

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE



“DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS ÓPTIMOS
PARA LA RECUPERACIÓN DE QUERATINA DE FIBRAS DE *Vicugna*
pacos (ALPACA) MEDIANTE EL USO DE LÍQUIDOS IÓNICOS
PRÓTICOS”

Tesis presentada por la Bachiller:

SHEYLA JOSELINE ANGULO VARGAS

Para optar el Grado Académico de:

Maestro en Química del Medio Ambiente

Asesor: Badhín Gómez Valdez, PhD

Arequipa-Perú

2016

AGRADECIMIENTO

En primer lugar quiero agradecer a Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, por los triunfos y fracasos que me han enseñado a ser una mejor persona. A mis padres, por su amor y apoyo incondicional en cada etapa de mi formación. A mi novio, por sus palabras de aliento y motivación constante cada vez que sentí ganas de desistir. A mi grupo de amigos por toda su colaboración y en especial por las risas. Al CONCYTEC por darme la oportunidad de realizar este sueño. Y un agradecimiento especial a mi asesor el Dr. Badhín Gómez Valdéz por su tiempo, apoyo y sabiduría, de las que siempre estaré agradecida.

Gracias

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS	5
OBJETIVOS	6
CAPÍTULO I	7
MARCO CONCEPTUAL	7
1. INDUSTRIA ALPAQUERA	8
1.1 <i>Productividad</i>	8
1.2 <i>Empresas en la región</i>	10
1.3 <i>Características químicas de la fibra de Vicugna pacos (alpaca)</i>	10
2. QUERATINA	11
3. LÍQUIDOS IÓNICOS	12
3.1 <i>Síntesis de líquidos iónicos</i>	13
3.2 <i>Clasificación de líquidos iónicos</i>	13
3.3 <i>Propiedades de los líquidos iónicos</i>	16
3.4 <i>Aplicaciones y perspectivas de líquidos iónicos próticos</i>	17
CAPÍTULO II	18
MATERIALES Y MÉTODOS	18
1. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	18
1.1 <i>Material de partida</i>	18
1.2 <i>Materiales</i>	18
1.3 <i>Reactivos</i>	18
1.4 <i>Equipos</i>	19
2. METODOLOGÍA	19
2.1 <i>Síntesis de líquidos iónicos próticos</i>	19
2.2 <i>Tratamiento de la fibra de Vicugna pacos (alpaca)</i>	20
2.3 <i>Hidrólisis de fibra de Vicugna pacos (alpaca)</i>	21
2.4 <i>Caracterización del líquido iónico prótico</i>	21
2.5 <i>Espectroscopia infrarroja (FT-IR)</i>	22

2.6	<i>Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)</i>	22
2.7	<i>Separación de la mezcla queratina- líquido iónico prótico</i>	22
2.8	<i>Cuantificación de queratina</i>	23
CAPÍTULO III		25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		25
1.	SÍNTESIS DE LÍQUIDOS IÓNICOS PRÓTICOS.....	25
2.	RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA FIBRA DE <i>Vicugna pacos</i> (ALPACA).....	29
3.	ENSAYOS DE DISOLUCIÓN DE FIBRAS DE <i>Vicugna pacos</i> (ALPACA)	30
4.	CARACTERIZACIÓN DE LÍQUIDOS IÓNICOS PRÓTICOS	33
4.1	<i>Características físico químicas de líquidos iónicos próticos</i>	33
4.2	<i>Espectroscopia infrarroja (FT-IR) de líquidos iónicos próticos</i>	36
4.3	<i>Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de líquidos iónicos próticos</i>	39
4.4	<i>Ecotoxicidad y biodegradabilidad de líquidos iónicos próticos</i>	46
5.	PARÁMETROS ÓPTIMOS DE DISOLUCIÓN DE FIBRAS DE <i>Vicugna pacos</i> (ALPACA) .	47
5.1	<i>Temperatura</i>	47
5.2	<i>Tiempo</i>	49
6.	SEPARACIÓN Y RECUPERACIÓN DE LA MEZCLA QUERATINA – LÍQUIDOS IÓNICOS PRÓTICOS	51
6.1	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE QUERATINA DE FIBRA DE <i>Vicugna pacos</i> (ALPACA)	52
6.2	DESTILACIÓN Y REUTILIZACIÓN DEL LÍQUIDO IÓNICO PRÓTICO.....	53
7.	CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES A PARTIR DE FIBRAS DE <i>Vicugna pacos</i> (ALPACA)	54
7.1	<i>Método de Biuret</i>	55
7.2	<i>Método de Bradford</i>	57
CONCLUSIONES		60
RECOMENDACIONES		61
BIBLIOGRAFÍA		62
ANEXOS		70

