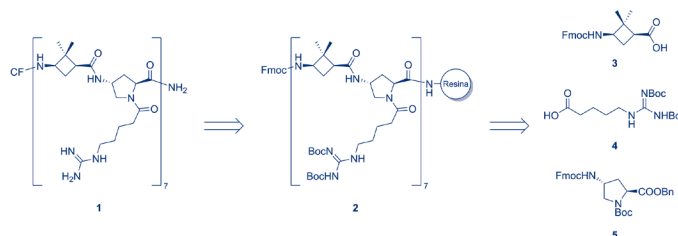


Revista de la Societat Catalana de Química

Revista anual de la SCQ, filial de l'Institut d'Estudis Catalans



21 / 2022

URL: <http://revistes.iec.cat/index.php/RSCQ> ISSN: 2013-9853



Institut
d'Estudis
Catalans

Revista de la

Societat Catalana de Química

Filial de l'Institut d'Estudis Catalans



21 / 2022

<http://revistes.iec.cat/index.php/RSCQ>

REVISTA ANUAL

ISSN: 2013-9853

Dipòsit Legal: B 40794-2000

Societat Catalana de Química

Filial de l'Institut d'Estudis Catalans

President: Gregori Ujaque Pérez

Vicepresidenta: Rosa Maria Marcé Recasens

Secretària: Montserrat Heras Corominas

Tresorer: Jordi Cuadros Margarit

Vocals: Nora Ventosa Rull

Consol Blanch Colat

Aureli Caamaño Ros

Eduard Cremades Martí

Anna de Juan Capdevila

Pere Grapi Vilumara

Josefina Guitart Mas

Ciril Jimeno Mollet

Lurdes Jordi Vilaró

Josep Lluís Lliberia Blasco

Arben Merkoçi

Laia Pellejà i Puxeu

Anton Vidal i Ferran

Vocal jove: Benjamí Oller Salvia

Delegat de l'IEC: Jordi Llorca Piqué

Revista de la Societat Catalana de Química

Director: Gregori Ujaque Pérez (president de la SCQ)

Consell Editorial: Ciril Jimeno Mollet (IQAC-CSIC)

i Montserrat Heras Corominas (UdG)

Revisió lingüística: Unitat d'Edició del Servei Editorial de l'IEC

© dels autors dels articles

Editat per la Societat Catalana de Química,

filial de l'Institut d'Estudis Catalans

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Telèfon: +34 935 529 106

Fax: +34 932 701 180

A/e: rscq@iec.cat

REVISTA ANUAL

ISSN: 2013-9853

Dipòsit Legal: B 40794-2000

Caràcter de la revista

La REVISTA DE LA SOCIETAT CATALANA DE QUÍMICA, adreçada al col·lectiu de químics i estudiants avançats de grau i màster, publica articles de divulgació de química i ciències frontereres. Alhora, també pot incloure seccions i apartats sobre història, docència, Internet, documentació, actualitat i altres temes.

En general, els articles que es publiquen a la REVISTA són per invitació expressa del Consell Editorial, i corresponen a conferenciants que han participat en actes de la Societat i a persones premiades en les diverses convocatòries públiques (Premis de Recerca, Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans...). No obstant això, si hi ha altres persones interessades a publicar-hi un treball, han de fer-ho saber al Consell Editorial i indicar-ne el contingut i la llargada aproximada, i aquest en valorarà l'adequació a la línia editorial de la REVISTA.

Poden ser articles de treball de recerca originals o de revisió. Cal tenir present que els lectors de la REVISTA poden ser químics de qualsevol especialitat i, per això, es demana als autors que facin un esforç especial a fi de facilitar la comprensió dels seus treballs.

Normes de publicació

Les normes detallades de publicació es poden trobar a la pàgina web de la REVISTA: <http://revistes.iec.cat/index.php/RSCQ>.

Aquesta obra està subjecta —llevat que s'indiqui el contrari en el text, en les fotografies o en altres il·lustracions— a una llicència Reconeixement – No comercial – Sense obres derivades 3.0 Espanya de Creative Commons, el text complet de la qual es pot consultar a <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.ca>.

Així, doncs, s'autoritza el públic en general a reproduir, distribuir i comunicar l'obra sempre que se'n reconegui l'autoria i l'entitat que la publica i no se'n faci un ús comercial ni cap obra derivada.

Sumari

Editorial	p. 5
Influència del guany de pes gestacional en els increments de concentracions de compostos organohalogenats els primers anys de vida dels infants <i>per Joan O. Grimalt</i>	p. 7
Caracterització d'olis aromatitzats amb tòfona en comparació amb els compostos orgànics volàtils (COV) de la tòfona <i>Tuber melanosporum</i> mitjançant anàlisi sensorial i cromatogràfica per HS-SPME/GC-MS <i>Consol Blanch, Carlos Ibáñez, Amparo Tárrega i Míriam Torres-Moreno</i>	p. 15
L'aerosol orgànic a Catalunya. Fonts d'emissió i toxicitat <i>per Clara Jaén, Barend L. van Drooge i Joan O. Grimalt</i>	p. 38
Hidrogels de nanovesícules DELOS: una formulació innovadora per a ús tòpic <i>per Lídia Ballell-Hosa, Elisabet González-Mira, Héctor Santana, Judit Morla-Folch, Yaima Martínez-Prieto, Jaume Veciana, Santi Sala, Lidia Ferrer-Tasies i Nora Ventosa</i>	p. 49
Autenticació de cafès mitjançant mètodes de GC-MS i quimiometria. Aplicació a la detecció i quantificació de mostres de cafè adulterades <i>per Nerea Núñez, Erica Moret, Paolo Lucci, Javier Saurina i Oscar Núñez</i>	p. 59
L'eliminació de la dependència de l'origen en les descomposicions de la polaritzabilitat <i>per Marc Montilla, Pedro Salvador i Josep M. Luis</i>	p. 66
Reducció electroquímica de CO ₂ amb catalitzadors organometàl·lics de tricarbonil de manganès(I) <i>per Sergio Fernández</i>	p. 72
Bisfuncionalització regioselectiva de ful·lerens amb màscares supramoleculares <i>per Valentina Iannace i Xavi Ribas</i>	p. 80
Preparació de blocs quirals per a nous agents de penetració cel·lular <i>per Víctor Maestre, Ona Illa, Miriam Royo i Rosa M. Ortuño</i>	p. 88
Celebrem el Premi Nobel de Química 2021. La reinvençió de l'organocatàlisi asimètrica <i>per Albert Moyano</i>	p. 99
Químics catalans al món: Pau Farràs Costa. Universitat de Galway (Irlanda)	p. 119
Ressenyes	p. 121
Activitats destacades de la Societat Catalana de Química	p. 122

Editorial

Un any més, ens complau de presentar-vos el nou número de la REVISTA DE LA SOCIETAT CATALANA DE QUÍMICA (RSCQ), i ja en portem vint-i-un. La majoria d'activitats d'enguany de la Societat s'han pogut dur a terme amb normalitat, un cop superada la pandèmia de la covid. Entre les contribucions d'aquest número cal destacar les dels joves investigadors que van guanyar el premi a les millors presentacions en els diferents simposis de la XII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans (TJIPC) que es va celebrar a la Universitat de Girona el mes de gener.

Comencem amb un article de Joan O. Grimalt, de l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC), sobre la influència del guany de pes gestacional de la mare en la concentració de compostos organoclorats en els nadons, amb les possibles implicacions que això pot tenir a llarg termini en la salut dels infants.

El segon article, escrit per Consol Blanch, de la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), en col·laboració amb Carlos Ibáñez, Amparo Tàrrega i Míriam Torres-Moreno, ens endinsa en el món de la tòfona i concretament en la caracterització i l'anàlisi dels compostos orgànics volàtils responsables del seu aroma característic.

Aquest article ve seguit d'un de Clara Jaén, Barend L. van Drooge i Joan O. Grimalt (IDAEA-CSIC) sobre la presència d'aerosols orgànics a Catalunya, el seu origen i la seva toxicitat. Amb aquest treball, Clara Jaén va resultar guanyadora del premi a la millor presentació del simposi «Medi ambient» de la XII TJIPC.

A continuació tenim un article encapçalat per Lídia Ballell-Hosa, de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC), qui va guanyar el premi a la millor presentació del simposi «Biomolècules» de la XII TJIPC. En aquest text es discuteix l'ús d'uns nous hidrogels nanovesiculars per a l'alliberament tòpic controlat de fàrmacs. En aquest article també hi han contribuït Elisabet González-Mira, Judit Morla-Folch, Jaume Veciana i Nora Ventosa, de l'ICMAB-CSIC; Héctor San-

tana i Yaima Martínez-Prieto, del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Cuba (CIGB), i Santi Sala i Lidia Ferrer-Tasies, de l'empresa Nanomol Technologies, SL.

El cinquè article presenta un mètode de GC-MS i quimiomètric per a autenticar el cafè i determinar-ne el grau d'adultació. Cal destacar que l'estudi tracta de la distinció entre les varietats de cafè *arabica* i *robusta* i les seves mesclades. Aquest article ha estat escrit per Nerea Núñez, de la Universitat de Barcelona (UB), guanyadora del premi a la millor presentació del simposi «Metodologia analítica» de la XII TJIPC, en col·laboració amb Javier Saurina i Oscar Núñez, també de la UB, i Erica Moret i Paolo Lucci, de la Universitat d'Udine.

El sisè article ha estat escrit per Marc Montilla, Pedro Salvador i Josep M. Luis, de la Universitat de Girona (UdG), i versa sobre un mètode computacional basat en l'energia que permet eliminar la influència de l'origen de coordenades en el resultat del càlcul de la polaritzabilitat de les molècules (i de les propietats que se'n deriven). Marc Montilla va ser el guanyador del premi a la millor presentació del simposi «Teoria i modelatge» de la XII Trobada de Girona.

L'article següent està escrit per Sergio Fernández, de l'Institut Català d'Investigació Química (ICIQ), qui va resultar guanyador del premi a la millor presentació del simposi «Catàlisi» de la XII TJIPC. En aquest text es fa una revisió de la reducció electroquímica de diòxid de carboni emprant catalitzadors de tricarbonil de manganès(I), que permet obtenir compostos químicament més útils, com el monòxid de carboni o el format, al mateix temps que s'elimina aquest gas amb efecte d'hivernacle.

A continuació tenim un article de Valentina Iannace, guanyadora del premi a la millor presentació del simposi «Materials» de la XII TJIPC, i Xavi Ribas, tots dos de la UdG, en el qual revisen els mètodes existents per a la funcionalització selectiva de fullerenes, fent un èmfasi especial en l'ús de màscares supramoleculares.

I ja deixem els articles dels guanyadors dels diferents premis de la XII TJIPC i passem al novè article d'aquest número, que

tracta de la preparació de nous pèptids híbrids que permeten la internalització en cèl·lules HeLa o en el paràsit leishmània. Ens el presenta Víctor Maestre, de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), guanyador del premi al millor treball de fi de grau de l'àmbit de la química atorgat per la Societat Catalana de Química (SCQ) en l'edició 2021, juntament amb Ona Illa i Rosa M. Ortuño, també de la UAB, i Míriam Royo, de l'Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC).

Tot seguit, trobem l'article sobre el Premi Nobel de Química 2021. En aquest cas, la conferència original va ser impartida el desembre de 2021 pel professor Albert Moyano, de la UB, qui n'ha fet un resum titulat «La reinvençió de l'organocatàlisi asimètrica».

A continuació, hi ha la secció de «Químics catalans al món», en la qual es presenta la trajectòria de Pau Farràs, professor de la Universitat de Galway (Irlanda), i la secció de ressenyes de llibres de divulgació química, amb dos suggeriments. Finalment, acabem aquest número amb les activitats destacades que ha dut a terme o en les quals ha participat la nostra societat des de finals de 2021 fins a novembre de 2022.

Esperem que els articles i les seccions siguin del vostre interès i, com sempre, us convidem a participar en la nostra revista bé escrivint algun article, bé aportant idees o suggeriments per a millorar-la. La REVISTA DE LA SOCIETAT CATALANA DE QUÍMICA vol ser un reflex de la comunitat química dels territoris de parla catalana i està al servei de totes les persones que treballen o s'interessen per la química des de qualsevol àmbit (acadèmic, industrial, educatiu, etc.). És el nostre objectiu fer divulgació de tota mena de recerca acadèmica o industrial, tractar temes d'història de la química, divulgació o altres aspectes d'interès per a la nostra comunitat. Podeu contactar amb nosaltres a l'adreça electrònica rscq@iec.cat.

Els editors,

Montserrat Heras Corominas
Universitat de Girona
montserrat.heras@udg.edu

Ciril Jimeno Mollet
Institut de Química Avançada de Catalunya -
Consell Superior d'Investigacions Científiques
ciril.jimeno@iqac.csic.es

Influència del guany de pes gestacional en els increments de concentracions de compostos organohalogenats els primers anys de vida dels infants

The influence of gestational weight gain on increases of organohalogen compound concentrations in children's early years of life

Joan O. Grimalt

Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)

Resum: Les característiques maternes i els canvis fisiològics durant la gestació, com ara el guany de pes gestacional (GPG), poden tenir una influència en la càrrega global de compostos organohalogenats en els nounats. Hem observat que les concentracions neonatals d'aquests compostos estaven associades inversament amb el GPG després de l'ajustament per edat, l'índex de massa corporal abans de l'embaràs, el nivell educatiu i el consum de peix. De mitjana, els nounats de dones amb un GPG recomanat per l'Institut de Medicina dels Estats Units (IOM) o superior tenien concentracions més baixes d'aquests contaminants que els nounats de mares amb un GPG massa baix. Addicionalment, hem observat que un GPG insuficient també incrementa la transferència de contaminants als nadons durant la lactància materna, fet que amplia considerablement la importància d'aquest canvi fisiològic pel que fa a la ingesta de contaminants dels nens en els primers anys de vida.

Paraules clau: Transferència materna de contaminants orgànics, nounats, lactància materna, guany de pes gestacional, compostos organohalogenats.

Abstract: Maternal characteristics and physiological changes during gestation such as gestational weight gain (GWG) may have an influence on the overall burden of organohalogen compounds in neonates. We have observed that neonatal concentrations of these compounds were inversely associated with GWG after adjustment for age, pre-pregnancy body mass index, educational level, and fish consumption. On average, neonates of women with GWG as recommended by the Institute of Medicine (IOM) or better had lower concentrations of these pollutants than neonates of mothers with unsuitably low GWG. Furthermore, we have observed that insufficient GWG also increases pollutant transfer to infants during breastfeeding, which considerably extends the significance of this physiological change as regards the pollutant intake of children in the early years of their life.

Keywords: Maternal transfer of organic pollutants, newborns, breastfeeding, gestational weight gain, organohalogen compounds.

Introducció

Els nens incorporen contaminants ja al principi de la vida. Les transferències transplacentàries i de lactància constitueixen les principals vies d'absorció de contaminants orgànics lipòfils com els organohalogenats en els nounats [1-5]. En aquest període, la formació dels òrgans i del metabolisme fa que hi hagi una major susceptibilitat als efectes nocius d'aquests compostos i el potencial de desintoxicació dels nens és feble [6]. Per exemple, s'ha ob-

servat una capacitat menor de metabolització del diclorodifeniltricloroetà (DDT) i dels èters polibromodifenílics (PBDE, *polybromodiphenyl ethers*), en el període fetal [5]. En conseqüència, s'han establert associacions entre l'exposició fetal a alguns compostos organohalogenats i retards del neurodesenvolupament [4], augment de la incidència d'asma [7, 8] i sobrepès [9, 10], entre altres.

Molts dels compostos relacionats amb aquests efectes adversos són resistent a la degradació química i ambiental, altament lipòfils i bioacumulables a través de la xarxa tròfica. Alguns d'ells, com l'hexaclorobenzè (HCB), el DDT, el lindà o els policlorobifenils (PCBs), s'utilitzaren molt durant la segona meitat del segle xx com a fungicides, pesticides i dielèctrics en transformadors i altres aplicacions. Aquests usos van disminuir dels anys setanta als noranta i, finalment, foren prohibits

Correspondència: Joan O. Grimalt
Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)
C. de Jordi Girona, 18. 08034 Barcelona
Tel.: +34 934 006 118
A/e: joan.grimalt@idaea.csic.es

pel Conveni d'Estocolm el 2001. No obstant això, la seva gran estabilitat química/ambiental i la continuació de la seva síntesi, intencionada o no, els fan presents en moltes àrees del món. Així, l'HCB se sintetitza com a subproducte en la fabricació de dissolvents organoclorats, el DDT es continua utilitzant contra malalties vectorials [11, 12] i s'observa una emissió de PCBs per la disminució de la neu de muntanya en zones temperades [13, 14].

Òbviament, la càrrega corporal materna d'aquests compostos constitueix un factor principal per a l'acumulació d'aquestes substàncies en els infants en el primer període de vida. En aquest sentit, el guany de pes gestacional (GPG) és una variable que influeix en la transferència d'aquests compostos de la mare al nen. En un primer estudi [15], s'observà que el guany de pes gestacional per sota de les recomanacions de l'Institut de Medicina (IOM) —actualment, Acadèmia Nacional de Medicina (NAM)— de l'Acadèmia Nacional de Ciències, Enginyeria i Medicina dels EUA [16] comporta una transferència més alta de contaminants organohalogenats al fetus. En un estudi més recent [17], s'ha vist que aquesta manca d'increment adequat també es reflecteix en una concentració més alta d'aquests contaminants en el calostre. Aquests treballs han estat pioners a l'hora d'establir una correlació entre les recomanacions de l'IOM i l'acumulació de contaminants organohalogenats en nadons i mares. En el present estudi es resumeix la informació assolida i, per primera vegada, es mostra aquest efecte dual d'increment inadequat de contaminants persistents lipòfils en condicions de GPG per sota de les recomanacions de l'IOM.

Poblacions d'estudi

L'increment de compostos organohalogenats en els nadons s'estudià dins del programa «Infància i medi ambient» (INMA) en la cohort d'Astúries generada per la Universitat d'Oviedo [18]. Es recolliren mostres de sèrum matern durant el primer trimestre de gestació (mediana = 12 setmanes; marge = 10-13 setmanes). Els parts es produïren entre l'octubre del 2004 i el febrer del 2008 a l'Hospital Universitario San Agustín (Avilés). El personal de l'hospital que els va assistir va recollir amb èxit 325 mostres de sang de cordó de 485 parts. Es van analitzar les concentracions de compostos organohalogenats en 325 mostres aparellades de sèrum matern - cordó umbilical. Les característiques de les mares a les quals es

prengué mostra foren comparables a les de la resta de la cohort. El protocol d'estudi fou aprovat pel Comitè d'Ètica de l'Hospital Universitario San Agustín.

L'estudi de l'increment de compostos organohalogenats en llet i sang venosa de les mares es feu en les cohorts de Sabadell i Guipúscoa. Durant el primer trimestre de l'embaràs es van reclutar un total de 1267 dones en centres sanitaris públics o hospitals de referència de les dues àrees i se'ls va fer un seguiment durant tot el període de l'embaràs fins a l'alta després del part. El període de reclutament fou des del juliol del 2004 al juliol del 2006 en la cohort de Sabadell, i del maig del 2006 al febrer del 2008 en la cohort de Guipúscoa. Van aportar mostres de sang i calostre 256 dones de Sabadell i 120 de Guipúscoa (en total, 376). Les mostres de sang es van recollir per venipunció en condicions de dejuni a la dotzena setmana d'embaràs. Les mostres de calostre es van prendre el tercer dia després del part. L'estudi fou aprovat pels comitès d'ètica dels hospitals de Sabadell i Donòstia. A les participants de tots els estudis se'ls demanà un consentiment informat.

Mètodes d'anàlisi

Les mostres es guardaren congelades a -20°C després de la recollida. Les anàlisis es feren sense conèixer l'origen ni les característiques de les mares o els nadons. S'extragueren quantitats de 0,5-1 mL i es purificaren amb oxidació amb àcid sulfúric. Les anàlisis instrumentals es feren per cromatografia de gasos (GC, *gas chromatography*) acoblada a detecció de captura d'electrons i GC acoblada a espectrometria de masses d'ionització química amb registre d'ions negatius [5, 19, 20].

Guany de pes gestacional (GPG)

El GPG es definí com la diferència entre l'últim pes registrat durant l'embaràs i el pes autoinformat de la mare abans de l'embaràs. A més, es calculà el GPG com la diferència entre el pes del primer trimestre i el pes en el part, amb el mateix procediment. Si l'edat gestacional informada i les observacions per ultrasons diferien en més de sis dies (12,9% dels participants), aquesta es recalculà a partir de la longitud entre la part superior del cap i les natges obtinguda a partir d'un mesurament fet en una ecografia [21]. Aquests criteris de càlcul diferents no donaren lloc a canvis en la validesa estadística de

les diferències observades en les concentracions de compostos organoclorats.

El GPG total es va convertir en una variable categòrica amb tres categories (recomanat, inadequat o baix, i excessiu o alt), seguint les directrius de l'IOM (vegeu la taula 1; [22]).

TAULA 1. Guanys de pes gestacional recomanats per l'Institut de Medicina dels EUA [16] segons l'índex de massa corporal (IMC) de les mares a l'inici de l'embaràs. Elaboració pròpia.

IMC a l'inici de l'embaràs	IMC (kg/m ²)	Guany de pes gestacional recomanat (kg)
Baix	< 18,5	12,6-18
Normal	18,5-24,9	11,25-15,75
Sobrepès	25,0-29,9	6,75-11,25
Obesitat	≥ 30	4,94-9,0

Covariables de l'estudi

Les dades individuals i socioeconòmiques, incloses les mesures antropomètriques, es van obtenir a partir de qüestionaris administrats per entrevistadors entrenats, així com en visites durant el primer trimestre de l'embaràs i durant el part. Es van recollir les variables següents: nivell educatiu matern (dividida en tres categories: primària, secundària i universitat); classe social (dividida en tres categories: menys acomodada (V i IV), acomodada (III) i més acomodada (II i I)); consum de tabac (dividida en tres categories: mai ha fumat, ha fumat fins a l'inici de l'embaràs i ha fumat durant tot l'embaràs); lactància materna acumulada anterior (dividida en quatre categories: mai (incloses les dones sense fills anteriors), < 3 mesos, 3-12 mesos i > 1 any); lloc de naixement (dividida en tres categories: Espanya, resta d'Europa i Amèrica del Sud).

Anàlisi de dades

Es calcularen les mitjanes, medianes i el percentil 90. Per a cada mare es calculà la relació de concentració calostre : sèrum matern. Es calcularen les associacions possibles entre les proporcions de calostre : sèrum i les variables esmentades anteriorment mitjançant les correlacions de Spearman, els models additius generalitzats simples i els models de regressió lineal multivariant ajustats per possibles factors de confusió. En els

models de regressió multivariant, les concentracions de compostos i el GPG continu es van transformar a escala logarítmica. Es construí un model per a cada compost, ja fos en concentració de calostre ajustada als lípids o per la proporció de calostre : sèrum. El GPG va ser la variable dependent (en escala logarítmica contínua) i els models es van ajustar per edat materna, lactància materna acumulada, classe social, nivell educatiu de la mare i país d'origen. Es va realitzar una anàlisi de sensibilitat, tot canviant la lactància materna acumulada per paritat (atès que ambdues variables estaven altament correlacionades) i per evitar la multicolinealitat no es van poder afegir conjuntament en els models.

Resultats

La descripció de les característiques de les participants en les cohorts estudiades es pot trobar a les referències [15, 17]. En general, s'observà una relació inversa entre el GPG i l'índex de massa corporal anterior a l'embaràs (coeficient de correlació de Spearman, $r = -0,16$, $p < 0,01$). El 55% de les dones amb sobrepès o obesesa va excedir el GPG recomanat de l'IOM; en el cas de les d'índex de massa corporal normal, aquest excés fou del 37%. La proporció de dones que tingué un GPG menor del recomanat fou del 9%, 30%, 14% i 20% entre les que tenien un índex de massa corporal preembaràs corresponent a baix, normal, amb sobrepès i amb obesitat, respectivament.

Les concentracions dels compostos organohalogenats en les mares estudiades són comparables a les habituals en altres poblacions de zones no contaminades en èpoques equivalents. Tant en el cas de les concentracions dels compostos organohalogenats en sang de cordó com en calostre s'observa en general que com més baix és el GPG més altes són les concentracions d'aquests compostos [15, 17].

A la figura 1 es mostren les diferències observades entre els tres grups de canvi de GPG per als PCBs, 4,4'-DDE, HCB i β -HCH. Tant pel que fa a les concentracions en sang de cordó com en les de calostre, les més altes s'observen en el grup de dones amb un GPG menor del recomanat. En el cas dels nadons, les diferències són significatives per als PCBs, 4,4'-DDE i HCB ($p < 0,05$). En el cas del calostre, les diferències són significatives per als PCBs i 4,4'-DDE ($p < 0,001$ i $p < 0,01$, respectivament). La significació sempre es refereix a la diferència entre el grup de les mares amb un GPG menor que el recomanat

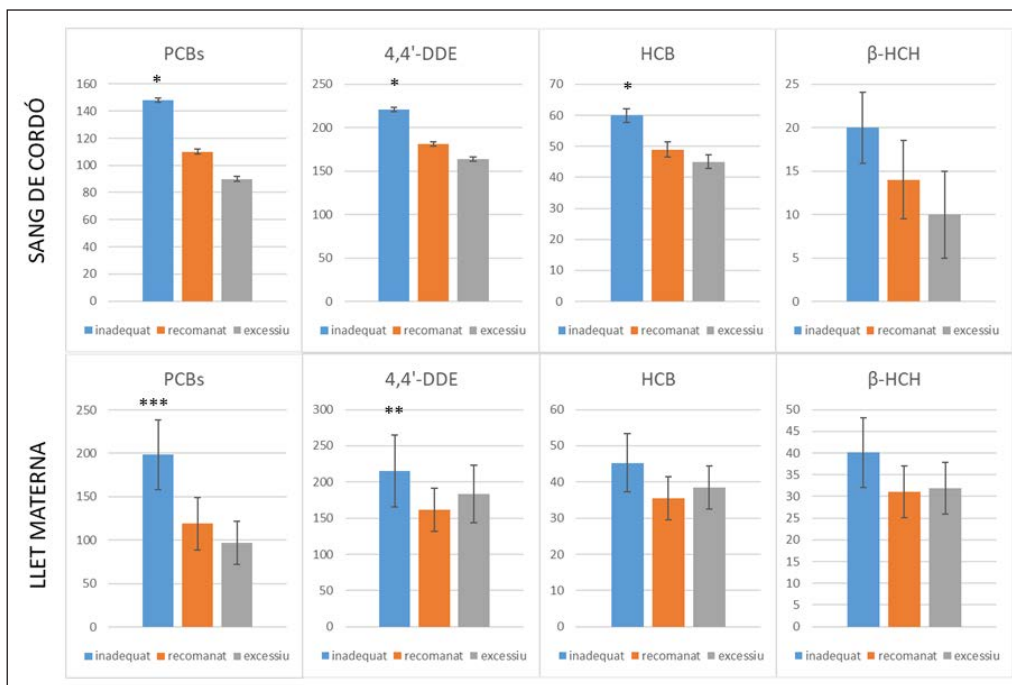


FIGURA 1. Representació de les concentracions mitjanes de les distribucions de contaminants en el sèrum de la sang de cordó dels nadons (part superior) i de les concentracions mitjanes en el calostre (part inferior), agrupades pel guany de pes gestacional de les mares segons l'Institut de Medicina [16]. Els intervals indiquen la desviació estàndard. S'indiquen les diferències significatives entre els grups (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Elaboració pròpia.

per l'IOM i els altres grups. Les diferències de concentració de compostos organohalogenats entre les mares amb un GPG recomanat o excessiu no eren significatives. Aquestes diferències no depenen de la influència de les variables socioeconòmiques descrites anteriorment.

L'estudi de la relació entre les concentracions en calostre i sèrum venós matern també mostra un increment significatiu de PCBs i 4,4'-DDE en les mares amb un GPG per sota de les recomanacions de l'IOM [16]. Aquestes diferències indiquen

una acumulació preferent dels compostos organoclorats en el calostre respecte a la sang materna.

En aquest sentit, les mitjanes de les proporcions de compostos organohalogenats en calostre : sèrum correlacionen significativament amb el coeficient de partició octanol : aigua (K_{ow}) (vegeu la figura 2). Aquest fet és coherent amb canvis de nivells de greix durant l'embaràs i la seva influència en la mobilització d'aquests contaminants durant aquest període. S'han observat proporcions més altes de la relació dels compostos

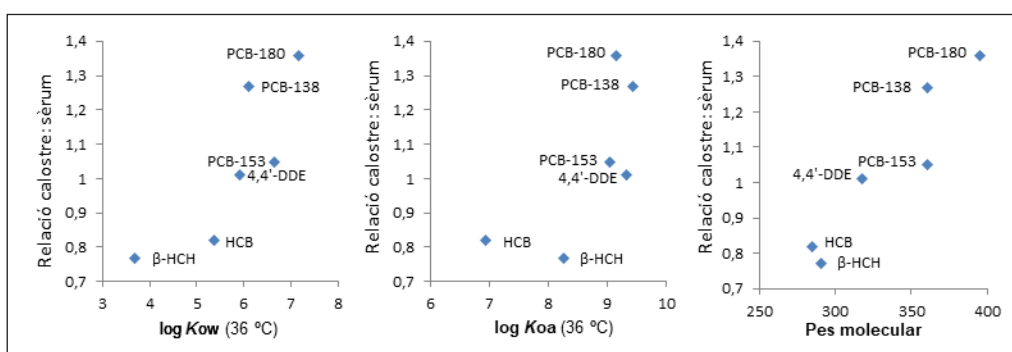


FIGURA 2. Representació de la relació de les concentracions mitjanes calostre : sèrum (calculades per normalització al pes lipídic) de les distribucions dels compostos organoclorats en les mares en funció del log K_{ow} (36 °C), el log K_{oa} (36 °C) i el pes molecular. Elaboració pròpia.

organohalogenats en calostro : sèrum a log Kow més alt (vegeu la figura 2). Estudis anteriors sobre les distribucions de 4,4'-DDE i HCB en llet materna [23-26] o calostro [26] i sèrum van trobar una dependència més gran del 4,4'-DDE que de l'HCB en la llet materna o en el calostro que en el sèrum, fet que concorda amb la tendència descrita a la figura 2. No obstant, aquests estudis anteriors no consideraren el GPG en relació amb les recomanacions de l'IOM.

Altres propietats d'aquests contaminants també poden modular aquestes distribucions calostro : sèrum. El pes molecular mostra una coherència notable amb la relació mitjana de compostos organohalogenats en calostro : sèrum (vegeu la figura 2), la qual cosa suggereix que la mida molecular també pot modificar la capacitat de transport d'aquests contaminants degut a la permeabilitat de les membranes [27] i, per tant, la partició calostro : sèrum.

En canvi, no s'observa una dependència respecte a les constants de partició octanol : aire, log K_{oa} (vegeu la figura 2).

Discussió

En general, les associacions observades entre les concentracions sèriques de compostos organohalogenats en la sang de cordó i el GPG poden reflectir una dilució d'aquests compostos circulants en la sang de les mares i, en conseqüència, en els seus nounats, a causa d'una expansió de les reserves de greix corporal matern i del volum sanguini. Això és coherent amb una ingesta de compostos organohalogenats baixa durant el període de gestació en comparació amb les quantitats d'aquests compostos acumulades al cos matern al llarg de la vida. Probablement, les dones que pertanyen al grup del GPG recomanat per l'IOM, durant l'embaràs generen greix corporal suficient per diluir els compostos organohalogenats en el seu sistema venós. Aquest greix produeix una retenció d'aquests compostos que en disminueix la incorporació a la sang i, per tant, el transport al fetus.

Per contra, les dones que no compleixen les recomanacions de pes de l'IOM podrien perdre pes durant la formació d'òrgans relacionats amb l'embaràs com la placenta, el líquid amniòtic, l'úter, el teixit mamari matern o el fetus. La pèrdua de pes corporal s'ha associat amb l'augment de les concentracions plasmàtiques de compostos orgànics persistents (COP) en

adults [28]. Un nivell inadequat de greix corporal matern pot donar lloc a taxes més altes de mobilització de les reserves de greix matern en l'últim trimestre de l'embaràs [29]. Aquest efecte de mobilització per satisfer la demanda fetal pot desencadenar l'alliberament de compostos organohalogenats al torrent sanguini, on poden estar disponibles i creuar la barrera placentària. En aquest sentit, s'ha descrit que les concentracions de COP en el teixit adipós de mares amb pes baix són més altes que en les mares amb sobrepès [30].

De manera semblant, la variació de contaminants en la sang es reflecteix en les concentracions dels compostos organohalogenats en el calostro, però els resultats d'aquest estudi mostren que els efectes de canvi són més importants en el calostro que en el sèrum. El 60% dels lípids de la llet materna s'originen a partir del teixit adipós de la mare [31] i, per tant, aquest procés representa la font predominant de compostos organohalogenats en aquest fluid [25]. A més, els lípids de la llet atreuen productes químics lipòfils de la sang, que migren a través de les cèl·lules alveolars per difusió passiva i aconseguen l'equilibri entre ambdós fluids [32]. En conseqüència, les dones que durant l'embaràs acumulen més greix i, per tant, més pes, transfereixen proporcions més petites de compostos organohalogenats per unitat d'energia als seus fills durant la lactància materna.

Conclusions

Els resultats d'aquest estudi suggereixen que el GPG influeix en l'acumulació de compostos organohalogenats en els nounats. S'ha observat que les concentracions neonatals de tots els compostos organohalogenats van ser més baixes com més gran era el GPG després de l'ajust estadístic per possibles factors de confusió. Les mares en les quals el GPG va ser inferior a les recomanacions de l'IOM van donar a llum nadons amb concentracions més altes de compostos organohalogenats (entre un 9% i un 30% més) que les mares que van complir o van superar les recomanacions d'augment de pes. En conseqüència, les recomanacions de l'IOM per al GPG durant l'embaràs poden ser beneficioses per reduir l'exposició a aquests contaminants en els nounats.

De manera semblant, s'ha observat que el GPG també té una influència en el contingut de compostos organohalogenats en la llet materna. El calostro de mares amb un GPG baix té con-

centracions significativament més altes de PCBs i 4,4'-DDE que el calostre de mares que van augmentar de pes dins de les recomanacions de l'IOM o que van superar aquest llindar. També es troben diferències estadísticament significatives en les proporcions de calostre : sèrum matern d'aquests compostos.

Per tant, les recomanacions de l'IOM per al GPG també poden tenir valor clínic en l'atenció primària, ja que proporcionen una guia perquè les dones redueixin les concentracions de compostos organohalogenats en els seus nounats.

Referències

- [1] CARRIZO, D.; GRIMALT, J. O.; RIBAS-FITÓ, N.; SUNYER, J.; TORRENT, M. «Physical-chemical and maternal determinants of the accumulation of organochlorine compounds in four-year-old children». *Environ. Sci. Technol.*, 40 (5) (2006), p. 1420-1426.
- [2] GASCON, M.; VRIJHEID, M.; GARÍ, M.; FORT, M.; GRIMALT, J. O.; MARTÍNEZ, D.; TORRENT, M.; GUXENS, M.; SUNYER, J. «Temporal trends in concentrations and total serum burdens of organochlorine compounds from birth until adolescence and the role of breastfeeding». *Environ. Int.*, 74 (2015), p. 144-151.
- [3] KARMAUS, W.; DEKONING, E. P.; KRUSE, H.; WITTEN, J.; OSIUS, N. «Early childhood determinants of organochlorine concentrations in school-aged children». *Pediatric Res.*, 50 (2001), p. 331-336.
- [4] RIBAS-FITÓ, N.; CARDO, E.; SALA, M.; MUGA, M. E. de; MAZÓN, C.; VERDÚ, A.; KOGEVINAS, M.; GRIMALT, J. O.; SUNYER, J. «Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants». *Pediatrics*, 111 (5) (2003), p. 580-585.
- [5] VIZCAINO, E.; GRIMALT, J. O.; FERNÁNDEZ-SOMOANO, A.; TARDÓN, A. «Transport of persistent organic pollutants across the human placenta». *Environ. Int.*, 65 (2014), p. 107-115.
- [6] SELEVAN, S. G.; KIMMEL, C. A.; MENDOLA, P. «Identifying critical windows of exposure for children's health». *Environ. Health Perspect.*, 108 (suplement 3) (2014), p. 451-455.
- [7] SUNYER, J.; TORRENT, M.; MUÑOZ-ORTIZ, L.; RIBAS-FITÓ, N.; CARRIZO, D.; GRIMALT, J. O.; ANTÓ, J. M.; CULLINAN, P. «Prenatal dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and asthma in children». *Environ. Health Perspect.*, 113 (12) (2005), p. 1787-1790.
- [8] SUNYER, J.; TORRENT, M.; GARCIA-ESTEBAN, R.; RIBAS-FITÓ, N.; CARRIZO, D.; ROMIEU, I.; ANTÓ, J. M.; GRIMALT, J. O. «Early exposure to dichlorodiphenyldichloroethylene, breastfeeding and asthma at age six». *Clin. Exp. Allergy*, 36 (10) (2006), p. 1236-1241.
- [9] SMINK, A.; RIBAS-FITÓ, N.; GARCIA, R.; TORRENT, M.; MENDEZ, M. A.; GRIMALT, J. O.; SUNYER, J. «Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy increases the risk of overweight in children aged 6 years». *Acta Paediatr.*, 97 (10) (2008), p. 1465-1469.
- [10] VALVI, D.; MENDEZ, M. A.; MARTINEZ, D.; GRIMALT, J. O.; TORRENT, M.; SUNYER, J.; VRIJHEID, M. «Prenatal concentrations of polychlorinated biphenyls, DDE, and DDT and overweight in children: A prospective birth cohort study». *Environ Health Perspect.*, 120 (3) (2012), p. 451-457.
- [11] MANACA, M. N.; GRIMALT, J. O.; SUNYER, J.; MANDOMANDO, I.; GONZALEZ, R.; SACARLAL, J.; DOBAÑO, C.; ALONSO, P. L.; MENENDEZ, C. «Concentration of DDT compounds in breast milk from African women (Manhiça, Mozambique) at the early stages of domestic indoor spraying with this insecticide». *Chemosphere*, 85 (3) (2011), p. 307-314.
- [12] MANACA, M. N.; GRIMALT, J. O.; GARI, M.; SACARLAL, J.; SUNYER, J.; GONZALEZ, R.; DOBAÑO, C.; MENENDEZ, C.; ALONSO, P. L. «Assessment of exposure to DDT and metabolites after indoor residual spraying through the analysis of thatch material from rural African dwellings». *Environ. Sci. Poll. Res.*, 19 (3) (2012), p. 756-762.
- [13] GRIMALT, J. O.; FERNÁNDEZ, P.; QUIROZ, R. «Input of organochlorine compounds by snow to European high mountain lakes». *Freshwater Biology*, 54 (12) (2009), p. 2533-2542.
- [14] ARELLANO, L.; FERNÁNDEZ, P.; LÓPEZ, J. F.; ROSE, N. L.; NICKUS, U.; THIES, H.; STUHLIK, E.; CAMARERO, L.; CATALAN, J.; GRIMALT, J. O. «Atmospheric deposition of polybromodiphenyl ethers in remote mountain regions of Europe». *Atmos. Chem. Phys.*, 14 (9) (2014), p. 4441-4457.
- [15] VIZCAINO, E.; GRIMALT, J. O.; GLOMSTAD, B.; FERNÁNDEZ-SOMOANO, A.; TARDÓN, A. «Gestational weight gain and exposure of newborns to persistent organic pollutants». *Environ. Health Perspect.*, 122 (8) (2014), p. 873-879.
- [16] INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). *Weight gain during pregnancy: Reexamining the guidelines* [en línia]. Washington, D. C.: The National Academies Press, 2009. <<http://doi.org/10.17226/12584>>.
- [17] GRIMALT, J. O.; GARÍ, M.; SANTA-MARINA, L.; IBARLUZEA, J.; SUNYER, J. «Influence of gestational weight gain on the organochlorine pollution content of breast milk». *Environ. Res.*, 209 (2022), article 112783.
- [18] GUXENS, M.; BALLESTER, F.; ESPADA, M.; FERNÁNDEZ, M. F.; GRIMALT, J. O.; IBARLUZEA, J.; OLEA, N.; REBAGLIATO, M.; TARDÓN, A.; TORRENT, M.; VIOQUE, J.; VRIJHEID, M.; SUNYER, J.; INMA PROJECT. «Cohort profile: The INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project». *Int. J. Epidemiol.*, 41 (4) (2012), p. 930-940.

- [19] VIZCAINO, E.; ARELLANO, L.; FERNANDEZ, P.; GRIMALT, J. O. «Analysis of whole congener mixtures of polybromodiphenyl ethers by gas chromatography–mass spectrometry in both environmental and biological samples at femtogram levels». *J. Chromatogr. A*, 1216 (25) (2009), p. 5045–5051.
- [20] GRIMALT, J. O.; HOWSAM, M.; CARRIZO, D.; OTERO, R.; RODRIGUES DE MARCHI, M. R.; VIZCAINO, E. «Integrated analysis of halogenated organic pollutants in sub-millilitre volumes of venous and umbilical cord blood sera». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396 (2010), p. 2265–2272.
- [21] RASMUSSEN, K. M.; CATALANO, P. M.; YAKTINE, A. L. «New guidelines for weight gain during pregnancy: What obstetrician/gynecologists should know». *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 21 (6) (2009), p. 521–526.
- [22] WESTERWAY, S. C.; DAVISON, A.; COWELL, S. «Ultrasonic fetal measurements: New Australian standards for the new millennium». *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, 40 (3) (2000), p. 297–302.
- [23] GREIZERSTEIN, H. B.; STINSON, C.; MENDOLA, P.; BUCK, G. M.; KOSYNYIAK, P. J.; VENA, J. E. «Comparison of PCB congeners and pesticide levels between serum and milk from lactating women». *Environ. Res.*, 80 (3) (1999), p. 280–286.
- [24] JARRELL, J.; CHAN, S.; HAUSER, R.; HU, H. «Longitudinal assessment of PCBs and chlorinated pesticides in pregnant women from Western Canada». *Environ. Health: A Global Access Science Source*, 4 (2005), article 10.
- [25] LAKIND, J. S.; BERLIN, C. M.; SJÖDIN, A.; TURNER, W.; WANG, R. Y.; NEEDHAM, L. L.; PAUL, I. M.; STOKES, J. L.; NAIMAN, D. Q.; PATTERSON, D. G. «Do human milk concentrations of persistent organic chemicals really decline during lactation? Chemical concentrations during lactation and milk/serum partitioning». *Environ. Health Perspect.*, 117 (10) (2009), p. 1625–1631.
- [26] WALISZEWSKI, S. M.; AGUIRRE, A. A.; INFANZON, R. M.; SILICEO, J. «Persistent organochlorine pesticide levels in maternal blood serum, colostrum, and mature milk». *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 68 (3) (2002), p. 324–331.
- [27] WITTSIEPE, J.; FÜRST, P.; SCHREY, P.; LEMM, F.; KRAFT, M.; EBERWEIN, G.; WINNEKE, G.; WILHELM, M. «PCDD/F and dioxin-like PCB in human blood and milk from German mothers». *Chemosphere*, 67 (9) (2007), p. S286–S294.
- [28] CHEVRIER, J.; DEWAILLY, É.; AYOTTE, P.; MAURIÈGE, P.; DESPRÉS, J. P.; TREMBLAY, A. «Body weight loss increases plasma and adipose tissue concentrations of potentially toxic pollutants in obese individuals». *Int. J. Obes.*, 24 (10) (2000), p. 1272–1278.
- [29] HAGGARTY, P. «Fatty acid supply to the human fetus». *Annu. Rev. Nutr.*, 30 (2010), p. 237–255.
- [30] KIM, M. J.; MARCHAND, P.; HENEGAR, C.; ANTIGNAC, J.-P.; ALLI, R.; POITOU, C.; BOUILLLOT, J.-L.; BASDEVANT, A.; LE BIZEC, B.; BAROUKI, R.; CLÉMENT, K. «Fate and complex pathogenic effects of dioxins and polychlorinated biphenyls in obese subjects before and after drastic weight loss». *Environ. Health Perspect.*, 119 (3) (2011), p. 377–383.
- [31] HACHEY, D. L.; THOMAS, M. R.; EMKEN, E. A.; GARZA, C.; BROWN-BOOTH, L.; ADLOF, R. O.; KLEIN, P. D. «Human lactation: Maternal transfer of dietary triglycerides labeled with stable isotopes». *J. Lipid Res.*, 28 (10) (1987), p. 1185–1192.
- [32] WANG, R. Y.; NEEDHAM, L. L. «Environmental chemicals: From the environment to food, to breast milk, to the infant». *J. Toxicol. Environ. Health, Part B: Crit. Rev.*, 10 (8) (2007), p. 597–609.



J. O. Grimalt

Joan O. Grimalt, nat a Palma (Mallorca, 1956), és enginyer químic per l'Institut Químic de Sarrià (1978), llicenciat en ciències químiques per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB, 1979) i doctor en ciències químiques per la UAB (1983). És professor d'investigació del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) des del 1992 i membre numerari de l'Institut d'Estudis Catalans des del 2013. Com a geoquímic orgànic ambiental s'ha dedicat a l'estudi dels compostos orgànics naturals i antropogènics com a indicadors del canvi climàtic i de l'estat de salut dels ecosistemes i organismes (inclosos els humans). Ha estat director de l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC, 2008-2018) i del Centre d'Investigació i Desenvolupament (CID-CSIC, 2012-2018). Ha publicat més de set-cents articles científics citats més de vint-i-vuit mil vegades. Ha dirigit cinquanta-tres tesis doctorals i va rebre el Premi Rei Jaume I de la Preservació del Medi Ambient (Generalitat Valenciana) l'any 2005 i el de l'Excel·lència Científica de la Societat Catalana de Química el 2022.

Caracterització d'olis aromatitzats amb tòfona en comparació amb els compostos orgànics volàtils (COV) de la tòfona *Tuber melanosporum* mitjançant anàlisi sensorial i cromatogràfica per HS-SPME/GC-MS *Characterization of truffle-flavoured oils compared to volatile organic compounds (VOCs) of *Tuber melanosporum* truffles using sensory and chromatographic analysis by HS-SPME/GC-MS*

Consol Blanch,¹ Carlos Ibáñez,² Amparo Tàrrega³ i Miriam Torres-Moreno¹

¹ Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya. Facultat de Ciències, Tecnologia i Enginyeries. Departament de Biociències

² Divisió d'Innovació de Lucta, SA

³ Institut d'Agroquímica i Tecnologia Alimentària (IATA-CSIC)

Resum: El secret de la gran popularitat de les tòfones rau majoritàriament en els seus compostos orgànics volàtils (COV), els quals són els responsables de la seva olor característica. En aquest article es dona una visió global de les tòfones, del seu origen i de les seves propietats fisicoquímiques, nutricionals, organolèptiques i biològiques. Com a exemple dels components volàtils en productes derivats de la tòfona *Tuber melanosporum*, es mostren els resultats d'un estudi comparatiu dels COV que s'alliberen en olis comercials aromatitzats o amb tòfona macerada. La caracterització dels COV es va fer mitjançant una anàlisi química instrumental —microextracció en fase sòlida de l'espai de cap (HS-SPME) combinada amb cromatografia de gasos i espectrometria de masses (GC-MS)— i una anàlisi sensorial amb un panell de tastadors entrenats.

Paraules clau: Tòfona, *Tuber melanosporum*, oli aromatitzat de tòfona, COV, HS-SPME, GC-MS, descriptors d'aroma de tòfona, avaluació sensorial, panell de tast.

Abstract: The secret of the great popularity of truffles lies mainly in their volatile organic compounds (VOCs), which produce their characteristic smell. This paper provides an overview of truffles in general as well as of their origin and their physico-chemical, nutritional, organoleptic and biological properties. As an example of the volatile compounds in derivatives of the truffle *Tuber melanosporum*, the results are presented of a comparative study of the VOCs that are released in aromatized commercial oils or those containing macerated truffles. The characterization of the VOCs was carried out by instrumental chemical analysis – headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) – and sensory analysis by a panel of trained professional tasters.

Keywords: Truffle, *Tuber melanosporum*, truffle-flavoured oil, VOC, HS-SPME, GC-MS, truffle flavour descriptors, sensory evaluation, trained tasting panel.

Introducció

La tòfona és considerada un producte alimentari de gran valor culinari i és molt apreciada en alta gastronomia, especialment per la seva aroma característica. Les tòfones són el cos de fructificació d'un fong ascomicet hipogeu ectomicorrídic de la família de les tuberàcies, de l'ordre de les pezizals. Aquests fongs necessiten un arbre hoste (alzines, roures, avellaners, coscolls, pins...);

les hifes del miceli del fong envolten les arrels de l'arbre hoste i s'origina la simbiosi. L'arbre proporciona carbohidrats i altres compostos orgànics derivats de la fotosíntesi al fong i, a la vegada, aquest aporta més aigua i sals minerals a l'hoste. Donada la rellevància que ha anat adquirint en els darrers temps l'ús de la tòfona entre els consumidors, en el present article ens hem marcat com a objectius, d'una banda, posar de manifest alguns aspectes generals entorn del món de la tòfona a tall de divulgació i, de l'altra, més en particular, presentar els resultats d'un estudi realitzat per a caracteritzar el perfil dels compostos orgànics volàtils (COV), responsables de l'olor de la tòfona. L'estudi està aplicat a la determinació de la composició de la fracció volàtil d'olis comercials —preparats amb tòfona macerada o amb aromatitzants—, mitjançant una anàlisi cromatogràfica i sensorial, per tal d'avaluar-ne l'autenticitat.

Correspondència: Consol Blanch
Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya. Facultat de Ciències, Tecnologia i Enginyeries. Departament de Biociències
C. de la Laura, 13. 08500 Vic
Tel.: +34 938 815 519 / 620 256 375
A/e: consol.blanch@uvic.cat

Aspectes generals a l'entorn del món de la tòfona

Una mica d'història

Des de l'antiguitat, les tòfones van ser conegudes i consumides per babilonis, etruscs, egipcis, grecs i romans [1, 2]. Aquest fong va estar envoltat d'un gran misteri, ja que no se sabia d'on provenia. Per exemple, es diu que Teofrast, deixeble d'Aristòtil (segle III abans de la nostra era), sostenia que la tòfona naixia de les pluges i les tempestes de la tardor. Uns cent anys més tard, Nicandre, poeta grec, pensava que les tòfones eren modificades per una mena de calor interna de la terra. Al segle I, Dioscòrides —metge, botànic i escriptor grec de temes de medicina, que també va viure a Roma— anomenava les tòfones «turmes de la terra» i les descrivia com «una rel esfèrica sense fulles ni tija, una mica vermelles si s'extreuen a la primavera i es mengen tant crues com cuites». Durant aquest primer segle Plini el vell confirmava la definició de Dioscòrides i afegia que «les tòfones són una callositat de la terra, que neixen espontàniament i que no es poden sembrar» [3]. El misteri de les tòfones va ser més emfasitzat per la seva màgica olor i també perquè, presumiblement, se'ls atorgava qualitats afrodisíacques, com afirmava el metge grec Galè (segle II), el qual les prescrivia als seus pacients perquè creia que eren molt nutritives i vitalitzants.

Durant l'edat mitjana, les tòfones van perdre popularitat, tot i que es troben documents escrits sobre els seus usos, com recollir-les o caçar-les i, també, es descriu que es van fer servir tòfones en els banquets de noces de Carles VI de França amb Isabel de Baviera (1385) [4]. Durant el segle XVI, en el Renaixement italià, l'ús de la tòfona va ser molt apreciat, el seu consum anava dirigit a reis, prínceps i nobles; aquest corrent també es va introduir a França. No obstant, va ser més aviat rebutjat a Espanya, a causa de les recomanacions —poc favorables a consumir tòfona— del doctor Andrés de Laguna (Segòvia, 1510-1559), metge del papa Juli III [1], que havia fet unes revisions de l'obra de Dioscòrides. El metge espanyol va publicar una extensa ampliació de l'original grec, però atribuïa a la tòfona unes malalties indesitjables. En realitat, hom creu que, donades les qualitats afrodisíacques que s'associaven a les tòfones, Laguna volia allunyar el Papa i els creients de les males temptacions. Degut a això, la tòfona no es va arribar a incorporar a la gastronomia tradicional de la Península, com

es va fer a la francesa o a la italiana, i era consumida estrictament per la pagesia coneixedora de les tofoneres silvestres.

A tall d'informació local, durant el segle XVII, a Catalunya es troben referències a l'activitat econòmica de la plana de Vic i de les relacions comercials que es produïen amb Barcelona i França; en concret, en el *Memorial Puigrubí, 1651-1690*, a cura de Josep Maria Passola, que es va dedicar a l'ordenació, transcripció i anàlisi detallada de la correspondència de Josep Puigrubí [5, 6]. Entre les cinc mil cartes analitzades n'hi ha unes quantes que fan referència al tema de les tòfones, la qual cosa permet comprovar que durant la segona meitat del segle XVII la tòfona ja era un producte especialment valorat a Catalunya i es trobava als inicis de la seva comercialització. Josep Puigrubí va comptar entre els seus clients amb el duc de Sant German, virrei de Catalunya d'origen napolità; la correspondència la mantenia amb Maurici de Lloreda, apoderat del virrei. El conjunt de cartes més significatives respecte a fer lloances del valor comercial de les tòfones i la seva exquisidesa culinària estan datades entre maig i octubre de 1675. Com a mostra s'esmenta el comentari final que inclou Maurici de Lloreda a la carta de l'1 de maig, on diu que al duc li agrada molt el consum de tòfones i li suplica que li envii un cistell de tòfones que siguin bones i grosses; li comenta també com pagar-les-hi:

Lo duch de San German mi senyor és molt amich de tòfonas; si se'n trobava alguna sistella que fossen bonas y grossas li suplico me las envio avisant-me del cert per a poder-o cobrar del majordom y dar satisfacció a vostra mercè que axis m'o an advertit y resto per lo que sia servit manar-me. Guarde Déu a vostra mercè. Barcelona a primer maig 1675.

Puigrubí no les hi va voler cobrar mai, com a estratègia de bon comerciant. Segons conclou Juvanteny [6] en la seva ponència a la III Jornada de Divulgació del Conreu i les Característiques de la Tòfona (2014), «es pot deduir d'aquestes cartes que al segle XVII la tòfona s'estava convertint en un producte selecte, molt apreciat en determinats ambients, tot i que probablement aquest producte encara era desconegut per la majoria de la població i es trobava en el moment inicial de la seva comercialització».

Durant el segle XVIII es van fer avenços en el coneixement de la tòfona. No va ser fins al 1711 que Claude Joseph Geoffroy —farmacèutic, botànic i químic francès— va fer unes observacions essencials que li van permetre la identificació de les tò-

fonos [7] com a fongs. Aquestes observacions van ser confirmades el 1778 per Pier Antonio Micheli, botànic italià, que va reforçar la hipòtesi de Geoffroy, va descriure les espores de la tòfona i va poder diferenciar entre la tòfona negra i la d'estiu [2, 8].

A cavall entre el segle XVIII i XIX, s'ha de destacar la figura d'Antelme Brillat-Savarin (1755-1826), advocat i polític, estudiós de la química i la medicina i virtuós del violí, però que ha passat a la història com el fundador de la gastronomia moderna. A la seva obra *Physiologie du goût, ou méditations de gastronomie transcendante* («Filosofia del gust o meditacions de gastronomia transcendental»), publicada el desembre de 1825, dedica unes quantes pàgines a les tòfones i les anomena els «diamants de la cuina». Brillat-Savarin va conèixer les tòfones del Piemont (*Tuber magnatum*) i les de la Borgonya (*Tuber uncinatum*, varietat de la *Tuber aestivum*), tot i que, segons ell, la millor és la del Perigord i l'Alta Provença (*Tuber melanosporum*).

Durant el segle XIX són de destacar els investigadors Carlo Vittadini i els germans Tulasne, considerats els fundadors de la micologia moderna. Vittadini, metge i micòleg italià, és autor de publicacions importants sobre la família de les tuberàcies, de tal manera que en la classificació de moltes *Tubersp.*, en el seu nom, en tercer terme apareix *Vitt.* en el seu honor. Edmond (Louis René) Tulasne, botànic francès, i el seu germà Charles, metge i també botànic, van publicar el 1851 una de les seves millors obres, *Fungi Hypogaei*, amb unes magnífiques il·lustracions, molt detallades, creades per Charles.

També a principis del segle XIX, Josef Talon, granger francès, va desenvolupar el primer mètode de conreu de tòfones, el qual consistia a plantar glans sota els roures on s'havien trobat tòfones. Començava a mencionar la relació entre tòfona i arbres. L'adaptació dels mètodes de Talon es van veure reforçats com a alternativa al conreu de la vinya que, per aquella època, havia quedat arrasada per la plaga de la fil·loxera. Cap a finals de segle apareixen els primers tractats de tubercultura, el de Chatin, *La truffe. Études des conditions générales de la production truffière* (1869), i el de Bosredon, *Manuel de trufficulture* (1887) [1]. Aquestes tècniques es van utilitzar fins a la segona meitat del segle XX. Des d'aleshores, científics italians i francesos han fet avenços en la preparació de plànules d'arbres hostes inoculades amb la micorriza de la *Tuber sp.* desitjada.

Tot i que Chatin cita que s'importaven tòfones d'Espanya, la història recent d'aquest producte a escala estatal no comença fins als inicis de la postguerra, el 1940-1950. Els primers tofonaires, probablement francesos, van iniciar l'exploració de la zona prepirinenca catalana tot cercant tòfones *Tuber melanosporum* silvestres, ja que aquestes contrades reuneixen condicions de sòl, vegetació i meteorologia similars a la zona del Perigord francès. Més tard els catalans van ampliar la cerca per Aragó i el País Valencià i d'aquestes zones es va ampliar a Sòria i Guadalajara. La gran disminució de producció de tòfona silvestre va promoure la implantació de la tubercultura, si bé no al mateix ritme que a França; les primeres plantacions van ser a les províncies de Castelló (1968) i Sòria (1970) i posteriorment a Terol. A Catalunya l'inici de la tubercultura encara va anar més retardat; no va ser fins al tombant de segle XX a XXI que hi van aparèixer les primeres plantacions [9].

Des de fa molts anys, a França i a Itàlia existeixen centres específics per a la recerca en el camp de la tubercultura que treballen en col·laboració [10]; la seva tasca va tenir una fita culminant el 2010 en poder assignar el genoma de la *Tuber melanosporum* [11]. Havien passat dos-cents trenta-dos anys des que Micheli va descriure les espores de la tòfona [2, 8] i va poder diferenciar entre la tòfona negra i la d'estiu. A l'Estat espanyol fins als anys noranta hi ha molt poques publicacions relacionades amb la tòfona i la tubercultura, si bé recentment han aparegut centres de recerca públics i privats lligats a les zones on s'han establert les primeres plantacions i la producció científica s'ha incrementat considerablement [12, 13]. En l'actualitat, a Catalunya existeix un centre públic anomenat Centre de Ciència i Tecnologia Forestal de Catalunya (CTFC), amb seu a Solsona (Lleida), que es va constituir inicialment entre el Consell Comarcal del Solsonès i la Universitat de Lleida l'any 1996 i, posteriorment, s'hi van incorporar la Fundació Catalana per a la Recerca i la Innovació, la Generalitat de Catalunya i la Universitat Autònoma de Barcelona, entre altres [14]. Cal destacar la gran tasca de recerca que hi realitza l'equip del doctor Carlos Colinas tant en la recerca bàsica entorn de la tòfona i el control de la micorrizació com en la recerca aplicada, fent el seguiment dels treballs de camp en la implantació de tubercultura, sota el mestratge del doctor Daniel Oliach, enginyer de forest [8, 15, 16].

Des de la vella Europa s'han exportat iniciatives de tubercultura arreu del planeta: a la costa nord-oest americana —espe-

cialment a Canadà i Oregon—, Austràlia, Nova Zelanda, Xile, Turquia, la costa nord-africana i, també, Sud-àfrica, principalment. En general, els temes de recerca que predominen entre els investigadors d'aquest àmbit són: micorrizació, biologia molecular, taxonomia, competència micorrízica, qualitat de la planta hoste, components orgànics volàtils de la tòfona i la seva biosíntesi, tècniques de control en tubercultura i influència del canvi climàtic en l'ecologia de la tòfona.

Tipus de tòfones

En l'actualitat es coneixen al voltant d'unes dues-centes espècies de tòfones al món. Les més conegudes es recullen a la taula 1, on se n'indica la qualitat gastronòmica i el valor al mercat. A Europa existeixen al voltant de trenta espècies de tòfones, de les quals, la que té més valor al mercat és la *Tuber magnatum*, o tòfona blanca d'Alba, al Piemont; els intents de conrear aquesta espècie no van tenir èxit, tot i que, recentment, n'hi ha camps experimentals a França que auguren bons resultats [17, 18]. La *Tuber melanosporum*, o tòfona negra del Perigord, és la més apreciada de les tòfones negres i la que ha donat més bons resultats per a la tubercultura.

Les tòfones silvestres que es troben i es comercialitzen —principalment per a exportació— a Catalunya, són: la tòfona blan-

ca d'estiu (*T. aestivum*); la tòfona gravada, tòfona de tardor o tòfona de Borgonya (*T. uncinatum*, una variant de la *T. aestivum*); la tòfona d'hivern o magenca (*T. brumale*), i la tòfona negra o tòfona del Perigord (*T. melanosporum*). A la figura 1 es mostren l'aspecte exterior (el peridi) i l'aspecte interior (la gleba) de les dues espècies de tòfona que s'estan cultivant actualment, la *T. melanosporum* (figura 1a) i la *T. aestivum* (figura 1b), donat el seu interès econòmic i gastronòmic, segons manifesten des de l'Associació de Productors de Tòfona de Catalunya [15, 16, 20-23].

Les tòfones *T. melanosporum* madures contenen milions d'espores a la gleba, tancades en els ascis amb 1-4 espores, i fins i tot amb 6 en alguns casos. Com es pot observar en la figura 2, en *a* apareixen ascis amb espores en diferents estadis de maduració; en *b* s'observa una espora que ha iniciat la seva germinació, es pot veure l'hifa que més tard esdevindrà el miceli que es convertirà en la micorriza en fer simbiosi amb l'arbre hoste; en *c* es mostra un glomèrul de micorriza de *T. melanosporum*. Les espores d'aquesta tòfona són molt negres degut a l'elevat contingut de melanina que contenen, la qual es desenvolupa plenament en el seu estat òptim de maduresa. La formació de la melanina és un procés lent que es du a terme a partir de la tirosina per acció de l'enzim tirosinasa, que conté coure [24]. Per tal d'evitar confusions en la denominació habitual de les tòfones a casa nostra, s'ha de considerar que tots

TAULA 1. Espècies de tòfona més importants. Elaboració pròpia.

Nom comú	Nom científic	QG	VM
Tòfona blanca, tòfona d'Alba	<i>T. magnatum</i> (= <i>Tartufo bianco</i>)	Alta	Alta
Tòfona negra del Perigord	<i>T. melanosporum</i>	Alta	Alta
Tòfona d'hivern o magenca	<i>T. brumale</i>	Alta	Alta
Tòfona d'estiu	<i>T. aestivum</i>	Alta	Alta
Tòfona de la Borgonya	<i>T. uncinatum</i>	Alta	Alta
Tòfona vermella	<i>T. rufum</i>	Alta	Alta
Tòfona de Bagnoli	<i>T. mesentericum</i> (= <i>T. bituminatum</i>)	Alta	Alta
Tòfona amb cavitat buida	<i>T. excavatum</i>	Alta	Alta
Tòfona negra llisa o suau	<i>T. macrosporum</i>	Alta	Alta
Tòfona del desert	<i>Terfezia</i> spp.	Alta	Alta
Tòfona xinesa	<i>T. indicum</i> (= <i>T. sinense</i>)	Alta	Alta
Tòfona de l'Himàlaia	<i>T. himalavense</i>	Alta	Alta



QG = qualitat gastronòmica

VM = valor al mercat

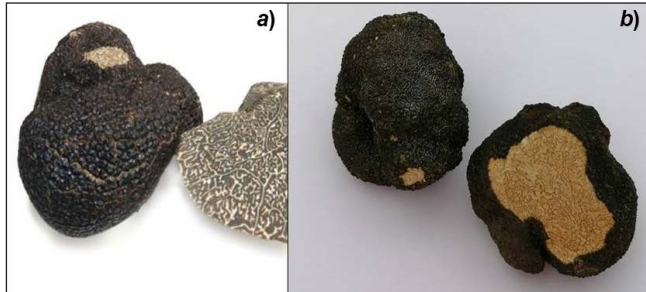


FIGURA 1. Aspecte del peridi i de la gleba de les tòfones més cultivades a Catalunya: a) *Tuber melanosporum* i b) *Tuber aestivum*. Fotografies de C. Blanch.

quatre tipus de tòfones silvestres esmentats presenten el peridi negre, si bé per a la seva classificació s'assigna el nom de *tòfona negra* a la que té la gleba ben negra, amb fines ramificacions blanques (vegeu la figura 1a), és a dir, a la *T. melanosporum*. Les altres varietats silvestres presenten ramificacions blanques més grans i els ascis amb les espores de la gleba donen tonalitats marronoses/grisoses segons l'espècie [25]. El nom de *tòfona blanca* a casa nostra es reserva per a la *T. aestivum* (vegeu la figura 1b), en la qual les ramificacions i els ascis de la gleba són blanquinosos o lleugerament marro-nosos. En algunes publicacions acadèmiques recents [2] el criteri per a la classificació de les tòfones el basa en el color del

peridi. Així, la nostra tòfona blanca queda en el grup de les tòfones negres i entre les tòfones blanques s'hi troben únicament les de peridi blanc: *T. magnatum*, *T. borchii* o *bianchetto*, *T. excavatum*.

En els darrers vint anys han aparegut un gran nombre d'estudis científics que han aportat moltes dades sobre l'ecologia de la tòfona negra; és a dir, sobre els processos que intervenen en el seu desenvolupament i fertilització, la seva interacció amb el sòl [26], l'assignació del genoma i l'explicació dels mecanismes de la simbiosi [11], i l'aïllament i caracterització dels seus gens [27]. Entre aquests gens, s'ha detectat que n'hi ha uns que són portadors de *material matern* i d'altres que són portadors de *material patern* de *T. melanosporum*, tant en sòls productius i com en no productius [28]. Així ha quedat assumit que cadascuna de les espores contingudes en un asc és portadora d'un dels dos tipus de material d'encreuament. Això vol dir que, en germinar les espores d'un asc, s'originen micelis de dos tipus diferents: un és portador de *material matern* i l'altre és portador de *material patern*. La fertilització –i, per tant, l'origen d'una tòfona– es dona quan el miceli d'una micorriza amb *material matern* es troba amb un miceli portador de *material patern*.

Cicle biològic de la *Tuber melanosporum* Vitt.

A la figura 3 s'esquematzitza el cicle biològic anual de la *T. melanosporum*. Per al seu bon desenvolupament es necessiten unes característiques edàfiques idònies i que durant l'any les condicions meteorològiques s'ajustin a les necessitats d'aigua i temperatura adients en cada moment del cicle; i també, altres pràctiques culturals agronòmiques d'actuació per tal d'assegurar una bona producció [8, 16, 29].

La campanya de recollecció d'aquesta tòfona negra va del 15 de novembre al 15 de març. En finalitzar la campanya sempre queda tòfona madura al sòl, les espores de la qual seran disseminades pels mamífers predadors, nematodes, insectes... És per això que les pluges de primavera afavoreixen la germinació de les espores, es formen les hifes i posteriorment els micelis que s'ancoren a l'arrel per esdevenir les micorrizes; d'aquestes, com s'esmentava abans, unes seran portadores de *material matern* i les altres de *material patern*. La fertilització es produeix entre maig i juny; es formen els primordis i s'inicia la fructificació. Juliol i agost és el període

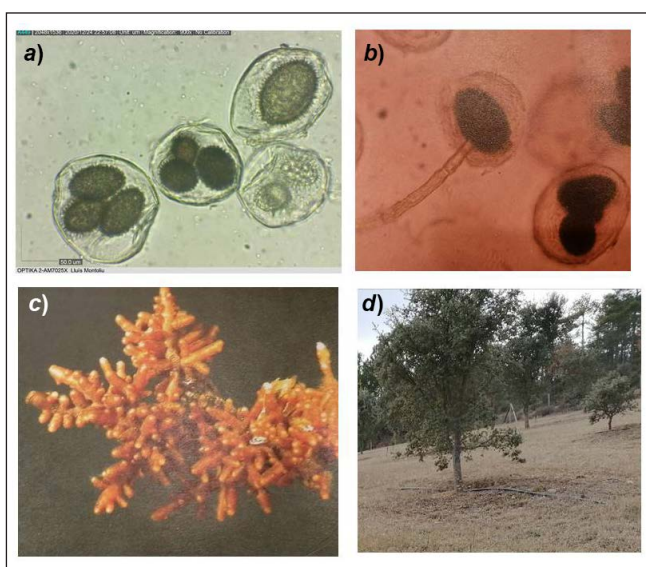


FIGURA 2. Ascis, espores i micorrizes de *T. melanosporum* Vitt., i detall d'un camp experimental de tubercultura del CTFC: a) ascis amb espores en diferents graus de maduració (fotografia de L. Montoliu); b) espora en procés de germinació (reproduït de [8]); c) micorrizes agrupades en un glomèrul (reproduït de [8]); d) camp experimental, a la base de l'arbre hoste s'aprecia el cremat circular (fotografia de C. Blanch).

