en un punto.....	54
Tabla 5. Composición química del AE de <i>T. lucida</i>	59
Tabla 6. Selectividad de formación del <i>trans</i> -anetol durante la isomerización del estragol en medios ácido y básico, usando el AE de <i>T. lucida</i>	63
Tabla 7. Características de los picos de difracción de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT.....	65
Tabla 8. Propiedades texturales para MgAl-4HT.....	69
Tabla 9. Concentración de sitios básicos para MgAl-4HT.	71
Tabla 10. Variables y niveles del diseño experimental 2 ³	73
Tabla 11. Resultados de la transformación catalítica del estragol al <i>trans</i> -anetol para cada tratamiento del diseño.....	74
Tabla 12. Análisis de varianza de la respuesta del diseño experimental.....	75
Tabla 13. Compuestos del AE de <i>T. lucida</i> y productos de su transformación catalítica con MgAl-4HT.....	80
Tabla 14. Selectividad hacia los productos de la transformación del estragol, presente en el AE de <i>T. lucida</i> , después del tratamiento con MgAl-4HT.....	83
Tabla 15. Intensidades relativas (%) de los iones característicos en los espectros de masas de los producto 1 y 2.	83
Tabla 16. Variación en la cantidad de los productos de la reacción con el cambio de la temperatura, con y sin el uso de hidrotalcita.	87

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo A. Curvas de calibración obtenidas por GC-FID en niveles bajo y alto (500-5000 y 10000-45000 ppm, respectivamente) del estragol.	120
Anexo B. Cromatogramas del AE de <i>T. lucida</i> después del tratamiento con: A. HCl y B. KOH durante 2 h, a 150 °C, AE (1 g), HCl (0.5 N, 5 mL) o KOH, (0.5 N, 5 mL). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). <i>Split</i> 1:30. ISTD: <i>n</i> -tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el Anexo C.	121
Anexo C. Productos de la transformación con HCl o KOH del AE de <i>T. lucida</i>	122
Anexo D. Cromatogramas del AE de <i>T. lucida</i> después del tratamiento con: A. CaO y B. CaO/Al ₂ O ₃ durante 2 h, a 150 °C, AE (1 g), catalizador (0,2 g). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). <i>Split</i> 1:30. ISTD: <i>n</i> -tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el Anexo E.	123
Anexo E. Productos de la transformación con CaO o CaO/Al ₂ O ₃ del AE de <i>T. lucida</i>	124
Anexo F. Difractograma encontrado en la literatura para la hidrotalcita MgAl-3HT [93]......	126
Anexo G. Curva de calibración obtenida por GC-FID (200-40000 ppm) del <i>trans</i> -anetol.....	126
Anexo H. Cromatogramas de: A. Patrón de estragol y B. Patrón de estragol después del tratamiento con MgAl-4HT durante 2 h, a 200 °C, AE (1 g), hidrotalcita (0,2 g). Columna DB-5MS (60 m). <i>Split</i> 1: 30. GC-FID. ISTD: <i>n</i> -tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el Anexo I.	127
Anexo I. Productos de la transformación del estragol puro (patrón certificado) durante el tratamiento con MgAl-4HT.	128
Anexo J. Selectividad de los productos de la reacción del estragol puro después del tratamiento con MgAl-4HT.	129
Anexo K. Espectro de masas (EI, 70 eV) del <i>cis</i> -anetol.....	129

Anexo L. Espectro de masas (EI, 70 eV) del <i>p</i> -anisaldehído.....	130
Anexo M. Espectro de masas (EI, 70 eV) del <i>trans</i> -anetol.....	130
Anexo N. Espectro de masas (EI, 70 eV) del <i>p</i> -Acetanisol.	131
Anexo O. Espectro de masas (EI, 70 eV) del <i>p</i> -acetanilanol.....	131
Anexo P. Cromatograma del tratamiento de <i>trans</i> -anetol sobre MgAl-4HT durante 2 h, a 200 °C, AE (1 g), catalizador (0,2 g). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). <i>Split</i> 1:30. ISTD: <i>n</i> -tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el Anexo Q	132
Anexo Q. Productos de la transformación del <i>trans</i> -anetol, tratado con MgAl-4HT.	133
Anexo R. Selectividad de la transformación del <i>trans</i> -anetol, tratado con MgAl-4HT.....	134
Anexo S. A. Difractograma de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT, después del tratamiento con el AE de <i>T. lucida</i> , a 200 °C, durante 2 h, relación AE: catalizador (5:1). B. Características de los picos de difracción de la hidrotalcita tratada.....	135

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite(s) esencial(es)
Anova	<i>Analysis of Variance</i> (Análisis de la varianza)
ATR	<i>Attenuated Total Reflection</i> (Reflectancia total atenuada)
BET	Brunauer, Emmett y Teller
BJH	Barret-Joyner-Halenda
CENIVAM	Centro Nacional de Investigación para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales
D.I.	Diámetro interno de la columna cromatográfica
d_f	Grosor de la fase estacionaria (μm)
DRX	Difracción de rayos X
EI	<i>Electron Ionization</i> (Ionización con electrones)
IRL	Índices de retención lineales
ISTD	<i>Internal Standard</i> (Patrón interno)
LDH	<i>Layered Double Hydroxide</i> (Hidróxido doble laminar)
MWHD	<i>Microwave-Assisted Hydrodistillation</i> (Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas)
m/z	Relación masa/carga
GC-FID	<i>Gas Chromatography-Flame Ionization Detector</i> (Cromatografía de gases con detector de ionización en llama)
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
IR	Infrarrojo. Referente a espectroscopía infrarroja
TPD-CO₂	<i>Temperature Programmed Desorption of Carbon Dioxide</i> (Desorción de CO ₂ a temperatura programada)

RESUMEN

TÍTULO: ISOMERIZACIÓN CATALÍTICA DEL ESTRAGOL AL ANETOL A PARTIR DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida**

AUTOR: Liliana Rocío Bernal Rueda **

PALABRAS CLAVE: *Tagetes lucida*, aceite esencial, estragol, *trans*-anetol, hidrotalcita, MWHD, GC-MS, GC-FID, isomerización catalítica.

DESCRIPCIÓN

trans-Anetol es un metabolito secundario producido por plantas como *Pimpinella anisum*, se utiliza como aditivo saborizante en bebidas alcohólicas, en la formulación de pastas de dientes y es un precursor natural de moléculas bioactivas. La demanda mundial de *trans*-anetol se aproxima a 5000 toneladas por año, por lo que existe la necesidad de obtenerlo a través de síntesis, ya que fuentes naturales no son suficientes. Un método de síntesis sencillo es la isomerización del estragol, compuesto que se encuentra presente en el aceite esencial de *Tagetes lucida*, en cantidad mayor de 96%.

Se realizó la transformación catalítica del AE de *T. lucida* (COL. N° 512074) para obtener *trans*-anetol empleando MgAl-4HT. El AE se obtuvo por MWHD en un equipo tipo *Clevenger* con reservorio de destilación *Dean-Stark*. La síntesis del catalizador se realizó por el método de coprecipitación y se caracterizó por DRX, FTIR, BET y TPD-CO₂. La cuantificación de los productos se realizó en un equipo *Agilent Technologies* AT 6890N por GC-FID. La separación de los compuestos se efectuó en una columna capilar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano) (DB-5MS); se empleó *n*-tetradecano como estándar interno. La identificación de los productos, se realizó en un equipo GC AT 6890 con detector selectivo de masas AT MSD 5973 (EI, 70 eV). Se utilizaron columnas DB-5 y DB-WAX (60m x 0.25mm, D.I. x 0.25 µm, d_i). Los compuestos se identificaron por comparación de sus espectros de masas con los de las bases de datos ADAMS, NIST y Wiley y sus índices de retención lineales. La transformación del AE de *T. lucida* presentó una conversión de 98% y una selectividad de 87%, a 200 °C, relación AE:catalizador, 5:1 durante 2 h. Los productos mayoritarios de la reacción fueron *trans*-anetol (770 ± 14 mg/g AE), *cis*-anetol (124 ± 8 mg/g AE) y *p*-anisaldehído (1,8 ± 0,3 mg/g AE).

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directora: Elena E. Stashenko. Co-directores: Jairo René Martínez y Yuri Córdoba Campo.

ABSTRACT

TITLE: CATALYTIC ISOMERIZATION OF ESTRAGOL TO ANETOL FROM THE ESSENTIAL OIL OF *Tagetes lucida**

AUTHOR: Liliana Rocío Bernal Rueda**

KEYWORDS: *Tagetes lucida*, essential oil, estragole, *trans*-anethole, hydrotalcite, MWHD, GC-MS, GC-FID, catalytic isomerization.

DESCRIPTION

trans-Anethole is a secondary metabolite produced by plants such as *Pimpinella anisum*, is used as a flavoring additive in alcoholic beverages, in the formulation of toothpaste and it is a natural precursor of bioactive molecule. The world demand for *trans*-anethole is approaching around 5000 ton per year, which generates the need to obtain it through synthesis, since natural sources aren't enough. A simple synthesis method is by means of the isomerization of the estragole, compound that is present in the essential oil (EO) of *Tagetes lucida* in 96%.

The catalytic transformation of *Tagetes lucida* EO (COL. N ° 512074) was performed to obtain *trans*-anethole using MgAl-4HT. The EO was obtained by MWHD in a Clevenger-type equipment with a Dean-Stark distillation reservoir. The catalyst was synthesized by the coprecipitation method and it was characterized by DRX, FTIR, BET and TPD-CO₂. The quantification of the products was done in an Agilent Technologies AT 6890N equipment by GC-FID. The separation of the compounds was carried out in a capillary column of 5%-phenyl-poly (methylsiloxane) (DB-5MS) and *n*-tetradecane was used as internal standard. The identification of the products was done in a GC AT 6890 equipment with selective mass detector AT MSD 5973 (EI, 70 eV). DB-5 and DB-WAX columns (60m x 0.25mm, D.I. x 0.25 µm, d_f) were used. The compounds were identified by comparison of their mass spectra with those of the ADAMS, NIST and Wiley databases, and their linear retention indexes. The transformation of *Tagetes lucida* EO showed a conversion of 98% and selectivity of 87%, at 200 °C, ratio EO: catalyst, 5:1 for 2 h. The main products of the reaction were *trans*-anethole (770 ± 14 mg / g EO), *cis*-anethole (124 ± 8 mg / g EO) and *p*-anisaldehyde (1.8 ± 0.3 mg / g EO).

* Degree work

** Science Faculty. Chemistry School. Director: Elena E. Stashenko. Co-directors: Jairo René Martínez and Yuri Córdoba Campo.

INTRODUCCIÓN

Colombia posee una extraordinaria riqueza de especies vegetales, compuesta por una gran variedad de plantas aromáticas, fuentes de aceites esenciales (AE). Los AE son productos de alto valor agregado; están constituidos por compuestos bioactivos con cualidades sensoriales, terapéuticas y curativas, y se utilizan en las industrias cosmética, farmacéutica, de sabores y fragancias, de alimentos y de productos de aseo [1]. Además, algunos constituyentes de los AE se emplean como precursores en síntesis orgánica fina [2]. Sin embargo, estos recursos no se han aprovechado completamente para contribuir al desarrollo de nuevos mercados en el país. El estudio de estas especies promisorias representa una gran oportunidad para impulsar, fortalecer y liderar la industria de los productos naturales [1].

Los componentes de los AE se pueden transformar por métodos químicos, catalíticos o enzimáticos, lo que permite potencializar algunas de sus propiedades como aromatizantes, saborizantes o agentes farmacológicos [2].

El AE de *Tagetes lucida* (Familia Asteraceae) hace parte de las especies denominadas “anises” y es interesante por su intenso aroma y sabor; presenta en su composición al estragol (1-alil-4-metoxibenceno) como componente mayoritario (95-97%) [3], que es un isómero estructural del *trans*-anetol [*trans*-1-metoxi-4-(prop-1-enil)benceno], compuesto de alto valor por su amplio uso como saborizante en alimentos y bebidas alcohólicas [4], y en la formulación de productos de higiene bucal [5]. El *trans*-anetol es un componente aromático que se encuentra presente en los AE de *Foeniculum vulgare* (50-60%), *Pimpinella anisum* (80-90%) e *Illicium verum* (80-90%), todas de la familia Umbelífera [6]. El *trans*-anetol posee diversas propiedades biológicas, entre ellas figuran actividades antioxidante [7], antimicrobiana [8], anticancerígena [9], antiinflamatoria [10],

insecticida [11] y anestésica [12], y es un precursor natural de los neolignanos, compuestos bioactivos que se encuentran en la naturaleza y que son atractivos por sus propiedades farmacológicas, del hidrodietilestibestrol (agente estrogénico) [13] y del anetol tritona (inhibidor del adenocarcinoma) [14].

Actualmente, la demanda de *trans*-anetol a nivel mundial se encuentra alrededor de 5000 toneladas por año [6], y su obtención, a partir de fuentes naturales, no es suficiente para satisfacer la demanda tan alta, lo que genera la necesidad de obtenerlo a través de síntesis. El *trans*-anetol se obtiene sintéticamente a partir del estragol empleando diferentes precursores y bases, por ejemplo, KOH. Los métodos sintéticos tienen algunas desventajas, porque llegan a ser procesos dispendiosos, ya que se emplean temperaturas altas (>200 °C), además existe una baja conversión al *trans*-anetol, que implica una separación y disposición final de los residuos de la reacción, lo que lo hace poco favorable con el medio ambiente. Otro aspecto negativo de este proceso es la estereoselectividad baja, porque forman tanto *trans*-anetol como *cis*-anetol. El *cis*-anetol no es interesante para la industria, ya que presenta toxicidad alta, olor y sabor desagradables [15].

El estragol es un precursor para la síntesis del *trans*-anetol; sin embargo, el estragol y sus metabolitos son genotóxicos y pueden inducir la formación de tumores hepáticos, lo que se mostró en experimentos con animales [16]; su empleo está limitado en alimentos a una concentración límite recomendada de 0.05 mg/kg [17].

En la actualidad, un método de síntesis sencillo para obtener el *trans*-anetol es a través de la isomerización del estragol, que involucra un solo paso de la reacción, al cambiar la posición del doble enlace en la cadena alifática. El aceite esencial de *Tagetes lucida* es una fuente de este precursor. Es así como se plantea darle un

uso alternativo a este AE, al realizar una conversión catalítica de su componente mayoritario, estragol para obtener *trans*-anetol, el compuesto con alto valor.

Realizar esta conversión con el uso de un catalizador que implique una sencilla manipulación y recuperación con alto rendimiento y selectividad, representa una alternativa sintética altamente apreciable, desde el punto de vista industrial y ambiental. De esta manera, se contribuirá al estudio y aprovechamiento de la biodiversidad del país, al obtener *trans*-anetol a partir de una fuente natural, una planta aromática de rápido crecimiento, lo que eventualmente permitirá suplir la demanda actual del *trans*-anetol.

El objetivo principal de este trabajo fue el estudio de las mejores condiciones para la isomerización del estragol al *trans*-anetol a partir del aceite esencial de *Tagetes lucida*, con el uso de la hidrotalcita MgAl-4HT, como catalizador sólido de carácter básico. Se determinó que en condiciones de 200 °C, relación AE: catalizador (5:1) y 2 h de reacción, se observa la mayor actividad catalítica para esta reacción, y se obtienen altos valores de conversión (98%) y selectividad (87%), sin necesidad del uso de solvente.

Para la identificación de los productos de la transformación catalítica del estragol al *trans*-anetol a partir del AE de *T. lucida* se empleó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y su cuantificación se realizó con cromatografía de gases acoplada a un detector FID (GC-FID).

Trabajos previos desarrollados en el grupo de investigación, sobre la transformación catalítica de los componentes de AE, se realizaron en *Copaifera officinalis* usando Zeolita ZSM-5 [18], *Pimpinella anisum* con Zeolita Y [19], y la transformación del *trans*-anetol al *cis*-anetol se estudió sobre Zeolitas HY y radiación UV-VIS [20].

Este trabajo forma parte del Macro-Proyecto Unión Temporal Biored-CO-CENIVAM y de la línea de investigación de transformación de AE y sus componentes mayoritarios, que se realizó en el Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL, de la Universidad Industrial de Santander.

Resultados parciales de este trabajo fueron divulgados, en modalidad de póster, en diferentes eventos nacionales e internacionales, a saber: Primer Encuentro Científico de la Facultad de Ciencias UIS (2015, Bucaramanga, Colombia), IV Congreso Latinoamericano de Plantas Medicinales (COLAPLAMED, 2016, Barranquilla, Colombia) y VIII Simposio Brasileiro de Aceites Esenciales (SBOE, 2015, Río de Janeiro, Brasil).

1. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

1.1. *Tagetes lucida*

Tagetes lucida es una hierba aromática, perenne y erecta, que pertenece a la familia Asteraceae. Esta especie es originaria de Guatemala, México y Honduras, y se conoce popularmente, en el idioma español, como pericón, hierba anís, estragón de invierno y hierba de Santa María [21]. Está distribuida naturalmente en Centroamérica y Suramérica en alturas entre 1000 y 2000 m y se cultiva, principalmente, en lugares templados [21], crece entre 46-76 cm de alto y 48 cm de propagación. Contiene, varios o muchos tallos partiendo de la base, más o menos ramificados. Tiene hojas pequeñas, verdes, lineares a oblongas, muy aromáticas y flores amarillas. Estas últimas son bisexuales y son polinizadas por insectos (Véase **Figura 1**).

Figura 1. *Tagetes lucida*. **A.** Arbusto. **B.** Flor. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, octubre 20 de 2015.



Esta planta se utiliza ampliamente en la medicina tradicional desde el siglo XVI, para el tratamiento de diversas enfermedades. La infusión de hojas y de flores se usa para combatir diarrea, reumatismo, asma y resfriado, contra los dolores estomacales, náuseas, vómitos, dolores menstruales, disentería y malaria [22]. En México, la planta se recomienda para tratar problemas emocionales, tales como ansiedad, irritabilidad y depresión [23]. Además, se le atribuyen propiedades digestivas, diuréticas, febrífugas, hipotensoras, narcóticas, anestésicas, sedantes y estimulantes [24]. La planta se usa como condimento (sabor a anís), insecticida y planta ornamental. La **Tabla 1** muestra la identificación botánica de *T. lucida* [25].

Tabla 1. Identificación botánica de *Tagetes lucida*.

Nombre científico	<i>Tagetes lucida</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Tagetes</i>
Especie	<i>lucida</i>

El extracto metanólico de *T. lucida* actúa sobre bacterias y hongos fitopatógenos [26], posee propiedades antidepresivas en ratas [27] y tuvo un efecto más significativo en la captación de radicales libres, en comparación con α -tocoferol y flavonoides estándar, en un ensayo DPPH° [28]. El AE de *T. lucida* es un potente repelente contra *Sitophilus zeamais*, a dosis entre 0.063 y 0.503 mL/cm² [29]. Por otra parte, la administración oral del extracto metanólico de *T. lucida* en ratas macho *Wistar* mostró efectos en la calidad espermática y estructura testicular [30].

La composición química del AE de *T. lucida* depende de su distribución geográfica. Se determinó que los principales componentes del aceite son metil-eugenol (80%) y estragol (12%), en México [31]; estragol (45%) y metil-eugenol (20%), en Hungría [32]; anetol (23,8%), eugenol (24,3%) y estragol (33,9%), en Guatemala [33]; estragol (96.8%), en Cuba [34] y estragol (95-97%), en Costa Rica [3]. En Colombia, el componente mayoritario del AE de esta planta es estragol (95,7%) [35]. En México, a partir de un extracto metanólico de *T. lucida*, se aislaron cuatro compuestos cumarínicos [36]; de la raíz, se aislaron tres bitienilos y un α -tertienil [37]. En Guatemala, se ha encontrado un nuevo flavonoide glicosídico y dos nuevos ácidos fenólicos, aislados de las hojas secas [28]. Los flavonoides en las partes aéreas de la planta se han identificado como patuletina, isorhamnetina, quercetagetina 3-O-arabinosil galactósido e isorhamnetina 7-O-glucósido [37]. Se han reportado en *T. lucida* pequeñas cantidades de monoterpenos, β -mirceno (0.6-1.8%), (*E*)- β -ocimeno (0,2%) y linalol (0,2-0,3%) [3]. En el aceite de las flores, se identificaron dos compuestos minoritarios que resultaron ser bitienilos [3].

1.2. GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

1.2.1. Definición. Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias orgánicas de bajo y mediano peso molecular (<350 Da), que constituyen la fracción volátil de metabolitos secundarios, que se sintetizan por las plantas. Los metabolitos secundarios juegan un papel primordial en la protección de las plantas, ya que actúan como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirales y antialimentarios. Por estas propiedades, los aceites se han incorporado a diferentes productos en las industrias farmacéutica, agronómica, sanitaria, cosmética, alimentos y perfumes [1].

Los AE son rara vez coloreados, son fluidos a temperatura ambiente, solubles en lípidos y en disolventes orgánicos. Poseen una densidad generalmente más baja que la del agua. Se sintetizan en todas las partes de la planta, es decir, brotes, flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutas, raíces, madera o corteza, y se almacenan en las células secretoras, cavidades, canales, las células epidérmicas o tricomas glandulares [38].

1.2.2. Composición química de los aceites esenciales. Los componentes mayoritarios de los AE forman parte de un grupo de compuestos llamados terpenos. Los terpenos son hidrocarburos que están constituidos por unidades de isopreno, con fórmula molecular C_5H_8 y nombre IUPAC 2-metilbuta-1,3-dieno; así, un terpeno está constituido por un múltiplo de cinco átomos de carbono [39]. Los terpenos se clasifican en grupos basados en el número de unidades de isopreno presentes, por ejemplo, los monoterpenos, $C_{10}H_{16}$, y sesquiterpenos, $C_{15}H_{24}$ [40]. Los derivados oxigenados de estos compuestos se denominan terpenoides, entre ellos, se encuentran alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, ésteres y lactonas.

Un grupo menos frecuente en los aceites esenciales son los fenilpropanoides [41], que son compuestos aromáticos con una estructura basada en el esqueleto del fenilpropano (C_6-C_3) o en el esqueleto del metilbenceno (C_6-C_1). Los fenilpropanoides conforman una clase de compuestos naturales entre los que se encuentran éteres fenólicos, cinnamamidas y lignanos [41].

Compuestos como estragol y su isómero de posición *trans*-anetol hacen parte de los fenilpropanoides. El estragol y el *trans*-anetol son compuestos de la familia de los alilbencenos y se diferencian únicamente en la posición del doble enlace en la cadena alifática. Se encuentran presentes en diversas plantas aromáticas (Véase **Tabla 2**).

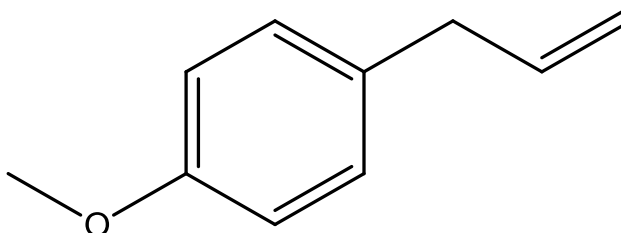
Tabla 2. Contenido (%) de estragol y *trans*-anetol en los AE de algunas plantas aromáticas [35, 42, 43-45].

Especie		Cantidad relativa (%)		Referencia
Nombre científico	Nombre común	Estragol	<i>trans</i> -Anetol	
<i>Artemisia dracunculus</i>	Estragón francés	75	1.5	[42]
<i>Croton zehntneri</i>	Canela silvestre	84.7	-	[43]
<i>Foeniculum vulgare</i>	Hinojo	5.8	73.3	[35]
<i>Illicium verum</i>	Anís estrellado	4.1	82.5	[35]
<i>Myrrhis odorata</i>	Perifollo oloroso	1.7	85.5	[44]
<i>Ocimum basilicum</i>	Albahaca	56.6	0.74	[44]
<i>Pimpinella anisum</i>	Anís	2.0	93.7	[45]
<i>Tagetes filifolia</i>	Anís silvestre	61.3	36.6	[44]
<i>T. lucida</i>	Estragón de invierno	93.8	-	[35]

1.3. ESTRAGOL

El estragol se emplea como saborizante en comida tradicional y bebidas de anís; también, se consume en infusiones del hinojo para prevenir y aliviar flatulencias y espasmos [46] y se usa como un repelente natural de insectos [47]. La estructura química del estragol se muestra en la **Figura 2**.

Figura 2. Estructura química del estragol (1-alil-4-metoxibenceno).



El estragol mostró actividad antibacteriana contra *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, causante de la enfermedad bacteriana en el kiwi, con una concentración mínima inhibitoria de 1250 ppm [48]. El estragol presenta una

importante actividad anti-toxoplasmática [49], antimicrobiana [43], insecticida [47,50], antiinflamatoria [51] y antifúngica [52].

A pesar de esto, el estragol se considera como una sustancia genotóxica y cancerígena; estudios en roedores han mostrado su capacidad para generar tumores hepáticos, cuando se encuentra en concentraciones altas [53,54]. La razón de su actividad hepatotóxica se debe a su biotransformación en derivados como 1'-hidroxiestragol y 1'-hidroxi-2',3'-dehidroestragol [55]. La sulfonación de 1'-hidroxiestragol da lugar al metabolito inestable, 1'-sulfoxiestragol, que se descompone para generar un carbocatión reactivo capaz de unirse covalentemente al ADN, lo que conduce a la formación de aductos, responsables del efecto cancerígeno [56-58]. Además de ser metabolizado a productos genotóxicos, estragol es una genotoxina de acción directa débil que forma aductos con ADN [59]. Estudios del metabolismo de estragol en seres humanos señalan que es similar al metabolismo en roedores [46].

1.4. *trans*-ANETOL

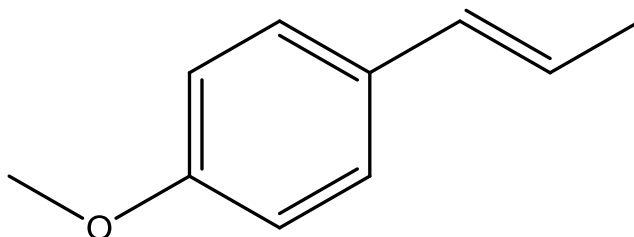
El 80% de la producción de *trans*-anetol se emplea en las pastas de dientes, enjuagues bucales y jabón de tocador [6]. También, como saborizante y aromatizante en alimentos como helados, tortas, dulces, bebidas, licores y gomas de mascar [6].

El *trans*-anetol posee diversas propiedades biológicas, entre ellas, figuran actividades antioxidante [7], antimicrobiana [8], anticancerígena [9], antiinflamatoria [10], insecticida [11] y anestésica [12].

El *trans*-anetol contiene un anillo aromático activado por un grupo electrodonador (MeO-) y una parte propenilica que lo hace partícipe de diferentes reacciones

típicas de alquenos (Véase **Figura 3**), por ejemplo, la cicloadición tipo Diels-Alder [13, pag. 257]. Este compuesto es un precursor natural de moléculas bioactivas, como los neolignanós, compuestos que se encuentran ampliamente en la naturaleza y que son atractivos por sus propiedades farmacológicas, del hidrodietilestibestrol (agente estrogénico) [13] y del anetol tritona (inhibidor del adenocarcinoma) [14].

Figura 3. Estructura química del trans-anetol (trans-1-metoxi-4-(prop-1-enil)benceno).



1.5. TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

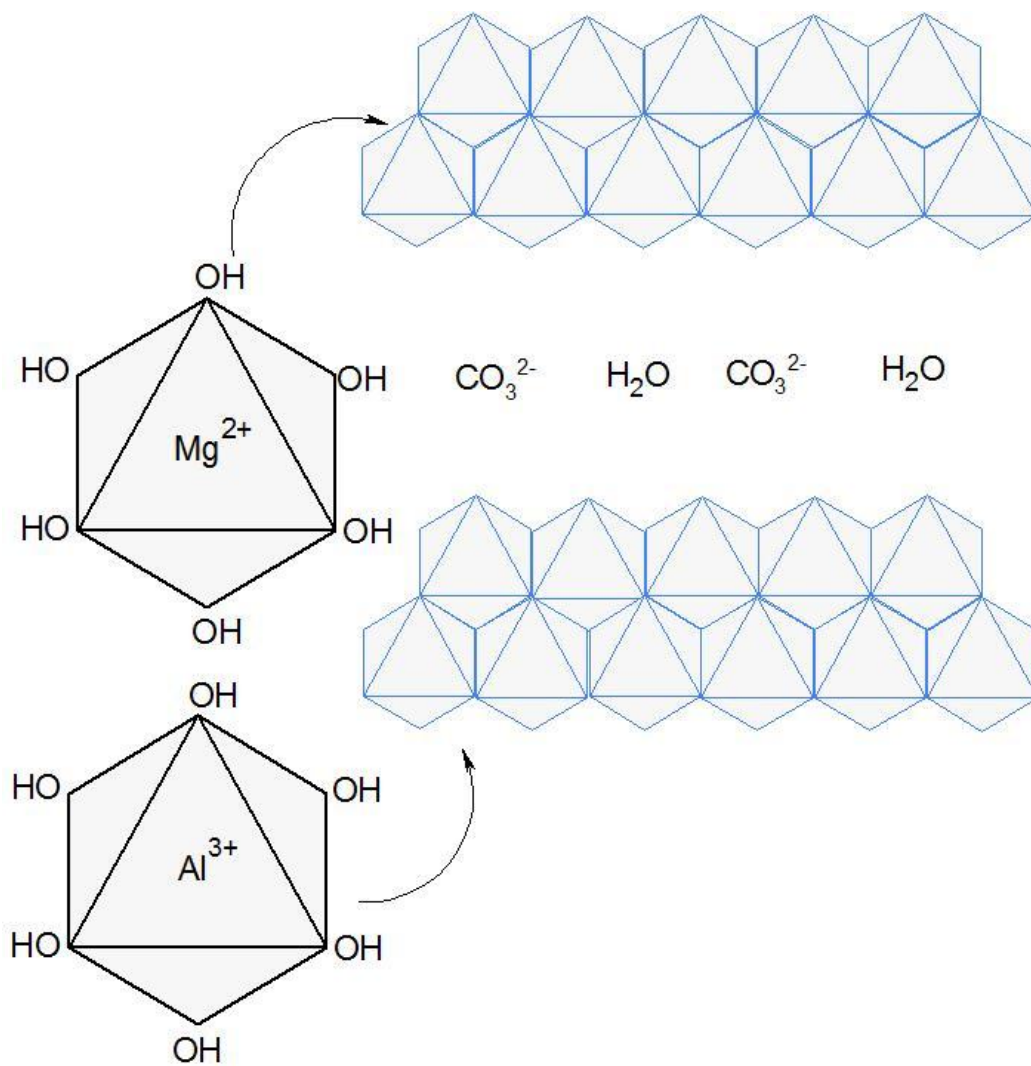
Un área de investigación en los AE bastante atractiva es la transformación de sus componentes mayoritarios a compuestos nuevos con otras propiedades, para su aplicación en las industrias cosmética, farmacéutica y de productos de aseo [1]. Una alternativa de síntesis “limpia” para obtener diferentes productos, es el uso de catalizadores. Un catalizador es una sustancia que altera la velocidad de una reacción, pero, sin alterar su identidad química durante todo el proceso [60]. El modo de acción de un catalizador es cambiar el mecanismo de una reacción para acelerarla, bajando su energía de activación. Los sistemas catalíticos pueden operar en fase homogénea, cuando el catalizador está disuelto con los reactivos, o en fase heterogénea, cuando los reactivos y el catalizador forman fases diferentes. En un proceso catalítico heterogéneo, los productos de reacción y el catalizador se

pueden separar fácilmente, y si el catalizador mantiene su identidad química, se puede reutilizar varias veces [60]. Entre los catalizadores sólidos utilizados para la síntesis de fragancias, se han reportado las zeolitas y las hidrotalcitas [61].