RESUMEN

Los líquidos iónicos próticos (PILs) son una nueva clase de disolventes que entre otras aplicaciones, permiten la disolución de polímeros naturales; en la presente tesis se han sintetizados varios PILs de base amoniacal, utilizando para esto cuatro cationes diferentes (trietanolamina, dietilamina, dietanolamina, dimetiletanolamina) y dos aniones (ácido acético y ácido fórmico), con el objetivo de disolver fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), una forma de queratina, que en su porción corta y gruesa representa un desecho de la industria textil en nuestra región. El formiato dimetiletanolamina [DMEA][HCOO] ha mostrado la mayor capacidad de disolución (47.19%), con respecto a los siete PILs sintetizados en esta investigación; por lo que, se ha optimizado el proceso de disolución de queratina a partir de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), encontrando que los parámetros óptimos para la disolución de esta fibra son: 145°C por 4.5 horas. Con los cuales se ha logrado disolver 26.4 gramos de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) por litro de líquido iónico prótico. Así mismo, se han realizado estudios de caracterización de los PILs sintetizados mediante FT-IR, RMN-¹H y RMN-¹³C que demuestran que se ha conseguido una transferencia protónica intermolecular completa en el caso del [DMEA] [HCOO].

ABSTRACT

Protic ionic liquids (PILs) are a new class of solvents among others applications, allow the dissolution of natural polymers; in this thesis we have been synthesized several PILs ammoniacal base, using for this four different cations (triethanolamine, diethylamine, diethanolamine, dimethylethanolamine) and two anions (acetic acid and formic acid), with the aim of dissolving *Vicugna pacos* (alpaca) fiber, a form of keratin, which in its short and thick portion represents a waste of the textile industry in our region. The dimethylethanolamine formate [DMEA] [HCOO] has shown the higher dissolution capacity (47.19%), about seven PILs synthesized in this investigation; therefore, it is optimized dissolution process keratin from *Vicugna pacos* (alpaca), finding the optimal parameters for the dissolution of this fiber are 145 ° C for 4.5 hours. With which it has been possible to dissolve 26.4 grams of *Vicugna pacos* (alpaca) fiber per protic ionic liquid liter. Likewise, studies have been conducted characterization of PILs synthesized by FT-IR, ¹H -NMR and ¹³C-NMR., showing that it has achieved a complete intermolecular proton transfer in the case of [DMEA] [HCOO].

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que enfrenta la sociedad en la actualidad está asociado al uso de disolventes; los cuales, se emplean en una amplia gama de tecnologías y aplicaciones desde la fabricación de medicamentos, alimentos y plásticos, hasta los procesos de extracción de minerales¹. Sin embargo existen inconvenientes asociados al uso de disolventes, ya sean de carácter ambiental; tales como: las emisiones de compuestos orgánicos volátiles (COVs) y la formación de ozono troposférico, de salud; ya que al ser inhalados, podrían acumularse en el organismo y de seguridad debido a que la mayoría son inflamables y explosivos²⁻⁵. Es por ello que los investigadores se encuentran en la búsqueda de alternativas a los disolventes tradicionales que sean eficaces y amigables con el medio ambiente.

Los líquidos iónicos (ILs) son sales compuestas por iones que existen en su mayoría en estado líquido a temperatura ambiente³, cuyas propiedades se pueden modificar para una aplicación específica, por la combinación adecuada de catión, anión y radical alquil⁶. Entre estas propiedades únicas tenemos: la no volatilidad y no inflamabilidad, solubilidad variable, alta estabilidad química y térmica, alta conductividad iónica y amplia ventana de potencial electroquímico. Es por ello que los líquidos iónicos han sido ampliamente estudiados, utilizados y reconocidos como alternativas prometedoras para diversas aplicaciones, algunas de ellas con alto potencial industrial^{2,3,7,8}.

La clasificación más utilizada para estos compuestos, está basada en su capacidad donora de protones o no donora de protones, siendo así denominados líquidos iónicos próticos y apróticos respectivamente^{1,9,10}. Los líquidos iónicos próticos (PILs), son una clase nueva de líquidos iónicos, formados por la transferencia de protones a partir de un ácido de Bronsted a una base de Bronsted¹, los cuales tienen la capacidad de promover enlaces puente de hidrógeno. El creciente interés por esta clase de líquidos iónicos se basa en su facilidad de síntesis, bajo costo de producción y su potencial reutilización al ser sometidos a procesos de destilación^{6,11-15}.