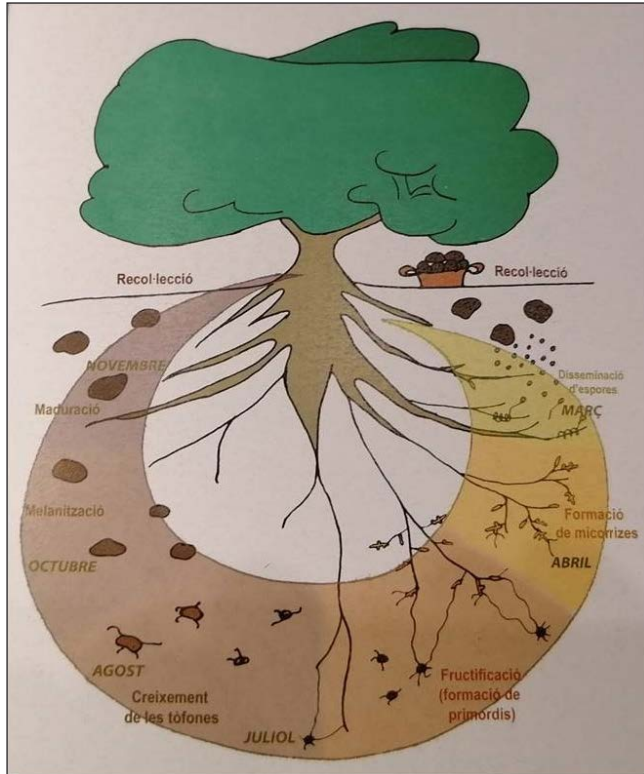


FIGURA 3. Cicle biològic de la *Tuber melanosporum* Vitt. Reproduït de [8].

de creixement de les tòfones; és per això que també a l'estiu les tofoneres necessiten molta més aigua. Aquest fet lligaria amb el que sostenia Teofrast, quan deia que la tòfona naixia de les pluges i les tempestes de la tardor [1]. Durant la tardor, en la tòfona adulta es donen processos metabòlics importants per a la seva maduració, tals com la formació de melanina, que regula la qualitat de les espores, i la producció de compostos orgànics volàtils (COV), que a part de conferir la qualitat més apreciada de la tòfona, són el mitjà de comunicació amb l'entorn per tal de preparar el seu nou cicle biològic.

La presència de tòfones té incidència en la composició bioquímica de la rizosfera —entorn del sòl, en el subsol de l'arbre a 5–20 cm, on es desenvolupen les micorrizes i es van expandint— i en aquesta zona també es veu afectada la fauna del sòl [30–33]. La tòfona negra allibera uns metabòlits aromàtics secundaris del grup del sofre, entre ells sulfur de dimetil (DMS), com a estratègia per a atreure predadors [11, 34, 35]. Aquest fenomen és típic d'organismes subterranis que depenen de l'activitat d'altres animals per a la dispersió de les seves espores [1]. També s'alliberen altres COV, etilè i

1-octen-3-ol —ambdós, tant des del cos fructífer com des del miceli—, els quals modifiquen la biogeoquímica del sòl, de tal manera que aquests compostos actuen com a fitotòxics, tot inhibint la germinació i el creixement d'altres plantes a l'entorn de l'arbre hoste. A la base de l'hoste es genera una àrea sense vegetació anomenada *cremat* (vegeu la figura 2d). L'existència d'aquest cremat és un indicador de presència de miceli en el sòl [36–40]. La fauna del sòl moltes vegades també es veu afectada per la presència d'etilè i d'1-octen-3-ol [30].

Característiques fisicoquímiques i nutricionals de les tòfones

A més de la singular olor de les tòfones, cal destacar la seva composició fisicoquímica i el valor nutricional que se'n deriva. La qualitat i quantitat d'aquests paràmetres varia segons l'espècie de *Tuber* de què es tracti, del seu estat de maduració, de l'àrea geogràfica de procedència, de les pràctiques culturals que s'apliquin, de les condicions edàfiques i de les meteorològiques. El component majoritari de les tòfones és l'aigua (pot arribar a ser de l'ordre d'un 50–75% en pes fresc). En la *T. melanosporum* els nutrients més abundants són els carbohidrats i les proteïnes [41]; seguits per la melanina, les sals minerals, els àcids grassos i els esterols, la fibra dietètica i els aminoàcids essencials (metionina, cisteïna, fenilalanina, valina, serina, isoleucina i treonina). Entre els àcids grassos (FA, *fatty acid*) destaquen dos àcids insaturats (UFA, *unsaturated fatty acid*), l'oleic i el linoleic. També contenen àcid ascòrbic i alguns monosacàrids [42, 43]. L'àcid linoleic és un FA essencial que actua com a precursor de l'1-octen-3-ol. És conegut que l'àcid oleic té propietats per a reduir els nivells de colesterol, de manera que pot prevenir riscos cardiovasculars i també inhibir la progressió del càncer. Per aquests motius, les tòfones es poden considerar com un aliment potencialment nutricional i medicinal, el que s'anomena un *nutricèutic* o *aliment funcional* [34].

Les sals minerals són constituents essencials en la dieta humana donat que participen en nombroses reaccions metabòliques. Els elements que predominen en les sals de les tòfones són: K, P, S, Fe, Cu, Zn, Ca i Mg. A continuació (vegeu la taula 2) es resumeixen les funcions principals dels esmentats elements en l'organisme humà.

TAULA 2. Elements minerals essencials de les tòfones i les seves funcions principals en l'organisme humà. Elaboració pròpia basada en [44].

Element	Principals funcions en l'organisme humà
K	Equilibri àcid-base. Regulació del contingut d'aigua de la cèl·lula. Funció nerviosa i excitabilitat neuromuscular.
P	Constituent de fosfolípids, ATP, ADN, ARN. Formació d'ossos i dents. Equilibri àcid-base.
S	Constituent d'aminoàcids metionina i cisteïna. Participa en sistemes enzimàtics. Formació de cartil·lags i tendons.
Fe	Constituent de l'hemoglobina i la mioglobina. Participa en sistemes enzimàtics que intervenen en el bescanvi energètic.
Cu	Constituent d'enzims associats al metabolisme del ferro.
Zn	Constituent dels enzims implicats en la digestió.
Ca	Formació d'ossos i dents. Coagulació de la sang. Transmissió nerviosa.
Mg	Activador enzimàtic. Intervé en la síntesi proteica. Formació d'ossos.

Així doncs, es reforça el fet de considerar les tòfones com un producte de bona qualitat, tant en el sentit de la diversitat com en la quantitat dels compostos nutricionals valuosos que contenen, com són les proteïnes, la fibra i els minerals.

Compostos bioactius i activitats biològiques de les tòfones

Les tòfones són riques en compostos bioactius, com ara àcid ascòrbic, ergosterol, fitosterol, derivats fenòlics, flavonoides, terpenoides i polisacàrids [43, 45, 46]. En particular, les tòfones contenen abundants flavonoides, els quals són molt apreciats com a metabòlits secundaris de productes naturals, donat que presenten propietats biològiques diverses com a antioxidants, antiinflamatoris, antimutagènics i anticancerosos. Els bolets, fruits dels fongs que creixen en el sotabosc, no poden fer les reaccions biosintètiques de les tòfones, i per això no contenen aquests preuats metabòlits [47, 48].

A la taula 3 es resumeixen les activitats biològiques dels compostos bioactius de les tòfones segons la informació del recent treball recopilatori de Lee (2020) [43]. Es consideren els usos potencials d'aquests compostos tant des del punt de vista nutricional com en el camp de la medicina. En aquest punt és on actualment s'està investigant per establir de forma segura l'aplicabilitat potencial d'aquests components bioactius.

Usos de les tòfones

A bastament s'ha anat esmentant que l'alt valor culinari de les tòfones és degut a la seva olor; per això, han estat emprades com a espècies en alta gastronomia o com a guarnició i en cap cas no han esdevingut un aliment principal.

D'altra banda, donada la seva vida útil tan curta, han sorgit estratègies casolanes per a capturar-ne l'aroma. Els compostos orgànics volàtils, responsables de la seva olor, són altament absorbibles en greixos; és per això que les preparacions més habituals en restauració són preparar mantega amb tòfona i olis amb tòfona macerada. En la segona part del present article, s'exposarà àmpliament l'estudi comparatiu d'uns olis comercials amb tòfona, per tal de comprovar-ne l'autenticitat.

Si bé a la restauració darrerament s'han anat presentant moltes receptes amb tòfona, l'ús d'aquest producte no s'ha promocionat a les cuines domèstiques. Potser per falta d'informació sobre la naturalesa del producte, de com adquirir-lo o del seu suposat elevat cost, tot i que això no és del tot cert, ja que amb pocs grams de tòfona es pot fer una bona celebració familiar. A més, cada vegada hi haurà més producció de les plantacions de Catalunya i els preus hauran de ser més ajustats. D'altra banda, els productors mateixos promocionen les seves tòfones, fan formació i promouen visites a les plantacions [49, 50], una pràctica àmpliament difosa a França. També s'organitzen fires especialitzades (Muntanyes de Prades, Centelles, entre d'altres) per a cada temporada de tòfona.

En els darrers sis anys s'han promogut des del European Mycological Institute (EMI) [51] quatre edicions del Trufforum, un esdeveniment que acull activitats en els diversos àmbits del món de la tòfona: jornades tècniques per a professionals, tallers per al públic en general, gastronomia, turisme. El Trufforum és una plataforma on es troben tofonaires, tubericultors, comercialitzadors de tòfones i elaboradors de productes amb tòfona. La tercera edició del Trufforum, realitzada totalment en línia, es va dur a terme de febrer a març del 2021, en quatre seus: Catalunya, Castella-Lleó, Aragó i Occitània, per ordre d'intervenció. Tots els materials es poden consultar al web oficial de Trufforum [52].

TAULA 3. Propietats bioactives de les tòfones i la seva potencial aplicació en medicina. Elaboració pròpia basada en [43].

Compost bioactiu	Activitat biològica i aplicacions en medicina	Tipus de tòfona			
		IND	MEL	AES	MG
Àcid ascòrbic	Antioxidant.	*			
Terpenoides (β -carotè i altres)	Antioxidants. Antiinflamatoris.	*			
Compostos fenòlics	Antioxidants. Antiinflamatoris. Segrestadors de radicals lliures.	*	*	*	*
Flavonoides	Antioxidants. Inhibidors de l'agregació plaquetària.	*			
Ergosterol	Antioxidant. Antiinflamatori. Antihiperlipidèmic.	*	*	*	
Fitosterol/Tocoferol	Antioxidants. Inhibidors del creixement de cèl·lules canceroses.		*	*	*
Polisacàrids (β -glucans)	Anticancerosos. Potencien l'activitat immunològica enfront de tumors. Comunicació cèl·lula-cèl·lula. Antiinflamatoris.		*	*	*
Àcids oleic i linoleic	Anticancerosos. Reductors de colesterol en sang.	*	*	*	*
Anandamida	Neurotransmissor. Inhibidor de proliferació de cèl·lules. Anticancerosa (mama/colorectal/pròstata).		*		
L-tirosina	Antidepressiva. Antiestrès. Precursora de neurotransmissors (catecolamines).		Tuberssp.		
Heteroglicans	Immunoestimulants. Mantenen el balanç redox. Efecte citotòxic sobre els limfòcits.		Tuberssp.		

IND = *T. indicum*; MEL = *T. melanosporum*; AES = *T. aestivum*; MG = *T. magnatum*; Tubers ssp. = tòfones en general.

Reptes de futur i estat actual de la recerca

Respecte als consumidors, caldria potenciar la difusió de la informació sobre les tòfones a la població en general. I, també, crear xarxes turístiques etnogràfiques entorn del conreu, les propietats i la comercialització de les tòfones.

Pel que fa a la recerca, estan encara oberts diferents àmbits, tals com: a) trobar tecnologies adients per a la conservació de les tòfones amb totes les seves qualitats; b) aïllar els productes bioactius, confirmar la seva activitat biològica i fer els assajos pertinents fins a arribar al compliment de la reglamentació adient per a la seva aplicabilitat segura en medicina; c) aprofundir en la millora de la tubercultura i preveure la incidència del canvi climàtic sobre la producció de tòfones i la conservació de les tofoneres silvestres.

Per acabar, i a tall de conclusió d'aquesta part, voldríem encoratjar les noves generacions de professionals de la química a engrescar-se a participar en recerques interdisciplinàries

d'aquest àmbit de la ciència, en el qual es poden trobar equips de recerca potents i brillants, tant en universitats i centres de recerca internacionals com del país.

Caracterització d'olis comercials amb tòfona macerada o aromatitzats

Antecedents

Els compostos orgànics volàtils, responsables de l'olor característica de les tòfones, han estat àmpliament estudiats. En primer lloc, per tal de determinar el perfil dels COV, s'ha desenvolupat una metodologia analítica adient per a la seva extracció, separació i identificació, especialment per al cas de la *T. melanosporum* i la *T. magnatum* [53-58]. S'ha consolidat la utilització de microextracció en fase sòlida de l'espai de cap (HS-SPME, *headspace solid-phase microextraction*) per a la

captació dels COV, seguida d'una cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses (GC-MS, *gas chromatography - mass spectrometry*) i, en ocasions, també amb detecció olfatomètrica [59].

Un altre focus d'estudi ha estat cercar una explicació per a la biosíntesi dels COV de les tòfones. Els treballs més rellevants són els del grup de Splivallo (2011), on, a tall de recopilatori, sistematitzen els diferents treballs que tractaven d'explicar l'origen i el mecanisme de formació de cadascun dels components volàtils de l'olor de la tòfona des del punt de vista de la transformació i *ecologia química* dels greixos, proteïnes i carbohidrats, ja sigui per intervenció dels enzims de la tòfona o de la seva pròpia microbiota, i també, per la incidència de microorganismes externs, és a dir, de bacteris, fongs o llevats de l'entorn de la tòfona. Els COV derivats de sofre els expliquen com a resultat del catabolisme de l'aminoàcid L-metionina —àcid L-(2-amino-4-metiltio)butanoic—, segons es va confirmar en assajos realitzats *in vitro*, amb presència de llevats aïllats dels ascocarps de *T. melanosporum* i *T. magnatum* [11, 34, 35, 60-63]. Es considera que els COV de tipus aldehids i alcohols de cadena curta i ramificats (2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2-metilpropanal, 2-feniletanol) es formen a partir d'aminoàcids sense sofre, mitjançant un procés que comporta la transaminació i posterior descarboxilació del ce-tòacid, per tal d'originar els aldehids volàtils, els quals per reducció generen els corresponents alcohols [11, 64]. Del catabolisme dels àcids grassos insaturats, especialment a partir de l'àcid linoleic, es formen alcohols insaturats lineals de cadena curta (1-octen-3-ol) [34].

El fet de poder disposar de metodologies adients per tal de conèixer els diferents components del perfil de COV dels diversos tipus de tòfones ha permès poder establir uns compostos *marcadors* per a la majoria d'espècies [59, 65, 66], la qual cosa ha possibilitat poder diferenciar les tòfones per espècies i fer el seguiment de graus de maduresa o d'origen geogràfic dintre una mateixa espècie [41, 67, 68]. Pel que fa al perfil de COV de la *T. melanosporum*, en cap cas no es poden trobar uns components marcadors específics; no hi ha cap odorant que sobresurti entre els altres, ni per la seva qualitat ni per la quantitat en què hi són presents. En el cas de la *T. magnatum*, sí que hi ha un marcador específic, el bis-(metiltio)metà, també anomenat amb el seu nom comú com a 2,4-ditiapentà; aquest compost, a més, és el responsable principal de l'olor de la tòfona blanca d'Alba (Piemont), una olor de gas alliaci molt

estable. Això fa que fàcilment es puguin obtenir *aromes* d'aquesta tòfona. Però a la tòfona negra, la *T. melanosporum*, és molt difícil mimetitzar la seva olor natural perquè a banda de no trobar marcadors específics, no hi ha cap compost volàtil únic que faci olor de tòfona negra. La suma de les olors dels diversos compostos odorífers que té la *T. melanosporum* és la que genera l'extraordinària olor d'aquesta inigualable tòfona: olor d'escopinya, de terra humida, de fong. A més, alguns d'aquests components són força inestables, per la qual cosa es fa difícil d'obtenir una aroma sintètica que imiti la seva complexa aroma natural. Això fa que pràcticament tots els productes comercials en els quals s'indica en l'etiqueta «amb aroma de tòfona negra», en realitat, en provar-los, fan olor de tòfona blanca, la qual cosa genera una confusió molt gran en els consumidors i fa que, al final, no es conegui bé l'olor de la tòfona negra i es confonguin els dos productes, tot i que ambdós són totalment diferents. La tòfona negra no fa olor de gas alliaci, ja que té només traces de bis-(metiltio)metà, pràcticament indetectables. En canvi, el component majoritari i marcador característic de la *T. aestivum* és l'1-octen-3-ol, fàcilment imitable amb aromatitzants.

El control del perfil dels COV de les tòfones s'ha fet imprescindible per a: a) el desenvolupament de tecnologies de conservació —congelació, esterilització, liofilització [69-72]— per tal d'allargar-ne la vida útil, donat que el perfil de COV envelleix amb pocs dies per degradació bacteriana i processos d'oxidació, i b) el seguiment dels processos de preparació de productes derivats de les tòfones —salses, olis, formatges [73].

En concret, per al cas d'olis amb tòfona [74-77], s'han descrit diversos treballs amb la finalitat de comprovar-ne l'autenticitat. Els olis aromatitzats artificialment són més econòmics de produir que els preparats amb tòfona natural, de manera que poden comercialitzar-se a preus assequibles i tenen més difusió, tot i que cal vetllar per la seva qualitat. La legislació alimentària de la Unió Europea permet preparar productes trufats amb aromatitzants que poden procedir: a) de «fonts naturals», mitjançant extracció d'alguns components volàtils amb solvents autoritzats o emprant aquestes fonts com a precursors permesos per a l'obtenció d'aromes naturals fruit d'una reacció enzimàtica, o b) d'un «substrat simple», que partint d'un procés de biosíntesi amb participació de microorganismes, pugui arribar a generar una aroma semblant a la de la tòfona natural [78]. En els darrers cinc anys s'han descrit diversos productes naturals que podrien ser una font natural pel

que fa a l'obtenció d'aromatitzants i han aparegut a la bibliografia bons reculls sobre la caracterització d'olis aromatitzats o amb tòfona macerada [73, 79].

Les darreres directives europees de 2008 i 2011 regulen l'ús d'aromes i altres ingredients alimentaris amb propietats aromatitzants emprats en alimentació i com cal informar-ne al consumidor [80, 81]. Aquestes normatives estableixen que en les etiquetes dels productes preparats amb tòfona hi ha de constar la llista d'ingredients, sense enganyar ni confondre el consumidor. D'altra banda, els aromatitzants addicionats, en cas que s'utilitzin, cal que siguin saludables per al consum humà.

A continuació s'exposa l'estudi de la composició de la fracció volàtil de sis mostres comercials d'olis aromatitzats o amb tòfona macerada que es va dur a terme per tal de comprovar l'autenticitat dels olis i la seva concordança amb el que es descrivia en les etiquetes. El treball fou realitzat emprant una anàlisi química instrumental —HS-SPME combinada amb GC-MS— i una anàlisi sensorial amb un panell de tastadors entrenats.

Metodologia analítica

Descripció de les mostres

Es van analitzar dues mostres de tòfona negra, *T. melanosporum*, en un grau òptim de maduració, comprades al mercat local, per tal de tenir-les com a referència genèrica del perfil dels seus COV. Es van avaluar sis mostres d'olis vegetals aro-

matitzats o amb tòfona macerada procedents de diferent origen geogràfic (vegeu la taula 4). Les mostres es van comprar en mercats espanyols i catalans (S1, S2, S3), italians (I1, I2) i francesos (F1), entre agost i novembre de 2013. Totes les mostres estaven etiquetades com a olis aromatitzats, excepte S1, S2 i S3, que eren mescla d'olis aromatitzats i amb tòfona natural macerada. Simultàniament, es va preparar al laboratori una mostra experimental (ES, *experimental sample*) amb tòfona *T. melanosporum* infusióada en oli d'oliva verge extra per tal de tenir una referència d'autenticitat.

Preparació de les mostres

Totes les extraccions es van fer posant 2 g de mostra en vials d'SPME de vidre de 20 mL, tancats amb septes de PTFE/silicona i taps roscats. Les mostres de tòfona fresca es van ratllar dins del vial.

Les mostres d'oli es van posar directament dins del vial sense cap preparació addicional. Es van analitzar abans de 48 h, un cop oberta cada ampolla.

La mostra ES d'oli aromatitzat amb tòfona, preparada al laboratori per nosaltres com a control positiu d'autenticitat, es va obtenir ratllant 5 g de tòfona negra fresca *T. melanosporum* en un grau òptim de maduració dins d'un recipient de vidre, afegint-hi 250 mL d'oli d'oliva arbequina verge extra i deixant-ho dues setmanes a temperatura ambient i amb absència de llum, amb agitació ocasional. Totes les mostres es van conservar a 4 °C.

TAULA 4. Descripció de les mostres d'olis comercials aromatitzats o amb tòfona macerada. Elaboració pròpia [75].

Samples code	Samples description	Ingredients
S1	Spanish oil (Aceite de trufa: COLL, Barcelona-Spain)	Olive oil, truffle flavour
S2	Spanish oil (Aceite con aroma de trufa <i>Tuber melanosporum</i> : LAUMONT, Lérida-Spain)	Extra virgin olive oil, <i>T. melanosporum</i> truffles flavour
S3	Spanish oil (Aceite de oliva verge extra a la trufa negra: TRUFAPASIÓN, Huesca-Spain)	Extra virgin olive oil (varieties: Verdeña, Alquezrana and Negral), macerated with black truffle (<i>T. melanosporum</i> Vitt)
I1	Italian oil (Black truffle aromatized dressing "Il Tartufato": INANDI CLEMENTE & C. SRL, Borgo S. Dalmazzo-Italy)	Olive oil, truffle extract (<i>T. melanosporum</i>), flavourings, truffles (<i>T. aestivum</i>) 0,3%
I2	Italian oil (White truffle aromatized dressing "Il Tartufato": INANDI CLEMENTE & C. SRL, Borgo S. Dalmazzo-Italy)	Olive oil, white truffle extract (<i>T. magnatum</i>), flavourings, truffles (<i>T. albidum</i>) 0,3%
F1	French oil (Black truffle aromatised oil: LA TRUFFLE SARLADAISE, Vézac-France)	Olive oil, black truffle flavour
ES	Experimental sample: spanish oil infused with <i>T. melanosporum</i>	Extra virgin olive oil, <i>T. melanosporum</i> truffles

Anàlisi cromatogràfica

Extracció de les mostres

Les mostres es van extreure per microextracció en fase sòlida de la fracció de volàtils de l'espai de cap (HS-SPME) fent servir un injector automàtic MPS2 de Gerstel i una triple fibra d'SPME de 50/30 µm, de divinilbenzè, carboxen, polidimetilsiloxà (DVB-CAR-PDMS) de Supelco.

Les mostres de tòfona fresca es van incubar a 50 °C durant cinc minuts i es van extreure a 50 °C durant deu minuts.

Per a les mostres d'oli no es va fer servir incubació. Únicament es va fer extracció directa durant trenta minuts, just a 50 °C per a evitar-ne l'oxidació.

Es van preparar i analitzar en tots els casos dues alíquotes idèntiques [77].

Condicions cromatogràfiques

L'equip emprat va ser un cromatògraf de gasos Agilent 6890 amb un detector selectiu de masses MSD5973. Es van fer servir dues columnes capil·lars de sílice fosa amb fases estacionàries de diferent polaritat: una fase polar Zebron ZB-WAX Plus (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) i una fase apolar Zebron ZB-1 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), ambdues de Phenomenex. Els volàtils extrets amb la fibra d'SPME es van desorbir directament a l'injector del cromatògraf durant deu minuts a 250 °C en modalitat sense divisió de flux (*splitless*), amb obertura de la vàlvula al cap de 2 minuts, aplicant un flux de 80 mL/min. L'injector contenia una camisa d'injecció de vidre de 0,75 mm de diàmetre intern per tal d'evitar la deformació dels pics d'elevada volatilitat. El programa de temperatura del forn va ser des de 60 °C, sense temps inicial, fins a 230 °C, a 4 °C/min, amb 20 minuts finals. Es va emprar heli com a gas portador a un flux d'1,2 mL/min.

Condicions de l'espectròmetre de masses

L'espectròmetre de masses va treballar amb una energia d'impacte electrònic de 70 eV. La temperatura del quadrupol es va situar a 150 °C; la temperatura de la font de ions, a 230 °C, i la temperatura de la interfície GC-MS, a 250 °C. El rang de masses emprat va ser de 35 a 300 uma.

Per a identificar els espectres de masses dels components volàtils es van fer servir les bases de dades Wiley, NIST 08 i la biblioteca particular del laboratori.

Els índexs de retenció es van comparar amb els de patrons reals.

Anàlisi sensorial

En l'avaluació organolèptica dels components volàtils dels olis aromatitzats hi van participar tretze tastadors entrenats (set dones i sis homes d'entre vint-i-cinc i seixanta-cinc anys, habituals en aquests tipus d'anàlisi). Inicialment, d'acord amb les dades obtingudes en el perfil dels components odorífers dels COV detectats en l'anàlisi per GC-MS de les mostres de tòfona *T. melanosporum* fresca, es van establir els descriptors o terminologia sensorial per tal d'assignar les sensacions percebudes en l'olor de la tòfona negra fresca. Després, els tastadors van ser entrenats en la identificació dels descriptors i en l'ús d'escala contínua per tal de valorar quantitativament la intensitat de cada descriptor [82, 83]. Finalment, el panell de tast va avaluar les mostres d'oli comercials amb tòfona macedonada o amb aromatitzants afegits, per tal d'obtenir el perfil aromàtic de cada mostra. Totes les mostres van ser analitzades per duplicat per cada tastador, que va avaluar lliurement la intensitat d'olor percebuda per a cadascun dels descriptors fent una ratlla vertical sobre una línia horitzontal no estructurada de 10 cm, en l'origen esquerre de la qual s'indicava 0, «no es percep olor», i en l'extrem dret de la qual hi havia un 10, que corresponia a «olor molt intensa».

Pel que fa al tractament de dades del panell, es va utilitzar el programari PanelCheck. A les dades obtingudes per a cada atribut sensorial se'ls va aplicar una anàlisi de la variància (ANOVA) de dos factors (mostra i tastadors) amb interacció. Per a cada atribut, per tal d'estudiar la significança de l'efecte de la mostra, es va emprar un model mixt de l'ANOVA que considerava els tastadors com a factor aleatori i les mostres com a factor fix. Per a avaluar les diferències organolèptiques entre les mostres d'olis tenint en compte tots els descriptors o atributs sensorials, es va dur a terme una anàlisi de components principals (ACP). Per a establir les diferències entre els COV de les mostres d'oli, es va aplicar l'anàlisi de l'ANOVA d'un factor. Es va utilitzar el test de Turkey's ($\alpha \leq 0,05$) per a establir les diferències significatives entre les mitjanes.

Discussió de resultats

Anàlisi cromatogràfica

Els cromatogrames del perfil dels COV obtinguts en la *T. melanosporum* fresca (a), en la mostra experimental amb tòfona macerada en oli d'oliva arbequina verge extra (b, ES) i en dues mostres dels olis comercials analitzats (c, S1 i d, S3), corresponen a l'anàlisi realitzada emprant la columna de fase polar Zebron ZB-WAX Plus descrita (vegeu la figura 4). Per a totes les mostres es va realitzar doble comprovació utilitzant la columna amb fase apolar Zebron ZB-1, abans esmentada, per tal de confirmar la separació de productes que haguessin pogut coeluir en la columna polar. En general, cal tenir en compte que, en els olis amb tòfona macerada, els components més minoritaris dels COV de la tòfona fresca quedaran molt diluïts i no seran detectables.

Es van identificar 107 COV en les mostres de tòfona negra fresca. Es va analitzar també la fracció volàtil de l'oli d'oliva de la varietat arbequina utilitzat en la preparació de la mostra d'oli experimental amb tòfona macerada (ES) per tal de considerar quins components del perfil de COV provenien directament de l'oli o d'algunes de les seves alteracions. Els components majoritaris detectats van ser: propanona, hexanal, hexanol i (E)-hexen-1-ol. En la mostra ES únicament es van identificar 43 dels COV característics de la tòfona fresca; entre aquests, el sulfur de dimetil i alguns alcohols (isobutanol, 2-metil-1-butanol, 2-butanol, 2-pentanol, 2,3-butandiol, 2-metiltioetanol i 3-metiltiopropanol). Aquests últims es troben en més quantitat en la mostra autèntica amb tòfona macerada, ES, que en les mostres comercials on es fa constar que són mostres aromatitzades. En la mostra macerada experimental, ES, es detecta una gran quantitat d'etanol, que podria atribuir-se a processos de fermentació de la tòfona en l'oli a temperatura ambient; és per això que aquest compost no es

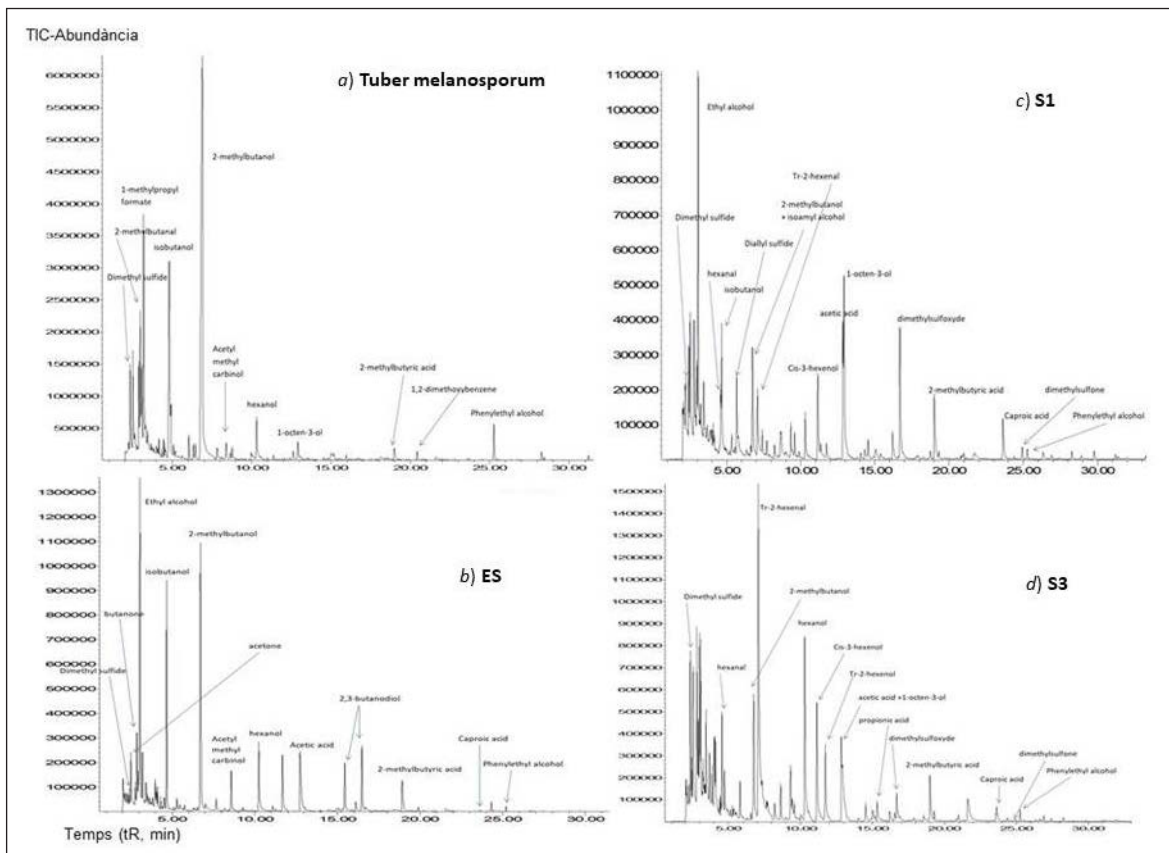


FIGURA 4. Compostos orgànics volàtils més significatius identificats en *Tuber melanosporum* i en mostres d'oli amb *T. melanosporum* macerada, obtinguts per HS-SPME/GC-MS, emprant fibra de DVB-CAR-PDMS per a la microextracció dels volàtils i columna cromatogràfica de fase polar Zebron ZB-WAX Plus (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Mostres: a) *T. melanosporum* fresca; b) ES, mostra d'oli experimental amb tòfona macerada; c) S1, mostra del mercat nacional etiquetada com a «oli de tòfona»; d) S3, mostra del mercat nacional etiquetada com a «oli d'oliva verge extra (OOVE) a la tòfona negra». Elaboració pròpia.

considera un marcador adient, tot i que és present també com a majoritari en el perfil de COV de la mostra comercial S1 del mercat nacional, la qual cosa fa pensar que podria estar preparada amb el mateix tipus d'oli i que s'hauria donat el mateix tipus de transformació. El cromatograma c, corresponent a la mostra S1 —etiquetada com a «oli de tòfona» i que indica entre els seus ingredients «aroma de tòfona»—, presenta d'una banda un perfil similar al cromatograma b de la mostra experimental ES, però s'hi detecten també uns components en concentracions més elevades i aliens al perfil de COV en a, de la *T. melanosporum* fresca, tals com sulfur de dial·lil, dimetil-sulfòxid (DMSO), àcid acètic i 1-octen-3-ol; tots ells podrien provenir d'aromes naturals [2]. L'àcid acètic i l'1-octen-3-ol són presents en el perfil de COV de la *T. aestivum*, o tòfona blanca d'estiu, i l'alcohol és el component majoritari que s'utilitza com a marcador dels COV de la tòfona d'estiu [59]. El sulfur de dial·lil i el DMSO potencien l'aroma de gas alliaci. Segons Culleré (2013), el DMSO es troba en molt poca quantitat (0,33%) en els COV de la *T. melanosporum*, però no està gens descrit per a cap altra tipus de tòfona [2, 69]. Si bé es pot considerar que el DMSO es forma per oxidació del sulfur de dimetil [84], la quantitat d'aquest compost present en la mostra S1 i la seva proporció relativa respecte a l'1-octen-3-ol fa pensar que S1 ha estat aromatitzada amb extractes naturals —no necessàriament a base de tòfona— on el DMSO s'utilitza com a extractant, per la seva qualitat de solvent polar apròtic, capaç de solubilitzar compostos polars i apolars; a més, el DMSO afavoreix la miscibilitat de l'extracte en l'oli [79, 85]. Es confirma, doncs, que la mostra S1 és un oli aromatitzat per tal de reforçar els COV de la *T. melanosporum* macerada en oli.

Com es pot veure en el cromatograma d de la mostra S3 —etiquetada com a «oli d'oliva verge extra (OOVE) a la tòfona negra» i que indica entre els seus ingredients «tòfona negra, *T. melanosporum*, macerada en OOVE»—, el seu perfil s'ajusta als components més significatius de la mostra experimental, ES, preparada al laboratori. En aquesta mostra predominen els COV de l'oli d'oliva emprat, tals com: hexanal, hexanol, isòmers (*E*, *Z*) no diferenciats de 2-hexenal, 3-hexen-1-ol i 2-hexen-1-ol; la seva formació prové del metabolisme dels lípids, en especial dels àcids grassos insaturats. La diferència entre el perfil de volàtils generats per l'oli pot atribuir-se a les varietats d'oliva emprades en l'oli de procedència com és el cas d'arbequina en la mostra experimental, ES, i la barreja de verdenya, alquezzrana i negral en la mostra S3, segons s'indica en l'etiqueta (vegeu la taula 4). Comparant els cromatogra-

mes de la mostra experimental ES i de la S3 s'observa que la proporció relativa entre el sulfur de dimetil i el 2-metilbutanol és considerablement diferent en ambdues; en l'oli comercial S3 la concentració de 2-metilbutanol hauria de ser més gran. Això podria atribuir-se a dues raons: a) que la causa de la diferència entre la quantitat d'aquests components en el perfil de COV provingués de la tòfona emprada en la maceració, ja sigui pel seu grau de maduresa, per l'origen geogràfic o per qualsevol altre factor que pugui influenciar en la qualitat de l'olor de la tòfona, malgrat ser de la mateixa espècie [34, 59]; b) que l'oli amb tòfona *T. melanosporum* macerada s'hagués potenciat amb aromatitzants naturals rics en sulfur de dimetil; això ho fa pensar la presència de dimetilsulfòxid i dimetil sulfona en d, S3, ja que, com s'esmentava anteriorment, el DMSO s'utilitza com a solvent en processos d'extracció de productes naturals [79, 85]. Cal destacar l'aparició d'àcid caproic (àcid hexanoic) en els olis comercials S1 i S3, el qual no és present ni en el perfil de COV de la *T. melanosporum* fresca ni en la mostra experimental ES preparada al laboratori simultàniament en fer l'estudi; aquest àcid podria ser un indicador de l'envelliment de l'oli per oxidació i enranciment. Amb les dades que tenim a disposició no es pot afirmar aquest supòsit, tot i que caldrà tenir-lo en compte a l'hora de comprar i considerar la vida útil d'un oli comercial «amb tòfona macerada» o «aromatitzat».

A la figura 5 es presenten els cromatogrames de les mostres d'olis comercials aromatitzats (vegeu la taula 4), ja sigui amb extracte de tòfona o simplement amb odorants mimètics als COV de les diferents espècies de tòfona que s'hi esmenten. Una primera visió general posa de manifest que en els cromatogrames e, f i g, corresponents a les mostres d'olis I1, S2 i I2 respectivament, el component majoritari és el 2,4-ditia-pentà —en endavant, per a anomenar-lo s'utilitzarà la denominació de la IUPAC *bis(metil·tio)metà*—; aquest també és el component volàtil majoritari i el marcador identificador de la *T. magnatum* i, alhora, és el compost més típic en les aromes de tòfona emprades en la indústria alimentària [34, 74]. Al llarg de l'última dècada s'han descrit diversos productes naturals que podrien ser una font d'obtenció d'aromatitzants mimètics dels COV de les tòfonas [78, 79]. En les mostres I1, S2 i I2 també hi és present el (metilsulfinil)(metil·tio)metà, producte d'oxidació del bis(metil·tio)metà, descrit en la literatura [67] i temptativament identificat per MS. En el nostre cas tenim pendent la confirmació del seu índex de retenció. D'altra banda, en els cromatogrames e, f i h, corresponents a

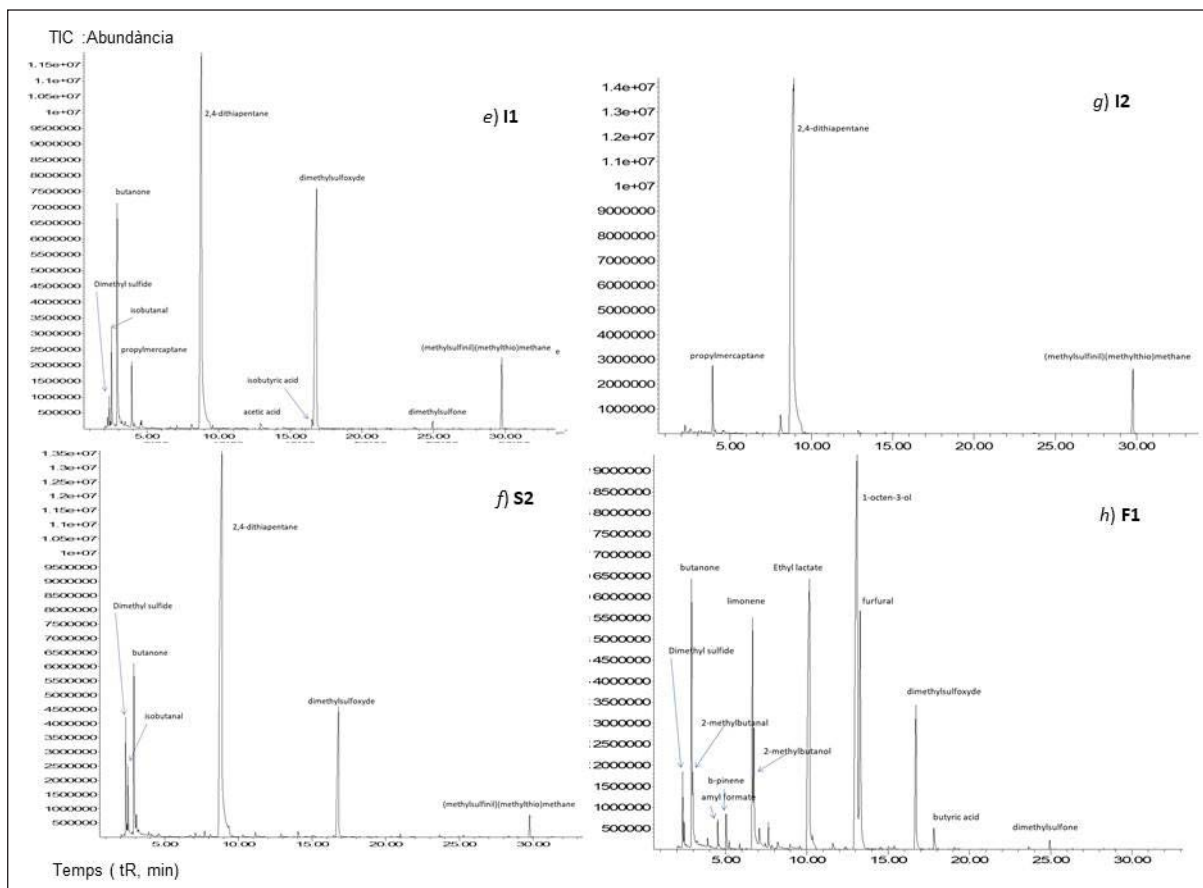


FIGURA 5. Compostos orgànics volàtils més significatius identificats en les mostres d'olis comercials amb extracte de tòfona o aromatitzats, obtinguts per HS-SPME/GC-MS, emprant fibra de DVB-CAR-PDMS per a la microextracció dels volàtils i columna cromatogràfica de fase polar Zebron ZB-WAX Plus (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Mostres: e) I1, mostra del mercat italià preparada amb extracte de *T. melanosporum* i aromatitzant de *T. aestivum*; f) S2, mostra d'oli del mercat nacional preparada amb aromatitzants de *T. melanosporum*; g) I2, mostra del mercat italià etiquetada com a «oli d'oliva amb extracte de *T. magnatum* i aromatitzants de *T. borchiu*»; h) F1, mostra del mercat francès etiquetada com a «oli d'oliva amb aroma de tòfona negra». Per al compost 2,4-ditiapentà (nom clàssic), en endavant s'utilitzarà de denominació de la IUPAC *bis(metiltio)metà*. Elaboració pròpia.

les mostres d'olis I1, S2 i F1 respectivament, apareix el DMSO i en I1 i F1 també la dimetilsulfona (metilsulfonilmetà); això fa pensar que, en aquestes mostres, l'oli ha estat aromatitzat amb odorants naturals extrets amb aquest dissolvent, com s'ha esmentat anteriorment en els casos de les mostres S1 i S3. La mostra F1 és l'única que no té 2,4-ditiapentà –bis(metiltio)metà– i presenta 1-octen-3-ol com a component majoritari; cal recordar que aquest compost és el que es considera el marcador per al perfil de COV de la *T. aestivum*. En aquestes tres mostres, I1, S2 i F1, hi són presents el sulfur de dimetil, butanona, 3-metilbutanal, 2-metilbutanal; això faria pensar que contenen alguns components volàtils característics de la *T. melanosporum*, la qual cosa coincideix amb resultats descrits per Torregiani (2017) [73] per a mostres d'olis aromatitzats amb odorants naturals o artificials de diverses tòfones.

Si es considera la descripció de l'etiqueta de cada mostra d'oli (vegeu la taula 4), es troba que en I1 s'indica que va ser preparada amb extracte de *T. melanosporum* i amb un 0,3% d'aromatitzant de tòfona *T. aestivum*. No obstant, com s'ha esmentat abans, el component majoritari és el bis(metiltio)metà, marcador específic per a la *T. magnatum*, i no presenta 1-octen-3-ol, que és el marcador específic i majoritari per a la *T. aestivum*. Hi ha, doncs, una incongruència entre la informació de l'etiqueta i els resultats obtinguts. L'etiqueta de la mostra S2 indica que l'oli es va preparar amb aromatitzants de *T. melanosporum*; això concorda amb el que apareix en el cromatograma f) ja esmentat anteriorment, però és sorprenent que el component majoritari sigui també el bis(metiltio)metà, resultat similar al de Torregiani [73] per a olis amb *T. melanosporum* etiquetats com a olis artificials de tòfona. En el cromatograma g) de la mostra d'oli I2, etiquetada com a oli d'oliva amb

extracte de *T. magnatum* i aromatitzants (0,3%) de *T. albidum* (*T. borchii*), hi destaca únicament el bis(metil)tiometà, i amb quantitat molt inferior el (metilsulfinil)(metil)tiometà; no s'hi detecten els components característics de la *T. borchii*, si bé s'hi ha identificat propilmercaptà (1-propantiol), no descrit en els perfils de volàtils en *T. magnatum* i *T. borchii* que s'esmenten en el treball recopilatori de Mustafa de 2020 [2]. Aquest compost també s'ha identificat en cebes, patates i begudes alcohòliques [86–88]. L'1-propantiol també és present en la mostra d'oli I1, que a la vegada conté gran quantitat de DMSO, el qual, com s'ha esmentat anteriorment, és permès d'utilitzar com a dissolvent per a l'extracció de productes d'origen natural. Això confirmaria l'ús de components volàtils d'origen natural (però no de tòfona) entre els odorants d'olis de tòfona.

En la mostra I2 cal destacar, d'una banda, que el cromatograma *g* és molt més simple que el perfil de COV descrit en la bibliografia per a la *T. magnatum* i també per als seus corresponents productes derivats —ja siguin olis aromatitzats o amb tòfona natural— [34, 73, 89] i, de l'altra, que en l'esmentat cromatograma no hi apareix DMSO, característic dels extractes d'odorants naturals; ambdós motius fan pensar que l'aroma d'aquesta mostra s'hauria potenciat amb compostos sintètics o biosintètics [78].

En el cromatograma *h*, corresponent a la mostra d'oli F1, etiquetada com a «oli d'oliva amb aroma de tòfona negra», hi ha presents, com s'ha esmentat abans, alguns dels components volàtils de la *T. melanosporum*, però hi destaca amb més quantitat l'1-octen-3-ol, característic de la *T. aestivum*, i, en quantitats inferiors, diversos terpenoides (limonè i β -pinè) també presents en olis preparats amb tòfona natural macerada o aromatitzats [73].

Els resultats obtinguts en el present treball concorden amb els observats en la bibliografia respecte als diferents tipus d'aromatitzants emprats en olis de tòfona i posen en dubte la fiabilitat i autenticitat del producte respecte al que s'anuncia en l'etiqueta. El DMSO i la dimetil sulfona són components que no apareixen en les tòfonas de forma natural. Segons afirma Paccioni [74], ambdós compostos podrien ser considerats com a marcadors d'olis comercials, tot i que no són presents en tots ells.

Per tal que els consumidors vagin més orientats, la informació de les etiquetes d'olis comercials amb tòfona haurien de se-

guir estrictament les recomanacions de la legislació de l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA) per a l'etiquetatge de productes alimentaris (número 1334/2008 de la Unió Europea), on es diferencien tres categories d'aroma: a) «aroma de tòfona» o «substàncies aromatitzants» per a referir-se a la utilització d'aromatitzants sintètics; b) «aroma natural» o «substàncies aromatitzants naturals» per a indicar l'ús de components naturals que no provenen de tòfonas, i c) «aroma natural de tòfona» quan els aromatitzants provenen com a mínim d'un 95% de tòfona. En un futur caldria oferir més informació al consumidor. I, també, difondre la preparació casolana de l'oli per maceració de la tòfona de temporada, filtració i consum immediat en un marge d'uns quinze dies.

Anàlisi sensorial

El panell de tretze tastadors entrenats va avaluar la intensitat dels atributs d'olor de les set mostres d'olis. Es van trobar onze atributs d'olor tals com: fong, fermentat, escopinya, terra humida, ranci, avellana crua, fecal, col bullida, gas alliaci, patata bullida i garrofa, per a descriure el perfil organolèptic dels olis amb tòfona o aromatitzats estudiats. Aquests descriptors corresponen a alguns dels COV amb característiques odoríferes detectats per olfactometria entre els identificats per GC-MS en la *T. melanosporum* fresca o en la mostra d'oli experimental ES, i concorden amb els descrits en la bibliografia [59, 73].

Els resultats per a un model mixt d'ANOVA mostren diferències significatives ($\alpha = 0,05$) entre mostres per a tots els atributs, fins i tot en aquelles (fecal, gas alliaci, patata bullida) en que l'efecte de la interacció entre tastador i mostra ha estat significatiu. Per a cada mostra d'oli s'han obtingut les mitjanes dels valors d'intensitat percebuda per cada tastador i per a cada atribut. A la figura 6 es presenten les gràfiques amb el perfil sensorial de cadascuna de les mostres.

A les mostres d'oli amb tòfona macerada (S1 i S3) la intensitat d'olor és més baixa per a cada atribut respecte a la mostra experimental (ES), però és equilibrada entre els diferents descriptors. En canvi, en el perfil organolèptic de les mostres d'oli en les quals s'indicava que havien estat aromatitzades amb tòfona (I1, I2, S2 i F1) hi destaquen amb més intensitat alguns descriptors, tals com: fong, escopinya, col bullida i gas alliaci, atribuïbles a l'1-octen-3-ol, al sulfur de dimetil, al disul-

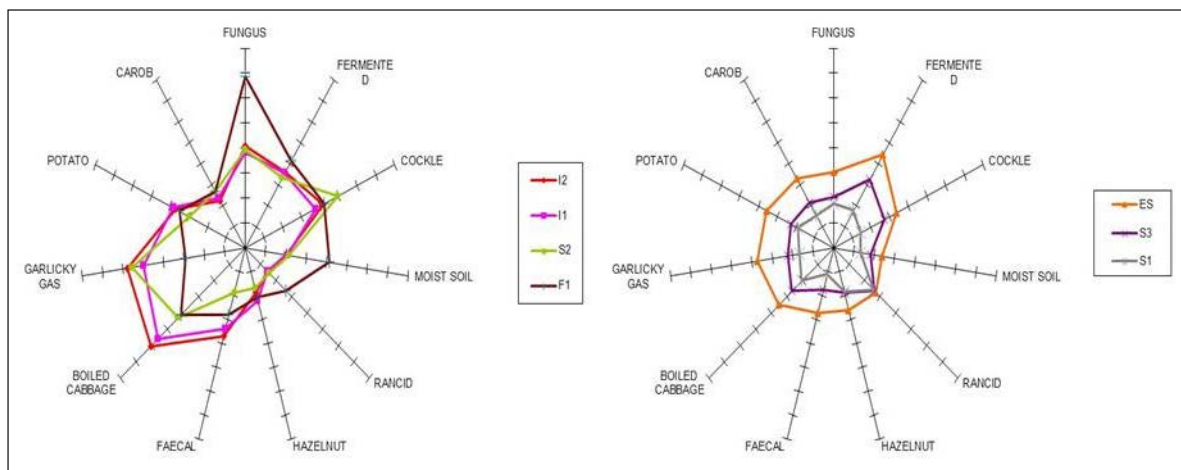


FIGURA 6. Perfil de l'anàlisi sensorial de les diferents mostres d'oli amb tòfona o aromatitzades. Mitjanes dels valors d'intensitat percebuda per a cada atribut. Elaboració pròpia, reproduït de [76].

fur de dimetil i al bis(metiltio)metà, respectivament. Aquests resultats concorden amb els obtinguts en l'anàlisi cromatogràfica per a les mostres I1, I2 i F1.

L'anàlisi de components principals de les dades (ACP), representada en la figura 7, mostra que les dues dimensions expressen el 85,2% de la variabilitat en l'olor dels diferents olis comercials amb tòfona o aromatitzats estudiats. La primera dimensió separa clarament a la part dreta les mostres d'oli amb tòfona natural macerada (ES, S3 i S1) i al costat esquerre les mostres d'oli aromatitzades amb odorants de tòfona. La segona dimensió separa a la part superior les mostres d'oli aromatitzades (S2, I1 i I2) amb olors més intenses de gas al-

liaci i de col bullida, mentre que a la part inferior hi destaca la mostra d'oli F1 amb olor de fong i terra humida com a més predominants.

Aquests resultats concorden amb les dades obtingudes en l'anàlisi per GC-MS, com s'ha esmentat en la discussió dels cromatogrames de la figura 5, en què per a les mostres S2, I1 i I2 predomina el bis(metiltio)metà, que correspon al component odorífer al qual s'assigna l'atribut de gas alliaci, i destaca l'1-octen-3-ol en la mostra F1, que té com a descriptor l'olor de fong o xampinyó.

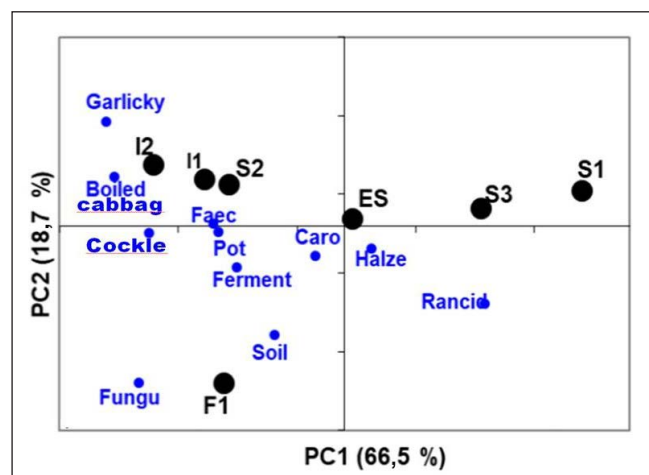


FIGURA 7. Representació de l'anàlisi de components principals (ACP) dels atributs sensorials dels olis aromatitzats (I1, I2, F1, S2) o amb tòfona macerada (ES, S1, S3). Elaboració pròpia, reproduït de [76].

Conclusions

Hi ha una àmplia varietat d'olis anomenats «olis amb tòfona» que es poden trobar en botigues especialitzades o que es poden obtenir directament dels productors. Molts d'aquests olis estan preparats amb un o diversos productes químics sintètics dels que són presents en el perfil de compostos volàtils causants de l'olor autèntica de la tòfona. Altres olis estan aromatitzats amb extractes d'altres productes naturals que contenen components volàtils afins a les tòfones. N'hi ha pocs que estiguin realment preparats a base de tòfona macerada.

Les tècniques analítiques cromatogràfiques GC-MS i l'anàlisi sensorial han mostrat ser eines molt útils per a la diferenciació entre mostres d'oli preparades amb maceració de tòfona *T. melanosporum* natural i mostres d'oli aromatitzades artificialment. Els resultats obtinguts en el present treball concor-

den amb els observats en la bibliografia respecte als diferents tipus d'aromatitzants emprats en olis de tòfona i posen en dubte la fiabilitat i autenticitat del producte respecte al que s'anuncia en l'etiqueta.

La informació de les etiquetes d'olis comercials amb tòfona haurien de seguir estrictament les recomanacions de la legislació de l'EFSa per a l'etiquetatge de productes alimentaris. Per tal que els consumidors vagin més orientats, és necessari més rigor en l'etiquetatge. En l'actualitat, en molts casos, les descripcions de les etiquetes no concorden amb els resultats que es detecten per GC-MS o per mitjà d'una anàlisi sensorial. En un futur, doncs, caldria oferir més informació al consumidor i, també, difondre la preparació casolana de l'oli per maceració de la tòfona de temporada, filtració i consum immediat en un marge d'uns quinze dies.

Cal destacar alguns reptes de futur entorn de la cultura i de l'ampliació de coneixements sobre les tòfones. Respecte als consumidors, caldria potenciar la difusió de la informació sobre les tòfones a la població en general. I, també, crear xarxes turístiques etnogràfiques entorn del conreu, les propietats i la comercialització de les tòfones. Pel que fa a la recerca, encara estan oberts diferents àmbits, tals com: trobar tecnologies adients per a la conservació de les tòfones amb totes les seves qualitats; aïllar els productes bioactius, confirmar la seva activitat biològica, fer els assajos pertinents fins a arribar al compliment de la reglamentació adient per a la seva aplicabilitat segura en medicina; aprofundir en la millora de la tubercultura i preveure la incidència del canvi climàtic sobre la producció de tòfones i la conservació de les tofoneres silvestres. És per això que voldríem encoratjar les noves generacions de professionals de la química i de la ciència i tecnologia dels aliments a engrescar-se a formar part dels equips interdisciplinaris de recerca —potents i brillants— d'aquest àmbit de la ciència, que es poden trobar en universitats i centres de recerca, tant internacionals com del país.

Agraïments

Volem mostrar el nostre agraïment:

— a Lluís Montoliu i al doctor Carlos Colinas per la cessió de les imatges de la figura 2a i les de les figures 2b, 2c i 3, respectivament.

— als col·laboradors del grup de recerca de la UVic-UCC Albert Hueso, Núria Barniol, Alba Crespi, Guillem Ylla, que han participat en les jornades de divulgació de la cultura de la tòfona.

— als membres del panell de tast (UVic-UCC, IATA i Lucta, SA).
— a Conservas Coll, SL, per l'aportació de mostres de tòfona.

Referències i altres fonts

- [1] REYNA, S. «Historia y perspectivas de la truficultura». A: REYNA, S. (coord.). *Truficultura: Fundamentos y técnicas*. Madrid: Mundi-Prensa, 2011, p. 26-44.
- [2] MUSTAFA, A. M.; ANGELONI, S.; KAMGANG, F.; ABOULENEIN, D.; SAGRATINI, G.; CAPRIOLI, G.; TORREGIANI, E. «An overview on truffle aroma and main volatile compounds». *Molecules* [en línia], 25 (24) (2020), article 5948. <<https://doi.org/10.3390/molecules25245948>>.
- [3] REYNA, S. *Trufa, truficultura y selvicultura trufera*. Madrid: Mundi-Prensa, 2000.
- [4] TOUSSAINT-SAMAT, M. *A history of food*. Hoboken, NY: John Wiley & Sons, 2009.
- [5] PASSOLA-PALMADA, J. M. *Memorial Puigrubí, 1651-1689: El comerç a Osona en les cartes del mercader Josep Puigrubí*. Vic: Arxiu Comarcal d'Osona: Consell Comarcal d'Osona, 2016.
- [6] JUVANTENY, B. «Primeres referències històriques documentades del comerç de les tòfones a Osona». Ponència a la III Jornada de Divulgació del Conreu i les Característiques de la Tòfona, celebrada a la UVic-UCC el 8 de març de 2014.
- [7] GEOFFROY, C. J. «Observation sur la végétation des truffes». A: *Mémoires de mathématique et de physique de l'Académie royale des sciences* [en línia]. París: Académie Royale des Sciences, 1711, p. 23-35. [ads-00121249] <<https://hal.archives-ouvertes.fr/ads-00121249/document>> [Consulta: 9 setembre 2022].
- [8] COLINAS, C.; CAPDEVILA, J. M.; OLIACH, D.; FISCHER, C. R.; BONET, J. A. *Mapa d'aptitud per al cultiu de la tòfona negra (Tuber melanosporum Vitt.) a Catalunya*. Solsona: Centre Tecnològic Forestal de Catalunya, 2007.
- [9] OLIACH, D. «L'associacionisme com a via de desenvolupament de nous cultius en el món rural: el cas de la tòfona negra». *Rural & Forest*, 2 (2004), p.15-18.
- [10] a) ESCAFRE, A.; ROUSSEL, F. *Rapport relatif au développement de la trufficulture française* [en línia]. França: Archives Ministère de l'Agriculture, 2006. <<https://www.vie-publique.fr/sites/default/files/rapport/pdf/074000130.pdf>> [Consulta:

14 juny 2022]. b) MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE; FÉDÉRATION FRANÇAISE DES TRUFFICULTEURS. *Protocol 2014-2020 pour le développement de la production de truffes*. França: Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire: FFT, 2014.

[11] MARTIN, F.; KOHLER, A.; MURAT, C.; BALESTRINI, R.; COUTINHO, P. M.; JAILLON, O.; MONTANINI, B.; MORIN, E.; NOËL, B.; PERCUDANI, R.; PORCEL, B.; RUBINI, A.; AMICUCCI, A.; AMSELEM, J.; ANTHOUARD, V.; ARCIONI, S.; ARTIGUENAVE, F.; AURY, J.-M.; BALLARIO, P.; BOLCHI, A.; BRENNER, A.; BRUN, A.; BUÉE, M.; CANTAREL, B.; CHEVALIER, G.; COULOUX, A.; SILVA, C. DA; DENOËUD, F.; DUPLESSIS, S.; GHIGNONE, S.; HILSELBERGER, B.; IOTTI, M.; MARÇAIS, B.; MELLO, A.; MIRANDA, M.; PACIONI, G.; QUESNEVILLE, H.; RICCIONI, C.; RUOTOLO, R.; SPLIVALLO, R.; STOCCHI, V.; TISSERANT, E.; VISCOMI, A. R.; ZAMBONELLI, A.; ZAMPIERI, E.; HENRISSAT, B.; LEBRUN, M.-H.; PAOLOCCI, F.; BONFANTE, P.; OTTONELLO, S.; WINCKER, P. «Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis». *Nature* [en línia], 464 (2010), p. 1033-1038. <<https://doi.org/10.1038/nature08867>>.

[12] REYNA, S.; GARCIA-BARREDA, S. «Black truffle cultivation: a global reality». *Forest Systems* [en línia], 23 (2) (2014), p. 317-328. <<https://doi.org/10.5424/fs/2014232-04771>>.

[13] SÁNCHEZ, S.; MIGUEL, A. M. de; SÁEZ, R.; MARTÍN-SANTAFÉ, M.; ÁGUEDA, B.; BARRIUSO, J.; GARCÍA-BARREDA, S.; SALVADOR-ALCALDE, D.; REYNA, S. «La trufa de verano en la península Ibérica: estado actual y potencialidad de cultivo». *ITEA* [en línia], 112 (1) (2016), p. 20-33. <<https://doi.org/10.12706/itea.2016.007>>.

[14] Vegeu el lloc web del Centre de Ciència i Tecnologia Forestal de Catalunya (CTFC) de Solsona (Lleida): <https://www.ctfc.cat> [Consulta: 12 juny 2022].

[15] OLIACH, D.; BONET, J. A.; FISCHER, C. R.; OLIVERA, A.; MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J.; COLINAS, C. *Dossier Tècnic* [Barcelona: Direcció General d'Alimentació, Qualitat i Indústries Agroalimentàries], núm. 26 (febrer 2008): *El cultiu de la tòfona negra* [en línia]. <http://www.ruralcat.com/migracio_resources/671311_Dossier%20Tècnic%2026.pdf> [Consulta: 14 juny 2022].

[16] FISCHER, C.; OLIACH, D.; BONET, J. A.; COLINAS, C. *Best practices for cultivation of truffles* [en línia]. Solsona: Forest Sciences Centre of Catalonia; Antalya: Yaşama Dair Vakıf, 2017. <<http://hdl.handle.net/10459.1/62828>> [Consulta: 14 juny 2022].

[17] RUBINI, A.; PAOLOCCI, F.; GRANETTI, B.; ARCIONI, S. «Morphological characterization of molecular-typed *Tuber magnatum* ectomycorrhizae». *Mycorrhiza* [en línia], 11 (2001), p. 179-185. <<https://doi.org/10.1007/s005720100116>>.

[18] MURAT, C. «La truffe blanche *Tuber magnatum* : est-il possible de la cultiver en France?». Seminari en línia WeTRUF, SAS (Vandoeuvre-lès-Nancy, França, 17 febrer 2021).

[19] STAHL, P. P.; WARD, D. *Evaluation of the potential of growing *Tuber melanosporum* as a crop on mainland Australia for export and domestic consumption*. Richmond Victoria: Rural Industries Research and Development Corporation, 1996. [Projecte núm. DPS - 1A]

[20] BONET, J. A.; COLINAS, C. «Cultivo de *Tuber melanosporum* Vitt. Condiciones y rentabilidad». *Forestalia*, 5 (2001), p. 38-45.

[21] OLIACH, D.; OLIVERA, A.; PALACIO, L.; DUARTE, R.; MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J.; FISCHER, C. R.; BONET, J. A.; COLINAS, C. «Con sabor a bosque: trufa». Projecte pilot del Centre Tecnològic Forestal de Catalunya en el marc del Programa de la Red Rural Nacional del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, convocatòria 2009.

[22] MORCILLO, M.; SÁNCHEZ, M.; VILANOVA, X. *Cultivar trufas: Una realidad en expansión*. Barcelona: Micología Forestal & Aplicada, 2015.

[23] Vegeu el lloc web de l'Associació de Productors de Tòfona de Catalunya (PROTOCAT): <http://www.productorstofona.cat> [Consulta: 12 juny 2022].

[24] LERNER, A. B.; FITZPATRICK, T. B. «Biochemistry of melanine formation». *Physiol. Rev.* [en línia], 30 (1) (1950), p. 91-126. <<https://doi.org/10.1152/physrev.1950.30.1.91>>.

[25] Per a la descripció de la *Tuber uncinatum* vegeu <https://fruitsdelaterra.com/blog-es/tuber-uncinatum-trufa-otono> [Consulta: 12 juny 2022].

[26] GARCIA-MONTERO, L. G.; CASERMEIRO, M. A.; HERNANDO, I.; HERNANDO, J. «Effect of active carbonate, exchangeable calcium and stoniness of soil on *T. melanosporum* carpophore production». *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* [en línia], 35 (1) (2007), p. 139-146. <<https://doi.org/10.1080/01140670709510178>>.

[27] RUBINI, A.; BELFIORI, B.; RICCIONI, C.; TISSERANT, E.; ARCIONI, S.; MARTIN, F.; PAOLOCCI, F. «Isolation and characterization of MAT genes in the symbiotic ascomycete *Tuber melanosporum*». *The New Phytologist* [en línia], 189 (3) (2011), p. 710-722. <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03492.x>>.

[28] ZAMPIERI, E.; RIZZELLO, R.; BONFANTE, P.; MELLO, A. «The detection of mating type genes of *Tuber melanosporum* in productive and non-productive soils». *Appl. Soil Ecol.* [en línia], 57 (2012), p. 9-15. <<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.013>>.

[29] SOURZAT, P. *Guide pratique de trufficulture*. Le Montat: Station d'expérimentation sur la truffe. Lycée professionnel agricole et viticole de Cahors - Le Montat, 2002.