1.5.1. Hidrotalcitas. Las arcillas son materiales naturales abundantes en la superficie terrestre, y han sido estudiadas para aplicaciones en catálisis ambiental, química fina y síntesis orgánica [62]. Son arcillas aniónicas que se encuentran en la naturaleza y es posible sintetizarlas de una manera económica y sencilla [62, 63]. Son materiales laminares de estructura semejante al hidróxido de magnesio (brucita), en los cuales se han sustituido parte de los cationes divalentes de Mg^{2+} , que se encuentran coordinados octaédricamente, a seis grupos hidroxilo (OH^-), por cationes trivalentes como el Al^{3+} , lo que genera un exceso de carga que debe ser compensada por la incorporación de aniones entre dos capas, para neutralizar la carga positiva; los aniones suelen ser carbonatos (CO_3^{2-}), pero también pueden ser nitratos (NO_3^-) o cloruros (Cl^-); además, se puede incorporar moléculas de agua entre las capas, a través de puentes de hidrógeno con los grupos OH^- . Las capas se apilan una sobre la otra y se mantienen unidas por interacciones débiles entre los hidrógenos (Véase Figura 4) [64].

Cuando se trata de una hidrotalcita sintética, se la denomina hidróxido doble laminar (LDH, *Layered Double Hydroxide*). La variedad de las familias de materiales tipo hidrotalcita que se pueden sintetizar, es enorme. Al cambiar la naturaleza del catión y del anión interlaminar, se modifican propiedades como la basicidad de la hidrotalcita, la distancia entre cationes dentro de las láminas y el espaciado basal, y se preparan materiales con propiedades inusuales. Su composición general se representa por la fórmula $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2][A^{n-}_{x/n}]mH_2O$, en donde M^{2+} y M^{3+} son los cationes divalente y trivalente, respectivamente, A^{n-} es el anión intercambiable, m es la cantidad de agua presente en la región interlaminar y x es la relación $M^{3+}/(M^{2+} + M^{3+})$ [65].

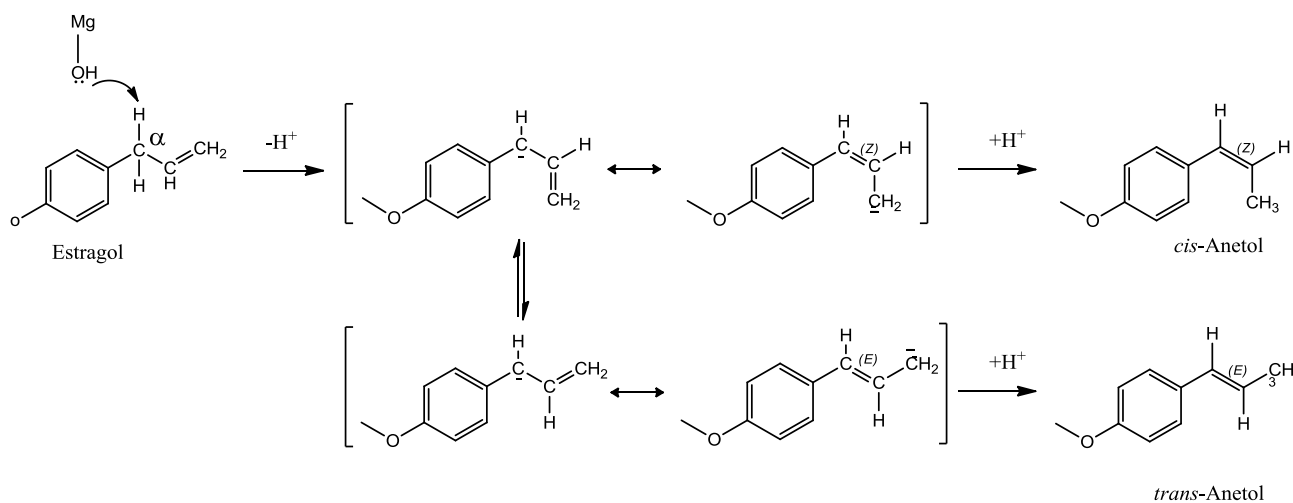
Figura 4. Estructura de la hidrotalcita, $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2][A^{n-}_{x/n}].mH_2O$. Capas laminares formadas por cationes de magnesio y aluminio, coordinadas octaédricamente a grupos hidroxilo, con la presencia de iones carbonato y moléculas de agua en su espacio interlaminar. Tomado de [64].



El OH^- presente en la estructura de la hidrotalcita, puede actuar como el sitio activo en la superficie, que funciona como una base tipo Brønsted, capaz de abstraer un hidrógeno de un carbono α de la molécula del estragol. En la **Figura 5**, se describe un posible mecanismo para la isomerización del estragol al anetol

catalizada por el grupo OH⁻ de la hidrotalcita. La abstracción del hidrógeno lleva a la formación de un carbanión intermediario que sufre interconversión en su ordenamiento espacial dando las formas *trans*- y *cis*-, que se estabilizan al deslocalizar la carga en el sistema alílico; y así la base es capaz de poner el hidrógeno ahora en la nueva posición alílica para dar formación a *trans*- y *cis*- anetol [66].

Figura 5. Posible mecanismo de isomerización del estragol al anetol promovido por MgAl-4HT [67].



1.6. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DEL CATALIZADOR

1.6.1. Difracción de rayos X. La técnica de difracción de rayos X (DRX) suministra información sobre los compuestos cristalinos presentes en un sólido. Los compuestos cristalinos se forman por moléculas que se ordenan en celdas unitarias, que, a su vez, se empaquetan en una disposición periódica en tres dimensiones. La técnica consiste en hacer incidir un haz de rayos X sobre el sólido sujeto a estudio. La interacción entre la radiación X y los electrones de la materia que atraviesa dan lugar a la difracción, que se produce únicamente en algunas direcciones. El ángulo en el cual se difractan estos rayos se puede predecir por medio de la Ley de Bragg (Véase Ecuación 1). La intensidad de la difracción de los rayos X en función del ángulo de difracción, constituye un patrón de difracción, que se usa para identificar las fases cristalinas presentes en el sólido [68].

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

Ecuación 1

1.6.2. Espectroscopía de Infrarrojo. La espectroscopía de infrarrojo (IR) es una técnica que se basa en la excitación de los modos de vibración de los enlaces entre los átomos al absorber radiación infrarroja, que se presenta solo si la molécula cambia su momento dipolar eléctrico. Un cambio en el momento dipolar de la molécula implica una variación de la longitud de los enlaces (movimientos de estiramiento) o un cambio en su movimiento fuera de su plano actual (movimientos de flexión). Cada compuesto, según las características de sus enlaces, absorberá radiación de una o varias longitudes de onda específicas por lo que podrá ser identificado [69].

1.6.3. Fisisorción de nitrógeno, según el método Brunauer, Emmett y Teller.

El método estándar que se usa en la caracterización de catalizadores sólidos, fue desarrollado por Brunauer, Emmett y Teller (BET). Este método se basa en un modelo de fisisorción que tiene en cuenta la formación de multicapas y, con base en este, se deriva la Ecuación 2, que permite determinar el volumen de la monocapa del adsorbato (V_m) y luego el área superficial del sólido (A_s).

$$A_s = \frac{V_m}{22414} N_A \sigma \quad \text{Ecuación 2}$$

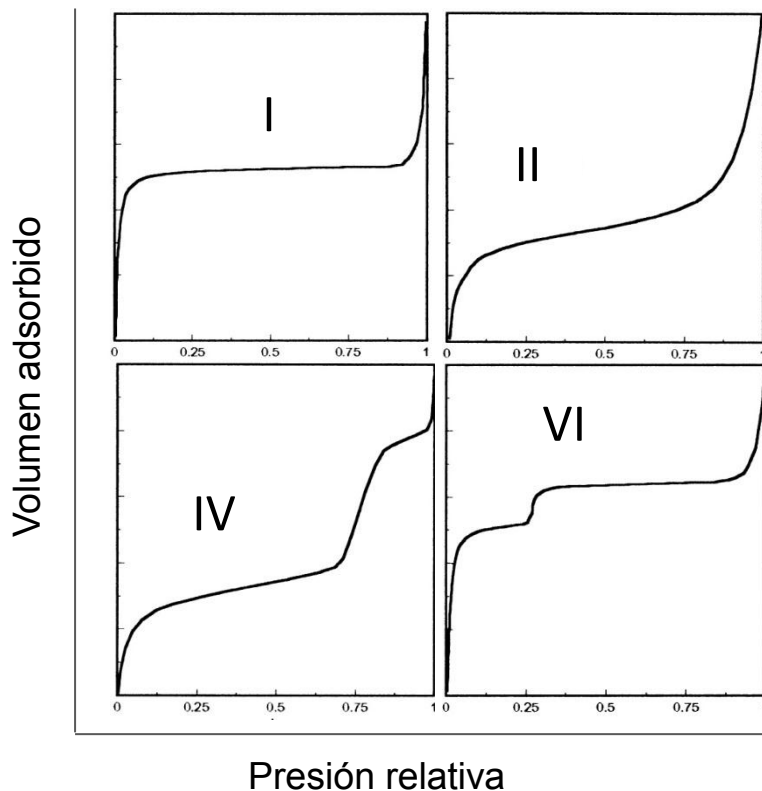
Dónde:

N_A : es el número de Avogadro

σ : es el área cubierta por una molécula de nitrógeno (N_2). El valor para σ , generalmente aceptado, es de $0,162 \text{ nm}^2$ [68].

La adsorción de nitrógeno a temperatura de ebullición (77 K) es una técnica utilizada para determinar el área superficial de un catalizador e identificar su textura porosa. La interacción establecida por fuerzas intermoleculares, tipo *van der Waals*, de un gas con los átomos de la superficie de un sólido describe el fenómeno de fisisorción [70]. A la relación (temperatura constante), entre el volumen de gas adsorbido, contra su presión relativa se le denomina isoterma de adsorción. Esta isoterma permite calcular el área superficial del sólido, el tamaño de poro y su distribución. Las isotermas experimentales pueden clasificarse según seis tipos, de acuerdo con la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada), pero sólo cuatro se encuentran usualmente para la caracterización de catalizadores (Véase **Figura 6**) [70].

Figura 6. Cuatro tipos de isothermas de adsorción de nitrógeno establecidos por la IUPAC [70].



1.6.4. Desorción de CO₂ a temperatura programada. La desorción de CO₂ a temperatura programada (TPD) es un método para evaluar las propiedades básicas de las superficies sólidas y está basado en la adsorción química del CO₂ sobre los centros activos de la superficie del sólido y su posterior desorción mediante un aumento progresivo de la temperatura [71]. La temperatura de desorción muestra la fuerza de la interacción que hay entre ellos, y da una medida de la fuerza básica de estos sitios catalíticos. Una vez desorbido el CO₂ pasa a un gas transportador y se analiza en un detector apropiado como el de conductividad térmica [72]. El número de sitios básicos se obtiene del área del pico de desorción. Por lo tanto, la técnica TPD proporciona un método simple para determinar tanto la fuerza, como el número de sitios básicos [66].

1.7. MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

1.7.1. Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas. En la hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD, por sus siglas en inglés), se emplea un balón de fondo redondo de 2 L de capacidad, en el cual se introduce el material vegetal, previamente molido, junto con una cantidad conocida de agua. El balón se introduce en un horno de microondas convencional, el cual tiene un orificio lateral, por donde se conecta al sistema de refrigeración y recuperación de los volátiles. Se emplea un equipo tipo *Clevenger* con reservorio de destilación *Dean-Stark* [73]. El horno se opera, generalmente, por 15 min, con una potencia de 600 W, proceso que se repite tres veces con el fin de mejorar el rendimiento de extracción. Cuando el sistema se somete a la radiación de microondas, el agua hierve y los vapores producidos atraviesan las estructuras celulares de la planta y permiten la vaporización de los compuestos volátiles contenidos en ellas. La radiación de microondas permite un calentamiento más efectivo y selectivo, que logra acortar el tiempo de destilación de horas a minutos [74]. Por último, el aceite esencial se decanta, *i.e.*, se separa del hidrolato, y se seca con sulfato de sodio anhidro.

1.8. TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS

1.8.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La cromatografía de gases es una técnica de separación para compuestos que tienen alta o mediana volatilidad, baja polaridad, son termoestables y tienen bajo peso molecular [75]. El principio de separación de esta técnica se basa en una distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases: una, estacionaria, que puede ser sólida o líquida, y otra, móvil, que es gas. Las diferentes afinidades que tienen los componentes por las dos fases hacen que ocurra su separación.

A esta técnica, se encuentra acoplado un espectrómetro de masas, que funciona también como un detector cromatográfico; en el las moléculas neutras se convierten en iones, que se separan según su relación masa/carga. El acoplamiento de estas dos técnicas (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, GC-MS) hace posible, en un solo paso, separar e identificar los analitos en una mezcla [75].

1.8.2. Cromatografía de gases con detector de ionización en llama. La cromatografía de gases con detector de ionización en llama (GC-FID, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica muy común para cuantificar los compuestos presentes en una mezcla [76]. Este sistema trabaja como un detector *cuasi*-universal que emplea una llama de hidrógeno + aire, por la cual se hace pasar el eluyente de la columna; las moléculas orgánicas presentes se pirolizan y producen iones, los cuales se recogen, por medio de una diferencia de potencial de unos pocos cientos de voltios, entre la llama y un electrodo colector que produce una señal eléctrica, que se amplifica y pasa a través de un convertidor análogo-digital y un sistema de adquisición de datos. La cantidad de iones que se producen en la llama, es proporcional al número de átomos de carbono en la molécula del eluyente [76].

2. CIENCIOMETRÍA

El análisis cuantitativo de las publicaciones reportadas sobre la planta *Tagetes lucida*, se realizó usando la base de datos *Scopus* (*Elsevier*). La **Figura 7** muestra el número de publicaciones por año en el periodo de 2000-2017. Se utilizó la ecuación de búsqueda *TITLE-ABS-KEY* ("*Tagetes lucida*") y se encontraron 50 artículos científicos, en general, en promedio, tres artículos por año. Se observa, que se han publicado más trabajos de investigación en los últimos siete años, siendo el 2012 el año con el mayor número de publicaciones. La **Figura 8** muestra el número de publicaciones, según el país, en el periodo de 2000-2017; México es el país con mayor número de publicaciones sobre esta planta, seguido de Colombia y Cuba; países en donde esta especie está ampliamente distribuida.

Figura 7. Número de publicaciones por año durante el período de 2000-2017. Fuente: *Scopus* (*Elsevier*). Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY* ("*Tagetes lucida*"). Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.

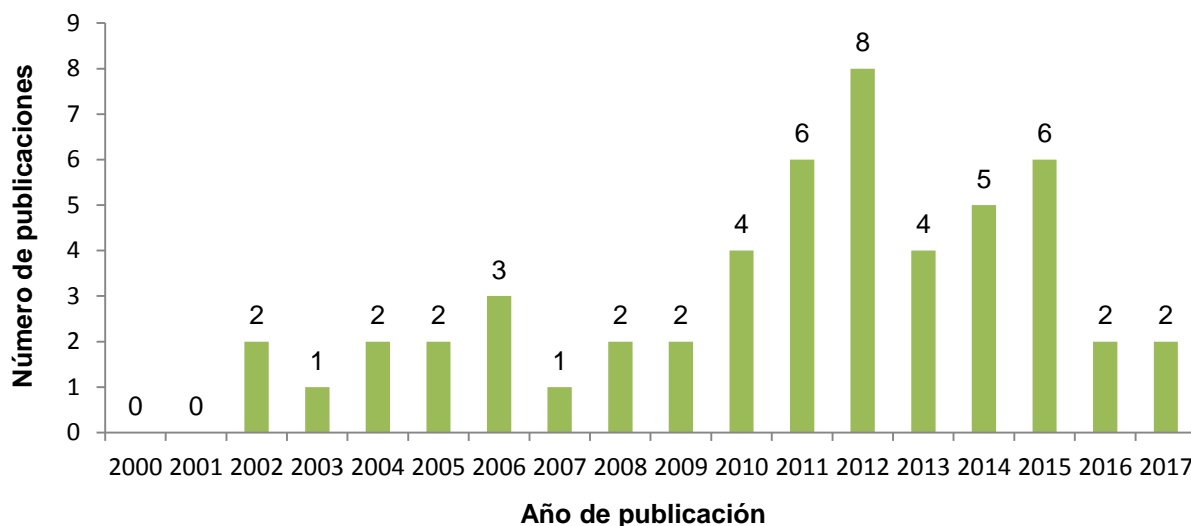
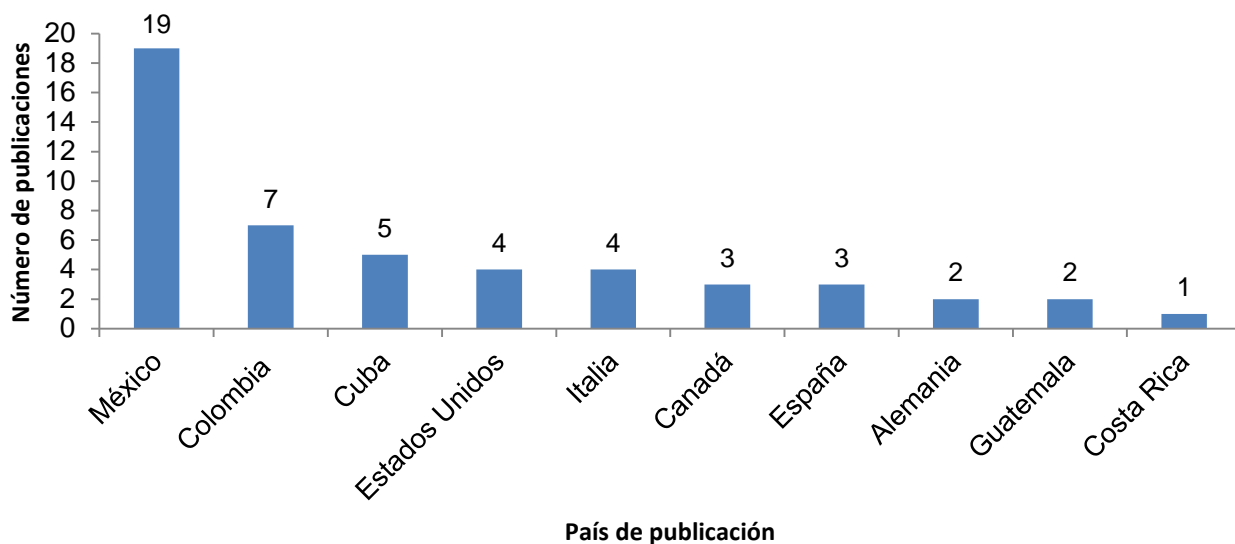
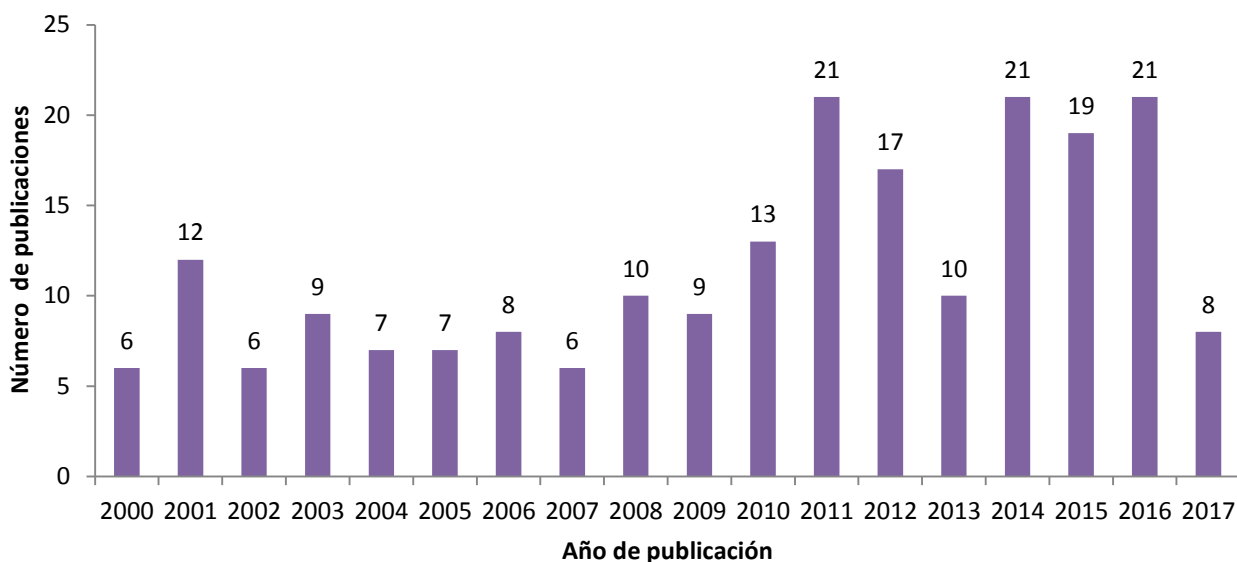


Figura 8. Número de publicaciones, según el país, durante los años 2000-2017. Fuente: *Scopus (Elsevier)*. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY ("Tagetes lucida")*. Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.



Para conocer el estado actual de las investigaciones sobre las transformaciones de componentes de los AE, se realizó un análisis cuantitativo, en la base de datos *Scopus (Elsevier)*. Se empleó la ecuación de búsqueda *TITLE-ABS-KEY ("transformation" and "essential oil")*. En la **Figura 9**, se muestra el número de publicaciones, por año, en el periodo de 2000-2017. Se encontraron 210 artículos; en promedio, en los últimos diez años, se ha aumentado el número de publicaciones y en los años 2011, 2014 y 2016 se publicaron más artículos sobre la transformación de los AE.

Figura 9. Número de publicaciones por año en el periodo de 2000-2017. Fuente: *Scopus (Elsevier)*. Ecuación de búsqueda: *TITLE-ABS-KEY (“transformation” and “essential oil”)*. Fecha de consulta: 21 de julio de 2017.



La isomerización del estragol al *trans*-anetol, se llevó a cabo por Srivastara y colaboradores [77], quienes emplearon como catalizadores la hidrotalcita, la zeolita X intercambiada con cesio y alúmina impregnada con KOH, y observaron más de 90% de conversión y una selectividad entre 76 y 100%. Esta isomerización también fue realizada por Sharma y colaboradores [78], quienes utilizaron complejos de metales de Pd, Ru y Rh, a 491 K y presión atmosférica, sin solvente. Con el complejo de $\text{RuCl}_3(\text{AsPh}_3)_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ se obtuvo la más alta conversión (97%) y selectividad (87%) hacia *trans*-anetol. Kishore y colaboradores [67] usaron diferentes series de hidrotalcitas de fórmula general M(II)M(III)-xHT , donde $\text{M(II)} = \text{Mg, Ni, Co, Zn y Cu}$, y $\text{M(III)} = \text{Al, Fe y Cr}$ con diferentes combinaciones de los iones metálicos (representado por x). Entre las diversas hidrotalcitas binarias estudiadas con Al como catión trivalente, Mg y Ni mostraron la actividad más alta, mientras que todos los otros iones metálicos bivalentes no tuvieron ninguna actividad. La variación del ion metálico trivalente reveló una

actividad máxima para Al, seguido de Fe y Cr. Hidrotalcitas ternarias (HT) mostraron que la inclusión de Ni y Co en el armazón de la hidrotalcita producía un sinergismo en el que MgNiAl-31 mostró 98% de conversión y MgCoAl-31, una conversión del 88%, con una relación de isómeros *cis:trans* alrededor de 15:85, usando una relación en masa de sustrato:catalizador de 10:1, a 200 °C. Menéndez-Rodríguez y colaboradores [79] desarrollaron un sistema catalítico eficiente, de bajo costo y selectivo para la isomerización de estragol, utilizando el complejo de areno-rutenio(II) $[\{RuCl(\mu-Cl)(n^6-p\text{-cimeno})\}_2]$ en combinación con $P(OMe)_3$. Como un ejemplo, utilizando 100 mg de este complejo y 38 μ L de $P(OMe)_3$ (1 equivalente por Ru), 10 mL del estragol pueden ser convertidos cuantitativamente al anetol (98% de *trans*-selectividad), después de calentar la mezcla a 80 °C durante 24 h.

De acuerdo con la revisión bibliográfica, no se ha explorado la síntesis de *trans*-anetol a partir del estragol, presente, como componente mayoritario del AE de alguna planta aromática, por ejemplo del AE de *T. lucida*. En este trabajo se plantea darle un uso alternativo a este AE, que contribuirá al estudio y aprovechamiento de la biodiversidad del país, al obtener *trans*-anetol a partir de fuentes naturales, lo que eventualmente permitirá suplir su demanda actual; por medio de una transformación, con un catalizador que implique una sencilla manipulación y recuperación, y del estudio de las mejores condiciones en donde se encuentre alto rendimiento y selectividad.

Entre los estudios realizados en el Laboratorio de CROM-MASS de la Universidad Industrial de Santander, que hacen parte de la línea de investigación de transformación catalítica de AE y sus componentes mayoritarios, se encuentra la transformación del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) tratado con Zeolita ZSM-5 a temperaturas superiores a 200 °C, donde los 34 sesquiterpenos en el AE se transformaron rápidamente en más de 200 compuestos aromáticos diferentes que se encuentran típicamente en la gasolina [18]. El tratamiento del AE de

Pimpinella anisum con Zeolita Y, mostró que el contenido de *trans*-anetol disminuyó del 95,6% (aceite original) al 79,6%, mientras que el *cis*-anetol aumentó del 0,1 al 7,83%, por lo que no es recomendable la catálisis de los procesos de isomerización para el aceite de anís. El estudio sobre la transformación del *trans*-anetol sobre Zeolitas HY y radiación UV-VIS, mostró la formación de *cis*-anetol y diversos dímeros, entre ellos, (E)-3,4-bis(4,4')-metoxibeno-hex-2-eno y 4,4'-(1^a,2b,3a,4b)-1,2-bis(metoxifenil)-3,4-dimetilciclobutano [20].

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

En la **Tabla 3**, se describen los reactivos, solventes, materiales y equipos, que se utilizaron en este trabajo de investigación.

Tabla 3. Reactivos, materiales y equipos utilizados.

Nombre	Especificaciones
Reactivos	
Estragol	98.5%, <i>Sigma Aldrich</i> Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.
<i>trans</i> -Anetol	99.5%, <i>Sigma Aldrich</i> Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.
Mg(NO ₃) ₂	Merck, Darmstadt, Alemania
Al(NO ₃) ₃	Merck. Darmstadt, Alemania
NaOH	<i>Merck</i> . Darmstadt, Alemania
Na(CO ₃) ₂	Merck. Darmstadt, Alemania
<i>n</i> -Tetradecano	Pureza: 99% <i>Sigma Aldrich</i> , Milwaukee, Wisconsin, EE.UU.
Disolventes	
Diclorometano	Grado analítico 99,8% Emscience, <i>Merck KGaA</i> , Darmstadt, Alemania.
Etanol	Pureza 99.8%, <i>Mallinkrodt Baker INC</i> , (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EE.UU).
Materiales	
Micropipetas, 2-20, 25-250 y 100-1000 µL	Brand, Wertheim, Alemania.
Viales para cromatografía, 2 mL	<i>Agilent Technologies</i> , Santa Clara, California, EE.UU.
Pipetas Pasteur	230 mm, <i>Brand GMBH Co.</i> Wertheim, Alemania.
Balones aforados, 1,5, 50 mL	Scott (Texas, EE.UU.)
Vasos de precipitados, 50, 100, 250 mL	(Texas, EE.UU.).
Equipos	
Balanza analítica	<i>Mettler Toledo</i> Al204, (Nanicon, Suiza)
Centrífuga	<i>Compac II Centrifuge</i> , Clay Adams, (Sparks, MD.EE.UU.).
Plancha de calentamiento	<i>RC Velp Scientifica</i> (Usmate, Italia)
Baño refrigerante	Chiller 28L20K, <i>Phaber</i> , Colombia
Horno microondas	Modelo DH3009656, Whilpool, Benton Harboc, MI, EE.UU.
Termocupla digital	OMEGA Modelo HH12A. Taiwan
Estufa de secado	Stabil-THERM. Gravity OVEN. <i>Electric Company</i> , EE.UU.

3.2. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La propagación de *T. lucida* (voucher COL. N° 512074) se realizó por la técnica de división de raíces, que se traspasaron a 150 bolsas con tierra (mezcla de abono y tierra, 1:2), donde se dejaron por dos meses. Posterior a esto, se plantaron en el jardín experimental del Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas Medicinales Tropicales (CENIVAM) de la Universidad Industrial de Santander en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia (Véase **Figura 10**). Después de tres meses, se realizó la cosecha del material vegetal: se colectaron las partes aéreas de la planta (tallos, hojas y flores). El material colectado se picó de manera manual con tijeras de jardinería.

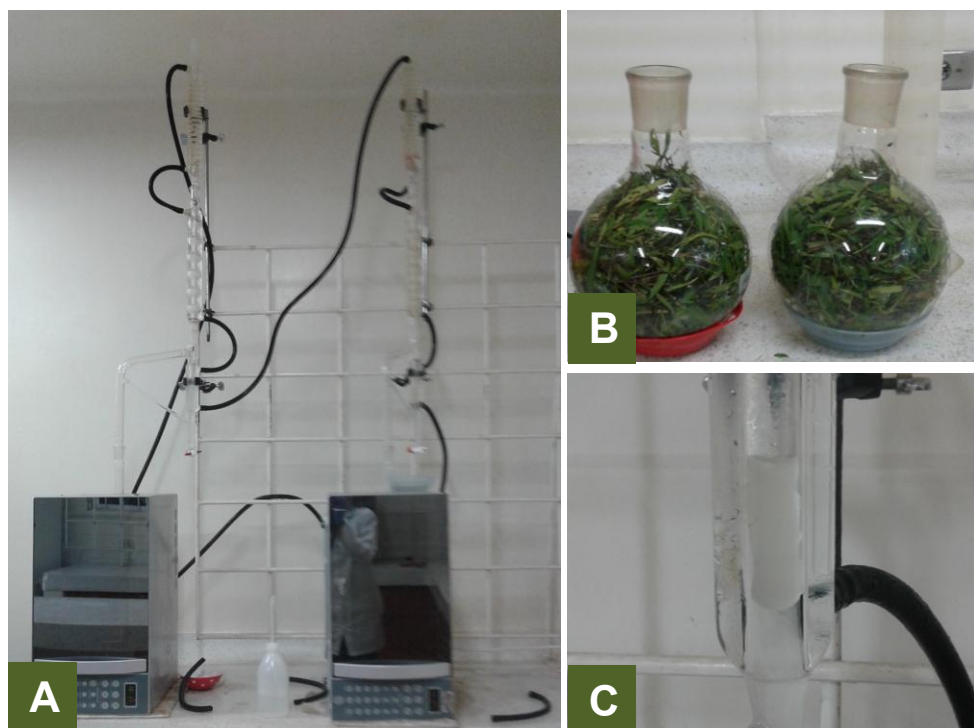
Figura 10. Propagación de *Tagetes lucida*. **A.** Siembra del material vegetal. **B.** Cultivo de *T. lucida* establecido. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, junio 16 de 2015.



3.3 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida*

El aceite esencial de *T. lucida* se obtuvo por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas. Se utilizó un aparato tipo *Clevenger*, con trampa *Dean-Stark*, adaptado a un horno microondas *Samsung* modelo AMW0113M con potencia de salida de 1200 W y frecuencia de radiación 2.5 GHz. Se pesaron 400 g de material picado en un balón de fondo redondo de 2 L y se adicionó agua (200 mL). Se realizó la extracción por 15 min con potencia de 600 W y se dejó en reposo por 5 min; el proceso de extracción se realizó tres veces (3x5 min). El AE se secó en una pipeta Pasteur con sulfato de sodio anhidro y se almacenó pasando la corriente de nitrógeno, a baja temperatura y protegido de la luz (Véase **Figura 11.**)

Figura 11. Proceso de obtención del aceite esencial. **A.** Montaje de hidrodestilación asistida por microondas. **B.** Material vegetal dispuesto en balones de 2 L. **C.** Aceite esencial aislado en la trampa *Dean-Stark*. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, septiembre 21 de 2016.



3.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida* y DE LOS PRODUCTOS DE SU TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA.