- [30] MENTA, C.; SINISCALCO, C.; BONATI, B.; REMELLI, S. «Food choice and fitness of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) fed on twelve species of truffle». *Front. Environ. Sci.* [en línia], 7 (2019), article 114, p. 1-8. <<https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00114>>.
- [31] GARCÍA-MONTERO, L. G.; QUINTANA, A.; VALVERDE-ASENJO, I.; DÍAZ, P. «Calcareous amendments in truffle culture: a soil nutrition hypothesis». *Soil Biol. Biochem.* [en línia], 41 (6) (2009), p. 1227-1232. <<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.03.003>>.
- [32] MENTA, C.; PINTO, S. «Biodiversity and ecology of soil fauna in relation to truffle». A: ZAMBONELLI, A.; LOTTI, M.; MURAT, C. (ed.). *True truffle (Tuber spp.) in the world: Soil ecology, systematics and biochemistry*. Cham: Springer, 2016. (Soil Biology; 47), p. 319-331.
- [33] BONITO, G. M.; GRYGANSKYI, A. P.; TRAPPE J. M.; VILGALYS R. «A global meta-analysis of *Tuber* ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distance dispersal». *Mol. Ecol.* [en línia], 19 (22) (2010), p. 4994-5008. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04855.x>>.
- [34] SPLIVALLO, R.; OTTONELLO, S.; MELLO, A.; KARLOVSKY, P. «Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis». *New Phytologist* [en línia], 189 (3) (2011), p. 688-699. <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03523.x>>.
- [35] TALOU, T.; GASET, A.; DELMAS, M.; KULIFAJ, M.; MONTANT, C. «Dimethyl sulphide: the secret for black truffle hunting by animals?». *Mycological Research* [en línia], 94 (2) (1990), p. 277-278. <[https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80630-8](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80630-8)>.
- [36] TRAPPE, J. M.; CLARIDGE, A. W. «The hidden life of truffles». *Sci. Am.* [en línia], 302 (4) (2010), p. 78-84. <<https://doi.org/10.1038/scientificamerican0410-78>>.
- [37] SPLIVALLO, R. «Biological significance of truffle secondary metabolites». A: KARLOVSKY, P. (ed.). *Secondary metabolites in soil ecology*. Berlín; Heidelberg: Springer, 2008. (Soil Biology; 14), p. 141-165.
- [38] MENOTTA, M.; GIOACCHINI, A. M.; AMICUCCI, A.; BUFFALINI, M.; SISTI, D.; STOCCHI, V. «Headspace solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry in the investigation of volatile organic compounds in an ectomycorrhizae synthesis system». *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [en línia], 18 (2), (2004), p. 206-210. <<https://doi.org/10.1002/rcm.1314>>.
- [39] SPLIVALLO, R.; FISCHER, U.; GÖBEL, C.; FEUSSNER, I.; KARLOVSKY, P. «Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene». *Plant Physiology* [en línia], 150 (4) (2009), p. 2018-2029. <<https://doi.org/10.1104/pp.109.141325>>.
- [40] SPLIVALLO, R.; NOVERO, M.; BERTEA, C. M.; BOSSI, S.; BONFANTE, P. «Truffle volatiles inhibit growth and induce an oxidative burst in *Arabidopsis thaliana*». *New Phytologist* [en línia], 175 (3) (2007), p. 417-424. <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02141.x>>.
- [41] HARKI, E.; BOUYA, D.; DARGENT, R. «Maturation-associated alterations of the biochemical characteristics of the black truffle *Tuber melanosporum* Vitt.». *Food Chem.* [en línia], 99 (2) (2006), p. 394-400. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.030>>.
- [42] ÜSTÜN, N.S.; BULAM, S.; PEKSEN, A. «Biochemical properties, biological activities and usage of truffles». Conferència de l'International Congress on Engineering and Life Science (ICELIS 2018) (Kastamonu, Turquia, 26-29 abril 2018). *Proceeding book*, 2018, p. 772-778. També disponible en línia a: <https://www.researchgate.net/publication/328738891_Biochemical_Properties_Biological_Activities_and_Usage_of_Truffles> [Consulta: 14 juny 2022].
- [43] LEE, H.; NAM, K.; ZAHRA, Z.; FAROOQI, M. Q. U. «Potentials of truffles in nutritional and medicinal applications: a review». *Fungal Biol. Biotechnol.*, 7 (2020), article 9. <<https://doi.org/10.1186/s40694-020-00097-x>>.
- [44] ALFREDO-MARTÍNEZ, J. *Fundamentos teórico-prácticos de nutrición y dietética*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 1998.
- [45] PATEL, S.; RAUF, A.; KHAN, H.; KHALID, S.; MUBARAK, M. S. «Potential health benefits of natural products derived from truffles: a review». *Trends Food Sci. Technol.* [en línia], 70 (2017), p. 1-8. <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.009>>.
- [46] BEARA, I. N.; LESJAK, M. M.; CETOJEVIĆ-SIMIN, D. D.; MARJANOVIĆ, Z. S.; RISTIĆ, J. D.; MRKONJIĆ, Z. O.; MIMICA-DUKIĆ, N. M. «Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles». *Food Chem.* [en línia], 165 (2014), p. 460-466. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.116>>.
- [47] PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. «Flavonoids: an overview». *J. Nutr. Sci.* [en línia], 5 (2016), article e47. <<https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>>.
- [48] GIL-RAMÍREZ, A.; PAVO-CABALLERO, C.; BAEZA, E.; BAENAS, N.; GARCIA-VIGUERA, C.; MARÍN, F. R.; SOLER-RIVAS, C. «Mushrooms do not contain flavonoids». *J. Funct. Foods* [en línia], 25 (2016), p. 1-3. <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.005>>.
- [49] Vegeu una experiència d'agroturisme a <https://fetalaconca.cat/ecoturisme/tofona-de-la-conca> [Consulta: 14 juny 2022].

- [50] Vegeu una experiència d'emprenedoria a <https://tofona.deaconca.com> [Consulta: 14 juny 2022].
- [51] Vegeu el lloc web del European Mycological Institute (EMI): <https://eumi.eu> [Consulta: 14 juny 2022].
- [52] Vegeu el lloc web oficial de Trufforum: <https://trufforum.com/?lang=ca> [Consulta: 14 juny 2022].
- [53] TALOU, T.; DELMAS, M.; GASET, A. «The volatile components of tinned black Périgord truffles *Tuber melanosporum* Vitt.». *Flavour and Fragrance Journal* [en línia], 4 (3) (1989), p. 109-112. <<https://doi.org/10.1002/ffj.2730040305>>.
- [54] BELLESIA, F.; PINETTI, A.; BIANCHI, A.; TIRILLINI, B. «The volatile organic compounds of black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) from Middle Italy». *Flavour and Fragrance Journal* [en línia], 13 (1) (1998), p. 56-58. <[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199801/02\)13:1<56::AID-FFJ692>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199801/02)13:1<56::AID-FFJ692>3.0.CO;2-X)>.
- [55] DIAZ, P.; IBÁÑEZ, E.; SEÑORÁNS, F. J.; REGLERO, G. «Truffle aroma characterization by headspace solid-phase microextraction». *J. Chromatogr. A* [en línia], 1017 (1-2) (2003), p. 207-214. <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.08.016>>.
- [56] MAURIELLO, G.; MARINO, R.; D'AURIA, M.; CERONE, G.; RANA, G. L. «Determination of volatile organic compounds from truffles via SPME-GC-MS». *J. Chromatogr. Sci.* [en línia], 42 (6) (2004), p. 299-305. <<https://doi.org/10.1093/chromsci/42.6.299>>.
- [57] GIOACCHINI, A. M.; MENOTTA, M.; BERTINI, L.; ROSSI, I.; ZEPPA, S.; ZAMBONELLI, A.; PICCOLI, G.; STOCCHI, V. «Solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry: A new method for species identification of truffles». *Rapid Commun. Mass Spectrom.* [en línia], 19 (17) (2005), p. 2365-2370. <<https://doi.org/10.1002/rcm.2031>>.
- [58] SPLIVALLO, R.; BOSSI, S.; MAFFEI, M.; BONFANTE, P. «Discrimination of truffle fruiting body versus mycelial aromas by stir bar sorptive extraction». *Phytochemistry* [en línia], 68 (20) (2007), p. 2584-2598. <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.03.030>>.
- [59] CULLERÉ, L.; FERREIRA, V.; CHEVRET, B.; VENTURINI, M. E.; SÁNCHEZ-GIMENO, A. C.; BLANCO, D. «Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography-olfactometry». *Food Chem.* [en línia], 122 (1) (2010), p. 300-306. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.024>>.
- [60] SPLIVALLO, R.; EBELER, S. E. «Sulfur volatiles of microbial origin are key contributors to human-sensed truffle aroma». *Appl. Microbiol. Biotechnol.* [en línia], 99 (6) (2015), p. 2583-2592. <<https://doi.org/10.1007/s00253-014-6360-9>>.
- [61] VAHDATZADEH, M.; DEVEAU, A.; SPLIVALLO, R. «The role of the microbiome of truffles in aroma formation: a meta-analysis approach». *App. Environ. Microbiol.* [en línia], 81 (20) (2015), p. 6946-6952. <<https://doi.org/10.1128/AEM.01098-15>>.
- [62] SPLIVALLO, R.; DEVEAU, A.; VALDEZ, N.; KIRCHHOFF, N.; FREY-KLETT, P.; KARLOVSKY, P. «Bacteria associated with truffle-fruiting bodies contribute to truffle aroma». *Environ. Microbiol.* [en línia], 17 (8) (2015), p. 2647-2660. <<https://doi.org/10.1111/1462-2920.12521>>.
- [63] BUZZINI, P.; GASPARETTI, C.; TURCHETTI, B.; CRAMAROSSA, M. R.; VAUGHAN-MARTINI, A.; MARTINI, A.; PAGNONI, U. M.; FORTI, L. «Production of volatile organic compounds (VOCs) by yeasts isolated from the ascocarps of black (*Tuber melanosporum* Vitt.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles». *Archives of Microbiol.* [en línia], 184 (3) (2005), p. 187-193. <<https://doi.org/10.1007/s00203-005-0043-y>>.
- [64] HAZELWOOD, L. A.; DARAN, J.; MARIS, A. J. A. van; PRONK, J. T.; DICKINSON, J. R. «The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism». *Appl. Environ. Microbiol.* [en línia], 74 (8) (2008), p. 2259-2266. <<https://doi.org/10.1128/AEM.02625-07>>.
- [65] CULLERÉ, L.; FERREIRA, V.; VENTURINI, M. E.; MARCO, P.; BLANCO, D. «Potential aromatic compounds as markers to differentiate between *Tuber melanosporum* and *Tuber indicum* truffles». *Food Chem.* [en línia], 141 (1) (2013), p. 105-110. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.027>>.
- [66] SPLIVALLO, R.; CULLERÉ, L. «The smell of truffles: from aroma biosynthesis to product quality». A: ZAMBONELLI, A.; IOTTI, M.; MURAT, C. (ed.). *True truffle (Tuber spp.) in the world*. Berlín; Heidelberg: Springer, 2016. (Soil Biology; 47), p. 393-407.
- [67] GIOACCHINI, A. M.; MENOTTA, M.; GUESCINI, M.; SALTARELLI, R.; CECCAROLI, P.; AMICUCCI, A.; BARBIERI, E.; GIOMARO, G.; STOCCHI, V. «Geographical traceability of Italian white truffle (*Tuber magnatum* Pico) by the analysis of volatile organic compounds». *Rapid Commun. Mass Spectrom.* [en línia], 22 (20) (2008), p. 3147-3153. <<https://doi.org/10.1002/rcm.3714>>.
- [68] STROJNIK, L.; GREBENC, T.; OGRINC, N. «Species and geographic variability in truffle aromas». *Food Chem. Toxicol.* [en línia], 142 (2020), article 111434. <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111434>>.
- [69] CULLERÉ, L.; FERREIRA, V.; VENTURINI, M. E.; MARCO, P.; BLANCO, D. «Chemical and sensory effects of the freezing process on the aroma profile of black truffles (*Tuber melanosporum*)». *Food Chem.* [en línia], 136 (2) (2013), p. 518-525. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.030>>.

- [70] ŠIŠKOVIĆ, N.; STROJNIK, L.; GREBENC, T.; VIDRIH, R.; OGRINC, N. «Differentiation between species and regional origin of fresh and freeze-dried truffles according to their volatile profiles». *Food Control* [en línea], 123 (2021), article 107698. <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107698>>.
- [71] MARCO, P.; CAMPO, E.; ORIA, R.; BLANCO, D.; VENTURINI, M. E. «Effect of lyophilisation in the black truffle (*Tuber melanosporum*) aroma: A comparison with other long-term preservation treatments (freezing and sterilization)». *Acta Horticulturae*, 1194 (2018), p. 831-838. <<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1194.117>>.
- [72] PALACIOS, I.; GUILLAMÓN, E.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; VILLARES, A. «Effects of freeze-drying treatment on the aromatic profile of *Tuber* spp. truffles». *Journal of Food Processing and Preservation* [en línea], 38 (3) (2012), p. 768-773. <<https://doi.org/10.1111/jfpp.12028>>.
- [73] TORREGIANI, E.; LORIER, S.; SAGRATINI, G.; MAGGI, F.; VITTORI, S.; CAPPRIOLI, G. «Comparative analysis of the volatile profile of 20 commercial samples of truffles, truffle sauces, and truffle-flavoured oils by using HS-SPME-GC-MS». *Food Analytical Methods* [en línea], 10 (6) (2017), p. 1857-1869. <<https://doi.org/10.1007/s12161-016-0749-2>>.
- [74] PACIONI, G.; CERRETANI, L.; PROCIDA, G.; CICHELLI, A. «Composition of commercial truffle flavoured oils with GC-MS analysis and discrimination with an electronic nose». *Food Chemistry* [en línea], 146 (supplement C) (2014), p. 30-35. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.016>>.
- [75] BLANCH, C.; IBÁÑEZ, C.; HUESO, A.; BARNIOL, N.; TORRES-MORENO, M. «Volatile compounds characterization in truffle infused-oils by HS-SPME-GC-MS analysis». A: *1st International Conference on Truffle Research '14* (Vic-Barcelona, 2014) [en línea]. Ed. a cura de Consol Blanch i Alba Crespi. Servei de Publicacions de la UVic-UCC. <<http://hdl.handle.net/10854/7140>> [Consulta: 30 novembre 2022].
- [76] TÀRREGA, A.; BLANCH, C.; CRESPI, A.; IBÁÑEZ, C.; TORRES-MORENO, M. «Sensory distinctive features in the aroma of truffle oils». A: *1st International Conference on Truffle Research '14* (Vic-Barcelona, 2014) [en línea]. Ed. a cura de Consol Blanch i Alba Crespi. Servei de Publicacions de la UVic-UCC. <<http://hdl.handle.net/10854/7140>> [Consulta: 30 novembre 2022].
- [77] BLANCH, C.; IBÁÑEZ, C.; ARGELAGUÉS, M.; TÀRREGA, A.; TORRES-MORENO, M. «Searching for naturally generated volatiles from *Tuber melanosporum* as authenticity markers for black truffle infused vegetable oils». A: SIEGMUND, B.; LEITNER, E. (ed.). *Flavour science*. Graz: Verlag der Technischen Universität Graz, 2018, p. 335-338.
- [78] DUBAL, S. A.; TILKARI, Y. P.; MOMIN, S. A.; BORKAR, Y. V. «Biotechnological routes in flavour industries». *Advanced Biotech.* (març 2008), p. 20-31.
- [79] WERNIG, F.; BUEGGER, F.; PRITSCH, K.; SPLIVALLO, R. «Composition and authentication of commercial and home-made white truffle-flavoured oils». *Food Control* [en línea], 87 (2018), p. 9-16. <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.045>>.
- [80] «Reglamento (CE) n.º 1334/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 sobre los aromas y determinados ingredientes alimentarios con propiedades aromatizantes utilizados en los alimentos y por el que se modifican el Reglamento (CEE) n.º 1601/91 del Consejo, los Reglamentos (CE) n.º 2232/96 y (CE) n.º 110/2008 y la Directiva 2000/13/CE». *Diario Oficial de la Unión Europea* [en línea], núm. L 354 (31 de diciembre 2008), p. 34-50. <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1334&qid=1659091647176&from=EN>> [Consulta: 14 juny 2022].
- [81] «Reglamento (UE) n.º 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011 sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) n.º 1924/2006 y (CE) n.º 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento (CE) n.º 608/2004 de la Comisión». *Diario Oficial de la Unión Europea* [en línea], núm. L 304 (22 de noviembre 2011), p. 18-63. <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=EN>> [Consulta: 14 juny 2022].
- [82] ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. *Análisis sensorial*. Madrid: AENOR, 1997.
- [83] ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. *UNE 87027 - Identificación y selección de descriptores para la elaboración del perfil sensorial mediante distintos enfoques. CTN 87 Análisis Sensorial*. Madrid: AENOR, 1998.
- [84] BALDUS, M.; KLIE, R.; BIERMANN, M.; KREUSCHNER, P.; HUTZLER, M.; METHNER, F. J. «On the behaviour of dimethyl sulfoxide in the brewing process and its role as dimethylsulfide precursor in beer». *Brewing Science* [en línea], 71 (2018), p. 1-11. <<https://doi.org/10.23763/BrSc18-01baldus>>.
- [85] CAPIRIOTTI, K.; CAPIRIOTTI, J. A. «Dimethyl sulfoxide: history, chemistry, and clinical utility in dermatology». *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 5 (9) (2012), p. 24-26.

[86] CARSON, J. F.; WONG, F. F. «Onion flavour and odour, the volatile flavour components of onions». *J. Agric. Food Chem.* [en línia], 9 (2) (1961), p. 140-143. <<https://doi.org/10.1021/jf60114a015>>.

[87] GUMBMAN, M. R.; BURR, H. K. «Food flavours and odours, volatile sulfur compounds in potatoes». *J. Agric. Food Chem.* [en línia], 12 (5) (1964), p. 404-408. <<https://doi.org/10.1021/jf60135a004>>.

[88] WALKER, M. D. «Estimation of volatile sulphur compounds in beer». *J. Inst. Brew.*, 98 (1992), p. 283-287.

[89] WANG, S.; MARCONE, M. F. «The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: truffles». *Food Res. Int.* [en línia], 44 (9) (2011), p. 2567-2581. <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.008>>.



C. Blanch



C. Ibáñez



A. Tàrrega



M. Torres-Moreno

Consol Blanch és doctora en química per la Universitat de Barcelona (UB, 1978). Va realitzar la tesi en l'àmbit de síntesi orgànica de compostos mimètics d'hormona juvenil d'insectes a l'Institut de Química Orgànica del CSIC. És professora emèrita de la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC). Ha participat en grups d'innovació educativa, de recerca aplicada a la tecnologia dels aliments i de recerca en el control de la contaminació (atmosfèrica, sòls, aigües i conreus). Ha col·laborat en tasques de formació continuada i de divulgació científica coordinant les activitats de la Setmana de la Ciència a la UVic-UCC (1996-2012). En l'actualitat és vocal de la Junta de la Societat Catalana de Química, filial de l'Institut d'Estudis Catalans.

Carlos Ibáñez és llicenciat en ciències químiques per la Universitat de Barcelona (UB), especialitat en química analítica (1980). És cap del Departament d'Anàlisi de la Divisió d'Innovació de Lucta, SA. Té més de trenta publicacions nacionals i internacionals en els camp d'aromes, fragàncies i additius per a alimentació animal, cromatografia de gasos, cromatografia de líquids, espectrometria de masses, mètodes extractius, anàlisi i normalització d'olis essencials. Va ser president del Subcomitè d'AENOR d'Olis Essencials (1991-2000) i president del Comitè Tècnic Internacional 54 d'Olis Essencials de ISO (1994-2000). És revisor especialista del *Journal of Food Science* i professor del Màster Internacional de Neuromàrqueting de la Universitat Autònoma de Barcelona com a especialista en la química de l'olfacció.

Amparo Tàrrega és llicenciada en ciència i tecnologia dels aliments (1999) i en farmàcia (2003) per la Universitat de València (UV) i doctora en ciència dels aliments per la UV (2005). És investigadora de l'Institut d'Agroquímica i Tecnologia d'Aliments (IATA-CSIC) a Espanya. És experta en ciència sensorial i del consumidor i els objectius de la seva recerca són comprendre els mecanismes orals implicats en la percepció sensorial i l'ús d'eines avançades per a mesurar i modelitzar la resposta del consumidor a les propietats sensorials i no sensorials dels aliments.

Míriam Torres-Moreno és diplomada en nutrició humana i dietètica per la Universitat de Barcelona (UB, 2000), llicenciada en ciència i tecnologia dels aliments (UB, 2002) i doctora en nutrició i metabolisme (Programa Interuniversitari de Nutrició i Metabolisme) per la Universitat Rovira i Virgili (URV, 2012). Des del 2004 és professora titular a la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), on actualment és degana de la Facultat de Ciències de la Salut i el Benestar. La seva recerca està centrada en l'estudi dels factors que expliquen el patró alimentari de les persones, i a entendre el comportament alimentari des de la perspectiva dels factors implicats en la percepció de les propietats dels aliments.

L'aerosol orgànic a Catalunya. Fonts d'emissió i toxicitat

Organic aerosol in Catalonia. Emission sources and toxicity

Clara Jaén, Barend L. van Drooge i Joan O. Grimalt

Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)

Resum: L'aerosol orgànic (AO) present a la matèria particulada atmosfèrica és un factor determinant dels efectes adversos que provoca la contaminació atmosfèrica. En aquest estudi, diversos compostos orgànics traçadors han permès establir les principals fonts d'emissió de l'AO a tres indrets de Catalunya amb diferents problemàtiques pel que fa a la qualitat de l'aire. A més a més, l'estudi de la toxicitat en cèl·lules de pulmó dels extractes de PM₁₀ (material particulat amb un diàmetre aerodinàmic inferior a 10 µm) d'aquests indrets indica una major afectació de les funcions cel·lulars en les mostres de les àrees semiurbana i rural que tenen una gran contribució de la crema de biomassa. D'altra banda, el mostreig vertical amb globus captius posa de manifest l'acumulació a prop de superfície d'aquests compostos en condicions d'inversió tèrmica, fet que augmenta el risc per a la salut de la població exposada.

Paraules clau: Material particulat, aerosol orgànic, traçadors moleculars, distribució vertical, toxicitat.

Abstract: *The organic aerosol (OA) present in atmospheric particulate matter is a determinant cause of the adverse effects produced by atmospheric pollution. In this study, several organic tracer compounds were analysed to evaluate the main emission sources of OA in three locations in Catalonia with different air quality problems. The toxicity study on lung cells of PM₁₀ (particulate matter with aerodynamic diameter less than 10 µm) extracts from those sites indicates a greater impact on cellular functions in samples from semi-urban and rural areas that have higher levels of biomass burning. Likewise, sampling with captive balloons reveals that these compounds accumulate near the surface under inversion conditions, increasing the health risks of the exposed population.*

Keywords: *Particulate matter, organic aerosol, molecular tracers, vertical distribution, toxicity.*

Introducció

La contaminació atmosfèrica és un dels majors riscos mediambientals per als ecosistemes i la salut humana, fins i tot quan s'hi està exposat en períodes de temps curts [1, 2]. El 2016, aproximadament 4,2 milions de morts prematures al planeta s'atribuïren a la contaminació atmosfèrica, i encara el 2019, el 99% de la població mundial respirava aire que no complia amb les directrius de qualitat de l'aire que estableix l'Organització Mundial de la Salut (OMS) [3]. Els esforços per millorar la qualitat de l'aire són cada cop més grans amb l'objectiu de reduir la incidència de malalties relacionades amb aquesta causa, com són els vessaments cerebrals, les malalties cardíaques, el càncer de pulmó i diverses malalties respiratòries cròniques i agudes [3]. Amb aquest objectiu, la Comissió Europea ha establert diverses directives que proporcionen el marc actual per al control de la contaminació atmosfèrica per a diversos contaminants entre els quals es tro-

ben el diòxid de nitrogen (NO₂), l'ozó (O₃), el material particulat amb un diàmetre aerodinàmic inferior a 10 µm (PM₁₀) i el benzo[a]pirè. El material particulat (PM, *particulate matter*) és un dels contaminants que presenta més efectes adversos. Consisteix en una barreja de material orgànic i inorgànic en fase sòlida o líquida que es troba suspesa a l'aire procedent de fonts naturals i antropogèniques. En inhalar, les partícules que hi ha a l'aire entren al sistema respiratori i es poden dipositar als pulmons; a més, les partícules més petites poden arribar a introduir-se al corrent sanguini i produir efectes adversos més greus [4]. Cal conèixer quines són les fonts d'emissió d'aquests contaminants, els seus processos de transport atmosfèric, els mecanismes de transformació que experimenten i els efectes que produeixen sobre la salut humana i els ecosistemes per poder implementar mesures efectives i reduir-ne l'impacte.

Fonts i composició del material particulat

L'aerosol orgànic pot representar una fracció molt variable del PM i pot ser determinant en els efectes nocius d'aquest component atmosfèric, a més dels metalls pesants o altres substàncies inorgàniques [5]. L'aerosol orgànic pot ser emès directament a l'atmosfera per fonts primàries (aerosol orgànic

Correspondència: Clara Jaén
Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)
C. de Jordi Girona, 18-26. 08034 Barcelona
Tel.: +34 934 006 100
A/e: clara.jaen@idaea.csic.es

primari, AOP) o formar-se per transformacions fotoquímiques a l'atmosfera (aerosol orgànic secundari, AOS). Les fonts primàries varien notablement segons l'entorn: a les zones urbanes dominen les emissions relacionades amb la combustió, la cuina domèstica, el transport rodat, les activitats industrials i la pols de les carreteres, mentre que a les zones rurals la crema de biomassa i les partícules del sòl tenen més rellevància. D'aquesta manera, alguns compostos orgànics que es troben a la matèria particulada es poden atribuir específicament a un d'aquests orígens i es poden fer servir com a traçadors per identificar la presència i la magnitud de les diferents fonts d'emissió i dels processos de formació secundària.

La formació de l'AOS té lloc en presència d'oxidants forts a l'atmosfera, com són O_3 , NO_x o els radicals hidroxil. Aquests reaccionen amb compostos orgànics volàtils i amb l'AOP i formen derivats oxigenats que poden presentar toxicitats més altes que els compostos originals. Malauradament, encara es desconeixen molts dels mecanismes que participen en aquestes reaccions. Cal conèixer molts més detalls dels processos de formació de l'AOS per poder plantejar les mesures adients per protegir la salut humana.

Condicions atmosfèriques

La interacció entre els contaminants atmosfèrics i les condicions meteorològiques són un factor clau d'aquests processos. De fet, la gran majoria de les emergències sanitàries en zones habitades estan més relacionades amb canvis en la meteorologia que amb variacions en les emissions. Així doncs, les condicions meteorològiques són un factor clau que determina la generació d'episodis contaminants amb concentracions elevades, la seva evolució i la seva intensitat [6].

Una gran part dels episodis d'elevada contaminació atmosfèrica tenen lloc en condicions anticiclòniques d'estancament que sovint impliquen inversions de temperatura, inhibeixen els moviments verticals i donen lloc a capes de barreja molt baixes. En aquestes condicions, la dilució més baixa de contaminants i la incorporació de derivats fotoquímics dels contaminants primaris generen acumulacions de compostos de toxicitat més alta [7, 8].

En aquest sentit, les condicions d'inversió de temperatura són particularment rellevants a la península Ibèrica, on la radiació

solar forta produeix una gran varietat de transformacions fotoquímiques. A més, les condicions anticiclòniques que es donen sovint a la zona generen diversos episodis d'inversió durant l'any en què es poden arribar a superar els nivells de qualitat europeus establerts de O_3 i PM_{10} [9]. Tot i això, les dinàmiques associades als episodis ambientals depenen fortament de les condicions de l'àrea implicada, i s'observen contrastos entre zones continentals i costaneres [10].

Qualitat de l'aire a Catalunya

La qualitat de l'aire a Catalunya és monitorada per la Xarxa de Vigilància i Previsió de la Contaminació Atmosfèrica (XVPCA) de la Generalitat de Catalunya en col·laboració amb l'Agència de Salut Pública de Barcelona. Degut a la complexa orografia del terreny i als diferents usos del sòl, Catalunya presenta problemàtiques molt diverses a les diferents àrees del territori. La figura 1 mostra les mitjanes anuals entre el 2011 i el 2020 de diferents contaminants a tres estacions ben diferenciades, amb diferents problemes pel que fa la qualitat de l'aire. També s'hi indiquen els valors objectiu anuals fixats per l'OMS i els valors límit i objectiu fixats per la Unió Europea (UE) per al PM_{10} , NO_2 i benzo[a]pirè per protegir la salut pública [3, 11].

Barcelona (l'Eixample) és una estació classificada com a urbana de trànsit i sovint registra concentracions molt elevades de NO_2 . Les mitjanes anuals queden molt per sobre tant del valor objectiu de l'OMS com del valor límit de la UE per a aquest contaminant, i també supera el valor objectiu de l'OMS pel que fa a material particulat. D'altra banda, Manlleu, classificada com a estació suburbana de fons, sovint registra les concentracions més elevades de benzo[a]pirè i PM_{10} de la península Ibèrica, així com pics molt elevats d'ozó els mesos més càlids de l'any. Per últim, Bellver de Cerdanya és una estació rural de fons situada als Pirineus, on també es troben nivells elevats d'ozó i on se supera el valor objectiu de l'OMS per al benzo[a]pirè.

L'única superació dels límits europeus pel que fa al NO_2 es dona a Barcelona; tot i així, els valors marcats per l'OMS, que són més restrictius, indiquen que la qualitat de l'aire en aquests indrets pot suposar un risc per a la salut de la població exposada.

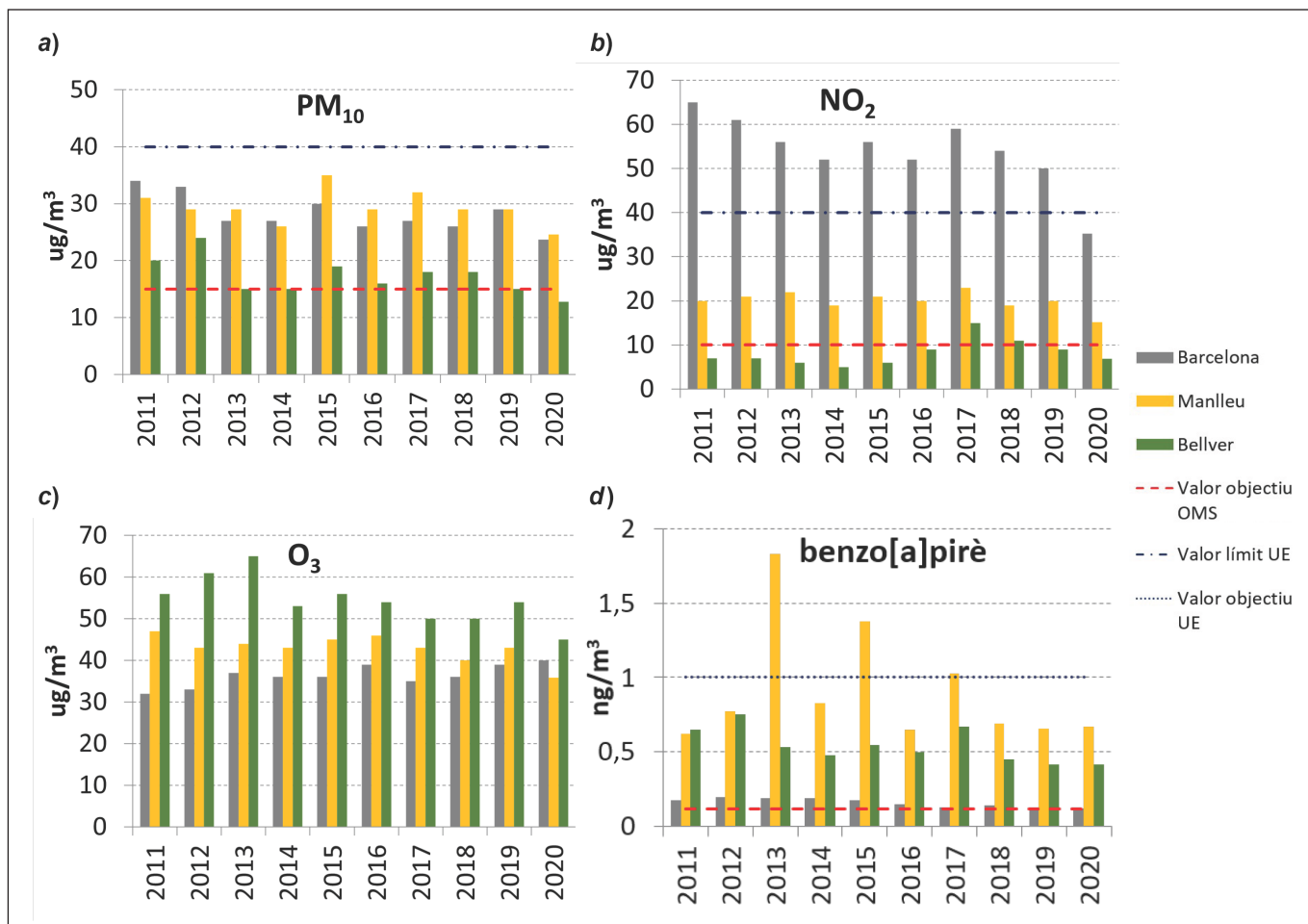


FIGURA 1. Mitjana anual de: a) PM₁₀, b) NO₂, c) O₃ i d) benzo[a]pirè a les estacions de qualitat de l'aire de Barcelona (l'Eixample), Manlleu i Bellver de Cerdanya. Les línies vermelles mostren els valors objectiu de qualitat de l'aire establerts com a segurs per l'OMS, i les blaves, el valor objectiu o límit fixat per la UE. Elaboració pròpia.

Metodologia de mostreig i anàlisi

Filtres d'alt volum i toxicitat

En aquest treball, per estudiar quines són les contribucions de fons dels contaminants orgànics atmosfèrics i la seva toxicitat, s'han analitzat filtres de PM₁₀ recollits per la Generalitat de Catalunya i l'Agència de Salut Pública de Barcelona (l'Eixample), Manlleu i Bellver de Cerdanya. Els dies d'estudi (vegeu la taula 1) s'han elegit segons la disponibilitat dels filtres i els contrastos observats tant de les condicions meteorològiques com de qualitat de l'aire (NO₂, PM₁₀ i O₃). Aquests filtres s'instal·len en captadors d'alt volum que fan passar un total de 720 m³ d'aire al dia. El material recollit és la matèria particulada en suspensió que passa a través del capçal selectiu amb una eficiència de tall del 50% per a un diàmetre aerodinàmic

de 10 µm. En cada cas, s'ha analitzat un quart del filtre per saber la composició orgànica del material particulat.

Per als assajos de toxicitat s'ha extret un vuitè dels filtres per ultrasonificació amb el medi de cultiu DMEM (Dulbecco's Mod-

TAULA 1. Dies d'estudi amb la qualitat de l'aire i les condicions meteorològiques corresponents. Elaboració pròpia.

Dia	Qualitat de l'aire	Condicions meteorològiques
2/8/2019	O ₃ elevat	Anticicló
16/11/2019	Bona	Inestabilitat atmosfèrica
20/11/2019	PM ₁₀ i NO ₂ elevats	Estancament d'aire
18/12/2019	PM ₁₀ i NO ₂ elevats	Estancament d'aire i intrusió de pols sahariana
22/12/2019	O ₃ elevat	Dia ventós

ified Eagle's Medium) suplementat amb un 10% de sèrum boví fetal en dues extraccions de 4 i 2 mL. El conjunt dels extractes s'ha centrifugat i el sobrenedant s'ha esterilitzat amb radiació ultraviolada (UV) durant una hora abans dels tests d'exposició.

Per estudiar la viabilitat cel·lular, s'ha exposat fins a 100 µL de l'extracte a cultius de cèl·lules epitelials de pulmó A549 prèviament sembrades en plaques de fons pla. S'han preparat sis concentracions més en dilucions seqüencials 1:2 per estudiar la viabilitat cel·lular a dosis diferents. Les plaques de cultiu s'han incubat durant 24 h en condicions estàndard. Després d'aquest temps, s'ha fet l'assaig de viabilitat cel·lular de Resazurina i s'han llegit les plaques amb un lector de microplaques de fluorescència a 560/590 nm com a longituds d'ona d'excitació/emissió.

Mostreig vertical

En els casos d'inversió tèrmica, per tal d'estudiar la distribució vertical del material particulat s'han dut a terme mostrejos simultanis en superfície i per sobre de la capa d'inversió mitjançant globus captius d'heli (vegeu la figura 2). El material particulat es recull sobre un filtre de quars amb una bomba de baix cabal i el sutge es mesura amb un monitor d'exposició personal. El globus es lliga a terra amb un fil de pesca i es controla amb un carret elèctric per mantenir-lo a 300-400 metres



FIGURA 2. Resum esquemàtic del mètode de mostreig simultani a dues altures. Fotografies dels autors.

d'altura durant tres hores. A més, es monitoren als dos nivells la temperatura i la humitat relativa amb enregistadors de dades. Els filtres recollits corresponen a un volum aproximat de 0,9 m³. Aquest tipus de mostreig representa un gran repte perquè per analitzar filtres amb volums recollits tan baixos es necessiten instruments d'anàlisi d'alta resolució.

Aquest estudi de la distribució vertical de l'atmosfera s'ha dut a terme a Vic entre el 15 i el 17 de març del 2021, amb característiques similars a l'estació XVPCA de Manlleu abans esmentada, i a Mollerussa entre el 19 i el 23 de juliol del 2021. Aquest últim és un entorn rural envoltat de camps de cultiu.

Anàlisi dels compostos orgànics traçadors

Els compostos orgànics traçadors de fonts s'han analitzat tant en els filtres de PM₁₀ d'alt volum com en els de baix volum recollits a terra i en altura. Els compostos mesurats han estat: el levoglucosà, el mannosà i el galactosà com a indicadors de la crema de biomassa, alguns àcids dicarboxílics i poliols de la formació d'aerosol secundari (incloent-hi productes d'oxidació de l'isoprè i l' α -pinè), els hopans com a traçadors de les emissions del trànsit i els hidrocarburs aromàtics policíclics (HAP) com a indicadors de combustió incompleta [12-16]. A més, aquests últims, juntament amb les quinones (HAP oxigenats), es poden utilitzar per calcular els quocients de toxicitat equivalent partint del factor de toxicitat associat a cada compost [17].

En l'anàlisi, els filtres es dopen amb compostos deuterats (alguns HAP deuterats, levoglucosà-D₇ i àcid succínic-D₄) i s'extreuen amb 10 mL de diclorometà: metanol (1:1 v/v) per triplicat. Els extractes es filtren i es concentren amb el rotavapor i sota un corrent de N₂ fins a un volum final de 0,5 mL. Una alíquota de 25 µL s'evapora fins a la sequedat i s'hi afegixen 25 µL de N,O-bis(trimetililil)trifluoroacetamida (BSTFA) i 10 µL de piridina per obtenir els derivats trimetilsilans dels compostos polars (àcids i poliols), els quals s'analitzen per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses (GC-MS) per detectar i quantificar els compostos. Amb la resta de l'extracte es fa una partició líquid-líquid amb 1 mL d'hexà per triplicat i es concentra sota un corrent de N₂ fins a un volum final de 25 µL per analitzar els compostos menys polars per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses d'alta resolució (GC - Orbitrap MS).

Els orígens de les contribucions dels contaminants es determinen a partir de la matriu normalitzada dels compostos traçadors amb el mètode d'anàlisi multivariant MCR-ALS (*multivariate curve resolution - alternating least squares*) sota restriccions de no-negativitat. El mètode descompon la matriu amb un algoritme de mínims quadrats alterns i genera els components. Cada un d'aquests descriu dues informacions: la constitució del component segons els compostos mesurats i la contribució del component a les mostres recollides [18]. Així doncs, la contribució dels compostos mesurats a cada component ens indica la font de material orgànic a què correspon.

Aportació de fonts de l'aerosol orgànic

S'ha aplicat el mètode MCR-ALS a la matriu que contenia les concentracions normalitzades de vint-i-vuit compostos traçadors per a cadascuna de les quinze mostres d'alt volum de Barcelona, Manlleu i Bellver (tres estacions, cinc dies). S'han obtingut quatre components que expliquen el 95% de la variància de la base de dades (vegeu la figura 3). El primer component conté el 91% dels hopans, fet que permet associar-lo al trànsit. A més, conté un 28% d'àcids que han estat relacionats amb anterioritat en la literatura amb l'AOS de les emissions de trànsit i altres activitats urbanes com ara la cuina domèstica [12]. El segon component correspon a la crema de biomassa, perquè conté un 85% dels compostos traçadors

d'aquest tipus de crema (levoglucosà, mannosà i galactosà). També conté el 75% dels HAP i de les quinones, cosa que indica que la crema de biomassa és una font important d'aquest tipus de compostos. Els altres dos components estan clarament relacionats amb l'aerosol secundari. El component que conté el 87% dels productes d'oxidació de l'isoprè i l' α -pinè (àcid 2-metilglucèric, 2-metiltreitol, 2-metileritrol, àcid cis-pinònic, àcid 3-hidroxi-glutàric i àcid 3-metil-1,2,3-butantricarboxílic, MBTCA) correspon a l'AOS biogènic, encara que també conté contribucions d'alguns àcids més antics (productes de segona formació). Per últim, el component etiquetat com a AOS conté la majoria dels àcids dicarboxílics (40%), tot i que també té una contribució important de l'àcid cis-pinònic, producte de primera generació de l'oxidació de l' α -pinè.

La contribució de cadascun d'aquests components a les diferents mostres es troba representat a la figura 4a. En la mostra d'estiu, l'AOS biogènic domina a totes tres estacions degut a la major presència de compostos orgànics volàtils (COV) durant aquesta època de l'any i a la concentració d'ozó elevada (vegeu la taula 1), que afavoreix la formació de compostos secundaris. D'altra banda, els dies caracteritzats per condicions meteorològiques d'estancament (20/11 i 18/12) mostren les contribucions més altes de les fonts d'emissió primàries, trànsit per a Barcelona i crema de biomassa per a Manlleu i Bellver. La figura 4b mostra que les emissions del trànsit dominen l'aerosol orgànic a Barcelona (70%), la crema de biomassa a l'estació suburbana de Manlleu (67%) i l'AOS a la rural de Bellver de Cerdanya (47%).

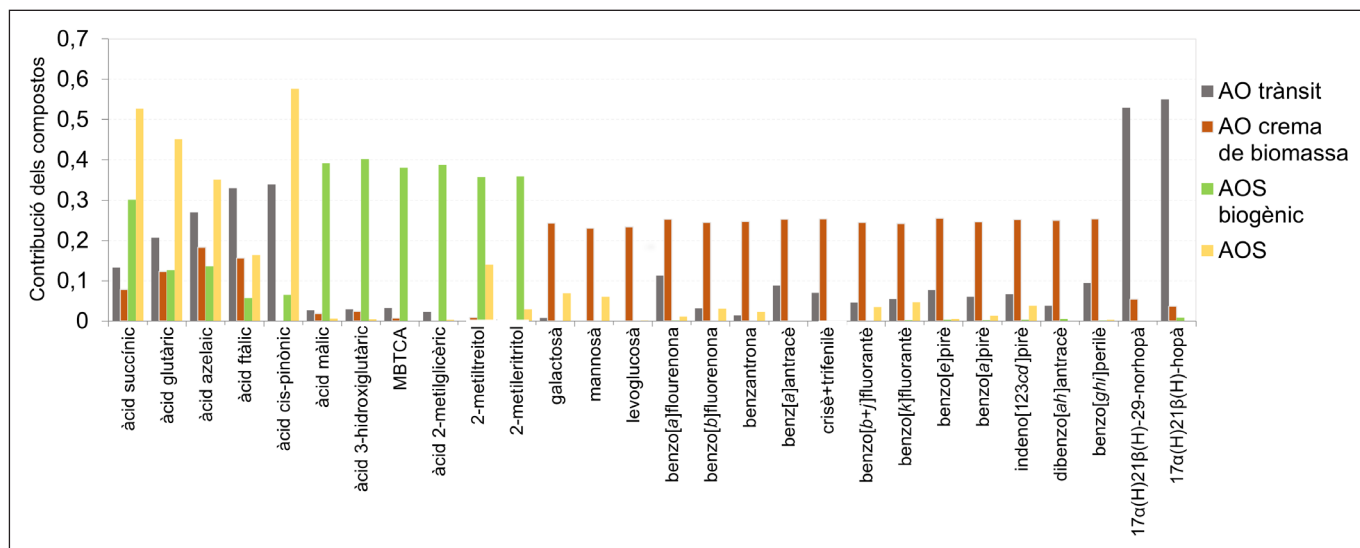


FIGURA 3. Contribució de cada compost orgànic traçador a cadascun dels quatre components en l'aerosol orgànic. Elaboració pròpia.

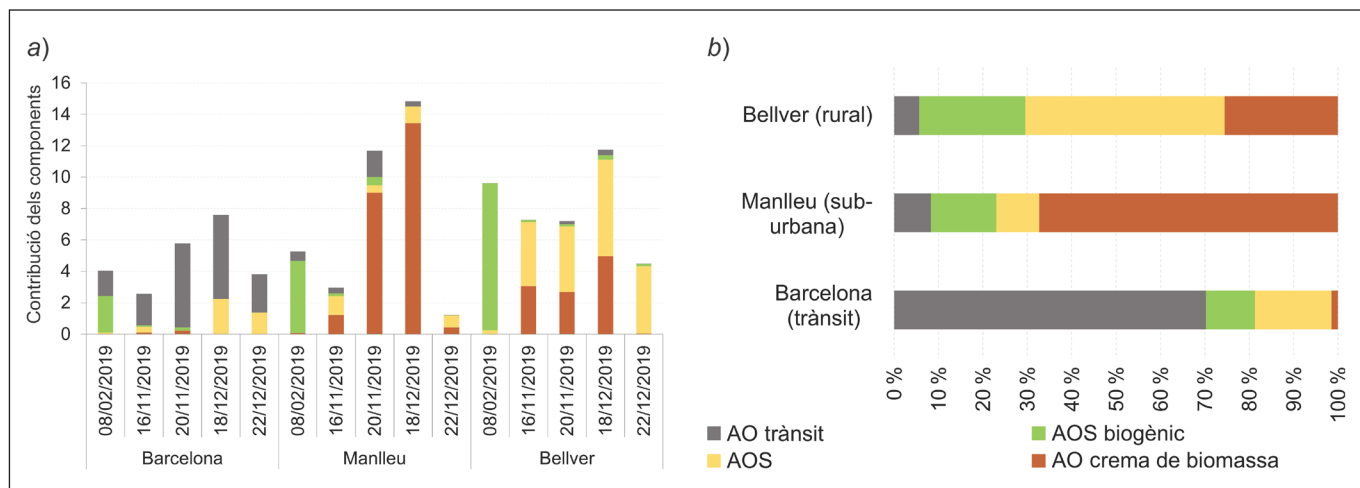


FIGURA 4. a) Contribució dels components de l'aerosol orgànic a cada mostra. b) Tant per cent de contribució de cada component a cada estació. Elaboració pròpia.

Toxicitat del material particulat

La toxicitat de les mostres recollides en cèl·lules epitelials de pulmó A549 es mostra a la figura 5, on es representa la viabilitat de les cèl·lules vint-i-quatre hores després de l'exposició a diferents concentracions d'extractes dels filtres. Les mostres més tòxiques, les que presenten una viabilitat cel·lular menor, corresponen als dies amb estancament d'aire (20/11 i 18/12) a l'estació suburbana de Manlleu i a la rural de Bellver de Cerdanya. Aquests dos dies de major toxicitat a Manlleu coincideixen amb les concentracions més altes d'aerosol orgànic en aquesta estació, majoritàriament per la crema de biomassa. Les concentracions d'HAP i quinones d'aquests dies amb condicions meteorològiques d'estancament són rellevants, ja que donen quocients de toxicitat equivalents de 8 ng/m^3 , mentre que la resta de dies en aquesta estació no superen la unitat. Aquest comportament suggereix que els compostos relacionats amb la crema de biomassa poden alterar les funcions cel·lulars dels organismes i, fins i tot, produir-ne la mort [19]. D'altra banda, les mostres d'aquests dies a l'estació de Bellver produeixen toxicitats similars, però tenen també contribucions considerables d'aerosol secundari. Tot i així, el paper de l'AOS en la toxicitat és dubtós, perquè altres mostres amb contribucions majoritàries d'aquest component presenten viabilitats cel·lulars altes. En contrast, les cèl·lules exposades als extractes dels filtres de Barcelona presenten toxicitats més baixes.

Els resultats obtinguts en aquest estudi confirmen que els nivells actuals de contaminants poden provocar efectes en la

salut humana perquè els volums equivalents d'aire per produir la inhibició del 50% de l'activitat cel·lular varien entre $4,4 \text{ m}^3$ i 30 m^3 , que són valors dins del marge del que respira un ésser humà durant un dia.

En els dies marcats per l'estancament d'aire, quan la capa de barreja és baixa i els contaminants es dispersen en un volum petit d'aire, hi ha un risc més alt per a la població. És necessari, doncs, conèixer la distribució d'aquests compostos a l'atmosfera sota les condicions d'inversió tèrmica que provoquen aquest estancament. A més, la formació de l'aerosol secundari lluny de les fonts d'emissió primàries (estació rural) ens pot indicar la formació d'aquests compostos a les capes més altes de l'atmosfera. Aquests compostos podrien introduir-se a les capes habitades en créixer la capa de barreja durant les hores diürnes, fenomen que es coneix com a *fumigació de la capa residual* i que s'ha observat amb anterioritat a Catalunya amb altres contaminants [20].

Distribució vertical de l'aerosol orgànic

L'estudi de la distribució vertical amb globus captius ha permès veure les diferències entre les condicions estàndard i les d'inversió tèrmica. A la figura 6 es mostra la suma dels compostos traçadors a la localització suburbana (Vic) i a la rural (Mollerussa), tant al terra com al globus. Es mostren els valors obtinguts per diferents sondejos que tenen una durada aproximada de tres hores.

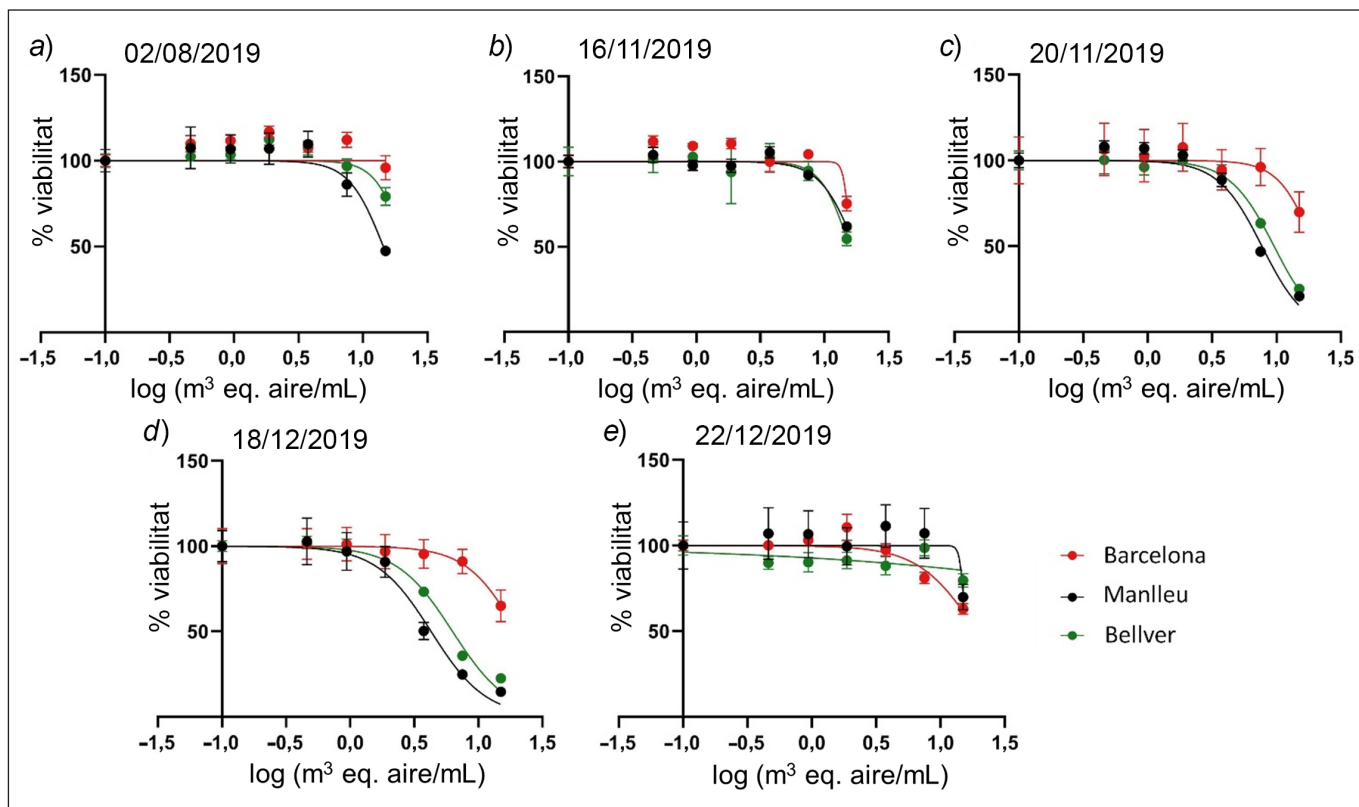


FIGURA 5. Corbes de toxicitat que representen el tant per cent de viabilitat, relatiu al control, de les cèl·lules davant el logaritme dels metres cúbics equivalents d'aire per mil·lilitre d'extracte exposat a les cèl·lules. Elaboració pròpia.

En el mostreig del març del 2021 a la zona suburbana de Vic (vegeu les figures 6a i 6c), la concentració dels traçadors de la crema de biomassa i de combustió incompleta són majors a terra que en altura en tots els casos, però les diferències més acusades tenen lloc als sondejos fets sota condicions d'inversió (marcats en vermell).

Les inversions de temperatura es formen normalment a la nit, quan la superfície es refreda radiativament i les capes altes de l'atmosfera queden aïllades a una temperatura més alta, i es trenquen al matí amb l'escalfament solar. Aquest comportament es veu reflectit en la diferència de concentracions entre els sondejos fets quan es forma la inversió, a l'última hora de la tarda, i quan es trenca a la matinada. Durant la nit s'acumulen els contaminants emesos a superfície i la concentració a terra va augmentant. Així doncs, un cop surt el sol, la capa de barreja augmenta i dispersa els contaminants acumulats en un volum més gran d'aire, tot disminuint-ne les concentracions. En el cas de Vic, el quocient de toxicitat equivalent a la superfície sota condicions d'inversió és més de cinc cops superior que en condicions de barreja (3,9 i 0,6 ng/m³, respectivament).

D'altra banda, la correlació de les concentracions dels traçadors amb el sutge indiquen que la font principal de material particulat a Vic a l'hivern és la combustió incompleta de biomassa, mentre que a Mollerussa a l'estiu (juliol) aquests traçadors presenten contribucions molt menors. A Mollerussa els traçadors de la combustió incompleta (HAP) també són sempre més alts a terra, però amb valors molt menors i, en aquest cas, podrien estar associats al trànsit rodad. En aquesta estació rural, a l'estiu, la contribució dominant és de l'aerosol secundari biogènic (productes d'oxidació de l' α -pinè i l'isoprè), que en molts dels sondejos presenta concentracions més elevades en altura que en superfície. Aquests productes són més estables i es poden acumular a la capa residual de l'atmosfera per sobre de la inversió. La mateixa tendència també s'ha observat amb l'ozó, que afavoreix els processos d'oxidació. L'acumulació d'aquest tipus de compostos a la capa residual és significativa, perquè quan l'atmosfera es barreja a les hores diürnes es reintrodueixen a la capa de barreja i poden afavorir els processos d'oxidació a prop de la superfície.

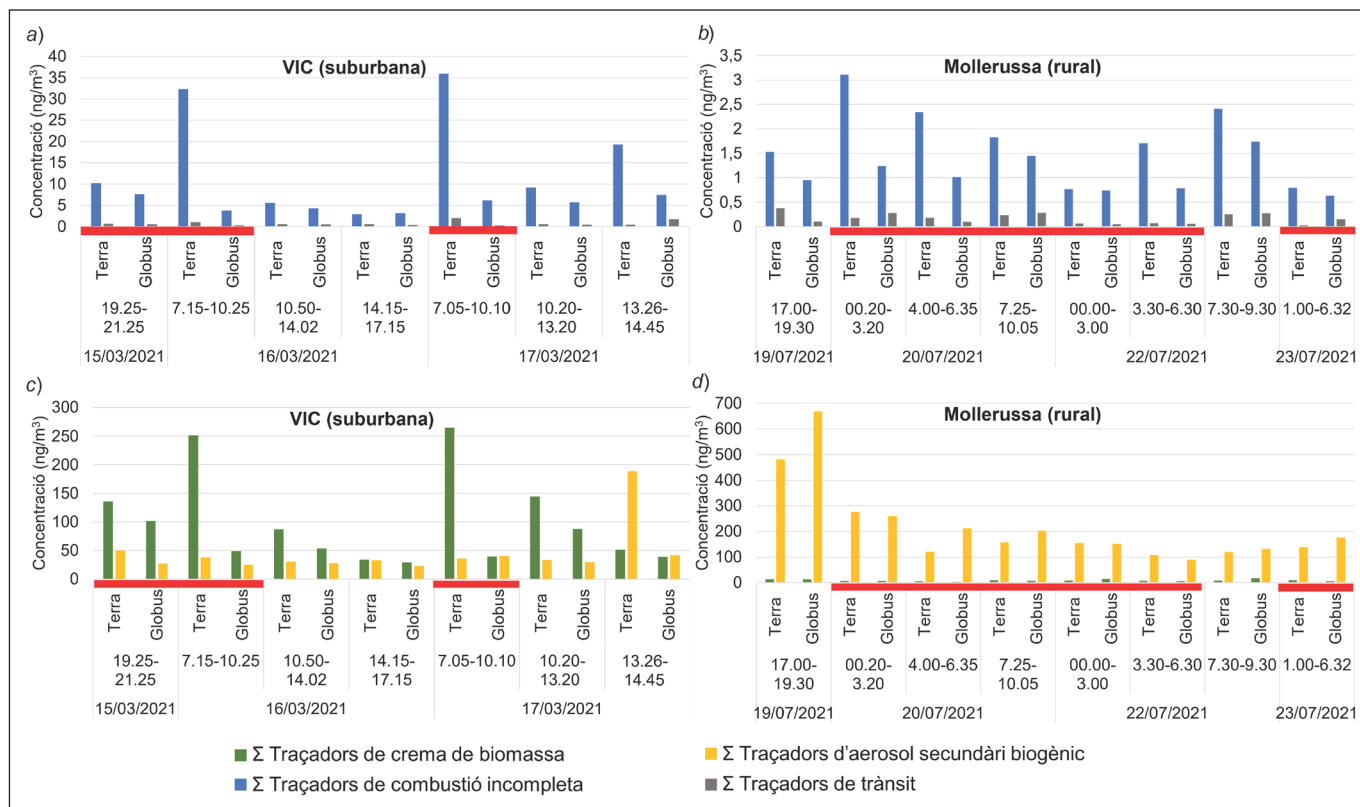


FIGURA 6. Suma dels compostos traçadors a terra i al globus per a cada mostreig fet a Vic el març del 2021 (a i c) i a Mollerussa el juliol de 2021 (b i d). Els mostrejos marcats en vermell indiquen una temperatura major al globus que a terra i, per tant, condicions d'inversió. Elaboració pròpia.

Conclusions

L'estudi d'aportació de fonts de l'aerosol orgànic en la matèria particulada de les estacions de Barcelona, Manlleu i Bellver indica que cal aplicar mesures diferents per millorar la qualitat de l'aire a les diferents àrees. A les zones urbanes, dominades per les emissions de trànsit, cal canviar els tipus de cotxes i/o millorar els sistemes de transport col·lectiu. Altrament, a les zones suburbanes o rurals, on la crema de biomassa i l'aerosol secundari són dominants, la crema de rostolls o les llars de foc domèstiques poden influir de manera significativa i és necessari regular com es duen a terme aquestes cremes perquè, d'acord amb els estudis de toxicitat, la combustió incompleta afecta les funcions cel·lulars dels organismes. Aquest fet és particularment preocupant en condicions d'estancament d'aire, quan les concentracions dels contaminants són més elevades.

D'altra banda, el mostreig amb globus d'heli permet l'estudi de la distribució vertical dels traçadors orgànics en aquestes condicions d'estancament. Les concentracions dels traçadors

de fonts primàries són significativament més grans a terra sota condicions d'inversió tèrmica a l'hivern i poden suposar un risc per a la població exposada si les condicions d'estancament persisteixen. En canvi, l'aerosol orgànic secundari es troba més barrejat a l'atmosfera i es pot acumular a la capa residual nocturna a l'estiu. La complexitat de la formació secundària de compostos suposa un repte que cal esbrinar per identificar els efectes que tenen sobre la salut humana i per poder establir les estratègies més adients per reduir-los.

Agraïments

Els autors agraeixen les aportacions en aquest treball de Carme Bedia i Paula Villascaras. Aquest treball ha estat finançat pel Pla Nacional d'R+D+I del Ministeri de Ciència i Innovació (INTEMPOL PGC2018-10228-B-I00) i pel projecte CEX2018-000794-S del centre d'excel·lència Severo Ochoa IDAEA-CSIC. Clara Jaén agraeix també la beca predoctoral FPU del Ministeri d'Universitats (FPU19/06826).

Referències i altres fonts

- [1] JANSSEN, N. A. H.; FISCHER, P.; MARRA, M.; AMELING, C.; CASSEE, F. R. «Short-term effects of PM_{2.5}, PM₁₀ and PM_{2.5-10} on daily mortality in the Netherlands». *Sci. Total Environ.* [en línia], 463-464 (2013), p. 20-26. <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.062>>.
- [2] MASSERAN, N.; MOHD SAFARI, M. A. «Intensity-duration-frequency approach for risk assessment of air pollution events». *J. Environ. Manage.* [en línia], 264 (2020), article 110429. <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110429>>.
- [3] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Ambient (outdoor) air pollution* [en línia]. Ginebra: WHO, 2021. <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)> [Consulta: 3 març 2022].
- [4] NEMMAR, A.; HOET, P. H. M.; VANQUICKENBORNE, B.; DINSDALE, D.; THOMEER, M.; HOYLAERTS, M. F.; VANBILLOEN, H.; MORTELMANS, L.; NEMERY, B. «Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans». *Circulation* [en línia], 105 (4) (2002), p. 411-414. <<https://doi.org/10.1161/hc0402.104118>>.
- [5] KELLY, F. J.; FUSSELL, J. C. «Size, source and chemical composition as determinants of toxicity attributable to ambient particulate matter». *Atmos. Environ.* [en línia], 60 (2012), p. 504-526. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.039>>.
- [6] HOLLINGSWORTH, A.; ENGELEN, R. J.; TEXTOR, C.; BENEDETTI, A.; BOUCHER, O.; CHEVALLIER, F.; DETHOF, A.; ELBERN, H.; ESKES, H.; FLEMING, J.; GRANIER, C.; KAISER, J. W.; MORCRETTE, J.-J.; RAYNER, P.; PEUCH, V.-H.; ROUIL, L.; SCHULTZ, M. G.; SIMMONS, A. J.; THE GEMS CONSORTIUM. «Toward a monitoring and forecasting system for atmospheric composition: The GEMS Project». *Bull. Am. Meteorol. Soc.* [en línia], 89 (8) (2008), p. 1147-1164. <<https://doi.org/10.1175/2008BAMS2355.1>>.
- [7] LAMPILAHTI, J.; LEINO, K.; MANNINEN, A.; POUTANEN, P.; FRANCK, A.; PELTOLA, M.; HIETALA, P.; BECK, L.; DADA, L.; QUÉLÉVER, L.; ÖHRNBERG, R.; ZHOU, Y.; EKBLUM, M.; VAKKARI, V.; ZILITINKEVICH, S.; KERMINEN, V. M.; PETÄJÄ, T.; KULMALA, M. «Aerosol particle formation in the upper residual layer». *Atmos. Chem. Phys.* [en línia], 21 (10) (2021), p. 7901-7915. <<https://doi.org/10.5194/acp-21-7901-2021>>.
- [8] BEHERA, S. N.; CHENG, J.; HUANG, X.; ZHU, Q.; LIU, P.; BALASUBRAMANIAN, R. «Chemical composition and acidity of size-fractionated inorganic aerosols of 2013-14 winter haze in Shanghai and associated health risk of toxic elements». *Atmos. Environ.* [en línia], 122 (2015), p. 259-271. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.09.053>>.
- [9] «Directiva 2008/50/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de mayo de 2008 relativa a la calidad del aire ambiente y a una atmósfera más limpia en Europa». *Diario Oficial de la Unión Europea* [en línia], núm. L 152 (11 juny 2008), p. 1-44. <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0050&from=en>> [Consulta: 5 maig 2022].
- [10] DROOGE, B. L. van; FONTAL, M.; FERNÁNDEZ, P.; FERNÁNDEZ, M. A.; MUÑOZ-ARNANZ, J.; JIMÉNEZ, B.; GRIMALT, J. O. «Organic molecular tracers in atmospheric PM₁ at urban intensive traffic and background sites in two high-insolation European cities». *Atmos. Environ.* [en línia], 188 (2018), p. 71-81. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.06.024>>.
- [11] EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY (EEA). *Air quality standards* [en línia]. <<https://www.eea.europa.eu/themes/air/air-quality-concentrations/air-quality-standards>> [Consulta: 5 maig 2022].
- [12] ALIER, M.; DROOGE, B. L. van; DALL'OSTO, M.; QUEROL, X.; GRIMALT, J. O.; TAULER, R. «Source apportionment of submicron organic aerosol at an urban background and a road site in Barcelona (Spain) during SAPUSS». *Atmos. Chem. Phys.* [en línia], 13 (20) (2013), p. 10353-10371. <<https://doi.org/10.5194/acp-13-10353-2013>>.
- [13] ALVES, C.; NUNES, T.; VICENTE, A.; GONÇALVES, C.; EYVYUGINA, M.; MARQUES, T.; PIO, C.; BATE-EPEY, F. «Speciation of organic compounds in aerosols from urban background sites in the winter season». *Atmos. Res.* [en línia], 150 (2014), p. 57-68. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2014.07.012>>.
- [14] CLAEYS, M.; SZMIGIELSKI, R.; KOURTCHEV, I.; VEKEN, P. van der; VERMEYLEN, R.; MAENHAUT, W.; JAOU, M.; KLEINDIENST, T. E.; LEWANDOWSKI, M.; OFFENBERG, J. H.; EDNEY, E. O. «Hydroxydicarboxylic acids: Markers for secondary organic aerosol from the photooxidation of α -pinene». *Environ. Sci. Technol.* [en línia], 41 (5) (2007), p. 1628-1634. <<https://doi.org/10.1021/es0620181>>.
- [15] SZMIGIELSKI, R.; SURRATT, J. D.; GÓMEZ-GONZÁLEZ, Y.; VEKEN, P. van der; KOURTCHEV, I.; VERMEYLEN, R.; BLOCKHUY, F.; JAOU, M.; KLEINDIENST, T. E.; LEWANDOWSKI, M.; OFFENBERG, J. H.; EDNEY, E. O.; SEINFELD, J. H.; MAENHAUT, W.; CLAEYS, M. «3-methyl-1,2,3-butane-tricarboxylic acid: An atmospheric tracer for terpene secondary organic aerosol». *Geophys. Res. Lett.* [en línia], 34 (24) (2007), article L24811. <<https://doi.org/10.1029/2007GL031338>>.
- [16] PÉREZ-PASTOR, R.; SALVADOR, P.; GARCÍA-ALONSO, S.; ALASTUEY, A.; SANTOS, S. G. dos; QUEROL, X.; ARTIÑANO, B. «Characterization of organic aerosol at a rural site influenced by olive waste biomass

burning». *Chemosphere* [en línia], 248 (2020), article 125896. <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125896>>.

[17] NISBET, I. C. T.; LAGOY, P. K. «Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)». *Regul. Toxicol. Pharmacol.* [en línia], 16 (3) (1992), p. 290-300. <[https://doi.org/10.1016/0273-2300\(92\)90009-X](https://doi.org/10.1016/0273-2300(92)90009-X)>.

[18] JAUMOT, J.; GARGALLO, R.; JUAN, A. de; TAULER, R. (2005). «A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: A new tool for multivariate curve resolution in MATLAB». *Chemom. Intell. Lab. Syst.* [en línia], 76 (1) (1992), p. 101-110. <<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2004.12.007>>.

[19] MESQUITA, S. R.; DROOGE, B. L. van; OLIVEIRA, E.; GRIMALT, J. O.; BARATA, C.; VIEIRA, N.; GUIMARÃES, L.; PIÑA, B. «Differential embryotoxicity of the organic pollutants in rural and urban air particles». *Environ. Pollut.* [en línia], 206 (2015), p. 535-542. <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.08.008>>.

[20] JAÉN, C.; UDINA, M.; BECH, J. «Analysis of two heat wave driven ozone episodes in Barcelona and surrounding region: Meteorological and photochemical modeling». *Atmos. Environ.* [en línia], 246 (2021), article 118037. <<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.118037>>.



C. Jaén



B. L. van Drooge



J. O. Grimalt

Clara Jaén és graduada en química per la Universitat de Barcelona (UB) des de l'any 2018 i va obtenir el Màster Oficial en Meteorologia l'any 2020. Ha fet estades de recerca enfocades a la qualitat de l'aire a l'Institut de Geoquímica de Guangzhou i al grup de Modelització Atmosfèrica de Mesoescala i Microescala de la UB. Actualment és estudiant de doctorat a l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC), on estudia els canvis en la composició de contaminants orgànics en la matèria particulada atmosfèrica i les condicions meteorològiques que afecten els episodis d'alta contaminació.

Barend L. van Drooge és llicenciat en ciències ambientals als Països Baixos des de l'any 1998 i doctor en ciències ambientals per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) des de l'any 2004. Després d'haver fet una estada postdoctoral al Joint Research Centre (JRC) de la Comissió Europea (Itàlia), actualment és científic titular a l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) des del 2020. La seva recerca gira entorn de l'estudi dels contaminants atmosfèrics, el seu mode de transport i el seu impacte en la salut i el medi natural en zones remotes, rurals i urbanes.

Joan O. Grimalt és enginyer químic per l'Institut Químic de Sarrià (IQS) des de l'any 1978, llicenciat en ciències químiques per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) des del 1979, doctor en ciències químiques per la UAB des del 1983 i professor d'investigació del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) des del 1992. Va ser director de l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) entre 2008 i 2018 i director del Centre d'Investigació i Desenvolupament (CID-CSIC) entre 2012 i 2018. Geoquímic orgànic ambiental de trajectòria llargament llorejada, ha dedicat la seva investigació a l'estudi dels compostos orgànics naturals i antropogènics com a indicadors del canvi climàtic i de l'estat de salut dels ecosistemes i organismes (incloent-hi els humans).

Hidrogels de nanovesícules DELOS: una formulació innovadora per a ús tòpic

DELOS nanovesicles-based hydrogels: An innovative formulation for topical use

Lídia Ballell-Hosa,^{1,2,3} Elisabet González-Mira,^{2,3} Héctor Santana,⁴ Judit Morla-Folch,^{2,3} Yaima Martínez-Prieto,⁴ Jaume Veciana,^{2,3} Santi Sala,¹ Lidia Ferrer-Tasies¹ i Nora Ventosa^{2,3}

¹ Nanomol Technologies, SL

² Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC)

³ Centro de Investigación Biomédica en Red – Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

⁴ Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB)

Resum: L'alliberament de fàrmacs per a ús tòpic ha rebut una gran atenció pel fet que es tracta d'un alliberament localitzat, per l'alta acceptació per part del pacient i pel seu baix risc d'efectes secundaris. Aquest article descriu els avenços d'una plataforma innovadora d'alliberament de fàrmacs anomenada *nanovesícules DELOS* per a ús tòpic. Concretament, aquestes nanovesícules s'han transformat en hidrogel d'una manera eficient i assegurant-ne la integritat, i s'han convertit així en una formulació avançada per a ús tòpic.

Paraules clau: Nanovesícules, alliberament tòpic de fàrmacs, hidrogel, integritat de la vesícula.

Abstract: Topical delivery has received great attention due to its localized drug delivery effect, its patient compliance, and its low risk of side effects. This article describes the advances in an innovative drug delivery platform called DELOS nanovesicles for topical drug delivery. Specifically, these nanovesicles have been efficiently transformed into hydrogels, ensuring the integrity of the vesicles and making them an advanced formulation for topical use.

Keywords: Nanovesicles, topical drug delivery, hydrogel, vesicle integrity.

Introducció

La recerca en nanomedicina està revolucionant tot el món amb l'oferta d'estratègies de diagnòstic i tractament més innovadores i millorades respecte a les convencionals. En aquest marc, actualment existeixen moltes nanomedicines [1], però la transformació d'una nanoformulació prometedora des del laboratori al mercat sol ser un repte i pot trigar diversos anys a arribar a comercialitzar-se. Un dels reptes més difícils en aquest àmbit és garantir la màxima qualitat, eficàcia i seguretat del producte farmacèutic en la via d'administració escollida [2].

Entre les diverses vies d'administració de fàrmacs, cal destacar que l'administració tòpica presenta diversos avantatges, ja que la pell es considera l'òrgan de més fàcil accés i permet fàcilment l'alliberament localitzat del fàrmac, la qual cosa en minimitza els efectes secundaris i millora l'eficàcia del tracta-

ment. A més, disposa de l'acceptació del pacient, que és un factor rellevant, en comparació amb altres vies d'administració. Actualment, existeixen diferents formes farmacèutiques per a ús tòpic, que es poden classificar segons el seu estat físic: líquides (loció), semisòlides (pomades, cremes, gels) i sòlides (pols). Tot i això, fins ara, les formulacions més habituals per a ús tòpic es basen en productes farmacèutics de consistència semisòlida, ja que es consideren gairebé no invasives i fàcils d'aplicar.

Actualment s'estan desenvolupant noves formulacions avançades d'administració de fàrmacs per a ús tòpic amb una eficàcia millorada o amb efectes secundaris reduïts en comparació amb els sistemes utilitzats fins ara. Per tal d'aconseguir-ho, s'estan avaluant, entre moltes altres estratègies, l'ús de nanoestructures [3, 4]. En l'actualitat, existeixen diferents tipus de nanoestructures per millorar l'administració d'actius i biomolècules terapèuticament actives (*drug delivery systems*), entre les quals podem trobar els sistemes nanovesiculars.

En aquest article, us presentem un nou sistema nanovesicular gelificat altament estable per a ús tòpic basat en les anomena-

des *nanovesícules* DELOS. Aquestes vesícules, també conegudes com a *quatsomes*, estan compostes per una barreja d'esterols i tensioactius iònics, i són produïdes per la plataforma DELOS-SUSP (Depressurization of an Expanded Liquid Organic Solution-Suspension), un mètode basat en fluids comprimits (vegeu la figura 1). Cal ressaltar que la plataforma DELOS-SUSP és un procés ecoeficient que utilitza CO₂ comprimit i permet la producció reproduïble i escalable de sistemes nanovesiculars amb una estabilitat col·loidal notable en termes de mida, morfologia i lamellaritat en medis aquosos [5-7].

En estudis anteriors basats en el desenvolupament de nous nanoconjugats de nanovesícules DELOS, es va integrar eficientment un factor de creixement epidèrmic humà recombinant (rhEGF, *human recombinant epidermal growth factor*) que va presentar una gran potencialitat per a la regeneració epidèrmica. Aquesta nova nanoformulació, basada en rhEGF integrat en nanovesícules DELOS formades per colesterol i bromur de cetiltrimetilamoni (CTAB), un tensioactiu d'amoni quaternari, va presentar una major eficàcia en la reepitelització de ferides en comparació amb la proteïna lliure per si sola i, per tant, va donar lloc a una estratègia factible per a l'alliberament de principis actius de manera tòpica que suposa una millora

del tractament de ferides complexes [8]. És per això que aquestes nanovesícules són unes candidates molt atractives per a ús tòpic, ja que per aquesta via, i en dispersió líquida, han demostrat tenir una tolerabilitat correcta, tant en model de pell sintètica (EpiSkin) com en la cicatrització de ferides complexes tractades en pacients que no tenen cap altre tipus de tractament disponible (*compassionate patients*) [8, 9].

Objectius

L'objectiu d'aquest estudi és transformar la dispersió líquida de nanovesícules DELOS en una forma de dosificació semisòlida com a producte farmacèutic millorat per a l'alliberament tòpic (vegeu la figura 2). Els hidrogels resultants es van caracteritzar per utilitzar tècniques instrumentals efectives a l'hora de demostrar la integritat de les nanovesícules en aquesta forma farmacèutica final, ja que és un aspecte de qualitat crucial. Finalment, per generar una primera prova de concepte d'un hidrogel enriquit amb nanovesícules DELOS que contenen una biomolècula, es va realitzar una prova *in vitro* amb nanovesícules DELOS que integraven rhEGF per avaluar l'impacte de la gelificació en l'activitat de la biomolècula.

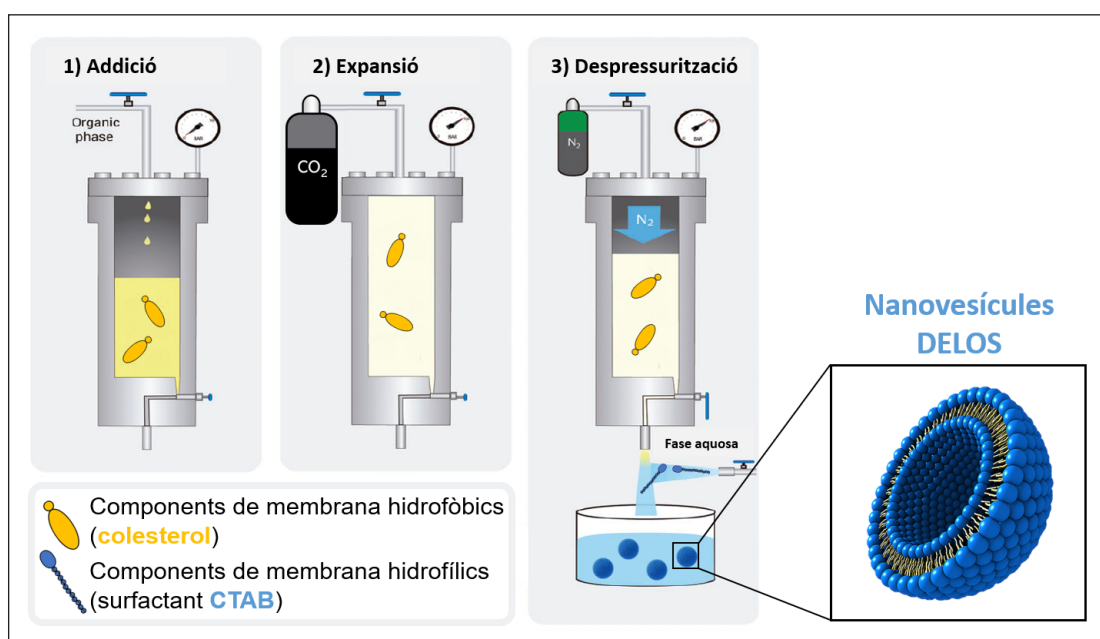


FIGURA 1. Esquema del procés DELOS-SUSP per a la preparació de nanovesícules DELOS: 1) càrrega, a pressió atmosfèrica, del reactor amb una solució orgànica dels components hidrofòbics de la membrana vesicular (colesterol); 2) addició del CO₂ comprimit per produir una dissolució expandida de tots els components de membrana dissolts, a la pressió de treball (10 MPa); 3) despressurització de la dissolució expandida sobre una dissolució aquosa que conté els components hidrofílics (CTAB), a fi de produir nanovesícules DELOS. Adaptació de [6].

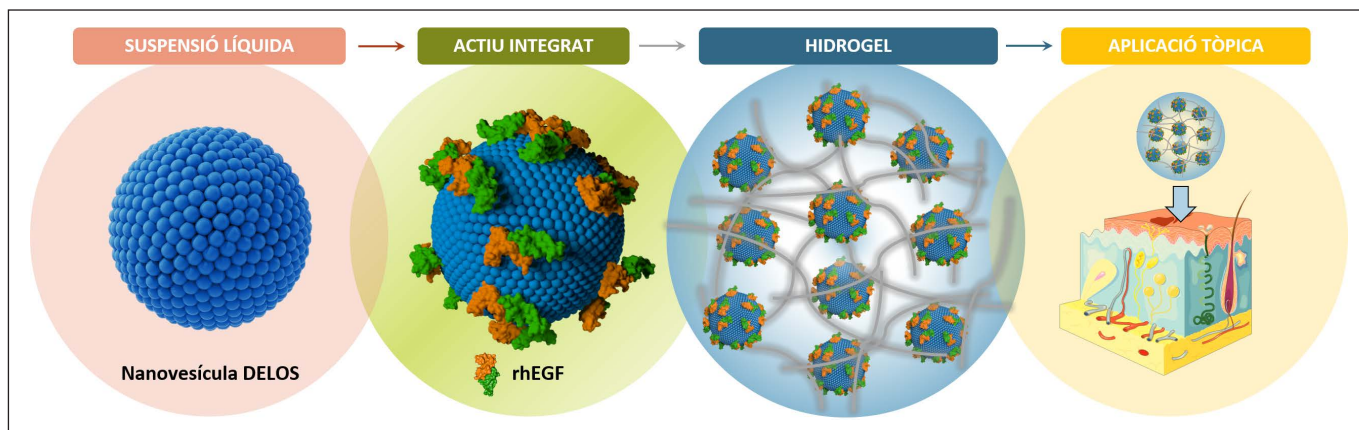


FIGURA 2. Representació gràfica de la transformació de les vesícules DELOS, en suspensió líquida i amb un actiu integrat fins a la seva gelificació per ser aplicat tòpicament. Elaboració pròpia.

Resultats

Forma de dosificació semisòlida: hidrogels enriquits amb nanovesícules DELOS

Una estratègia interessant per tal de transformar la dispersió líquida de nanovesícules DELOS en una forma de dosificació semisòlida és l'ús d'hidrogels, ja que ofereixen diversos avantatges, com ara: a) un alliberament millorat del principi actiu, b) una excel·lent biocompatibilitat i c) una contribució a la cicatrització de les ferides proporcionant un ambient humit que imita les propietats mecàniques de la granulació del teixit [10, 11].

Per desenvolupar un hidrogel basat en la formulació de nanovesícules DELOS de colesterol i CTAB en aigua, es van gelificar afegint hidroxipropil metilcel·lulosa, també anomenada Methocel™ K4M. Aquest biopolímer, no iònic, és un agent gelificant a base de cel·lulosa i soluble en aigua que s'utilitza en formulacions injectables i pel·lícules o gels transdèrmics, la qual cosa dona un rang més ampli d'aplicabilitat a les nanovesícules DELOS [12, 13]. Els hidrogels es van preparar fent servir un 2% p/p de l'agent hidrogelificant. És important remarcar que aquesta concentració es va seleccionar després d'avaluar el rang de concentracions que s'utilitza habitualment per preparar formulacions per a aplicació tòpica (1% - 4% p/p) [14].

Un cop preparats els hidrogels enriquits amb nanovesícules DELOS, es van examinar macroscòpicament. El resultat va ser una formulació semisòlida incolora i homogènia, amb la con-

sistència adequada i, per tant, amb excel·lents propietats organolèptiques. A més, a escala microscòpica, tal com s'aprecia a la figura 3, no es va observar cap alteració de l'aspecte microscòpic degut a la presència de les nanovesícules.

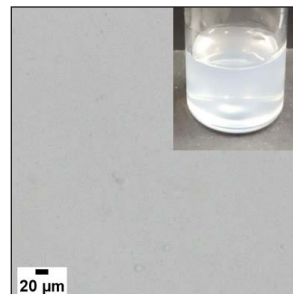


FIGURA 3. Imatge de l'aparença macroscòpica (cantonada superior dreta) i microscòpica de l'hidrogel de Methocel™ K4M enriquit amb nanovesícules DELOS. Elaboració pròpia.

Integritat de les nanovesícules DELOS en ser gelificades

Val la pena assenyalar que el procés de gelificació canvia les característiques del medi de les nanovesícules (és a dir, la viscositat), de manera que la integritat de les vesícules durant i després del procés es podria veure compromesa. Per estudiar si les característiques de les nanovesícules es conserven un cop són al gel, es van integrar fluoròfors en les nanovesícules DELOS, una estratègia que ha estat àmpliament estudiada per la professora Nora Ventosa i per col·laboradors i que ha donat resultats molt prometedors [15]. Concretament, aquesta nanoformulació està basada en vesícules amb els fluoròfors perclorat d'1,1'-dioctadecil-3,3',3'-tetrametil-indocarbocianina

(DiI) i perclorat d'1,1'-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametil-indodi-carbocianina (DiD) [16] (vegeu la figura 4a).

És important destacar que els fluoròfors DiI i DiD són coneguts com a parella de transferència d'energia per ressonància de fluorescència (FRET, *fluorescence resonance energy transfer*) [17-19]. Aquest fenomen permet avaluar interaccions moleculars, ja que quan aquests fluoròfors són a prop (< 10 nm) experimenten transferència d'energia d'un fluoròfor a l'altre, la qual cosa proporciona informació sobre la distància entre tots dos. D'altra banda, si les nanovesícules es dissocien o es descomponen, la fluorescència d'emissió de FRET s'esvaeix (vegeu la figura 4b). Per tant, la tècnica de FRET és una eina molt útil per determinar l'estabilitat i la integritat de les nanovesícules [20].

A més a més, és important destacar que el DiI i el DiD són molècules amfipàtiques; per tant, la seva incorporació a la membrana de les nanovesícules DELOS és impulsada per interaccions hidrofòbiques i la seva fuita un cop atrapada a la membrana és insignificant [15, 21]. Així doncs, un cop preparades les nanovesícules DELOS carregades amb el DiI i el DiD (nanovesícules DiI/DiD-DELOS), les quals presentaven propie-

tats fisicoquímiques favorables, es van gelificar amb Methocel™ K4M al 2% p/p per avaluar l'estabilitat i la integritat de les nanovesícules mitjançant l'emissió de fluorescència del parell de fluoròfors.

En primer lloc, es van registrar espectres d'absorció de les nanovesícules carregades simultàniament amb el DiI i el DiD en ambdues condicions, en dispersió líquida i en gel (vegeu la figura 5a). Els espectres d'absorció van revelar que les nanovesícules DiI/DiD-DELOS, sigui en dispersió líquida o en gel, mantenen les dues molècules DiI i DiD a la nanoestructura de les nanovesícules, ja que no s'observa cap canvi en les bandes d'absorció principals (Abs. (DiI) = 551 nm i Abs. (DiD) = 650 nm).

Ahora, es va calcular l'eficiència de FRET entre el DiI i el DiD, com a donador i acceptor respectivament, mitjançant espectroscòpia de fluorescència d'excitació i emissió. Comparant els grups gelificats i no gelificats es va observar similitud en els espectres d'excitació dels fluoròfors entre els grups (vegeu la figura 5b). Més important encara, els espectres d'excitació també van indicar la presència de fenòmens de FRET, ja que el DiI (donador) s'excita quan es prova l'emissió del DiD (acceptor) a una longitud d'ona d'emissió de 710 nm (vegeu,

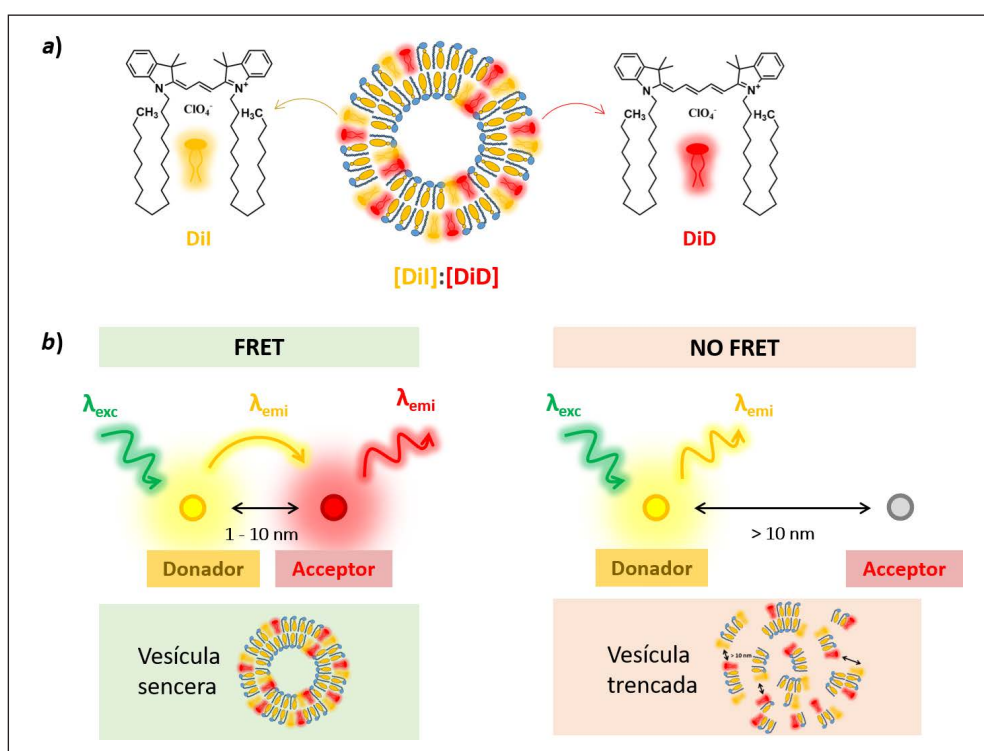


FIGURA 4. a) Imatge representativa de les nanovesícules DELOS amb els fluoròfors DiI i DiD incorporats a la membrana i b) esquema representatiu del fenomen FRET quan els dos fluoròfors són a prop (vesícula sencera) o lluny (vesícula trencada). Elaboració pròpia.

a la figura 5b, la banda d'excitació destacada en gris). De fet, l'eficiència de FRET es va estimar mitjançant l'enfocament ratiomètric a partir d'espectres d'emissió fent servir una longitud d'ona d'excitació de 490 nm i utilitzant l'equació següent (equació 1) [22]:

$$\text{Eficiència de FRET} = \frac{\text{Intensitat DiD}}{\text{Intensitat DiI} + \text{Intensitat DiD}} \quad \text{Equació 1}$$

(E_{FRET} , %)

Van aparèixer dues bandes d'emissió a ~569 i ~673 nm, corresponents a l'emissió del DiI i del DiD, respectivament, la qual cosa indica de nou que ambdós fluoròfors estan atrapats de manera estable a la membrana de la nanovesícula, indistintament del seu medi. L'estimació de l'eficiència de FRET a les nanovesícules DiI/DiD-DELOS no gelificades i gelificades va donar lloc a valors similars de pràcticament el 70% (vegeu la figura 5c).

Finalment, es va observar la morfologia dels hidrogels basats en nanovesícules DiI/DiD-DELOS mitjançant la tècnica de microscòpia electrònica de transmissió criogènica (crio-TEM). Tal com s'observa a la figura 6, aquesta anàlisi indica que la morfologia d'aquestes nanovesícules DELOS no es va alterar

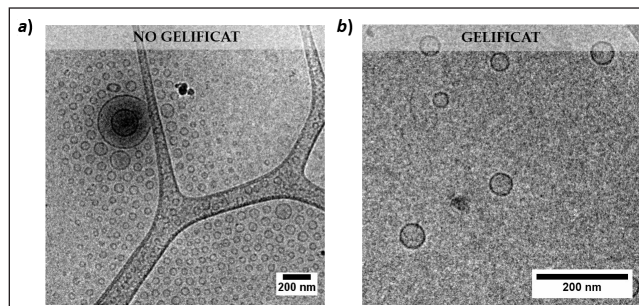


FIGURA 6. Imatges crio-TEM de nanovesícules DiI/DiD-DELOS a) no gelificades i b) gelificades. Elaboració pròpia.

quan es van gelificar amb Methocel™ K4M al 2% p/p, la qual cosa suggereix novament la seva estabilitat a l'hidrogel.

Avaluant tots els resultats obtinguts fins al moment, és evident que el gelificant Methocel™ K4M al 2% p/p no afecta l'estructura de les nanovesícules DELOS i, per tant, es manté la integritat de les membranes vesiculars. A més, val la pena esmentar que tots aquests resultats experimentals van més enllà de la literatura extensa, la qual cosa és una troballa important per entendre el comportament d'aquestes nanoestructures.

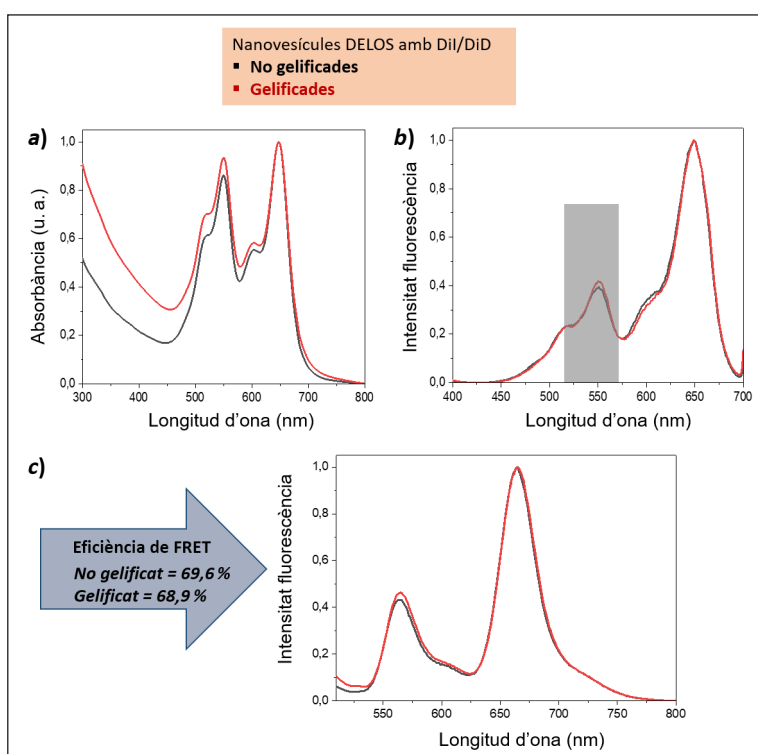


FIGURA 5. Espectres a) d'absorció i b) d'excitació de nanovesícules DiI/DiD-DELOS gelificades i no gelificades; c) espectres d'emissió de nanovesícules DiI/DiD-DELOS gelificades i no gelificades amb el seu valor d'eficiència de FRET. Elaboració pròpia.

Activitat específica *in vitro* de la biomolècula rhEGF quan està integrada en nanovesícules DELOS gelificades

Com s'ha comentat a la introducció, la producció de nanoconjugats basats en la integració de l'rhEGF en nanovesícules DELOS (nanovesícules rhEGF-DELOS) ha demostrat potencialitat per al tractament tòpic de ferides complexes i ha aconseguit dispersions líquides ben tolerades per aquesta via [8, 9]. Així doncs, per aconseguir una nova forma d'administració en format semisòlid, les nanovesícules rhEGF-DELOS es van gelificar amb èxit amb un 2% p/p de Methocel™ K4M. L'hidrogel obtingut va presentar propietats coherents en comparació amb l'hidrogel descrit anteriorment mitjançant la mateixa nanoformulació però sense la biomolècula (vegeu la figura 7a).

Per tal d'estudiar l'impacte de la gelificació en la bioactivitat específica de l'rhEGF, es van realitzar mesures *in vitro* comparant l'rhEGF lliure i l'integrat en nanovesícules DELOS tant en dispersió líquida com gelificada. D'una banda, tal com s'observa a la figura 7b, l'rhEGF lliure en el medi dispersant i la seva formulació en hidrogel no mostren diferències estadísticament significatives i, per tant, l'activitat biològica de la proteïna quan és gelificada es conserva.

Tanmateix, la bioactivitat específica de les nanovesícules rhEGF-DELOS en suspensió líquida i en hidrogel va augmentar

en comparació amb la de l'rhEGF lliure en medi dispersant i en forma d'hidrogel. Aquests resultats estan d'acord amb les nanovesícules rhEGF-DELOS descrites anteriorment, on es va obtenir una activitat de proliferació cel·lular més alta que amb l'rhEGF lliure a la mateixa concentració [8].

D'altra banda, la bioactivitat específica de l'hidrogel basat en nanovesícules rhEGF-DELOS va augmentar de manera estadísticament significativa en comparació amb les mateixes nanovesícules rhEGF-DELOS en suspensió líquida (vegeu la figura 7b). Una raó plausible per a l'augment de la bioactivitat específica de les nanovesícules de DELOS amb rhEGF gelificades en comparació amb la solució aquosa podria ser un augment de l'estabilitat de la unió de l'rhEGF a la superfície de les nanovesícules en presència de Methocel™ K4M.

Conclusions

Tal com s'ha exposat, aquest estudi ha avaluat la idoneïtat i la viabilitat de la transformació de la dispersió líquida de nanovesícules DELOS en hidrogel. Durant el desenvolupament d'aquesta nova forma d'administració de les vesícules DELOS, s'han aconseguit gelificar per primera vegada afegint un 2% p/p de Methocel™ K4M, i s'han obtingut hidrogels que incorporen nanovesícules DELOS amb bon aspecte macroscòpic i amb propietats reològiques adequades per a l'ús previst.

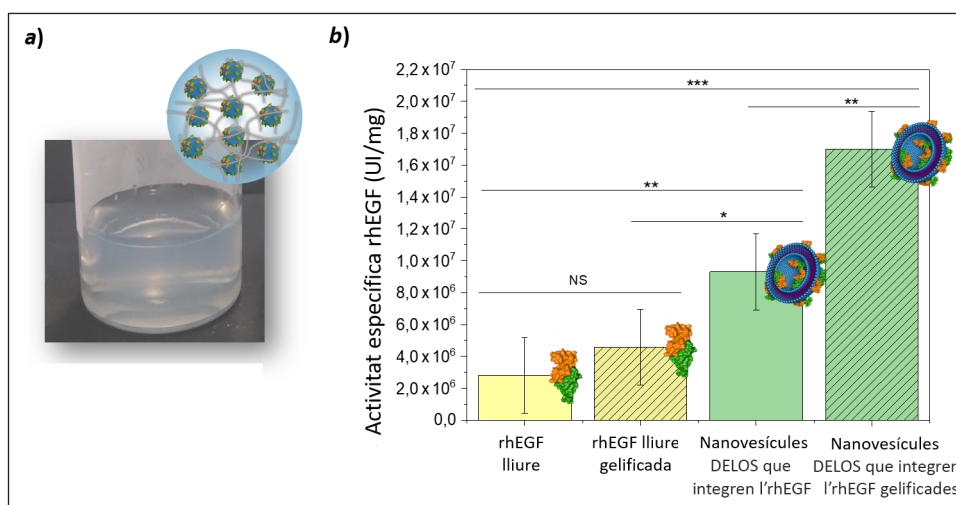


FIGURA 7. a) Imatge macroscòpica de l'hidrogel basat en nanovesícules DELOS que integren l'rhEGF; b) Activitat biològica específica *in vitro* de nanovesícules lliures d'rhEGF i rhEGF-DELOS en un assaig de proliferació cel·lular a la línia cel·lular de fibroblasts murins 3T3 A431. Les anàlisis estadístiques es van fer mitjançant una ANOVA unidireccional seguida de la comparació per parelles de Tukey (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ i NS: diferències no significatives). Elaboració pròpia.

A més, s'ha demostrat la integritat d'aquestes vesícules en ser gelificades mitjançant mesures de fluorescència de FRET i mitjançant imatges crio-TEM, de manera que han mantingut l'estabilitat en forma semisòlida, la qual cosa és un factor rellevant no considerat àmpliament en la literatura. També s'ha demostrat que l'hidrogel de Methocel™ K4M basat en nanovesícules DELOS és un sistema prometedor per al tractament de ferides complexes. De fet, la bioactivitat específica de l'rhEGF ha augmentat considerablement quan està integrat en nanovesícules DELOS i gelificat alhora, probablement a causa de l'estabilització de la unió de l'rhEGF a la superfície de les nanovesícules en presència del Methocel™ K4M.

Agraïments

Volem agrair a l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i Recerca (AGAUR) de la Generalitat de Catalunya el suport financer concedit a través de l'ajuda del Programa de Doctorat Industrial (2018 DI 057).

Aquest treball també ha estat cofinançat pel Fons Europeu de Desenvolupament Regional de la Unió Europea en el marc del Programa Operatiu FEDER a Catalunya 2014-2020 per al projecte específic NANONAFRES (COMRD15-1-0023). Agraïm al Ministeri de Ciència i Innovació d'Espanya (MICINN) el finançament del projecte MOL4BIO mitjançant la subvenció núm. PID2019-105622RB-I00. Aquest projecte ha rebut finançament del programa de recerca i innovació «Horizon 2020» de la Unió Europea en virtut del conveni de subvenció núm. 953110. Els membres de l'ICMAB-CSIC agraeixen el suport ofert pel Ministeri d'Economia i Empresa d'Espanya (MINECO) a través del Programa Severo Ochoa per a Centres d'Excel·lència en R+D (SEV-2015-0496 i CEX2019-000917-S) i a través del Programa Estatal d'R+D+I (2016) Orientat als Reptes de la Societat, modalitat «RETOS - Colaboración 2016» i cofinançat amb fons FEDER de la Comissió Europea (subvenció núm. RTC-2016-4567-1, Nano4Derm). Els membres de l'ICMAB-CSIC també agraeixen a l'agència AGAUR de la Generalitat de Catalunya el seu suport a través de la subvenció núm. 2017-SGR-918. La producció de nanovesícules DELOS i la seva caracterització fisicoquímica va ser realitzada a la infraestructura científica i tècnica singular (ICTS) NANBIOSIS, més concretament, a la Unitat de Processament i Nanoestructuració de Biomaterials (U6), Unitat del CIBER en Bioenginyeria, Biomaterials i Nanomedicina (CIBER-BBN), ubicada a

l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC). Aquest treball s'ha fet en el marc del doctorat de la Lidia Ballell-Hosa en ciència dels materials a la Universitat Autònoma de Barcelona.

Referències i altres fonts

- [1] TRAN, S.; DEGIOVANNI, P.-J.; PIEL, B.; RAI, P. «Cancer nanomedicine: A review of recent success in drug delivery». *Clin. Transl. Med.*, 6 (1) (2017), article e44.
- [2] VERMA, P.; THAKUR, A. S.; DESHMUKH, K.; JHA, A. K.; VERMA, S. «Routes of drug administration». *Int. J. Pharm. Stud. Res.*, 1 (1) (2010), p. 54-59. E-ISSN 2229-4619.
- [3] TADWEE, I. K.; GORE, S.; GIRADKAR, P. «Advances in topical drug delivery system: A review». *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.*, 1 (1) (2011), p. 14-23.
- [4] BHOWMIK, D.; GOPINATH, H.; PRAGATI KUMAR, B.; DURAIVEL, S.; SAMPATH KUMAR, K. P. «Recent advances in novel topical drug delivery system». *Pharma Innov.*, 1 (9) (2012), p. 12-31.
- [5] GRIMALDI, N.; ANDRADE, F.; SEGOVIA, N.; FERRER-TASIES, L.; SALA, S.; VECIANA, J.; VENTOSA, N. «Lipid-based nanovesicles for nanomedicine». *Chem. Soc. Rev.*, 45 (23) (2016), p. 6520-6545.
- [6] CABRERA, I.; ELIZONDO, E.; ESTEBAN, O.; CORCHERO, J. L.; MELGAREJO, M.; PULIDO, D.; CÓRDOBA, A.; MORENO, E.; UNZUETA, U.; VAZQUEZ, E.; ABASOLO, I.; SCHWARTZ, S.; VILLAVERDE, A.; ALBERICIO, F.; ROYO, M.; GARCÍA-PARAJÓ, M. F.; VENTOSA, N.; VECIANA, J. «Multifunctional nanovesicle-bioactive conjugates prepared by a one-step scalable method using CO₂-expanded solvents». *Nano Lett.*, 13 (8) (2013), p. 3766-3774.
- [7] MERLO-MAS, J.; TOMSEN-MELERO, J.; CORCHERO, J.-L.; GONZÁLEZ-MIRA, E.; FONT, A.; PEDERSEN, J. N.; GARCÍA-ARANDA, N.; CRISTÓBAL-LECINA, E.; ALCAINA-HERNANDO, M.; MENDOZA, R.; GARCIA-FRUITÓS, E.; LIZARRAGA, T.; RESCH, S.; SCHIMPEL, C.; FALK, A.; PULIDO, D.; ROYO, M.; SCHWARTZ, S.; ABASOLO, I.; PEDERSEN, J. S.; DANINO, D.; SOLDEVILA, A.; VECIANA, J.; SALA, S.; VENTOSA, N.; CÓRDOBA, A. «Application of Quality by Design to the robust preparation of a liposomal GLA formulation by DELOS-susp method». *J. Supercrit. Fluids*, 173 (2021), article 105204.
- [8] FERRER-TASIES, L.; SANTANA, H.; CABRERA-PUIG, I.; GONZÁLEZ-MIRA, E.; BALLELL-HOSA, L.; CASTELLAR-ÁLVAREZ, C.; CÓRDOBA, A.; MERLO-MAS, J.; GERÓNIMO, H.; CHINEA, G.; FALCÓN, V.; MORENO-CALVO, E.; PEDERSEN, J. S.; ROMERO, J.; NAVARRO-REQUENA, C.; VALDÉS, C.; LIMONTA, M.; BERLANGA, J.; SALA, S.; MARTÍNEZ, E.; VECIANA, J.; VENTOSA, N. «Recombinant human epidermal growth factor/Quatsome nanoconju-

gates: A robust topical delivery system for complex wound healing». *Adv. Ther.*, 4 (6) (2021), article 2000260.

[9] FERRER-TASIES, L.; MORENO-CALVO, E.; CANO-SARABIA, M.; AGUILLELLA-ARZO, M.; ANGELOVA, A.; LESIEUR, S.; RICART, S.; FARAUDO, J.; VENTOSA, N.; VECIANA, J. «Quatsomes: Vesicles formed by self-assembly of sterols and quaternary ammonium surfactants». *Langmuir*, 29 (22) (2013), p. 6519–6528.

[10] XU, Z.; HAN, S.; GU, Z.; WU, J. «Advances and impact of antioxidant hydrogel in chronic wound healing». *Adv. Healthc. Mater.*, 9 (5) (2020), article 1901502.

[11] CHEN, G.; YU, Y.; WU, X.; WANG, G.; REN, J.; ZHAO, Y. «Bioinspired multifunctional hybrid hydrogel promotes wound healing». *Adv. Funct. Mater.*, 28 (33) (2018), article 1801386.

[12] PRAMANICK, S.; SINGODIA, D.; CHANDEL, V. «Excipient selection in parenteral formulation development». *Pharma Times*, 45 (3) (2013), p. 65–77.

[13] PATEL, N. A.; PATEL, N. J.; PATEL, R. P. «Design and evaluation of transdermal drug delivery system for curcumin as an anti-inflammatory drug». *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 35 (2) (2009), p. 234–242.

[14] LAFFLEUR, F.; STRASDAT, B. «Gelatin-based formulations for dermal application». *Eur. Polym. J.*, 118 (2019), p. 542–550.

[15] ARDIZZONE, A.; KURHUZENKAU, S.; ILLA-TUSET, S.; FARAUDO, J.; BONDAR, M.; HAGAN, D.; STRYLAND, E. W. van; PAINELLI, A.; SISSA, C.; FEINER, N.; ALBERTAZZI, L.; VECIANA, J.; VENTOSA, N. «Nanostructuring lipophilic dyes in water using stable vesicles, Quatsomes, as

scaffolds and their use as probes for bioimaging». *Small*, 14 (16) (2018), article 1703851.

[16] MORLA-FOLCH, J.; VARGAS-NADAL, G.; ZHAO, T.; SISSA, C.; ARDIZZONE, A.; KURHUZENKAU, S.; KÖBER, M.; UDDIN, M.; PAINELLI, A.; VECIANA, J.; BELFIELD, K. D.; VENTOSA, N. «Dye-loaded quatsomes exhibiting FRET as nanoprobe for bioimaging». *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 12 (18) (2020), p. 20253–20262.

[17] ZHANG, X.; LIU, R.; DAI, Z. «Multicolor nanobubbles for FRET/ultrasound dual-modal contrast imaging». *Nanoscale*, 10 (43) (2018), p. 20347–20353.

[18] KIM, K. T.; MOON, Y.; JANG, Y.; LEE, K. T.; LEE, C.; JUN, Y.; LEE, S. «Molecular mechanisms of atlastin-mediated ER membrane fusion revealed by a FRET-based single-vesicle fusion assay». *Sci. Rep.*, 7 (2017), article 8700.

[19] GRAVIER, J.; SANCEY, L.; HIRSIJÄRVI, S.; RUSTIQUE, E.; PASSIRANI, C.; BENOÎT, J.-P.; COLL, J.-L.; TEXIER, I. «FRET imaging approaches for *in vitro* and *in vivo* characterization of synthetic lipid nanoparticles». *Mol. Pharm.*, 11 (9) (2014), p. 3133–3144.

[20] SUN, X.; WANG, G.; ZHANG, H.; HU, S.; LIU, X.; TANG, J.; SHEN, Y. «The blood clearance kinetics and pathway of polymeric micelles in cancer drug delivery». *ACS Nano*, 12 (6) (2018), p. 6179–6192.

[21] ILLA-TUSET, S. *Molecular modelling of quatsome nanovesicles*. Tesi doctoral. Bellaterra: Universitat Autònoma de Barcelona, 2019.

[22] LAKOWICZ, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 2a ed. Nova York: Springer, 1999.



L. Ballell-Hosa



E. González-Mira



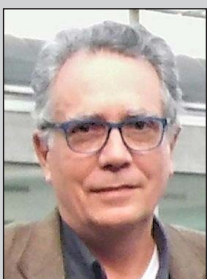
H. Santana



J. Morla-Folch



Y. Martínez-Prieto



J. Veciana



S. Sala



L. Ferrer-Tasies



N. Ventosa

Lídia Ballell-Hosa és graduada en nanociència i nanotecnologia per la Universitat Autònoma de Barcelona (2017) i té el Màster en Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments per la Universitat de Barcelona (2018). Actualment està realitzant el doctorat industrial entre el grup NANOMOL de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC) i l'empresa Nanomol Technologies, SL, sota la supervisió de la doctora Nora Ventosa i la doctora Lidia Ferrer. La seva recerca es basa principalment en l'estudi de nous sistemes nanovesiculars per a aplicacions farmacològiques.

Elisabet González Mira és investigadora de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC). Té una formació extensa en el camp de les ciències farmacèutiques: Màster Experimental en Ciències Farmacèutiques (2004), Màster en Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments (2007) i doctorat en farmàcia per la Universitat de Barcelona (2011). Actualment participa activament en el desenvolupament de noves teràpies farmacològiques basades en el disseny precís de nous sistemes nanoestructurats que integren principalment biomolècules, utilitzant fluids comprimits per a la seva preparació, per portar-los a assaigs clínics de fase I/II.

Héctor Santana és llicenciat en enginyeria física (1990) per la Universitat de l'Havana, i té el Màster en Ciències i Tecnologies Farmacèutiques (2006) i es va doctorar en ciències farmacèutiques (2016) a la mateixa universitat. Des del 1991 treballa al Centre d'Enginyeria Genètica i Biotecnologia. Va treballar en biotecnologia durant més de deu anys en diferents estadis de tècniques de producció de proteïnes recombinants. Al mateix temps va treballar en el desenvolupament de tècniques de bioquímica analítica per a l'anàlisi de proteïnes. També va dedicar més de deu anys d'experiència al desenvolupament de noves formulacions de proteïnes recombinants i pèptids sintètics, així com als estudis d'autoassemblatge i caracterització d'aquestes molècules. A més, també va treballar en l'estudi de noves nanomedicines fins a les etapes finals del seu desenvolupament. És autor de més de trenta publicacions en revistes internacionals i de cinc patents internacionals.

Judit Morla-Folch és investigadora postdoctoral a l'Hospital Mount Sinai (Laboratori de Nanomedicina), on treballa en el desenvolupament i la caracterització de noves nanoimmunoteràpies. Abans d'incorporar-se a Mount Sinai, es va formar com a investigadora postdoctoral a l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC) i al New Jersey Institute of Technology (NJIT), treballant en el desenvolupament de nanopartícules fluorescents per a bioimatge i teragnòstic. La seva investigació actual al Laboratori de Nanomedicina se centra en la lluita contra el càncer mitjançant radioteràpies fotodinàmiques i dirigides combinades amb immunoteràpies.

Yaima Martínez-Prieto és tècnica de grau mitjà en farmàcia industrial (2000). Des de l'any 2000 treballa al Centre d'Enginyeria Genètica i Biotecnologia com a analista del Departament de Control de Qualitat en assaigs basats en cèl·lules. Ha dedicat més de vint anys d'experiència a treballar en assajos d'alliberament i estudis de validació d'assaigs, així com en el desenvolupament de nous assaigs per a nous productes. És autora de nombroses publicacions, èxits científicotècnics, presentacions i llicències de productes farmacèutics.

Jaume Veciana és professor d'investigació emèrit de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC) i director científic de la infraestructura científica i tècnica singular (ICTS) NANBIOSIS. Els seus interessos científics tracten sobre nanociència molecular i nanomedicina. És coautor de més de cinc-cents articles científics i inventor de setze patents. Ha rebut el Premi Solvay, el de la Real Sociedad Española de Química (RSEQ) per les seves contribucions a la química i el Premi DuPont per les seves contribucions a la nanociència molecular.

Santi Sala és doctor en ciències químiques per la Universitat Autònoma de Barcelona. Compta amb deu anys d'experiència com a investigador per al Centro de Investigación Biomédica en Red - Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) en recerca en nanomedicina i sistemes d'alliberament de medicaments, i amb deu anys més com a gestor tecnològic en el grup de recerca Nanomol de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC), on havia realitzat la tesi doctoral. Des del 2010 és cofundador de l'empresa derivada Nanomol Technologies, SL, i des del 2017 n'és el director general, ja amb plena dedicació. És un científic emprenedor que actualment lidera un equip altament qualificat de catorze persones enfocat a crear valor a través de la innovació i de serveis tecnològics avançats per tal de poder unir la ciència als reptes de la societat i la indústria farmacèutica.

Lidia Ferrer-Tasies és la directora d'R+D de Nanomol Technologies, SL. És doctora en química per la Universitat Autònoma de Barcelona (2016) i actualment és la cap de desenvolupament farmacèutic i analític de Nanomol Technologies, SL. Té més de dotze anys d'experiència en recerca i desenvolupament en materials nanoestructurats per a aplicacions biomèdiques, i és responsable del disseny, seguiment i avaluació d'activitats experimentals en projectes i contractes d'R+D, amb l'objectiu de desenvolupar nous nanomedicaments i reformulacions d'ingredients actius.

Nora Ventosa és professora d'investigació de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC) i líder del grup NANOMOL adscrit al Centro de Investigación Biomédica en Red - Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), amb reconeixement TECNIO atorgat per ACCIÓ - Agència per la Competitivitat de l'Empresa. La seva recerca està centrada en la química supramolecular i en el desenvolupament de processos sostenibles per a l'obtenció de nous materials moleculars per a aplicacions biomèdiques. És cofundadora de l'empresa derivada Nanomol Technologies, SL, i actualment exerceix de consellera científica d'aquesta empresa. És membre numerària de l'Institut d'Estudis Catalans.

Autenticació de cafès mitjançant mètodes de GC-MS i quimiometria. Aplicació a la detecció i quantificació de mostres de cafè adulterades *Coffee authentication using GC-MS and chemometric methods. Application to the detection and quantitation of adulterated coffee samples*

Nerea Núñez,¹ Erica Moret,² Paolo Lucci,² Javier Saurina^{1,3} i Oscar Núñez^{1,3}

¹ Universitat de Barcelona. Facultat de Química. Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica

² Universitat d'Udine. Departament de Ciències Agroalimentàries, Animals i Ambientals

³ Universitat de Barcelona. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària

Resum: En les últimes dècades, tenint en compte la complexitat de la cadena alimentària, l'adulteració dels aliments va en augment i dona lloc a casos de frau alimentari. És per això que la determinació de l'autenticitat dels aliments és una qüestió molt important en el control de qualitat i en la seguretat dels aliments, i emergeix d'aquesta manera com un assumpte de gran interès pels consumidors, la indústria alimentària, les autoritats reguladores i la comunitat científica en general. En aquest camp, les begudes són productes alimentaris fàcilment adulterables a través de pràctiques com la suplementació amb sabors i aromes o l'addició de substàncies no especificades per augmentar-ne el volum, entre altres pràctiques. En aquest context, l'estudi desenvolupat en aquest treball es basa en la detecció de frau en una de les begudes més populars del món: el cafè, un producte fàcilment manipulable. S'han realitzat estudis metabolòmics dels compostos volàtils en mostres de cafès (normals i adulterats) de diferents espècies (*arabica*, *robusta*, mescla *arabica-robusta*), mitjançant la cromatografia de gasos (amb columna polar) acoblada a l'espectrometria de masses (GC-MS) i en combinació amb els mètodes quimiomètrics d'anàlisi discriminant de mínims quadrats parcials (PLS-DA) i de regressió de mínims quadrats parcials (PLS), per fer-ne la classificació, caracterització i autenticació. Els compostos volàtils de les mostres s'han obtingut directament a partir del cafè sòlid fent ús d'una microextracció en fase sòlida d'espai de cap (HS-SPME). Les empremtes obtingudes (*fingerprinting*) han estat bons descriptors químics per a la classificació de les diferents mostres de cafè mitjançant el mètode quimiomètric de PLS-DA. A més, s'ha realitzat un estudi de cafè adulterat fent ús del PLS, basat en cafè *arabica* adulterat amb cafè *robusta*, que ha demostrat la bona capacitat de la metodologia proposada per a la detecció i quantificació de nivells d'adulterant fins al 15% amb errors de calibratge i predicció per sota de l'1% i el 6%, respectivament.

Paraules clau: empremta per GC-MS, anàlisi no dirigida, cafè, autenticació alimentària.

Abstract: Food adulteration has been increasing in recent decades as a result of the complexity of the food chain, leading to cases of food fraud. It is for this reason that the verification of the authenticity of food is very important in quality control and food safety in addition to being an issue of great interest to consumers, the food industry, regulatory authorities and the scientific community in general. In this field, beverages are food products which are easily adulterated by such methods as supplementation with flavors and aromas or the addition of unspecified substances to increase their volume, among other practices. The study presented in this paper was based on the detection of frauds in one of the world's most popular drinks, coffee, which is an easily manipulated product. Metabolomic studies of volatile compounds in coffee samples (normal and adulterated) of different species (*Arabica*, *Robusta*, *Arabica-Robusta* mixture) were performed using gas chromatography (with polar column) coupled to mass spectrometry (GC-MS) and in combination with the chemometric methods partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) and partial least squares (PLS) regression, for classification, characterization and authentication. The volatile compounds in the samples were obtained directly from the solid coffee using headspace-solid phase microextraction (HS-SPME). The fingerprints obtained were good chemical descriptors for the classification of different coffee samples using the PLS-DA chemometric method. In addition, a study of adulterated coffee was performed using PLS, based on *Arabica* coffee adulterated with *Robusta* coffee, which demonstrated the good ability of the proposed methodology for the detection and quantification of adulterant levels up to 15%, with calibration and prediction errors under 1% and 6%, respectively.

Keywords: GC-MS fingerprinting, non-targeted analysis, coffee, food authentication.

Introducció

La qualitat dels productes naturals és un tema de gran interès per als fabricants d'aliments, els investigadors, els governs i la societat en general.

Els productes alimentaris són mesclades molt complexes constituïdes per una gran varietat de compostos naturals, a més de les substàncies procedents dels seus tractaments o inclús dels seus envasos, la qual cosa fa que la qualitat d'aquests productes sigui important tant en l'àmbit nutricional com en el de la seguretat alimentària.

El control de qualitat dels aliments té com a objectiu protegir el consumidor i garantir que tots els productes alimentaris durant la seva producció, emmagatzemament, processament i distribució siguin saludables i aptes per al consum humà, compleixin amb els requisits de seguretat i qualitat i s'etiquetin objectivament d'acord amb les disposicions de la legislació.

Tenint en compte la complexitat de la cadena alimentària i la participació de diversos factors tant en la producció com en el consum d'aliments, les pràctiques de manipulació i adulteració dels aliments estan augmentant i donen lloc a casos de frauds alimentaris realitzats per productors d'aliments, fabricants, distribuïdors o minoristes amb la finalitat d'aconseguir un guany econòmic de manera ràpida i senzilla.

En aquest sector, el frau es defineix com una forma d'engany conscient sobre la qualitat d'un producte alimentari amb ànim de lucre, i es defineix l'adulteració com la substitució parcial d'aliments de certa qualitat per altres de semblants però de menor qualitat i preu.

L'adulteració i la manipulació d'aliments per enganyar els consumidors finals és il·legal a tot el món i no només té conseqüències econòmiques, sinó que també comporta problemes de salut importants a la població, ja que només el manipulador de l'aliment sap com aquest ha estat modificat i és, per tant, l'únic amb la informació, però no necessàriament l'experiència, per avaluar si aquesta manipulació planteja algun risc toxicològic o higiènic per al comprador o el consumidor, sobretot quan s'agreguen substàncies prohibides al producte.

Per aquesta raó, garantir l'autenticitat dels aliments és un tema molt important en el control de la qualitat i en la seguretat alimentària, ja que es tracta d'un criteri de qualitat i seguretat per als mateixos aliments [1-4].

En aquest camp, les begudes són productes alimentaris que es poden adulterar molt fàcilment mitjançant pràctiques que inclouen l'etiquetatge incorrecte, la suplementació amb sabors o aromes, i l'addició de substàncies no especificades per augmentar-ne el volum, entre altres pràctiques. Les begudes amb taxes d'adulteració més elevades són: suc de fruites, cafè, te, vi i altres begudes alcohòliques [4]. L'estudi desenvolupat en aquest treball se centra en el camp de la detecció de frauds en una beguda molt popular i fàcilment adulterable: el cafè.

El cafè és una infusió de grans molts i torrats de la planta del cafè, amb un gust i una aroma característics. El cafè és una de les begudes més populars a tot el món i és consumida per milions de persones cada dia, fins al punt que ocupa la segona posició dels productes bàsics més comercialitzats. La planta del cafè es classifica com a *Coffea* i pertany a la família *Rubiaceae*, amb més de setanta varietats, tot i que la majoria del cafè consumit és produït per les espècies *Coffea arabica* (varietat *arabica*) i *Coffea canephora* (varietat *robusta*). La varietat *arabica* és la més apreciada pels consumidors i fins i tot considerada millor que la varietat *robusta* per les seves altes propietats sensorials. Per aquest motiu, el cafè *arabica* sol tenir un preu més elevat en el mercat internacional [5, 6].

El cafè és conegut com un estimulants, propietat associada principalment a alcaloides com la cafeïna, a la qual s'han atribuït durant anys els efectes beneficiosos del cafè. Actualment, se sap que aquest producte també conté un gran nombre de substàncies bioactives que contribueixen a fer encara més valuoses les seves propietats, dotant-lo d'una important activitat antioxidant, reconeguda pels seus efectes beneficiosos per a la salut. És per això que el cafè està classificat com a beguda funcional, ja que alguns estudis relacionen la seva ingesta amb la disminució del desenvolupament d'algunes malalties greus com ara la diabetis tipus II, la cirrosi hepàtica, el càncer i algunes malalties cardiovasculars. El cafè és ric en substàncies antioxidants com els àcids fenòlics i polifenols (hi són especialment abundants els àcids el·làgic, cafeic i clorogènic). El contingut d'aquestes substàncies i, en conseqüència, les característiques antioxidants del cafè poden variar en funció de factors com la varietat, l'origen, el

grau de torrefacció i les condicions climàtiques, entre altres [5-7].

Aquest treball se centra en la temàtica de la detecció de fraus. S'ha desenvolupat un mètode no dirigit de cromatografia de gasos amb detecció per espectrometria de masses (GC-MS, *gas chromatography coupled to mass spectrometry*) per tal d'aconseguir la caracterització, classificació i autenticació de diferents mostres de cafè segons la varietat (*arabica/robusta*). Les empremtes obtingudes per GC-MS s'han utilitzat com a descriptors d'informació química per abordar la caracterització i classificació dels cafès analitzats emprant mètodes quimiomètrics: anàlisi discriminant de mínims quadrats parcials (PLS-DA, *partial least squares-discriminant analysis*) i de regressió de mínims quadrats parcials (PLS, *partial least squares*).

Materials i mètodes

Instrumentació

Les empremtes cromatogràfiques es van obtenir amb un instrument de GC-MS d'Agilent Technologies (Santa Clara, Califòrnia, EUA) equipat amb un detector selectiu de masses quadrupolar (model 5977A) i un cromatògraf de gasos (model 7890B) també d'Agilent. Per a la separació cromatogràfica es va fer ús d'una columna polar UF-WAX ms (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm de gruix de la fase estacionària) d'Agilent i heli com a gas portador inert. La temperatura es va mantenir inicialment a 40 °C durant 2 min, després es va elevar a 200 °C a 3 °C/min fins al minut 60; a continuació es va augmentar fins a 250 °C a 10 °C/min fins al minut 70, i, finalment, es va mantenir a 250 °C durant 5 min. Es va fer ús d'una font d'ionització electrònica (EI, *electron ionization*) a 70 eV.

Les temperatures de la font i del quadrupol van ser 230 °C i 150 °C, respectivament. Les dades es van adquirir en mode d'escombratge continu (*full scan*) (*m/z*: 50-650).

Mostres i tractament de mostra

Es van analitzar un total de cinquanta-quatre mostres de diferents espècies de cafè disponibles comercialment (*arabica*, mescla *arabica-robusta* i *robusta*). El tractament de la mostra consistia en una microextracció en fase sòlida d'espai de cap (HS-SPME, *headspace-solid phase microextraction*) fent servir una fibra de divinilbenzè/carboxen/polidimetilsiloxà (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Merck KgaA, Darmstadt, Alemanya). No es va realitzar cap preparació abans de la realització de la microextracció; per tant, es treballava directament a partir del cafè sòlid. Es va fer ús de vials de 20 mL que contenen 0,5 g de mostra. La temperatura d'equilibri de la mostra era de 50 °C i el temps d'agitació emprat va ser de 10 min. Seguidament, els volàtils extrets de la mostra eren introduïts en el cromatògraf mitjançant la desorció de la fibra a 250 °C durant un minut.

També es van utilitzar mostres per a estudis d'adulteració. El cas d'adulteració proposat va ser l'adulteració de cafè *arabica* amb cafè *robusta*. Amb aquest propòsit es van preparar dos conjunts de mostres: un grup per al calibratge (per construir el model de PLS) i un altre de predicció (per validar el model), amb diferents percentatges d'adulteració tal com es descriu a la figura 1.

El conjunt de calibratge incloïa nivells d'adulteració del 20%, 40%, 60% i 80%, així com el 100% de cafès purs de cada classe, i el conjunt de validació incloïa nivells d'adulteració

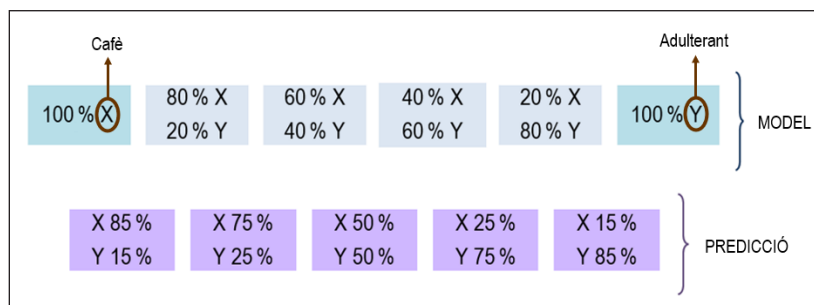


FIGURA 1. Esquema dels diferents percentatges d'adulteració emprats per construir el model i la predicció en l'estudi d'adulteració de cafè, on la X representa el percentatge de cafè (café *arabica*) i la Y representa el percentatge d'adulterant (café *robusta*). Elaboració pròpia.

del 15%, 25%, 50%, 75% i 85%. Cada nivell d'adulteració (vegeu la figura 1) es va preparar per triplicat i es van obtenir un total de trenta-tres mostres per a l'estudi. En altres treballs s'han utilitzat amb èxit dissenys de calibratge similars per predir quantitats d'adulteració [8]. Els nivells d'aquest disseny es van triar perquè fossin realistes des del punt de vista de l'autenticació, ja que percentatges d'adulterants alts solen ser d'interès en pràctiques fraudulentas per obtenir beneficis econòmics més grans.

Anàlisi de dades

Després de preparar les mostres, van ser analitzades aleatòriament amb el mètode de GC-MS proposat. Les dades de les empremtes resultants es van utilitzar com a descriptors químics de les mostres per tal de construir les diferents matrius que van ser sotmeses a l'anàlisi discriminant de mínims quadrats parcials (PLS-DA) i a la regressió de mínims quadrats parcials (PLS) fent ús del programa quimiomètric SOLO 8.6 d'Eigenvector Research (Manson, Washington, EUA, vegeu <http://www.eigenvector.com/software/solo.htm>). Els detalls dels antecedents teòrics d'aquestes metodologies estadístiques s'aborden en altres treballs [9]. Indistintament del mètode quimiomètric emprat, les matrius de dades X consistien en les empremtes cromatogràfiques adquirides pel mètode GC-MS. En canvi, les matrius de dades Y definien cada classe de mostra al PLS-DA, mentre que al PLS definien el percentatge d'adulteració. Les empremtes obtingudes instrumentalment van ser sotmeses a un pretractament de dades d'autoescalat automàtic per tal de donar el mateix pes a cadascuna de les variables suprimint les diferències de magnitud i amplitud en les seves escales. El nombre més adequat de variables latents (LV), en PLS-DA i PLS, es va establir considerant el primer punt mínim significatiu de l'error de validació encreuada (CV, *cross-validation*).

Resultats

Mètode no dirigit per GC-MS

L'objectiu principal d'aquest treball era aconseguir una empremta per GC-MS per a la classificació i autenticació de mostres de cafè. En aquest sentit, es va optimitzar el mètode cromatogràfic per tal d'obtenir empremtes per GC-MS riques

en compostos volàtils. La separació cromatogràfica es va portar a terme fent ús d'una columna polar UF-WAX ms, i utilitzant heli com a gas portador.

Es van seleccionar les condicions de temperatura òptimes del mètode tenint en compte els senyals detectats per a cada tipus de mostra i el temps total d'anàlisi. En total, es van analitzar cinquanta-quatre mostres de cafè disponibles comercialment amb el mètode proposat. En els cromatogrames d'ions totals obtinguts van ser destacables les diferències entre les mostres analitzades tant pel que fa al nombre de compostos detectats com a les seves intensitats, i es van observar també importants diferències pel que fa als temps de retenció dels compostos. A més, com que les empremtes obtingudes eren reproduïbles entre mostres pertanyents a la mateixa classe de cafè, aquestes empremtes van ser proposades i avaluades com a descriptors químics per abordar la classificació i autenticació de les mostres mitjançant mètodes quimiomètrics multivariants.

Classificació de mostres mitjançant PLS-DA

Es van utilitzar empremtes cromatogràfiques obtingudes per GC-MS per abordar la classificació del cafè mitjançant l'ús de PLS-DA. En aquest cas, la classificació es va abordar en funció de la varietat de cafè (*arabica*, *robusta* i mescla *arabica-robusta*). La figura 2 representa el millor gràfic de PLS-DA de

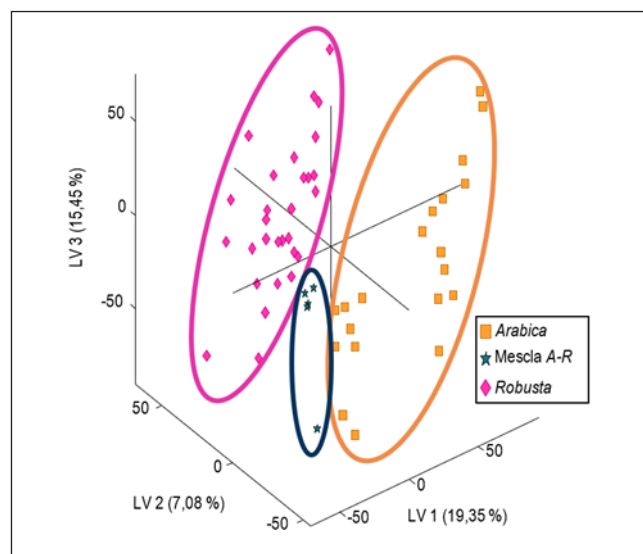


FIGURA 2. Gràfic obtingut mitjançant PLS-DA de scores 3D per classificar les mostres de cafè analitzades en funció de la seva varietat (*arabica*, *robusta*, mescla *arabica-robusta*) creat amb el software SOLO Eigenvector i editat per la Universitat de Barcelona. Elaboració pròpia.

scores (LV1 vs. LV2 vs. LV3) obtingut per a les mostres de cafè analitzades per a la classificació segons la seva varietat.

Pel que fa a la distribució de les mostres en funció de la varietat del cafè, les empremtes obtingudes semblen ser bons descriptors per abordar la classificació de les diferents mostres analitzades, ja que s'obté un bon agrupament entre els cafès de la mateixa varietat. Com es pot veure a la figura 2, les variables latents responsables d'aquesta discriminació entre mostres són LV1, LV2 i LV3. Les mostres 100% *robusta* estan perfectament agrupades i separades de les altres mostres a la zona esquerra del gràfic. A continuació, es distribueixen mostres 100% *arabica* a la zona dreta del gràfic, mentre que les mostres de barreja *arabica-robusta* es troben situades entre mig dels altres dos grups. Aquests resultats demostren que les empremtes obtingudes per GC-MS després d'una extracció mitjançant HS-SPME es poden proposar com a bons descriptors químics per abordar la caracterització i classificació de mostres de cafè segons la varietat de cafè.

Quantificació de cafè adulterat amb PLS

Es va avaluar la capacitat de les empremtes obtingudes pel mètode proposat per quantificar l'extensió de les adulteracions del cafè utilitzant el mètode quimiomètric de PLS. Amb

aquesta finalitat, es va abordar el cas de l'adulteració de cafè *arabica* amb cafè *robusta*. Tal com es descriu a la figura 1, hi havia dos conjunts independents de mostres, un per al calibratge i un per a la validació. La figura 3 mostra la distribució de tots els nivells d'adulteració, tant pel que fa als conjunts de calibratge com de validació, a l'espai de LV1 vs. LV2, així com el model de calibratge multivariant PLS obtingut per al cafè *arabica* adulterat amb cafè *robusta*. La distribució d'aquestes mostres en LV1 i LV2 depèn tant de les característiques cromatogràfiques de les empremtes obtingudes (compostos volàtils detectats) com de les concentracions d'adulterant.

Com es pot veure en el model de PLS-DA obtingut, segons el contingut de cafè *robusta* (adulterant en aquest estudi), les mostres de cafè 100% pur tendeixen a situar-se a les zones oposades del gràfic de scores respecte a LV1; així, les mostres adulterades es distribueixen d'esquerra a dreta segons l'augment del nivell d'adulteració del cafè *robusta*. El nombre òptim de LV deduït de la validació encreuada va ser de 4.

Com es pot observar, en general, es van obtenir també bons resultats quan es va emprar el calibratge multivariant PLS per a la quantificació dels nivells d'adulterants en el cafè i es va obtenir una R^2 d'1 i uns coeficients de calibratge i predicció de 0,06% i 5,156%, respectivament, que mostren el bon rendiment de la metodologia proposada.

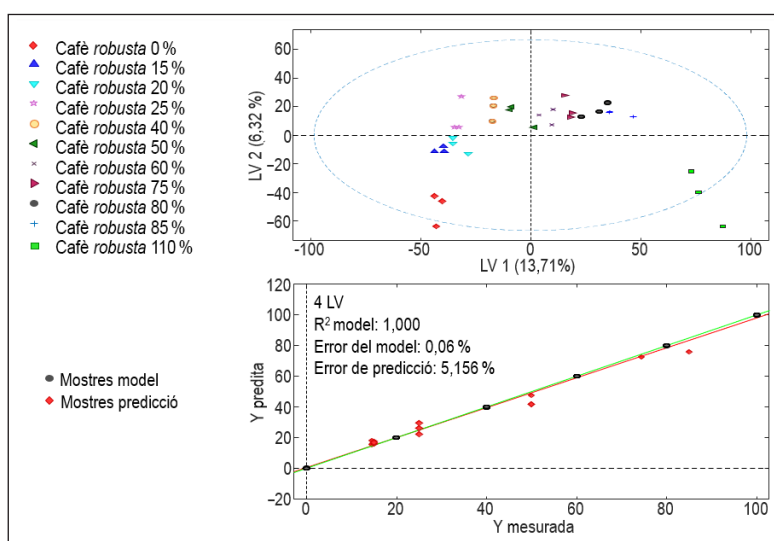


FIGURA 3. Gràfic obtingut mitjançant PLS-DA de scores de LV1 vs. LV2 dels conjunts de calibratge i validació utilitzats, i model de PLS per a la quantificació de cafè *arabica* adulterat amb cafè *robusta* creat amb el software SOLO Eigenvector i editat per la Universitat de Barcelona. El model es va crear amb quatre variables latents. Elaboració pròpia.

Conclusions

En el present treball, s'ha desenvolupat un mètode que permet obtenir empremtes d'HS-SPME-GC-MS que proporcionen descriptors químics de les mostres adequats per a la caracterització, classificació i autenticació de mostres de cafè segons l'espècie (*arabica/robusta*).

L'anàlisi quimiomètrica per PLS-DA utilitzant les empremtes HS-SPME-GC-MS de cafè obtingudes, va mostrar bones capacitats de discriminació entre les diferents varietats de cafè i va fer possible una discriminació perfecta entre les mostres *arabica*, *robusta* i les corresponents a mescles *arabica-robusta*.