La Identificación de los compuestos del AE y los productos derivados de su transformación catalítica se llevó a cabo en un equipo GC *Agilent Technologies* (AT) 6890 *Plus* (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas AT *MSD 5973 Network*. Los componentes se separaron en dos columnas capilares, una, con fase estacionaria de apolar 5%-fenil-poli(metilsiloxano) (DB-5MS, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0,25 mm, D.I. x 0,25 μm d_f ; y, otra, con fase estacionaria polar de poli(etilenglicol) (DB-WAX, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0,25 mm, D.I. x 0,25 μm d_f . Se empleó helio (99.995%, Linde, Bucaramanga, Colombia) como gas de arrastre. La temperatura del puerto de inyección fue de 250 °C, modo de inyección *split* (30:1). Para la columna DB-5MS, la temperatura del horno se programó de 45 °C a 150 °C, a 4 °C/min, se aumentó a 250 °C (5 min), a 5 °C/min, y a 275 °C (15 min) a 10 °C/min. Para la columna DB-WAX la temperatura del horno se programó de 50 °C a 150 °C, a 4 °C/min (7 min), y luego a 230 °C (40 min) a 4 °C/min. Los espectros de masas se obtuvieron por impacto con electrones de energía de 70 eV. La identificación de los compuestos del aceite y de los productos de su transformación se realizó por comparación de los espectros de masas y los índices de retención lineales experimentales (Véase, **Ecuación 3**), con los de las bases de datos ADAMS, NIST y WILEY, los reportados en la literatura [80,81], usando los patrones de referencia certificados de estragol y *trans*-anetol.

$$\text{IRL} = 100n + 100 \left(\frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right) \quad \text{Ecuación 3}$$

Dónde:

IRL: Índice de retención lineal del compuesto de interés x ;

n : número de carbonos del n -alcano que eluye antes del compuesto de interés x ;

N : número de carbonos del N -alcano que eluye después del compuesto de interés x ;
 t_{Rx} : tiempo de retención del compuesto de interés x ;
 t_{Rn} y t_{RN} : tiempos de retención de los n -alcanos de eluyen antes (t_{Rn}) y después (t_{RN}), del compuesto de interés.

Figura 12. Cromatógrafo de gases GC AT 6890 *Plus* (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas AT MSD 5973 *Network*. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 6 de julio de 2017.



3.5 CUANTIFICACIÓN DE COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes lucida* y DE LOS PRODUCTOS DE SU TRANSFORMACIÓN CATALÍTICA.

Los productos de la reacción se analizaron en un cromatógrafo de gases AT 6890N (Palo Alto, California, EE. UU.) acoplado a un FID. La separación de los analitos se llevó a cabo en una columna capilar con fase estacionaria apolar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano) (DB-5MS, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0,25 mm, D.I. x 0,25 μm d_f , empleando helio (99.995%, Linde, Bucaramanga, Colombia) como gas de arrastre. La temperatura del puerto de inyección fue de 250 °C, modo de inyección *split* (30:1). La temperatura del horno se programó de 45 °C a 150 °C, a 4 °C/min, se aumentó a 250 °C (5 min), a 5 °C/min, y luego a 275 °C (15 min), a 10 °C/min. La cuantificación de los productos de la reacción se llevó a cabo por el método de estandarización interna, utilizando *n*-tetradecano como patrón interno y curvas de calibración, empleando sustancias de referencia certificadas de estragol y *trans*-anetol.

Figura 13. Cromatógrafo de gases AT 6890N (Agilent, Palo Alto, California, EE. UU.) acoplado a un FID. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 6 de julio de 2017.

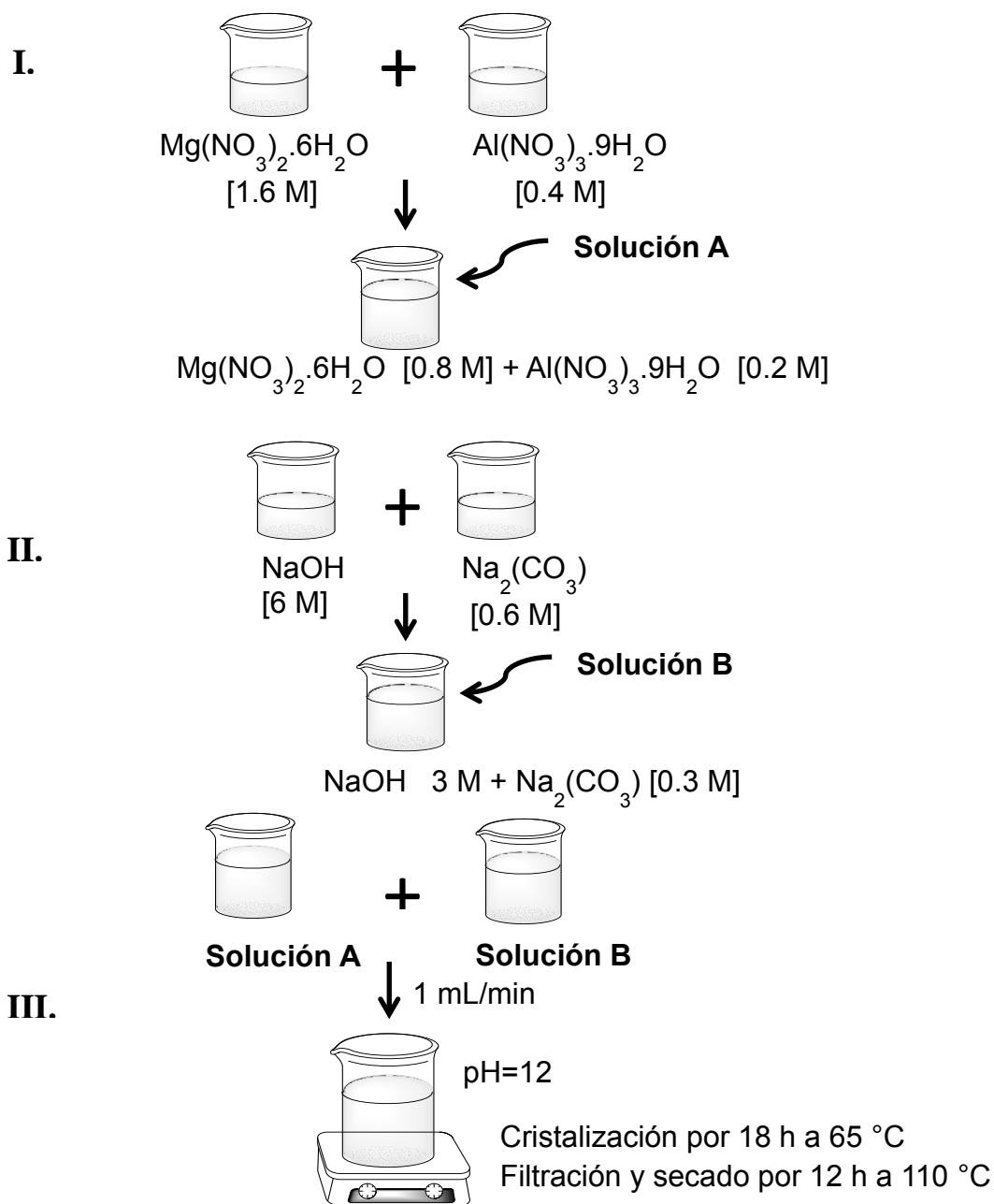


3.6 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL CATALIZADOR

3.6.1 Síntesis del catalizador: La síntesis de la hidrotalcita se realizó por el método de coprecipitación a baja sobresaturación [82]. En este método, una solución A, que contiene nitratos de magnesio y de aluminio, en una relación 4:1, se preparó a partir de la mezcla de una solución de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.4 M, 50 mL), y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.6 M, 50 mL) y una solución B que contiene agentes de precipitación, en una relación 1:10 (NaOH y Na_2CO_3), se preparó de la mezcla de una solución de NaOH , (6 M, 50 mL) y de una solución de $\text{Na}_2(\text{CO}_3)$, (0.6 M,

50 mL) se mezclaron lentamente (1 mL/min), hasta alcanzar un pH cercano a 12 (Véase Figura 14). La muestra se envejeció a 65 °C durante 18 h, se filtró y lavó (hasta total ausencia de nitratos y sodio en los líquidos de lavado), y se secó durante 12 h en un horno de aire a 110 °C.

Figura 14. Síntesis de la hidrotalcita, MgAl-4HT.



3.6.2. Caracterización del catalizador. La hidrotalcita se caracterizó por las técnicas, que se describen a continuación.

3.6.2.1. Difracción de rayos X. La fase cristalina del catalizador se identificó por la técnica de difracción de rayos X. Se utilizó un equipo BRUKER Modelo D8 Advance, con geometría Da Vinci (Alemania), bajo las siguientes condiciones: radiación de Cu, rendija de divergencia de 0,6 mm, Soller axial primario y secundario de 2,5°, detector lineal LynxEye, tiempo de muestreo de 0,8 s, rango de medición entre 3,5 y 70 ° 2 θ . Este análisis se realizó en el Laboratorio de Difracción de Rayos X de la Universidad Industrial de Santander, a cargo del profesor José Antonio Henao Martínez.

3.6.2.2. Espectroscopía de infrarrojo. Los grupos funcionales presentes en la estructura de la hidrotalcita se determinaron por espectroscopía de infrarrojo, en un equipo de infrarrojo *Agilent Technologies* (Santa Clara, California, EE. UU.) con transformada de Fourier modelo, CARY 630F, acoplado a un accesorio de muestreo ATR, de diamante. Este análisis se realizó en el Laboratorio CROM-MASS de la Universidad Industrial de Santander, a cargo de la profesora Elena E. Stashenko.

3.6.2.3. Fisisorción de nitrógeno por el método BET. Las propiedades texturales: área superficial, volumen de poro y diámetro de poro, se determinaron mediante las isothermas de adsorción de N₂. Se utilizó un equipo 3FLEX Micromeritics (Norcross, EE.UU.). Previamente al análisis, el sólido se desgasificó a 200 °C durante 12 h. Este análisis se realizó en el Laboratorio de Investigaciones en Catálisis (CICAT), de la Universidad Industrial de Santander, a cargo del profesor Víctor Gabriel Baldovino Medrano.

3.6.2.4. Desorción de CO₂ a temperatura programada. La fuerza básica del catalizador se determinó por medio de la técnica de desorción de CO₂ a temperatura programada en un equipo AutoChem II 2920 Micrometrics (Norcross, EE.UU.). Se realizó un pretratamiento térmico durante 15 min a 110 °C con rampa de 10 °C/min, en flujo constante de helio a 50 mL/min. La adsorción de CO₂ se llevó a cabo a una temperatura de 50 °C, con un flujo de 20 mL/min, durante 90 min. La desorción de CO₂ se realizó en flujo de helio (25 mL/min) por 60 min a 100 °C. La desorción de CO₂ a temperatura programada con registro de datos se efectuó de 100 °C a 500 °C con una rampa de 5 °C /min. Este análisis se realizó en el Laboratorio del Grupo de Catálisis Ambiental (GCA) de la Universidad de Antioquia, a cargo de la profesora Aida Luz Villa Holguín.

3.7 Diseño experimental del proceso catalítico

Para la transformación catalítica del estragol, en el AE de *T. lucida*, empleando la hidrotalcita MgAl-4HT como catalizador, se realizó un diseño experimental factorial multinivel 2³. Se analizaron como variables del proceso, la temperatura de la reacción, la relación en peso del catalizador: peso AE y el tiempo de la reacción. La **Tabla 4** muestra los parámetros establecidos para cada variable, usando el diseño experimental propuesto.

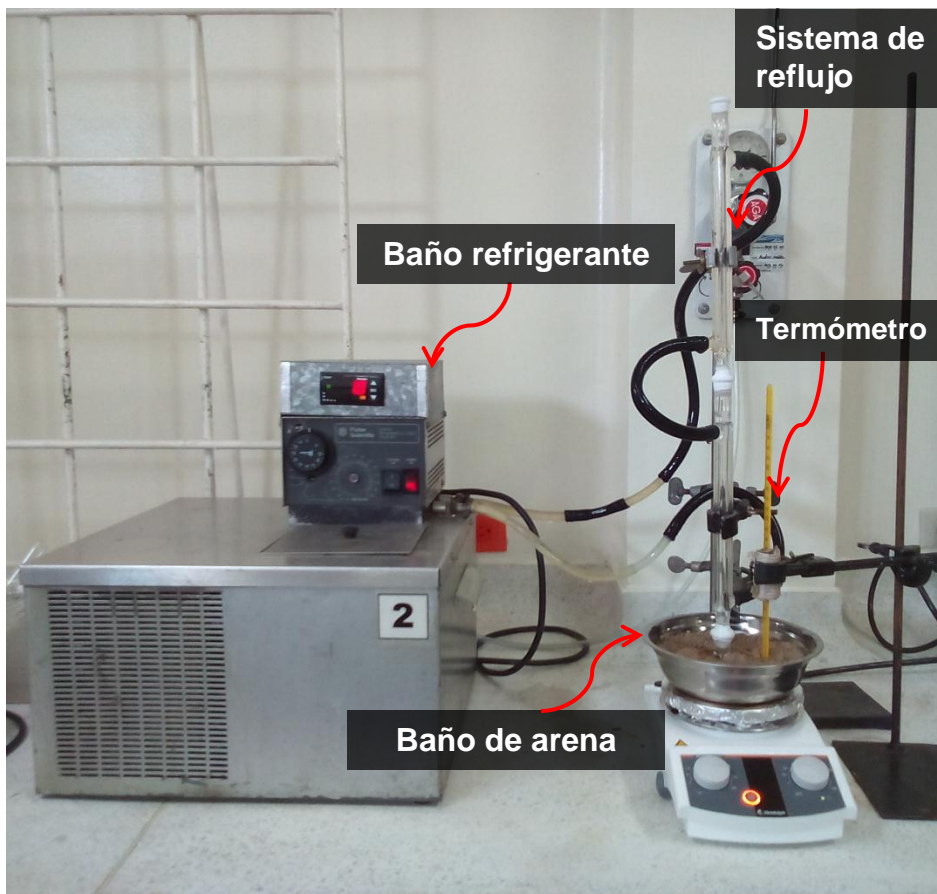
Tabla 4. Parámetros establecidos para el diseño experimental 2³ con réplicas en un punto.

Experimento	Diseño experimental		
	Temperatura, °C	AE : Catalizador	Tiempo, h
1	160	5:1	2
2	200	5:1	2
3	160	20:1	2
4	200	20:1	2
5	160	5:1	6
6	200	5:1	6
7	160	20:1	6
8	200	20:1	6
9	180	15:1	4
10	180	15:1	4
11	180	15:1	4
12	180	15:1	4
13	180	15:1	4

3.7.1 Proceso de reacción catalítica

El catalizador (0,2 g, 1:5 o 0,04 g, 1:20) y el AE (1 g) se adicionaron a un balón de 10 mL, que se conectó a un sistema de reflujo y se agitó a 200 rpm por 5 min. El balón se colocó en un baño de arena con agitación a 250 rpm. La temperatura se controló con un termostato (OMEGA HH12A, Taiwan). Una vez transcurrido el tiempo establecido para cada experimento, se separó el AE del catalizador, por centrifugación. La muestra se preparó tomando 50 µL del AE, que se disolvieron en 1 mL de una solución *stock* de *n*-tetradecano (3200 ppm) en etanol, y se analizó en cromatógrafos de gases con FID y detector selectivo de masas, MSD.

Figura 15. Montaje de reacción catalítica del AE de *T. lucida*. Foto: Liliana Bernal. Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, junio 11 de 2016.



El porcentaje de conversión se calculó con base en el área del pico cromatográfico obtenido para cada producto, usando la **Ecuación 4**.

$$\% \text{ Conversión} = \left(\frac{\left(\frac{\text{Área}_{\text{estragol inicial}}}{\text{Área}_{\text{ISTD}}} - \frac{\text{Área}_{\text{estragol final}}}{\text{Área}_{\text{ISTD}}} \right)}{\left(\frac{\text{Área}_{\text{estragol inicial}}}{\text{Área}_{\text{ISTD}}} \right)} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Debido a que en esta reacción se obtienen varios productos, se calculó la selectividad, para cada uno de ellos, utilizando las **Ecuaciones 5 y 6**.

$$\% \text{ Selectividad para } trans\text{-anetol} = \left(\frac{\left(\frac{\text{Área } trans\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} \right)}{\left(\frac{\text{Área } trans\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} + \frac{\text{Área } cis\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} + \dots \frac{\text{Área } otros}{\text{Área}_{ISTD}} \right)} \right) \times 100$$

Ecuación 5

$$\% \text{ Selectividad para } cis\text{-anetol} = \left(\frac{\left(\frac{\text{Área } cis\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} \right)}{\left(\frac{\text{Área } cis\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} + \frac{\text{Área } trans\text{-anetol}}{\text{Área}_{ISTD}} + \dots \frac{\text{Área } otros}{\text{Área}_{ISTD}} \right)} \right) \times 100$$

Ecuación 6

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

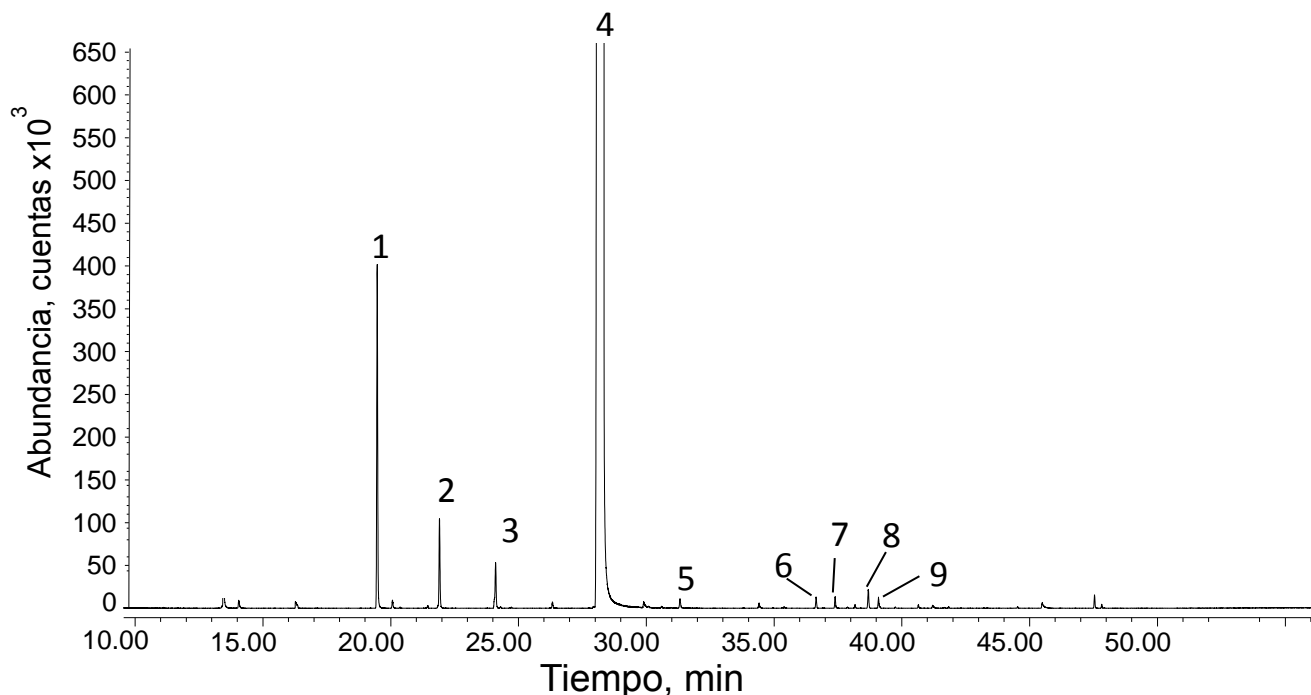
4.1 Rendimiento del aceite esencial de *T. lucida*

El material vegetal (tallos, hojas y flores) se destiló en fresco por MWHD y se obtuvo un rendimiento de 0,8 % p/p \pm 0,1 (\pm s, n=3). Cuando se usaron hojas y tallos, el rendimiento del aceite obtenido fue de 0,41 % p/p \pm 0,04 (\pm s, n=3). Estos resultados son similares a los obtenidos en estudios realizados en Guatemala, Cuba, y Egipto, donde los rendimientos encontrados variaban de 0.5 a 0.79% [33, 34,83]. Vargas *et al.* [84], encontraron rendimientos de aceites entre 0,33 y 0,77 %, por destilación con agua-vapor (2 h) y Muñoz *et al.* [7], reportaron rendimientos del 0,9 % (hojas) y 0,5 % (flores), de plantas cultivadas en Santander, Colombia. El rendimiento más alto del AE, obtenido por la presencia de flores, fue similar al reportado por Acosta *et al.* [85], donde se encontraron rendimientos de 0,95 % (ramas con flores) y 0,63 % (ramas con hojas), siendo así el estado de floración de la planta el más oportuno para su recolección y obtención de mayor cantidad de aceite.

4.2 Composición química del aceite esencial de *T. lucida*

Los metabolitos secundarios que se identificaron en el aceite esencial de *T. lucida* se determinaron con base en sus espectros de masas (EI, 70 eV). Los espectros de masas obtenidos se compararon con los reportados en las bases de datos Adams [81], Wiley y NIST. Los índices de retención lineales se compararon con los reportados por Babushok *et al.* [80], lo que permitió realizar una identificación tentativa de estos compuestos. El estragol y el *trans*-anetol se identificaron positivamente usando sustancias de referencia certificadas. En la **Figura 16**, se muestra el perfil cromatográfico típico del AE de *T. lucida* obtenido por MHWD.

Figura 16. Cromatograma del AE de *Tagetes lucida*. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. MSD (EI, 70). La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 5**.



En el AE de *T. lucida* se identificaron nueve metabolitos secundarios (**Tabla 5**). La cuantificación del compuesto mayoritario, estragol, se realizó por medio de la curva de calibración (Véase **Anexo A**); los otros compuestos se cuantificaron usando el estándar interno, *n*-tetradecano. Las concentraciones se expresaron en mg de compuesto por g de AE.

El compuesto mayoritario fue estragol (990 ± 34 mg/ g AE, $n=3$), que pertenece a la familia de los fenilpropanoides, seguido de β -mirceno (8 ± 2 mg/g AE) y *trans*- β -ocimeno ($1,31 \pm 0,03$ mg/ g AE), que son monoterpenos. Se encontraron otros compuestos en cantidades menores (0,13%), que pertenecen a la familia de los monoterpenos oxigenados (linalol), sesquiterpenos (*trans*- β -cariofileno, β -farneseno, α -farneseno y germacreno D) y el fenilpropanoide (*trans*-anetol). En la **Figura 17**, se muestra la clasificación por familias de compuestos y la cantidad

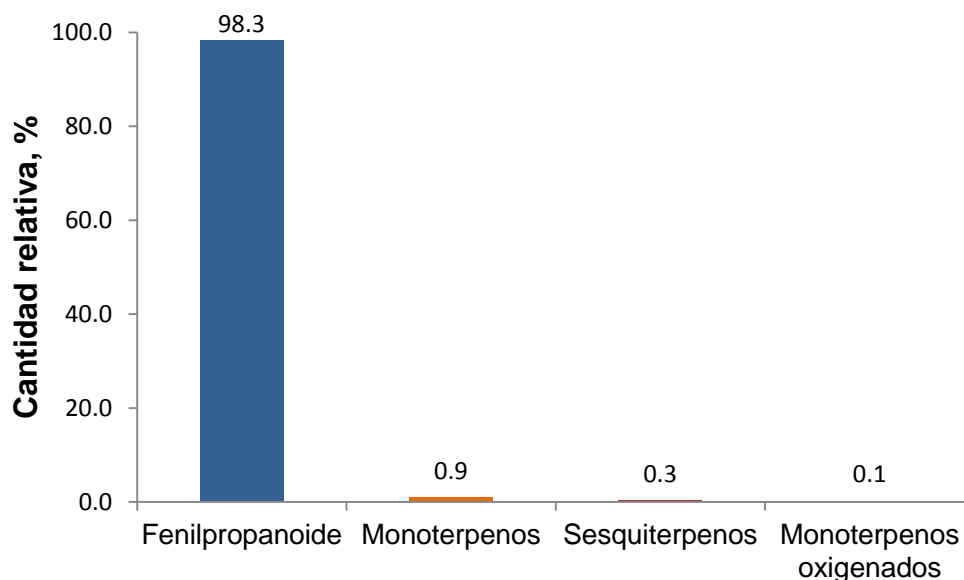
relativa (%), que cada una representa en el AE; según la composición química, la esencia de *T. lucida* se puede clasificar como tipo fenilpropanoide.

Tabla 5. Composición química del AE de *T. lucida*.

N° de pico Fig. 15	Compuesto	AE de <i>Tagetes lucida</i>				mg compuesto/ g AE (\pm s, n=3)	Tipo de compuestos
		Índices de retención lineal (IRL)					
		DB-5MS		DB-WAX			
		Exp.	[80]	Exp.	[80]		
1	β -Mirceno	986	989	1159	1161	8 \pm 2	Monoterpenos
2	<i>trans</i> - β -Ocimeno	1048	1048	1248	1250	1,31 \pm 0,03	
3	Linalol	1101	1099	1538	1543	1,3 \pm 0,1	Monoterpeno oxigenado
4	Estragol*	1210	1196	1665	1671	990 \pm 34	Fenilpropanoides
5	<i>trans</i> -Anetol*	1293	1285	1821	1826	0,51 \pm 0,03	
6	<i>trans</i> - β -Cariofileno	1427	1420	1607	1599	0,44 \pm 0,03	Sesquiterpenos
7	β -Farneseno	1455	1456	1666	1668	0,85 \pm 0,05	
8	Germacreno D	1493	1481	1716	1708	1,08 \pm 0,08	
9	α -Farneseno	1499	1504	1738	1744	0,53 \pm 0,03	

*Identificados con base en los patrones de referencia certificados.

Figura 17. Clasificación, por familias, de compuestos presentes en el AE de *T. lucida*, obtenido por MWHD.



En la **Figura 18**, se presentan los espectros de masas (EI, 70 eV) del estragol, obtenidos de la corriente iónica total (TIC) del AE (**A**) y del patrón certificado (**B**). La posible ruta de fragmentación del estragol se muestra en la **Figura 19**, en donde se observa el ion en m/z 148 (100%) que corresponde al ion molecular y es pico de base. Los iones fragmento en m/z 147 (59%), 133 (23%), 121 (38%) y 117 (37%) se deben a la pérdida de los radicales de hidrógeno, metilo, vinilo y metoxilo respectivamente. El ion $(M-CH_3)^+$ en m/z 133 expulsa una molécula de CO que genera el ion $(M-CH_3-CO)^+$ en m/z 105 (24%); mientras que el ion fragmento $(M-C_2H_3)^+$ m/z 121 sufre la pérdida de una molécula de CH_2O que forma el ion tropilio con m/z 91 (23%) que, a su vez, por la pérdida de una molécula de C_2H_2 crea el ion m/z 65 (7%).

Figura 18. **A.** Espectro de masas (EI, 70 eV) del estragol, componente mayoritario del AE de *T. lucida*. **B.** Espectro de masas del patrón de referencia certificado del estragol.

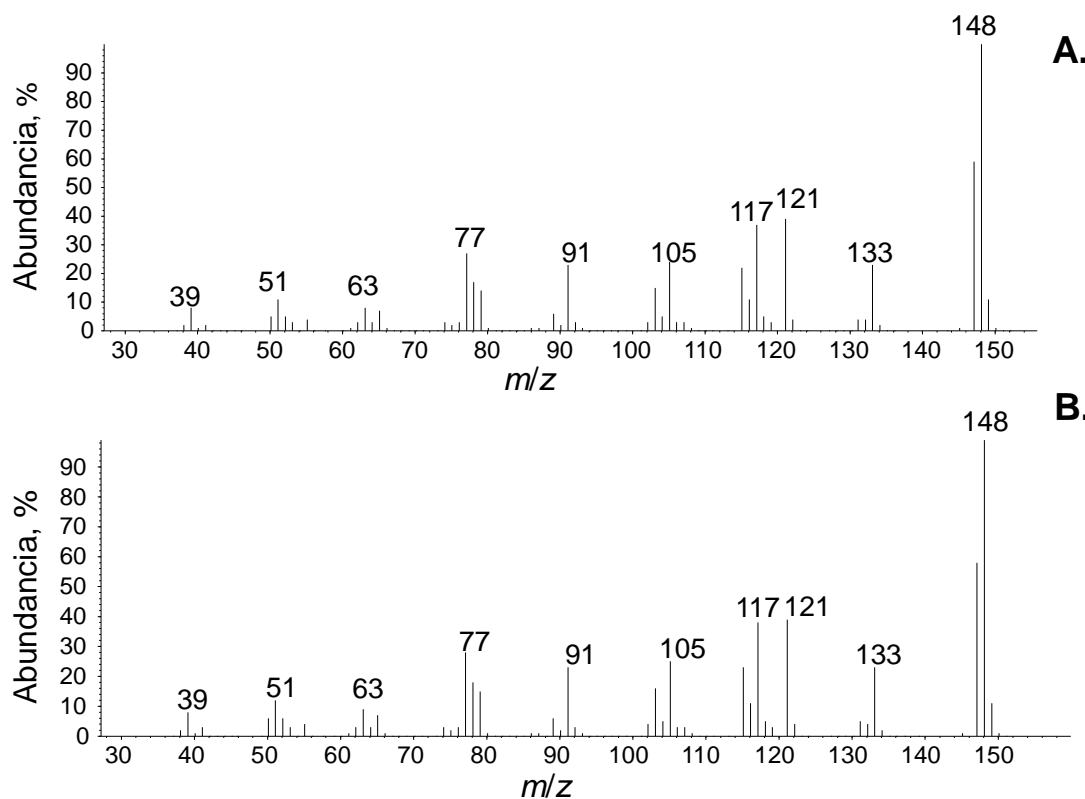
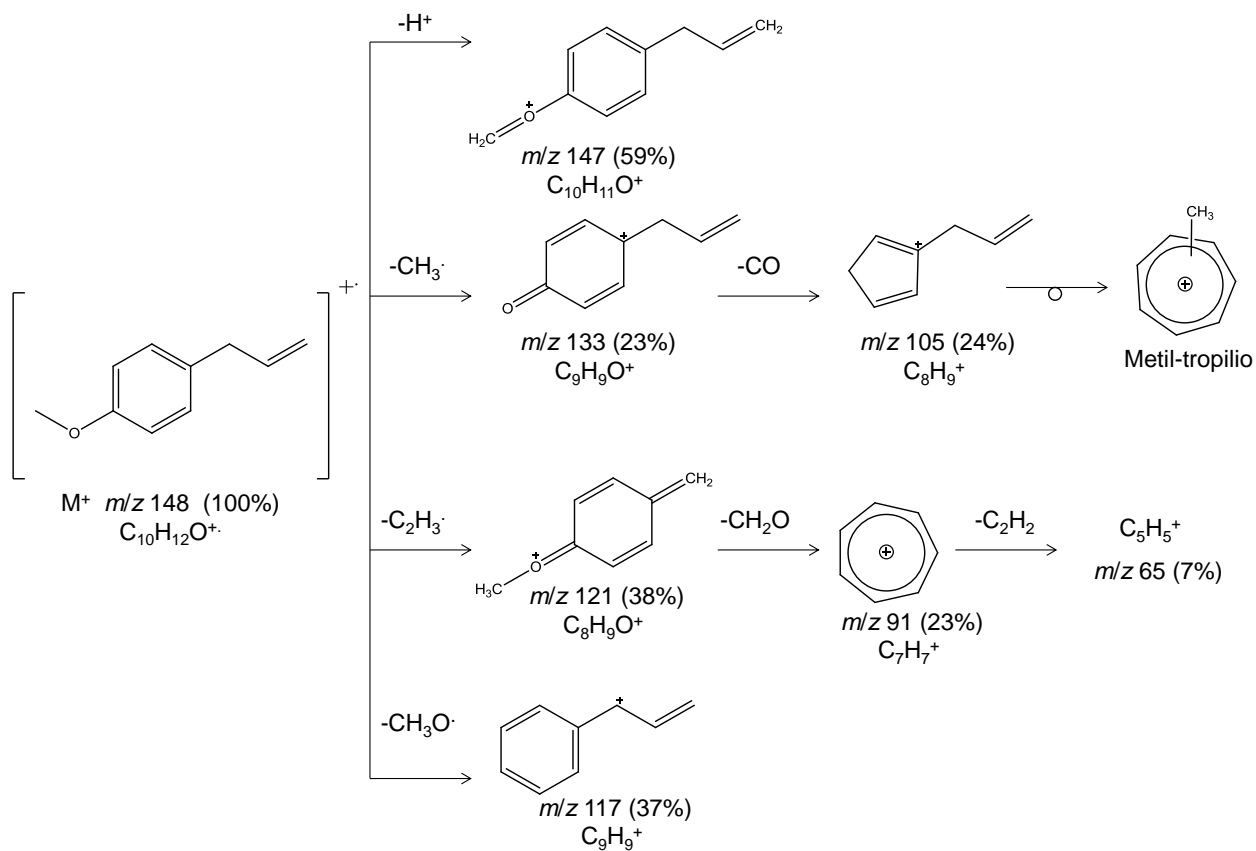


Figura 19. Posible ruta de fragmentación del estragol.