La capacitat de la metodologia proposada per detectar i quantificar els fraus del cafè (fins a un 15% de nivell d'adulterant) mitjançant el calibratge multivariant PLS es va avaluar estudiant un cas de cafè *arabica* adulterat amb cafè *robusta*. Es van obtenir errors de calibratge i de predicció molt acceptables, amb valors més baixos de l'1% i del 6%, respectivament.

En conclusió, la metodologia analítica no dirigida HS-SPME-GC-MS proposada en combinació amb mètodes quimiomètrics és una bona estratègia per tal d'autenticar el cafè i de detectar i quantificar fraus en aquest producte, pel que fa a les espècies de cafè utilitzades.

Agraïments

Els autors volem agrair a la Beca d'Estades Montcelimar el finançament econòmic durant la realització d'aquest projecte a la Facultat d'Udine (Itàlia). També volem agrair a la Societat Catalana de Química l'oportunitat que ens ha donat de presentar aquest treball i el premi atorgat en la XII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans.

Referències

- [1] CAMPMAJÓ, G.; NÚÑEZ, N.; NÚÑEZ, O. «The role of liquid chromatography-mass spectrometry in food integrity and authenticity». A: KAMBLE, G. S. (ed.). *Mass spectrometry: Future perceptions and applications*. Londres: IntechOpen, 2019, p. 3-20.
- [2] MOORE, J. C.; SPINK, J.; LIPP, M. «Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010». *J. Food Sci.* [en línia], 77 (4) (2012), p. R118-R126. <<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02657.x>>.
- [3] GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. de la. «Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin». *Trends in Analytical Chemistry* [en línia], 28 (11) (2009), p. 1295-1311. <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.08.001>>.
- [4] KAMILOGLU, S. «Authenticity and traceability in beverages». *Food Chemistry* [en línia], 227 (2019), p. 12-24. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.091>>.
- [5] NARANJO, M.; VÉLEZ, L. T.; ROJANO, B. A. «Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades». *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16 (2) (2011), p. 164-173.
- [6] ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. «Functional properties of coffee and coffee by-products». *Food Research International* [en línia], 46 (2) (2011), p. 488-495. <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>>.
- [7] HERAWATI, D.; GIRIWONO, P. E.; DEWI F. N. A.; KASHIWAGI, T.; ANDARWULAN, N. «Critical roasting level determines bioactive content and antioxidant activity of Robusta coffee beans». *Food Science and Biotechnology* [en línia], 28 (1) (2019), p. 7-14. <<https://doi.org/10.1007/s10068-018-0442-x>>.
- [8] NÚÑEZ, N.; COLLADO, X.; MARTÍNEZ, C.; SAURINA, J.; NÚÑEZ, O. «Authentication of the origin, variety and roasting degree of coffee samples by non-targeted HPLC-UV fingerprinting and chemometrics. Application to the detection and quantitation of adulterated coffee samples». *Foods* [en línia], 9 (3) (2020), article 378. <<https://doi.org/10.3390/foods9030378>>.
- [9] MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, L. M. C.; DE JONG, S.; LEWI, P. J.; SMEYERS-VERBEKE, J. *Handbook of chemometrics and qualimetrics*. Amsterdam: Elsevier, 1997.



N. Núñez



E. Moret



P. Lucci



J. Saurina



O. Núñez

Nerea Núñez és estudiant de doctorat en química analítica i medi ambient al Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica de la Facultat de Química de la Universitat de Barcelona (UB). El 2018 va acabar el grau de química i el 2019, el Màster en Química Analítica a la Facultat de Química de la UB. Ha publicat diversos articles científics i capítols de llibres sobre l'anàlisi d'aliments.

Erica Moret es va llicenciar en ciència i tecnologia dels aliments per la Universitat d'Udine (Itàlia) l'any 2012 i es va doctorar l'any 2015. Des de l'any 2016 treballa al Departament de Ciències Agràries, Alimentàries, Ambientals i Animals en la Secció de Química dels Aliments de la Universitat d'Udine amb el doctor Conte i el doctor Lucci. La seva recerca s'ha centrat principalment en l'oli d'oliva i els seus components (compostos volàtils, components menors, triacilglicerols i àcids grassos), i ha suposat una millora en l'aplicació de tècniques de cromatografia de gasos (GC) i cromatografia de líquids (LC) a altres matrius com sucres i contaminants alimentaris.

Paolo Lucci va obtenir el doctorat l'any 2008 al Departament d'Alimentació, Agroenginyeria, Ciències Físiques, Economia Agrícola i del Territori (SAIFET) de la Universitat Politècnica de les Marques (Itàlia). El febrer del 2009 es va incorporar al Projecte Europeu NASCENT com a investigador experimentat a POLYIntell SAS (França) i el 2010 va estar un any com a investigador experimentat al Departament de Química Analítica de la Universitat de Barcelona dins del Projecte Europeu Carbosorb. L'abril del 2011 es va incorporar a la Facultat de Ciències de la Pontifícia Universitat Javeriana (Colòmbia), on va ser nomenat cap del grup de recerca Aliments, Nutrició i Salut l'any 2012 i cap del Departament de Nutrició i Bioquímica el 2014. Actualment, és professor associat de química dels aliments a la Universitat d'Udine (Itàlia). Ha publicat diversos articles científics i capítols de llibres i és editor de dos llibres centrats en el tractament de mostres i cromatografia de líquids acoblada a espectrometria de masses (LC-MS) en anàlisi d'aliments.

Javier Saurina és catedràtic d'universitat del Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica de la Universitat de Barcelona. La seva recerca se centra en el desenvolupament de nous mètodes analítics, la caracterització i autenticació de productes alimentaris i el tractament de dades. Ha liderat diversos projectes de recerca competitius nacionals i europeus, a més de participar en molts d'altres. Ha publicat cent noranta articles en revistes indexades i vint capítols de llibre dels àmbits analític, farmacèutic, de materials i d'alimentació.

Oscar Núñez és professor catedràtic d'universitat. Doctorat en química analítica per la Universitat de Barcelona (UB) el 2004, la seva recerca se centra en el desenvolupament de metodologies analítiques (cromatografia i espectrometria de masses de baixa i alta resolució, entre d'altres) per a la caracterització, classificació i autenticació de productes alimentaris. Ha publicat més de cent cinquanta articles en revistes indexades i capítols de llibre i és coeditor de sis llibres centrats en tractament de mostra, mètodes cromatogràfics, espectrometria de masses i autenticació d'aliments. En l'actualitat és, a més, delegat del rector del Programa de Recerca, Innovació i Millora de la Docència i l'Aprenentatge (RIMDA) de la UB. També és coordinador del grup d'innovació docent consolidat NEAQA (Noves Estratègies d'Aprenentatge en Química Analítica).

L'eliminació de la dependència de l'origen en les descomposicions de la polaritzabilitat

Removing origin-dependence in polarizability decompositions

Marc Montilla, Pedro Salvador i Josep M. Luis

Universitat de Girona. Facultat de Ciències. Departament de Química. Institut de Química Computacional i Catàlisi (IQCC)

Resum: La polaritzabilitat molecular dona informació sobre el volum electrònic d'una molècula i, juntament amb altres propietats òptiques (dipol, hiperpolaritzabilitats...), descriu el canvi de l'energia de la molècula sota un camp elèctric. La descomposició d'aquestes propietats és de gran interès, però té un problema: les contribucions obtingudes són dependents de l'origen (canvien quan l'origen de coordenades es mou) i, per tant, no són gaire útils. En aquest estudi presentem la primera metodologia per a una descomposició completament independent de l'origen, basada en una descomposició de l'energia.

Paraules clau: Descomposició, propietats òptiques, independent de l'origen.

Abstract: Molecular polarizability provides information about a molecule's electronic volume and, together with other optical properties (dipole, hyperpolarizabilities...), it describes the change in energy when the molecule is subjected to an electric field. The decomposition of these properties is very interesting but it poses the problem of origin-dependence: the contributions obtained change whenever the arbitrary origin of coordinates is moved. In this study, we present the first genuinely origin-independent energy-based (OIEB) decomposition of (non)linear optical properties.

Keywords: Decomposition, optical properties, origin-independent.

Introducció

Les propietats òptiques lineals i les no lineals (NLOP, de l'anglès *non-linear optical properties*) descriuen com canvia l'energia d'una molècula quan aquesta és sotmesa a un camp elèctric. El motiu del canvi en l'energia és evident: la física bàsica ens explica que els camps elèctrics interaccionen amb partícules carregades (en el nostre cas, els nuclis i, principalment, els electrons), en modifiquen la posició i, per tant, generen un canvi en l'energia.

Si escrivim l'expressió matemàtica de l'energia E com una expansió de Taylor en funció del camp elèctric F :

$$E(F) = E(0) - \mu \cdot F - \frac{1}{2} \cdot \alpha \cdot F^2 + \frac{1}{3!} \cdot \beta \cdot F^3 + \frac{1}{4!} \cdot \gamma \cdot F^4 + \dots \quad \text{Equació 1}$$

apareixen aquestes propietats òptiques lineals i no lineals en les derivades de diferent ordre (μ , α , β , γ , corresponents, respectivament, a dipol, polaritzabilitat, primera i segona hiper-

polaritzabilitats). Són molt interessants les molècules amb valors no nuls per a aquestes propietats, ja que presenten uns comportaments inesperats, com la generació del segon harmònic, fenomen en què una molècula és irradiada amb llum d'una determinada freqüència (ω) i el resultat inesperat és l'emissió de llum amb el doble de freqüència (2ω).

Descomposició de les propietats

Per aquest motiu, és molt important el valor molecular d'aquestes propietats, però també és de gran interès poder descompondre aquest valor total en les contribucions d'àtoms (o de grups funcionals). Això ens donaria informació sobre com diferents grups funcionals contribueixen al valor total, com interaccionen entre ells, quins grups acostumen a augmentar o disminuir el valor..., i tot aquest coneixement ens permetria predir les propietats de qualsevol molècula o dissenyar racionalment molècules amb valors específics per a aquestes propietats.

Dependència de l'origen

Quan s'intenten descompondre aquestes propietats en contribucions atòmiques, apareix un problema molt important: certs termes depenen explícitament de l'origen de coordenades. Aquesta dependència implica dues coses: en primer lloc,

totes les contribucions atòmiques canvien si es desplaça l'origen de coordenades (el qual és una tria arbitrària); en segon lloc, les contribucions obtingudes depenen no només de la natura d'un àtom o grup funcional, sinó també de la seva posició. Per exemple (vegeu la figura 1), si una molècula té dos grups funcionals idèntics i en entorns similars, esperaríem que la descomposició indiqués dues contribucions molt similars, però aquestes dues contribucions poden ser completament diferents si els dos grups es troben a diferents distàncies respecte de l'origen de coordenades.

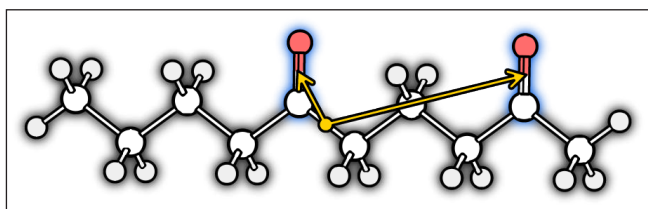


FIGURA 1. Molècula amb dos grups carbonils (resseguits en blau: un carboni, amb un doble enllaç amb un oxigen) en entorns molt similars. La seva distància respecte de l'origen de coordenades (punt groc, al centre de la molècula) està indicada amb les fletxes grogues. Com que aquesta distància és diferent per als dos grups, les dues contribucions corresponents, que esperaríem que fossin molt semblants, seran diferents. Els àtoms estan representats amb el sistema de colors següent: blanc per al carboni, vermell per a l'oxigen i gris clar per a l'hidrogen. Elaboració pròpia.

Clarament, contribucions amb aquesta dependència no poden ser transferibles ni útils.

Matemàticament, aquesta dependència de l'origen es pot observar de manera molt clara i intuïtiva en les fórmules que va plantejar Bader [1] per descompondre aquestes propietats. L'expressió matemàtica del moment dipolar d'una molècula és la integral següent, un simple producte de posició per càrrega:

$$\mu = -\int r \cdot \rho(r) dr \quad \text{Equació 2}$$

on r és la distància respecte de l'origen de coordenades, i $\rho(r)$ és la densitat de càrrega (considerant electrons i nuclis). Dins del context de la teoria quàntica d'àtoms en molècules (QTAIM, de l'anglès *quantum theory of atoms in molecules*) [2], Bader va proposar l'any 1990 que per obtenir la contribució atòmica de l'àtom A a aquest dipol, μ_A , hom simplement havia d'utilitzar la mateixa expressió, però només integrant en el domini que correspon l'àtom en qüestió (Ω_A):

$$\mu_A = -\int_{\Omega_A} r \cdot \rho(r) dr \quad \text{Equació 3}$$

El valor de la contribució de cadascun dels àtoms inclou una dependència explícita respecte de l'origen, ja que implica la multiplicació per la distància respecte de l'origen (r). Per solucionar aquesta dependència de l'origen, Bader va reescriure els termes de la manera següent:

$$\mu_A = -\int_{\Omega_A} (r - R_A) \cdot \rho(r) dr - R_A \cdot \int_{\Omega_A} \rho(r) dr \quad \text{Equació 4}$$

on R_A és la posició del nucli A . D'aquesta manera, el primer terme és completament independent de l'origen, ja que la diferència $(r - R_A)$ serà sempre la mateixa independentment d'on estigui situat l'origen de coordenades. Malauradament, el segon terme que apareix continua depenent de l'origen. Així doncs, Bader va anomenar el primer terme *contribució intrínseca* de cada àtom i el segon, *contribució de transferència de càrrega*.

La nostra metodologia

La nova metodologia que presentem en aquest estudi soluciona completament el problema de la dependència de l'origen, sense cap aproximació ni simplificació.

Eliminant la dependència de l'origen

En aquest subapartat hi ha la demostració matemàtica de com aquesta metodologia elimina la dependència de l'origen. El primer que cal explicar és que, com es pot deduir de l'equació 1, la polaritzabilitat és la segona derivada, amb signe negatiu, de l'energia respecte d'un camp elèctric, i és també la primera derivada del moment dipolar respecte d'un camp elèctric:

$$\alpha = -\left. \frac{\partial^2 E(F)}{\partial F^2} \right|_{F=0} = \left. \frac{\partial \mu(F)}{\partial F} \right|_{F=0} \quad \text{Equació 5}$$

L'expressió de l'energia en funció del camp elèctric, $E(F)$, és la següent:

$$E(F) = \langle \Psi(F) | H^{(0)} - \hat{\mu} \cdot F | \Psi(F) \rangle = \underbrace{\langle \Psi(F) | H^{(0)} | \Psi(F) \rangle}_{E^{(0)}(F)} - \underbrace{\langle \Psi(F) | \hat{\mu} | \Psi(F) \rangle \cdot F}_{\mu(F) \cdot F} \quad \text{Equació 6}$$

on $\Psi(F)$ és la funció d'ona (que depèn del camp elèctric), $H^{(0)}$ és el hamiltonià (que no depèn del camp elèctric), i el segon terme descriu l'energia resultant de la interacció entre el moment dipolar i el camp elèctric. En aquest context, el problema de la dependència de l'origen prové exclusivament del segon terme (l'operador del moment dipolar $\hat{\mu} = \sum_i q_i \cdot r_i$, que explícitament conté la coordenada r). Per tant, l'objectiu és poder expressar la polaritzabilitat, com a derivada de l'energia, sense utilitzar aquest terme. La segona derivada, amb signe negatiu, de l'energia és:

$$\alpha = \left[\underbrace{-\frac{\partial^2 E^{(0)}(F)}{\partial F^2}}_{\alpha^{(0)}} + \underbrace{\frac{\partial^2 (\mu(F) \cdot F)}{\partial F^2}}_{\alpha^\mu} \right]_{F=0} = \alpha^{(0)} + \alpha^\mu \quad \text{Equació 7}$$

El pas següent és desenvolupar la segona derivada en el terme α^μ . Per claredat, comencem fent només la primera derivada (com que és un producte, la derivada del producte serà la derivada del primer, pel segon sense derivar, més la derivada del segon, pel primer sense derivar):

$$\alpha^\mu = \frac{\partial}{\partial F} \left(\frac{\partial \mu(F)}{\partial F} \cdot F + \frac{\partial \mu(F)}{\partial F} \right)_{F=0} \quad \text{Equació 8}$$

A continuació, fem també la segona derivada i obtenim:

$$\alpha^\mu = \left(\frac{\partial^2 \mu(F)}{\partial F^2} \cdot F + \frac{\partial \mu(F)}{\partial F} + \frac{\partial \mu(F)}{\partial F} \right)_{F=0} = 2 \cdot \frac{\partial \mu(F)}{\partial F} = 2 \cdot \alpha \quad \text{Equació 9}$$

on és important veure que el primer terme, que està multiplicat per F , es cancel·la, ja que la derivada és avaluada al límit quan $F = 0$. En els termes que sobreviuen, observem que hi ha una relació lineal entre α^μ i α . Això implica que, substituint α^μ en l'equació 7, hi ha també una relació entre α i $\alpha^{(0)}$:

$$\alpha = \alpha^{(0)} + \alpha^\mu = \alpha^{(0)} + 2 \cdot \alpha \rightarrow \alpha = -\alpha^{(0)} \quad \text{Equació 10}$$

Les contribucions atòmiques a $\alpha^{(0)}$ s'obtenen a través de termes de l'energia que no inclouen l'operador moment dipolar i, per tant, són completament independents de l'origen. Llavors, aquestes contribucions poden ser transformades en contribucions a α , mitjançant la relació lineal de l'equació 10.

D'aquesta manera, hem demostrat que és possible fer una descomposició d'aquestes propietats, basada en l'energia, que és independent de l'origen.

Aquesta demostració és generalitzable a les propietats d'ordre superior: per a una propietat òptica no lineal d'ordre n (essent aquesta la derivada d'ordre n de l'energia respecte del camp elèctric), l'expressió general és:

$$X^\mu = n \cdot \frac{\partial^{n-1} \mu(F)}{\partial F^{n-1}} = n \cdot X \quad \text{Equació 11}$$

$$X = X^{(0)} + X^\mu = X^{(0)} + n \cdot X \quad \text{Equació 12}$$

$$X = -\frac{1}{n-1} \cdot X^{(0)} \quad \text{Equació 13}$$

on, per analogia a l'equació 7, el terme X^μ és l'enèsima derivada del terme $\mu(F) \cdot F$, i el terme $X^{(0)}$ és l'enèsima derivada del terme $E^{(0)}(F)$.

Partició de l'espai real

Dins l'àmbit de la descomposició de propietats moleculars en contribucions atòmiques, un requisit essencial és definir *què* és cada àtom dins de la molècula. En el context de l'espai real, això consisteix a definir quina regió de l'espai correspon a cada àtom. Aquesta informació es dona a través de *funcions de pes* $w_A(r)$, que defineixen, per a cada punt de l'espai r , quin percentatge correspon a cada àtom A . Així doncs, aquestes funcions tenen valors d'1 en la regió propera al nucli de l'àtom A , i decauen cap a 0 a mesura que s'aproximen als nuclis d'altres àtoms. En els nostres estudis, la partició de l'espai real l'hem feta amb TFVC (*topological fuzzy Voronoi cells*) [3], que descriu regions atòmiques utilitzant informació de la densitat electrònica.

Descomposició de l'energia molecular

Un cop obtingudes les funcions de pes $w_A(r)$, la densitat electrònica $\rho(r)$ es descompon naturalment en densitats atòmiques $\rho_A(r) = \rho(r) \cdot w_A(r)$. Llavors, l'energia molecular E es pot descompondre en contribucions d'un o dos centres ($E_{AA'}$, $E_{AB'}$, respectivament) de la manera següent:

$$E = \sum_A E_{AA} + \sum_{A,B>A} E_{AB} \quad \text{Equació 14}$$

on E_{AA} és l'energia intraatòmica de l'àtom A , i E_{AB} descriu la interacció entre els àtoms A i B . El primer (E_{AA}) inclou l'energia cinètica de p_A i les interaccions electroestàtiques (electró-nucli i electró-electró) i d'intercanvi que involucren només partícules de l'àtom A ; mentre que el segon (E_{AB}) inclou interaccions electroestàtiques i d'intercanvi que involucren partícules d'ambdós àtoms (per exemple, electrons de l'àtom A amb el nucli de B , electrons d' A amb electrons de B ...). Finalment, aquestes contribucions de l'equació 14 es poden condensar en *energies atòmiques* ε_A :

$$\varepsilon_A = E_{AA} + \frac{1}{2} \cdot \sum_{B \neq A} E_{AB} \quad \text{Equació 15}$$

D'aquesta manera, l'energia $E^{(0)}(F)$ esmentada en el subapartat anterior es descompon en contribucions atòmiques (a diferents camps elèctrics), i les segones derivades d'aquestes energies atòmiques són obtingudes numèricament, mitjançant diferències finites. Les descomposicions de l'energia han sigut realitzades amb el programa APOST-3D [4], que calcula energies atòmiques utilitzant l'estructura electrònica obtinguda amb el programa GAUSSIAN [5]. Per a aquest estudi, tots els càlculs computacionals han sigut realitzats utilitzant la teoria del funcional de la densitat (DFT, de l'anglès *density functional theory*) al nivell de teoria B3LYP/aug-cc-pVTZ.

Resultats

Amb aquesta nova metodologia es pot dur a terme la descomposició de les propietats òptiques no lineals de qualsevol molècula. Aquí ens centrem en la descomposició de la polaritzabilitat (sense considerar encara les propietats d'ordre superior), i apliquem aquesta metodologia a dos sets de molècules diferents.

Set 1: hidrurs del grup principal

Per al primer grup de molècules, hem analitzat el resultat de la descomposició de la polaritzabilitat per a quatre hidrurs dels elements del grup principal (HF, H₂O, NH₃, CH₄). La taula següent mostra la contribució de l'hidrogen i la de l'heteroàtom. En tots els casos, la suma de contribucions atòmiques reproduceix perfectament la propietat molecular, i cadascuna de les contribucions atòmiques és positiva i té una magnitud raonable.

TAULA 1. Polaritzabilitat de l'hidrogen (α^H) i del corresponent heteroàtom (α^X) per a quatre hidrurs XH_n, en unitats atòmiques. Elaboració pròpia.

Molècula	α^H	α^X
HF	1,40	4,24
H ₂ O	2,46	4,88
NH ₃	2,87	5,95
CH ₄	2,22	8,06

La polaritzabilitat està relacionada amb el volum que ocupen els electrons d'una molècula. Per tant, esperariem que les polaritzabilitats *atòmiques* ens donessin informació sobre la mida de l'àtom. Efectivament, observem una molt bona correlació entre les polaritzabilitats atòmiques obtingudes i el cub del radi covalent de cadascun d'aquests àtoms (vegeu la figura 2):

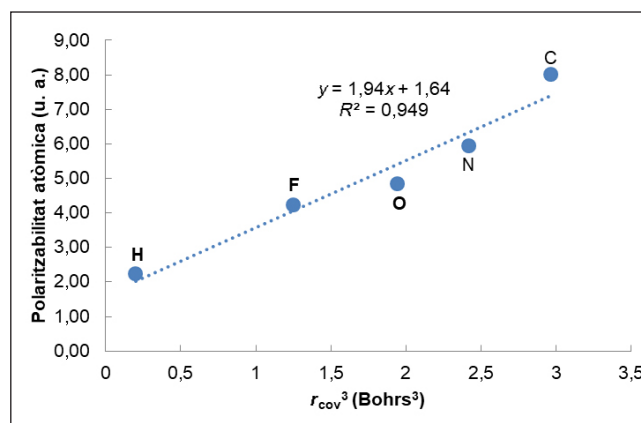


FIGURA 2. Correlació entre les contribucions atòmiques a la polaritzabilitat i el corresponent radi covalent (elevat al cub). Elaboració pròpia.

Set 2: metils substituïts i aminoàcids

Un segon grup de molècules consisteix en metils substituïts CH₃-R, on R representa diversos grups funcionals (alcohol, amina, àcid carboxílic...). Els valors d'alguns dels grups funcionals considerats es troben en la taula 2.

Amb aquests resultats, hem realitzat un estudi de transferibilitat: per a setze aminoàcids, hem predit la polaritzabilitat de cadascun, com a *suma de les contribucions dels seus fragments* (que són els valors recopilats en la taula 2). Els aminoàcids considerats són: alanina, glicina, leucina, prolina, valina, fenilalanina, tirosina, àcid aspàrtic, àcid glutàmic, lisina, serina, treonina, cisteïna, metionina, asparagina i glutamina. La figura 3 mostra la correlació entre la polaritzabilitat calculada compu-

tacionalment i la que hem predit amb aquest procediment: efectivament, la correlació és molt bona, amb una r^2 de 0,997.

TAULA 2. Polaritzabilitat del metil (α^{CH_3}) i del corresponent grup funcional (α^R) per a un conjunt representatiu de les molècules considerades en aquest set en unitats atòmiques. Elaboració pròpia.

Molècula	α^{CH_3}	α^R
CH ₃ OH	14,55	7,08
CH ₃ NH ₂	15,43	11,14
CH ₄	14,67	2,22
CH ₃ COOH	14,34	20,15
CH ₃ CH ₃	14,52	14,52
CH ₃ CHO	14,41	16,26
CH ₃ CONH ₂	14,40	25,73
CH ₃ Ph	17,65	65,10
CH ₃ SH	15,26	22,13

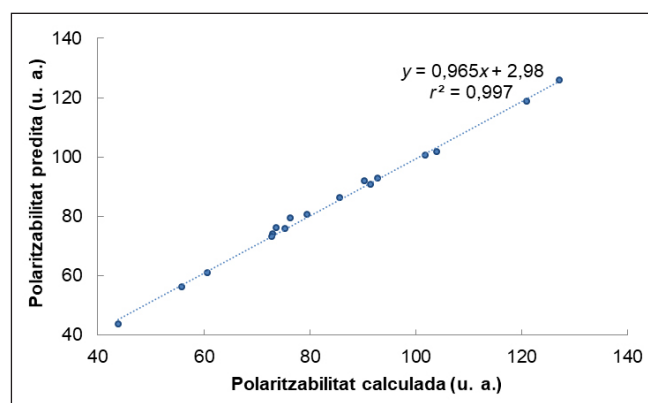


FIGURA 3. Correlació entre la polaritzabilitat predita amb el procediment descrit i la polaritzabilitat calculada computacionalment per a cadascun dels aminoàcids. Elaboració pròpia.

Conclusions

En aquest estudi hem presentat la primera descomposició de propietats òptiques no lineals independent de l'origen: ens hem centrat només en la polaritzabilitat, però, com hem mostrat en la demostració matemàtica, la generalització a propietats d'ordre superior (hiperpolaritzabilitats) és molt senzilla.

En el primer set de molècules (hidrurs dels elements del grup principal) es pot comprovar que les contribucions obtingudes són lògiques: totes positives i amb certa relació amb la interpretació física dels valors (que està relacionada amb el volum electrònic de cadascun dels àtoms). En el segon set de molè-

cules (aminoàcids) es veu que les contribucions obtingudes són molt transferibles i es poden utilitzar per predir les propietats d'altres molècules.

En el futur, continuarem treballant en nous estudis que se centraran exclusivament en les propietats d'ordre superior.

Agraïments

Aquest estudi ha estat finançat pel Ministeri de Ciència i Innovació (MICINN) del Govern espanyol (PGC2018-098212-B-C22) i la Generalitat de Catalunya (2017SGR39 i beca predoctoral FI 2019 FI_B01001).

Referències i altres fonts

- [1] LAIDIG, K. E.; BADER, R. F. W. «Properties of atoms in molecules: Atomic polarizabilities». *J. Chem. Phys.* [en línia], 93 (10) (1990), p. 7213-7224. <<https://doi.org/10.1063/1.459444>>.
- [2] BADER, R. F. W. *Atoms in molecules: A quantum theory*. Oxford: Clarendon, 1990.
- [3] SALVADOR, P.; RAMOS-CORDOBA, E. «Communication: An approximation to Bader's topological atom». *J. Chem. Phys.* [en línia], 139 (7) (2013), article 071103. <<https://doi.org/10.1063/1.4818751>>.
- [4] SALVADOR, P.; RAMOS-CORDOBA, E.; GIMFERRER, M. *APOST-3D Program*. Girona: Universitat de Girona. Institut de Química Computacional i Catàlisi, 2019.
- [5] FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, Jr., J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KEITH, T.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSLOWKI, J.; FOX, D. J. *Gaussian 09; Revision E.01*. Wallingford: Gaussian Inc., 2013.



M. Montilla



P. Salvador



J. M. Luis

Marc Montilla va finalitzar el grau en química l'any 2017 a la Universitat de Girona. L'any següent va completar el Màster en Catàlisi Avançada i Modelatge Molecular a la mateixa universitat. Durant el treball final de grau i el treball final de màster, va començar a treballar en temes relacionats amb la descomposició de les propietats òptiques no lineals, sota la supervisió dels doctors Josep M. Luis i Pedro Salvador, que actualment supervisen la seva tesi doctoral.

Pedro Salvador és llicenciat (1997) i doctor (2001) en química per la Universitat de Girona (UdG). Durant la seva etapa predoctoral, va treballar en el camp de les interaccions intermoleculares i els mètodes de correcció de l'error de superposició de base. Part de la metodologia dissenyada va ser incorporada al programa Gaussian98-RevA11 i revisions posteriors (Gaussian09 i Gaussian09), dels quals és coautor. Ha dut a terme diverses estades postdoctorals en els grups del professor Mayer (Budapest) i del professor Dannenberg (Nova York), i altres visites a grups de recerca a Praga, Michigan, Guanajuato i Amsterdam. Des del 2006 és professor agregat del Departament de Química de la UdG. Dins del camp de la química teòrica i computacional, actualment la seva recerca se centra en el disseny i la implementació d'eines d'anàlisi de la funció d'ona.

Josep M. Luis és doctor en química per la Universitat de Girona (UdG, 1999). Els anys 1999-2000 va dur a terme una estada postdoctoral a Santa Barbara (Califòrnia, EUA) amb el professor Kirtman. Va fer també onze estades més, amb una duració total de dos anys. Des del 2005 és professor agregat del Departament de Química de la UdG. La seva recerca i els seus interessos estan centrats, principalment, en el desenvolupament de metodologies noves per calcular propietats òptiques no lineals, i en estudis teòrics de mecanismes de reaccions organometàl·liques.

Reducció electroquímica de CO₂ amb catalitzadors organometàl·lics de tricarbonil de manganès(I)

Electrochemical CO₂ reduction with manganese(I) tricarbonyl organometallic catalysts

Sergio Fernández

Barcelona Institute of Science and Technology (BIST). Institut Català d'Investigació Química (ICIQ)
Universitat Rovira i Virgili (URV). Facultat de Química. Departament de Química Física i Inorgànica

Resum: En aquest article revisarem diferents catalitzadors de tricarbonil de Mn(I) i la seva activitat catalítica en la reducció electroquímica de CO₂ a CO. Repassarem alguns dels catalitzadors més representatius quant a l'estudi dels mecanismes de reacció i com aquest coneixement ha portat a la millora de l'activitat catalítica i a canvis en la selectivitat del procés, i ha donat lloc a la producció de format com a producte majoritari de reducció catalítica de CO₂.

Paraules clau: Reducció de CO₂, electroquímica, catàlisi, manganès.

Abstract: In this paper, we review different Mn(I)-tricarbonyl catalysts and their catalytic activity in electrochemical CO₂ reduction to CO and we look at some of the most representative catalysts from the standpoint of mechanistic investigations. We also discuss how this knowledge has given rise to an improvement of catalytic activity and to changes in process selectivity leading to production of formate as the major CO₂ reduction product.

Keywords: CO₂ reduction, electrochemistry, catalysis, manganese.

Introducció

Encara que el CO no és un hidrocarbur, es tracta d'un precursor C₁ molt rellevant i àmpliament utilitzat en processos industrials com la síntesi d'hidrocarburs de Fischer-Tropsch o les diverses reaccions orgàniques de carbonilació [1]. El disseny i la millora dels catalitzadors per a la producció de CO a través de la reducció electroquímica de CO₂ és essencial per tal que el procés sigui eficient i basat en fonts d'energia sostenibles [2]. L'estudi mecanístic dels processos catalítics és una manera molt efectiva per entendre quins són els factors cinètics i termodinàmics que governen la reducció catalítica de CO₂ [3]. La motivació per entendre els mecanismes de reacció ha promogut el desenvolupament d'una gran varietat de sistemes catalítics moleculars homogenis i heterogenis basats en metalls de transició de la primera, segona i tercera sèrie [4]. Aquests sistemes estan basats en una gran varietat de lligands: macrocíclics, besants en lligands piridina i organometàl·lics (CO, fosfina, carbè), entre d'altres. Els catalitzadors moleculars més representatius per a la reducció electroquímica de CO₂ a CO es

mostren cronològicament a la figura 1 [5]. Aquests exemples pioners estableixen les bases per a l'estudi dels mecanismes de reacció i la modificació racional dels catalitzadors amb l'objectiu d'identificar els factors que governen la reactivitat. Partint del coneixement sobre els diferents intermedis del cicle catalític es poden dissenyar estratègies per millorar l'activitat i la selectivitat dels catalitzadors.

Malgrat la gran varietat de catalitzadors, la majoria comparteixen intermedis comuns com espècies reduïdes de baixa valència, intermedis metall-carboxilat i metall-carbonil, entre d'altres [6]. En aquest article, presentarem els exemples més rellevants de catalitzadors moleculars basats en complexos organometàl·lics Mn(I), així com els possibles mecanismes de reacció i les diferents estratègies per a l'estudi i el desenvolupament racional de nous sistemes catalítics més eficients.

Compostos de Re(I) i Mn(I) per a la reducció de CO₂

El fac-[M(bpy)(CO)₃(L)] (M = Re, Mn; L = Br⁻, Cl⁻) és una de les famílies de catalitzadors més estudiades per a la reducció selectiva de CO₂ a CO. El treball pioner de Lehn i col·laboradors sobre la reducció electroquímica de CO₂ catalitzada per fac-[Re(bpy)(CO)₃Cl] (Re-1) data de 1984 [5a]. No va ser fins al 2011 que Deronzier, Chardon-Noblat i col·laboradors van

Correspondència: Sergio Fernández
Barcelona Institute of Science and Technology (BIST). Institut Català d'Investigació Química (ICIQ)
Av. dels Països Catalans, 16. 43007 Tarragona
Tel.: +34 977 920 200
A/e: sfernandez@iciq.es

entre ells [9]. Per exemple, la reducció en un electró del complex Mn-1 dona lloc a una espècie pentacoordinada de $17e^-$ [Mn^{*}] que dimeritza ràpidament i forma la corresponent espècie bimetal·lica de $17e^-$ [Mn-Mn]. En canvi, el mateix procés de dimerització no està afavorit en el cas de Re-1. Hi ha càlculs computacionals de l'estructura electrònica que suggereixen que la primera reducció d'un electró té un fort caràcter de lligand en el cas de l'espècie de [Re^{*}], mentre que està més centrada en el metall en el cas de [Mn^{*}]. Aquestes dues espècies radicalàries es descriuen millor com a fac-[Re^I(bpy)⁺(CO)₃] i fac-[Mn⁰(bpy)(CO)₃], respectivament. En un segon procés de reducció, es forma el corresponent intermedi aniónic pentacoordinat [M]⁻. En aquest cas, ambdues espècies anióniques de Re i Mn es descriuen millor com a fac-[M⁰(bpy)⁻(CO)₃]. Aquest intermedi aniónic intervé directament en l'activació de la molècula de CO₂ per mitjà de la formació d'un nou enllaç entre l'àtom de carboni i el centre metàl·lic. En aquest sentit, una altra diferència rellevant és que la formació d'aquest carboxilat metàl·lic [M-CO₂]⁻ és exergònica per a Re i endergònica per a Mn. Aquesta diferència en la reactivitat té conseqüències directes en l'activitat catalítica, ja que la reducció de CO₂ a CO catalitzada per Mn-1 requereix l'addició d'un àcid per afavorir la cinètica i la termodinàmica del procés. Un cop s'ha format l'intermedi [M-CO₂H], la reacció pot procedir a través dels mecanismes de primera reducció (*reduction-first*) o primera protonació (*protonation-first*). El catalitzador Mn-1 és conegut pel fet d'operar a través del mecanisme *reduction-first*. En aquest cas, l'intermedi [M-CO₂H] es redueix en un electró i forma [M-CO₂H]⁻, la protonació del qual inicia el trencament de l'enllaç C-O. Aquest últim pas és considerat el pas determinant de la velocitat de reacció i el mecanisme conclou amb la formació d'una nova espècie de tetracarbonil de Mn(0) [Mn-CO], la qual dissocia CO i tanca així el cicle catalític. Aquest mecanisme presenta un inconvenient degut al fet que la reducció de l'intermedi [M-CO₂H] contribueix a l'augment del sobrepotencial del procés catalític [4]. Per promoure el mecanisme *protonation-first* a sobrepotencials més baixos, s'han dissenyat diferents estratègies basades en la modificació de la segona esfera de coordinació del catalitzador. En aquest cas, el trencament de l'enllaç C-O té lloc per mitjà d'una segona protonació consecutiva a la protonació de l'intermedi [M-CO₂]⁻. Per tal d'afavorir la protonació de l'espècie [M-CO₂H] i activar així el mecanisme *protonation-first*, es requereix un entorn més àcidic (*vide infra*). El trencament de l'enllaç C-O dona lloc al respectiu intermedi de tetracarbonil de Mn(I) [Mn-CO]⁺, la reducció

del qual té lloc a un potencial menys negatiu que el de l'espècie de partida [Mn-Br]. Per tant, el mecanisme *protonation-first* opera a potencials menors que el de *reduction-first*.

Estratègies de segona esfera de coordinació

Com a conseqüència dels amplis estudis mecanicistes sobre aquesta família de catalitzadors, algunes estratègies basades en la modificació de l'entorn químic del catalitzador han promogut la millora de l'activitat catalítica i, fins i tot, un canvi en la selectivitat.

Reducció de CO₂ a CO

Una de les primeres modificacions efectives del catalitzador Mn-1 consisteix en la introducció de substituents voluminosos com ara grups mesitilè a les posicions 6 i 6' de la bipyridina (Mn-2) (vegeu la figura 2) [10]. L'efecte estèric induït pels grups voluminosos impedeix la formació de l'espècie dinuclear [Mn-Mn]. Per consegüent, en lloc de dues reduccions d'un electró, el catalitzador de partida es redueix directament a [Mn]⁻ en un procés de dos electrons i, d'aquesta manera, l'activació de CO₂ es produeix a sobrepotencials menors. A més, el procés catalític es pot activar afegint Mg²⁺ com àcid de Lewis. De forma similar, Grills, Ertem, Rochford i col·laboradors proposen la introducció de grups 2,6-dimethoxifenil a les posicions 6 i 6' de la bipyridina (Mn-3) [11]. Aquest nou catalitzador treballa de manera selectiva a través del mecanisme

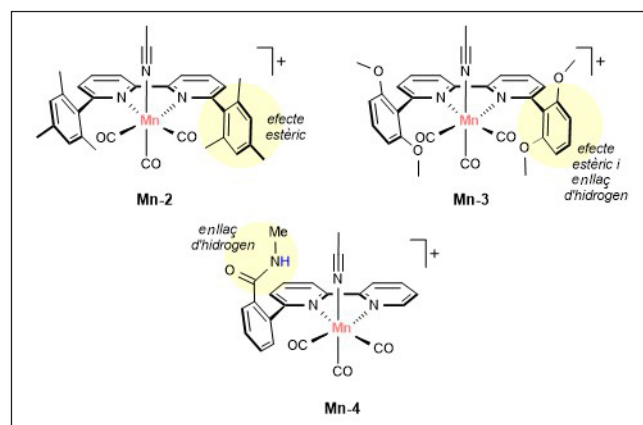


FIGURA 2. Selecció de catalitzadors de tipus fac-Mn^I(CO)₃ per a la reducció electroquímica de CO₂ a CO. Elaboració pròpia.

protonation-first amb una disminució de 0,55 V del sobrepotencial respecte del mecanisme *reduction-first*. Els autors proposen una interacció d'enllaç d'hidrogen al·lostèric entre els grups metoxi i l'àcid de Brønsted afegit que afavoreixi la cinètica de trencament de l'enllaç C–O.

Posteriorment, s'ha demostrat que la introducció de grups que poden establir enllaços d'hidrogen en complexos de tipus fac-[Mn(bpy-R)(CO)₃Br] és una estratègia eficaç per a la millora de l'activitat catalítica en termes de corrent catalític i sobrepotencial. Aquest és el cas del catalitzador Mn-4, en el qual s'ha introduït un grup amida al lligand bipiridina [12]. Les interaccions d'enllaç d'hidrogen entre el grup -NH de l'amida i un àcid de Brønsted feble com l'aigua disminueixen la barrera d'escissió de l'enllaç C–O i afavoreixen el mecanisme *protonation-first* a sobrepotencials baixos. Altres modificacions han resultat en un canvi de selectivitat que ha minvat la producció de CO i ha augmentat l'eficiència per a la producció de format, tal com s'exposa al subapartat següent.

Reducció de CO₂ a format

Les estratègies més efectives per induir una millora en la selectivitat de CO₂ a format consisteixen en la modificació del lligand bipiridina amb grups fenol o amina que poden actuar en processos intramoleculars de protonació (vegeu la figura 3). Aquests faciliten la formació de l'intermedi d'hidrur de Mn(I) [Mn–H] que, al seu torn, és l'intermedi que pot donar lloc a la producció de HCO₂⁻ o H₂.

Per exemple, la substitució de la bipiridina amb grups fenol (Mn-5) facilita la protonació de l'intermedi aniónic per donar

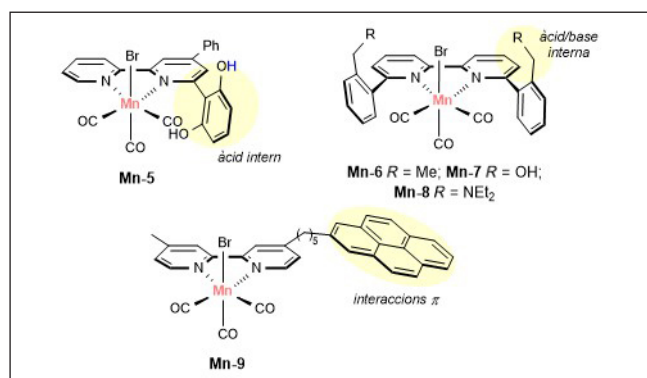
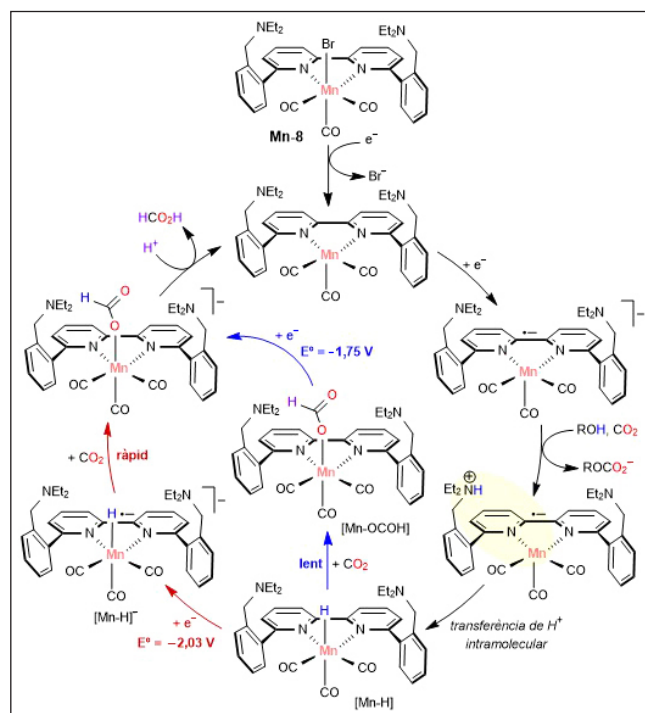


FIGURA 3. Selecció de catalitzadors de tipus fac-Mn(CO)₃ per a la reducció electroquímica de CO₂ a format. Elaboració pròpia.

l'espècie [Mn–H] que produeix format i H₂ al 39% i al 21% d'eficiència faradaica, respectivament [13]. Recentment, Daasbjerg, Skrydstrup, Baik i col·laboradors proposen la introducció de grups amina en la sèrie de catalitzadors Mn-6, Mn-7 i Mn-8. Mentre que la substitució del lligand bipiridina amb un grup alquil (Mn-6) o OH (Mn-7) promou la producció de CO, la substitució amb una base amina (Mn-8) afavoreix la producció de format amb rendiments faradaics per sobre del 70% [14]. Els autors proposen que la forma àcida de l'amina assisteix la protonació del metall per formar [Mn–H]. A partir d'aquí, la transferència de l'hidrur per formar l'intermedi format pot tenir lloc de forma directa o a través de la reducció de l'intermedi [Mn–H]. Aquest segon camí de reacció és més ràpid però implica un augment del sobrepotencial del procés catalític (vegeu l'esquema 2).

En dos treballs independents, Saouma i col·laboradors i Daasbjerg i col·laboradors conclouen que els catalitzadors Mn-2 i Mn-1 poden donar HCO₂⁻ com a producte majoritari (ca. 70% d'eficiència faradaica) en presència d'una amina (com trietilamina o morfolina) i un àcid de Brønsted feble (isopropanol o fenol), respectivament [15]. Els autors proposen que aquesta combinació d'additius proporciona el pH adequat per a la formació de l'intermedi [Mn–H] i minimitza la producció de H₂.



ESQUEMA 2. Proposta mecànica per a la reducció electroquímica de CO₂ a HCO₂⁻ catalitzada per Mn-8. Elaboració pròpia.

La immobilització d'unitats moleculars de fac-Mn(CO)_3 sobre nanotubs de carboni a la superfície d'èlectrodes ha emergit com una possible alternativa per al disseny de nous sistemes catalítics més estables i que puguin treballar amb aigua com a dissolvent. Amb aquest objectiu, Reisner i col·laboradors han introduït un hidrocarbur policíclic aromàtic com el pirè al lligand bipyridina (**Mn-9**), que pot ser immobilitzat a sobre de nanotubs de carboni per mitjà d'interaccions π [16]. En aquest cas, el catalitzador majoritàriament produeix CO i H_2 , encara que també produeix petites quantitats de formiat (ca. 8% d'eficiència faradaica). Recentment, el nostre grup ha investigat la incorporació d'aquestes unitats catalítiques de fac-Mn(CO)_3 en un COF (de l'anglès *covalent organic framework*) basat en lligands bipyridina (vegeu la figura 4) [17]. Aquest catalitzador (**Mn-10**) presenta activitat catalítica en aigua per la reducció de CO_2 a CO i HCO_2^- amb un 50% i un 20% d'eficiència faradaica, respectivament. A més, el catalitzador funciona a 140 mV, un sobrepotencial menor que **Mn-1**, i presenta millor estabilitat. Estudis d'espectroelectroquímica en estat sòlid mostren que les unitats de fac-Mn(CO)_3 es troben immobilitzades dintre del material reticular, la qual cosa té implicacions mecanístiques, ja que el procés de dimerització per donar l'intermedi $[\text{Mn-Mn}]$ es veu desfavorit.

Modificació de la primera esfera de coordinació

El nostre grup, conjuntament amb el grup de la professora Beatriz Royo, ha proposat la substitució del lligand bipyridina per un lligand bidentat (bis-NHC) basat en carbens *N*-heterocíclics (**Mn-11**) [18]. El fet que aquest lligand tingui caràcter redox innocent i que presenti un fort caràcter σ -donador provoca que la primera reducció del complex **Mn-11** tingui lloc a potencials més negatius ($-2,3$ V vs. ferroceni/ferrocè), en comparació amb el lligands de tipus bipyridina. Això implica un augment del caràcter nucleòfil per part de l'intermedi aniónic $[\text{Mn}]^-$. A més, que el lligand bis-NHC no sigui pla dificulta la formació de l'espècie dinuclear $[\text{Mn-Mn}]$. En presència de CO_2 , el catalitzador **Mn-11** exhibeix una resposta catalítica molt pronunciada i selectiva per a la producció de CO, fins i tot en absència d'àcids de Brønsted. En afegir aigua al medi, l'activitat catalítica d'aquest augmenta de forma significativa, i és el catalitzador molecular de Mn més ràpid reportat fins al moment, amb una freqüència catalítica màxima ($\text{TOF}_{\text{màx}}$) de $320\,000\text{ s}^{-1}$ en presència de $0,55\text{ M H}_2\text{O}$. En aquest cas, la detecció de l'intermedi $[\text{Mn-CO}]^+$ per mitjà d'espectroelectroquímica *in situ* evidencia que aquest nou catalitzador funciona a través del mecanisme *protonation-first* (vegeu l'esquema 3).

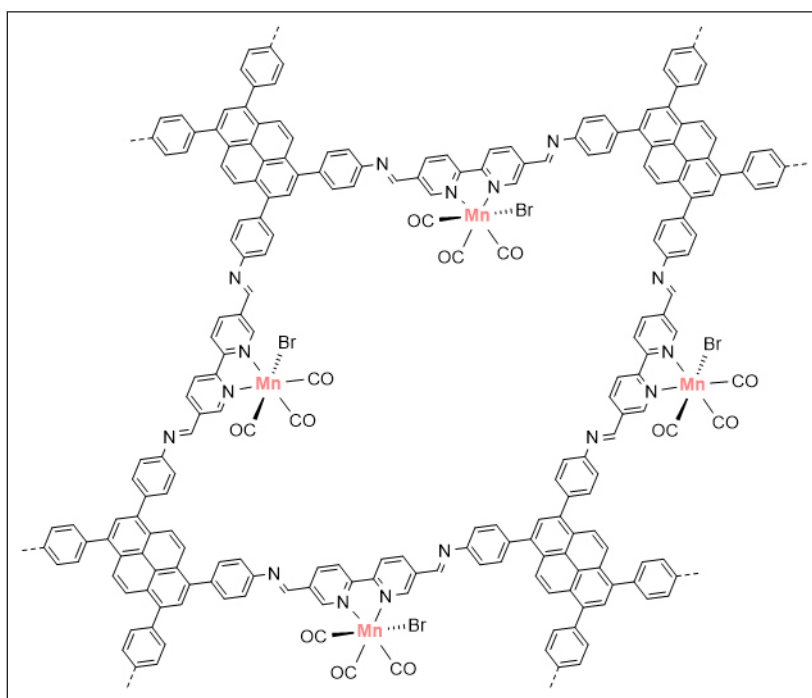
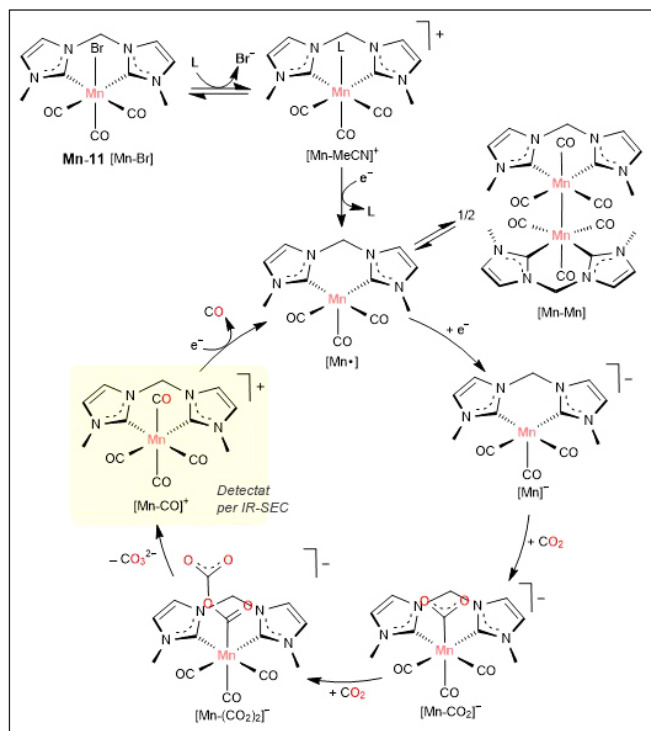


FIGURA 4. Estructura del catalitzador Mn-10. Elaboració pròpia.



ESQUEMA 3. Cicle catalític proposat per a la reducció electroquímica de CO_2 a CO catalitzada per Mn-11 en absència d'àcids de Brønsted. Elaboració pròpia.

Actualment, al nostre laboratori estem aprofundint en l'estudi mecanístic d'aquest sistema catalític per a la reducció electroquímica de CO_2 . Fins ara, hem aconseguit identificar *in situ* quatre intermedis crucials que porten tant a la formació de CO, $[\text{Mn}]^-$ i $[\text{Mn}-\text{CO}]^+$, com a la producció de formiat, $[\text{Mn}-\text{H}]$ i $[\text{Mn}-\text{OCOH}]$. En concret, els complexos $[\text{Mn}-\text{CO}]^+$ i $[\text{Mn}-\text{H}]$ han estat aïllats, cristal·litzats i caracteritzats. Malgrat que aquest sistema catalític produeix majoritàriament CO, s'ha pogut obtenir un 15% d'eficiència per a HCO_2^- en presència de fenol, la qual cosa suggereix que es pot optimitzar el sistema catalític per a la producció electrocatalítica de formiat.

Conclusions

Per concloure, l'estudi exhaustiu dels mecanismes per mitjà de tècniques electroquímiques, espectroscòpiques i de càlculs computacionals ha proporcionat una gran quantitat de coneixement sobre la reacció de reducció de CO_2 . Tant és així que s'han desenvolupat diverses estratègies basades en la modificació racional de catalitzadors moleculars que han donat lloc, de forma exitosa, a la millora de l'activitat catalítica i a canvis remarcables en la selectivitat del procés. Es preveu que el co-

neixement sobre els diferents intermedis involucrats permetrà l'obtenció de productes de reducció de CO_2 en més de dos electrons, com per exemple formaldehid, metanol, metà o altres hidrocarburs amb enllaços C-C.

Agraïments

L'autor agraeix al Ministeri d'Universitats del Govern espanyol el contracte per a la formació del professorat universitari (FPU16/04234). També agraeix als seus directores de tesi, els professors Julio Lloret Fillol i Josep M. Luis, la seva ajuda, consell i suport durant la tesi doctoral i en l'escriptura d'aquesta, i al doctor Federico Franco la seva ajuda en el desenvolupament dels diferents projectes de tesi.

Referències

- [1] JENSEN, M. T.; RØNNE, M. H.; RAVN, A. K.; JUHL, R. W.; NIELSEN, D. U.; HU, X.-M.; PEDERSEN, S. U.; DAASBJERG, K.; SKRYDSTRUP, T. «Scalable carbon dioxide electroreduction coupled to carbon-ylation chemistry». *Nat. Commun.* [en línia], 8 (2017), article 489. <<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00559-8>>.
- [2] FRANCO, F.; RETTENMAIER, C.; JEON, H. S.; ROLDAN CUENYA, B. «Transition metal-based catalysts for the electrochemical CO_2 reduction: From atoms and molecules to nanstructured materials». *Chem. Soc. Rev.* [en línia], 49 (19) (2020), p. 6884-6946. <<https://doi.org/10.1039/D0CS00835D>>.
- [3] LEE, K. J.; ELGRISHI, N.; KANDEMIR, B.; DEMPSEY, J. L. «Electrochemical and spectroscopic methods for evaluating molecular electrocatalysts». *Nat. Rev. Chem.* [en línia], 1 (2017), article 39. <<https://doi.org/10.1038/s41570-017-0039-9>>.
- [4] FRANCO, F.; FERNÁNDEZ, S.; LLORET-FILLOL, J. «Advances in the electrochemical catalytic reduction of CO_2 with metal complexes». *Curr. Opin. Electrochem.* [en línia], 15 (2019), p. 109-117. <<https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.04.002>>.
- [5] a) HAWECKER, J.; LEHN, J.-M.; ZIESSEL, R. «Electrocatalytic reduction of carbon dioxide mediated by $\text{Re}(\text{bipy})(\text{CO})_3\text{Cl}$ ($\text{bipy} = 2,2'$ -bipyridine)». *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* [en línia], 6 (1984), p. 328-330. <<https://doi.org/10.1039/C39840000328>>. b) BELEY, M.; COLLIN, J.-P.; RUPPERT, R.; SAUVAGE, J.-P. «Nickel(II)-cyclam: an extremely selective electrocatalyst for reduction of CO_2 in water». *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* [en línia], 19 (1984), p. 1315-1316. <<https://doi.org/10.1039/C39840001315>>. c) HAMMOUCHE, M.; LEXA, D.; SAVÉANT, J. M.; MO-

- MENTEAU, M. «Catalysis of the electrochemical reduction of carbon dioxide by iron("0") porphyrins». *J. Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.* [en línia], 249 (1-2) (1988), p. 347-351. <[https://doi.org/10.1016/0022-0728\(88\)80372-3](https://doi.org/10.1016/0022-0728(88)80372-3)>. d) CHEN, Z.; CHEN, C.; WEINBERG, D. R.; KANG, P.; CONCEPCION, J. J.; HARRISON, D. P.; BROOKHART, M. S.; MEYER, T. J. «Electrocatalytic reduction of CO₂ to CO by polypyridyl ruthenium complexes». *Chem. Commun.* [en línia], 47 (2011), p. 12607-12609. <<https://doi.org/10.1039/C1CC15071E>>. e) BOURREZ, M.; MOLTON, F.; CHARDON-NOBLAT, S.; DERONZIER, A. «[Mn(bipyridyl)(CO)₃Br]: An abundant metal carbonil complex as efficient electrocatalyst for CO₂ reduction». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 50 (42) (2011), p. 9903-9906. <<https://doi.org/10.1002/anie.201103616>>.
- [6] FERNÁNDEZ, S.; FRANCO, F.; CASADEVALL, C.; MARTIN-DIACONESCU, V.; LUIS, J. M.; LLORET-FILLOL, J. «A unified electro- and photocatalytic CO₂ to CO reduction mechanism with aminopyridine cobalt complexes». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 142 (1) (2020), p. 120-133. <<https://doi.org/10.1021/jacs.9b06633>>.
- [7] GRILLS, D. C.; ERTEM, M. Z.; MCKINNON, M.; NGO, K. T.; ROCHFORD, J. «Mechanistic aspects of CO₂ reduction catalysis with manganese-based molecular catalysts». *Coord. Chem. Rev.* [en línia], 374 (2018), p. 173-217. <<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.05.022>>.
- [8] MACHAN, C. W. «Recent advances in spectroelectrochemistry related to molecular catalytic processes». *Curr. Opin. Electrochem.* [en línia], 15 (2019), p. 42-49. <<https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.03.010>>.
- [9] RIPLINGER, C.; SAMPSON, M. D.; RITZMANN, A. M.; KUBIAK, C. P.; CARTER, E. A. «Mechanistic contrasts between manganese and rhenium bipyridine electrocatalysts for the reduction of carbon dioxide». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 136 (46) (2014), p. 16285-16298. <<https://doi.org/10.1021/ja508192y>>.
- [10] SAMPSON, M. D.; KUBIAK, C. P. «Manganese electrocatalysts with bulky bipyridine ligands: utilizing Lewis acids to promote carbon dioxide reduction at low overpotentials». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 138 (4) (2016), p. 1386-1393. <<https://doi.org/10.1021/jacs.5b12215>>.
- [11] NGO, K. T.; MCKINNON, M.; MAHANTI, B.; NARAYANAN, R.; GRILLS, D. C.; ERTEM, M. Z.; ROCHFORD, J. «Turning on protonation-first pathway for electrocatalytic CO₂ reduction by manganese bipyridyl tricarbonyl complexes». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 139 (7) (2017), p. 2604-2618. <<https://doi.org/10.1021/jacs.6b08776>>.
- [12] YANG, Y.; ERTEM, M. Z.; DUAN, L. «An amide-based second coordination sphere promotes the dimer pathway of Mn-catalyzed CO₂-to-CO reduction at low overpotential». *Chem. Sci.* [en línia], 12 (13) (2021), p. 4779-4788. <<https://doi.org/10.1039/D0SC05679K>>.
- [13] FRANCO, F.; COMETTO, C.; NENCINI, L.; BAROLO, C.; SORDELLO, F.; MINERO, C.; FIEDLER, J.; ROBERT, M.; GOBETTO, R.; NERVI, C. «Frontispiece: local proton source in electrocatalytic CO₂ reduction with [Mn(bpy-R)(CO)₃Br] complexes». *Chem. Eur. J.* [en línia], 23 (20) (2017), p. 4782-4793. <<https://doi.org/10.1002/chem.201782063>>.
- [14] RØNNE, M. H.; CHO, D.; MADSEN, M. R.; JAKOBSEN, J. B.; EOM, S.; ESCOUDÉ, É.; HAMMERSHØJ, H. C. D.; NIELSEN, D. U.; PEDERSEN, S. U.; BAIK, M.-H.; SKRYDSTRUP, T.; DAASBJERG, K. «Ligand-controlled product selectivity in electrochemical carbon dioxide reduction using manganese bipyridine catalysts». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 142 (9) (2020), p. 4265-4275. <<https://doi.org/10.1021/jacs.9b11806>>.
- [15] a) BHATTACHARYA, M.; SEBGHATI, S.; VANDERLINDEN, R. T.; SAOUMA, C. T. «Toward combined carbon capture and recycling: addition of an amine alters product selectivity from CO to formic acid in manganese catalyzed reduction of CO₂». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 142 (41) (2020), p. 17589-17597. <<https://doi.org/10.1021/jacs.0c07763>>. b) MADSEN, M. R.; RØNNE, M. H.; HEUSCHEN, M.; GOLO, D.; AHLQUIST, M. S. G.; SKRYDSTRUP, T.; PEDERSEN, S. U.; DAASBJERG, K. «Promoting selective generation of formic acid from CO₂ using Mn(bpy)(CO)₃Br as electrocatalyst and triethylamine/isopropanol as additives». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 143 (48) (2021), p. 20491-20500. <<https://doi.org/10.1021/jacs.1c10805>>.
- [16] REUILLARD, B.; LY, K. H.; ROSSER, T. E.; KUEHNEL, M. F.; ZEBGER, I.; REISNER, E. «Tuning product selectivity for aqueous CO₂ reduction with a Mn(bipyridine)-pyrene catalyst immobilized on a carbon nanotube electrode». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 139 (41) (2017), p. 14425-14435. <<https://doi.org/10.1021/jacs.7b06269>>.
- [17] DUBED BANDOMO, G. C.; MONDAL, S. S.; FRANCO, F.; BUCCI, A.; MARTIN-DIACONESCU, V.; ORTUÑO, M. A.; LANGEVELDE, P. H. VAN; SHAFIR, A.; LÓPEZ, N.; LLORET-FILLOL, J. «Mechanically constrained catalytic Mn(CO)₃Br single sites in a two-dimensional covalent organic framework for CO₂ electroreduction in H₂O». *ACS Catal.* [en línia], 11 (12) (2021), p. 7210-7222. <<https://doi.org/10.1021/acscatal.1c00314>>.
- [18] FRANCO, F.; PINTO, M. F.; ROYO, B.; LLORET-FILLOL, J. «A highly active N-heterocyclic carbene manganese(I) complex for selective electrocatalytic CO₂ reduction to CO». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 57 (17) (2018), p. 4603-4606. <<https://doi.org/10.1002/anie.201800705>>.



S. Fernández

Sergio Fernández ha fet la tesi doctoral a l'Institut Català d'Investigació Química (ICIQ) sota la supervisió dels professors Julio Lloret Fillol (ICIQ, ICREA) i Josep M. Luis (ICIQ, UdG) en l'àmbit de la catàlisi molecular fotoquímica i electroquímica per a la producció d'energia. Es va graduar en química per la UdG l'any 2017. Posteriorment, va cursar el Màster en Catàlisi Avançada i Modelització Molecular a l'Institut de Química Computacional i Catàlisi (IQCC) de la mateixa universitat. En ambdues titulacions va obtenir el premi extraordinari al millor expedient acadèmic. El setembre de 2022 es va incorporar com a investigador postdoctoral al grup del professor Alex Miller a la Universitat de Carolina del Nord a Chapel Hill (EUA).

Bisfuncionalització regioselectiva de fullerenes amb màscares supramoleculares

Regioselective bis-functionalization of fullerenes using supramolecular masks

Valentina Iannace i Xavi Ribas

Universitat de Girona. Facultat de Ciències. Departament de Química. Institut de Química Computacional i Catàlisi (IQCC)

Resum: Durant els últims anys s'ha demostrat la importància d'utilitzar isòmers purs d'adductes de fullerè en el disseny de cèl·lules solars de nova generació per obtenir una millor eficiència en comparació amb la mescla d'isòmers. Malgrat això, la modificació regioselectiva dels fullerenes és encara un problema persistent de la síntesi orgànica, i s'obtenen mesclades complexes de multiadductes després de la funcionalització dels fullerenes. En aquest treball revisem les estratègies sintètiques per aconseguir la síntesi selectiva de multiadductes de fullerè C_{60} , amb èmfasi especial en l'ús de màscares supramoleculares.

Paraules clau: Fullerè, química supramolecular, quimioselectivitat, regioselectivitat, fotovoltaica orgànica, química receptor-substrat, màscares supramoleculares, caixes supramoleculares.

Abstract: In recent years, the importance has been demonstrated of using pure isomers of fullerene adducts in the design of new-generation solar cells to achieve a better efficiency compared to isomer mixture. Despite this, the regio- and chemo-selective modification of fullerenes remains a long-standing problem of organic synthesis since complicated mixtures of multi-adducts upon functionalization of fullerenes are obtained. In this paper, we review the synthetic approaches available to achieve the regio- and chemo-selective synthesis of multi-adducts of fullerene C_{60} , with a special focus on recent studies of the use of supramolecular masks.

Keywords: Fullerenes, supramolecular chemistry, chemo-selectivity, regio-selectivity, organic photovoltaics, host-guest chemistry, supramolecular masks, supramolecular cages.

Introducció

Els fullerenes són formes al·lotròpiques de carboni que consisteixen en àtoms de carboni connectats per enllaços simples i dobles que formen una malla esferoide tancada, de formes i mides molt diferents. El C_{60} , també anomenat *buckminsterfullerè*, és la molècula estable de fullerè més petita i conté dotze anells pentagonals i vint d'hexagonals (vegeu la figura 1), amb una geometria idèntica a una pilota de futbol [1]. Des del seu descobriment, les espècies de fullerè han adquirit un interès creixent en diversos camps, com ara la ciència dels materials, la conversió d'energia de les cèl·lules solars [2] i l'emmagatzematge d'energia [3], i la química biomèdica [4, 5]. Malgrat el seu interès fonamental, el seu aïllament com a materials purs només està ben resolt per al C_{60} i el C_{70} , que són els més abundants. Els fullerenes han despertat l'interès per la seva

aplicació en electrònica i especialment en el camp de les cèl·lules solars de nova generació. L'aplicació generalitzada dels fullerenes i els seus derivats en l'electrònica, ja sigui en cel·les solars orgàniques o en cel·les solars basades en perovskites, es deu principalment a la seva habilitat acceptora d'electrons i, al mateix temps, a la seva petita energia de reorganització en la transferència d'electrons degut a una estructura excepcionalment rígida [6].

Correspondència: Valentina Iannace
Universitat de Girona. Facultat de Ciències. Departament de Química. Institut de Química Computacional i Catàlisi (IQCC)
Campus Montilivi. C. de M. Aurèlia Capmany, 69. 17003 Girona
Tel.: +34 683 376 925
A/e: valentina.iannace@udg.edu

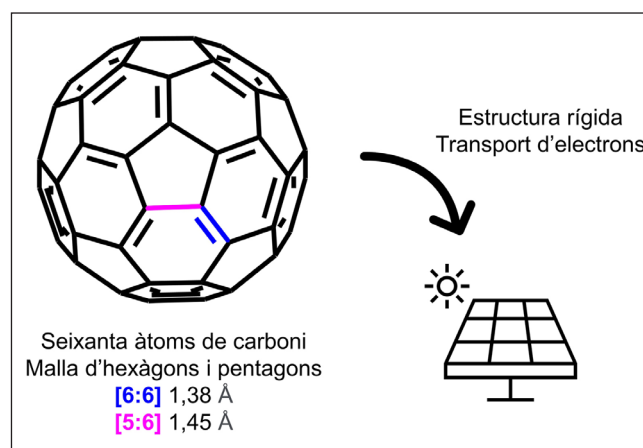


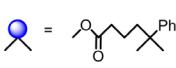


FIGURA 1. C_{60} (buckminsterfullerè). Descobert l'any 1985, és el fullerè més conegut. La figura destaca els dos tipus d'enllaç covalent presents a la molècula. Elaboració pròpia.