La composición química del AE de *T. lucida* fue muy similar a la encontrada en los AE aislados de plantas cultivadas en Costa Rica [3], Cuba [34], Colombia [86], Guatemala [87] y Egipto [83], se reportara el estragol, como componente mayoritario (90%).

El estragol presenta varias actividades biológicas, entre ellas, antimicrobiana [43], insecticida [47] y antiinflamatoria [51], y se emplea como saborizante y repelente de insectos [50], pero por considerarse una sustancia genotóxica [56], su uso está limitado [17].

El β-mirceno, segundo componente mayoritario en el AE de *T. lucida*, actúa como un agente antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* [88], tiene actividad anti-

invasiva en células de cáncer de mama humanas [89], y se emplea como disolvente o agente diluyente para tintes y barnices y en la producción de polímeros terpénicos [90]. *trans*- β -Ocimeno se usa como insecticida y disolvente para fines de limpieza [90].

4. 3. Estudios en medios ácido y básico

La conversión del AE de *T. lucida* se realizó en medios ácido y básico. Se empleó el HCl, como catalizador ácido y el KOH, CaO y CaO/Al₂O₃, como catalizadores básicos. El AE (1 g) y el catalizador CaO (0,2 g), CaO/Al₂O₃ (0,2 g), KOH (5 mL, 0.5 N) o HCl (5 mL, 0.5 N) se colocaron en un balón de 10 mL y se calentaron a 180 °C por 2 h. En la **Figura 20**, se muestran los porcentajes de conversión del estragol al *trans*-anetol para cada uno de estos tratamientos. Se obtuvieron mayores porcentajes de conversión con los catalizadores básicos utilizados, que con el catalizador ácido, de manera que, la reacción de interés se ve favorecida en medio básico, en donde el CaO tiene la mayor capacidad de conversión (23%), seguido de CaO/Al₂O₃ (11%), KOH (5,5%) y HCl (3,4%). Los perfiles cromatográficos de los tratamientos con HCl y KOH y la identificación de los productos de la reacción se muestran en los **Anexos B** y **C**, respectivamente. Los perfiles cromatográficos de los tratamientos con CaO y CaO/Al₂O₃ y la identificación de los productos de la reacción se muestran en los **Anexos D** y **E**, respectivamente. En la **Tabla 6** se muestran los porcentajes de selectividad hacia *trans*-anetol, para cada tratamiento.

Figura 20. Porcentaje de conversión (%) del estragol al *trans*-anetol en medios ácido y básico, usando el AE de *T. lucida*.

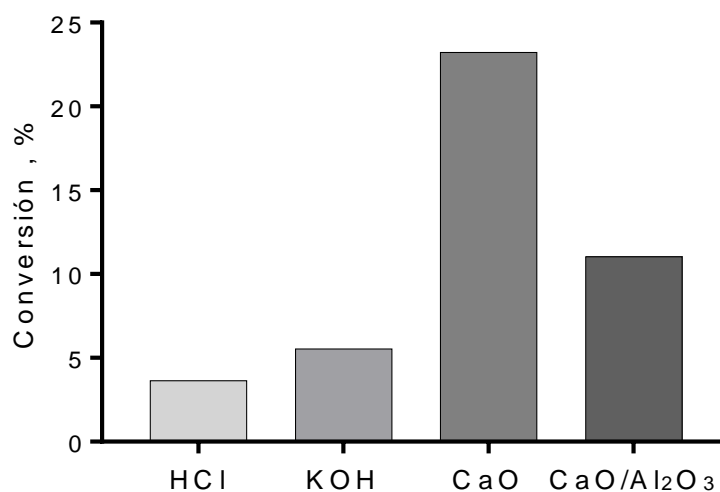


Tabla 6. Selectividad de formación del *trans*-anetol durante la isomerización del estragol en medios ácido y básico, usando el AE de *T. lucida*.

Compuesto (Catalizador)	Selectividad, % ($\pm s$, n=3)
HCl	9,2 \pm 0,1
KOH	14, \pm 1
CaO	15 \pm 2
CaO/Al ₂ O ₃	13 \pm 4

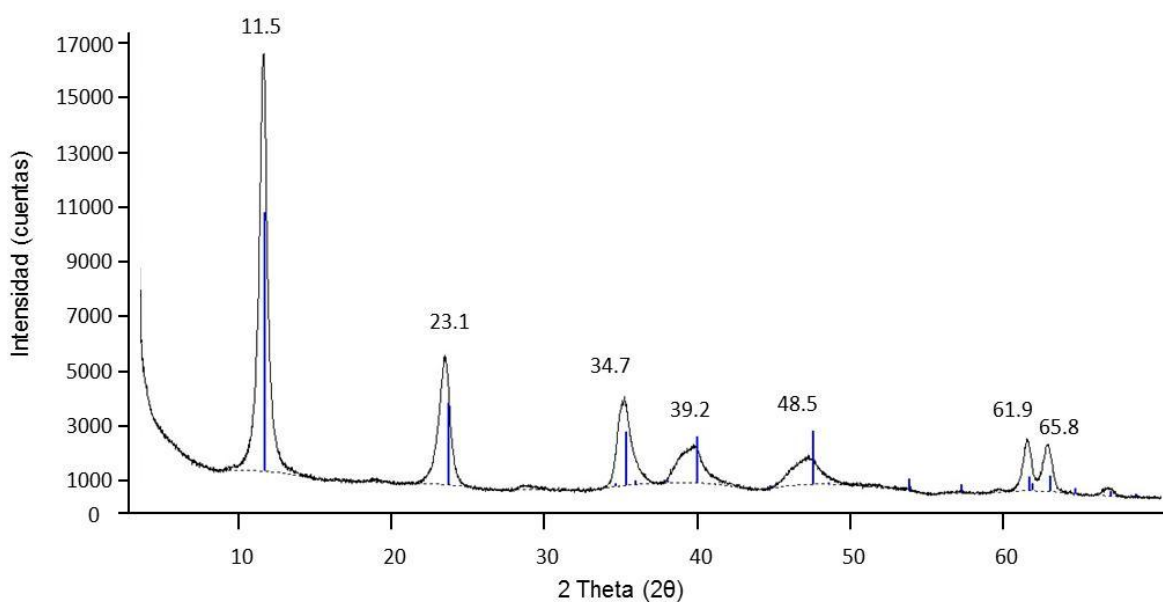
Los valores de conversión y selectividad bajos obtenidos en estos tratamientos, indican que en esta reacción estos catalizadores tienen una actividad y unas selectividades bajas. Por esto se consideró la síntesis de un catalizador de carácter básico como las hidrotalcitas, que muestran actividad para las reacciones de isomerización de dobles enlaces [66].

4.4 Caracterización del catalizador

La caracterización del catalizador sintetizado (MgAl-4HT), se realizó mediante cuatro análisis que permitieron dar información sobre sus propiedades texturales, fase cristalina, grupos funcionales y la concentración de sitios básicos presentes en este material. Estas características se describen a continuación.

4.4.1. Determinación de la fase cristalina por difracción de rayos X: La Figura 21 muestra el difractograma obtenido de la hidrotalcita sintetizada. Para el análisis cualitativo de la muestra se utilizó la base de datos *Search Match* (Versión 1.4, Bruker, Massachusetts, EE.UU.), que permitió identificar hidrotalcita con fórmula $Mg_{0,833}Al_{0,167}(OH)_2(CO_3)_{0,083}(H_2O)_{0,75}$ y PDF 89-0460, como la fase presente en la muestra. El difractograma obtenido fue similar al reportado en la literatura [91, 92]. (Véase Anexo F).

Figura 21. Difractograma de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT.



Con el *software* Powder X5 se obtuvieron los valores de 2θ (posición de los picos), distancia interplanar (d), altura y área para los picos señalados en la **Figura 21**, que se muestran en la **Tabla 7**.

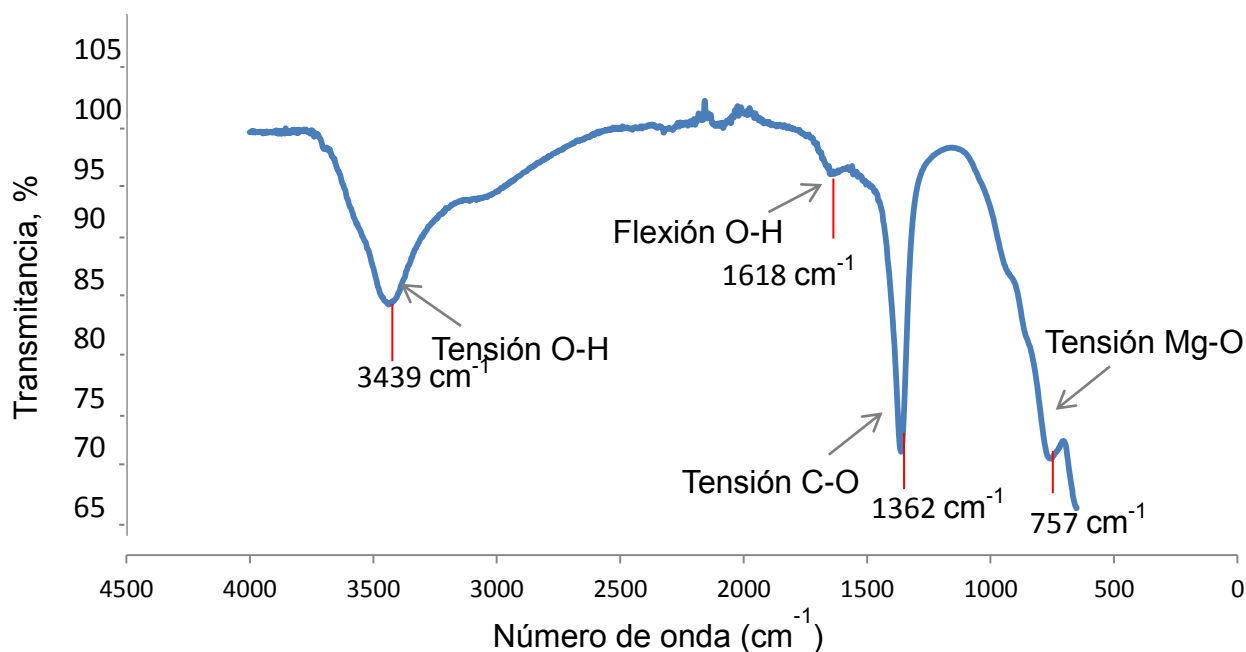
Tabla 7. Características de los picos de difracción de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT.

2 Theta	d (Å)	Altura	Área
11.5	7.7	10131	359815
23.1	3.8	3056	122184
28.2	3.1	112	5585
34.7	2.6	2070	89993
38.5	2.3	743	58966
39.2	2.3	903	77690
46.5	1.9	686	65275
58.7	1.6	71	6796
60.6	1.5	1285	42281
61.9	1.5	1197	41860
65.8	1.4	192	8038

4.4.2. Determinación de los grupos funcionales presentes en el catalizador:

La identificación de los grupos funcionales se realizó por espectroscopia de infrarrojo. En la Figura 22, se observa una banda intensa y ancha en 3439 cm^{-1} , que se asocia con una vibración de tensión del enlace O-H, la cual se debe a la estructura laminar y a las moléculas de agua en el espacio interlaminar. La banda en 1618 cm^{-1} se asocia con una banda de flexión del enlace O-H. Una banda intensa y aguda en 1362 cm^{-1} , se debe a una vibración de tensión del enlace C-O, asociada con el anión carbonato (CO_3^{2-}), debido a su presencia en el espacio interlaminar de la hidrotalcita; y, una banda a 757 cm^{-1} , se atribuye a la vibración de tensión del enlace Mg-O [93].

Figura 22. Espectro infrarrojo de hidrotalcita sintetizada. Equipo de infrarrojo con transformada de Fourier modelo CARY 630F de *Agilent Technologies*.



4.4.3. Análisis textural mediante isotermas de adsorción-desorción de nitrógeno. Para determinar la porosidad del sólido, se observó la forma que tomó la isoterma de adsorción. En la Figura 23, aparece la isoterma, con un incremento de la cantidad de nitrógeno adsorbido a presiones relativas altas y el comienzo de un punto de inflexión en $P/P_0 = 1$, la cual puede asociarse con una isoterma tipo IV^a (Véase Figura 24), que se clasifica como un material mesoporoso, según la IUPAC. Además, se observa en esta isoterma el fenómeno de histéresis que se presenta cuando los procesos de adsorción y desorción no ocurren de la misma manera, debido a la condensación capilar en los mesoporos: este tipo de histéresis brinda información sobre la forma que tienen los poros del sólido.

En este caso, se observa un bucle de histéresis estrecho con curvas de adsorción y desorción inclinadas y con un amplio rango de P/P_0 , que se relaciona con una histéresis tipo H3, según la IUPAC, que se asocia a mesoporos no uniformes en forma de láminas [70].

Figura 23. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno, para MgAl-4HT.

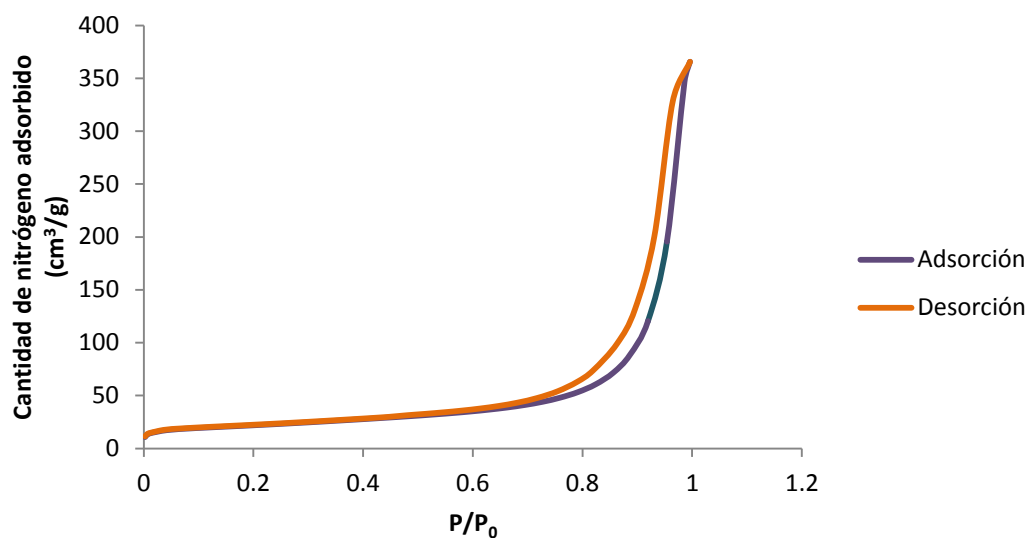
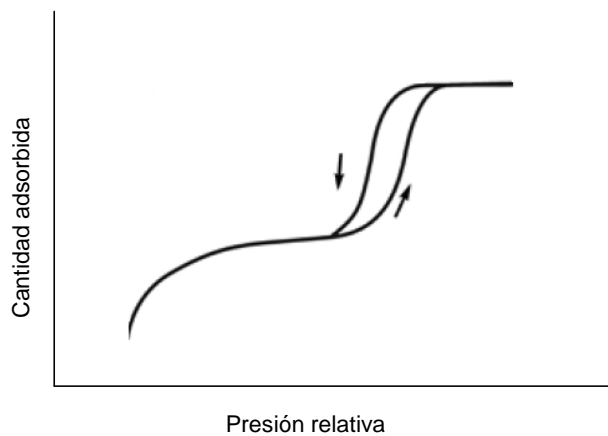


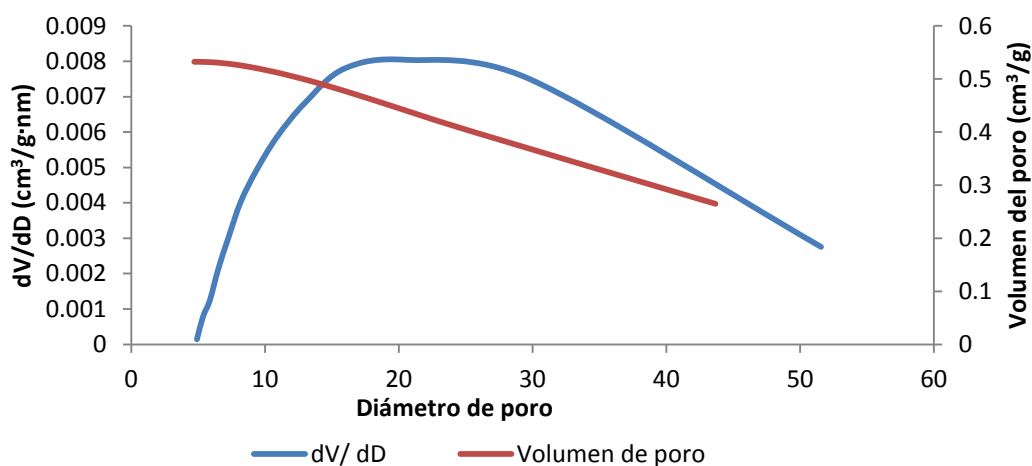
Figura 24. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno tipo IVa, según la IUPAC [70].



El valor de diámetro y volumen de poro se determinaron por el método BJH (Barret-Joyner-Halenda), que describe la adsorción capilar, proceso de

condensación que tiene lugar en los mesoporos. En la **Figura 25**, se puede observar la distribución del diámetro de poro, con un perfil muy heterogéneo y con la mayor contribución entre aproximadamente 16 y 29 nm (derivada del volumen del poro respecto al diámetro de poro, dV/dD). Además, se observa que el sólido presenta una distribución porosa (línea roja) entre 2 y 50 nm, lo cual corresponde a materiales mesoporosos [94].

Figura 25. Distribución del diámetro del poro, para MgAl-4HT.



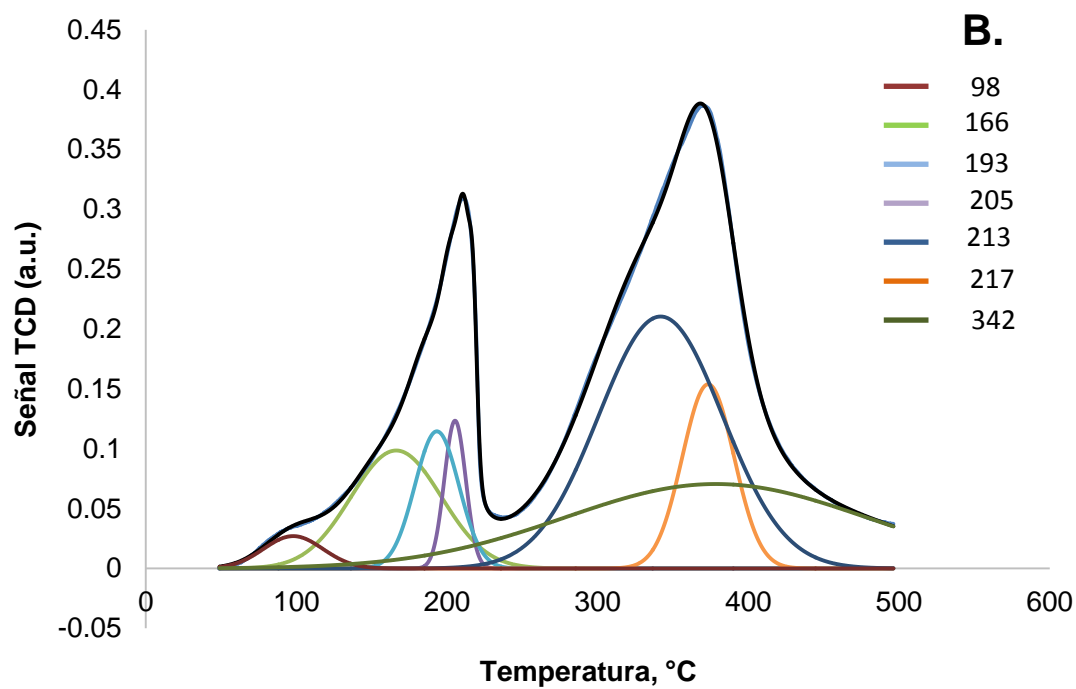
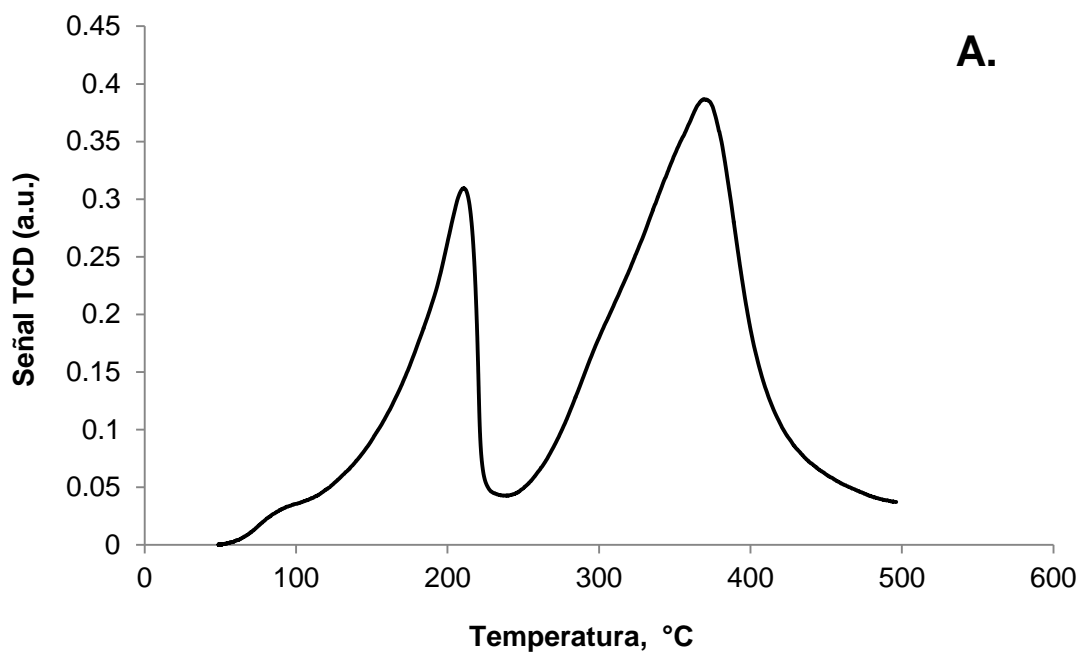
En la **Tabla 8** se reportan los valores del área superficial, el volumen, el tamaño del poro y el valor del parámetro C para la hidrotalcita sintetizada en esta investigación. El parámetro C está relacionado con la fuerza de interacción entre el adsorbato y el adsorbente, que tiene un valor superior a 150, que está asociado con la adsorción en sitios de alta energía de la superficie y es un valor que se ajusta bien al modelo BET para una interpretación precisa de las propiedades texturales del catalizador [94]. El valor de área superficial para MgAl-4HT fue similar al encontrado por Kishore *et al.* [91] y Di Cosimo *et al.* [95].

Tabla 8. Propiedades texturales para MgAl-4HT.

MgAl-4HT	Área superficial BET, (m ² /g)	Diámetro de poro promedio BJH, (nm)	Volumen del poro BJH, (cm ³ /g)	Parámetro C
	76	28	0,5	491

4.4.4. Determinación de la fuerza básica del catalizador: Las propiedades básicas de MgAl-4HT se determinaron por el experimento de TPD-CO₂. La superposición de señales se presenta con frecuencia en la interpretación de los perfiles de TDP y para poder identificarlas, se recurre al procedimiento matemático de la deconvolución [96]. El perfil de desorción de CO₂ obtenido se muestra en la Figura 26-A, donde se aprecian dos picos de desorción, a los cuales se les realizó la corrección de la línea base, la deconvolución de los picos y se hallaron sus respectivos valores de área empleando el *software* Fityk (Marcin Wojdyr, Varsovia, Polonia) [97]. La deconvolución de los picos se muestra en la Figura 26-B, donde se observan siete picos, que muestran los diferentes tipos de sitios básicos presentes en la superficie de MgAl-4HT y la temperatura de desorción asociada a cada uno de ellos, indica la fuerza de cada sitio básico. Los picos se clasificaron en tres rangos de temperaturas, según la clasificación utilizada por Kumar *et al.* [98]: sitios básicos débiles (< 200 °C), medios (200-450 °C) y fuertes (> 450 °C). Con base en esta clasificación, el catalizador presenta sitios básicos de fuerzas débiles y medias.

Figura 26. **A.** Perfil de desorción a temperatura programada TPD-CO₂ de MgAl-4HT. **B.** Deconvolución de los picos con el *software* Fityk, con sus respectivas temperaturas de desorción.



La contribución de cada sitio básico a la basicidad general del catalizador, se determinó por medio del área de cada pico. La cuantificación de la concentración de los diferentes tipos de sitios básicos se realizó por medio de la curva de calibración experimental realizada a 0,8474 atm y 323,15 K (Véase **Ecuación 7**); los resultados se muestran en la **Tabla 9**. La concentración de cada sitio básico se expresó en mmol/ g de catalizador y su densidad, en $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, donde se utilizó el valor de área específica BET.

$$\text{Volumen de CO}_2 \text{ (mL)} = 95,43657^*(\text{Área del pico}) - 0,27826 \quad \text{Ecuación 7}$$

Tabla 9. Concentración de sitios básicos para MgAl-4HT.

Pico, Temperatura de desorción, °C	Concentración de sitios básicos de MgAl-4HT		Clasificación
	mmol/gcat	$\mu\text{mol}/\text{m}^2$	
98	40	54	Sitios básicos débiles
166	223	302	
193	126	171	
205	66	89	Sitios básicos medios
213	651	882	
217	199	270	
342	530	717	
Total	1835		

La basicidad total aportada por los sitios básicos de fuerza débil y media presentes en el catalizador es de $2485.9 \mu\text{mol}/\text{m}^2$. Los sitios básicos de fuerza media son predominantes ($1959 \mu\text{mol}/\text{m}^2$) en comparación con los de fuerza débil ($527 \mu\text{mol}/\text{m}^2$). Dixit *et al.* [99] estudiaron la basicidad de la hidrotalcita de Mg/Al en una relación molar 2:1 y encontraron un pico de desorción máximo en 169°C , que reveló la presencia significativa de sitios básicos de fuerza media, similar a lo encontrado en este estudio. Basahel *et al.* [100] obtuvieron un perfil de desorción

de MgAl-HT con un pico máximo a una temperatura de desorción cercana a los 400 °C e indicaron que las hidrotalcitas, se comportan como bases débiles. Di Cosimo *et al.* [95] estudiaron la basicidad de hidrotalcitas de Mg/Al calcinadas en una relación molar entre 0.5 a 9 y encontraron, que, a medida que aumenta la proporción de Al en la estructura de la hidrotalcita, se encuentra mayor proporción de sitios básicos de fuerza débil y media. La concentración de sitios básicos de carácter débil y medio reportada para hidrotalcitas calcinadas, es mucho menor (10,5 $\mu\text{mol/gcat}$ [95] o 40,8 $\mu\text{mol/m}^2$ [101]), que la concentración observada para la muestra de MgAl-4HT sin calcinación.

4.5. Transformación catalítica del estragol

4.5.1. Diseño experimental e identificación de los productos de la reacción.

Con el fin de encontrar las mejores condiciones para la isomerización del estragol al *trans*-anetol (Figura 27), en el presente trabajo, se realizó un diseño experimental (2^3), con réplicas en un punto interno. En la Tabla 10, se muestran las variables y los niveles establecidos para este diseño experimental. Los porcentajes de conversión y de selectividad del proceso de transformación del estragol al *trans*-anetol, se establecieron como parámetros (observable) para evaluar el efecto de las variables en la reacción, y se determinaron usando curvas de calibración de estas sustancias (Anexos A y G). Se utilizó como respuesta combinada, la suma de los valores de conversión y selectividad.

Figura 27. Esquema de la reacción de isomerización del estragol al *trans*-anetol sobre la hidrotalcita, MgAl-4HT.

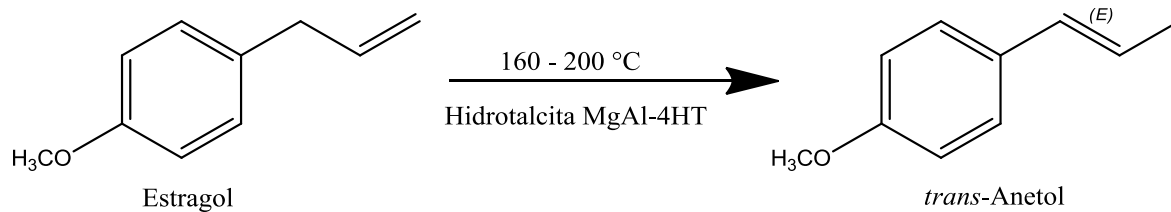


Tabla 10. Variables y niveles del diseño experimental 2^3 .

Variables	Niveles	
	-1	+1
Temperatura, °C	160	200
Relación AE: catalizador	5 : 1	20 : 1
Tiempo, h	2	6

En la **Tabla 11**, se muestran los valores de los observables obtenidos para cada tratamiento y, con base en estos resultados, se realizó el análisis de la varianza ANOVA.

Tabla 11. Resultados de la transformación catalítica del estragol al *trans*-anetol para cada tratamiento del diseño.

Experimento	Variables experimentales			Observables		
	Temperatura, °C	AE: Catalizador, g	Tiempo, h	Conversión, %	Selectividad, %	Respuesta combinada
1	160	1 : 0,20	2	41	86	127
2	200	1 : 0,20	2	98	87	185
3	160	1 : 0,04	2	2	65	67
4	200	1 : 0,04	2	30	83	113
5	160	1 : 0,20	6	47	82	129
6	200	1 : 0,20	6	98	85	183
7	160	1 : 0,04	6	7	78	85
8	200	1 : 0,04	6	35	77	113
9	180	1 : 0,06	4	14	76	90
10	180	1 : 0,06	4	15	76	91
11	180	1 : 0,06	4	14	75	89
12	180	1 : 0,06	4	15	75	89
13	180	1 : 0,06	4	14	72	86

El análisis de la varianza permitió evaluar estadísticamente las variables que tienen incidencia significativa sobre la isomerización del estragol al *trans*-anetol. Para llevar a cabo el análisis, se usó el *software Microsoft Excel 2010*.

En la **Tabla 12**, se muestran los resultados del análisis de varianza y se observa que todas las variables (A, B, C) y las interacciones (A*B, A*C y B*C) tienen incidencia significativa e influyen sobre el proceso de isomerización del estragol al *trans*-anetol. Las siguientes son variables con efecto más significativo sobre este proceso: relación AE: catalizador (B) y la temperatura (A), que representan el 97 % de la varianza total de los datos (Véase **Figura 28**).

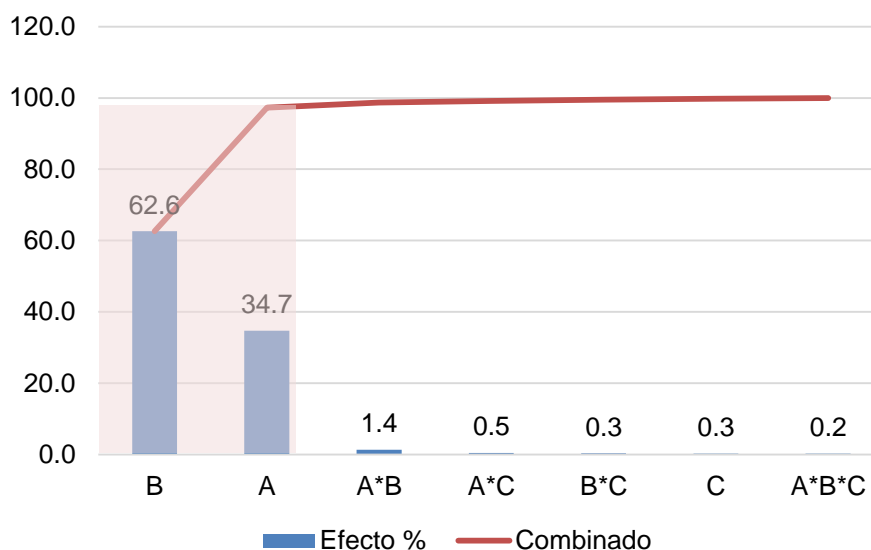
Tabla 12. Análisis de varianza de la respuesta del diseño experimental.

Estadístico	[A] Temperatura	[B] AE: catalizador	[C] Tiempo	[A*B]	[A*C]	[B*C]	[A*B*C]
Efecto	46.25	-61.75	4.25	-9.75	-5.75	4.25	-3.75
S²X	4278	7626	36.1	190.1	66.1	36.1	28.125
F calculado	1156	2061	51.3	9.7	17.8	9.7	7.6
S²W^a	3.7						
Significancia^b	Si	Si	Si	Si	Si	Si	No
F umbral	7.7						

^a Calculado a partir de réplicas en un punto interno.

^b Grado de significancia del 95%.

Figura 28. Diagrama de Pareto para la isomerización del estragol al *trans*-anetol, a partir del AE de *T. lucida*, sobre MgAl-4HT.



En las **Figuras 29 y 30** se muestran las gráficas del análisis de superficie de respuesta estimada, realizada con el *software Statgraphics*, en donde se observa cómo cambia la respuesta del observable (respuesta combinada: % conversión + % selectividad), si permanece constante la variable tiempo. Se observa, que tanto

a 2 h como a 6 h de la reacción se obtiene una mayor respuesta combinada, cuando disminuye la relación AE: catalizador; y aumenta la temperatura. La respuesta combinada que se observa en los dos casos, es similar, siendo ligeramente mayor en 2 h.

Figura 29. Superficie de respuesta estimada para la relación AE: catalizador y temperatura, en el nivel inferior del tiempo.

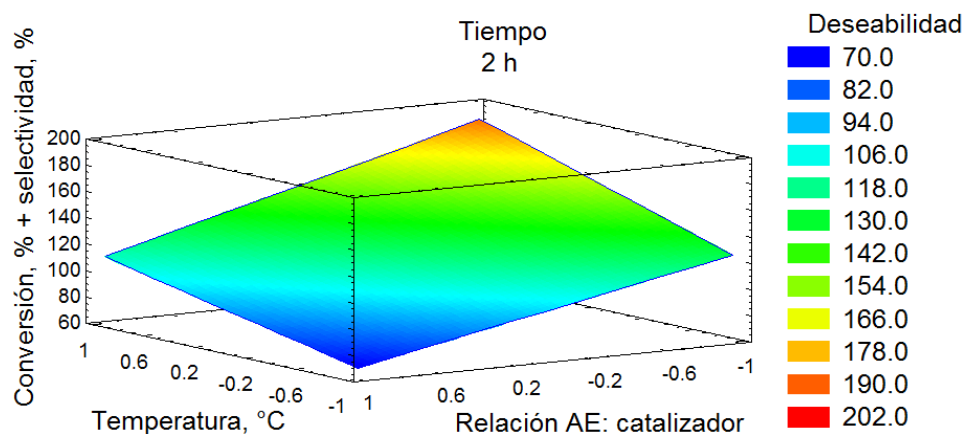
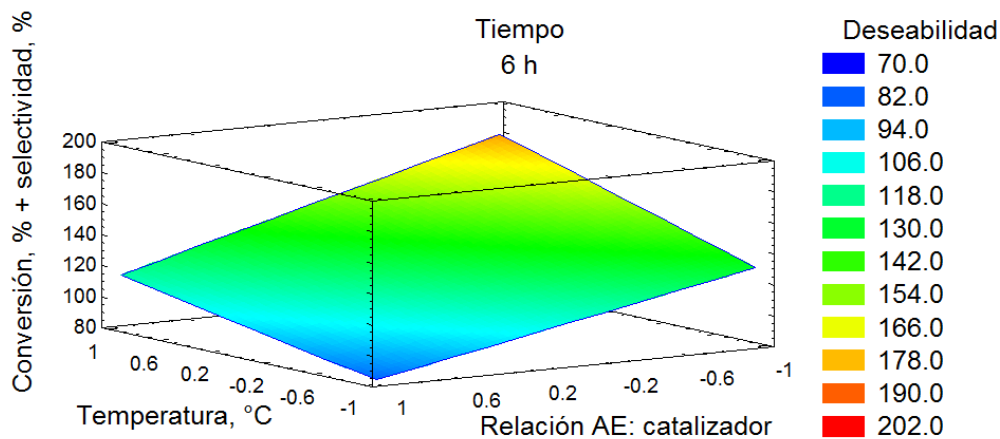


Figura 30. Superficie de respuesta estimada para la relación AE: catalizador y temperatura, en el nivel superior del tiempo.



La ecuación del modelo ajustado que mejor describe el valor de la suma de los porcentajes de conversión y selectividad en función de las variables analizadas, se muestra en la **Ecuación 8**.

$$\Sigma \% \text{ de conversión y \% de selectividad} = -183,67 + 1,35T + 378,83R + 27,137t + 0,574TR - 0,1354Tt$$

Ecuación 8

Dónde:

T: Temperatura.

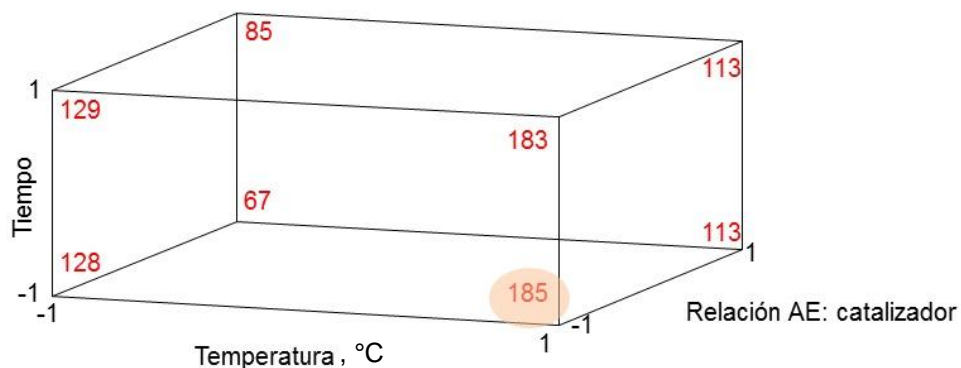
R: Relación AE: catalizador.

t: Tiempo de la reacción.

Con base es las gráficas de superficie de respuesta estimada y el modelo ajustado, se encontró que el punto en el que se obtiene la mayor respuesta del observable cuando hay 98% de conversión y 87 % de selectividad, corresponde a los puntos 1 (temperatura, 200 °C), -1 (relación AE:catalizador , 5:1) y -1 (tiempo, 2 horas), sin el uso de solvente. Kishore y colaboradores [68] encontraron que las mejores condiciones para la isomerización del estragol al *trans*-anetol, mediante MgAl-4HT, se dan a 200 °C, AE: catalizador 5:1 y seis h de reacción, empleando como solvente dimetilfomamida (DMF).

En la **Figura 31** se muestran las coordenadas experimentales para el diseño experimental 2³. Al comparar las esquinas de las caras superior e inferior del cubo, que muestran el efecto del tiempo, se encuentran diferencias pequeñas, a excepción de los resultados 67 y 85, de los experimentos 3 y 7, respectivamente, que se realizaron bajo las condiciones más desfavorables para el tratamiento, es decir, a la temperatura más baja y la relación AE: catalizador más alta, en donde el efecto del tiempo pueda tener mayor influencia.

Figura 31. Resultados del diseño experimental 2^3 y coordenadas experimentales.



En la **Figura 32-A**, se muestra el perfil cromatográfico del AE de *T. lucida* sin tratamiento y en la **Figura 32-B**, después del tratamiento con MgAl-4H, bajo las mejores condiciones encontradas para la isomerización. La identificación de los compuestos, que están presentes en el AE antes y después de tratamiento, se muestran en la **Tabla 13**; su cuantificación se realizó usando estándar interno, *n*-tetradecano, y para el caso del estragol y *trans*-anetol se realizó con base en la curva de calibración de sustancias patrón (Véanse **Anexos A y G**).

Figura 32. A. Cromatograma del AE de *T. lucida* y **B.** AE de *T. lucida* después del tratamiento con MgAl-4HT durante 2 h, 200 °C, 1 g AE, 0,2 g de hidrotalcita. Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1:30. GC-FID. ISTD: *n*-tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en la **Tabla 13**.

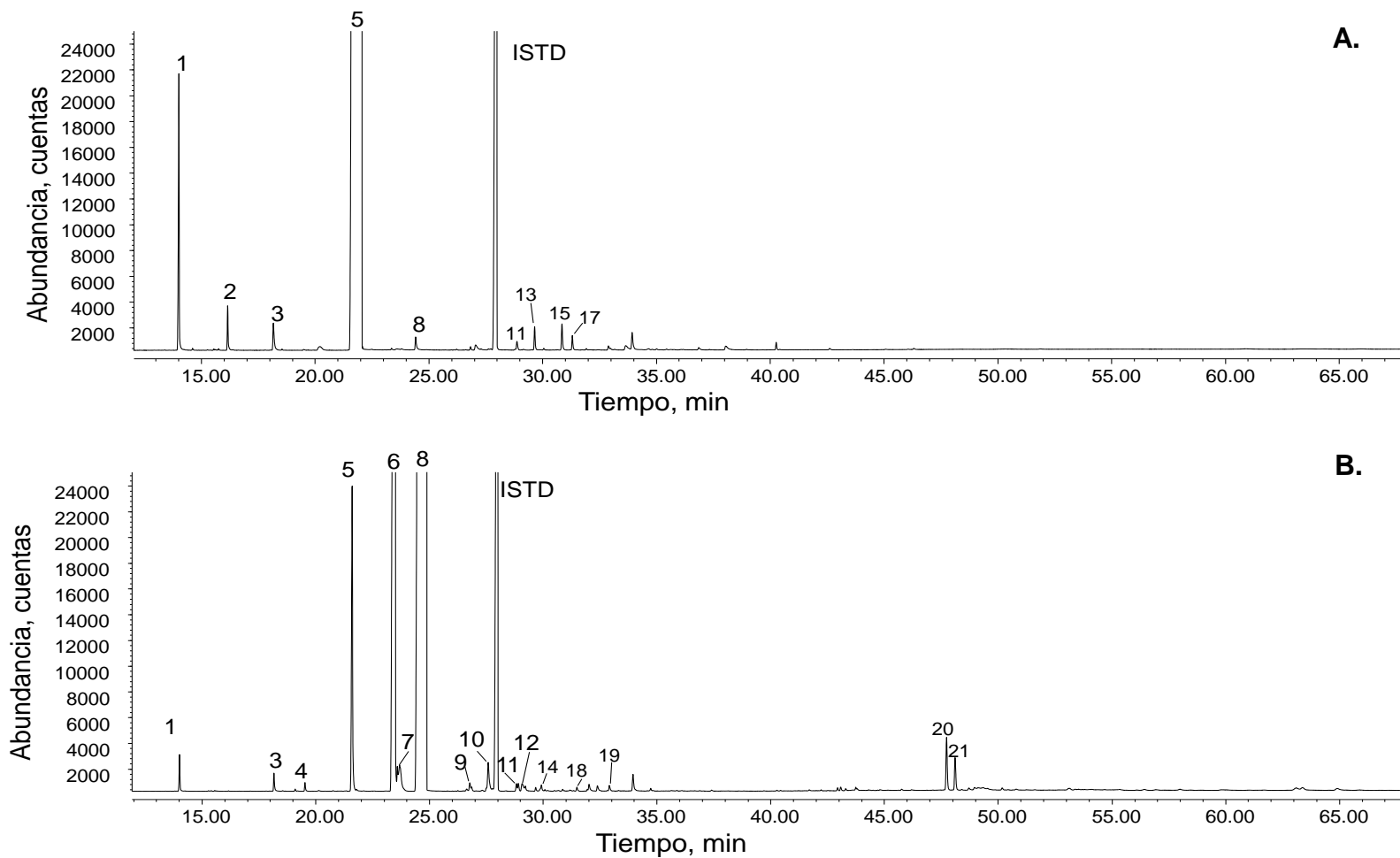


Tabla 13. Compuestos del AE de *T. lucida* y productos de su transformación catalítica con MgAl-4HT.

N° de pico Fig. 32	Compuesto	Índices de retención lineales (IRL)				mg compuesto/g AE (±s, n=3)		Criterios de identificación
		DB-5MS		DB-WAX		Sin tratamiento	Con tratamiento	
		Exp.	[80]	Exp.	[80]			
1	β-Mirceno	989	989	1159	1161	8 ± 2	3,3 ± 0,3	A,B
2	<i>trans</i> - β-Ocimeno	1049	1048	1246	1250	1,31 ± 0,03	-	A,B
3	Linalol	1099	1099	1538	1543	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,2	A,B
4	<i>allo</i> -Ocimeno	1142	1130	1389	1366	-	0,83 ± 0,03	A,B
5	Estragol	1201	1196	1659	1671	990 ± 34	18 ± 2	A,B,C
6	<i>cis</i> -Anetol	1259	1256*	1745	1732*	-	124 ± 8	A,B
7	<i>p</i> -Anisaldehído	1262	1252	2009	2011	-	1,8 ± 0,3	A,B
8	<i>trans</i> -Anetol	1301	1286	1826	1826	0,51 ± 0,03	770 ± 14	A,B,C
9	<i>p</i> -Acetanisol	1359	1345*	2125	-	-	0,2 ± 0,1	A,B
10	<i>p</i> -Acetonilanisol	1386	1385*	2140	-	-	1,3 ± 0,4	A,B
11	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1432	1420	1604	1599	0,44 ± 0,03	0,44 ± 0,02	A,B
12	β-Copaeno	1443	1433	1581	1580	-	0,47 ± 0,02	A,B
13	β-Farneseno	1456	1456	1666	1668	0,85 ± 0,05	-	A,B
14	α-Humuleno	1470	1463	1668	1667	-	0,3 ± 0,1	A,B
15	Germacreno D	1493	1481	1716	1708	1,08 ± 0,08	-	A,B

Tabla 13. Continuación.

16	Metil-isoeugenol	1495	1495	2174	2176	±	0,08 ± 0,01	A,B
17	α-Farneseno	1508	1504	1738	1744	0,53 ± 0,03	-	A,B
18	γ-Amorfenol	1513	1493*	1738	-	-	0,20 ± 0,03	A,B
19	Elemol	1557	1547	2074	2079	-	0,3 ± 0,1	A,B
20	N.I.; <i>m/z</i> (I%): 284 (M ⁺ , 14 %), 149 (11%), 148 (100%), 147 (11%), 134 (6%), 121 (20%) 91 (6%), 69 (9%).	2175	-	-	-	-	2,0 ± 0,1	-
21	N.I.; <i>m/z</i> (I%): 284 (M ⁺ , 10%), 149 (11%), 148 (100%), 147 (11%), 134 (7%), 121 (16%) 91 (5%), 69 (6%).	2205	-	-	-	-	1,3 ± 0,1	-

A - IRL.

B - MS, bases de datos (NIST, Wiley, Adams [81]).

C - Uso de patrones de referencia certificados.

*IRL reportados en la literatura [102].

Además, se realizó la isomerización del estragol (patrón certificado) al *trans*-anetol, para identificar los productos de la reacción en ausencia de otros compuestos del aceite (Véanse **Anexos H-J**). Los mismos compuestos *cis*-anetol, *p*-anisaldehído, *trans*-anetol, *p*-acetanisol, *p*-acetonilanetol y las sustancias 20 y 21 (**Tabla 13**) se encontraron durante el tratamiento tanto del AE como el patrón certificado, por lo cual pueden ser considerados productos de la transformación del estragol sobre la hidrotalcita MgAl-4HT. El producto mayoritario fue *trans*-anetol (770 ± 14 mg/g AE), seguido de *cis*-anetol (124 ± 8 mg/g AE) y *p*-anisaldehído ($1,8 \pm 0,3$ mg/g AE). En la **Figura 33**, se muestran las estructuras químicas de los productos de la reacción y, en la **Tabla 14**, aparecen los valores de selectividad para cada uno de ellos. En los anexos **K-O** se muestran los espectros de masas de los productos.

Figura 33. Estructura química de los principales productos de la reacción del estragol tratado con MgAl-4HT.

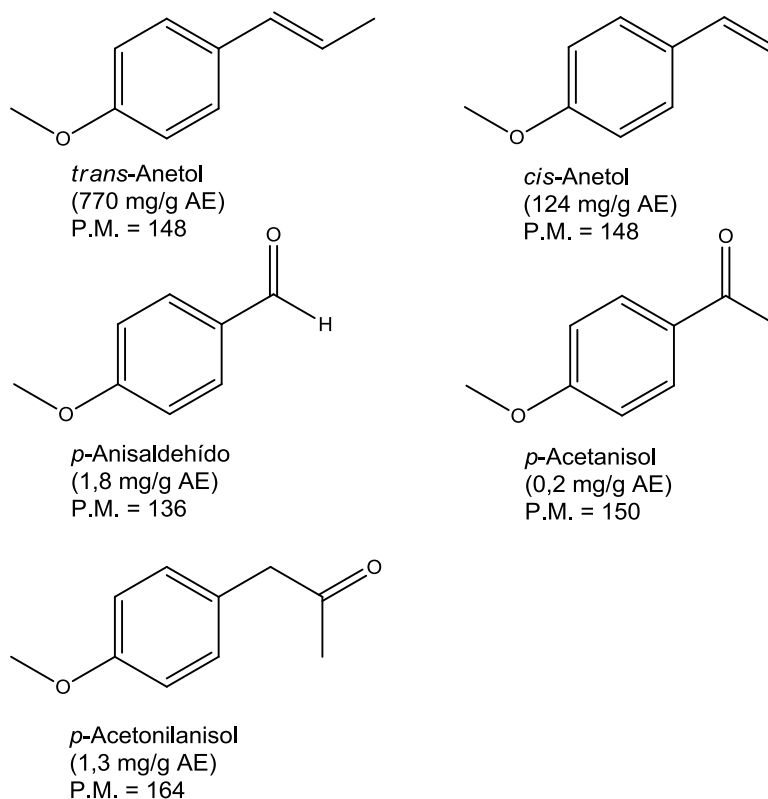


Tabla 14. Selectividad hacia los productos de la transformación del estragol, presente en el AE de *T. lucida*, después del tratamiento con MgAl-4HT.

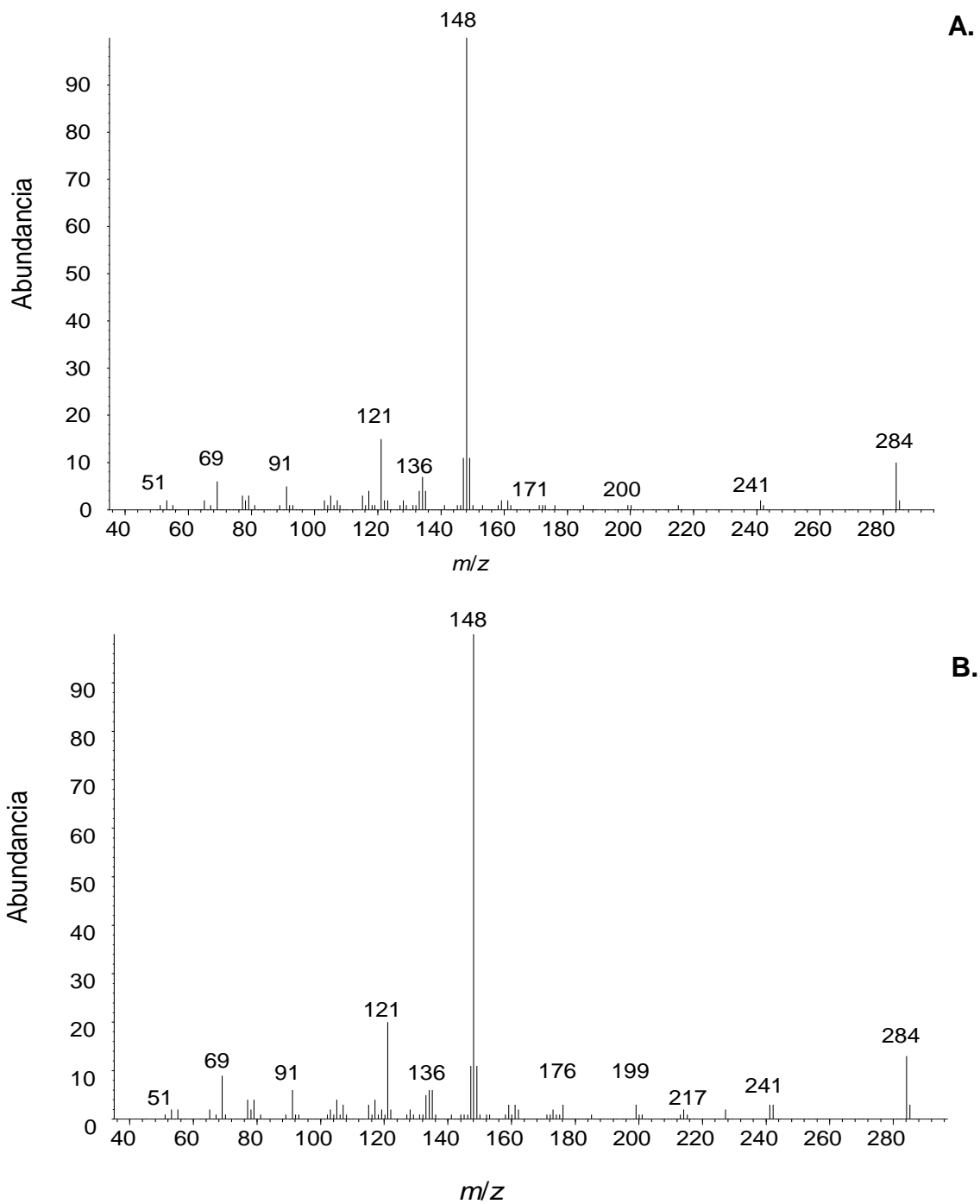
Producto	Selectividad, % (\pm s, n=3)
<i>cis</i> -Anetol	14,4 \pm 0,3
<i>p</i> -Anisaldehído	0,21 \pm 0,02
<i>trans</i> -Anetol	86,9 \pm 0,3
<i>p</i> -Acetanisol	0,025 \pm 0,004
<i>p</i> -Acetonilanisol	0,15 \pm 0,03

Los productos 20 y 21 de la **Tabla 13** no fueron identificados pero, por las pérdidas de fragmentos de masas similares a las observadas en el espectro del estragol, se consideraron como sus derivados. Los espectros de masas de estos dos compuestos son muy parecidos, por lo que pueden considerarse como isómeros. En la **Tabla 15**, se observan las intensidades relativas de los iones característicos en los espectros de masas de los derivados (Véase **Figura 34**).

Tabla 15. Intensidades relativas (%) de los iones característicos en los espectros de masas de los producto 1 y 2.

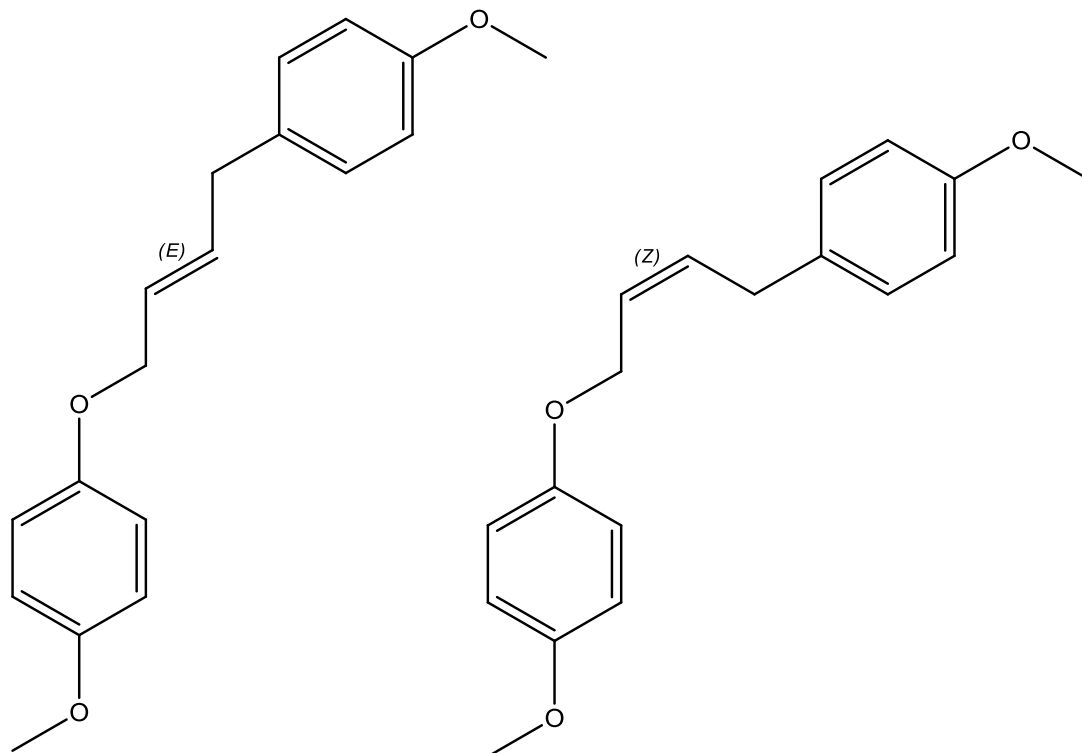
Producto	<i>m/z</i> , (%)			
	M ⁺ C ₁₈ H ₂₀ O ₃	C ₁₀ H ₁₂ O ⁺	C ₈ H ₉ O ⁺	C ₇ H ₇ ⁺
1	284 (14%)	148 (100%)	121 (20%)	91(6%)
2	284 (10%)	148 (100%)	121 (16%)	91(5%)

Figura 34. Espectros de masas (EI, 70 eV) de **A.** Producto 1 y **B.** Producto 2 correspondientes a los picos 20 y 21 (Tabla 13), en tiempos de retención de 47,72 y 48,10 respectivamente en la **Figura 32-B.**



En la **Figura 35**, se muestran las estructuras propuestas para los productos 1 y 2

Figura 35. Estructuras propuestas para el Producto 1 y 2.



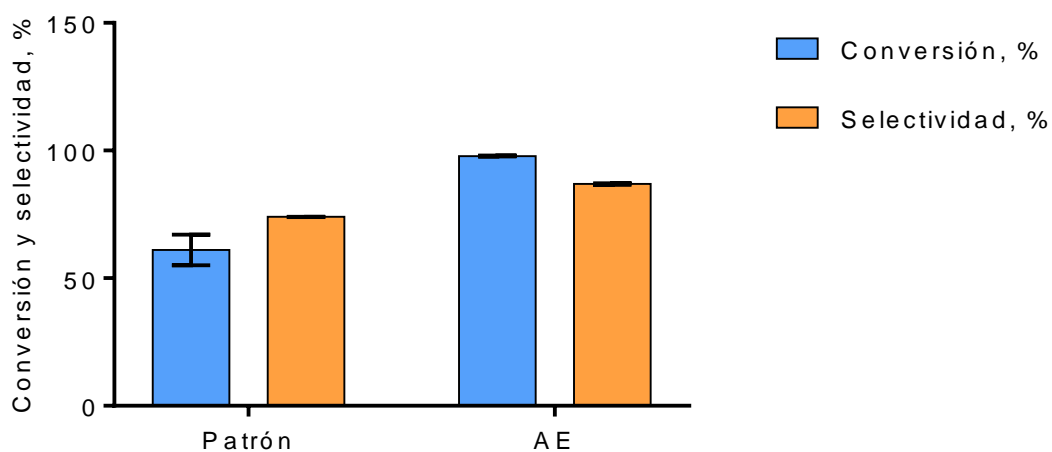
Producto 1

Producto 2

En la **Figura 36**, se muestran los valores de conversión y de selectividad encontrados cuando se utilizó el AE y el patrón certificado de estragol respectivamente, bajo las mismas condiciones experimentales. El estragol (patrón certificado) experimentó menor porcentaje de conversión y selectividad en comparación con el estragol en el AE de *T. lucida*. Cabe resaltar, que para ninguno de los dos casos se empleó solvente. La diferencia puede, eventualmente, deberse a que los compuestos presentes en el aceite esencial tengan un efecto sinérgico en la transformación del estragol, ya que los monoterpenos de los AE pueden actuar como solventes y facilitar la reacción de conversión, tal como lo hacen derivados del petróleo en diversas aplicaciones, por

ejemplo, el α -pineno en la eficacia de extracción de ácidos grasos, reemplazando al *n*-hexano [103], o en la extracción de licopeno de tomates frescos, cuando el limoneno se usó en lugar de diclorometano [104].

Figura 36. Porcentajes de conversión y selectividad de la transformación del estragol al *trans*-anetol empleando estragol puro (patrón certificado) y AE de *T. lucida*.



La hidrotalcita MgAl-4HT tuvo poca actividad para la conversión del *trans*-anetol al estragol; el *trans*-anetol (99.5% pureza, Aldrich) se sometió a las mejores condiciones experimentales encontradas, y se obtuvo una conversión de 28 % \pm 4 (\pm s, n=2), y una selectividad hacia la formación del estragol de 4 % \pm 2. En los **Anexos P-R**, se muestran perfiles cromatográficos de los productos de la reacción catalítica del *trans*-anetol, los productos de la reacción identificados y los valores de selectividad para cada producto, respectivamente.

En la **Tabla 16**, aparece reportada la variación de la cantidad de los productos mayoritarios de la reacción, con el cambio de la temperatura, bajo las mismas condiciones de relación AE:catalizador (5: 1) y tiempo (2 h), con y sin catalizador. Se observa que, sin el catalizador tanto a 160 °C y 200 °C hay mayor formación de *cis*-anetol que de *trans*-anetol. Al comparar el tratamiento con la hidrotalcita, se

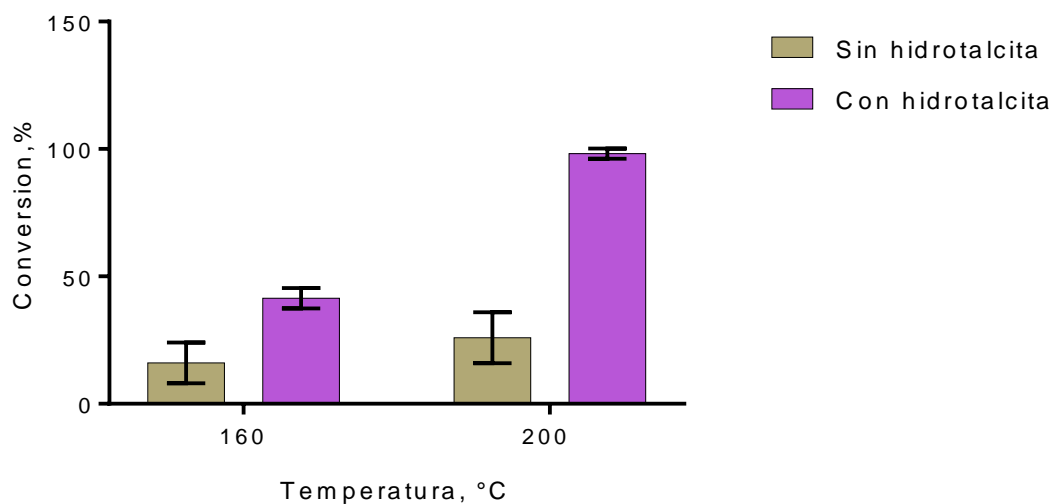
favorece la formación de *p*-anisaldehído. Con hidrotalcita, la selectividad de la formación de *trans*-anetol disminuye con el aumento de la temperatura, ya que, la relación entre *trans*- y *cis*-anetol es de 6.75 a 160 °C y 6.23 a 200 °C, aunque la cantidad de *trans*-anetol es más del doble.