Durant els darrers anys s'han realitzat nombrosos estudis [7-9] sobre la funcionalització química i la modificació dels fullerenes, principalment per la necessitat de fer els fullerenes altament solubles i permetre així la preparació de dispositius electrònics orgànics mitjançant processament en solució [10]. La síntesi de monoadductes de C_{60} , C_{70} i fins i tot d'alguns metallofullerenes endoèdrics (EMF, *endohedral (metallo)fullerenes*) és un problema ben resolt, però la polifuncionalització incontrolada normalment fa que les barreges complexes de regioisòmers siguin intractables. La polifuncionalització regioselectiva dels fullerenes mostra el problema general d'exercir selectivitat en molècules esfèriques.

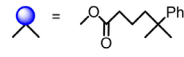
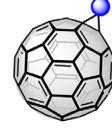

Funcionalització

Els monoadductes generalment tenen solubilitats molt augmentades en comparació amb els fullerenes no funcionalitzats, com s'exemplifica amb PCBM- C_{60} ([6,6]-fenil-C61-butirat de metil) [11], que s'utilitza habitualment com a acceptor d'electrons a les cèl·lules solars orgàniques [12]. Transformar C_{60} en un monoadducte com PCBM- C_{60} augmenta la seva solubilitat en toluè en un ordre de magnitud. L'addició d'un altre èster fenilbutíric dona com a resultat bis-PCBM- C_{60} , que presenta una solubilitat encara més gran (vegeu la taula 1) i una energia LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*) més alta (vegeu la taula 2) [13]. A causa d'aquestes propietats favorables, aquesta classe de monoadductes de C_{60} té una aplicació generalitzada tant en cèl·lules solars amb heterojuncions orgàniques (BHJ-OSC, *bulk-heterojunction organic solar cells*) com en cèl·lules solars de perovskita (PSC, *perovskite solar cells*), com a capa de transport d'electrons (ETL, *electron transport layer*) [14, 15].

TAULA 1. Relació entre la funcionalització del C_{60} i la seva solubilitat. Elaboració pròpia.

		
	C_{60}	Mono-PCBM
Solubilitat en toluè (mg/mL)	2	19

TAULA 2. Energia LUMO dels mono- i bisadductes de tipus PCBM- C_{60} . Elaboració pròpia.

		
	Mono-PCBM	Bis-PCBM
Nivells d'energia LUMO (eV)	-3,67	-3,60

Les cicloadicions de Diels-Alder [4 + 2] o cicloadicions 1,3-dipolars de Prato [16], les reaccions de ciclopropanació de tipus Bingel [17] o Bingel-Hirsh [18], així com les reaccions de ciclopropanació de tipus PCBM descrites anteriorment representen les transformacions més utilitzades per funcionalitzar els fullerenes (vegeu la figura 2). La viabilitat d'aquestes reaccions en condicions suaus es deu a la reactivitat única dels dobles enllaços [7] dels fullerenes. Es poden instal·lar *a priori* diferents nombres d'adductes, de manera que s'obtenen els anomenats *productes mono-, bis-, tris-, tetraquis-, pentaquis- o hexaquis-*. Aquí ens centrem en la formació de bisadductes, ja que aquests derivats representen un bon compromís per a solubilitat i capacitat d'acceptació d'electrons [13].

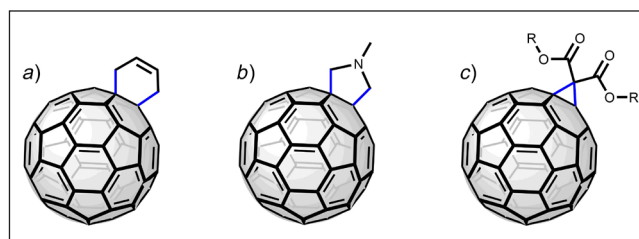


FIGURA 2. Tipus de funcionalització de fullerè: a) cicloadició de Diels-Alder [4 + 2]; b) cicloadició 1,3-dipolar de Prato; c) ciclopropanació de tipus Bingel. Elaboració pròpia.

Regioselectivitat i quimioselectivitat

No obstant la bona reactivitat dels fullerenes, la funcionalització múltiple regiocontrolada es reconeix com el tendó d'Aquilles de la preparació de derivats polifuncionalitzats purs de fullerè, ja que les mescles de regioisòmers que s'obtenen solen ser inseparables. És important trobar una solució a aquest problema, perquè tindria un gran impacte en molts camps i, en particular, en les cèl·lules solars, on s'ha demostrat àmpliament que els isòmers purs tenen una eficiència més alta que les mescles de regioisòmers [19, 20]. En general, la naturalesa esfèrica de C_{60} , que conté diversos enllaços dobles amb una

reactivitat gairebé idèntica, compromet la síntesi controlada quimioselectiva [21] i regioselectiva [22] de poliadductes. El mètode convencional per separar els isòmers d'adductes C_{60} és la purificació per cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC, *high performance liquid chromatography*) amb columnes Buckyprep, que requereix temps, és molt costosa i habitualment no és exitosa. De manera general, s'obtenen mescles de multi-adductes amb regioselectivitat incontrolada. Per exemple, quan es formen bisadductes de C_{60} amb reactius simètrics s'obtenen fins a vuit regioisòmers diferents perquè els dobles enllaços [6,6]- són en principi tots accessibles per a reaccions d'addició (vegeu la figura 3). Quan s'utilitzen reactius asimètrics es poden obtenir fins a trenta-set regioisòmers diferents, tots ells amb propietats optoelectròniques diferents (vegeu la taula 3).

TAULA 3. Quimioselectivitat en els monoadductes i bisadductes de C_{60} . Elaboració pròpia.



	Mono-PCBM	Bis-PCBM
Simètric	1	8
Asimètric	1	37

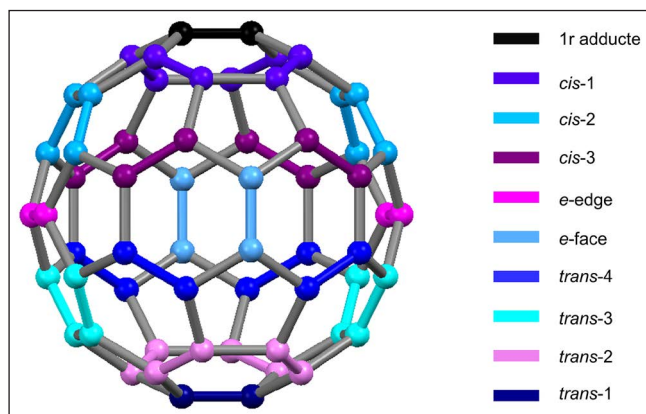


FIGURA 3. Els possibles regioisòmers dels bisadductes de C_{60} . Elaboració pròpia.

El problema de les mescles de regioisòmers no es limita a la funcionalització del C_{60} . De fet, les mescles de regioisòmers són encara més freqüents en derivats de fullerenes superiors a causa de la seva simetria intrínsecament més baixa (no esfèrics). Fins i tot els monoadductes de C_{70} , com en l'acceptor d'electrons PCBM- C_{70} [20], existeixen com una barreja de regioisòmers (mono- α , mono- β , mono- γ), i articles recents

suggereixen fermament que els regioisòmers de C_{70} no contribueixen igualment al rendiment dels dispositius fotovoltaics.

Estratègies per aconseguir la funcionalització regioselectiva de fullerenes

Per les raons esmentades anteriorment, el repte de la síntesi quimioselectiva i regioselectiva d'adductes de fullerè ja fa temps que es coneix i s'han desenvolupat diferents estratègies per afrontar-lo.

Espaiadors rígids

Per abordar la manca de regioselectivitat, destaca l'estratègia de funcionalització remota dirigida per espaiadors rígids (vegeu la figura 4) per a la síntesi d'adductes bis-, tris-, pentaquis- i hexaquis- sota regiocontrol, desenvolupada per primera vegada per Diederich el 1994 [23].

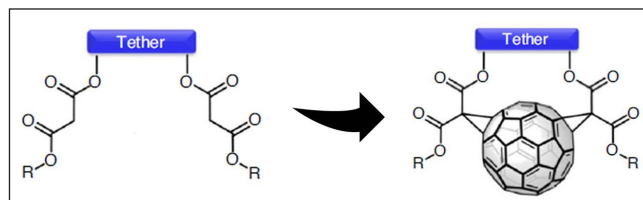


FIGURA 4. Estratègia dirigida per espaiadors rígids. Elaboració pròpia.

En l'estratègia dirigida per espaiadors rígids convencional, s'installa un espaiador de longitud modificable en un adducte bidentat per obtenir els isòmers dels bisadductes desitjats. Per exemple, en una reacció de ciclopropanació de Bingel, la longitud del pont (*linker*) en un reactiu malonat ditòpic dicta la distància màxima entre els dos adductes i condueix només a un dels possibles regiobisòmers [24, 25]. Parlant d'espaiadors supramoleculars, Hirsch [26] va descriure l'ús d'una porfirina bis-substituída que aprofitava una interacció no covalent entre una porfirina metal·lada i C_{60} l'any 2006. Concretament, amb una porfirina de Co^{II} (vegeu la figura 5a), es va aconseguir una reacció de Bingel doble cap al bisadducte respectiu amb un alt nivell de selectivitat cap als isòmers *trans-1* i *trans-2*. Més recentment, Đorđević i Prato [27] van demostrar que els espaiadors a base d'azobenzè (vegeu la figura 5b), poden oferir selectivitat en la bisaddició al C_{60} en funció de la configuració de

l'espaiador. L'espaiador (*Z*) va poder canviar la distribució típica de la reacció de Bingel cap a la formació predominant del regioisòmer *e* (rendiment rel., 81%), mentre que l'espaiador (*E*) va proporcionar el regioisòmer *trans*-4 (rendiment rel., 91%).

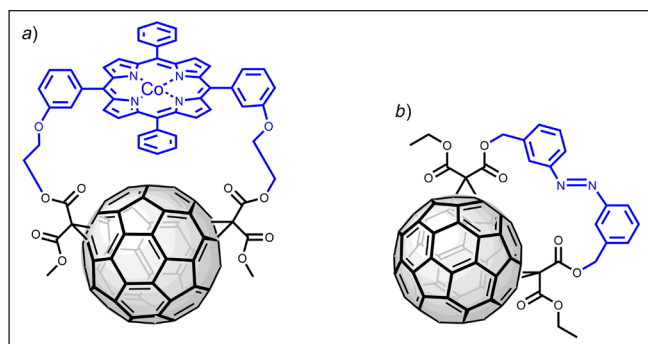


FIGURA 5. a) Espaiador amb porfirina de Co^{II} reportat per Hirsch el 2006 [26]. b) Espaiador a base d'azobenzè sensible a la llum, isòmer *e*, reportat per Đorđević i Prato el 2021 [27]. Elaboració pròpia.

Nanocèrcols com a plantilles

El 2018, Von Delius i els seus col·laboradors van proposar un enfocament *trans*-selectiu per a la síntesi del bisadducte de tipus Bingel del C_{60} , utilitzant el nanocèrcol [10]CPP [28]. Aquesta molècula en forma d'anell genera un complex supramolecular amb el C_{60} , de tal manera que actua com a plantilla, restringeix l'accessibilitat dels reactius i acaba inferint un grau substancial de regiocontrol (vegeu la figura 6). Específicament, els regioisòmers *trans*-2 i *trans*-3 es van obtenir com a producte principal, juntament amb una petita quantitat de *trans*-1 amb la supressió completa de l'isòmer *e*, el qual normalment representa el producte predominant en aquestes reaccions de Bingel.

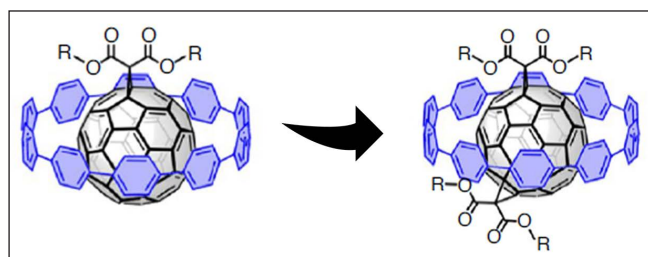


FIGURA 6. Nanocèrcol [10]CPP dirigint la bisfuncionalització del C_{60} . Elaboració pròpia.

Estratègies supramoleculares

La modulació de la regioselectivitat en reaccions múltiples d'addició mitjançant el confinament de C_{60} en receptors su-

pramoleculares ha sorgit recentment com un enfocament alternatiu [29]. Inspirades per la forta interacció π - π entre els hidrocarburs poliaromàtics o porfirines i els fullerenes, es van dissenyar una varietat de càpsules supramoleculares [30-35] amb aquests motius per actuar com a màscares per a les reaccions d'addició al fullerè. Per exemple, el confinament de C_{60} en una caixa metal·lo-supramolecular en forma de bol i amb una sola obertura va ser utilitzat pel grup de Clever per encapsular C_{60} i obtenir exclusivament el monoadducte de tipus Diels-Alder, malgrat utilitzar un gran excés d'antracè, fet que representa un cas important de quimioselectivitat [36]. En un estudi anterior, Nitschke i els seus col·laboradors van utilitzar una caixa metal·lo-supramolecular autoacoblada per confinar C_{60} [37] i van poder demostrar la formació quimioselectiva del bisadducte entre C_{60} i indè o antracè mitjançant la cicloaddició de Diels-Alder. Tot i que no es va investigar la regioselectivitat de la reacció d'addició, aquest estudi n'ha inspirat d'altres, en el camp, a utilitzar caixes autoacoblades per generar adductes múltiples C_{60} regioisomèricament purs.

Màscares supramoleculares

El 2020, Ribas i el seu grup van reportar l'ús d'una nanocàpsula tetragonal prismàtica [38] sofisticada basada en Pd que va permetre la inclusió de C_{60} i la formació seqüencial dels adductes de tipus Bingel mono-, bis-, tris- i tetraquis- amb selectivitat exclusivament equatorial *e*, degut a la geometria de la càpsula i al fet de restringir l'accessibilitat a la superfície del C_{60} en la seva zona equatorial (vegeu la figura 7).

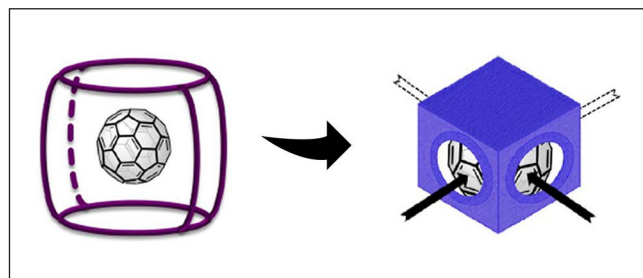


FIGURA 7. Estratègia de màscara supramolecular. Les quatre finestres de la caixa permeten una regioselectivitat equatorial perfecta. Elaboració pròpia.

Variant la quantitat de reactiu malonat, els autors van poder obtenir mono-, bis-(*e,e*), tris-(*e,e,e*) i tetraquis-(*e,e,e,e*), i en dur a terme la reacció en dos passos es va poder accedir a un adducte hexaquis- equipat amb dos tipus diferents d'addends. Aquesta regioselectivitat perfecta es va basar en una forta in-

clusió i coincidència de simetria entre el C_{60} i la caixa, avalada per les simulacions de dinàmiques moleculars. També el 2020, Beuerle va publicar un treball en el qual s'utilitzava una càpsula purament orgànica amb geometria bipiràmide trigonal [39] per obtenir trisadductes de tipus Prato com a regioisòmers *trans*-3. Aquests regioisòmers eren fruit de la geometria imposada per la caixa. El 2021, Ribas i Delius van combinar les seves estratègies de nanocèrcol i màscara supramolecular per aconseguir el control total de la regioselectivitat per bisadductes dissenyant un complex supramolecular de tres closques de tipus matrioixca [40]. El complex es forma encapsulant C_{60} al nanocèrcol [10]CPP i després a la nanocàpsula tetragonal prismàtica. Després de l'exposició del complex supramolecular matrioixca a les condicions de reacció de ciclopropanació de Bingel, la funcionalització del C_{60} interior es va dirigir a formar exclusivament el bisòmer *trans*-3 (vegeu la figura 8).

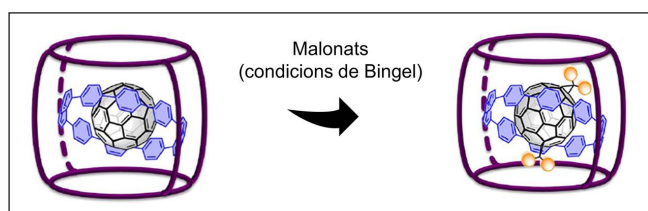


FIGURA 8. El complex matrioixca de tres closques condueix a la formació exclusiva del bisòmer *trans*-3. Elaboració pròpia.

La combinació del [10]CPP i l'encapsulació de la màscara supramolecular al sistema matrioixca de tres closques no només condueix a una regioselectivitat perfecta que no té precedents, sinó que també evita qualsevol sobrefuncionalització a causa de l'entorn confinat. L'ús de conjunts de matrioixca heterolèptic de tres closques pot convertir-se en una estratègia d'elecció per sintetitzar bisadductes de fullerè regioisomèricament purs molt interessants que, al seu torn, poden conduir a més avenços en l'electrònica orgànica i les cèl·lules solars.

Conclusions

En els últims anys, els investigadors del camp de la ciència dels materials han establert que els bisadductes de fullerè pur d'isòmers superen significativament les mescles d'isòmers utilitzades anteriorment en el camp de les cèl·lules solars. Al mateix temps, els químics supramoleculars han demostrat que el sistema receptor-substrat es pot utilitzar per controlar la quimioselectivitat i la regioselectivitat en les reaccions d'addició múltiple al C_{60} . Tal com es mostra en els exemples anteriors

amb alguns tipus de funcionalització (Bingel, Prato, Diels Alder, etc.), s'ha aconseguit un control regioisòmer parcial i en alguns casos selectivitat exclusiva. Aquest article mostra que encara queda molt camp per recórrer i, per tant, molts regioisòmers per sintetitzar de manera selectiva. És important destacar que el camp és emergent i que les estratègies de funcionalització regioselectiva reportades han utilitzat exclusivament el C_{60} . En aquest sentit, el nostre grup de recerca està treballant intensament per demostrar que l'estratègia de màscares supramoleculars és aplicable a C_{70} i a altres fullerenes superiors. Addicionalment, és imaginable que ampliant les eines supramoleculars disponibles seria *a priori* possible l'obtenció de qualsevol adducte múltiple de fullerè amb un alt rendiment i com a regioisòmer únic, la qual cosa minimitzaria o faria innecessària la purificació cromatogràfica. Això representaria un pas endavant sense precedents en diferents camps de recerca, com per exemple cap al descobriment de la propera generació millorada de cèl·lules solars (orgàniques o basades en perovskita).

Agraïments

Aquest treball va comptar amb el suport de les beques del Ministeri d'Economia i Empresa del Govern espanyol (MINECO) (CTQ2016-77989-P i PID2019-104498GB-I00 a Xavi Ribas, i una beca de formació de personal investigador (FPI) de doctorat a Valentina Iannace) i de la Generalitat de Catalunya (2017SGR264).

Referències

- [1] KRÄTSCHMER, W.; LAMB, L. D.; FOSTIROPOULOS, K.; HUFFMAN, D. R. «Solid C_{60} : A new form of carbon». *Nature* [en línia], 347 (1990), p. 354-358. <<https://doi.org/10.1038/347354a0>>.
- [2] CASTRO, E.; MURILLO, J.; FERNANDEZ-DELGADO, O.; ECHEGOYEN, L. «Progress in fullerene-based hybrid perovskite solar cells». *J. Mater. Chem. C* [en línia], 6 (11) (2018), p. 2635-2651. <<https://doi.org/10.1039/c7tc04302c>>.
- [3] FRIEDL, J.; LEBEDEV, M. A.; PORFYRAKIS, K.; STIMMING, U.; CHAMBERLAIN, T. W. «All-fullerene-based cells for nonaqueous redox flow batteries». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 140 (1) (2018), p. 401-405. <<https://doi.org/10.1021/jacs.7b11041>>.
- [4] MUÑOZ, A.; SIGWALT, D.; ILLESCAS, B. M.; LUCZKOWIAK, J.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, L.; NIERENGARTEN, I.; HOLLER, M.; REMY, J.-S.; BUFFET,

- K.; VINCENT, S. P.; ROJO, J.; DELGADO, R.; NIERENGARTEN, J.-F.; MARTÍN, N. «Synthesis of giant globular multivalent glycofullerenes as potent inhibitors in a model of Ebola virus infection». *Nat. Chem.* [en línea], 8 (1) (2016), p. 50–57. <<https://doi.org/10.1038/nchem.2387>>.
- [5] NIERENGARTEN, J.-F.; SCHNEIDER, J. P.; TRINH, T. M. N.; JOOSTEN, A.; HOLLER, M.; LEPAGE, M. L.; BODLENNER, A.; GARCÍA-MORENO, M. I.; ORTIZ MELLET, C.; COMPAIN, P. «Giant glycosidase inhibitors: First- and second-generation fullerodendrimers with a dense imino-sugar shell». *Chem. Eur. J.* [en línea], 24 (10) (2018), p. 2483–2492. <<https://doi.org/10.1002/chem.201705600>>.
- [6] HE, Y.; LI, Y. «Fullerene derivative acceptors for high performance polymer solar cells». *Phys. Chem. Chem. Phys.* [en línea], 13 (6) (2011), p. 1970–1983. <<https://doi.org/10.1039/c0cp01178a>>.
- [7] HIRSCH, A.; BRETTREICH, M. *Fullerenes: Chemistry and reactions*. Gran Bretanya: Wiley-VCH, 2004.
- [8] YAMADA, M.; AKASAKA, T.; NAGASE, S. «Carbene additions to fullerenes». *Chem. Rev.* [en línea], 113 (9) (2013), p. 7209–7264. <<https://doi.org/10.1021/cr3004955>>.
- [9] TZIRAKIS, M. D.; ORFANOPOULOS, M. «Radical reactions of fullerenes: From synthetic organic chemistry to materials science and biology». *Chem. Rev.* [en línea], 113 (7) (2013), p. 5262–5321. <<https://doi.org/10.1021/cr300475r>>.
- [10] PUENTE SANTIAGO, A. R.; FERNANDEZ-DELGADO, O.; GÓMEZ, A.; AHSAN, M. A.; ECHEGOYEN, L. «Fullerenes as key components for low-dimensional (photo)electrocatalytic nanohybrid materials». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línea], 60 (1) (2021), p. 122–141. <<https://doi.org/10.1002/anie.202009449>>.
- [11] HUMMELEN, J. C.; KNIGHT, B. W.; LEPEQ, F.; WUDL, F.; YAO, J.; WILKINS, C. L. «Preparation and characterization of fulleroid and methanofullerene derivatives». *J. Org. Chem.* [en línea], 60 (3) (1995), p. 532–538. <<https://doi.org/10.1021/jo00108a012>>.
- [12] BERGER, P. R.; KIM, M. «Polymer solar cells: P3HT:PCBM and beyond». *J. Renewable Sustainable Energy* [en línea], 10 (1) (2018). <<https://doi.org/10.1063/1.5012992>>.
- [13] HE, Y.; CHEN, H.-Y.; HOU, J.; LI, Y. «Indene-C₆₀ bisadduct: a new acceptor for high-performance polymer solar cells». *J. Am. Chem. Soc.* [en línea], 132 (4) (2010), p. 1377–1382. <<https://doi.org/10.1021/ja908602j>>.
- [14] DENG, L.-L.; XIE, S.-Y.; GAO, F. «Fullerene-based materials for photovoltaic applications: toward efficient, hysteresis-free, and stable perovskite solar cells». *Adv. Electron. Mater.* [en línea], 4 (10) (2018). <<https://doi.org/10.1002/aelm.201700435>>.
- [15] CASTRO, E.; FERNANDEZ-DELGADO, O.; ARSLAN, F.; ZAVALA, G.; YANG, T.; SEETHARAMAN, S.; D'SOUZA, F.; ECHEGOYEN, L. «New thiophene-based C₆₀ fullerene derivatives as efficient electron transporting materials for perovskite solar cells». *New. J. Chem.* [en línea], 42 (17) (2018), p. 14551–14558. <<https://doi.org/10.1039/c8nj03067g>>.
- [16] MAGGINI, M.; SCORRANO, G.; PRATO, M. «Addition of azo-methine ylides to C60: Synthesis, characterization, and functionalization of fullerene». *J. Am. Chem. Soc.* [en línea], 115 (21) (1993), p. 9798–9799. <<https://doi.org/10.1021/ja00074a056>>.
- [17] BINGEL, C. «Cyclopropanierung von fullerenen». *Chem. Ber.* [en línea], 126 (8) (1993), p. 1957–1959. <<https://doi.org/10.1002/cber.19931260829>>.
- [18] DJOJO, F.; HIRSCH, A. «Synthesis and chiroptical properties of enantiomerically pure bis- and trisadducts of C₆₀ with an inherent chiral addition pattern». *Eur. J. Org. Chem.* [en línea], 4 (2) (1998), p. 344–356. <[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3765\(19980210\)4:2<344::AID-CHEM344>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3765(19980210)4:2<344::AID-CHEM344>3.0.CO;2-Y)>.
- [19] ZHANG, F.; SHI, W.; LUO, J.; PELLET, N.; YI, C.; LI, X.; ZHAO, X.; DENNIS, T. J. S.; LI, X.; WANG, S.; XIAO, Y.; ZAKEERUDDIN, S. M.; BI, D.; GRÄTZEL, M. «Isomer-pure bis-PCBM-assisted crystal engineering of perovskite solar cells showing excellent efficiency and stability». *Adv. Mater.* [en línea], 29 (17) (2017). <<https://doi.org/10.1002/adma.201606806>>.
- [20] UMEYAMA, T.; MIYATA, T.; JAKOWETZ, A. C.; SHIBATA, S.; KUROTOBI, K.; HIGASHINO, T.; KOGANEZAWA, T.; TSUJIMOTO, M.; GÉLINAS, S.; MATSUDA, W.; SEKI, S.; FRIEND, R. H.; IMAHORI, H. «Regioisomer effects of [70]fullerene mono-adduct acceptors in bulk heterojunction polymer solar cells». *Chem. Sci.* [en línea], 8 (1) (2016), p. 181–188. <<https://doi.org/10.1039/C6SC02950G>>.
- [21] CANEVET, D.; PÉREZ, E. M.; MARTÍN, N. «Wraparound hosts for fullerenes: tailored macrocycles and cages». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línea], 50 (40) (2011), p. 9248–9259. <<https://doi.org/10.1002/anie.201101297>>.
- [22] YAN, W.; SEIFERMANN, S. M.; PIERRAT, P.; BRÄSE, S. «Synthesis of highly functionalized C₆₀ fullerene derivatives and their applications in material and life sciences». *Org. Biomol. Chem.* [en línea], 13 (1) (2015), p. 25–54. <<https://doi.org/10.1039/c4ob01663g>>.
- [23] ISAACS, L.; HALDIMANN, R. F.; DIEDERICH, F. «Tether-directed remote functionalization of buckminsterfullerene: regio-specific hexaadduct formation». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línea], 33 (22) (1994), p. 2339–2342. <<https://doi.org/10.1002/anie.199423391>>.
- [24] QIAN, W.; RUBIN, Y. «Complete control over addend permutation at all six pseudo-octahedral positions of fullerene

- C_{60} ». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 122 (39) (2000), p. 9564–9565. <<https://doi.org/10.1021/ja001795c>>.
- [25] BEUERLE, F.; HIRSCH, A. «Synthesis and orthogonal functionalization of [60]fullerene e,e,e-trisadducts with two spherically defined addend zones». *Chem. Eur. J.* [en línia], 15 (30) (2009), p. 7434–7446. <<https://doi.org/10.1002/chem.200900329>>.
- [26] DANNHÄUSER, J.; DONAUBAUER, W.; HAMPEL, F.; REIHER, M.; LE GUENNIC, B.; CORZILIUS, B.; DINSE, K.-P.; HIRSCH, A. « σ -donor and π -acceptor stacking interactions in a trans-2-linked C_{60} -cobalt(II) tetraphenylporphyrin diad». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 45 (20) (2006), p. 3368–3372. <<https://doi.org/10.1002/anie.200504383>>.
- [27] ĐORĐEVIĆ, L.; CASIMIRO, L.; DEMITRI, N.; BARONCINI, M.; SILVI, S.; ARCUCCI, F.; CREDI, A.; PRATO, M. «Light-controlled regioselective synthesis of fullerene bis-adducts». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 60 (1) (2021), p. 313–320. <<https://doi.org/10.1002/anie.202009235>>.
- [28] XU, Y.; KAUR, R.; WANG, B.; MINAMEYER, M. B.; GSÄNGER, S.; MEYER, B.; DREWELLO, T.; GULDI, D. M.; DELIUS, M. von. «Concave-convex π - π template approach enables the synthesis of [10]cycloparaphenylene-fullerene [2]rotaxanes». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 140 (41) (2018), p. 13413–13420. <<https://doi.org/10.1021/jacs.8b08244>>.
- [29] YOSHIZAWA, M.; KLOSTERMAN, J. K.; FUJITA, M. «Functional molecular flasks: New properties and reactions within discrete, self-assembled hosts». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 48 (19) (2009), p. 3418–3438. <<https://doi.org/10.1002/anie.200805340>>.
- [30] GARCÍA-SIMÓN, C.; COSTAS, M.; RIBAS, X. «Metallosupramolecular receptors for fullerene binding and release». *Chem. Soc. Rev.* [en línia], 45 (1) (2016), p. 40–62. <<https://doi.org/10.1039/c5cs00315f>>.
- [31] TASHIRO, K.; AIDA, T. «Metalloporphyrin hosts for supramolecular chemistry of fullerenes». *Chem. Soc. Rev.* [en línia], 36 (2) (2007), p. 189–197. <<https://doi.org/10.1039/b614883m>>.
- [32] MARKIEWICZ, G.; JENCZAK, A.; KOŁODZIEJSKI, M.; HOLSTEIN, J. J.; SANDERS, J. K. M.; STEFANKIEWICZ, A. R. «Selective C_{70} encapsulation by a robust octameric nanospheroid held together by 48 cooperative hydrogen bonds». *Nat. Commun.* [en línia], 8 (2017). <<https://doi.org/10.1038/ncomms15109>>.
- [33] WOOD, D. M.; MENG, W.; RONSON, T. K.; STEFANKIEWICZ, A. R.; SANDERS, J. K. M.; NITSCHKE, J. R. «Guest-induced transformation of a porphyrin-edged $Fe^II_4L_6$ capsule into a $Cu^IFe^II_2L_4$ fullerene receptor». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 127 (13) (2015), p. 4060–4064. <<https://doi.org/10.1002/ange.201411985>>.
- [34] CHEN, B.; HORIUCHI, S.; HOLSTEIN, J. J.; TESSAROLO, J.; CLEVER, G. H. «Tunable fullerene affinity of cages, bowls and rings assembled by Pd^II coordination sphere engineering». *Chem. Eur. J.* [en línia], 25 (65) (2019), p. 14921–14927. <<https://doi.org/10.1002/chem.201903317>>.
- [35] BOYD, P. D. W.; REED, C. A. «Fullerene-porphyrin constructs». *Acc. Chem. Res.* [en línia], 38 (4) (2005), p. 235–242. <<https://doi.org/10.1021/ar040168f>>.
- [36] CHEN, B.; HOLSTEIN, J. J.; HORIUCHI, S.; HILLER, W. G.; CLEVER, G. H. « $Pd(II)$ coordination sphere engineering: pyridine cages, quinoline bowls, and heteroleptic pills binding one or two fullerenes». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 141 (22) (2019), p. 8907–8913. <<https://doi.org/10.1021/jacs.9b02207>>.
- [37] BRENNER, W.; RONSON, T. K.; NITSCHKE, J. R. «Separation and selective formation of fullerene adducts within an $M^II_8L_6$ cage». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 139 (1) (2017), p. 75–78. <<https://doi.org/10.1021/jacs.6b11523>>.
- [38] FUERTES-ESPINOSA, C.; GARCÍA-SIMÓN, C.; PUJALS, M.; GARCÍA-BORRÁS, M.; GÓMEZ, L.; PARELLA, T.; JUANHUIX, J.; IMAZ, I.; MASPOCH, D.; COSTAS, M.; RIBAS, X. «Supramolecular fullerene sponges as catalytic masks for regioselective functionalization of C_{60} ». *Chem.* [en línia], 6 (1) (2020), p. 169–186. <<https://doi.org/10.1016/j.chempr.2019.10.010>>.
- [39] LEONHARDT, V.; FIMMEL, S.; KRAUSE, A.-M.; BEUERLE, F. «A covalent organic cage compound acting as a supramolecular shadow mask for the regioselective functionalization of C_{60} ». *Chem. Sci.* [en línia], 11 (32) (2020), p. 8409–8415. <<https://doi.org/10.1039/d0sc03131c>>.
- [40] UBASART, E.; BORODIN, O.; FUERTES-ESPINOSA, C.; XU, Y.; GARCÍA-SIMÓN, C.; GÓMEZ, L.; JUANHUIX, J.; GÁNDARA, F.; IMAZ, I.; MASPOCH, D.; DELIUS, M. VON; RIBAS, X. «A three-shell supramolecular complex enables the symmetry-mismatched chemo- and regioselective bis-functionalization of C_{60} ». *Nat. Chem.* [en línia], 13 (5) (2021), p. 420–427. <<https://doi.org/10.1038/s41557-021-00658-6>>.



V. Iannace



X. Ribas

Valentina Iannace és graduada en química (2017) i té el Màster d'Especialització en Química Orgànica (2020) per la Universitat La Sapienza de Roma. L'any 2021 es va incorporar al grup de Química Bioinspirada, Supramolecular i Catàlisi (QBIS-CAT) per realitzar la tesi doctoral, basada en l'estudi de la química supermolecular en l'espai confinat de nanocàpsules, sota la supervisió del doctor Xavi Ribas.

Xavi Ribas es va doctorar en química el 2001 a la Universitat de Girona (UdG). Seguidament es va postdoctorar a l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (2002-2004). Des del 2006 és professor agregat de química inorgànica a la UdG. Ha estat guardonat amb premis ICREA-Acadèmia (2010, 2015, 2020), ha rebut una ERC-Starting Grant (2011) i també el Premio a la Excelencia Investigadora de la Real Sociedad Española de Química (2018). Ha publicat uns cent quaranta articles i té un índex $h = 48$.

Preparació de blocs quirals per a nous agents de penetració cel·lular *Preparation of building blocks for new cell-penetrating agents*

Víctor Maestre,¹ Ona Illa,¹ Miriam Royo² i Rosa M. Ortuño¹

¹ Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Ciències. Departament de Química

² Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC)

Resum: Les membranes plasmàtiques protegeixen la cèl·lula d'invasions exògenes, fet que dificulta l'arribada de certs fàrmacs a les seves dianes terapèutiques intracel·lulars. En els últims anys, s'han desenvolupat diferents pèptids sintètics per internalitzar diferents molècules bioactives.

Aquest article tracta de la síntesi en fase sòlida de dos pèptids tetradecamèrics híbrids mitjançant l'estratègia Fmoc/Boc. Aquests pèptids estan constituïts per un γ -aminoàcid ciclobutànic i un residu de *trans*- γ -amino-L-prolina funcionalitzat, enllaçats alternadament. Alguns d'aquests pèptids han donat bons resultats d'internalització en cèl·lules HeLa i en el paràsit leishmània, i es preveu realitzar un estudi en profunditat de les seves propietats de penetració.

Paraules clau: Pèptids de penetració cel·lular, internalització cel·lular, aminoàcid ciclobutànic, *trans*- γ -amino-L-prolina, síntesi en fase sòlida, leishmània.

Abstract: Plasma membranes protect the cell from exogenous invasions and this may impede the arrival of some drugs to their intracellular therapeutic target. In recent years, various synthetic cell-penetrating peptides have been developed which permit the internalization of different bioactive molecules.

This paper deals with the solid-phase synthesis of two hybrid tetradecameric peptides using the Fmoc/Boc strategy. These peptides consist of a γ -cyclobutane amino acid that is alternately linked with a functionalized residue of *trans*- γ -amino-L-proline. Some of these peptides have provided good results in internalizing HeLa cells and Leishmania parasites, and their internalization properties will continue to be studied.

Keywords: Cell-penetrating peptides, cellular internalization, cyclobutane amino acid, *trans*- γ -amino-L-proline, solid-phase synthesis, Leishmania.

Introducció

Les membranes plasmàtiques tenen un paper molt important com a barreres bioquímiques efectives en la resistència envers la invasió exògena [1]. Generalment, estan formades per una bicapa lipídica que conté múltiples lípids químicament diferents, presents en diverses quantitats i proporcions [2]. Per als fàrmacs basats en molècules petites, travessar aquesta membrana pot implicar un procés cel·lular natural com la difusió directa a través de la bicapa lipídica. No obstant, hi ha molècules de pes molecular més gran, hidrofòbiques, hidròfiles o carregades que necessiten ajuda per ser transportades a l'interior de la cèl·lula [3].

En les últimes dècades, s'han desenvolupat diversos pèptids sintètics de penetració cel·lular (CPP, de l'anglès *cell penetrating*

ing peptides) que han contribuït significativament a l'avenç científic en aquesta àrea.

Pèptids de penetració cel·lular (CPP)

Generalment, els CPP són pèptids curts carregats positivament i constituïts per residus bàsics que consten d'entre cinc i trenta aminoàcids. Aquests pèptids presenten una baixa citotoxicitat i són capaços de realitzar la transducció de membrana a baixes concentracions, tant *in vivo* com *in vitro*, sense provocar danys importants a la membrana [4]. A més, es poden modificar fàcilment durant el seu disseny, fet que els converteix en un dels sistemes de lliurament cel·lular més interessants per ser estudiats en aplicacions farmacològiques.

D'altra banda, els CPP es poden unir de forma covalent o no covalent a un ampli ventall de molècules de càrrega, com altres pèptids, proteïnes, àcids nucleics, oligonucleòtids, liposomes, plasmidis, fàrmacs o altres nanopartícules [5], la qual cosa en fa possible el transport i l'alliberació a l'interior de la cèl·lula.

Correspondència: Ona Illa Soler
Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Ciències. Departament de Química
08193 Bellaterra, Cerdanyola del Vallès
Tel.: +34 935 814 884
A/e: ona.illa@uab.cat

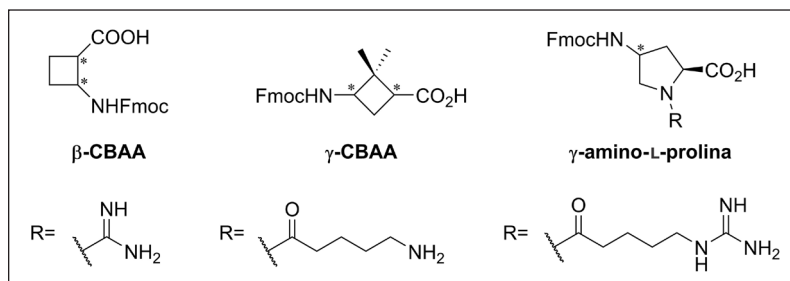


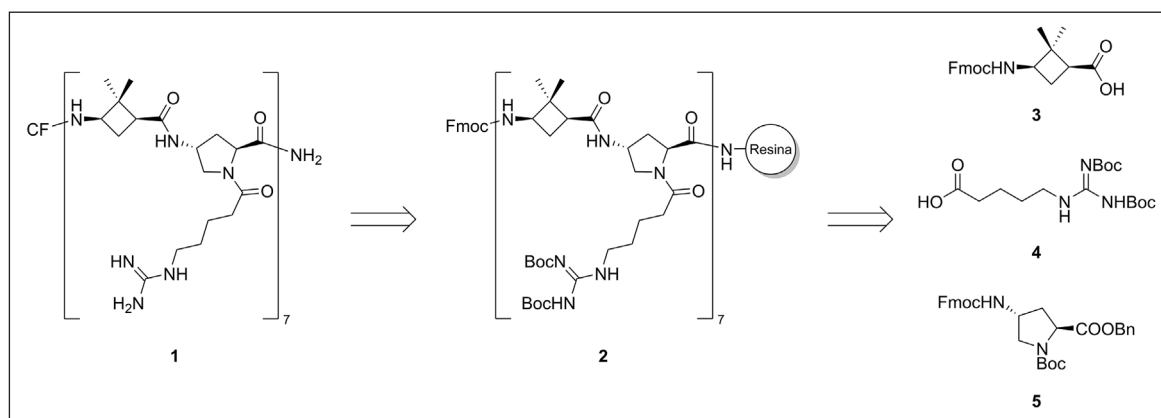
FIGURA 1. Monòmers utilitzats en CPP sintetitzats en el grup de recerca SERO. Elaboració pròpia.

Per disposar d'un CPP amb una bona internalització cel·lular cal una combinació òptima d'hidrofobicitat/hidrofilia i tenir presents funcionalitzacions que augmentin la capacitat d'interacció amb la membrana plasmàtica. En aquest sentit, els CPP rics en derivats de prolina presenten una bona solubilitat en aigua i poden ser substituïts en la posició N^α de l'anell de pirrolidina amb el fi de modular les seves propietats hidrofòbiques o hidrofíliques. Per la seva banda, els CPP rics en arginina i grups guanidini presenten una bona internalització gràcies al fet que es troben protonats a pH fisiològics i poden interaccionar amb grups aniónics de la superfície cel·lular.

Estudis precedents

En els darrers anys, el grup de recerca Síntesi, Estructura i Reactivitat Química (SERO), del Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), ha desenvolupat diversos CPP híbrids basats en una combinació alternada de diferents β -aminoàcids ciclobutànics (CBAA) o γ -CBAA, respectivament, amb residus de *cis*- o *trans*- γ -amino-L-prolina, entre d'altres (vegeu la figura 1). En un primer moment,

aquests pèptids van ser sintetitzats en forma d'hexapèptids i es va estudiar la influència de la configuració absoluta dels aminoàcids ciclobutànics, així com la influència dels substituents en la posició N^α , la γ -aminoprolina en l'estructura del pèptid i en la seva capacitat d'internalització en cèl·lules HeLa [6-8]. Més recentment, s'han preparat pèptids de més llargada, fins a tetradecapèptids, que han estat estudiats com a agents de penetració cel·lular amb cèl·lules HeLa i amb leishmanies, i que han mostrat un comportament notable no només en la transducció cel·lular, sinó com a agents leishmanicides. A aquests pèptids s'hi ha conjugat una molècula d'un fluoròfor, la carboxifluoresceïna (CF), així com el fàrmac doxorubicina (Dox), un agent antiparasitari contra leishmania i que també és utilitzat en la teràpia contra el càncer [9, 10]. En aquests estudis es va confirmar que els CPP basats en γ -CBAA proporcionen millors resultats en termes d'internalització que els basats en β -CBAA. Cal destacar també que la presència d'aminoàcids no naturals i amb restriccions conformacionals en els CPP (com és el cas de l'ús dels aminoàcids ciclobutànics que es presenten en aquest treball) s'ha descrit com un aspecte positiu per assolir millors nivells de resistència a la proteòlisi i menys toxicitat [11].



ESQUEMA 1. Proposta retrosintètica per a l'obtenció dels pèptids híbrids γ -CBAA/ γ -amino-L-prolina. Elaboració pròpia.

Actualment, hi ha pocs exemples de CPP que puguin ser internalitzats pel paràsit leishmània, la qual cosa fa que aquest camp de recerca sigui d'interès [12]. L'objectiu d'aquest treball ha estat sintetitzar pèptids híbrids γ -CBAA/ γ -amino-L-prolina se sintetitzen en fase sòlida utilitzant l'estratègia Fmoc/Boc, va ser necessari protegir adequadament l'extrem N-terminal del γ -CBAA 3 amb el grup fluorenilmetiloxicarbonil (Fmoc), el qual presenta una alta estabilitat en presència d'agents àcids però pot ser eliminat fàcilment en certes condicions bàsiques.

Resultats i discussió

Síntesi del monòmer γ -CBAA 3

Tenint en compte que els pèptids híbrids γ -CBAA/ γ -amino-L-prolina se sintetitzen en fase sòlida utilitzant l'estratègia Fmoc/Boc, va ser necessari protegir adequadament l'extrem N-terminal del γ -CBAA 3 amb el grup fluorenilmetiloxicarbonil (Fmoc), el qual presenta una alta estabilitat en presència d'agents àcids però pot ser eliminat fàcilment en certes condicions bàsiques.

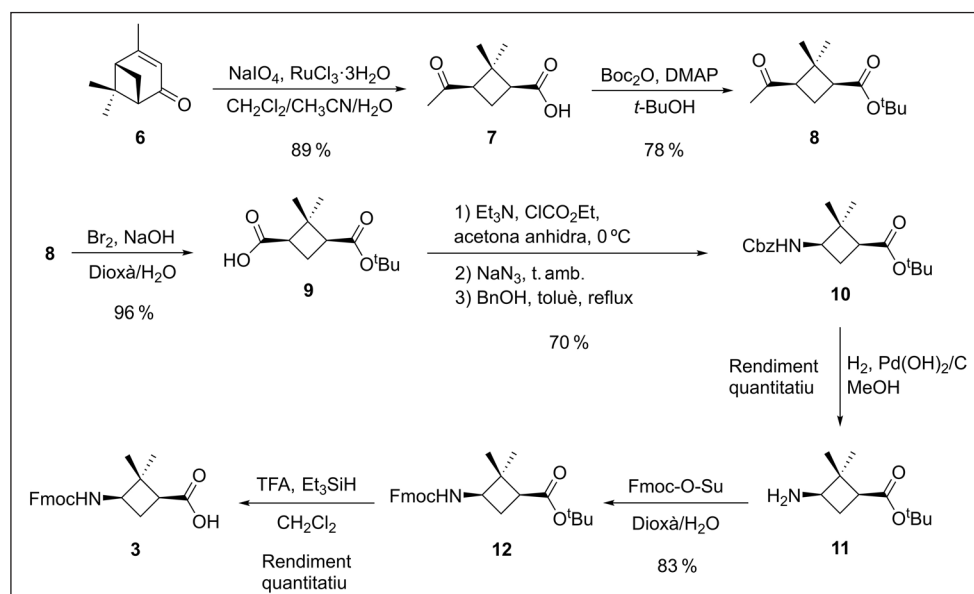
El nostre grup de recerca (SERQ) ha descrit una seqüència de set passos per a la preparació del γ -CBAA 3 [7]. La ruta sintètica es mostra a l'esquema 2.

Partint de la (-)-verbenona 6, comercialment disponible, l'anell de sis membres s'obre mitjançant un trencament oxidatiu del doble enllaç C=C, que, gràcies a una posterior descarboxilació α -carbonílica, esdevé l'àcid carboxílic 7. Aleshores, es realitza una protecció de l'àcid carboxílic que dona el

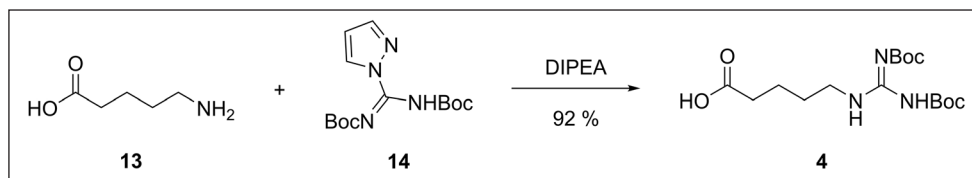
respectiu èster *tert*-butílic 8. Posteriorment, es realitza una transformació de la metilcetona en el corresponent àcid carboxílic mitjançant una reacció de l'haloform (o Lieben) i s'obté l'hemièster 9. A continuació, es realitza una transposició de Curtius per tal de transformar el grup carboxil, a través d'un isocianat, en una amina protegida per un grup benziloxicarbonil (Cbz). La transformació anterior és el pas clau per a la síntesi del monòmer 3, no només perquè el seu rendiment és lleugerament més baix que la resta d'etapes sinó perquè permetrà la posterior protecció del grup amina en forma de Fmoc, necessària per a l'estratègia utilitzada en la síntesi en fase sòlida. Una vegada s'ha obtingut el carbamat 10, protegit ortogonalment, es realitza una hidrogenació catalítica del carbamat de benzil que dona com a resultat l'amina lliure 11, la qual es protegeix amb el grup protector Fmoc. Finalment, es procedeix a l'eliminació selectiva de l'èster *tert*-butílic per obtenir el γ -CBAA 3.

Síntesi de la cadena lateral 4

Tal com s'explica a la introducció, la presència d'un grup guanidini en les cadenes laterals del pèptid afavoreix el procés d'internalització cel·lular. Per tal d'introduir el grup guanidini a l'aminoàcid 13 s'utilitza l'agent guanidilant 14 i així es porta a terme una reacció que té lloc per mitjà d'un mecanisme d'addició-eliminació en presència de *N,N'*-diisopropiletilamina (DIPEA) com a base (vegeu l'esquema 3).



ESQUEMA 2. Ruta sintètica per a la preparació del monòmer 3 a partir de la (-)-verbenona 6. Elaboració pròpia.



ESQUEMA 3. Síntesi de la cadena lateral 4. Elaboració pròpia.

L'agent guanidilant 14 es troba protegit amb dos grups *tert*-butoxicarbonil (Boc) com a grups protectors permanents, necessaris per a l'estratègia utilitzada en la posterior síntesi en fase sòlida dels pèptids.

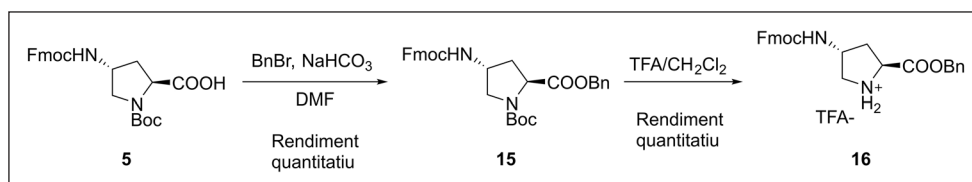
Síntesi de la *trans*- γ -amino-L-prolina modificada 18

La síntesi de la *trans*- γ -amino-L-prolina modificada 18 es porta a terme seguint una seqüència sintètica de quatre etapes, representades als esquemes 4 i 5. El primer pas necessari en aquesta síntesi és la protecció del grup carboxil del derivat de γ -amino-L-prolina 5, per posteriorment poder realitzar una reacció d'acoblament entre la sal d'amoni 16 i la cadena lateral 4. En el cas que no es realitzés aquesta protecció podria haver-hi problemes de competitivitat entre l'amina i el carboxilat del derivat de prolina en l'atac nucleòfil sobre el grup carboxil, activat amb un agent d'acoblament, de la cadena lateral 4. Degut a la presència de grups Fmoc i Boc a l'aminoàcid 5, el grup protector escollit per protegir l'àcid carboxílic és

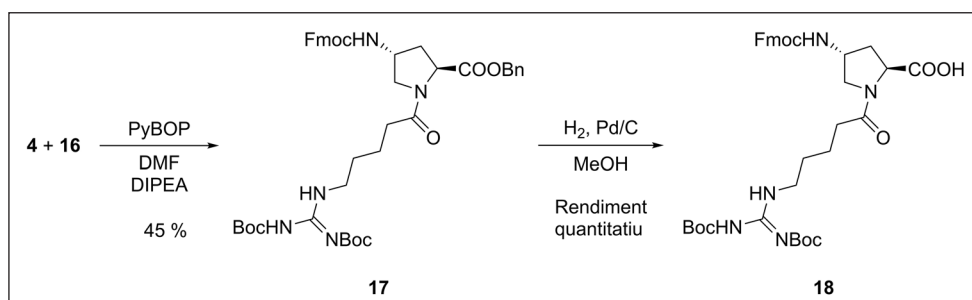
l'èster benzílic, ja que aquest és ortogonal respecte als altres dos grups protectors mencionats, és a dir, presenta condicions de desprotecció diferents de les dels altres. Seguidament, es realitza una desprotecció de la posició N^{α} de l'anell de pirrolidina en condicions àcides i s'obté la sal d'amoni 16.

A continuació, es prepara l'aminoàcid 17 per mitjà de l'acoblament de la cadena lateral 4 amb la sal d'amoni 16 (vegeu l'esquema 5).

Per portar a terme aquesta reacció, la cadena lateral 4 es mescla prèviament amb DIPEA i amb hexafluorofosfat de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfoni (PyBOP) per tal d'activar l'àcid carboxílic, que, una vegada activat, s'afegeix sobre una solució de la sal d'amoni 16. Després de purificar 17 per mitjà d'una columna cromatogràfica de gel de sílice, el rendiment mitjà obtingut per aquesta reacció és d'un 45%, un valor més baix que el de les altres etapes d'aquesta síntesi. El fet que es recuperi una quantitat significativa de la cadena lateral 4 i de la sal d'amoni 16 després de la cromatografia en columna, significa que aquest baix rendiment podria ser



ESQUEMA 4. Etapes 1 i 2 de la ruta sintètica per a la preparació de la sal d'amoni 16. Elaboració pròpia.



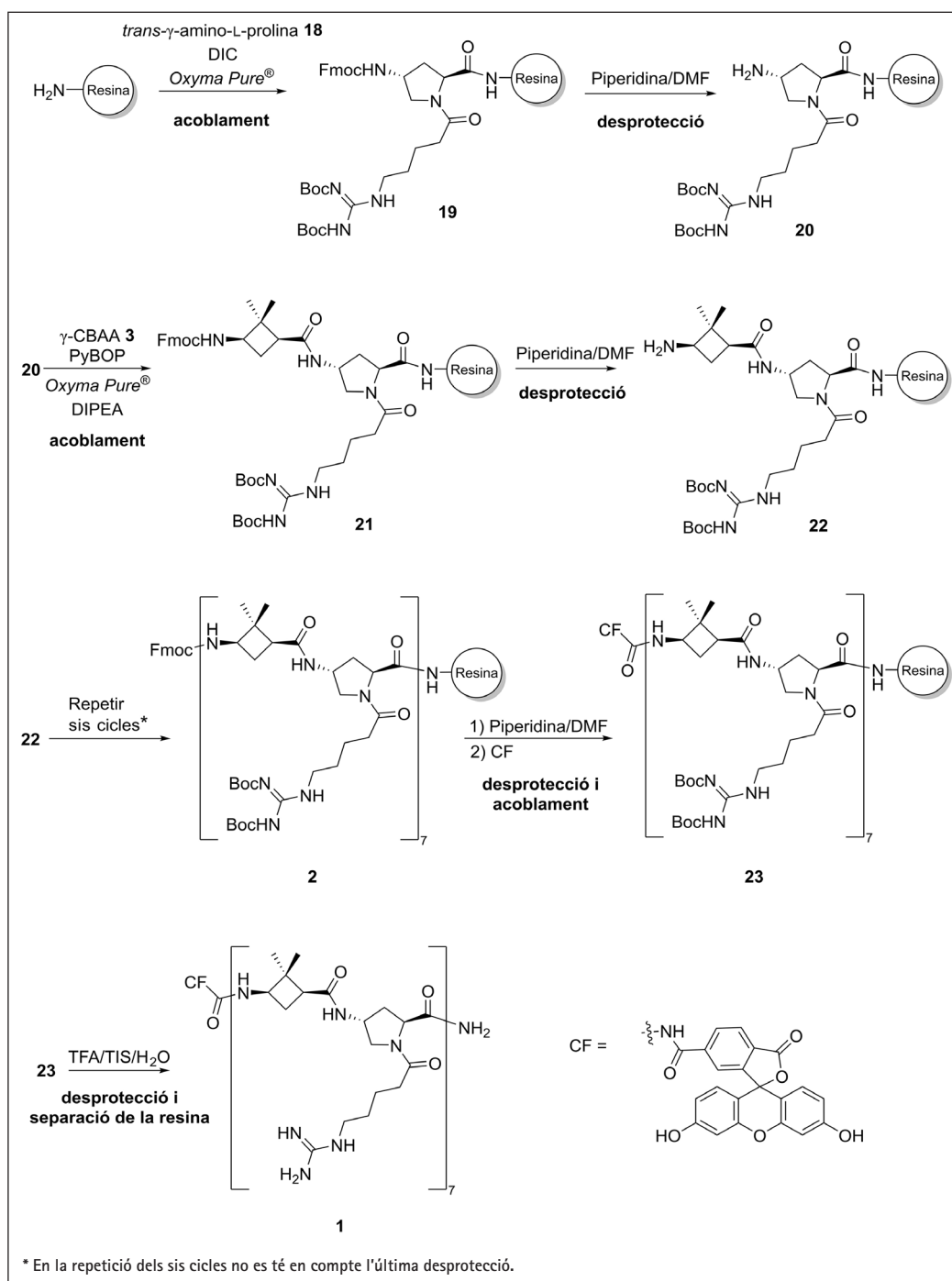
ESQUEMA 5. Etapes 3 i 4 de la ruta sintètica per a la preparació de l'aminoàcid 18. Elaboració pròpia.

degut a una baixa conversió i no a altres reaccions secundàries que poguessin haver tingut lloc.

Finalment, una vegada obtingut l'aminoàcid **17** es realitza una hidrogenació a una pressió d'un bar utilitzant Pd/C catalític per tal de desprotegir l'èster benzilic i s'obté la *trans*- γ -amino-L-prolina **18** (vegeu l'esquema 5).

Síntesi en fase sòlida dels pèptids (SFS)

Com s'ha esmentat anteriorment, els pèptids híbrids γ -CBAA/ γ -amino-L-prolina **1** i **2** (vegeu l'esquema 2) se sintetitzen utilitzant tècniques de síntesi en fase sòlida mitjançant l'estratègia Fmoc/Boc. El procediment per a la preparació dels pèptids desitjats es mostra a l'esquema 6.



ESQUEMA 6. Procediment general seguit en SFS. Elaboració pròpia.

El primer pas de la síntesi en fase sòlida consisteix en l'acoblament dels grups amino de la resina seleccionada amb el grup carboxil de la *trans*- γ -amino-L-prolina modificada **18**. Inicialment, la síntesi peptídica es va portar a terme utilitzant 500 mg de resina H-Rink amide ChemMatrix® considerant una funcionalització de 0,3 mmol/g de grups amino lliures. El primer acoblament de la síntesi es va realitzar utilitzant un equivalent de la *trans*- γ -amino-L-prolina modificada **18**, un equivalent de PyBOP com a agent d'acoblament, un equivalent de 2-ciano-2-(hidroxiimino)acetat d'etil (Oxyma Pure®) com a additiu i dos equivalents de DIPEA com a base. Després de realitzar el primer acoblament, el test de ninhidrina [13] va revelar que la major part dels grups amino de la resina no havien estat funcionalitzats per aminoàcids (denotat per un color blau molt intens). En aquest sentit, es va realitzar un reacoblament utilitzant les mateixes condicions i proporcions que en el primer acoblament, però el test de ninhidrina va continuar revelant una baixa funcionalització d'aminoàcids.

En conseqüència, es va augmentar la relació d'aminoàcid per grup amino de la resina i es va substituir el PyBOP per un altre agent d'acoblament, en aquest cas una carbodiimida. Seguint aquesta idea, es van fer servir 360 mg de la resina anterior considerant una funcionalització de 0,5 mmol/g i el primer acoblament es va realitzar utilitzant *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC) com a agent d'acoblament i Oxyma Pure® com a additiu. Aquesta vegada, una vegada eliminat el Fmoc de l'extrem N-terminal, el test de ninhidrina va demostrar un alt percentatge de funcionalització de la resina amb l'aminoàcid **18** afegit.

Una vegada la γ -amino-L-prolina modificada **18** està ancorada a la resina, es continua amb l'elongació del pèptid per mitjà de l'acoblament del γ -CBAA *N*-protegit 3 utilitzant PyBOP com a agent d'acoblament, Oxyma Pure® com a additiu i DIPEA com a base. Aquest procés es repeteix diverses vegades, intercalant els monòmers **3** i **18** per allargar la cadena peptí-

dica fins a assolir la longitud de catorze unitats (tetradecàmer). Per assegurar el correcte acoblament dels aminoàcids, cada cinc acoblaments es realitza una miniruptura del pèptid de la resina. Per fer-ho, es pren una petita quantitat de resina i es tracta amb àcid trifluoroacètic (TFA), triisopropilsilà (TIS) i aigua per tal de separar el pèptid de la resina i desprotegir tots els grups protectors de la cadena lateral. Aquestes mostres s'analitzen per cromatografia líquida d'alta resolució acoblada a espectrometria de masses (HPLC-MS, de l'anglès *high performance liquid chromatography - mass spectrometry*).

Un cop sintetitzat adequadament el tetradecàmer, la resina es divideix en dues parts per tal de fer seguir a cada part una ruta diferent. Una part de la resina amb la cadena peptídica ancorada **2** es va retirar amb l'objectiu d'acoblar-hi, en un futur, diferents marcadors i fàrmacs per continuar l'estudi biològic que s'està portant a terme en el grup de recerca. La resina restant va ser utilitzada per incorporar la 5(6)-carboxifluoresceïna (CF) a l'extrem N-terminal del pèptid. Aquesta s'acobla abans de separar el pèptid de la resina utilitzant PyBOP com a agent d'acoblament, Oxyma Pure® com a additiu i DIPEA com a base. Després de realitzar l'acoblament de la CF, es va observar una coloració vermellosa del medi de reacció. Aquesta coloració és resultat de la formació de dímers de carboxifluoresceïna (vegeu la figura 2). Anteriors estudis han demostrat que l'hidroxil fenòlic de la carboxifluoresceïna pot ser acilat degut a l'autoactivació del grup carboxil de la CF, que dona lloc a la formació *in situ* d'un èster fenòlic [14]. A més, els èsters fenòlics, en particular els èsters fenòlics amb grups electroattractants, són ben coneguts pel fet de ser hidrolitzats per nucleòfils i medi bàsic. D'acord amb aquesta idea, es va portar a terme un tractament amb piperidina en *N,N*-dimetilformamida (DMF) (4:6, v/v) que va permetre eliminar fàcilment aquests productes secundaris i obtenir-ne el pèptid marcat amb CF. L'eliminació de l'èster fenòlic va poder ser observada d'acord amb la desaparició del color vermellós del medi de reacció.

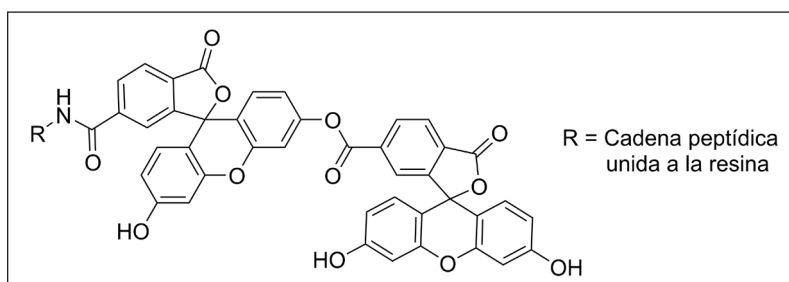


FIGURA 2. Dímer de carboxifluoresceïna. Elaboració pròpia.

Finalment, la separació del pèptid de la resina es va portar a terme per mitjà d'una hidròlisi àcida utilitzant una mescla de TFA/TIS/H₂O, metodologia amb la qual les proteccions dels grups guanidini amb carbamats de *tert*-butil també són eliminades.

Part experimental

Preparació del γ -CBAA 3

La preparació del γ -CBAA 3 es porta a terme seguint la seqüència sintètica descrita pel nostre grup de recerca [7].

Preparació de la cadena lateral 4

Síntesi de l'àcid 5-(3-(*tert*-butoxicarbonil)guanidino)pentanoic 4

Es dissol l'àcid 5-aminopentanoic 13 (0,60 g, 5,1 mmol) en 60 mL d'una mescla CH₃CN/H₂O (55:5, v/v). S'afegeix DIPEA (2,6 mL, 14 mmol) i es refreda la solució a 0 °C. A continuació, s'addiciona *N,N'*-bis(*tert*-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina 14 (1,75 g, 5,64 mmol) i la mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 16 h. S'evapora el dissolvent a pressió reduïda, el cru es dissol en acetat d'etil (30 mL) i aigua (10 mL) i s'ajusta a pH 2-3 utilitzant HCl 1 M. Es realitzen rentats amb salmorra (2 × 10 mL), la fase orgànica s'asseca amb MgSO₄ anhidre i el dissolvent s'evapora a pressió reduïda. S'obté la cadena lateral 4 (1,70 g, 4,73 mmol, 92 % de rendiment) com un sòlid blanc. ¹H-RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 11,27 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 3,41 (m, 2H), 2,37 (m, 2H), 1,68 (m, 4H), 1,47 (s, 18H) ppm.

Preparació de la *trans*- γ -amino-*L*-prolina modificada 18

Síntesi de (2*S*,4*R*)-4-((9*H*-fluoren-9-*il*)metoxicarbonilamino)pirrolidina-1,2-di-carboxilat de 2-benzil 1-(*tert*-butil) 15

S'afegeix bromur de benzil (150 μ L, 1,26 mmol) i NaHCO₃ (0,118 g, 1,40 mmol) a una solució agitada de l'àcid (2*S*,4*R*)-4-((9*H*-fluoren-9-*il*)metoxicarbonilamino)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidina-2-carboxilic 5 (0,50 g, 1,1 mmol) en

DMF (12 mL). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 48 h. Es realitzen extraccions amb acetat d'etil (4 × 20 mL) i rentats de la fase orgànica amb salmorra (2 × 15 mL). S'asseca el conjunt de fases orgàniques amb MgSO₄ anhidre i s'evapora el dissolvent a pressió reduïda. Es liofililitza el producte per tal d'eliminar la màxima quantitat de DMF possible. S'obté l'aminoàcid 15 com un sòlid blanc de forma quantitativa sense necessitat d'etapa de purificació. ¹H-RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 8,04 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,59 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,37 (m, 9H), 5,18 (m, 2H), 4,84 (m, 1H), 4,46 (m, 2H), 4,27 (m, 2H), 3,77 (m, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,23 (m, 1H), 1,42 (m, 9H) ppm.

Síntesi de trifluoroacetat de (2*S*,4*R*)-4-((9*H*-fluoren-9-*il*)metoxicarbonilamino)-2-benziloxycarbonilpirrolidina-1-*i* 16

A una solució agitada de l'aminoàcid 15 (0,66 g, 1,2 mmol) en CH₂Cl₂ (5,3 mL) s'afegeix àcid trifluoroacètic (3,3 mL). S'agita la reacció a temperatura ambient durant 1 h. Es realitzen coevaporacions amb 2 × 10 mL de CH₂Cl₂ i 3 × 10 mL de Et₂O per eliminar el dissolvent i l'excés de volàtils. La sal d'amoni 16 (0,660 g, 1,19 mmol, rendiment quantitatiu) s'obté com un sòlid blanc sense necessitat d'etapa de purificació. ¹H-RMN (360 MHz, MeOD): δ 7,99 (s, 1H), 7,80 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 7,64 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 7,36 (m, 9H), 5,33 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 5,29 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,55 (m, 3H), 4,23 (m, 2H), 3,56 (m, 1H), 3,36 (m, 1H), 2,38 (m, 2H) ppm. ¹³C-RMN (90 MHz, MeOD): δ 168,1, 163,5, 143,8, 141,3, 134,9, 128,5, 128,4, 128,3, 127,4, 126,8, 124,6, 119,6, 117,7, 68,3, 66,2, 58,5, 50,3, 49,9, 47,9, 47,0, 33,6 ppm.

Síntesi de (2*S*,4*R*)-4-((9*H*-fluoren-9-*il*)metoxicarbonilamino)-1-(5-(2,3-bis(*tert*-butoxicarbonil)guanidino)pentanoil)pirrolidina-2-carboxilat de benzil 17

S'afegeix PyBOP (1,11 mmol) i DIPEA (4,44 mmol) a una solució agitada de la cadena lateral 4 (0,400 g, 1,11 mmol) en DMF anhidra (3 mL), prèviament purgada amb nitrogen. Es manté en agitació a temperatura ambient durant 30 minuts per tal d'activar l'àcid. Una vegada l'àcid ha sigut activat correctament, s'afegeix sobre una solució de la sal d'amoni 16 (0,615 g, 1,11 mmol) en DMF anhidra (5 mL), prèviament purgada amb nitrogen. La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 16 h. Es realitzen extraccions amb acetat d'etil (25 mL) i aigua (25 mL), s'asseca la fase orgànica amb MgSO₄ anhidre i s'evapora el dissolvent a pressió reduïda. Es

purifica el producte per cromatografia en columna utilitzant com a eluent una mescla d'acetat d'etil / hexà 3:1. S'obté l'aminoàcid **17** (0,395 g, 0,504 mmol, 45% de rendiment) com un sòlid blanc amb un RF = 0,55 (AcOEt/hexà 3:1).

¹H-RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 11,51 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,78 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,36 (m, 11H), 5,23 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 5,13 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,53 (m, 4H), 4,20 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,91 (s, 1H), 3,43 (m, 3H), 2,37 (m, 2H), 2,20 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 1,50 (s, 18H) ppm.