Tabla 16. Variación en la cantidad de los productos de la reacción con el cambio de la temperatura, con y sin el uso de hidrotalcita.

Compuesto	Cantidad mg compuesto/g AE			
	160, °C		200, °C	
	Con hidrotalcita	Sin hidrotalcita	Con hidrotalcita	Sin hidrotalcita
Estragol	579 ± 13	832 ± 8	18 ± 2	732 ± 10
<i>cis</i> -Anetol	48 ± 3	5.4 ± 2	124 ± 8	12 ± 1
<i>p</i> -Anisaldehído	2 ± 1	0.064 ± 0,02	1,8 ± 0,3	-
<i>trans</i> -Anetol	324 ± 17	2.3 ± 0,5	773 ± 14	4,1 ± 0,6

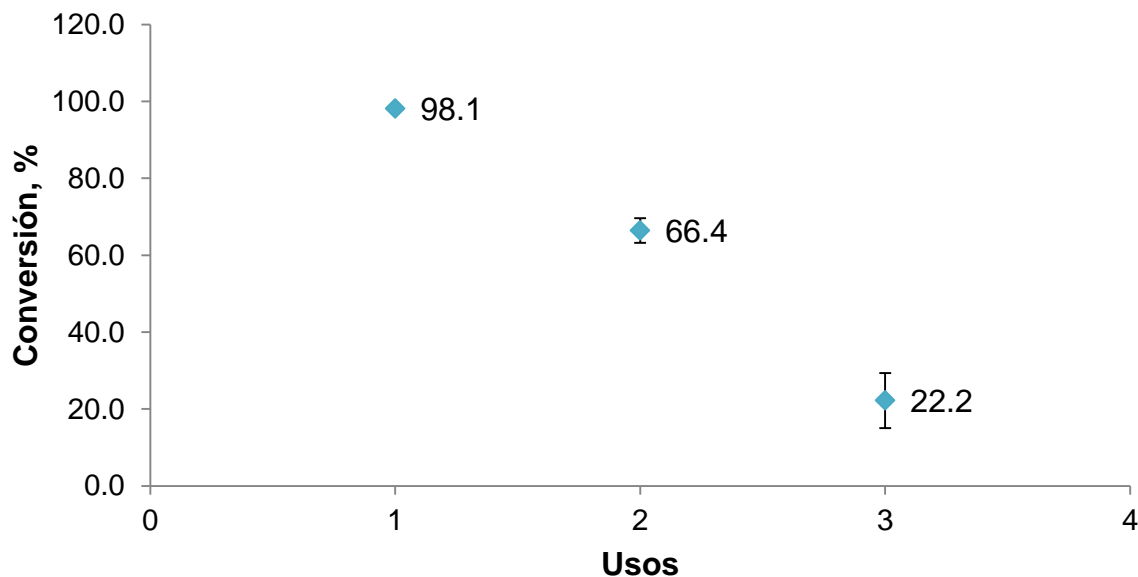
En la **Figura 37** se muestran los porcentajes de conversión, con el cambio de la temperatura en ausencia y presencia de catalizador. Se observa un aumento del porcentaje de conversión cuando aumenta la temperatura con hidrotalcita. No se encontraron variaciones significativas en los porcentajes de conversión sin hidrotalcita.

Figura 37. Porcentajes de conversión, con el cambio de la temperatura, en ausencia y presencia de MgAl-4HT.



4.5.2. Reutilización del catalizador. Se realizaron dos pruebas para reutilizar MgAl-4HT con el fin de evaluar su estabilidad. Después de la reacción, el catalizador se separó por centrifugación, se lavó con agua destilada, se secó a temperatura ambiente y se evaluó nuevamente la reacción, bajo las mismas condiciones originales. Los resultados se muestran en la Figura 38.

Figura 38. Pruebas de reutilización de MgAl-4HT en la conversión del estragol al *trans*-anetol a partir del AE de *T. lucida*.



Los resultados de la **Figura 38** muestran una pérdida significativa en la actividad del catalizador, después de su uso dos veces consecutivas. El sólido utilizado se caracterizó por DRX (**Anexo S**) y se observó un corrimiento en el perfil de DRX, que se puede asociar a un cambio en la estructura cristalina de la hidrotalcita, probablemente, por el tratamiento realizado, debido a que a temperaturas de 200°C se empiezan a presentarse pérdidas de agua y la deshidroxilación de las capas laminares [99].

5. Costos

La metodología realizada en este trabajo ofrece una alternativa de síntesis del estragol al *trans*-anetol a través del cultivo de la planta *T. lucida*, que puede constituir una alternativa económica para los agricultores, ya que, en Colombia es poco cultivada y no se encuentra industrializada, y su cultivo puede realizarse ventajosamente en el país. El uso del AE de *T. lucida* como precursor natural del *trans*-anetol tiene ventajas económicas, pues el precio del AE es de 0.41 USD/mL [105], y el estragol puro cuesta 34 USD/mL [106], la producción de AE de *T. lucida* es de 115 kg/ha [84], el costo del catalizador es de 87 USD/kg [106] y el costo del *trans*-anetol puro es de 34 USD/mL [106].

6. CONCLUSIONES

El rendimiento del AE obtenido de *T. lucida* por MWHD fue de 0,8%, cuando se utilizaron las hojas, tallos y flores, y de 0,41%, cuando se usaron solo hojas y tallos, sin flores.

La composición química del AE de *T. lucida* se determinó por cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas y un detector de ionización en llama. El AE de *T. lucida* tiene componente mayoritario estragol (98%), que pertenece a la familia de los fenilpropanoides, otros compuestos se encuentran en cantidades relativas mucho más bajas (0.8%), entre ellos figuran los monoterpenos (β -mirceno, *trans*- β -ocimeno), monoterpenos oxigenados (linalol), sesquiterpenos (*trans*- β -cariofileno, α -farneseno, β -farneseno y germacreno D) y fenilpropanoides (*trans*-anetol).

Para la isomerización del estragol al *trans*-anetol a partir del aceite esencial de *T. lucida*, se sintetizó la hidrotalcita MgAl-4HT por el método de coprecipitación a baja sobresaturación, que se caracterizó por difracción de rayos X y espectroscopia de infrarrojo. El análisis textural BET mostró la naturaleza de un material mesoporoso, con área superficial de $75,8 \pm 0,39 \text{ m}^2/\text{g}$, diámetro de poro de 28,50 nm y volumen de poro de $0,53 \text{ cm}^3/\text{g}$. Las propiedades determinadas por el análisis TPD-CO₂ mostraron sitios básicos de fuerza débil y media con una concentración total de 1835,1 mmol/ g.

Mediante la implementación de un diseño experimental 2³, donde el observable fue la suma de porcentajes de conversión y de selectividad, se encontró que las variables temperatura, relación AE: catalizador, tiempo, e interacciones entre estos parámetros, tienen efecto significativo sobre la isomerización del estragol del AE de *T. lucida* al *trans*-anetol, usando como catalizador la hidrotalcita MgAl-4HT. Las siguientes fueron las mejores condiciones, a saber: temperatura de 200 °C, una

relación AE: catalizador 5:1 y dos horas de reacción, sin el uso de solvente. Bajo estas condiciones, fue posible obtener un porcentaje de conversión del estragol al *trans*-anetol de 98% y la selectividad hacia *trans*-anetol de 86%.

Usando el AE de *T. lucida*, se logró obtener la conversión y la selectividad de la transformación del estragol al *trans*-anetol, más altas que cuando se usó el estragol puro (patrón certificado). Todos se usaron sin solventes.

Durante su uso, la actividad del catalizador se disminuye, por lo que, solo es posible utilizarlo una vez, cuando su eficiencia es máxima.

Con la cantidad de *trans*-anetol obtenida después del tratamiento del AE de *T. lucida* se puede alcanzar una producción aproximada de 88,55 kg/ha.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la destilación fraccionada, después del proceso de transformación catalítica del aceite esencial de *Tagetes lucida*, para aumentar la concentración de *trans*-anetol y separarlo de *cis*-anetol y estragol remanente en el AE.

8. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Resultados parciales de este trabajo fueron divulgados, en modalidad de póster, en diferentes eventos nacionales e internacionales, a saber: Primer Encuentro Científico de la Facultad de Ciencias UIS (2015, Bucaramanga, Colombia), IV Congreso Latinoamericano de Plantas Medicinales (COLAPLAMED, 2016, Barranquilla, Colombia) y VIII Simposio Brasileiro de Aceites Esenciales (SBOE, 2015, Río de Janeiro, Brasil).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Stashenko, E. Aceites esenciales. Ed. División de Publicaciones UIS. Bucaramanga. **2009**. 19-20.
- 2 Stashenko, E; Martínez, J.; Kouznetsov, V., y Páez, E. Estudio de la transformación catalítica del limoneno y del aceite esencial de naranja. Proyecto de investigación. División de Publicaciones UIS. Bucaramanga. **1995**. 19-24.
- 3 Ciccio, J. A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Journal of Tropical Biology*. **2004**. 52. 853-857.
- 4 Khan, I. y Abourashed, E. Leung's Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. John Wiley & Sons. Hoboken. **2010**. 36-39.
- 5 Eirew, G. Pharmaceutical composition for improving oral hygiene and methods thereof. U.S. Patent Appl., US2009035229, **2009**.
- 6 Zongliang, H. Anethole development trends. In: Proceedings of the IFEAT International Conference 2012; Greenhalgh, P., Ed. International Federation of Essential Oils and Aroma Trades: London. **2012**. 103-111.
- 7 Muñoz, A.; Bottia, E.; Patiño, J.; Díaz, Olga.; Martínez, J.; Kouznetsov, V., y Stashenko, E. Estudio comparativo sobre la capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS⁺ por los aceites esenciales de especies aromáticas con alto contenido de *trans*-anetol y estragol. *Scientia et Technica*. **2007**. 33. 117-120.
- 8 Kubo, I. y Himejima, M. Anethole, a synergist of polygodial against filamentous microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1991**. 39. 2290-2292.
- 9 Al-Harbi, M.; Qureshi, S.; Raza, M.; Ahmed, M.; Giangreco, A., and Shah, A. Influence of anethole treatment on the tumour induced by Ehrlich ascites

- carcinoma cells in paw of swiss albino mice. *European Journal of Cancer Prevention*. **1995**. 4. 307-318.
- 10 Chainy, G.; Manna, S.; Chaturverdi, M., and Aggarwall, B. Anethole blocks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor: effect on NF-kappaB, AP-1, JNK, MAPKK and apoptosis. *Oncogene*. **2000**. 19. 2943-2950.
- 11 Kim, D. and Ahn, Y. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Management Science*. **2001**. 57. 301-306.
- 12 Ghelardini, C.; Galeotti, N., and Mazzanti, G. Local anaesthetic activity of monoterpenes and phenylpropanes of essential oils. *Planta Medica*. **2001**. 67. 564-566.
- 13 Stashenko, E. y Martínez, J. (Editores). Plantas aromáticas y aceites esenciales: estudio y aplicaciones. División de publicaciones UIS. Bucaramanga. **2012**. 257-258.
- 14 Reddy, B.; Rao, C.; Rivenson, A., and Kellof, G. Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. *American Association for Cancer Research*. **1993**. 53. 3493-3498.
- 15 Newberne, P.; Smith, R.; Doull, J.; Goodman, J.; Munro, I.; Portoghese, P.; Wagner, B.; Weil, C.; Woods, L.; Adams, T.; Lucas, C., and Ford, R. The FEMA GRAS assessment of *trans*-anethole used as a flavouring substance. *Food and Chemical Toxicology*. **1999**. 37. 789-811.
- 16 Caujolle, F. and Meynier, D. Toxicity of tarragon oil and the anetholes (*cis*- and *trans*-). *Academy of Science*. **1958**. 246. 1465-1468.
- 17 De Vincenti, M.; Silano, M.; Maialetti, F., and Scazzocchio, B. Constituents of aromatic plants: II. Estragole. *Fitoterapia*. **2000**. 71. 725-729.
- 18 Stashenko, E.; Wiame, H.; Dassy, S.; Martinez, J., and Shibamoto, T. Catalytic transformation of copaiba (*Copaifera officinalis*) oil over zeolite ZSM-5. *Journal of Separation Science*. **1995**. 18. 54-58.

- 19 Stashenko, E.; Martinez, C.; Martinez, J., and Shibamoto, T. Catalytic transformation of anise (*Pimpinella anisum* L.) oil over zeolite Y. *Journal of Separation Science*. **1995**. 18. 501-503.
- 20 Castro, H.; Martínez, J., and Stashenko, E. Anethole isomerization and dimerization induced by acid sites or UV irradiation. *Molecules*. **2010**. 15. 5012-5030.
- 21 Lim, T. Edible medicinal and non-medicinal plants. Volume 7, Flowers. Dordrecht, Holland. Springer. **2014**. 418-455.
- 22 Pérez, J.; Sandoval, B.; Echeverría, S.; Morales, M., and Taracena, E. Determinación de los aceites esenciales y principios activos de seis plantas medicinales cultivadas en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. **1999**. 6.
- 23 Guzmán, L.; Reyes, R., and Bonilla, H. Medicinal plants for the treatment of “nervios”, anxiety, and depression in Mexican traditional medicine. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2014**. 24. 591-608.
- 24 Bown, D. Encyclopaedia of herbs and their uses. Ed. Dorling Kindersley. London. **1995**. 424.
- 25 Herbario Nacional Colombiano, [Sitio de internet] disponible en: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/>. Fecha de consulta: 15 de julio de 2016.
- 26 Céspedes, C.; Avila, G.; Martínez, A.; Serrato, B.; Calderón, J., and Salgado, R. Antifungal and antibacterial activities of Mexican Tarragon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2006**. 54. 3521-3527.
- 27 Guadarrama, G.; Alarcon, F.; Lezama, R.; Vazquez, G., and Bonilla, H. Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology*. **2008**. 120. 277-281.
- 28 Aquino, R.; Cáceres, A.; Morelli, S., and Rastrelli, L. An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants. *Journal of Natural Products*. **2002**. 65. 1773-1776.

- 29 Nerio, L.; Olivero, J., and Stashenko, E. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*. **2009**. 45. 212-214.
- 30 Téllez, M.; Treviño, J.; Verde, M.; Rivas, C.; Oranday, A.; Moran, J. Serrano, L. y Morales, M. Evaluación del efecto del extracto metanólico de *Tagetes lucida* sobre la función testicular y calidad espermática en ratas macho Wistar. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **2013**. 44. 43-52.
- 31 Guzmán, A. y Manjarrez, A. Estudio del aceite esencial de *Tagetes florida*. *Boletín del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México*. **1962**.14. 48-54.
- 32 Hethelyi, E.; Danos, B.; Tetenyi, P., and Juhasz G. Phytochemical studies on *Tagetes* species; infraspecific differences of the essential oil in *T. minuta* and *T. tenuifolia*. *Herba Hungarica*.**1987**. 26. 145-158.
- 33 Bicchi, C.; Fresia, M.; Rubiolo, P.; Monti, D.; Franz, C., and Goehler, I. Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. **1997**. 12. 47-52.
- 34 Regalado, E.; Fernández, M.; Pino, J.; Mendiola, J., and Echemendia, O. Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*. **2011**. 23. 63-67.
- 35 Olivero, J.; González, T.; Güette, J.; Jaramillo, B., and Stashenko, E. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2010**. 20. 568-574.
- 36 Ríos, T. y Flores, M. Estudio químico de los *Tagetes*. *Revista Latinoamericana de Química*. **1976**. 7. 33–36.
- 37 Abdala, L. Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. **1999**. 27. 753-754.
- 38 Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D., and Idaomar, M. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. **2008**. 46. 446-475.

- 39 Sell, C. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. The Royal Society of Chemistry. Padstow. **2003**. 1-2.
- 40 Clarke, S. Essential chemistry for aromatherapy. Ed. Churchill Livingstone. London. United Kingdom. **2008**. 41-77.
- 41 Kurkin, V. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*. **2003**. 39. 123-153.
- 42 Obistioiu, D.; Romeo, C.; Schmerold, I.; Chizzola, R.; Stolze, K.; Nichita, I., and Chiurciu, V. Chemical characterization by GC-MS and *in vitro* activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracunculus*, *A. abrotanum*, *A. absinthium* and *A. vulgaris*. *Chemistry Central Journal*. **2014**. 8. 1-11.
- 43 Andrade, T.; Lima, S.; Freitas, R.; Rocha, M.; Islam, T.; Silva, T., and Militão, G. Isolation, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of estragole, obtained from the essential oil of *Croton zehntneri* (euphorbiaceae). *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*. **2015**. 87. 173-182.
- 44 Hussain, R.; Poveda, L.; Pezzuto, J.; Soejarto, D., and Kinghorn, A. Sweetening agents of plant origin: Phenylpropanoid constituents of seven sweet-tasting plants. *Economic Botany*. **1990**. 44. 174-182.
- 45 Orav, A.; Raal, A., and Arak, E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Natural Product Research*. **2008**. 22. 227-232.
- 46 Zeller, A.; Horst, K., and Rychlik, M. Study of the metabolism of estragole in humans consuming fennel tea. *Chemical Research in Toxicology*. **2009**. 22. 1929–1937.
- 47 Bedini, S.; Bougherra, H.; Flamini, G.; Cosci, F.; Belhamel, K.; Ascrizzi, R., and Conti, B. Repellency of anethole-and estragole-type fennel essential oils against stored grain pests: the different twins. *Bulletin of Insectology*. **2016**. 69. 149-157.

- 48 Song, Y.; Choi, M.; Choi, G.; Park, I., and Oh, C. Antibacterial activity of cinnamaldehyde and estragole extracted from plant essential oils against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing bacterial cancer disease in kiwifruit. *Plant Pathology Journal*. **2016**. 32. 363-370.
- 49 Oliveira, C.; Meurer, Y.; Medeiros, T.; Pohlit, A.; Silva, M.; Mineo, T., and Andrade-Neto, V. Anti-toxoplasma activity of estragole and thymol in murine models of congenital and noncongenital toxoplasmosis. *Journal of Parasitology*. **2016**. 102. 369-376.
- 50 Chang, C.; Cho, I., and Li, Q. Insecticidal activity of basil oil, *trans*-anethole, estragole, and linalool to adult fruit flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *B. cucurbitae*. *Journal of Economic Entomology*. **2009**. 102. 203-209.
- 51 Rodrigues, L.; Oliveira, A.; Cesário, F.; Ferreira, F.; Rodrigues, T.; Martins, M., and Alencar, I. Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: *In vivo* mouse models. *Chemico-Biological Interactions*. **2016**. 257. 14-25.
- 52 Shin, S. and Kang, C. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. *Letters in Applied Microbiology*. **2003**. 36. 111-115.
- 53 Miller, E.; Swanson, A.; Phillips, D.; Fletcher, F.; Liem, A., and Miller, A. Structure-activity studies of the carcinogenicities in the mouse and rat of some naturally occurring and synthetic alkenylbenzene derivatives related to safrole and estragol. *Cancer Research*. **1983**. 43. 1124-1134.
- 54 Kaledin, V.; Pakharukova, M.; Pivovarova, E.; Kropachev, K.; Baginskaya, N.; Vasilieva, E., and Merkulova, T. Correlation between hepatocarcinogenic effect of estragole and its influence on glucocorticoid induction of liver-specific enzymes and activities of FOXA and HNF4 transcription factors in mouse and rat liver. *Biochemistry*. **2009**. 74. 377-384.
- 55 Wiseman, R.; Fennell, T.; Miller, J., and Miller, E. Further characterization of the DNA adducts formed by electrophilic esters of the hepatocarcinogens 1'-

- hydroxysafrole and 1'-hydroxyestragole *in vitro* and in mouse liver *in vivo*, including new adducts at C-8 and N-7 of guanine residues. *Cancer Research*. **1985**. 45. 3096-3105.
- 56 Paini, A.; Punt, A.; Scholz, G.; Gremaud, E.; Spenkelink, B.; Alink, G.; Schilter, B.; Bladeren, P., and Rietjens, I. *In vivo* validation of DNA adducts formation by estragole in rats predicted by physiologically based biodynamic modeling. *Mutagenesis*. **2012**. 27. 653-663.
- 57 Punt, A.; Delatour, T.; Scholz, G.; Schilter, B.; Bladeren, P., and Rietjens, I. Tandem mass spectrometry analysis of N^2 -(*trans*-isoestragol-3'-yl)-2'-deoxyguanosine as a strategy to study species differences in sulfotransferase conversion of the proximate carcinogen 1'-hydroxyestragole. *Chemical Research in Toxicology*. **2007**. 20. 991-998.
- 58 Suzuki, Y.; Umemura, T.; Hibi, D.; Inoue, T.; Jin, M.; Ishii, Y.; Sakai, H.; Nohmi, T.; Yanai, T.; Nishikawa, A., and Ogawa, K. Possible involvement of genotoxic mechanisms in estragole-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Archives of Toxicology*. **2012**. 86. 1593-1601.
- 59 Martins, C.; Cacão, R.; Cole, K.; Phillips, D.; Laires, A.; Rueff, J., and Rodrigues, A. Estragole: A weak direct-acting food-borne genotoxin and potential carcinogen. *Mutation Research*. **2012**. 747. 86-92.
- 60 Heveling, J. Heterogeneous catalytic chemistry by example of industrial applications. *Journal of Chemical Education*. **2012**. 89. 1530-1536.
- 61 Hartati, H.; Santoso, M.; Triwahyono, S., and Prasetyoko, D. Activities of heterogeneous acid-base catalysts for fragrances synthesis: a review. *Chemical Reaction Engineering and Catalysis*. **2013**. 8. 14-33.
- 62 Li, F. and Duan, X. Layered double hydroxides. Springer. Berlín. **2006**. 193–223.
- 63 Ocaña, M. Síntesis de hidrotalcitas y materiales derivados: aplicación en catálisis básica. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid. Madrid. **2005**.

- 64 Nezhad, E.; Ghorbani, M.; Zeinalkhani, M., and Heidari, A. A new technique to absorb yellow GX anionic pigments. *American Journal of Chemistry*. **2013**. 3. 6-9.
- 65 Klemkaite, K.; Prosycevas, I.; Taraskevicius, R.; Khinsky, A., and Kareiva, A. Synthesis and characterization of layered double hydroxides with different cations (Mg, Co, Ni, Al), decomposition and reformation of mixed metal oxides to layered structures. *Central European Journal of Chemistry*. **2011**. 9. 275-282.
- 66 Ono, Y. and Hattori, H. Solid base catalysis (Vol. 101). Springer Science & Business Media. Nueva York. **2012**. 11-66.
- 67 Kishore, D. and Kannan, S. Catalytic isomerization of estragole to anethole over hydrotalcites and HT-like compounds. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. **2006**. 244. 83-92.
- 68 Wang, H.; Yuan, X., and Li, H. PEM fuel cell diagnostic tools. CRC Press. Nueva York. **2011**. 289-312.
- 69 Suart, B. Infrared spectroscopy: fundamental and applications. Wiley. Chichester. **2004**. 1-13.
- 70 Sing, K. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure and Applied Chemistry*. **1985**. 57. 603-619.
- 71 Leofanti, G.; Padovan, M.; Tozzola, G., and Venturelli, B. Surface area and pore texture of catalysts. *Catalysis Today*. **1998**. 41. 207-219.
- 72 Droguett, S. Elementos de catálisis heterogénea. Editorial Oea. Chile. **1983**. 27-28.
- 73 Ferhat, M.; Meklati, B.; Smadja, J., and Chemat, F. An improved microwave *Clevenger* apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*. **2006**. 1112. 121–126.
- 74 Li, Y.; Tixier, A., and Chemat, F. Essential oils as reagents in green chemistry. Springer. Avignon. France. **2014**. 13.

- 75 Chauhan, A.; Kumar, M., and Chauhan, P. GC-MS Technique and its analytical applications in science and technology. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*. **2014**. 5. 1-6.
- 76 Skoog, D.; Holler, F., and Nieman, T. Principios de análisis instrumental. McGrawHill. Madrid. **2000**. 785-786.
- 77 Srivastava, V.; Bajaj, H., and Jasra, R. Solid base catalysts for isomerization of 1-methoxy-4-(2-propen-1-yl)benzene to 1-methoxy-4-(1-propen-1-yl) benzene. *Catalysis Communications*. **2003**. 4. 543-548.
- 78 Sharma, S.; Srivastava, V.; Pandya, P., and Jasra, R. Solvent-free isomerization of methyl chavicol to *trans*-anethole using transition metal complexes as catalysts. *Catalysis Communications*. **2005**. 6. 205-209.
- 79 Menéndez, L.; Crochet, P., and Cadierno, V. A catalytic system for the estragole to anethole isomerization based on $[\{\text{RuCl}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2]$. *Current Green Chemistry*. **2014**. 1. 128-135.
- 80 Babushok, V.; Linstrom, P., and Zenkevich, I. Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *The Journal of Physical Chemistry Reference Data*. **2011**. 40.1-47.
- 81 Adams, R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Ed. Allured Publishing Corporation. USA. **2007**. 456.
- 82 Theiss, F.; Ayoko, G., and Frost, R. Synthesis of layered double hydroxides containing Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} and Al^{3+} layer cations by co-precipitation methods: A review. *Applied Surface Science*. **2016**. 383. 200-20.
- 83 Omer, E.; Hendawy, S.; Ismail, R.; Petretto, G.; Rourke, J., and Pintore, G. Acclimatization study of *Tagetes lucida* L. in Egypt and the chemical characterization of its essential oils. *Natural Product Research*. **2017**. 31. 1-9.
- 84 Vargas, A. y Bottia, E. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de

- Bolívar y El Peñón - Santander, Colombia. Tesis de pregrado. Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander. **2008**. 145.
- 85 Acosta, L.; Hechevarría, I.; Rodríguez C., y Milanés, M. Momento óptimo de plantación y de cosecha en *Tagetes lucida* Cav. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **2011**. 16. 201-208.
- 86 Muñoz, A.; Kouznetsov, V., and Stashenko, E. Composition and *in-vitro* antioxidant capacity of essential oils rich in thymol, carvacrol, *trans*-anethole or estragole. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*. **2009**. 41. 287-294.
- 87 Marotti, M.; Piccaglia, R.; Biavati, B., and Marotti, I. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *Journal of Essential Oil Research*. **2004**. 16. 440-444.
- 88 Inoue, Y.; Shiraishi, A.; Hada, T.; Hamashima, H., and Shimada, J. The antibacterial effects of myrcene on *Staphylococcus aureus* and its role in the essential oil of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*). *The Japanese Journal of Pharmacognosy*. **2004**. 58. 10-14.
- 89 Lee, J.; Lee, K.; Shin, S.; Yong, Y., and Lee, Y. Anti-invasive effect of β -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. **2015**. 58. 563-569.
- 90 Bamoniri, A.; Mazoochi, A. and Mirjalili, B. Study of the bioactive and fragrant constituents extracted from leaves and aerial parts of *Psammogeton canescens* (DC.) Vatke from central Iran by nanoscale injection. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*. **2009**. 4. 411-414.
- 91 Kishore, D. and Rodrigues, A. Catalytic oxidation of isophorone to ketoisophorone over ruthenium supported MgAl-hydrotalcite. *Catalysis Communications*. **2007**. 8. 1156-1160.
- 92 Macala, G.; Robertson, A.; Johnson, C.; Day, Z.; Lewis, R.; White, M. G., and Ford, P. Transesterification catalysts from iron doped hydrotalcite-like

- precursors: solid bases for biodiesel production. *Catalysis Letters*. **2008**. 122. 205-209.
- 93 Nakamoto, K. Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. Wiley. Hoboken. **2009**. 156.
- 94 Thommes, M.; Kaneko, K.; Neimark, A.; Olivier, J.; Rodríguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J., and Sing, K. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. **2015**. 87.1051-1069.
- 95 Di Cosimo, J.; Diez, V.; Xu, M.; Iglesia, E., and Apesteguía, C. (1998). Structure and surface and catalytic properties of Mg-Al basic oxides. *Journal of Catalysis*. **1998**. 178. 499-510.
- 96 Auroux, A. Calorimetry and thermal methods in catalysis. Springer. Berlin. **2013**. 131-174.
- 97 Wojdyr, M. *Fityk*: a general-purpose peak fitting program. *Journal of Applied Crystallography*. **2010**. 43. 1126-1128.
- 98 Kumar, P.; Srivastava, V.; Shukla, K.; Gläser, R., and Mishra, I. Dimethyl carbonate synthesis from carbon dioxide using ceria–zirconia catalysts prepared using a templating method: characterization, parametric optimization and chemical equilibrium modeling. *RSC Advances*. **2016**. 6. 110235-110246.
- 99 Dixit, M.; Mishra, M.; Joshi, P., and Shah, D. Solvent free N-heterocyclization of primary amines to N-substituted azacyclopentanes using hydrotalcite as solid base catalyst. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. **2012**. 33. 1457-1464.
- 100 Basahel, S.; Al-Thabaiti, S.; Narasimharao, K.; Ahmed, N., and Mokhtar, M. Nanostructured Mg–Al hydrotalcite as catalyst for fine chemical synthesis. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. **2014**. 14. 1931-1946.
- 101 Rosset, M. Síntese, caracterização e atividade de catalisadores tipo hidróxidos duplos lamelares. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. **2017**. 45.

- 102 NIST Chemistry WebBook, Base de Datos, disponible en: webbook.nist.gov/chemistry/, Fecha de consulta: 24 de octubre de 2017.
- 103 Bertouche, S.; Tomao, V.; Hellal, A.; Boutekedjiret, C., and Chemat, F. First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene. *Journal of Essential Oil Research*. **2013**. 25. 439-443.
- 104 Chemat-Djenni.; Z.; Ferhat, M.; Tomao, V., and Chemat, F. Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. **2010**. 13. 139-147.
- 105 Empresa New directions aromatics, disponible en: www.newdirectionsaromatics.com/products/essential-oils/tagetes-essential-oil-egyptian.html. Fecha de consulta: 29 de enero de 2018.
- 106 Catálogo de productos Sigma-Aldrich, disponible en: www.sigmaaldrich.com Fecha de consulta: 29 de enero de 2018.

BIBLIOGRAFÍA

ABDALA, L. Flavonoids of the aerial parts from *Tagetes lucida* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. **1999**. 27. 753-754.

ACOSTA, L.; Hechevarría, I.; Rodríguez C., y Milanés, M. Momento óptimo de plantación y de cosecha en *Tagetes lucida* Cav. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. **2011**. 16. 201-208.

ADAMS, R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Ed. Allured Publishing Corporation. USA. **2007**. 456.

AL-HARBI, M.; Qureshi, S.; Raza, M.; Ahmed, M.; Giangreco, A., and Shah, A. Influence of anethole treatment on the tumour induced by Ehrlich ascites carcinoma cells in paw of swiss albino mice. *European Journal of Cancer Prevention*. **1995**. 4. 307-318.

ANDRADE, T.; Lima, S.; Freitas, R.; Rocha, M.; Islam, T.; Silva, T., and Militão, G. Isolation, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of estragole, obtained from the essential oil of *Croton zehntneri* (euphorbiaceae). *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*. **2015**. 87. 173-182.

AQUINO, R.; Cáceres, A.; Morelli, S., and Rastrelli, L. An extract of *Tagetes lucida* and its phenolic constituents as antioxidants. *Journal of Natural Products*. **2002**. 65. 1773-1776.

AUROUX, A. Calorimetry and thermal methods in catalysis. Springer. Berlin. **2013**. 131-174.

BABUSHOK, V.; Linstrom, P., and Zenkevich, I. Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *The Journal of Physical Chemistry Reference Data*. **2011**. 40.1-47.

BAKKALI, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D., and Idaomar, M. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. **2008**. 46. 446-475.

BAMONIRI, A.; Mazoochi, A. and Mirjalili, B. Study of the bioactive and fragrant constituents extracted from leaves and aerial parts of *Psammogeton canescens* (DC.) Vatke from central Iran by nanoscale injection. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*. **2009**. 4. 411-414.

BASAHEL, S.; Al-Thabaiti, S.; Narasimharao, K.; Ahmed, N., and Mokhtar, M. Nanostructured Mg–Al hydrotalcite as catalyst for fine chemical synthesis. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. **2014**. 14. 1931-1946.