¹³C-RMN (90 MHz, CDCl₃): δ 171,5, 163,6, 156,2, 155,8, 153,3, 143,7, 141,3, 135,5, 128,6, 128,4, 128,2, 127,8, 127,1, 125,0, 120,1, 83,1, 79,3, 67,1, 66,7, 57,4, 52,5, 50,5, 47,2, 40,5, 34,8, 33,8, 28,6, 28,3, 28,1, 21,7 ppm. IR (ATR): 2 968, 1 719, 1 637, 1 326, 1 252, 1 132, 740 cm⁻¹.

Síntesi de l'àcid (2S,4R)-4-((9H-fluoren-9-il)metoxicarbo- nilamino)-1-(5-(2,3-bis(tert-butoxicarbonil)guanidino) pentanoil)pirrolidin-2-carboxílic 18

S'afegeix Pd/C al 10% en pes (0,20 g) a una solució agitada de l'aminoàcid **17** (0,50 g, 0,64 mmol) en metanol (60 mL), purgada prèviament amb un corrent de nitrogen. Es purga la mescla de reacció resultant amb nitrogen. Es bombollegen dos globus plens d'hidrogen a l'interior de la solució. Tot seguit, s'afegeix un globus ple d'hidrogen per mantenir la pressió d'hidrogen constant. La reacció s'agita a temperatura ambient durant 2 h. El cru de reacció es filtra amb Celite® i s'evapora el dissolvent a pressió reduïda. S'obté la *trans*-γ-amino-L-prolina **18** (0,41 g, 0,59 mmol, rendiment quantitatiu) en forma de cristalls groguencs sense cap etapa de purificació.

¹H-RMN (360 MHz, CDCl₃): δ 11,50 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,76 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,57 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,38 (m, 4H), 4,41 (m, 4H), 3,90 (m, 1H), 3,37 (m, 3H), 2,28 (m, 4H), 1,62 (m, 4H), 1,49 (s, 18H) ppm. IR (ATR): 3 319, 2 973, 1 719, 1 615, 1 366, 1 327, 1 227, 1 132, 740 cm⁻¹.

Síntesi en fase sòlida dels pèptids (SFS)

Tots els pèptids han estat sintetitzats de forma manual, utilitzant xeringues de polipropilè que contenen un filtre de polietilè porós. Les reaccions s'han dut a terme a temperatura ambient i amb agitació manual amb una vareta de tefló.

L'eliminació dels excessos de reactius, dissolvents i possibles subproductes s'ha realitzat per mitjà de filtració al buit.

S'ha utilitzat la resina H-Rink amide ChemMatrix® amb una funcionalització de 0,5 mmol/g, prèviament condicionada amb rentats successius amb diclorometà (DCM) i *N,N*-dimetilformamida (DMF). La síntesi dels pèptids s'ha efectuat mitjançant l'estratègia Fmoc/Boc. De la quantitat total sintetitzada, s'han utilitzat 1,87 g de la *trans*-γ-amino-L-prolina **18** i 1,38 g del γ-CBAA **3** per portar a terme la síntesi en fase sòlida. El protocol general per a la síntesi es mostra en la taula 1, on s'indiquen la funció del tractament, les proporcions emprades, el nombre de cicles i el temps en minuts de cada cicle.

Cada cinc aminoàcids acoblats, es va realitzar una miniruptura del pèptid de la resina per seguir el progrés de la síntesi. Per fer-ho, es va prendre una petita quantitat de resina i es va tractar amb TFA, TIS i H₂O (9,5:2,5:2,5, v/v) per tal de separar el pèptid de la resina i desprotegir tots els grups protectors de la cadena lateral. Una vegada tractat, el pèptid es va caracteritzar amb HPLC-MS.

Acoblament amb la 5(6)-carboxifluoresceïna (CF)

Una vegada obtingut el tetradecàmer desitjat, la resina es va dividir en dues parts. La primera part (240 mg) va quedar protegida en forma de Fmoc i amb els 120 mg restants es va continuar amb la incorporació de la CF en el grup amino de l'extrem N-terminal, tal com s'indica a la taula 2.

A continuació, es purifica el pèptid i es caracteritza completament, i es comprova que les dades coincideixen amb les descrites prèviament per al mateix compost [9].

Conclusions

En aquest article s'ha estudiat i desenvolupat la metodologia per a la síntesi en fase sòlida dels pèptids híbrids γ-CBAA/γ-amino-L-prolina **1** i **2**. Per portar a terme la síntesi d'aquests pèptids va ser prèviament necessària la preparació del γ-aminoàcid ciclobutànic **8**, així com de la *trans*-γ-amino-L-prolina modificada **18**, que es va portar a terme a partir de l'acoblament de la cadena lateral **4** amb la γ-amino-L-prolina comercialment assequible corresponent.

La síntesi de la cadena lateral **4** es va realitzar per mitjà d'una guanidilació de l'àcid 5-aminopentanoic **13**. D'altra banda, la

TAULA 1. Protocol general per a la síntesi en fase sòlida dels pèptids γ -CBAA/ γ -amino-L-prolina mitjançant l'estratègia Fmoc/Boc. Elaboració pròpia.

Etapa	Reactius/Dissolvents	Funció	Cicles	t/cicle (min)
1	DMF	Rentat	5	1
2	DCM	Rentat	5	1
3	DMF	Rentat	5	1
4	<i>trans</i> - γ -amino-L-prolina 18/DIC/ Oxyma Pure® en DMF (2:3:3)	Acoblament	1	180
5	DMF	Rentat	5	1
6	DCM	Rentat	5	1
7	Test de ninhidrina (-)*	Test d'acoblament	1	3
8	DMF	Rentat	5	1
9	Piperidina/DMF (2:8, v/v)	Desprotecció	5	10
10	DMF	Rentat	5	1
11	DCM	Rentat	5	1
12	Test de ninhidrina (+)	Test d'acoblament	1	3
13	DMF	Rentat	5	1
14	γ -CBAA 3 / Oxyma Pure®/ PyBOP/DIPEA (2,5:2,5:2,5:5) en DMF/CH ₂ Cl ₂ (1:1)	Acoblament	1	120
15	DMF	Rentat	5	1
16	DCM	Rentat	5	1
17	Test de ninhidrina (-)	Test d'acoblament	1	3
18	DMF	Rentat	5	1
19	Piperidina/DMF (2:8, v/v)	Desprotecció	5	10
20	DMF	Rentat	5	1
21	DCM	Rentat	5	1
22	Test de ninhidrina (+)	Test d'acoblament	1	3

* En el cas d'obtenir un test de ninhidrina positiu, s'acila la resina amb una solució de Ac₂O/DIPEA (5:10) en DMF.

TAULA 2. Protocol general per a la incorporació de la CF. Elaboració pròpia.

Etapa	Reactius/Dissolvents	Funció	Cicles	t/cicle (min)
1	DMF	Rentat	5	1
2	DCM	Rentat	5	1
3	DMF	Rentat	5	1
4	CF/ Oxyma Pure®/ PyBOP/DIPEA (3:3:3:6) en DMF	Acoblament	1	120
5	DMF	Rentat	5	1
6	DCM	Rentat	5	1
7	Test de ninhidrina (-)	Test d'acoblament	1	3
8	Piperidina/DMF (4:6, v/v)	Trencament de l'èster fenòlic	5	10
9	TFA/TIS/H ₂ O (95:2,5:2,5)	Desprotecció / Separació de la resina	1	120
10	DCM	Rentat	5	1

trans- γ -amino-L-prolina modificada **18** es va preparar a partir d'una ruta sintètica de quatre etapes des de l'aminoàcid comercialment disponible **5**. Malgrat que alguna de les etapes d'aquesta síntesi va donar un rendiment mitjà millorable que podria portar a futurs estudis per augmentar-lo, es va aconseguir sintetitzar una quantitat de **18** suficient per realitzar la posterior síntesi dels pèptids. La *trans*- γ -amino-L-prolina modificada **18**, així com els seus intermedis de reacció van ser caracteritzats per les tècniques de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN i IR.

Respecte a la síntesi en fase sòlida dels tetradecàmers **1** i **2**, després de realitzar diferents estudis dels agents d'acoblament més adequats i d'augmentar la relació d'aminoàcid per grup amino lliure de la resina, va ser possible obtenir els pèptids desitjats amb èxit, així com aïllar-los per fer-ne un ús posterior en estudis biològics.

Referències

- [1] KANG, Z.; DING, G.; MENG, Z.; MENG, Q. «The rational design of cell-penetrating peptides for application in delivery systems». *Peptides* [en línia], 121 (2019), article 170149. <<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170149>>.
- [2] HARAYAMA, T.; RIEZMAN, H. «Understanding the diversity of membrane lipid composition». *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* [en línia], 19 (2018), p. 281-296. <<https://doi.org/10.1038/nrm.2017.138>>.
- [3] WANG, F.; WANG, Y.; ZHANG, X.; ZHANG, W.; GUO, S.; JIN, F. «Recent progress of cell-penetrating peptides as new carriers for intracellular cargo delivery». *J. Control. Release* [en línia], 174 (2014), p. 126-136. <<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.11.020>>.
- [4] XU, J.; KHAN, A. R.; FU, M.; WANG, R.; JI, J.; ZHAI, G. «Cell-penetrating peptide: A means of breaking through the physiological barriers of different tissues and organs». *J. Control. Release* [en línia], 309 (2019), p. 106-124. <<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.020>>.
- [5] DERAKHSHANKHAH, H.; JAFARI, S. «Cell penetrating peptides: A concise review with emphasis on biomedical applications». *Biomed. Pharmacother.* [en línia], 108 (2018), p. 1090-1096. <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.097>>.
- [6] GUTIÉRREZ-ABAD, R.; CARBAJO, D.; NOLIS, P.; ACOSTA-SILVA, C.; COBOS, J. A.; ILLA, O.; ROYO, M.; ORTUÑO, R. M. «Synthesis and structural study of highly constrained hybrid cyclobutane-proline γ,γ -peptides». *Amino Acids* [en línia], 41 (2011), p. 673-686. <<https://doi.org/10.1007/s00726-011-0912-4>>.
- [7] GORREA, E.; CARBAJO, D.; GUTIÉRREZ-ABAD, R.; ILLA, O.; BRANCHADELL, V.; ROYO, M.; ORTUÑO, R. M. «Searching for new cell-penetrating agents: Hybrid cyclobutane-proline γ,γ -peptides». *Org. Biomol. Chem.* [en línia], 10 (20) (2012), p. 4050-4057. <<https://doi.org/10.1039/C2OB25220A>>.
- [8] ILLA, O.; OLIVARES, J. A.; NOLIS, P.; ORTUÑO, R. M. «The relevance of the relative configuration in the folding of hybrid peptides containing β -cyclobutane amino acids and γ -amino-L-proline residues». *Tetrahedron* [en línia], 73 (44) (2017), p. 6286-6295. <<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.09.011>>.
- [9] ILLA, O.; OLIVARES, J. A.; GAZTELUMENDI, N.; MARTÍNEZ-CASTRO, L.; OSPINA, J.; ABENGOZAR, M. Á.; SCIORTINO, G.; MARÉCHAL, J. D.; NOGUÉS, C.; ROYO, M.; RIVAS, L.; ORTUÑO, R. M. «Chiral cyclobutane-containing cell-penetrating peptides as selective vectors for anti-*Leishmania* drug delivery systems». *Int. J. Mol. Sci.* [en línia], 21 (20) (2020), article 7502. <<https://doi.org/10.3390/ijms21207502>>.
- [10] ILLA, O.; OSPINA, J.; SÁNCHEZ-APARICIO, J.-E.; PULIDO, X.; ABENGOZAR, M. Á.; GAZTELUMENDI, N.; CARBAJO, D.; NOGUÉS, C.; RIVAS, L.; MARÉCHAL, J.-D.; ROYO, M.; ORTUÑO, R. M. «Hybrid cyclobutane/proline-containing peptidomimetics: The conformational constraint influences their cell-penetration ability». *Int. J. Mol. Sci.* [en línia], 22 (10) (2021), article 5092. <<https://doi.org/10.3390/ijms22105092>>.
- [11] FOMINAYA, J.; BRAVO, J.; REBOLLO, A. «Strategies to stabilize cell penetrating peptides for *in vivo* applications». *Ther. Del.* [en línia], 6 (10) (2015), p. 1171-1194. <<https://doi.org/10.4155/tde.15.51>>.
- [12] ZAHEDIFARD, F.; LEE, H.; NO, J. H.; SALIMI, M.; SEYED, N.; ASOODEH, A.; RAFATI, S. «Comparative study of different forms of Jellein antimicrobial peptide on *Leishmania* parasite». *Exp. Parasitol.* [en línia], 209 (2020), article 107823. <<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107823>>.
- [13] KENDALL, P. A. «Use of the ninhydrin reaction for quantitative estimation of amino groups in insoluble specimens». *Nature* [en línia], 197 (1963), p. 1305-1306. <<https://doi.org/10.1038/1971305a0>>.
- [14] FISCHER, R.; MADER, O.; JUNG, G.; BROCK, R. «Extending the applicability of carboxyfluorescein in solid-phase synthesis». *Bioconjugate Chem.* [en línia], 14 (3) (2003), p. 653-660. <<https://doi.org/10.1021/bc025658b>>.



V. Maestre



O. Illa



M. Royo



R. M. Ortuño

Víctor Maestre es va graduar en química per la Universitat Autònoma de Barcelona l'any 2020. Va guanyar el Premi de la Societat Catalana de Química pel treball de final de grau *Preparació de blocs quirals per a nous agents de penetració cel·lular*, realitzat pel grup de recerca Síntesi, Estructura i Reactivitat Química (SERQ). Va ser guardonat amb una beca del Programa Màster+ UB per cursar el Màster en Química Orgànica a la Universitat de Barcelona (UB). Actualment treballa com a ajudant investigador a la Fundació Bosch i Gimpera i és professor associat del Departament de Química Inorgànica i Orgànica a la Facultat de Química de la UB.

Ona Illa es va llicenciar en química per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), on va obtenir el doctorat en química l'any 2005. Actualment és professora agregada de la UAB i el seu àmbit de recerca és el disseny i la síntesi de noves molècules funcionals per a aplicacions biològiques i en l'àrea dels materials.

Miriam Royo és llicenciada en química per la Universitat de Barcelona (UB), on va obtenir el doctorat en química l'any 1994. Va realitzar una estada postdoctoral (1994-1996) al Beth Israel Deaconess Medical Center - Harvard Medical School de Boston, als Estats Units. El 1997 va tornar a la UB com a investigadora postdoctoral (1997-2001). El 2002 es va incorporar al Parc Científic de Barcelona, on va ser cap de la Unitat de Química Combinatòria fins al 2018. Actualment és investigadora científica a l'Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC), on lidera el grup de Sistemes Multivalents per Nanomedicina (MS4N) i el seu àmbit de recerca és la nanomedicina i la química biològica.

Rosa M. Ortuño és catedràtica de la Universitat Autònoma de Barcelona des del 1993, emèrita des del 2021, i va ser directora del Departament de Química d'aquesta universitat del 2013 al 2019. Ha liderat projectes sobre la síntesi, l'estudi supra-molecular i les aplicacions de nous surfactants, organogels i derivats peptídics. També ha col·laborat amb empreses del sector farmacèutic.

Celebrem el Premi Nobel de Química 2021. La reinvenció de l'organocatàlisi asimètrica

Celebrating the 2021 Nobel Prize in Chemistry. Reinventing asymmetric organocatalysis

Albert Moyano

Universitat de Barcelona. Facultat de Química. Departament de Química Inorgànica i Orgànica

Resum: La concessió del Premi Nobel de Química 2021 als professors Benjamin List i David MacMillan pel desenvolupament de l'organocatàlisi asimètrica no va constituir cap sorpresa. En l'actualitat, l'organocatàlisi asimètrica s'empra en laboratoris acadèmics i en la indústria per a la construcció de molècules complexes amb propietats específiques partint de materials senzills. En aquest article, s'expliquen seqüencialment: *a)* la importància de la catàlisi asimètrica; *b)* el tret diferencial de l'organocatàlisi asimètrica; *c)* els elements essencials de les aportacions de List i de MacMillan, situant-les en llur context històric, i *d)* les claus de l'èxit de l'organocatàlisi asimètrica.

Paraules clau: Catàlisi asimètrica, organocatàlisi, quiralitat molecular, síntesi estereoselectiva.

Abstract: *The award of the 2021 Nobel Prize in Chemistry to Benjamin List and David MacMillan for the development of asymmetric organocatalysis was not surprising at all. Today, asymmetric organocatalysis is used both in academia and in industry for constructing complex molecules with specific properties from simple materials. This paper discusses sequentially: (i) the importance of asymmetric catalysis, (ii) the differential feature of asymmetric organocatalysis, (iii) the key elements of List's and MacMillan's contributions, situated in their historical context, and (iv) the key factors for the success of asymmetric organocatalysis.*

Keywords: *Asymmetric catalysis, organocatalysis, molecular chirality, stereoselective synthesis.*

Introducció

El 6 d'octubre del 2021, la Reial Acadèmia Sueca de Ciències va atorgar el premi Nobel de Química, a parts iguals, a Benjamin List (Institut Max Planck per a la Recerca sobre el Carbó, Mülheim an der Ruhr, Alemanya) i a David W. C. MacMillan (Universitat de Princeton, Estats Units d'Amèrica), pel desenvolupament de l'organocatàlisi asimètrica [1]. En primer lloc, podem observar que aquest premi no ha estat concedit pel descobriment o per la invenció d'aquesta «eina per a la construcció de noves molècules». En segon lloc, cal remarcar que vint anys abans el Premi Nobel de Química s'havia atorgat a William S. Knowles, Ryoji Noyori i K. Barry Sharpless pels seus treballs sobre reaccions catalitzades quiralment (és a dir, sobre catàlisi asimètrica) [2]. En aquest article, em proposo explicar de manera breu i entenedora: *a)* la importància de la catàlisi asimètrica; *b)* el

tret diferencial de l'organocatàlisi asimètrica; *c)* els elements essencials de les aportacions dels professors List i MacMillan, situant-les en llur context històric, i *d)* les claus de l'èxit de l'organocatàlisi asimètrica.

Catàlisi asimètrica i quiralitat molecular

La *catàlisi* és un fenomen conegut des de l'antiguitat. El terme fou introduït pel químic suec J. J. Berzelius el 1835, i un *catalitzador* es defineix actualment (seguint les idees formulades per W. Ostwald el 1902) com una substància que controla i accelera una reacció química, sense que es consumeixi en aquesta reacció.

En el transcurs d'una reacció química, l'estructura de les substàncies de partida es va transformant gradualment en la dels productes, seguint el que s'anomena una *coordinada* o un *camí de reacció*. Al llarg d'aquest camí, l'energia de les entitats moleculars implicades passa per un o més màxims d'energia, que anomenem *estats de transició*. De manera simplificada, podem dir que la velocitat de la reacció és més petita com més gran és la barrera energètica de més alta energia

Correspondència: Albert Moyano
Universitat de Barcelona. Facultat de Química. Departament de Química Inorgànica i Orgànica
C. de Martí i Franquès, 1-11. 08028 Barcelona
Tel.: +34 934 021 245
A/e: amoyano@ub.edu

que trobem entre els reactius i els productes. El paper del catalitzador és essencialment fer possible un camí de reacció alternatiu, en el qual les barreres energètiques siguin molt més baixes. Gràficament, hom pot representar el concepte de catalitzador com un cotxe que passa per un túnel que travessa una muntanya i permet que els passatgers (els reactius) arribin a la meta (els productes) molt més ràpidament que si seguessin el camí de reacció no catalitzat (representat per un escalador que ha de pujar la muntanya). Aquesta imatge la trobem a la portada de la primera edició de [3].

La catàlisi permet dur a terme transformacions químiques amb menys consum d'energia, genera menys residus i pol·lució i millora l'eficiència en l'obtenció de productes d'alt valor afegit en tots els sectors econòmics. Un 90% de tots els processos químics industrials empen catalitzadors, amb un impacte econòmic estimat del 30-40% del producte interior brut a escala mundial.

La *quiralitat* és una propietat important en diverses branques de la ciència. La paraula *quiralitat* prové del mot grec $\chi\epsilon\iota\rho$ (kheir), 'mà', l'objecte quiral més comú. Un objecte o un sistema és quiral si és distingible de la seva imatge en el mirall; és a dir, si no es pot fer coincidir punt per punt amb la seva imatge especular. A escala macroscòpica, molts objectes quirals, com les mans, les orelles, les tisores, els seients d'una banda o altra d'un tren o un avió ens són familiars, i els associem amb els conceptes d'esquerra i dreta. Al contrari, la imatge especular d'un objecte aquiral, com una esfera, no es pot distingir de l'objecte original. Un objecte quiral pot existir, doncs, en dues formes que s'anomenen *enantiòmers* (en grec,

'formes oposades') o, en el cas de les molècules, *enantiòmers*. El terme *quiralitat* fou introduït per Lord Kelvin el 1893 en una conferència a la Universitat d'Oxford.

Una molècula quiral és, per tant, aquella que, tal com passa amb les mans, no es pot fer coincidir amb la seva imatge especular. Els compostos constituïts per molècules quirals (que anomenem *compostos quirals*) existeixen, doncs, en dues formes enantiomèriques diferents. El fenomen de la quiralitat a escala molecular fou descobert per Pasteur el 1848 [4].

Els dos enantiòmers d'una molècula quiral tenen la mateixa geometria (distàncies i angles d'enllaç) i, per tant, la mateixa energia (llevat de les petitíssimes diferències degudes a la violació de la paritat en la força nuclear feble) i altres propietats físiques. Només es poden diferenciar entre ells quan interaccionen amb una altra molècula quiral o amb una força física quiral (per exemple, cadascun dels dos components amb helicitat oposada de la llum polaritzada linealment). Així doncs, les dues formes enantiomèriques de l'estereoisòmer quiral de l'àcid tartàric tenen la mateixa solubilitat en aigua i el mateix punt de fusió, i en una mescla no es poden separar per cristallització o per dissolució preferencial d'una d'elles. De fet, macroscòpicament només les podem distingir pel signe de la desviació que experimenta la llum polaritzada linealment quan travessa una dissolució d'un o altre enantiòmer (vegeu la figura 1).

L'equivalència energètica entre els dos enantiòmers d'un compost quiral fa que quan l'obtenim emprant materials de partida i reactius aquirals, a escala molecular els dos es for-

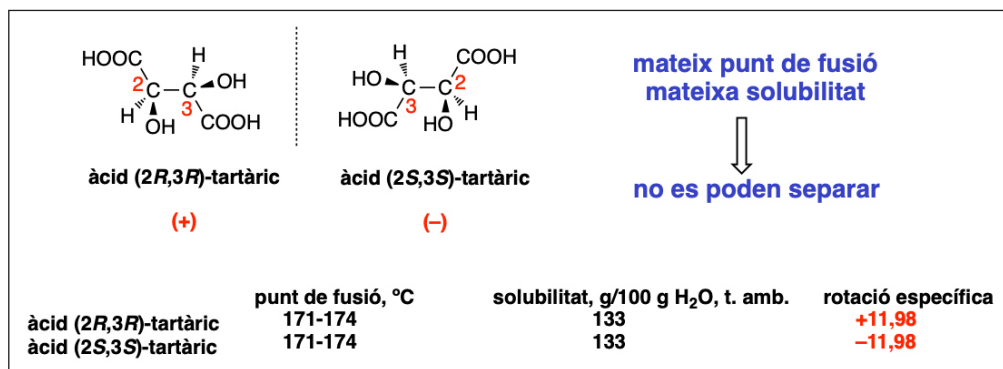


FIGURA 1. Les dues formes enantiomèriques de l'isòmer quiral de l'àcid tartàric tenen les mateixes propietats físiques (punt de fusió, solubilitat en un solvent aquiral, etc.). Les podem distingir pel signe de la desviació de la llum polaritzada linealment, i així un dels enantiòmers (+) serà dextrorotatori (*d*) i l'altre (-) serà levorotatori (*l*). Existeix una forma no quiral de l'àcid tartàric, l'àcid (2*R*,3*S*)-tartàric o àcid *meso*-tartàric, amb punt de fusió (165-166 °C) i solubilitat en aigua (125 g/100 g H₂O) diferents, i que no desvia el pla de polarització de la llum polaritzada linealment (és *òpticament inactiu*). Elaboració pròpia.

men estadísticament amb la mateixa probabilitat, la qual cosa constitueix el que s'anomena una *mescla racèmica*, en la qual les dues formes enantiomèriques tenen molt aproximadament la mateixa concentració. És important tenir en compte que això és així independentment de si la reacció té lloc sota *control termodinàmic* (és a dir, si la proporció dels dos productes depèn només de la diferència d'energies entre ells) o de si té lloc sota *control cinètic* (és a dir, en unes condicions en les quals la proporció depèn de les diferències de velocitat de formació, car els dos camins de reacció que condueixen a cadascun dels enantiòmers tenen exactament el mateix perfil energètic).

No és sorprenent, doncs, que els objectes quirals que trobem a la natura apareguin generalment amb proporcions iguals de les dues formes enantiomèriques (és a dir, hi ha el mateix nombre de mans esquerranes i de mans dretes, i de les dues formes helicoidals dels cargols terrestres o marítims). Però no passa el mateix amb la quiralitat molecular. Les molècules orgàniques òpticament inactives són molt poc freqüents en els éssers vius, i quan hi apareixen es tracta gairebé sempre de compostos senzills que no estan implicats en processos essencials per a la vida. Pasteur va ser el primer que va observar aquest fet i va intuir, també, que havia d'estar relacionat amb una asimetria fonamental en les lleis físiques (*L'univers est dissymétrique*) [5]. A més, les unitats fonamentals de les macromolècules biològiques no es troben només en una de les seves dues possibles formes enantiomèriques, sinó que presenten una gran uniformitat en el tipus de quiralitat (tots els carbohidrats tenen configuració D, els α -aminoàcids proteïnògens tenen configuració L en notació de Fischer), fenomen que es coneix com a *homoquiralitat biològica* (vegeu la figura 2).

Aquesta preferència dels éssers vius per una de les dues possibles formes enantiomèriques dels seus constituents quirals es deu al fet que la velocitat de les reaccions químiques en les quals intervenen (com a reactius o com a productes) els compostos biològics (és a dir, el que anomenem *metabolisme*) està estrictament controlada pels *enzims*, que actuen com a *catalitzadors asimètrics* altament eficients; és a dir, a la pràctica només tenen lloc els processos que impliquen els enantiòmers de les molècules quirals que interaccionen favorablement amb l'enzim adient (vegeu la figura 3).

Podem il·lustrar els principis de la catàlisi asimètrica considerant breument el mecanisme de la catàlisi d'un tipus particular d'enzims, anomenats *aldolases de classe I* [6]. En general,

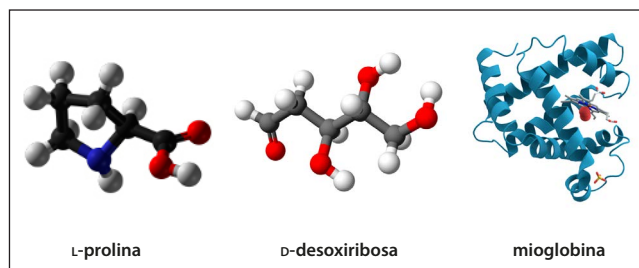


FIGURA 2. Homoquiralitat biològica. Les molècules biològiques són gairebé sempre quirals i es troben presents només en una de les dues formes enantiomèriques. Així, tots els aminoàcids proteïnògens presenten el mateix tipus de quiralitat (sèrie L, o de «mà esquerra») i tots els carbohidrats monòmers són de la sèrie D, o de «mà dreta». Com a conseqüència, les macromolècules biològiques (proteïnes, receptors, àcids nucleics) són també quirals i enantiomèricament purs. Elaboració pròpia a partir d'imatges de Wikipedia de lliure accés (L-prolina i mioglobina) i d'una imatge de Wikimedia Commons, extreta de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:D-deoxyribose_chain-3D-balls.png (autor: DFliyerz) i publicada sota una llicència Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported (CC BY-SA 3.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>) (D-deoxiribosa).

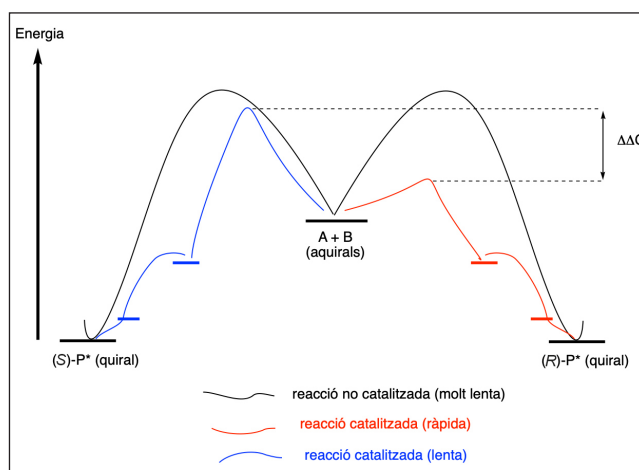


FIGURA 3. Els enzims com a *catalitzadors asimètrics*. Suposem una reacció entre dos reactius aquirals, A i B, que forneix un producte quiral P*, amb dos enantiòmers que anomenem (R)-P* i (S)-P*, respectivament. En la reacció no catalitzada, molt lenta, els dos enantiòmers es formarien amb la mateixa velocitat, car les dues barreres energètiques tenen la mateixa magnitud. Un catalitzador asimètric fa que la reacció tingui lloc per un camí alternatiu, en el qual, però, només es produeix una disminució substancial de la barrera energètica quan el producte és l'enantiòmer adient ((R)-P*, en aquest cas). La reacció té lloc sota control cinètic i, a la pràctica, la formació de l'enantiòmer (S)-P* és indetectable. Elaboració pròpia.

els enzims són macromolècules proteiques molt complexes formades per centenars (i fins i tot milers) d'aminoàcids units entre ells pels anomenats *enllaços peptídics*. La major part dels aminoàcids tenen funcions estructurals i controlen les interaccions de l'enzim amb el seu entorn. L'activitat catalítica es concentra en una zona reduïda, anomenada *centre actiu*. Allí, les cadenes laterals d'uns quants aminoàcids activen i orienten els reactius, de manera que la barrera energètica de la reacció sigui com més baixa millor. La quiralitat local de la

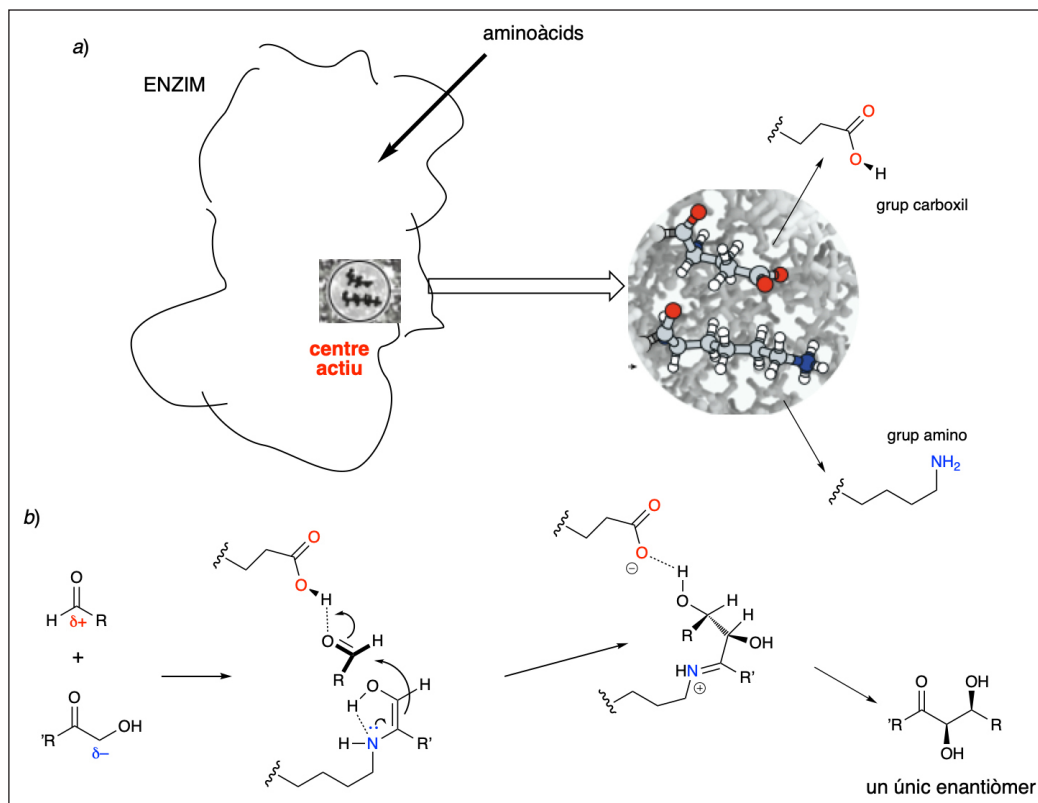


FIGURA 4. Catàlisi enzimàtica en les aldolases de classe I: a) representació esquemàtica de l'enzim i de les cadenes laterals dels dos aminoàcids responsables de la catàlisi en el centre actiu, el grup carboxil de l'àcid L-glutàmic i el grup amino de la L-lisina; b) els grups carboxil i amino en el centre actiu s'enllacen amb els dos reactius, els activen i els orienten de tal manera que l'energia d'activació de l'addició aldòlica és molt més baixa que en la reacció no catalitzada, la qual cosa condueix a la formació d'un únic enantiòmer de l'aldol quiral. Elaboració pròpia.

regió del centre actiu fa que el mecanisme catalitzat només pugui ser possible per a un dels dos enantiòmers del producte de reacció quiral. En les aldolases de classe I, la reacció té lloc mitjançant la formació prèvia d'una enamina entre el compost hidroxicarbonílic que actua com a donador i l'amina primària de la L-lisina del centre actiu; tot seguit, l'enamina cedeix un parell d'electrons a l'aldehid que actua com a acceptor, prèviament activat per la formació d'un enllaç d'hidrogen amb el grup carboxil d'un àcid glutàmic, també present al centre actiu (vegeu la figura 4).

Interludi: Lewis Carroll, quiralitat molecular i activitat biològica

Sis anys després de l'exitós *Àlicia al país de les meravelles*, el 1871, Lewis Carroll en va publicar una seqüela, *Through the looking-glass (and what Alice found there)*, traduïda al català com a *A través del mirall i allò que Àlicia va trobar a l'altra banda*.

Al primer capítol, trobem l'Àlicia i la seva gateta (poc imaginativament anomenada Kitty) en una habitació que té un gran mirall. L'Àlicia està intrigada per l'habitació que veu reflectida al mirall i es pregunta com seria la «Casa del Mirall» corresponent. En un moment donat, fa les reflexions següents: «T'agradaria viure a la Casa del Mirall, gateta? Em pregunto si et donarien llet, allí. Però potser la llet del mirall no és bona per beure...».

Avui en dia sabem que els dubtes de l'Àlicia estaven prou justificats i que, efectivament, la Kitty hauria fet molt malament en beure la llet de la Casa del Mirall: els seus enzims, formats per aminoàcids de la sèrie L, només poden metabolitzar els carbohidrats de la sèrie D, i no els seus enantiòmers del tipus L. En general, els dos enantiòmers d'un compost quiral no poden interaccionar de la mateixa manera amb els receptors biològics i presenten activitats biològiques diferents (vegeu la figura 5). En alguns casos, com el de la carvona, la diferència rau en les seves propietats organolèptiques. Així, la L-(R)-carvona, que es troba a la *Menta piperita*, fa olor de menta, men-

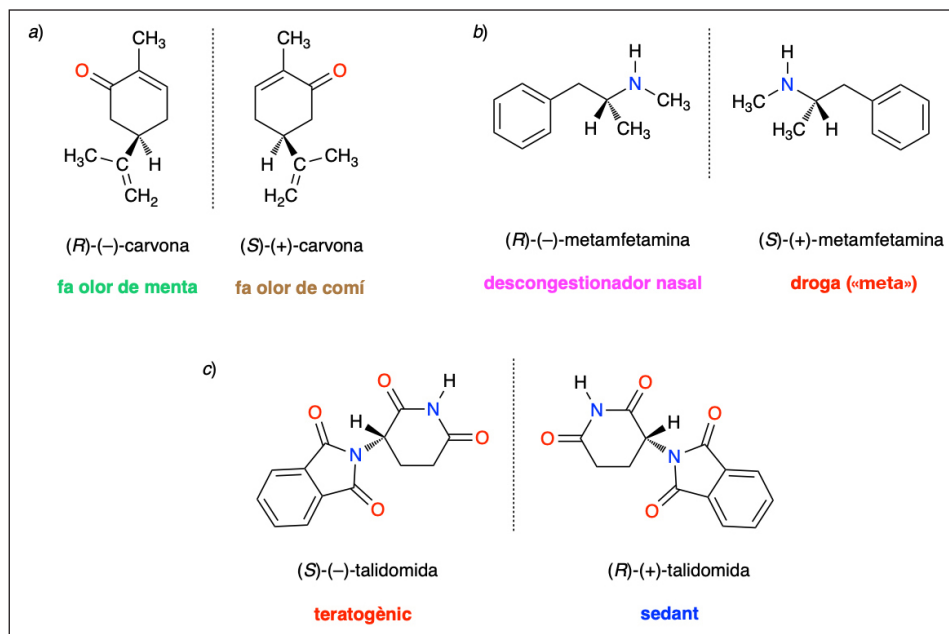


FIGURA 5. Quiralitat i activitat biològica. a) Els dos enantiòmers de la carvona tenen propietats organolèptiques diferents. b) Un dels enantiòmers de la metamfetamina té una activitat psicotròpica molt més potent que l'altre. c) Inicialment, hom va atribuir l'activitat teratogènica sobre el fetus a l'enantiòmer levorotatori de la talidomida. Pel que sabem avui en dia, però, els dos enantiòmers poden induir malformacions fetals amb una potència semblant, si més no en alguns models de mamífers. Elaboració pròpia.

tre que el seu enantiòmer D-(S)-carvona, que es troba a les llavors del comí de prat (*caraway seeds*, en anglès) té l'olor anisada característica del comí. En la metamfetamina, un compost sintètic quiral, les diferències entre els dos enantiòmers són més significatives. Si bé els dos tenen activitats psicotròpiques, l'enantiòmer L-(R) és molt poc actiu i és un component habitual dels inhibidors nasals. En canvi, l'enantiòmer D-(S) és una potent droga de disseny, la «meta» popularitzada per la sèrie *Breaking Bad*. Finalment, és ben conegut el cas de la talidomida, que podríem considerar «de llibre de text» i que, de fet, es va invocar en la concessió del primer Premi Nobel de Química sobre catàlisi asimètrica el 2001. Entre 1961 i 1962, la talidomida (un derivat quiral de l'àcid glutàmic que es comercialitzava en forma racèmica) va provocar que uns deu mil nens naixessin amb greus malformacions a Europa. Els estudis inicials van suggerir que aquesta tragèdia es podria haver evitat si el fàrmac (que s'emprava per alleujar les molèsties de l'embaràs) s'hagués comercialitzat en forma enantiomèrica pura, car només l'enantiòmer L-(S) presentava efectes teratogènics, mentre que l'enantiòmer D-(R) era inofensiu. De fet, sembla que aquestes afirmacions no són certes, ja que ambdós enantiòmers poden causar malformacions als fetus i, a més, s'interconverteixen entre ells en les condicions fisiològiques [7]. Això no obstant, la tragèdia de la talidomida (que

caldria qualificar de mítica) va tenir un profund impacte en la indústria farmacèutica, ja que va fer palesa la importància de poder disposar d'un fàrmac quiral en forma enantiomèrica pura.

La necessitat d'avaluar per separat les activitats biològiques d'ambdós enantiòmers d'un compost quiral i de comercialitzar només el que presentava l'efecte desitjat va impulsar fortament la recerca sobre *catàlisi asimètrica* com a alternativa al mètode clàssic de *resolució* (separació dels dos enantiòmers d'una mescla racèmica, el primer exemple de la qual es degué a Pasteur el 1849) a partir de la dècada del 1970. En l'actualitat es calcula que la producció de fàrmacs quirals en forma enantiomèrica pura té un impacte econòmic de l'ordre de centenars de milers de milions d'euros anuals.

Benjamin List: *desconstruint* la catàlisi enzimàtica

Des de fa més d'un segle, l'ús dels enzims aïllats com a catalitzadors asimètrics està ben establert, mentre que la producció de compostos orgànics mitjançant fermentació, també basada en la catàlisi enzimàtica, és molt més antiga.

Això no obstant, la catàlisi enzimàtica presenta alguns inconvenients que n'han limitat l'ús generalitzat a la indústria i als laboratoris de química orgànica:

- només uns quants enzims aïllats són assequibles comercialment;
- sovint és difícil predir la quiralitat dels productes resultants, car els mecanismes enzimàtics són complexos;
- els enzims perden efectivitat quan la reacció que volem catalitzar no és exactament la que té lloc a la natura;
- tenen problemes d'estabilitat en medi no aquós, a temperatures altes, a valors de pH no fisiològic, etc.

Alguns d'aquests problemes s'han solucionat en els darrers anys amb diverses tècniques:

- l'evolució dirigida d'enzims, desenvolupada principalment per Frances Arnold, que va rebre el Premi Nobel de Química el 2018;
- els anticossos monoclonals catalítics, una tècnica desenvolupada per Peter G. Schultz i per Richard A. Lerner, que van rebre el Premi Wolf el 1994 pels seus treballs en aquest camp.

Benjamin List (vegeu la figura 6) va néixer a Frankfurt del Main el 1968. Es va llicenciar en química a la Universitat Lliure de Berlín el 1993. Després de finalitzar la tesi doctoral



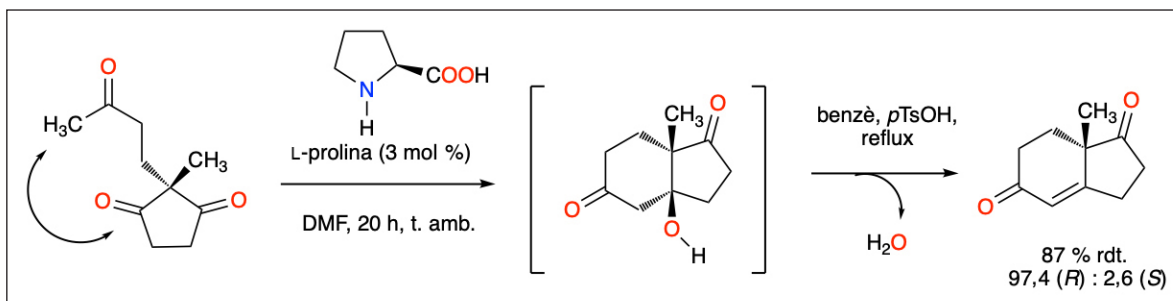
FIGURA 6. Benjamin List (1968). Wikimedia Commons, extret de https://www.youtube.com/watch?v=YIPOqUoN4ZA&ab_channel=DFGbewegt. Aquesta imatge està publicada sota una llicència Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).



FIGURA 7. Carlos F. Barbas III (1964–2014). Wikimedia Commons, extret de https://www.scripps.edu/newsandviews/e_20140630/barbas.html. Aquesta imatge està publicada sota una llicència Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

sobre la síntesi de la vitamina B₁₂ el 1997 (sota la direcció de Johann Mulzer) a la Universitat J. W. Goethe de Frankfurt, List es va traslladar a l'Institut Scripps (La Jolla, Califòrnia) per treballar com a estudiant postdoctoral amb Richard Lerner i Carlos Barbas III. Amb aquest darrer (vegeu la figura 7), que era professor associat a Scripps des del 1995, List va col·laborar en el desenvolupament d'anticossos monoclonals per a la catàlisi asimètrica de reaccions aldòliques [8] i retroaldòliques [9].

El treball de List es va centrar principalment a esbrinar el mecanisme dels anticossos amb activitat catalítica de tipus aldolasa, combinant estudis cinètics, estructurals i teòrics. Malgrat la baixa resolució de les imatges de difracció de raigs X, va poder veure que el centre actiu era similar al de les aldolases de classe I (vegeu la figura 4a), i que un grup amino i un grup hidroxil àcid eren responsables de l'activitat catalítica. Aleshores va pensar en molècules orgàniques senzilles que poguessin servir com a models del centre actiu. El desenvolupament d'un mètode espectrofotomètric per monitoritzar les reaccions retroaldòliques [9] va permetre assajar un conjunt ampli d'aminoàcids i amines quirals, i va mostrar que la L-prolina tenia una activitat catalítica elevada. Aquest resultat va suggerir immediatament una relació amb la reacció de Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert (que d'ara endavant anomenarem *reacció de Hajos-Wiechert*), una ben coneguda ciclació aldòlica intramolecular que també era catalitzada de forma asimètrica per la L-prolina (vegeu l'esquema 1) [10].



ESQUEMA 1. Catàlisi asimètrica per L-prolina de la reacció aldòlica intramolecular. Síntesi de la cetona de Hajos-Parrish [10a]. Elaboració pròpia.

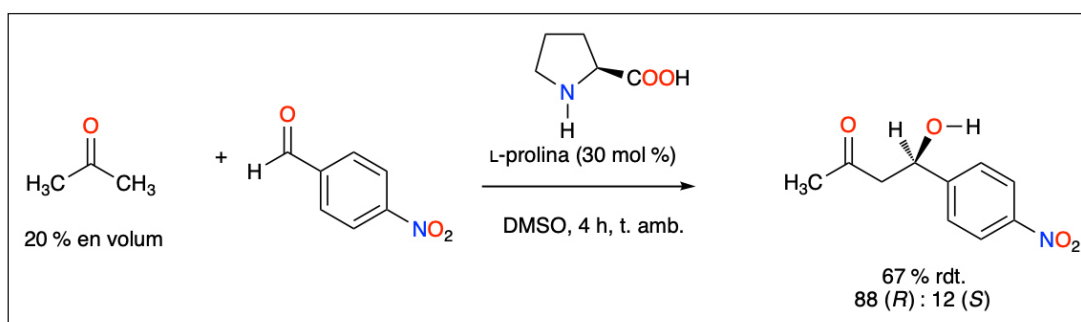
List va raonar que atès que la reacció aldòlica era reversible, la L-prolina, funcionant com una *microaldolasa*, també hauria de catalitzar la reacció aldòlica directa de forma asimètrica, i va veure que efectivament era així en la reacció entre acetona (en excés) i *p*-nitrobenzalhid en solució de dimetilsulfòxid (vegeu l'esquema 2). Després d'unes hores a temperatura ambient, List va observar que el producte d'addició aldòlica s'havia format amb un rendiment acceptable (68% aïllat), i que l'enantiòmer (*R*) era molt majoritari.

Ràpidament, va descobrir que la reacció aldòlica intermolecular entre l'acetona i d'altres derivats del benzalhid catalitzada per L-prolina fornava rendiments i relacions enantiomèriques similars, que encara eren més altes en el cas d'aldehids alifàtics ramificats com l'isobutiralhid (fins a 98 (*R*) : 2 (*S*)). Aquests resultats foren publicats en forma de comunicació curta, en un article que ha esdevingut una de les dues fites fundacionals de l'organocatàlisi asimètrica, i on List figura alhora com a primer autor i com a autor a qui s'han d'adreçar les qüestions relatives a la recerca que s'hi descriu (*corresponding author*, en anglès) [11]. En les anteriors publicacions [8, 9], Barbas i/o Lerner eren els autors de correspondència. No deixa de resultar sorprenent, però, que la versió completa o «llarga» d'aquest article (el que en anglès s'anomena *full paper*) es publicà l'any següent a la mateixa revista, amb

Carlos Barbas com a autor principal i sense que List en sigués un dels autors (això sí, a la secció d'agraïments List és anomenat per les seves «contribucions prèvies») [12].

Tenint en compte el precedent de la reacció de Hajos-Wiechert, i des de la perspectiva actual, pot semblar sorprenent que ningú hagués investigat l'ús de la L-prolina com a catalitzador asimètric de reaccions aldòliques senzilles. S'han adduït diverses raons per justificar-ho: una de les principals és que l'àmbit d'aplicació d'aquesta reacció semblava molt restringit. De fet, Agami i col·laboradors van obtenir resultats decebedors quan van assajar altres ciclacions aldòliques catalitzades per L-prolina [13]. Probablement més important és el fet que fins als treballs de List no s'hagués proposat un mecanisme satisfactori per a la reacció de Hajos-Wiechert. Els estats de transició proposats inicialment per Hajos i Parrish [10a] i posteriorment per Agami [13] eren difícils de racionalitzar (vegeu la figura 8) i suggerien que aquesta reacció era un cas excepcional.

Contràriament al que havia succeït per a la reacció de Hajos-Wiechert, List va proposar un mecanisme conceptualment senzill per a la reacció aldòlica directa, basat en la formació intermèdia d'una enamina, que explicava no solament l'efecte catalític de l'aminoàcid, sinó també l'origen del sentit de la quiralitat obtinguda (vegeu l'esquema 3). L'acetona es combi-



ESQUEMA 2. Catàlisi asimètrica per L-prolina de la reacció aldòlica directa. Elaboració pròpia.

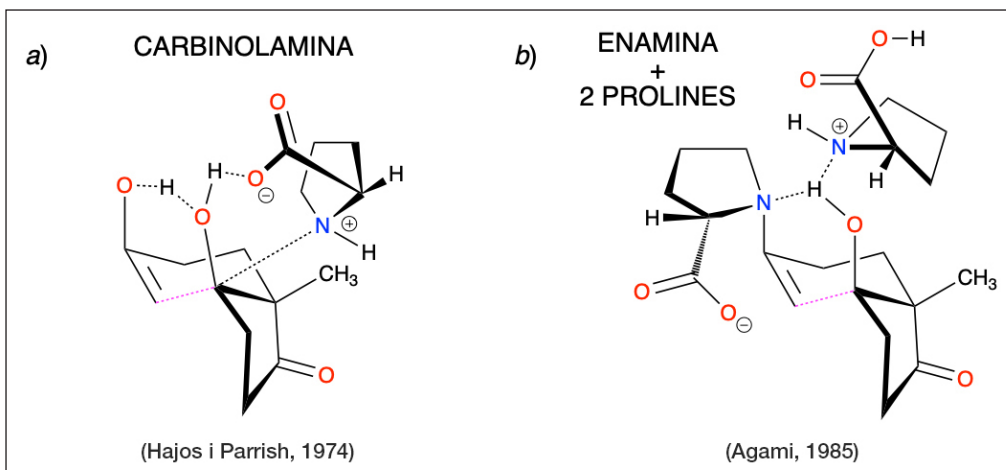
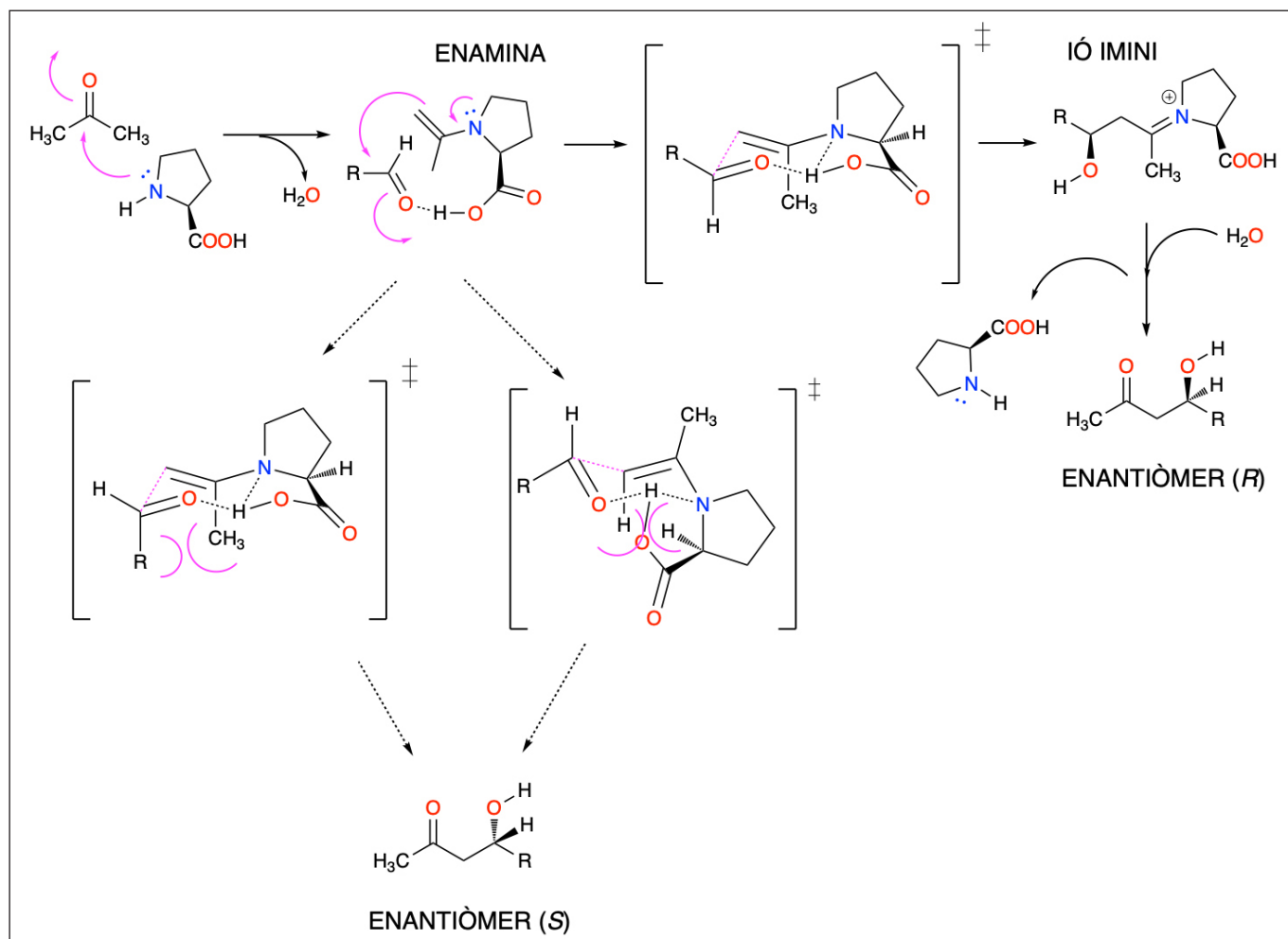


FIGURA 8. El mecanisme de la reacció de Hajos-Wiechert, abans de l'any 2000. a) Hajos i Parrish van descartar la formació d'una enamina i van proposar un estat de transició basat en la formació d'una carbinolamina. b) Agami va proposar la formació d'una enamina, però va incloure una unitat de L-prolina addicional a l'estat de transició. Ambdós models estan basats en dades experimentals errònies o poc acurades. Elaboració pròpia.



ESQUEMA 3. Mecanisme de List i Barbas per a la reacció aldòlica directa catalitzada per L-prolina, que explica satisfactòriament la formació predominant de l'enantiòmer (R) de l'aldol resultant. Els estats de transició alternatius ací representats, que condueixen a l'enantiòmer minoritari (S), no es consideren explícitament a les referències originals [11, 12]. Elaboració pròpia.

na amb la L-prolina per formar una enamina quiral (més una molècula d'aigua). L'àcid carboxílic forma un enllaç d'hidrogen amb l'oxigen de l'aldehid i dirigeix l'aproximació d'aquest darrer per una de les cares del doble enllaç de l'enamina. L'addició té lloc a través d'un estat de transició cíclic de sis baules en conformació de cadira. L'estat de transició de mínima energia (a la dreta de l'enamina) condueix més ràpidament que els altres (a sota de l'enamina, i que pateixen interaccions desestabilitzants) a la formació d'un catió imini intermedi, la hidròlisi del qual regenera el catalitzador (L-prolina) i forneix l'enantiòmer (*R*) de l'aldol. El mateix mecanisme figura a l'article de Barbas [12].

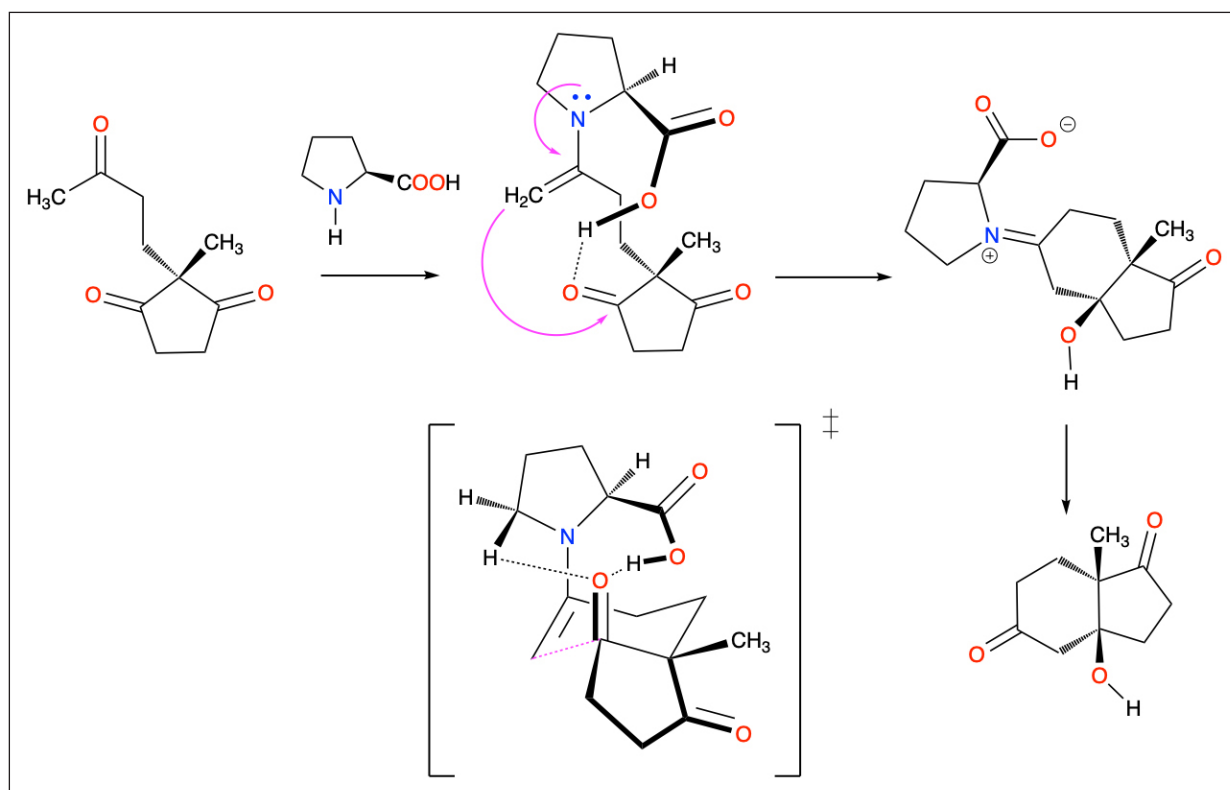
Una extensió d'aquest mecanisme també explica satisfactòriament tots els fets experimentals relatius a la reacció de Hajos-Wiechert mitjançant l'anomenat *estat de transició de Houk-List*, que està també avalat per càlculs teòrics (vegeu l'esquema 4) [14]. Els càlculs no avalen l'enllaç d'hidrogen addicional entre el grup carboxil i l'amina que apareix al mecanisme de List-Barbas (vegeu l'esquema 3), mentre que suggereixen un efecte estabilitzador addicional degut a un enllaç

entre l'hidrogen de C5 de la prolina i el grup carbonil que experimenta l'addició.

La publicació dels resultats preliminars de la catàlisi per L-prolina de les reaccions aldòliques intermoleculars [11] constitueix el primer article com a investigador independent de Benjamin List, que havia estat nomenat professor ajudant a l'Institut Scripps el gener del 1999. Va mantenir aquesta posició fins a l'any 2003, quan es va incorporar a l'Institut Max Planck de Mülheim com a responsable de grup de recerca (*group leader*). L'impacte d'aquest article (que comptava amb més de dues mil dues-centes vuitanta citacions el desembre del 2021) va tenir un paper fonamental en la concessió del Premi Nobel.

David MacMillan: l'escocès a qui no agradaven els metalls

David MacMillan (vegeu la figura 9) va néixer a Bellshill (Escòcia) el 1968 i va estudiar química a la Universitat de Glas-



ESQUEMA 4. El mecanisme de Houk i List per a la reacció de Hajos-Wiechert és totalment coherent amb les dades experimentals (configuració absoluta de l'enantiòmer majoritari, formació reversible d'una enamina, absència d'efectes no lineals en l'excés enantiomèric de l'aldol resultant en variar la puresa enantiomèrica de la prolina). Elaboració pròpia.



FIGURA 9. David W. C. MacMillan (1968). Wikimedia Commons, extret de <https://www.northlanarkshire.gov.uk/news/message-hope-scotlands-newest-nobel-prizewinner> (autor: North Lanarkshire Council). Aquesta imatge està publicada sota una llicència United Kingdom Open Government v3.0 (<https://www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-licence/version/3>).

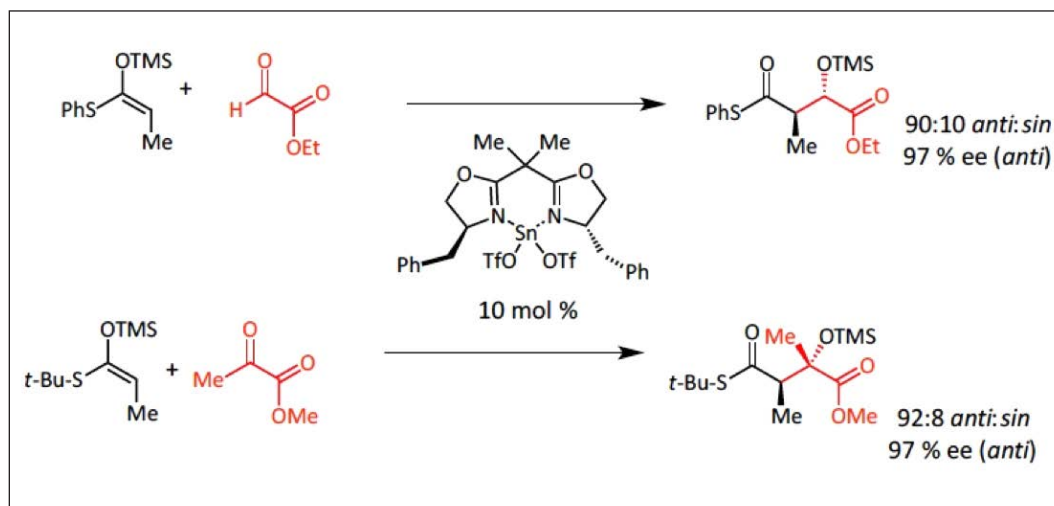
gow. Segons ha manifestat en alguna ocasió, inicialment volia estudiar física, però l'aula era massa freda i es va passar a l'aula de química, que era més confortable tèrmicament. El 1990, es va traslladar a la Universitat de Califòrnia a Irvine, on va dur a terme la tesi doctoral sobre síntesi de productes naturals, sota la direcció de Larry E. Overman.

Tot seguit, MacMillan va fer una estada postdoctoral a la Universitat de Harvard amb el professor David A. Evans; durant

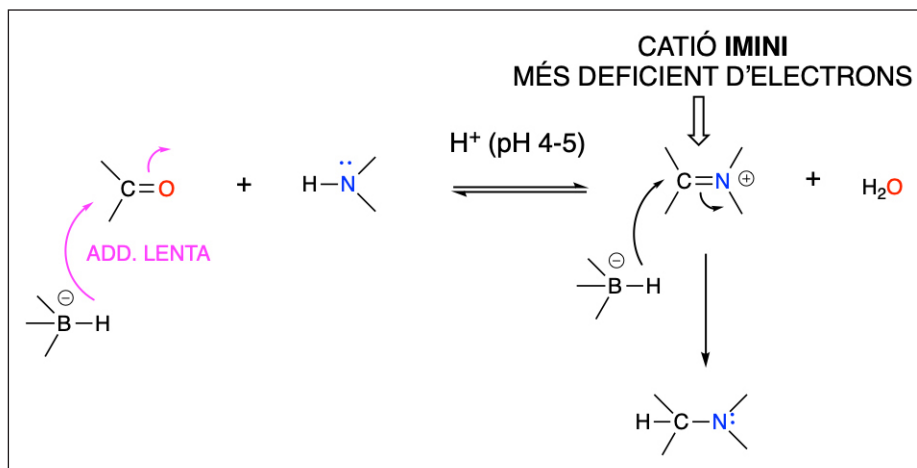
un parell d'anys, va desenvolupar catalitzadors asimètrics per a reaccions aldòliques dirigides, emprant complexos quirals de coure(II) i d'estany(II). Amb alguns d'aquests, va aconseguir excel·lents resultats en la preparació d'aldols quirals amb un alt grau de control estereoquímic (vegeu l'esquema 5) [15].

Si bé els resultats d'aquesta catàlisi asimètrica són molt bons, aquesta metodologia presenta diversos inconvenients que en limiten l'aplicabilitat. En primer lloc, els reactius no són tots comercialment assequibles. El mateix passa amb els components del complex catalític: el triflat d'estany(II) i el lligand bis(oxazolina) quiral. La preparació del catalitzador i la mateixa reacció s'han de dur a terme en atmosfera inerta, amb rigorosa exclusió d'aigua, dins d'un equipament especial anomenat *caixa seca* o *caixa de guants*, difícil de manipular i amb un cost elevat. Cal purificar i assecat rigorosament el dissolvent de la reacció, que a més és halogenat (diclorometà). Per obtenir bons rendiments i enantioselectivitats, cal emprar temperatures de reacció molt baixes ($-78\text{ }^{\circ}\text{C}$). I finalment, no es coneix el mecanisme de la reacció, de manera que més enllà de correlacionar l'estereoquímica del catalitzador amb la del producte, no podem explicar l'origen de la selecció de la quiralitat.

MacMillan era totalment conscient d'aquests inconvenients i, en iniciar la seva carrera independent a la Universitat de Berkeley el 1998, es va posar com a objectiu (certament ambiciós) trobar un procés de catàlisi asimètrica que es pogués dur a terme amb reactius comercialment assequibles, a temperatura ambient i en presència d'oxigen i d'aigua (prescin-



ESQUEMA 5. Catàlisi asimètrica de les addicions d'enols sililats a glixolats i piruvats, amb complexos de bisoxazolina-estany(II) [15]. Els valors de 97% d'ee (excés enantiomèric) corresponen a una relació enantiomèrica (*re*) de 98,5:1,5. Elaboració pròpia.



ESQUEMA 6. El mecanisme «de llibre de text» de la reacció d'aminació reductiva. Elaboració pròpia.

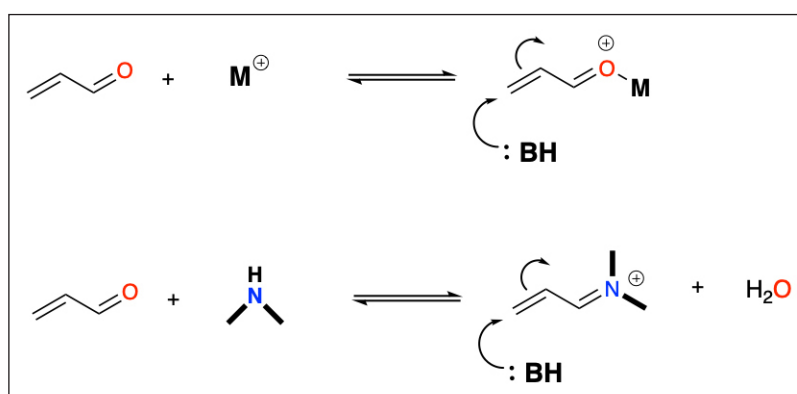
dint així de l'ús de l'esmentada caixa seca). En concret, com que la inestabilitat dels catalitzadors es devia principalment al metall, es va proposar desenvolupar catalitzadors asimètrics purament orgànics. Després d'explorar sense èxit algunes idees inicials, explicant el mecanisme de la reacció anomenada *d'aminació reductiva* (vegeu l'esquema 6) a un dels seus estudiants de postgrau (Tristan H. Lambert, actualment professor a la Universitat de Cornell), va pensar en la possibilitat d'emprar amines secundàries quirals per efectuar de manera catalítica les reaccions entre compostos rics en electrons i compostos carbonílics α,β -insaturats.

Efectivament, en aquesta reacció hom mescla en un dissolvent pròtic (fins i tot aquós) un compost carbonílic, una amina i un borohidrures (donador d'anions hidrures), a un pH lleugerament àcid. Ràpidament s'estableix un equilibri entre el compost carbonílic i el catió imini corresponent. Encara que

en principi el borohidrures pot addicionar-se a qualsevol dels dos compostos, l'ió imini és molt més reactiu (més deficient en electrons), i es redueix de forma selectiva.