BEDINI, S.; Bougherra, H.; Flamini, G.; Cosci, F.; Belhamel, K.; Ascrizzi, R., and Conti, B. Repellency of anethole-and estragole-type fennel essential oils against stored grain pests: the different twins. *Bulletin of Insectology*. **2016**. 69. 149-157.

BERTOUCHE, S.; Tomao, V.; Hellal, A.; Boutekedjiret, C., and Chemat, F. First approach on edible oil determination in oilseeds products using alpha-pinene. *Journal of Essential Oil Research*. **2013**. 25. 439-443.

BICCHI, C.; Fresia, M.; Rubiolo, P.; Monti, D.; Franz, C., and Goehler, I. Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. **1997**. 12. 47-52.

BOWN, D. Encyclopaedia of herbs and their uses. Ed. Dorling Kindersley. London. **1995**. 424.

CASTRO, H.; Martínez, J., and Stashenko, E. Anethole isomerization and dimerization induced by acid sites or UV irradiation. *Molecules*. **2010**. 15. 5012-5030.

CATÁLOGO DE PRODUCTOS SIGMA-ALDRICH, disponible en: www.sigmaaldrich.com Fecha de consulta: 29 de enero de 2018.

CAUJOLLE, F. and Meynier, D. Toxicity of tarragon oil and the anetholes (*cis*- and *trans*-). *Academy of Science*. **1958**. 246. 1465-1468.

CÉSPEDES, C.; Avila, G.; Martínez, A.; Serrato, B.; Calderón, J., and Salgado, R. Antifungal and antibacterial activities of Mexican Tarragon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2006**. 54. 3521-3527.

CHAINY, G.; Manna, S.; Chaturverdi, M., and Aggarwall, B. Anethole blocks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor: effect on NF-kappaB, AP-1, JNK, MAPKK and apoptosis. *Oncogene*. **2000**. 19. 2943-2950.

CHANG, C.; Cho, I., and Li, Q. Insecticidal activity of basil oil, *trans*-anethole, estragole, and linalool to adult fruit flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *B. cucurbitae*. *Journal of Economic Entomology*. **2009**. 102. 203-209.

CHAUHAN, A.; Kumar, M., and Chauhan, P. GC-MS Technique and its analytical applications in science and technology. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*. **2014**. 5. 1-6.

CHEMAT-DJENNI.; Z.; Ferhat, M.; Tomao, V., and Chemat, F. Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. **2010**. 13. 139-147.

CICCIÓ, J. A source of almost pure methyl chavicol: Volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Journal of Tropical Biology*. **2004**. 52. 853-857.

CLARKE, S. Essential chemistry for aromatherapy. Ed. Churchill Livingstone. London. United Kingdom. **2008**. 41-77.

DE VINCENTI, M.; Silano, M.; Maialetti, F., and Scazzocchio, B. Constituents of aromatic plants: II. Estragole. *Fitoterapia*. **2000**. 71. 725-729.

DI COSIMO, J.; Diez, V.; Xu, M.; Iglesia, E., and Apestegua, C. (1998). Structure and surface and catalytic properties of Mg-Al basic oxides. *Journal of Catalysis*. **1998**. 178. 499-510.

DIXIT, M.; Mishra, M.; Joshi, P., and Shah, D. Solvent free N-heterocyclization of primary amines to N-substituted azacyclopentanes using hydrotalcite as solid base catalyst. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. **2012**. 33. 1457-1464.

DROGUETT, S. Elementos de catálisis heterogénea. Editorial Oea. Chile. **1983**. 27-28.

EIREW, G. Pharmaceutical composition for improving oral hygiene and methods thereof. U.S. Patent Appl., US2009035229, **2009**.

EMPRESA NEW DIRECTIONS AROMATICS, disponible en: <https://www.newdirectionsaromatics.com/products/essential-oils/tagetes-essential-oil-egyptian.html>. Fecha de consulta: 29 de enero de 2018.

FERHAT, M.; Meklati, B.; Smadja, J., and Chemat, F. An improved microwave *Clevenger* apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*. **2006**. 1112. 121–126.

GHELARDINI, C.; Galeotti, N., and Mazzanti, G. Local anaesthetic activity of monoterpenes and phenylpropanes of essential oils. *Planta Medica*. **2001**. 67. 564-566.

GUADARRAMA, G.; Alarcon, F.; Lezama, R.; Vazquez, G., and Bonilla, H. Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology*. **2008**.120. 277-281.

GUZMÁN, A. y Manjarrez, A. Estudio del aceite esencial de *Tagetes florida*. *Boletín del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México*. **1962**.14. 48-54.

GUZMÁN, L.; Reyes, R., and Bonilla, H. Medicinal plants for the treatment of “nervios”, anxiety, and depression in Mexican traditional medicine. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2014**. 24. 591-608.

HARTATI, H.; Santoso, M.; Triwahyono, S., and Prasetyoko, D. Activities of heterogeneous acid-base catalysts for fragrances synthesis: a review. *Chemical Reaction Engineering and Catalysis*. **2013**. 8. 14-33.

HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO, [Sitio de internet] disponible en: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/ICN/>. Fecha de consulta: 15 de julio de 2016.

HETHELYI, E.; Danos, B.; Tetenyi, P., and Juhasz G. Phytochemical studies on *Tagetes* species; infraspecific differences of the essential oil in *T. minuta* and *T. tenuifolia*. *Herba Hungarica*.**1987**. 26. 145-158.

HEVELING, J. Heterogeneous catalytic chemistry by example of industrial applications. *Journal of Chemical Education*. **2012**. 89. 1530-1536.

HUSSAIN, R.; Poveda, L.; Pezzuto, J.; Soejarto, D., and Kinghord, A. Sweetening agents of plant origin: Phenylpropanoid constituents of seven sweet-tasting plants. *Economic Botany*. **1990**. 44. 174-182.

INOUE, Y.; Shiraishi, A.; Hada, T.; Hamashima, H., and Shimada, J. The antibacterial effects of myrcene on *Staphylococcus aureus* and its role in the essential oil of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*). *The Japanese Journal of Pharmacognosy*. **2004**. 58. 10-14.

KALEDIN, V.; Pakharukova, M.; Pivovarova, E.; Kropachev, K.; Baginskaya, N.; Vasilieva, E., and Merkulova, T. Correlation between hepatocarcinogenic effect of estragole and its influence on glucocorticoid induction of liver-specific enzymes and activities of FOXA and HNF4 transcription factors in mouse and rat liver. *Biochemistry*. **2009**. 74. 377-384.

KHAN, I. y Abourashed, E. Leung's Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. John Wiley & Sons. Hoboken. **2010**. 36-39.

KIM, D. and Ahn, Y. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Management Science*. **2001**. 57. 301-306.

KISHORE, D. and Kannan, S. Catalytic isomerization of estragole to anethole over hydrotalcites and HT-like compounds. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. **2006**. 244. 83-92.

KISHORE, D. and Rodrigues, A. Catalytic oxidation of isophorone to ketoisophorone over ruthenium supported MgAl-hydrotalcite. *Catalysis Communications*. **2007**. 8. 1156-1160.

KLEMKAITE, K.; Prosycevas, I.; Taraskevicius, R.; Khinsky, A., and Kareiva, A. Synthesis and characterization of layered double hydroxides with different cations (Mg, Co, Ni, Al), decomposition and reformation of mixed metal oxides to layered structures. *Central European Journal of Chemistry*. **2011**. 9. 275-282.

KUBO, I. y Himejima, M. Anethole, a synergist of polygodial against filamentous microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1991**. 39. 2290-2292.

KUMAR, P.; Srivastava, V.; Shukla, K.; Gläser, R., and Mishra, I. Dimethyl carbonate synthesis from carbon dioxide using ceria–zirconia catalysts prepared using a templating method: characterization, parametric optimization and chemical equilibrium modeling. *RSC Advances*. **2016**. 6 110235-110246.

KURKIN, V. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*. **2003**. 39. 123-153.

LEE, J.; Lee, K.; Shin, S.; Yong, Y., and Lee, Y. Anti-invasive effect of β -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. **2015**. 58. 563-569.

LEOFANTI, G.; Padovan, M.; Tozzola, G., and Venturelli, B. Surface area and pore texture of catalysts. *Catalysis Today*. **1998**. 41. 207-219.

LI, F. and Duan, X. Layered double hydroxides. Springer. Berlín. **2006**. 193–223.

LI, Y.; Tixier, A., and Chemat, F. Essential oils as reagents in green chemistry. Springer. Avignon. France. **2014**. 13.

LIM, T. Edible medicinal and non-medicinal plants. Volume 7, Flowers. Dordrecht, Holland. Springer. **2014**. 418-455.

MACALA, G.; Robertson, A.; Johnson, C.; Day, Z.; Lewis, R.; White, M. G., and Ford, P. Transesterification catalysts from iron doped hydrotalcite-like precursors: solid bases for biodiesel production. *Catalysis Letters*. **2008**. 122. 205-209.

MAROTTI, M.; Piccaglia, R.; Biavati, B., and Marotti, I. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. *Journal of Essential Oil Research*. **2004**. 16. 440-444.

MARTINS, C.; Cação, R.; Cole, K.; Phillips, D.; Laires, A.; Rueff, J., and Rodrigues, A. Estragole: A weak direct-acting food-borne genotoxin and potential carcinogen. *Mutation Research*. **2012**. 747 .86-92.

MENÉNDEZ, L.; Crochet, P., and Cadierno, V. A catalytic system for the estragole to anethole isomerization based on $[\{\text{RuCl}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2]$. *Current Green Chemistry*. **2014**. 1. 128-135.

MILLER, E.; Swanson, A.; Phillips, D.; Fletcher, F.; Liem, A., and Miller, A. Structure-activity studies of the carcinogenicities in the mouse and rat of some naturally occurring and synthetic alkenylbenzene derivatives related to safrole and estragol. *Cancer Research*. **1983**. 43. 1124-1134.

MUÑOZ, A.; Bottia, E.; Patiño, J.; Díaz, Olga.; Martínez, J.; Kouznetsov, V., y Stashenko, E. Estudio comparativo sobre la capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS^+ por los aceites esenciales de especies aromáticas con alto contenido de *trans*-anetol y estragol. *Scientia et Technica*. **2007**. 33. 117-120.

MUÑOZ, A.; Kouznetsov, V., and Stashenko, E. Composition and *in-vitro* antioxidant capacity of essential oils rich in thymol, carvacrol, *trans*-anethole or estragole. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*. **2009**. 41. 287-294.

NAKAMOTO, K. Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. Wiley. Hoboken. **2009**. 156.

NERIO, L.; Olivero, J., and Stashenko, E. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*. **2009**. 45. 212-214.

NEWBERNE, P.; Smith, R.; Doull, J.; Goodman, J.; Munro, I.; Portoghese, P.; Wagner, B.; Weil, C.; Woods, L.; Adams, T.; Lucas, C., and Ford, R. The FEMA GRAS assessment of *trans*-anethole used as a flavouring substance. *Food and Chemical Toxicology*. **1999**. 37. 789-811.

NEZHAD, E.; Ghorbani, M.; Zeinalkhani, M., and Heidari, A. A new technique to absorb yellow GX anionic pigments. *American Journal of Chemistry*. **2013**. 3. 6-9.

NIST Chemistry WebBook, Base de Datos, disponible en: webbook.nist.gov/chemistry/, Fecha de consulta: 24 de octubre de 2017.

OBISTIOIU, D.; Romeo, C.; Schmerold, I.; Chizzola, R.; Stolze, K.; Nichita, I., and Chiurciu, V. Chemical characterization by GC-MS and *in vitro* activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracunculus*, *A. abrotanum*, *A. absinthium* and *A. vulgaris*. *Chemistry Central Journal*. **2014**. 8. 1-11.

OCAÑA, M. Síntesis de hidrotalcitas y materiales derivados: aplicación en catálisis básica. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid. Madrid. **2005**.

OLIVEIRA, C.; Meurer, Y.; Medeiros, T.; Pohlit, A.; Silva, M.; Mineo, T., and Andrade-Neto, V. Anti-toxoplasma activity of estragole and thymol in murine models of congenital and noncongenital toxoplasmosis. *Journal of Parasitology*. **2016**. 102. 369-376.

OLIVERO, J.; González, T.; Güette, J.; Jaramillo, B., and Stashenko, E. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2010**. 20. 568-574.

OMER, E.; Hendawy, S.; Ismail, R.; Petretto, G.; Rourke, J., and Pintore, G. Acclimatization study of *Tagetes lucida* L. in Egypt and the chemical characterization of its essential oils. *Natural Product Research*. **2017**. 31. 1-9.

ONO, Y. and Hattori, H. Solid base catalysis (Vol. 101). Springer Science & Business Media. Nueva York. **2012**. 11-66.

ORAV, A.; Raal, A., and Arak, E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Natural Product Research*. **2008**. 22. 227-232.

PAINI, A.; Punt, A.; Scholz, G.; Gremaud, E.; Spenkeliink, B.; Alink, G.; Schilter, B.; Bladeren, P., and Rietjens, I. *In vivo* validation of DNA adducts formation by estragole in rats predicted by physiologically based biodynamic modeling. *Mutagenesis*. **2012**. 27. 653-663.

PÉREZ, J.; Sandoval, B.; Echeverría, S.; Morales, M., and Taracena, E. Determinación de los aceites esenciales y principios activos de seis plantas medicinales cultivadas en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. **1999**. 6.

PUNT, A.; Delatour, T.; Scholz, G.; Schilter, B.; Bladeren, P., and Rietjens, I. Tandem mass spectrometry analysis of N^2 -(*trans*-isoestragol-3'-yl)-2'-deoxyguanosine as a strategy to study species differences in sulfotransferase conversion of the proximate carcinogen 1'-hydroxyestragole. *Chemical Research in Toxicology*. **2007**. 20. 991-998.

REDDY, B.; Rao, C.; Rivenson, A., and Kellof, G. Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. *American Association for Cancer Research*. **1993**. 53. 3493-3498.

REGALADO, E.; Fernández, M.; Pino, J.; Mendiola, J., and Echemendia, O. Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*. **2011**. 23. 63-67.

RÍOS, T. y Flores, M. Estudio químico de los *Tagetes*. *Revista Latinoamericana de Química*. **1976**. 7. 33-36.

RODRIGUES, L.; Oliveira, A.; Cesário, F.; Ferreira, F.; Rodrigues, T.; Martins, M., and Alencar, I. Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: *In vivo* mouse models. *Chemico-Biological Interactions*. **2016**. 257. 14-25.

ROSSET, M. Síntese, caracterização e atividade de catalisadores tipo hidróxidos duplos lamelares. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. **2017**.45.

Sell, C. A fragrant introduction to terpenoid chemistry. The Royal Society of Chemistry. Padstow. **2003**. 1-2.

SHARMA, S.; Srivastava, V.; Pandya, P., and Jasra, R. Solvent-free isomerization of methyl chavicol to *trans*-anethole using transition metal complexes as catalysts. *Catalysis Communications*. **2005**. 6. 205-209.

SHIN, S. and Kang, C. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. *Letters in Applied Microbiology*. **2003**. 36. 111-115.

SING, K. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure and Applied Chemistry*. **1985**. 57. 603-619.

SKOOG, D.; Holler, F., and Nieman, T. Principios de análisis instrumental. McGrawHill. Madrid. **2000**. 785-786.

SONG, Y.; Choi, M.; Choi, G.; Park, I., and Oh, C. Antibacterial activity of cinnamaldehyde and estragole extracted from plant essential oils against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing bacterial cancer disease in kiwifruit. *Plant Pathology Journal*. **2016**. 32. 363-370.

SRIVASTAVA, V.; Bajaj, H., and Jasra, R. Solid base catalysts for isomerization of 1-methoxy-4-(2-propen-1-yl)benzene to 1-methoxy-4-(1-propen-1-yl) benzene. *Catalysis Communications*. **2003**. 4. 543-548.

STASHENKO, E. Aceites esenciales. Ed. División de Publicaciones UIS. Bucaramanga. **2009**. 19-20.

STASHENKO, E. y Martínez, J. (Editores). Plantas aromáticas y aceites esenciales: estudio y aplicaciones. División de publicaciones UIS. Bucaramanga. **2012**. 257-258.

STASHENKO, E.; Martinez, C.; Martinez, J., and Shibamoto, T. Catalytic transformation of anise (*Pimpinella anisum* L.) oil over zeolite Y. *Journal of Separation Science*. **1995**. 18. 501-503.

STASHENKO, E.; Wiame, H.; Dassy, S.; Martinez, J., and Shibamoto, T. Catalytic transformation of copaiba (*Copaifera officinalis*) oil over zeolite ZSM-5. *Journal of Separation Science*. **1995**. 18. 1. 54-58.

STASHENKO, E; Martínez, J.; Kouznetsov, V., y Páez, E. Estudio de la transformación catalítica del limoneno y del aceite esencial de naranja. Proyecto de investigación. División de Publicaciones UIS. Bucaramanga. **1995**. 19-24.

SUART, B. Infrared spectroscopy: fundamental and applications. Wiley. Chichester. **2004**.1-13.

SUZUKI, Y.; Umemura, T.; Hibi, D.; Inoue, T.; Jin, M.; Ishii, Y.; Sakai, H.; Nohmi, T.; Yanai, T.; Nishikawa, A., and Ogawa, K. Possible involvement of genotoxic mechanisms in estragole-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Archives of Toxicology*. **2012**. 86. 1593-1601.

TÉLLEZ, M.; Treviño, J.; Verde, M.; Rivas, C.; Oranday, A.; Moran, J. Serrano, L. y Morales, M. Evaluación del efecto del extracto metanólico de *Tagetes lucida* sobre la función testicular y calidad espermática en ratas macho Wistar. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **2013**. 44. 43-52.

THEISS, F.; Ayoko, G., and Frost, R. Synthesis of layered double hydroxides containing Mg²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ and Al³⁺ layer cations by co-precipitation methods: A review. *Applied Surface Science*. **2016**. 383. 200-20.

THOMMES, M.; Kaneko, K.; Neimark, A.; Olivier, J.; Rodríguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J., and Sing, K. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. **2015**. 87.1051-1069.

VARGAS, A. y Bottia, E. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y El Peñón - Santander, Colombia. Tesis de pregrado. Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander. **2008**. 145.

WANG, H.; Yuan, X., and Li, H. PEM fuel cell diagnostic tools. CRC Press. Nueva York. **2011**. 289-312.

WISEMAN, R.; Fennell, T.; Miller, J., and Miller, E. Further characterization of the DNA adducts formed by electrophilic esters of the hepatocarcinogens 1'-hydroxysafrole and 1'-hydroxyestragole *in vitro* and in mouse liver *in vivo*, including new adducts at C-8 and N-7 of guanine residues. *Cancer Research*. **1985**. 45. 3096-3105.

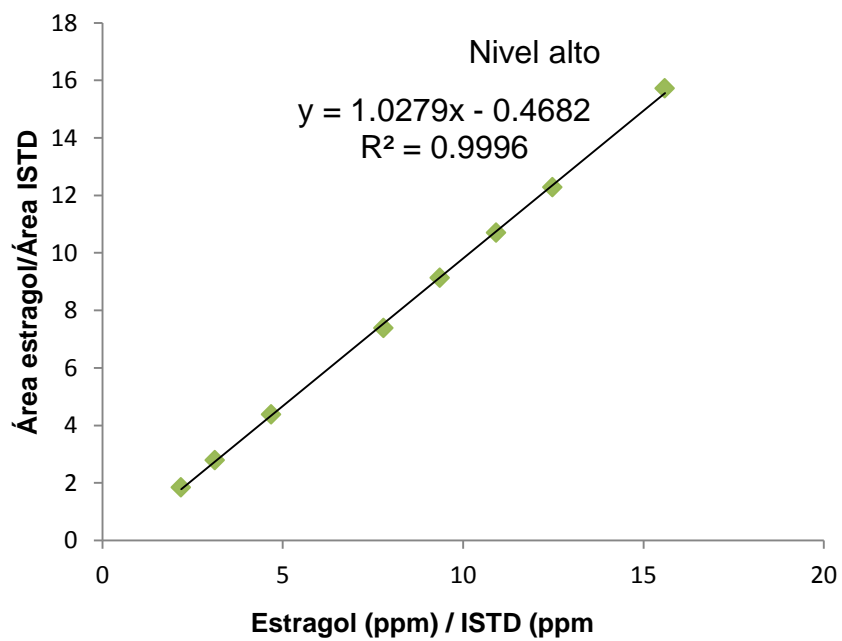
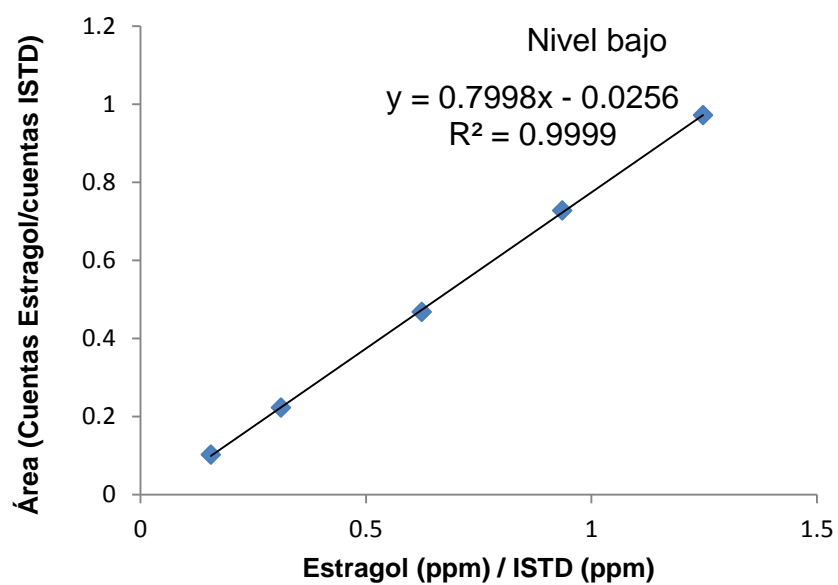
WOJDYR, M. *Fityk*: a general-purpose peak fitting program. *Journal of Applied Crystallography*. **2010**. 43. 1126-1128.

ZELLER, A.; Horst, K., and Rychlik, M. Study of the metabolism of estragole in humans consuming fennel tea. *Chemical Research in Toxicology*. **2009**. 22. 1929–1937.

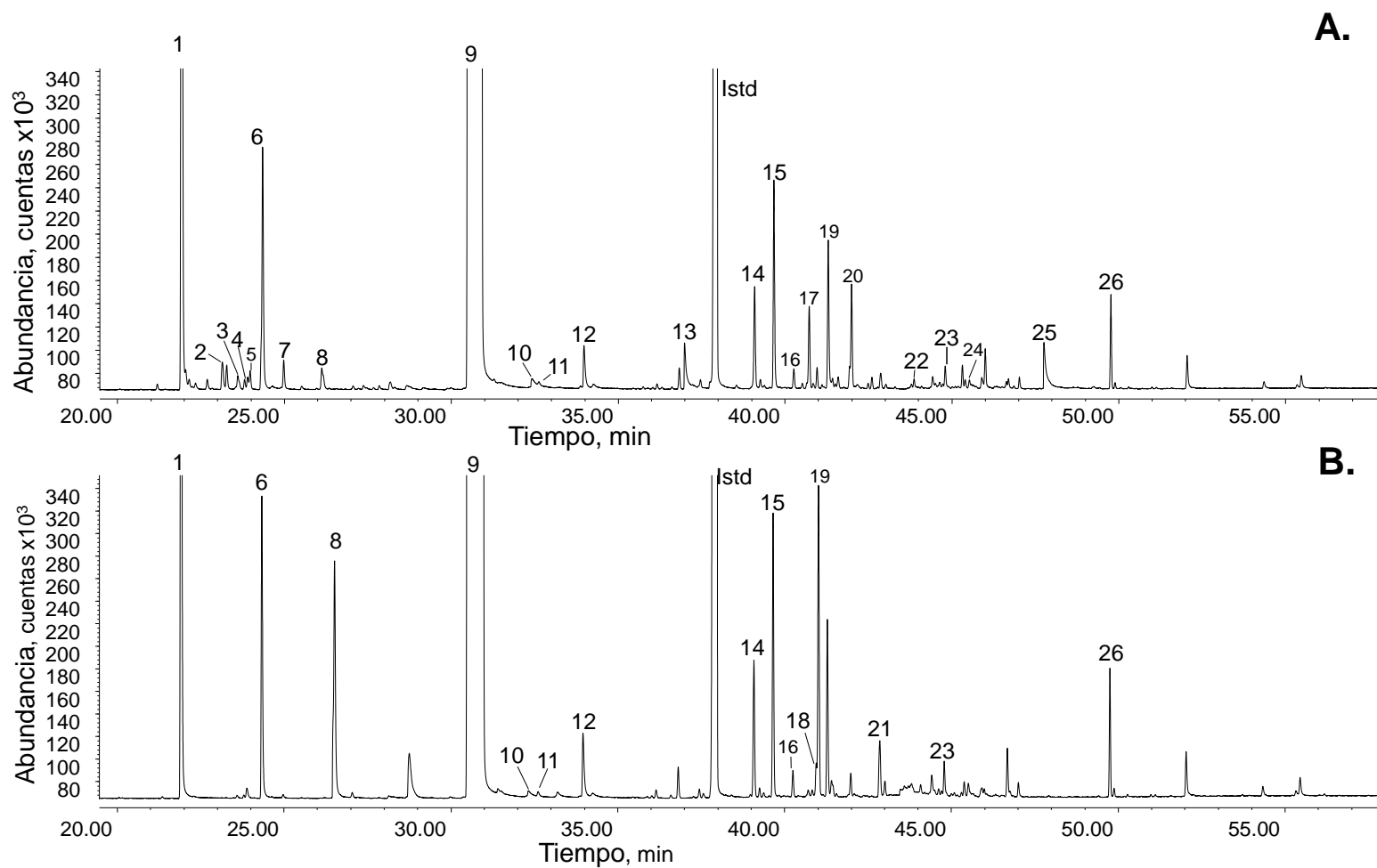
ZONGLIANG, H. Anethole development trends. In: Proceedings of the IFEAT International Conference 2012; Greenhalgh, P., Ed. International Federation of Essential Oils and Aroma Trades: London. **2012**.103-111.

ANEXOS

Anexo A. Curvas de calibración obtenidas por GC-FID en niveles bajo y alto (500-5000 y 10000-45000 ppm, respectivamente) del estragol.



Anexo B. Cromatogramas del AE de *T. lucida* después del tratamiento con: **A.** HCl y **B.** KOH durante 2 h, a 150 °C, AE (1 g), HCl (0.5 N, 5 mL) o KOH, (0.5 N, 5 mL). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). *Split* 1:30. ISTD: *n*-tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el **Anexo C.**



Anexo C. Productos de la transformación con HCl o KOH del AE de *T. lucida*.

N° de pico Anexo B	Compuesto	Índices de retención lineales		mg Compuesto/g AE (± s, n=3)		Criterio de identificación
		DB-5MS		HCl	KOH	
		Exp.	[80]			
1	β-Mirceno	993	989	7,3 ± 0,5	4,74 ± 0,99	A,B
2	α-Terpineno	1021	1017	0,20 ± 0,03	-	A,B
3	p-Cimeno	1029	1024	0,16 ± 0,03	-	A,B
4	Limoneno	1034	1030	0,08 ± 0,01	-	A,B
5	1,8-Cineol	1037	1032	0,10 ± 0,01	-	A,B
6	trans-β-Ocimeno	1048	1048	2,2 ± 0,2	1,34 ± 0,25	A,B
7	γ-Terpineno	1062	1060	0,23 ± 0,04	-	A,B
8	Terpinoleno	1090	1087	0,25 ± 0,04	1,56 ± 0,18	A,B
9	Estragol	1211	1196	900 ± 13	876 ± 5	A,B,C
10	cis-Anetol	1259	1256*	0,14 ± 0,01	0,03 ± 0,01	A,B
11	Chavicol	1264	1253	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,01	A,B
12	trans-Anetol	1292	1286	0,43 ± 0,06	0,54 ± 0,05	A,B,C
13	cis-Isoeugenol	1375	1370	0,51 ± 0,07	-	A,B
14	trans-β-Cariofileno	1433	1420	0,8 ± 0,1	0,73 ± 0,05	A,B
15	β-Farneseno	1455	1456	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1	A,B
16	α-Humuleno	1469	1453	0,15 ± 0,02	0,05 ± 0,01	A,B
17	γ-Muuroleno	1484	1476	0,6 ± 0,1	-	A,B
18	Germacreno D	1492	1481	-	0,14 ± 0,01	A,B
19	α-farneseno	1505	1504	0,84 ± 0,1	1,1 ± 0,1	A,B
20	γ-Cadineno	1524	1533	0,11 ± 0,02	-	A,B
21	Elemol	1558	1547	-	0,35 ± 0,05	A,B
22	δ-Cadineno	1527	1523	0,8 ± 0,2	-	A,B
23	trans-β-Metoxicinnamaldehído	1579	1570*	0,04 ± 0,02	-	A,B
24	γ-Eudesmol	1646	1631	0,16 ± 0,02	-	A,B
25	7-Metoxicumarina	1740	-	0,7 ± 0,1	-	A
26	Acetato de fitilo	1835	-	0,56 ± 0,06	0,55 ± 0,06	A

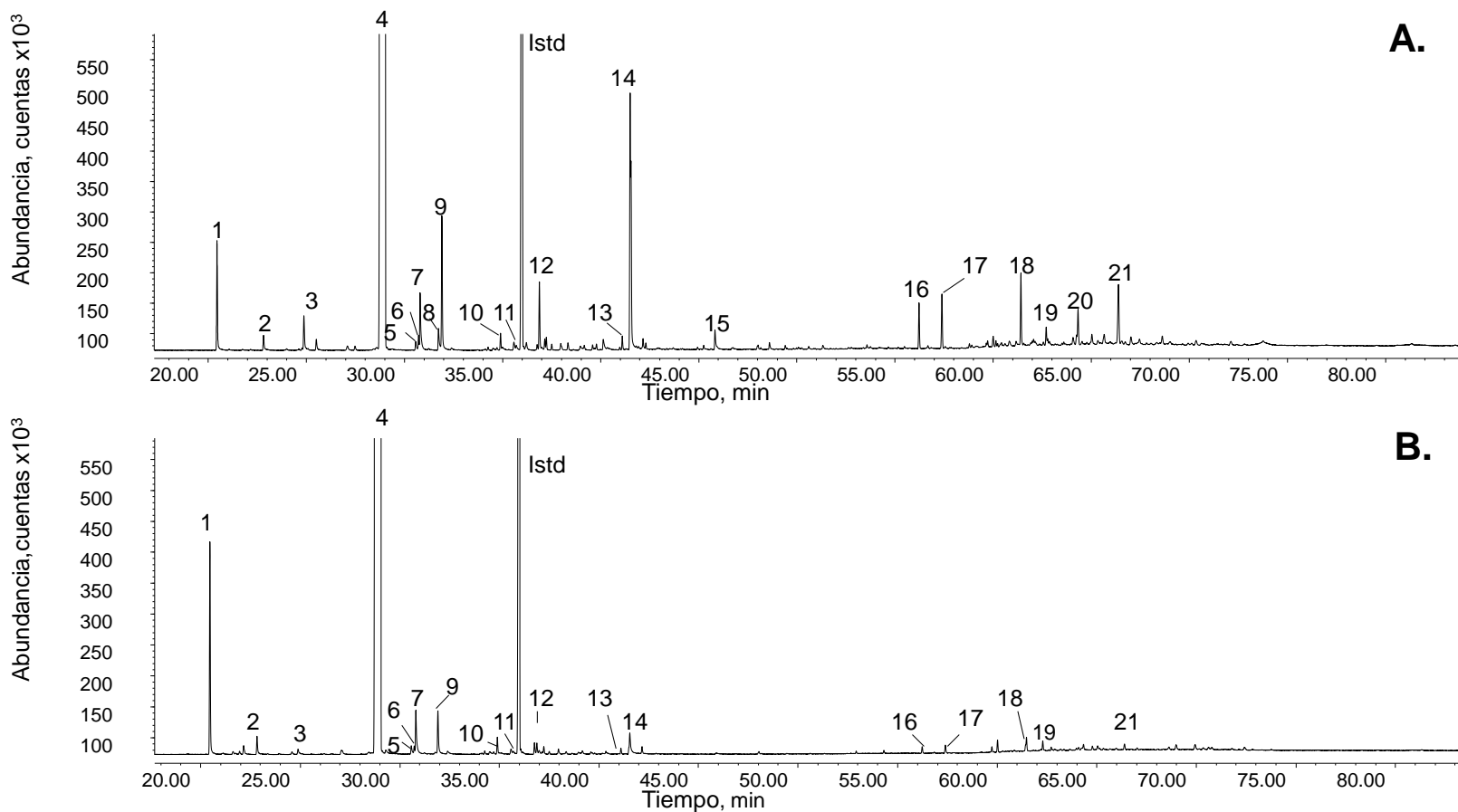
A - IRL.

B - MS, bases de datos (NIST, Wiley, Adams).

C - Comparación con patrones de referencia certificados.

*IRL reportados en la literatura [102].

Anexo D. Cromatogramas del AE de *T. lucida* después del tratamiento con: **A.** CaO y **B.** CaO/Al₂O₃ durante 2 h, a 150 °C, AE (1 g), catalizador (0,2 g). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). *Split* 1:30. ISTD: *n*-tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el **Anexo E.**



Anexo E. Productos de la transformación con CaO o CaO/Al₂O₃ del AE de *T. lucida*.

N° de pico	Anexo D	Compuesto	Índices de retención lineales (IRL)				mg Compuesto/g AE		Criterios de identificación
			DB-5MS		DB-WAX		(±s, n=3)		
			Exp.	[80]	Exp.	[80]	CaO	CaO/Al ₂ O ₃	
1		β-Mirceno	989	989	1159	1161	2,8 ± 0,6	4,2 ± 0,8	A,B
2		<i>trans</i> -β-Ocimeno	1047	1048	1246	1250	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,1	A,B
3		Linalol	1099	1099	1538	1543	0,9 ± 0,2	0,08 ± 0,05	A,B
4		Estragol	1208	1196	1666	1671	921 ± 19	971 ± 2	A,B,C
5		Chavicol	1250	1254	2311	2337	0,3 ± 0,2	0,30 ± 0,07	A,B
6		<i>cis</i> -Anetol	1256	1258*	1743	1732*	0,4 ± 0,1	0,20 ± 0,03	A,B
7		<i>p</i> -Anisaldehído	1260	1262	2257	2268	2,0 ± 0,9	1,6 ± 0,2	A,B
8		<i>p</i> -Anisilalcohol	1286	1282	2009	2011	0,6 ± 0,2	-	A,B
9		<i>trans</i> -Anetol	1290	1285	1816	1826	3,0 ± 0,2	1,5 ± 0,4	A,B,C
10		<i>p</i> -Acetanisol	1358	1345*	2125	-	0,37 ± 0,02	0,386 ± 0,008	A,B
11		<i>p</i> -Acetonilanol	1385	1384*	2140	-	0,3 ± 0,1	0,15 ± 0,04	A,B
12		β-Copaeno	1430	1433	1587	1580	1,7 ± 0,5	-	A,B
13		Elemol	1557	1547	2073	2079	0,27 ± 0,04	0,2 ± 0,1	A,B
14		<i>trans</i> -β-Metoxicinnamaldehído	1575	1570*	2536	-	5 ± 2	1,4 ± 0,7	A,B
15		7-Metoxicoumarina	1735	-	2907	-	0,4 ± 0,1	-	A,B
16		N.I.; <i>m/z</i> (I %): 284 (M ⁺ , 8 %), 241 (11 %), 163 (9 %), 121 (100 %), 91 (10 %), 77 (8 %), 69 (24 %).	2235	-	-	-	0,8 ± 0,4	0,35 ± 0,08	-
17		N.I.; <i>m/z</i> (I %): 284 (M ⁺ , 6 %), 241 (16 %), 159 (7 %), 121 (100 %), 107 (5 %), 91 (8 %).	2287	-	-	-	1,0 ± 0,5	0,5 ± 0,3	-

Anexo E. Continuación

18	N.I.; <i>m/z</i> (I %): 294 (M ⁺ , 2 %), 147 (100 %), 131 (5 %), 115 (11 %), 91 (13 %), 77 (4 %).	2473	-	-	-	2,0 ± 0,9	0,7 ± 0,4	-
19	N.I.; <i>m/z</i> (I %): 296 (M ⁺ , 51 %), 207 (17 %), 149 (19 %), 148 (24 %), 147 (100 %), 135 (58 %), 134 (35 %), 121 (73 %), 91 (29 %).	2538	-	-	-	0,31 ± 0,03	1,4 ± 0,9	-
20	N.I.; <i>m/z</i> (I %): 292 (M ⁺ , 52 %), 148 (100 %), 134 (24 %), 122 (12%), 121 (81 %), 115 (15 %), 91 (26 %), 77 (14 %).	2617	-	-	-	0,9 ± 0,2	-	-
21	N.I.; <i>m/z</i> (I %): 294 (M ⁺ , 4 %), 148 (11 %), 147 (100 %), 135 (16 %), 115 (11 %), 103 (7 %), 91 (14 %), 77 (5 %).	2701	-	-	-	3 ± 1	0,6 ± 0,3	-

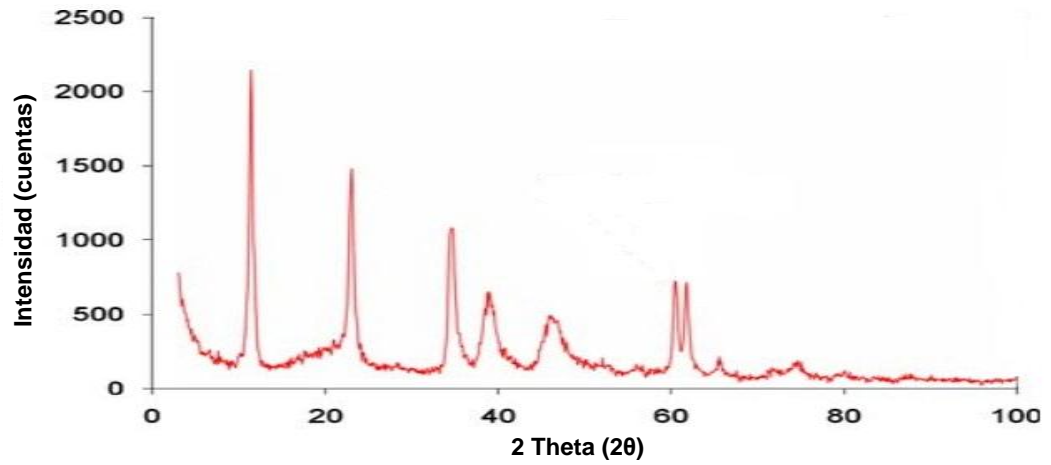
A - IRL.

B - MS, bases de datos (NIST, Wiley, Adams).

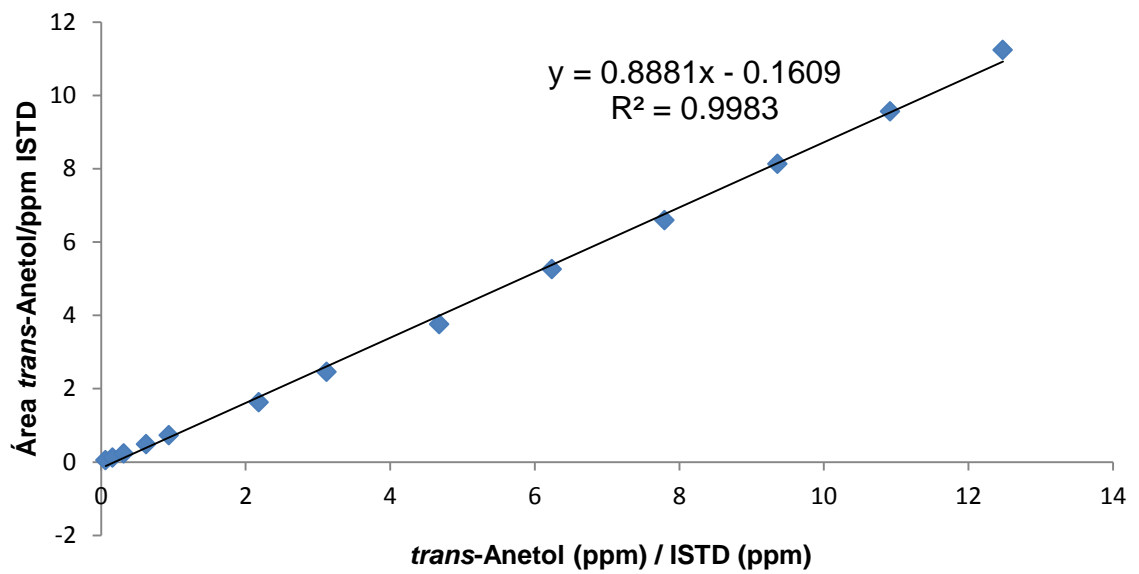
C - Comparación con patrones de referencia certificados.

* IRL reportados en la literatura [102].

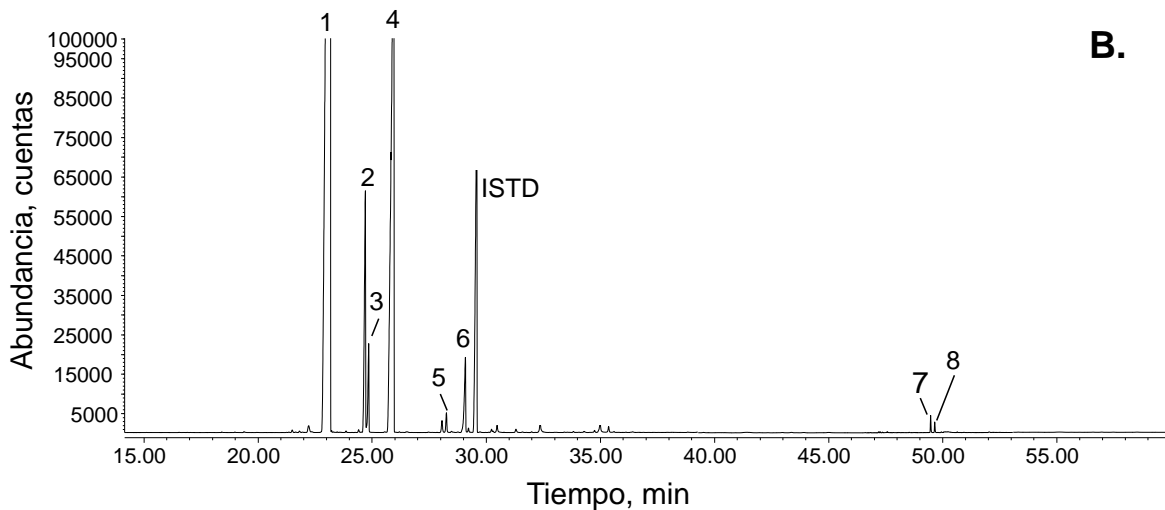
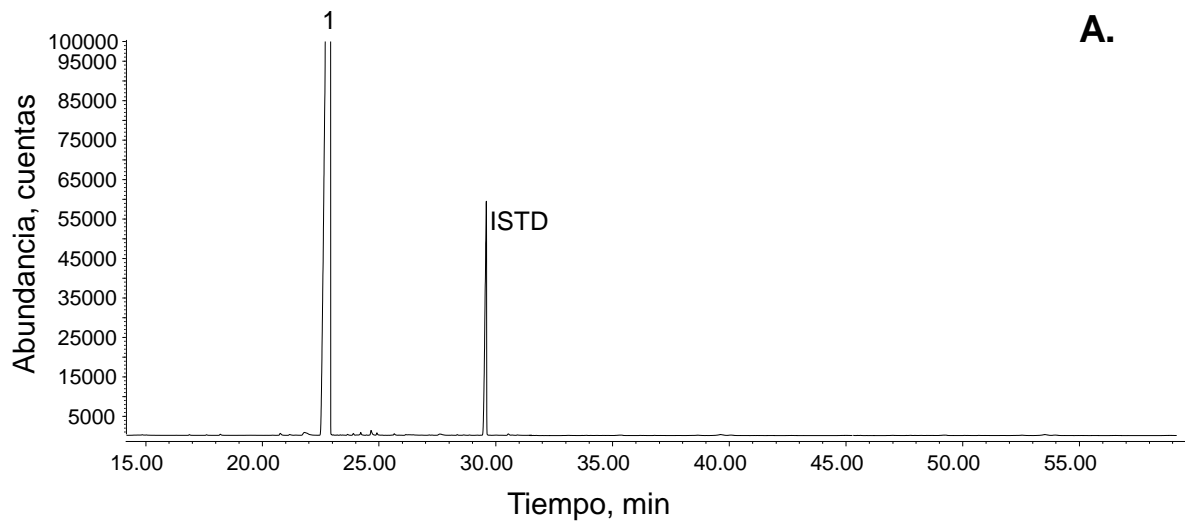
Anexo F. Difractograma encontrado en la literatura para la hidrotalcita MgAl-3HT [93].



Anexo G. Curva de calibración obtenida por GC-FID (200-40000 ppm) del *trans*-anetol.



Anexo H. Cromatogramas de: **A.** Patrón de estragol y **B.** Patrón de estragol después del tratamiento con MgAl-4HT durante 2 h, a 200 °C, AE (1 g), hidrotalcita (0,2 g). Columna DB-5MS (60 m). *Split* 1: 30. GC-FID. ISTD: *n*-tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el **Anexo I.**



Anexo I. Productos de la transformación del estragol puro (patrón certificado) durante el tratamiento con MgAl-4HT.

N° de pico	Anexo H	Compuesto	Índices de retención lineales (IRL)				A_x/A_{ISTD}		Criterios de identificación
			DB-5MS		DB-WAX		$(\pm s, n=2)$		
			Exp.	[80]	Exp.	[80]	Sin tratamiento	Con tratamiento	
1		Estragol	1204	1196	1662	1671	17 ± 1	7 ± 2	A,B,C
2		<i>cis</i> -Anetol	1256	1256*	1730	1732*	-	$0,5 \pm 0,1$	A,B
3		<i>p</i> -Anisaldehído	1260	1252	2009	2011	-	0,15 0,03	A,B
4		<i>trans</i> -Anetol	1292	1286	1818	1826	-	3 ± 1	A,B,C
5		<i>p</i> -Acetanisol	1358	1345*	2125	-	-	$0,03 \pm 0,01$	A,B
6		<i>p</i> -Acetonilanisol	1385	1385*	2194	-	-	$0,18 \pm 0,04$	A,B
7		N.I.; <i>m/z</i> (I %): 284 (M^+ , 14 %), 149 (11%), 148 (100%), 147 (11%), 134 (6%) 121 (20%) 91 (6%), 69 (9%).	2158	-	-	-	-	$0,03 \pm 0,01$	-
8		N.I.; <i>m/z</i> (I%): 284 (M^+ , 10%), 149 (11%), 148 (100%), 147 (11%), 134 (7%) 121 (16%) 91 (5%), 69 (6%).	2190	-	-	-	-	$0,02 \pm 0,01$	-

A - IRL.

B - MS, bases de datos (NIST, Wiley, Adams).

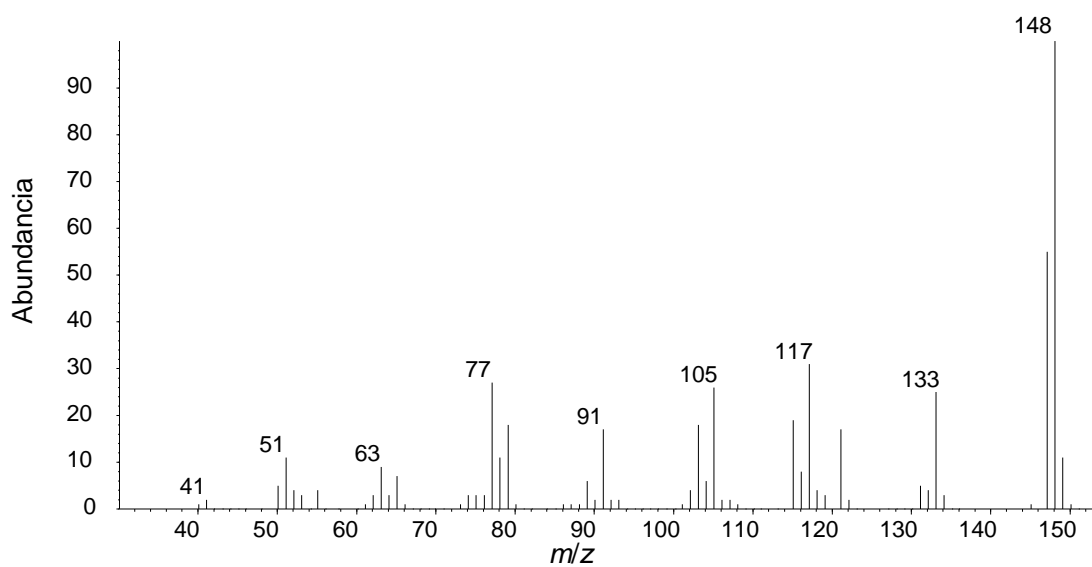
C - Comparación con patrones de referencia certificados.

*IRL reportados en la literatura [103].

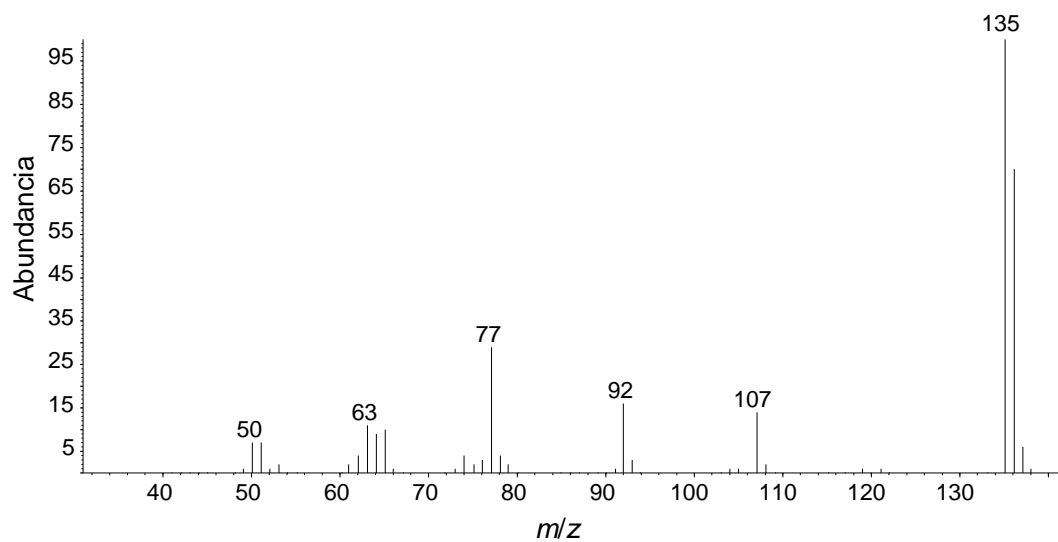
Anexo J. Selectividad de los productos de la reacción del estragol puro después del tratamiento con MgAl-4HT.

Producto	Selectividad, % ($\pm s$, n=2)
<i>cis</i> -Anetol	14,3 \pm 0,1
<i>p</i> -Anisaldehído	4,4 \pm 0,2
<i>trans</i> -Anetol	73,91 \pm 0,04
<i>p</i> -Acetanisol	2,0 \pm 1
<i>p</i> -Acetonilanol	5,1 \pm 0,1

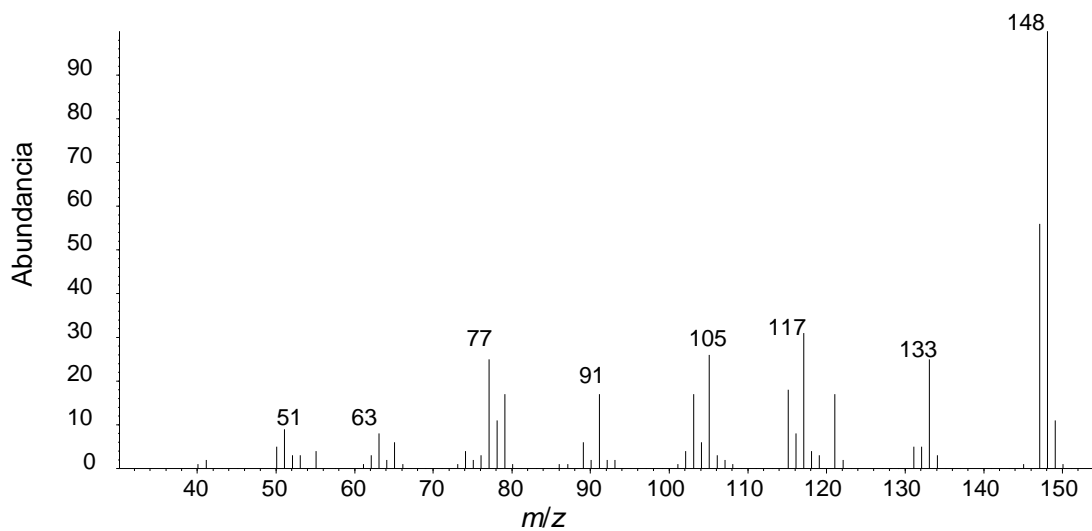
Anexo K. Espectro de masas (EI, 70 eV) del *cis*-anetol.



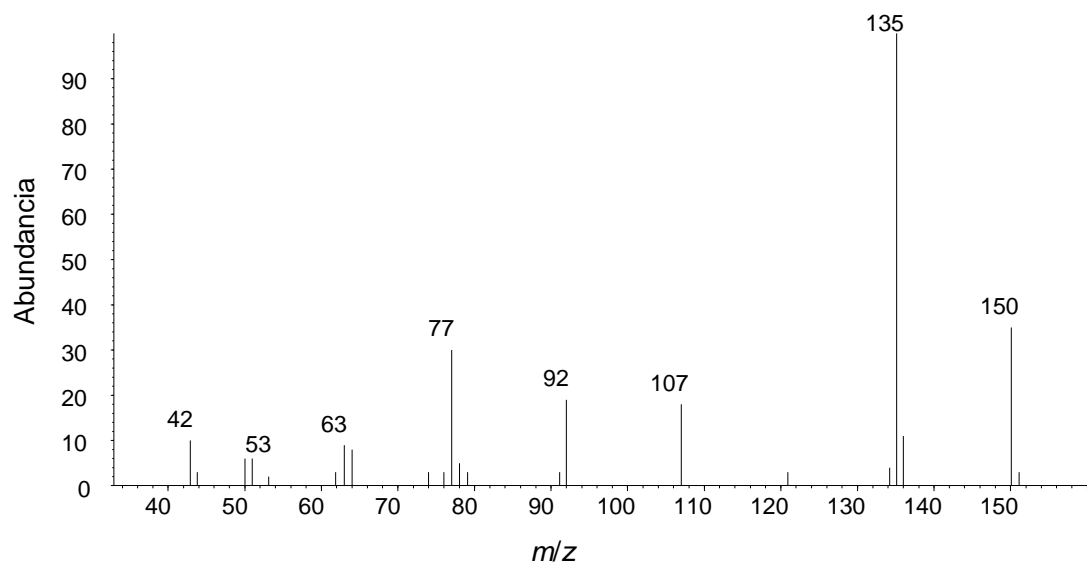
Anexo L. Espectro de masas (EI, 70 eV) del *p*-anisaldehído.



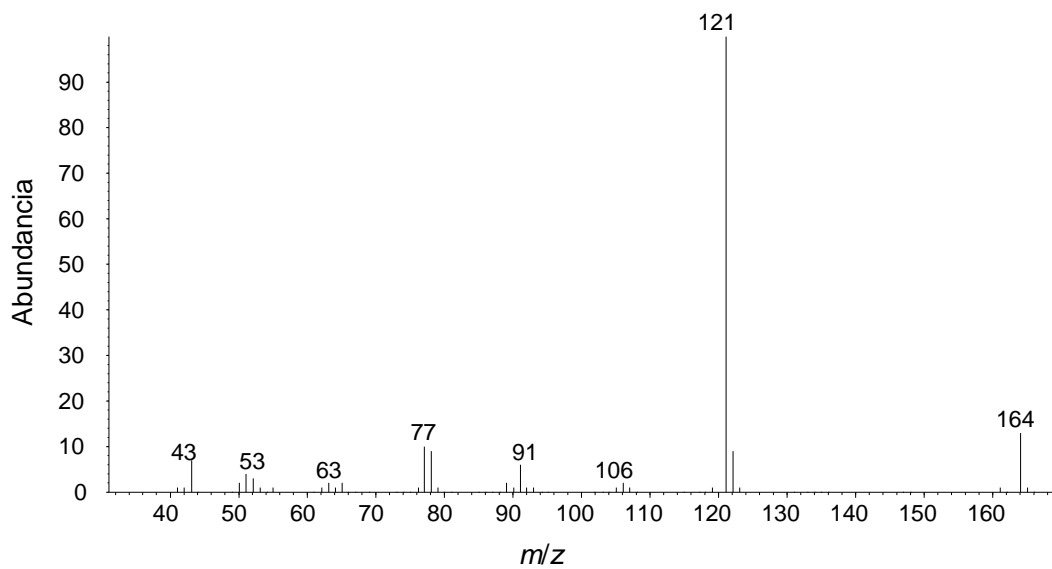
Anexo M. Espectro de masas (EI, 70 eV) del *trans*-anetol.



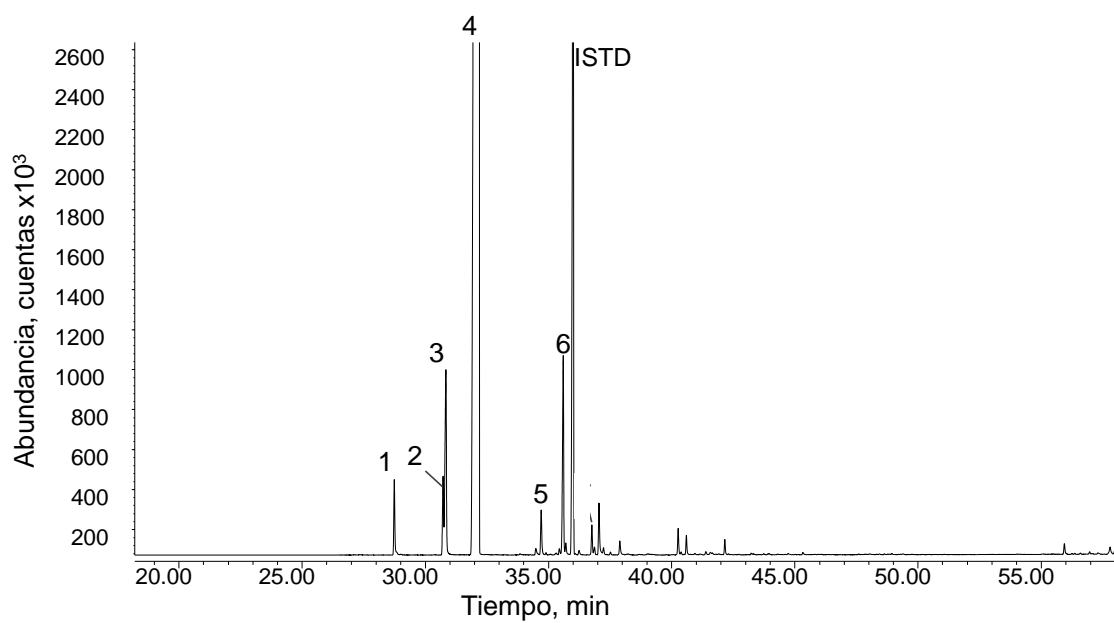
Anexo N. Espectro de masas (EI, 70 eV) del *p*-Acetanisol.



Anexo O. Espectro de masas (EI, 70 eV) del *p*-acetonilanisol.



Anexo P. Cromatograma del tratamiento de *trans*-anetol sobre MgAl-4HT durante 2 h, a 200 °C, AE (1 g), catalizador (0,2 g). Columna DB-5MS. GC-FID. (60 m). *Split* 1:30. ISTD: *n*-tetradecano. La identificación de los compuestos aparece en el **Anexo Q.**



Anexo Q. Productos de la transformación del *trans*-anetol, tratado con MgAl-4HT.

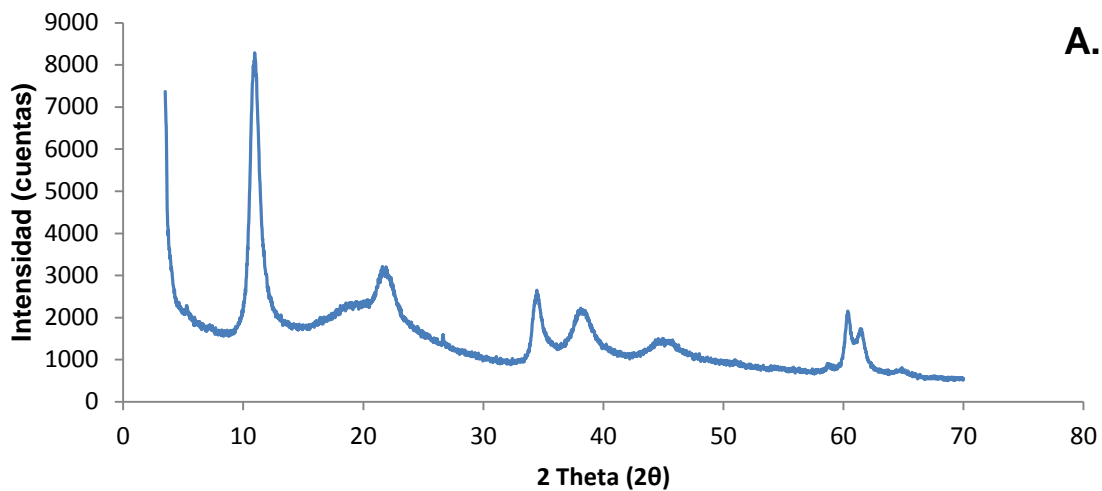
N° de pico Anexo P	Compuesto	Índices de retención lineales (IRL)				A_x/A_{ISTD} ($\pm s$, n=2)		Cantidad relativa, %
		DB-5MS		DB-WAX		Sin tratamiento	Con tratamiento	
		Exp.	[80]	Exp.	[80]			
1	Estragol	1201	1196	1658	1671	-	0,06 \pm 0,04	0,6 \pm 0,3
2	<i>cis</i> -Anetol	1256	1258*	1724	1732*	-	0,09 \pm 0,01	0,8 \pm 0,1
3	<i>p</i> -Anisaldehído	1263	1262	2010	2011	-	0,26 \pm 0,05	2,4 \pm 0,3
4	<i>trans</i> -Anetol	1300	1285	1826	1826	14,3 \pm 0,8	10,2 \pm 0,6	94 \pm 1
5	<i>p</i> -Acetanisol	1358	1348*	2125	-	-	0,05 \pm 0,02	0,4 \pm 0,1
6	<i>p</i> -Acetonilanisol	1387	1384*	2194	-	-	0,22 \pm 0,06	2,0 \pm 0,4

*IRL - reportados en la literatura [103].

Anexo R. Selectividad de la transformación del *trans*-anetol, tratado con MgAl-4HT.

Producto	Selectividad, % (\pms, n=2)
Estragol	4 \pm 2
<i>cis</i> -Anetol	6,23 \pm 0,04
<i>p</i> -Anisaldehído	18 \pm 1
<i>p</i> -Acetanisol	2 \pm 1
<i>p</i> -Acetonilanisol	22 \pm 4

Anexo S. A. Difractograma de la hidrotalcita sintetizada, MgAl-4HT, después del tratamiento con el AE de *T. lucida*, a 200 °C, durante 2 h, relación AE: catalizador (5:1). **B.** Características de los picos de difracción de la hidrotalcita tratada.



A.

B.

2 Theta	d (Å)	Altura	Área
11.5	7.7	10130.8	359814.6
23.1	3.8	3056.5	122184.2
28.2	3.1	111.7	5585.4
34.7	2.6	2069.9	89993.5
38.5	2.3	743.3	58966.3
39.2	2.3	902.8	77690.1
46.5	1.9	686.4	65274.6
58.7	1.6	71.5	6796.4
60.6	1.5	1284.9	42280.8
61.9	1.5	1196.7	41859.6
65.8	1.4	192.2	8038.5