Aleshores, MacMillan va pensar que si l'addició tingués lloc al doble enllaç carboni-carboni en un ió imini α,β -insaturat, el producte seria un altre ió imini, que es podria hidrolitzar en el medi i regenerar l'amina. En concret, va raonar que la formació d'aquest ió imini insaturat a partir de l'amina i el carbonil insaturat seria equivalent a la coordinació de l'oxigen amb un àcid de Lewis (per exemple, un catió metàl·lic). Si l'amina emprada era quiral, podria, doncs, activar el substrat carbonílic de manera que la reacció tingués lloc de forma asimètrica (vegeu l'esquema 7).

Dins d'aquest nou marc conceptual, MacMillan va dissenyar un cicle catalític en el qual, emprant una amina secundària



ESQUEMA 7. Activació d'un compost carbonílic insaturat, per coordinació amb un ió metàl·lic o per formació d'un catió imini. Elaboració pròpia.

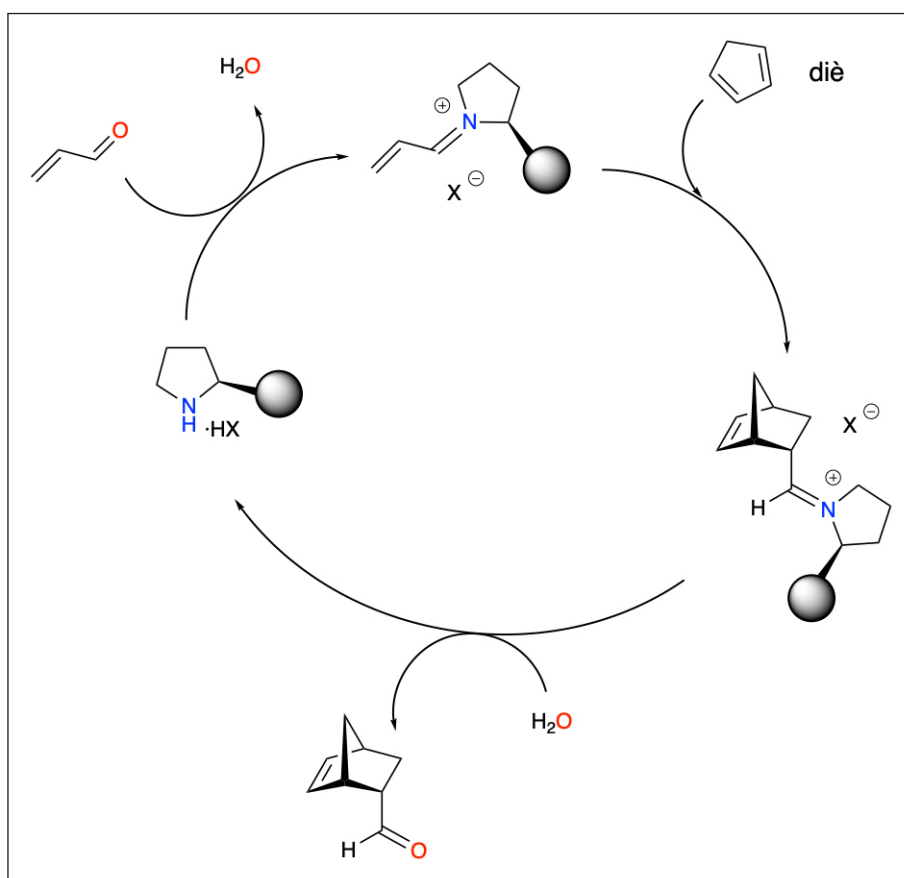
quiral, es podria catalitzar una reacció de Diels-Alder de forma asimètrica (vegeu l'esquema 8).

Els primers assaigs, emprant amines quirals derivades de la prolina (per exemple, l'hidroclorur de l'èster metílic de la L-prolina), van donar resultats positius, però la puresa òptica del producte final no superava el 49% d'ee [74,5 (*R*) : 25,5 (*S*)]. L'estudiant de doctorat que treballava en el projecte (Kateri A. Ahrendt) va preparar i assajar nombroses amines quirals, però les que donaven millors resultats eren difícils de sintetitzar. Finalment, i gairebé sis mesos després d'haver obtingut els primers resultats, se li va acudir un nou tipus d'amina quiral, una imidazolidinona, derivada d'un aminoàcid proteïnogen acíclic (la fenilalanina), de fàcil preparació (vegeu la figura 10).

Amb aquesta amina quiral es van obtenir relacions enantiomèriques molt elevades (fins a 98:2) en un conjunt de reaccions (vegeu l'esquema 9), i un mes després que List publicqués

els seus resultats sobre la reacció aldòlica intermolecular [11] va aparèixer a la mateixa revista (el *Journal of the American Chemical Society*) l'article de MacMillan, on introduïa (en el títol) el terme *organocatàlisi* [16]. Al mateix temps, Ahrendt i MacMillan van presentar una patent sobre la utilització d'imidazolidinones com a organocatalitzadors enantioselectius [17].

És important remarcar que ací també l'explicació mecanística del procés és fàcil d'entendre i, a més, mitjançant modelització molecular (MM3) es justifica que la conformació de mínima energia de l'ió imini insaturat (on l'enllaç doble N=C₁ té configuració (*E*), per evitar les interaccions estèriques entre el fragment C₂=C₃ i els grups metil geminals) és del tipus *s-trans* (per a C₂-C₃, per minimitzar la interacció de C₃ amb el grup benzil). D'aquesta manera, el grup fenil bloqueja la cara C₃-*re* del dienòfil, i el diè ha d'atacar per la cara C₃-*si* (vegeu la figura 11), la qual cosa justifica la configuració absoluta de l'enantiòmer majoritari dels adductes de Diels-Alder.



ESQUEMA 8. Cicle catalític proposat per MacMillan per a una reacció de Diels-Alder asimètrica entre un al·dehid α,β -insaturat i ciclopentadiè, emprant una sal d'amina cíclica quiral com a catalitzador. Elaboració pròpia.

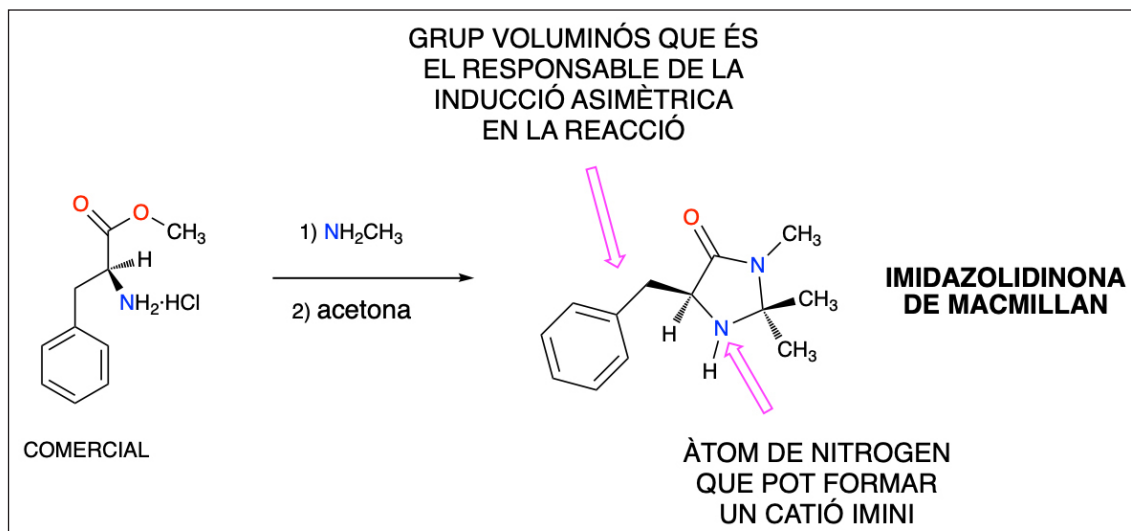
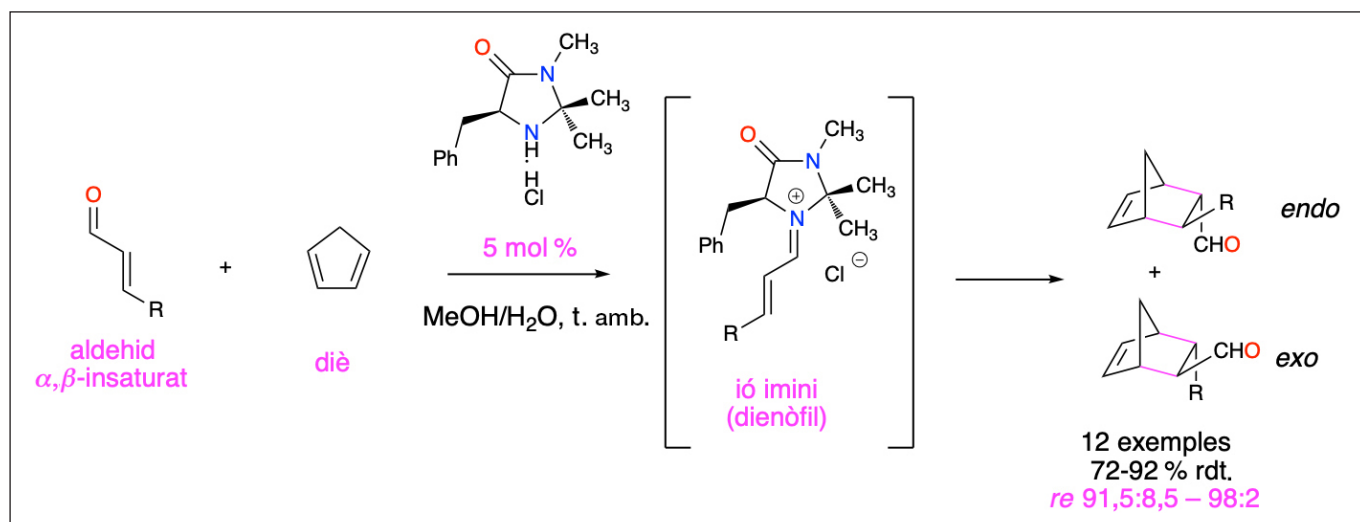


FIGURA 10. La imidazolidinona d'Ahrendt i MacMillan «de primera generació». Elaboració pròpia.



ESQUEMA 9. Reacció de Diels-Alder asimètrica organocatalítica entre un aldehyd α,β -insaturat i ciclopentadiè, emprant una imidazolidinona quiral com a catalitzador. Elaboració pròpia.

Aquest article havia rebut més de mil cent seixanta-cinc citacions el desembre de 2021 i representa la fita inicial en el desenvolupament de l'activació via ions imini insaturats per a l'organocatàlisi asimètrica.

Examinant la literatura científica anterior a l'any 2000, podem trobar alguns precedents per a l'organocatàlisi asimètrica mitjançant ions imini. El 1989, Jung i col·laboradors [18] van demostrar la possibilitat d'inducció asimètrica en reaccions de Diels-Alder d'ions imini α,β -insaturats quirals (vegeu l'esquema 10). D'altra banda, el 1993, Yamaguchi [19] va descriure la catàlisi asimètrica d'addicions de Michael per la sal

de rubidi de la L-prolina i va proposar la formació intermèdia d'un catió imini α,β -insaturat quiral en el cycle catalític (vegeu l'esquema 11). Aquestes reaccions es van percebre, però, com a exemples aïllats de catàlisi asimètrica.

La «febre de l'or» de l'organocatàlisi asimètrica

En els sis o set anys immediatament posteriors a la publicació dels primers articles de List [11] i de MacMillan [16], es va produir un creixement exponencial dels treballs sobre organo-

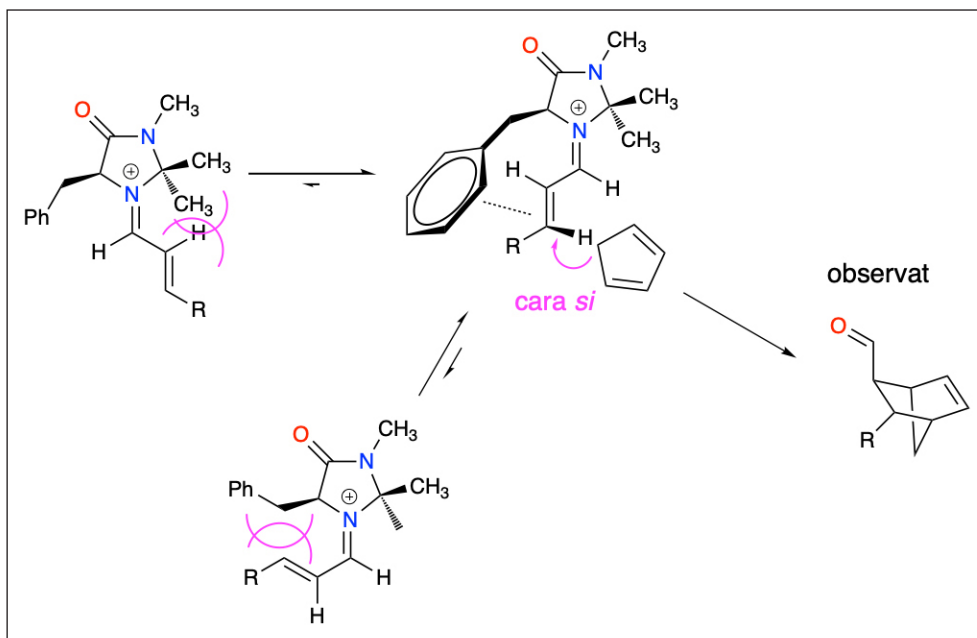
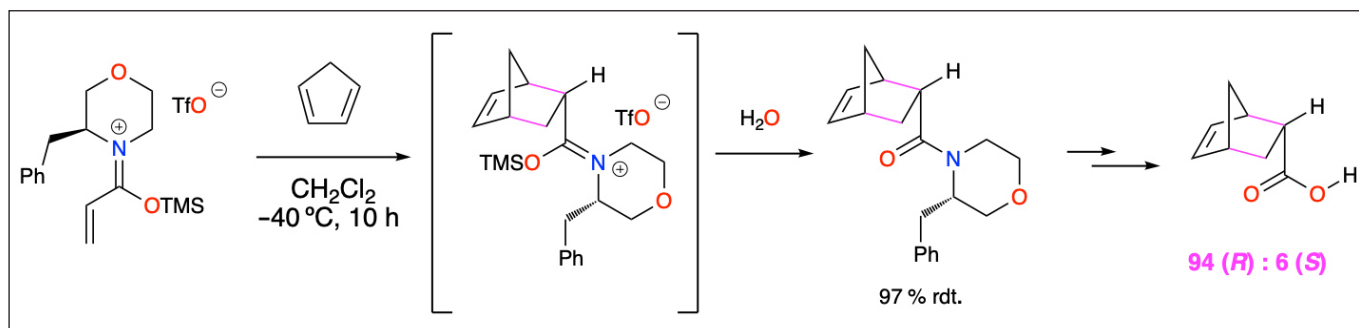
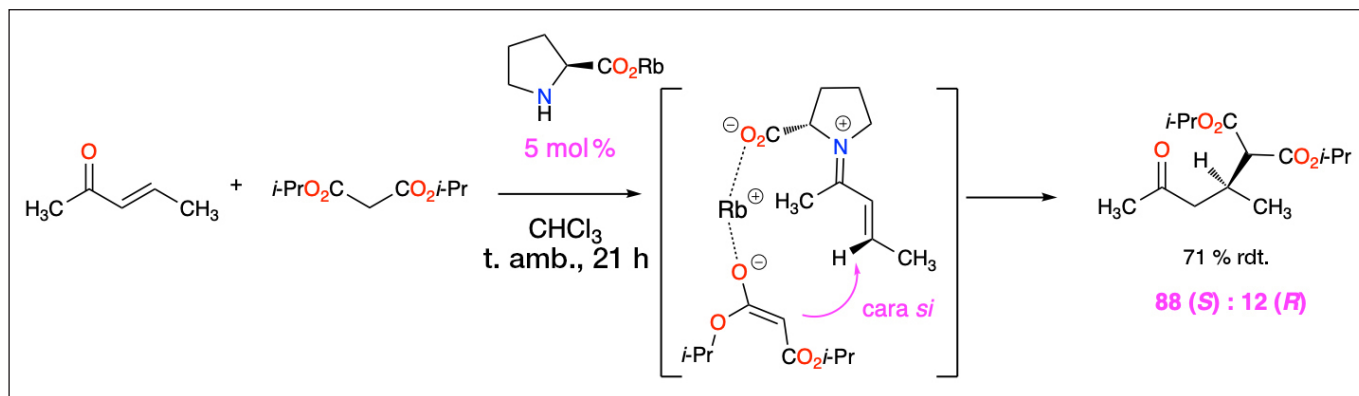


FIGURA 11. Justificació del biaix enantioselectiu en la reacció de Diels-Alder asimètrica catalitzada per la imidazolidinona de MacMillan. Elaboració pròpia.



ESQUEMA 10. Reacció de Diels-Alder asimètrica entre un ió imini quiral α,β -insaturat i ciclopentadiè (Jung, 1989). Elaboració pròpia.



ESQUEMA 11. Addició de Michael catalítica asimètrica d'un malonat a un carbonil α,β -insaturat (Yamaguchi, 1993). Elaboració pròpia.

catàlisi asimètrica i va tenir lloc la que aleshores va ser qualificada com una veritable «febre de l'or» [20], en la qual químics de tot el món van començar a desenvolupar les diverses possibilitats de la catàlisi via enamina i ions imini, de manera que es van descobrir nous tipus d'organocatalitzadors enantioselectius. Actualment es continuen publicant més de mil tres-cents articles anuals sobre organocatàlisi asimètrica, que s'ha convertit en el que s'anomena la «tercera columna» de la catàlisi asimètrica, junt amb la catàlisi enzimàtica i la catàlisi metàl·lica.

Si ens preguntem quines han estat les claus de l'èxit de l'organocatàlisi asimètrica, podem trobar moltes respostes diferents:

- que evita el risc de contaminació dels productes amb metalls o lligands tòxics;
- que té uns procediments de reacció senzills (sovint només cal mesclar els reactius amb els catalitzadors!);
- que no cal emprar solvents purificats i anhídres, atmosfera inerta ni temperatures extremes;
- que les seves reaccions es poden escalar generalment sense dificultat (entre 0,1 mmol i 50 mmol) i es poden dur a terme en reactors tancats o en sistemes de flux obert;
- que els catalitzadors són sovint productes naturals, fàcilment assequibles en forma enantiomèricament pura i econòmics (comparats amb enzims i complexos quirals de metalls de transició);
- que és compatible amb reaccions polars, pericíclics i radicalàries, i es pot emprar conjuntament amb altres tipus de catàlisi com la catàlisi metàl·lica, la fotocatàlisi i l'electrocatalisi.

La creació del terme *organocatàlisi* [16] ha tingut també un paper fonamental en la popularització d'aquest mètode de catàlisi asimètrica. En paraules de David MacMillan, «em sap greu dir-ho, però crec que és cert: la invenció de la paraula

organocatàlisi va ser el que de veritat "va encendre" el camp [de recerca]». En un influent article de revisió publicat el 2008, i que des d'aleshores fins a l'actualitat (gener del 2022) ha rebut més de dues mil dues-cents cinquanta citacions, MacMillan deia concretament: «el terme *organocatàlisi* va proporcionar una identitat sòlida i va ajudar a unificar un camp naixent i, a més, va atreure l'atenció de la comunitat sintètica en general» [21].

Ens podem preguntar, doncs, quan va començar, de fet, l'organocatàlisi asimètrica? De fet, molt al principi de la química orgànica. El 1860, Justus von Liebig va descriure que l'acetaldehid catalitzava la hidratació del cianogen a oxamida [22]; Langenbeck, el 1928, va utilitzar per primer cop el terme *catalitzador orgànic* [23] i va escriure un llibre que portava per títol *Die Organischen Katalysatoren, und ihre Beziehungen zu den Fermenten* («Els catalitzadors orgànics i llur relació amb els ferments [enzims]») [24]. La primera reacció d'organocatàlisi *asimètrica* s'atribueix a Bredig, que el 1913 va descriure que la quinina i la quinidina catalitzaven la formació en forma no racèmica de la cianohidrina del benzaldehid (vegeu la figura 12) [25].

La primera síntesi asimètrica catalitzada per un compost orgànic quiral i que proporcionà relacions enantiomèriques elevades (*re* > 85:15) fou l'addició de metanol al fenil metil cetè catalitzada pel benzoat de la quinina, descrita per Horst Pracejus (1927–1987) a la dècada del 1960 (vegeu l'esquema 12) [26].

En el període 1960–2000 es van dur a terme investigacions pioneres en les principals àrees del que ara coneixem com a *organocatàlisi asimètrica*. Entre d'altres [27], i una dècada després de la catàlisi per L-prolina de la reacció aldòlica intramolecular (Hajosh-Wiechert) [10], cal esmentar la reacció de Julià-Colonna [28], descrita inicialment per Sebastián Julià i els seus col·laboradors a Barcelona, a l'Institut Químic de Sar-

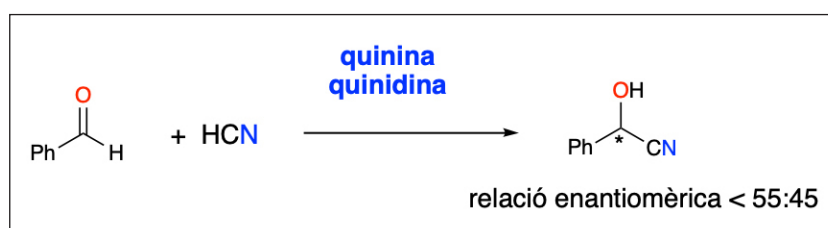
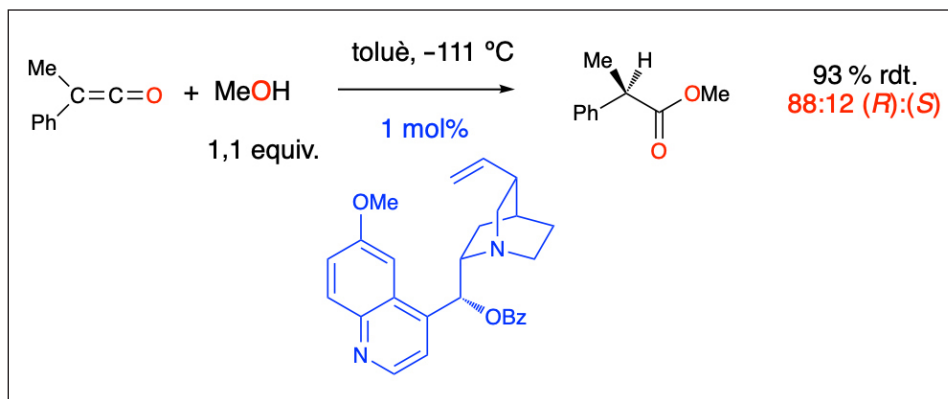


FIGURA 12. Obtenció d'una cianohidrina no racèmica per organocatàlisi asimètrica (Bredig, 1913). Elaboració pròpia.



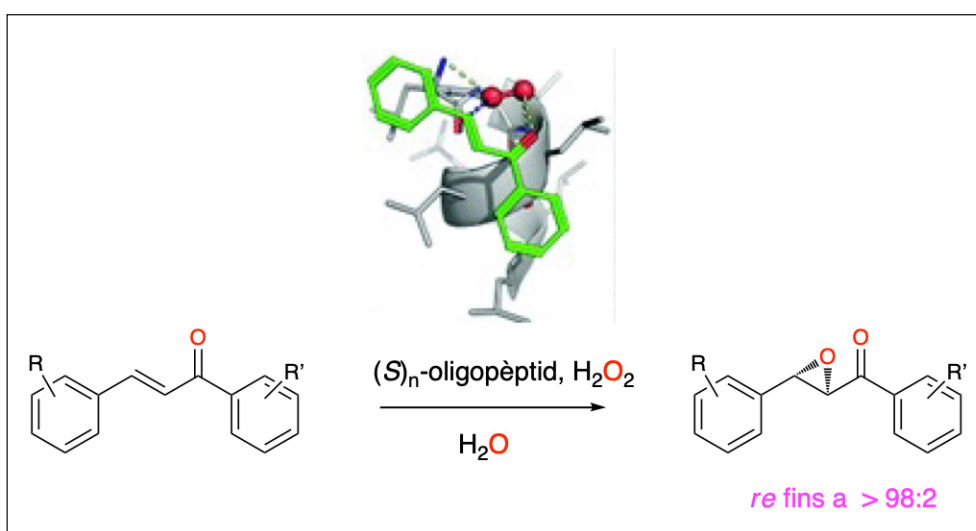
ESQUEMA 12. Síntesi asimètrica d'un èster per addició organocatalitzada de metanol a un cetè (Pracejus, 1960). Elaboració pròpia.

rià, el 1980, i desenvolupada posteriorment (1982) en col·laboració amb Stefano Colonna; una reacció que proporciona excel·lents enantioselectivitats en l'epoxidació de cetones insaturades amb peròxid d'hidrogen, catalitzada per poli-L-leucina (vegeu l'esquema 13).

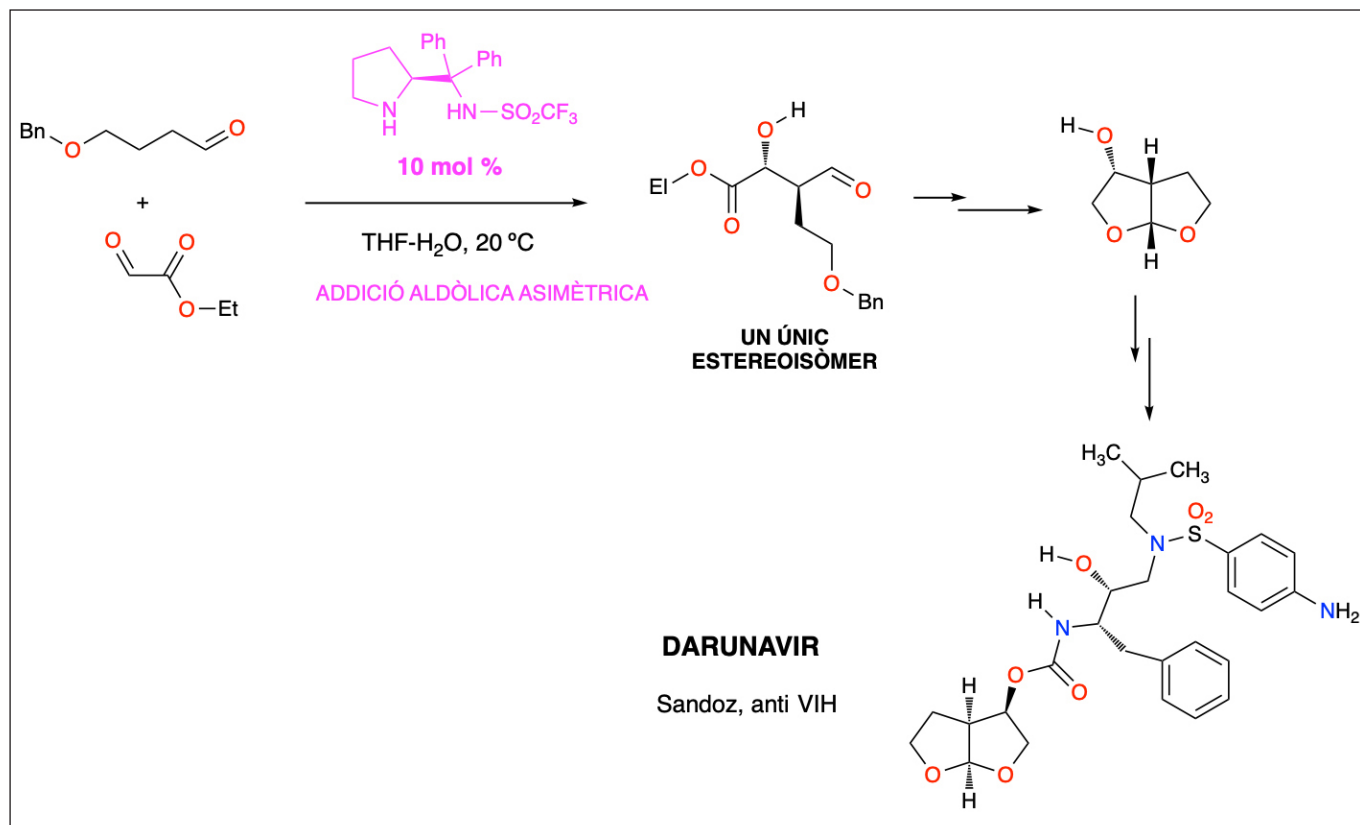
Però no va ser fins la publicació dels articles seminals de List i MacMillan l'any 2000, seguida ràpidament per d'altres contribucions dels dos grups (i de Carlos Barbas III, que va morir prematurament als quaranta-nou anys) [29], que un bon nombre de químics va comprendre que l'organocatàlisi era un concepte *general*, aplicable a diversos modes d'activació [30], i que bàsicament *tothom* (sense necessitat de coneixements molt especialitzats, instrumentació sofisticada ni d'un pressupost elevat) podia dir: «he tingut aquesta idea i la puc posar

en pràctica». En aquest sentit, hi ha un consens prou general a l'hora d'afirmar que la introducció de l'organocatàlisi ha dut a terme la «democratització» de la catàlisi asimètrica, que ha deixat de ser un camp de recerca a l'abast d'uns pocs laboratoris (tant per qüestions econòmiques com per l'alta especialització que requereix el treball amb enzims aïllats o amb complexos de metalls de transició).

Actualment, els conceptes i les tècniques de l'organocatàlisi han passat a formar part de la «caixa d'eines» que els químics sintètics empenen per a la construcció de molècules complexes amb propietats específiques partint de materials senzills i assequibles (junt amb d'altres tècniques com les ciclacions per metàtesi d'alquens o els acoblaments encreuats catalitzats per pal·ladi, també guardonades amb el Premi Nobel de Quí-



ESQUEMA 13. Epoxidació organocatalítica asimètrica de calcones (Julià, 1960). Elaboració pròpia.



ESQUEMA 14. Síntesi organocatalítica asimètrica d'un fàrmac antiviral. Elaboració pròpia.

mica). I l'impacte ha estat encara més gran en la indústria farmacèutica, la qual cosa ha facilitat l'obtenció de fàrmacs quirals de forma enantioselectiva (vegeu l'esquema 14).

En aquesta edició, i per segon any consecutiu, els discursos d'acceptació [29] van tenir lloc en línia, i les medalles Nobel (vegeu la figura 13) es van lliurar a les ambaixades de Suècia dels Estats Units i d'Alemanya.

Voldria finalitzar aquest article amb unes paraules de Benjamin List: «De vegades penso que un Premi Nobel potser és massa per a dues persones. Perquè en realitat no és només un laboratori, és tot el camp de recerca —tots els que hi han treballat de valent, competitivament i enèrgicament. El Nobel és un honor també per a ells. I tothom que hi ha contribuït en els darrers vint anys hauria d'estar orgullós de les seves contribucions» [31].



FIGURA 13. Benjamin List, «compartint» la medalla del Nobel amb una estudiant de doctorat (Marian Guillén, que va realitzar el Màster en Química Orgànica a la Universitat de Barcelona l'any 2020 sobre organofotocatàlisi asimètrica). Fotografia cedida per Marian Guillén.

Agraïments

Vull agrair a la Junta de la Societat Catalana de Química la invitació per lliurar la conferència del Premi Nobel de Química del 2021, als companys i companyes del grup de recerca al Departament de Química Inorgànica i Orgànica (especialment als doctors Joaquim Crusats, Xavier Companyó i Guillem Valero, així com a Pol Torres), pel que compartim dia a dia, i el suport econòmic del Ministeri de Ciència i Innovació (MICINN), a través del projecte PID2020-116846GB-C21.

Referències i altres fonts

- [1] «The Nobel Prize in Chemistry 2021. Press release» [en línia], 2021. <<https://www.nobelprize.org/uploads/2021/10/press-chemistryprize2021.pdf>> [Consulta: 27 desembre 2021].
- [2] «The Nobel Prize in Chemistry 2001. Summary» [en línia]. <<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2001/summary>> [Consulta: 27 desembre 2021].
- [3] ROTHENBERG, G. *Catalysis: Concepts and green applications*. 2a ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2017.
- [4] GEISON, G. L. *The private science of Louis Pasteur*. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1995.
- [5] SOCIÉTÉ CHIMIQUE DE PARIS. *Leçons de chimie professées en 1860*. Paris: Librairie de L. Hachette et Cie., 1860.
- [6] GEFFLAUT, T.; BLONSKI, C.; PERIE, J.; WILLSON, M. «Class I aldolases: substrate specificity, mechanism, inhibitors and structural aspects». *Prog. Biophys. Mol. Biol.* [en línia], 63 (3) (1995), p. 301-340. <[https://doi.org/10.1016/0079-6107\(95\)00008-9](https://doi.org/10.1016/0079-6107(95)00008-9)>.
- [7] AGRANAT, I.; CANER, H.; CALDWELL, J. «Putting chirality to work: the strategy of chiral switches». *Nat. Rev. Drug Discov.* [en línia], 1 (octubre 2002), p. 753-768. <<https://doi.org/10.1038/nrd915>>.
- [8] HOFFMANN, T.; ZHONG, G.; LIST, B.; SHABAT, D.; ANDERSON, J.; GRAMATIKOVA, S.; LERNER, R. A.; BARBAS III, C. F. «Aldolase antibodies of remarkable scope». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 120 (12) (1998), p. 2768-2779. <<https://doi.org/10.1021/ja973676b>>.
- [9] ZHONG, G.; SHABAT, D.; LIST, B.; ANDERSON, J.; SINHA, S. C.; LERNER, R. A.; BARBAS III, C. F. «Catalytic enantioselective retro-aldol reactions: kinetic resolution of β -hydroxyketones with aldolase antibodies». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 37 (18) (1998), p. 2481-2484. <[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19981002\)37:18<2481::AID-ANIE2481>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19981002)37:18<2481::AID-ANIE2481>3.0.CO;2-T)>.
- [10] a) HAJOS, Z. G.; PARRISH, D. R. «Asymmetric synthesis of bicyclic intermediates of natural product chemistry». *J. Org. Chem.* [en línia], 39 (12) (1974), p. 1615-1621. <<https://doi.org/10.1021/jo00925a003>>. b) EDER, U.; SAUER, G.; WIECHERT, R. «New type of asymmetric cyclization to optically active steroid CD partial structures». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 10 (7) (1971), p. 496-497. <<https://doi.org/10.1002/anie.197104961>>.
- [11] LIST, B.; LERNER, R. A.; BARBAS III, C. F. «Proline-catalyzed direct asymmetric aldol reactions». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 122 (10) (2000), p. 2395-2396. <<https://doi.org/10.1021/ja994280y>>.
- [12] SAKTHIVEL, K.; NOTZ, W.; BUI, T.; BARBAS III, C. F. «Amino acid catalyzed direct asymmetric aldol reactions: a bioorganic approach to catalytic asymmetric carbon-carbon bond-forming reactions». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 123 (22) (2001), p. 5260-5276. <<https://doi.org/10.1021/ja010037z>>.
- [13] AGAMI, C.; PLATZER, N.; SEVESTRE, H. «Enantioselective cyclizations of acyclic 1,5-diketones». *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2 (1987), p. 358-360.
- [14] a) BAHMANYAR, S.; HOUK, K. N. «The origin of stereoselectivity in proline-catalyzed intramolecular aldol reactions». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 123 (51) (2001), p. 12911-12912. <<https://doi.org/10.1021/ja011714s>>. b) BAHMANYAR, S.; HOUK, K. N.; MARTIN, H. J.; LIST, B. «Quantum mechanical predictions of the stereoselectivities of proline-catalyzed asymmetric intermolecular aldol reactions». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 125 (9) (2003), p. 2475-2479. <<https://doi.org/10.1021/ja028812d>>. c) ARMSTRONG, A.; BOTO, R. A.; DINGWALL, P.; CONTRERAS-GARCÍA, J.; HARVEY, M. J.; MASON, N. J.; RZEPA, H. S. «The Houk-List transition states for organocatalytic mechanisms revisited». *Chem. Sci.* [en línia], 5 (5) (2014), p. 2057-2071. <<https://doi.org/10.1039/c3sc53416b>>.
- [15] EVANS, D. A.; MACMILLAN, D. W. C.; CAMPOS, K. R. «C₂-symmetric tin(II) complexes as chiral Lewis acids. Catalytic enantioselective anti aldol additions of enolsilanes to glyoxylate and pyruvate esters». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 119 (44) (1997), p. 10859-10860. <<https://doi.org/10.1021/ja972547s>>.
- [16] AHRENDT, K. A.; BORTHS, C. J.; MACMILLAN, D. W. C. «New strategies for organic catalysis: The first highly enantioselective organocatalytic Diels-Alder reaction». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 122 (17) (2000), p. 4243-4244. <<https://doi.org/10.1021/ja000092s>>.
- [17] MACMILLAN, D. A.; AHRENDT, K. A. «Chemical transformation of substrates using nonmetallic, organic catalyst compositions». United States Patent 6369243 (18 gener 2000).
- [18] JUNG, M. E.; VACCARO, W. D.; BUZSEK, K. R. «Asymmetric Diels-Alder reactions of chiral alkoxy iminium salts». *Tetrahe-*

dron Lett. [en línia], 30 (15) (1989), p. 1893-1896. <[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)99606-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)99606-0)>.

[19] YAMAGUCHI, M.; SHIRAIISHI, T.; HIRAMA, M. «A catalytic enantioselective Michael addition of a simple malonate to prochiral α,β -unsaturated ketones and aldehydes». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 32 (8) (1993), p. 1176-1178. <<https://doi.org/10.1002/anie.199311761>>.

[20] MELCHIORRE, P.; MARIGO, M.; CARLONE, A.; BARTOLI, G. «Asymmetric aminocatalysis – gold rush in organic chemistry». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 47 (33) (2008), p. 6138-6171. <<https://doi.org/10.1002/anie.200705523>>.

[21] MACMILLAN, D. W. C. «The advent and development of asymmetric organocatalysis». *Nature* [en línia], 455 (2008), p. 304-308. <<https://doi.org/10.1038/nature07367>>.

[22] LIEBIG, J. von. «Über die Bildung des Oxamids aus Cyan». *Justus Liebigs Ann. Chem.* [en línia], 113 (2) (1860) p. 246-247. <<https://doi.org/10.1002/jlac.18601130213>>.

[23] LANGENBECK, W. «Über Ähnlichkeiten in der katalytischen Wirkung von Fermenten und von definierten organischen Stoffen». *Angew. Chem.* [en línia], 41 (27) (1928) p. 740-745. <<https://doi.org/10.1002/ange.19280412704>>.

[24] LANGENBECK, W. *Die Organischen Katalysatoren und ihre Beziehungen zu den Fermenten*. 2a ed. Berlín: Springer, 1949.

[25] BREDIG, G.; FISKE, P. S. «Asymmetric synthesis caused by catalyst». *Biochem. Z.*, 46 (1913) p. 7-23.

[26] a) PRACEJUS, H. «Organische Katalysatoren, LXI. Asymmetrische Synthesen mit Ketenen, I. Alkaloid-katalysierte asymmetrische Synthesen von α -Phenyl-propionsäureestern». *Justus Liebigs Ann. Chem.* [en línia], 634 (1) (1960) p. 9-22. <<https://doi.org/10.1002/jlac.19606340103>>. b) PRACEJUS, H.; MÄTJE, H. «Organische Katalysatoren, LXXI. Asymmetrische Synthesen mit Ketenen, IV. Zusammenhänge zwischen dem räumlichen Bau einiger alkaloidartiger Katalysatoren und

ihren stereospezifischen Wirkungen bei asymmetrischen Estersynthesen». *J. Prakt. Chem.* [en línia], 24 (3-4) (1964) p. 195-205. <<https://doi.org/10.1002/prac.19640240311>>.

[27] Per a una perspectiva històrica més completa, vegeu: RIOS, R.; COMPANYÓ, X. «Introduction: a historical point of view». A: RIOS, R. (ed.). *Stereoselective organocatalysis: Bond formation methodologies and activation modes*. Hoboken, NJ: Wiley, 2013, p. 1-10.

[28] a) JULIÀ, S.; MASANA, J.; VEGA, J. C. «"Synthetic enzymes". Highly stereoselective epoxidation of chalcone in a triphasic toluene-water-poly[(S)-alanine] system». *Angew. Chem. Int. Ed.* [en línia], 19 (11) (1980), p. 929-931. <<https://doi.org/10.1002/anie.198009291>>. b) JULIÀ, S.; GUIXER, J.; MASANA, J.; ROCAS, J.; COLONNA, S.; ANNUNZIATA, R.; MOLINARI, H. «Synthetic enzymes. Part 2. Catalytic asymmetric epoxidation by means of polyamino-acids in a triphase system». *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* [en línia], 0 (1982), p. 1317-1324. <<https://doi.org/10.1039/P19820001317>>.

[29] Per a una explicació més detallada de les contribucions de List i de MacMillan a l'organocatàlisi asimètrica posteriors a les publicacions pioneres de principis del 2000, vegeu les seves conferències Nobel: THE NOBEL PRIZE. «2021 Nobel Prize lectures in chemistry» [en línia]. <<https://www.youtube.com/watch?v=IW4zgOHhefc>> [Consulta: 07 gener 2022].

[30] MOYANO, A. «Activation modes in asymmetric organocatalysis». A: RIOS, R. (ed.). *Stereoselective organocatalysis: Bond formation methodologies and activation modes*. Hoboken, NJ: Wiley, 2013, p. 11-80.

[31] DURRANI, J. «How organocatalysis won the Nobel Prize». *Chemistry World* [en línia] (15 octubre 2021). <<https://www.chemistryworld.com/features/how-organocatalysis-won-the-nobel-prize/4014582.article>> [Consulta: 13 gener 2022].



A. Moyano

Albert Moyano va néixer el 1955 a Barcelona. És llicenciat en química per la Universitat de Barcelona (UB, 1978), on també es va doctorar en química orgànica, sota la direcció del doctor Fèlix Serratosa. Després d'una estada postdoctoral a la Universitat de Grenoble (1985-1986) amb el doctor Andrew Greene, on va prendre contacte amb la síntesi asimètrica, tornà a la UB, on és catedràtic des del 2003. Les seves línies de recerca actuals se centren en nous mètodes de catàlisi asimètrica i en l'estudi dels processos de trencament espontani de la simetria especular.

Químics catalans al món: Pau Farràs Costa

Universitat de Galway (Irlanda)



Pau Farràs i l'edifici central (Quadrangle) de la Universitat de Galway (Irlanda). Fotografies cedides per Pau Farràs.

Trajectòria científica i professional

El doctor Pau Farràs Costa (Sabadell, 1981) va estudiar enginyeria química a la Universitat Autònoma de Barcelona (1998-2003) i va complementar els estudis amb una estada a la indústria Uquifa, SA, de Sant Celoni, on va treballar durant nou mesos com a enginyer de control de processos. A continuació va realitzar una estada dins el programa Erasmus a la Universitat Tecnològica de Dinamarca (DTU), sota la supervisió del doctor Jon Davies i el professor Ib Chorkendorff, on va treballar en sistemes d'hidrurs metàl·lics per a l'emmagatzematge d'hidrogen. L'any 2003 va començar els estudis de doctorat a l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC) sota la direcció del professor Francesc Teixidor (2003-2009). El seu treball de doctorat es va centrar en la preparació de clústers metàl·lics de bor, coneguts com a *metalHacarborans*, des del punt de vista experimental i teòric [1]. Durant la tesi va sintetitzar compostos i els va estudiar utilitzant una gran varietat de tècniques fisicoquímiques amb vista a fer-ne un ús posterior en materials per a aplicacions en energia i biomèdiques. També va tenir l'oportunitat de fer estades a la Universitat de Bonn amb el professor Reiner Streubel

i a la Universitat d'Edimburg amb el professor David Leigh. Els resultats de la tesi li van valer el reconeixement de la Universitat Autònoma de Barcelona amb el Premi Extraordinari de Doctorat l'any 2012.

L'any 2009 va començar el primer contracte postdoctoral a l'Institut Català d'Investigació Química (ICIQ) sota la supervisió del professor Antoni Llobet. Durant el temps a l'ICIQ, va liderar la investigació en fotosíntesi artificial treballant en sistemes d'oxidació d'aigua amb llum visible, així com en el primer exemple de dispositiu fotoelectroquímic per a l'oxidació selectiva de compostos orgànics i producció d'hidrogen [2].

Després d'uns quants intents fallits d'aconseguir beques per fer una estada a l'estranger, va obtenir la prestigiosa Royal Society Newton International Fellowship (2013-2015), que li va permetre continuar els seus treballs en fotosíntesi artificial treballant amb els professors Andrew Benniston i Anthony Harriman de la Universitat de Newcastle (Regne Unit). Allí va enfocar la seva recerca en sistemes moleculars de captació de llum visible per activar reaccions químiques.

L'any 2015 va aconseguir la plaça de professor lector al Departament de Química de la Universitat de Galway, on ha establert el grup d'investigació ChemLight [3], la recerca del qual està enfocada a la preparació de materials per a aplicacions en energia i biomèdiques. Concretament, l'interès principal d'aquest grup és la producció de productes químics i combustible de forma sostenible i eficient, utilitzant recursos

Correspondència: Pau Farràs Costa
University of Galway
University Road, H91 TK33. Galway, Ireland
Tel.: +353 91492765
A/e: pau.farras@nuigalway.ie

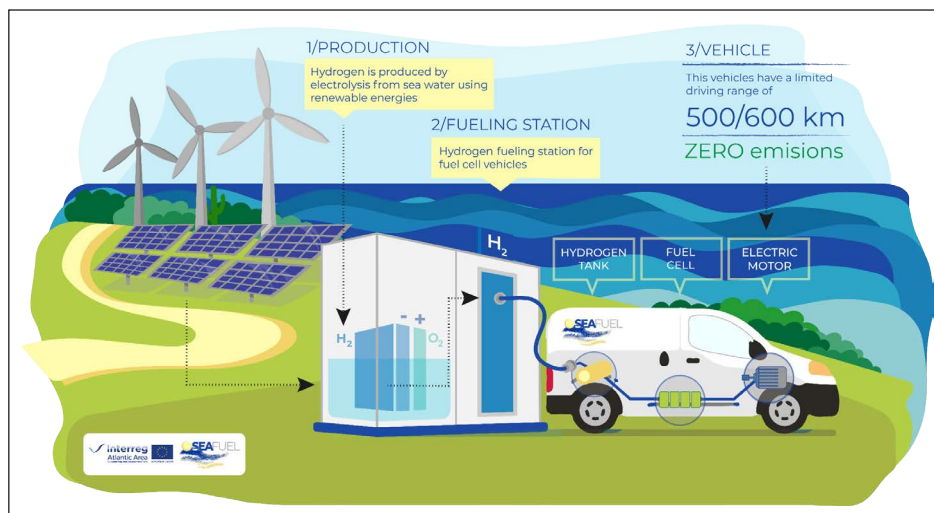


FIGURA 1. Esquema de la planta de producció i dispensador d'hidrogen del projecte SEAFUEL. Imatge de Lucia Villalba, de l'Agència Insular de Energia de Tenerife.

renovables. En aquest sentit, els materials produïts al grup s'utilitzen en sistemes electroquímics, fotocàlisis i fotoelectrocàlisis, per a la producció d'hidrogen renovable a partir d'aigua de baixa qualitat i la reducció de diòxid de carboni a productes de valor afegit [4].

Des de Galway, el doctor Farràs lidera diversos projectes europeus amb universitats, centres d'investigació, empreses, associacions comunitàries i autoritats locals i regionals. Aquests projectes van des de ciència bàsica en els diversos temes d'interès del grup fins a projectes de demostració amb un impacte internacional, com ara el projecte SEAFUEL, que representa el primer exemple a escala mundial de producció d'hidrogen verd a partir d'energia solar i aigua de mar [5]. A través del projecte, s'han propulsat diversos fulls de ruta per a la implementació de les tecnologies d'hidrogen en diverses illes de l'Atlàntic. Així, per exemple, la planta pilot de producció i dispensador d'hidrogen a Tenerife permet la mobilitat de vehicles propulsats amb hidrogen sense emissions de diòxid de carboni (vegeu la figura 1). Cal destacar que el projecte va rebre el premi One to Watch dels World Responsible Tourism Awards 2021.

La seva trajectòria professional està marcada pel lideratge de projectes multidisciplinaris i per l'afrontament constant de nous reptes, combinant la feina de docència i recerca a la universitat amb l'interès d'aconseguir impacte en la societat del treball del grup i de la comunitat científica en general. Per aquesta raó, és membre actiu de diverses associacions, com Hydrogen Europe Research, SUNER-C, SolEIR, etc., i codirector

de Galway Renewable Technologies. També és responsable científic i coordinador del projecte FlowPhotoChem, amb el qual es vol enfortir el vincle entre països europeus i africans, especialment en el camp de les tecnologies d'utilització de llum solar per a la producció de combustibles renovables [6].

Referències i altres fonts

- [1] FARRÀS, P.; JUÁREZ-PÉREZ, E. J.; LEPSÍK, M.; LUQUE, R.; NÚÑEZ, R.; TEIXIDOR, F. «Metallacarboranes and their interactions: theoretical insights and their applicability». *Chem. Soc. Rev.* [en línia], 41 (9) (2012), p. 3445-3463. <<https://doi.org/10.1039/C2CS15338F>>.
- [2] FARRÀS, P.; DI GIOVANNI, C.; CLIFFORD, J. N.; PALOMARES, E.; LLOBET, A. «H₂ generation and sulfide to sulfoxide oxidation with H₂O and sunlight with a model photoelectrosynthesis cell». *Coord. Chem. Rev.* [en línia], 304-305 (2015), p. 202-208. <<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.10.007>>.
- [3] Vegeu el lloc web del ChemLight Group: <http://www.nuigalway.ie/chemlight>.
- [4] TONG, W.; FORSTER, M.; DIONIGI, F.; DRESP, S.; SADEGHI ERAMI, R.; STRASSER, P.; COWAN, A. J.; FARRÀS, P. «Electrolysis of low-grade and saline surface water». *Nature Energy* [en línia], 5 (2020), p. 367-377. <<https://doi.org/10.1038/s41560-020-0550-8>>.
- [5] Vegeu el lloc web del projecte SEAFUEL: <http://www.seafuel.eu>.
- [6] Vegeu el lloc web del projecte FlowPhotoChem: <http://www.flowphotochem.eu>.

Ressenyes

La química a la cuina. Una immersió ràpida

Claudi MANS
Barcelona: Tibidabo, 2022

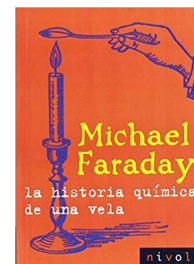
Probablement sigui el llibre de divulgació química de l'any. *La química a la cuina* ens explica en 190 pàgines i des d'un punt de vista científic i rigorós, però també amè, tot allò que passa amb els aliments abans i després de cuinar-los. En el llibre es discuteix sobre què és cuinar i coure els aliments, on es troben els nutrients i com es transformen en cuinar-los, i diverses tècniques fisicoquímiques clau en la cuina. En Claudi Mans és un reconegut divulgador que ha publicat nombrosos articles i llibres sobre temes científicoculinaris (com per exemple el reconegut *La truita cremada*) i va ser guardonat amb el Premi de la Societat Catalana de Química (SCQ) a l'Activitat Divulgadora 2021.



Ciril Jimeno Mollet
IQAC-CSIC

La historia química de una vela

Michael FARADAY
Traducció de Guillem Rojas i Jesús Fernández
2a ed., Tres Cantos (Madrid): Nivola, 2014



Sempre està bé recordar els clàssics i *The chemical history of a candle* és sens dubte el clàssic entre els clàssics de la divulgació química. Escrit per Michael Faraday el 1861 a partir de les conferències que havia impartit per Nadal els anys anteriors adreçades al gran públic, s'hi expliquen i discuteixen nombrosos experiments químics sobre la combustió, que el mateix Faraday executava en directe. Alguns són molt senzills i fàcils d'entendre i d'altres (sobretot tenint en compte l'escala a la qual feia els experiments), un xic perillosos si voleu fer-los davant una classe plena d'escolars. En qualsevol cas, val la pena llegir aquest llibre, que malauradament no tenim traduït al català.

Si us atreviu amb l'anglès, el llibre es pot descarregar en accés obert de www.gutenberg.org/ebooks/14474 i <https://archive.org/details/chemicalhistory00faraiala>.

Ciril Jimeno Mollet
IQAC-CSIC

Activitats destacades de la Societat Catalana de Química

Les activitats organitzades directament per la Societat Catalana de Química (SCQ) o aquelles en les quals col·labora han anat recuperant progressivament la presencialitat a mesura que remedia la virulència de la pandèmia de la covid.

Conferències Enric Casassas i Fèlix Serratosa

La Societat Catalana de Química col·labora en l'organització de les conferències Enric Casassas i Fèlix Serratosa.

La XXI Conferència Enric Casassas es va celebrar el 14 de desembre de 2021 a l'Escola d'Enginyeria de Barcelona Est de la Universitat Politècnica de Catalunya (Barcelona TECH UPC). L'acte va tenir lloc en format híbrid virtual-presencial. En la jornada d'enguany, sota el títol *L'hidrogen com a motor per a una economia descarbonitzada*, es van presentar diferents ponències centrades en el paper de l'hidrogen renovable en la transició energètica cap a una societat climàticament més neutra. El programa de l'acte va incloure sis ponències: «Scenarios for hydrogen production, transport and final use», per Massimo Santarelli, de la Universitat Politècnica de Torí; «The European hydrogen policy framework: Current challenges and developments», per Davine Janssen, *project manager* de WaterstofNet; «Wishful thinking or a way forward: What colour is your hydrogen?», per Krishnaswamy Sankaran, director executiu de Radical Innovations Group AB; «How big will hydrogen be?», per Brais Armijo, consultor d'AtlantHy; «Hydrogen for sunlight and water: Challenges and prospects», per Lluís Soler, investigador Ramón y Cajal de la Universitat Politècnica de Catalunya, i «UPC Hydrogen Lab: Building the decade of hydrogen 2020-2030», per Attila Husar, de la Universitat Politècnica de Catalunya. La sessió va concloure amb una taula rodona moderada per César Valderrama, professor de la Universitat Politècnica de Catalunya.

La 26a Conferència Fèlix Serratosa es va programar inicialment per als dies 4 i 5 d'abril, però es va haver d'ajornar per als dies 10 i 11 d'octubre. La sessió del 10 d'octubre va tenir lloc a l'Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC) i va incloure la ponència del professor Paolo Melchiorre, de l'Institut Català d'Investigació Química (ICIQ), titulada «Photochemistry & organocatalysis: New opportunities in radical chemistry», i la del professor Dirk Trauner, de la Universi-

tat de Nova York, titulada «Controlling the fate and functions of proteins with photopharmacology». La sessió de l'11 d'octubre es va celebrar a l'ICIQ amb la segona ponència del professor Trauner, titulada «A total synthesis of tetrodotoxin and other adventures in chemical neuroscience».

Commemoració del Premi Nobel de Química 2021

El 17 de desembre de 2021 es va dur a terme, en format presencial, l'acte científic amb motiu de la commemoració del Premi Nobel de Química 2021, que enguany es va atorgar, a parts iguals, a l'investigador alemany Benjamin List i a l'investigador americà David MacMillan pel desenvolupament de l'organocatàlisi asimètrica. L'acte va ser presidit per Gregori Ujaque, president de la Societat Catalana de Química (SCQ). En el transcurs de l'acte el professor Alberto Moyano, de la Universitat de Barcelona i expert en el camp de recerca del Premi Nobel del 2021, va pronunciar la conferència «La reinvençió de l'organocatàlisi asimètrica: el Premi Nobel de Química 2021», que es recull en aquest número de la revista en forma d'article.

En acabar la conferència, com cada any, es van lliurar els diplomes a les persones doctorades a les universitats catalanes en l'àmbit de la química durant el curs 2020-2021.

XII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans

La XII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans es va celebrar a Girona, del 24 al 26 de gener de 2022 a la Facultat de Ciències de la Universitat de Girona. El Comitè Organitzador el van integrar tots els membres de la Junta de la Societat Catalana de Química (SCQ). Aquesta XII Trobada es va poder celebrar presencialment respectant totes les mesures de seguretat d'aforament i protecció personal vigents en aquelles dates.

En aquesta edició es va poder gaudir d'una conferència inaugural (el dia 24 de gener) titulada «Modelant la química dels enzims: síntesi i reactivitat d'espècies ferro-oxo d'alta valència», impartida per la doctora Anna Company de la Universitat

de Girona, i de tres conferències plenàries impartides pels investigadors guanyadors de la primera edició dels Premis de Recerca de la SCQ del 2021. Concretament, el professor Jaume Veciana, de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona i guardonat amb el Premi de la SCQ a l'Excel·lència Científica 2021, va impartir la conferència «Nanomedicines: un somni fet realitat amb nanovesícules multifuncionals»; el doctor Aleix Comas-Vives, de la Universitat Tècnica de Viena i guardonat amb el Premi de la SCQ al Talent Científic Emergent 2021, va impartir la conferència «Reptes i oportunitats en la modelització dels catalitzadors heterogenis», i la doctora Clàudia Climent, actualment d'estada postdoctoral a la Universitat de Pennsilvània i guardonada també amb el Premi de la SCQ al Talent Científic Emergent 2021, va impartir la conferència «Química polaritònica: modificant processos químics amb llum confinada».

Seguint la mateixa filosofia de les edicions anteriors, la part primordial de la Trobada es va centrar en les gairebé noranta comunicacions orals presentades per joves investigadors i distribuïdes en un variat programa els dies 25 i 26 de gener. Les diferents xerrades es van organitzar en sessions paral·leles per a poder atendre totes les sol·licituds. Concretament, es van dividir en set simposis: «Teoria i modelatge», «Metodologia sintètica», «Materials», «Biomolècules», «Catàlisi», «Metodologia analítica» i «Medi ambient». També, com en les edicions anteriors, es va premiar la comunicació oral més destacada de cada simposi. En la revista d'enguany es troben recollides, en forma d'article, sis de les set xerrades premiades.

La trobada d'enguany es va clausurar amb una taula rodona, que, sota el títol «Què es pot fer després d'un doctorat en química?», pretenia mostrar als joves doctors un ampli ventall de sortides professionals des de la docència fins a la recerca i in-



Assistents a la XII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans. Fotografia cedida per Gregori Ujaque (SCQ-IEC).

novació en institucions públiques o privades. La taula rodona, moderada per Lurdes Jordi, vocal de la Junta de la SCQ, va reunir quatre ponents procedents d'àmbits professionals molt diversos. Concretament, hi van intervenir com a ponents: Aleix Comas-Vives, investigador de la Universitat Tècnica de Viena; Xavier Rius, cofundador i executiu en cap de l'empresa Citysens; Pep Anton Vieta, professor de secundària al Saint George's School de Fornells de la Selva (Girona), i Sònia Sentellas, professora lectora de la Universitat de Barcelona.

Des de la Junta de la SCQ volem agrair la participació a tots els joves i felicitar-los per l'elevada qualitat de tots els treballs presentats i l'entusiasme que van mostrar.

Premis Sant Jordi 2022

El Premi de la Societat Catalana de Química dins el marc dels Premis Sant Jordi de l'Institut d'Estudis Catalans, que cada any distingeix un treball de fi de grau (TFG) de química realitzat per alumnes d'universitats de terres de llengua catalana, va premiar, en l'edició d'enguany, el treball d'Andrea Suárez Herrera, titulat *Síntesi de 'metal-organic frameworks' biocompatibles i la seva immobilització en superfícies*.

L'acte de lliurament dels Premis Sant Jordi 2022 va tenir lloc al pati de la Casa de Convalescència el divendres 22 d'abril.



Els guanyadors dels Premis Sant Jordi 2022. Fotografia cedida per l'IEC.

Setzena edició dels Premis de Batxillerat i XXXIV Debat de Química a l'Institut d'Estudis Catalans

En l'edició d'enguany dels Premis als Treballs de Recerca de Batxillerat dins l'Àmbit de la Química, s'ha mantingut l'excel·lent qualitat de tots els treballs presentats, segons la Comissió Avaluadora encarregada de seleccionar els treballs guanyadors.

Els guanyadors de l'edició 2022 han estat dos primers premis concedits *ex aequo*: *Una pinzellada de blau. La ciència del pigment blau en l'art pictòric*, realitzat per Bruna Crossas Martínez, de l'Institut d'Alèlla (Maresme), i *La química del xampú*, realitzat per Bernat Picornell Vilà, de l'Institut de Vilafant (Alt Empordà).

També es van concedir dos accèssits a Jordi Costa Gayoso, de l'Institut Ramon Muntaner (Figueres, Alt Empordà), pel treball titulat *Projecte de depuració d'aigües residuals amb microalgues*, i a Anna Estivill Estivill, de l'Institut de Flix (Ribera d'Ebre), pel treball titulat *Més enllà dels nutrients: els compostos bioactius*.

Deu treballs més van rebre una menció honorífica: els dels estudiants Adela Rodeja, de l'Institut Ramon Muntaner (Figueres, Alt Empordà); Martina Tolós, de l'Institut Ramon Berenguer IV (Ampostà, Montsià); Pol Eichhorn, de l'Escola IPSE (Barcelona, Barcelonès); Pau Isabel, de l'Institut Marina (La

Llagosta, Vallès Oriental); Júlia Paz, de l'Institut Baix Empordà (Palafrugell, Baix Empordà); Marina Martín, de l'Escola Tecnos (Terrassa, Vallès Occidental); Joana Roura, de l'Institut Cendrassos (Figueres, Alt Empordà); Natàlia Martínez, del Col·legi Immaculada Concepció (Gavà, Baix Llobregat); Judith Brazales, del Centre Educatiu Jaume Viladoms (Sabadell, Vallès Occidental), i Aniol Garriga, de l'Institut Hug Roger III (Sort, Pallars Sobirà).

El lliurament dels premis es va dur a terme durant la jornada del XXXIV Debat de Química a l'Institut d'Estudis Catalans, que tingué lloc l'1 de juny de 2022 a la Sala Pere i Joan Corominas de l'Institut d'Estudis Catalans. En aquesta edició, la ponent convidada va ser la periodista de TV3 i divulgadora científica Cori Calero, que va pronunciar la conferència «Crisi climàtica, és una emergència!». En el debat central de l'acte, titulat «Què hi podem fer nosaltres com a ciutadans? I des de l'àmbit professional de la química?», es va reflexionar sobre les decisions que caldrà prendre per a promocionar actuacions sostenibles que condicionaran el futur personal i professional dels joves. Tot seguit es va fer una breu presentació del darrer volum de la col·lecció «Clàssics de la Química», editada per la SCQ, titulat *Compendi d'un curs de filosofia química*, de Stanislao Cannizzaro.

En aquest mateix acte es van lliurar els premis als guanyadors del concurs de vídeos «Molècules que ens han canviat la vida». El concurs va ser organitzat per la SCQ dins el marc de les activitats complementàries de l'exposició «Molècules que ens han canviat la vida», organitzada per la Secció de Ciències i Tecnologia de l'IEC. L'exposició es va poder visitar a la seu de



Els guanyadors de la 16a edició dels Premis als Treballs de Recerca de Batxillerat dins l'Àmbit de la Química. Fotografia cedida per l'IEC.



La periodista i divulgadora científica Cori Calero durant el XXXIV Debat de Química a l'Institut d'Estudis Catalans. Fotografia cedida per l'IEC.

l'IEC des del 12 de novembre de 2021 a l'1 d'abril de 2022. Els guanyadors del concurs de vídeos van ser Guillem Hervàs Vela, de l'Institut Vallbona d'Anoia, en la modalitat «ESO», pel seu vídeo sobre la cel·lulosa; Emma García Expósito, del Saint George's School (Fornells de la Selva, Girona), en la modalitat «Batxillerat», pel seu vídeo sobre el grafè, i Aythami Soto Rodríguez, de la Universitat de Girona, en la modalitat «Altres estudis», pel seu vídeo sobre l'àcid sulfúric.

Reconeixement d'Emplaçaments Històrics Representatius de la Química en el Territori de Parla Catalana 2022

El Reconeixement d'Emplaçaments Històrics Representatius de la Química en el Territori de Parla Catalana és un reconeixement instituït per la Societat Catalana de Química (SCQ) el 2021 que vol distingir aquells emplaçaments històrics (edificis, laboratoris, universitats, indústries, institucions, ciutats, explotacions, manufactures, etc.) representatius de la química en el territori de parla catalana. En la primera edició es va reconèixer la finca coneguda amb el nom de L'Hospital, a la plaça del Pou d'Altafulla, on tenia l'estudi-laboratori el químic català Antoni de Martí i Franquès (1750-1832). L'acte de descobriment de la placa a l'edifici L'Hospital va tenir lloc el 14 de novembre de 2021 dins els actes de les festes d'Altafulla. A l'acte hi van assistir membres de la Junta de la SCQ i repre-



Acte de descobriment de la placa en reconeixement a l'edifici L'Hospital, antic estudi-laboratori del químic català Antoni de Martí i Franquès. Fotografia cedida per Gregori Ujaque (SCQ-IEC).

sentants de l'Ajuntament d'Altafulla, propietari actual de l'edifici L'Hospital.

En la convocatòria 2022 la candidatura premiada ha estat l'Edifici del Sucre de Vic, presentada per la Regidoria de Turisme i Ocupació de l'Ajuntament de Vic. Es tracta d'un edifici del 1891-1892 que va ser la primera fàbrica de reducció de sucre a partir de la bleda-rave. L'impacte social que va suposar la fàbrica de sucre per al territori va ser molt positiu, ja que va comportar la revaloració de diferents sectors. La fàbrica va propiciar canvis en els conreus i avenços en l'anàlisi de terres, és a dir, en química agrícola, que fins aleshores no es feien. L'acte de descobriment de la placa commemorativa i la conferència *La fàbrica de sucre de Vic, un projecte industrial pioner (1890-1906)*, a càrrec del professor Santi Ponce i Vivet, va tenir lloc el 10 de novembre de 2022. A l'acte hi van assistir membres de la Junta de la SCQ i representants de l'Ajuntament de Vic, propietari actual de l'edifici.



Anna Alemany, regidora de Turisme i Ocupació de Vic, i Gregori Ujaque, president de la Societat Catalana de Química, en l'acte de descobriment de la placa en reconeixement a la fàbrica de sucre de Vic. Fotografia cedida per Consol Blanch (SCQ-IEC).

Premis de la Societat Catalana de Química en Recerca, Educació i Divulgació 2022

En la segona edició dels Premis de la Societat Catalana de Química en Recerca, el professor Joan O. Grimalt Obrador, de l'Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA), i la professora Clara Viñas Teixidor, de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB), han estat distingits, *ex aequo*, amb el Premi a l'Excel·lència Científica. Els dos Premis al Talent Científic Emergent s'han atorgat al doctor Pablo Gago Ferrero, de l'IDAEA, i al doctor Max García Melchor, del Trinity College (Dublín).



Lliurament del Premi al Talent Científic Emergent al doctor Max García Melchor des del Trinity College (Dublín). Fotografia cedida per l'IEC.

Dins dels Premis en Educació, el Premi a la Innovació Educativa s'ha atorgat a la professora Anna Rigol Parera, de la Universitat de Barcelona. El Premi a l'Excel·lència Educativa, també convocat en aquesta segona edició, ha quedat desert. El Premi a l'Activitat Divulgadora s'ha concedit a l'investigador de la Universitat de Barcelona i comunicador científic Jordi Díaz-Marcos.

El 21 de juny es va celebrar l'acte públic de lliurament dels Premis de la Societat Catalana de Química a la Sala Prat de la Riba de l'Institut d'Estudis Catalans. L'acte va estar presidit pel secretari general de l'IEC. Tots els premiats, excepte el doctor Max García Melchor, van poder assistir-hi presencialment.



Acte de lliurament dels Premis de la Societat Catalana de Química. D'esquerra a dreta, Montserrat Heras (secretària de la SCQ), Rosa Maria Marcé (vicepresidenta de la SCQ), Anna Rigol (guanyadora del Premi a la Innovació Educativa), Clara Viñas i Joan Grimalt (guanyadors del Premi a l'Excel·lència Científica), Àngel Messeguer (secretari general de l'IEC), Pablo Gago (guanyador del Premi al Talent Científic Emergent), Jordi Díaz-Marcos (guanyador del Premi a l'Activitat Divulgadora), Gregori Ujaque (president de la SCQ) i Jordi Cuadros (tresorer de la SCQ). Fotografia cedida per l'IEC.