Los líquidos iónicos próticos han sido utilizados en síntesis orgánica, catálisis, tratamiento de crudo, absorción de gases, separaciones de membrana, aplicaciones farmacéuticas y biológicas, etc^{7,16,17}.

La queratina, una proteína fibrosa, está disponible en abundancia en todo el mundo como un subproducto de actividades industriales como la producción de aves de corral y también en forma de residuos de fibra corta de procesamiento de la lana en la industria textil. Esta proteína presenta una estructura tridimensional, constituida por una triple hélice de cadenas proteicas unidas por una serie de enlaces covalentes (enlaces disulfuro)¹⁸⁻²⁰.

La estructura compleja de la queratina; por lo general, requiere de una mezcla de disolventes, los cuales tienen diferentes funciones para romper las interacciones covalentes y no covalentes que presenta²¹; además cabe mencionar, que una de las más graves deficiencias con respecto a estos métodos para extraer queratina es la gran cantidad de reactivos tales como ácidos o reductores que se consumen y no se pueden reciclar²². Por ello, en esta tesis hemos realizado la determinación de los parámetros fisicoquímicos óptimos para la recuperación de queratina de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca) sin valor comercial, mediante la utilización de líquidos iónicos próticos.

HIPÓTESIS

Dado que el uso de disolventes comunes, como los disolventes orgánicos, es un problema ambiental, de salud y seguridad, de mucha importancia en la actualidad; es probable que, mediante el uso de líquidos iónicos próticos como alternativa a los disolventes tradicionales, se pueda determinar los parámetros fisicoquímicos necesarios para la recuperación de queratina presente en fibras de *Vicugna pacos* (alpaca).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar los parámetros físico químicos óptimos (temperatura, tiempo, velocidad de agitación) para la recuperación de queratina de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), mediante el uso de líquidos iónicos próticos

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar y caracterizar el líquido iónico prótico para propósitos de hidrólisis de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca).
- Evaluar la capacidad de disolución de queratina de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) mediante la utilización de líquidos iónicos próticos.
- Optimizar el proceso de disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) y el líquido iónico prótico.
- Cuantificar la queratina obtenida en el proceso de disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca).

CAPÍTULO I

MARCO CONCEPTUAL

En el mundo, el Perú es el primer productor de *Vicugna pacos* (alpacas) y *Vicugna vicugna* (vicuñas), y el segundo en *Lama glama* (llamas), después de Bolivia. El aprovechamiento sostenible de estos recursos y el uso de la mejora genética de los camélidos (además de vacunos, ovinos y caprinos) es uno de los retos que tiene el país como el medio más efectivo de lucha contra la pobreza y la inseguridad alimentaria, que afecta a numerosas comunidades campesinas que viven de la cría y explotación de estas especies ganaderas²³⁻²⁶.

La industria textil considera a la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) como una fibra especial y, las prendas que se confeccionan con ellas, están clasificadas como artículos de lujo^{26, 27}, las características de la fibra dependerán de la localización corporal, de este modo, es más fina y larga en zonas de la espalda, dorso y flancos, siendo más grueso y corto en zonas de las extremidades y cabeza²⁶⁻²⁹.

El problema principal y más serio que afecta a la cadena productiva de los camélidos en la actualidad, es el deterioro genético de *Vicugna pacos* (alpacas) y *Lama glama* (llamas), por el mal manejo del ganado y principalmente por la alarmante consanguinidad que se produce en hatos tan pequeños, que aparte de malformaciones, dan como resultado altos porcentajes de animales pintados, deficiente calidad de la fibra con mayores volúmenes de gruesa y huarizo (fibras de poco valor económico), afectando aún más los ingresos del productor^{25,28}.

Las fibras de baja calidad generan pérdidas a la industria textil, ya que deben mezclarse con otras para alcanzar un mínimo valor comercial²⁵, ser vendidas con otros fines o simplemente desechadas²⁶⁻²⁹.

Actualmente los investigadores están buscando formas de reutilizar estos recursos descartados y aquí es donde los líquidos iónicos hacen su aparición.

Los líquidos iónicos han sido un tema de interés en la última década debido a sus propiedades atractivas para una variedad de aplicaciones físicas, químicas y biológicas^{2,4,30,31}. Recientemente, han recibido el reconocimiento como materiales verdes y prometedores para posibles aplicaciones en diversos campos; ya que son,

típicamente no volátiles, no inflamables, presentan estabilidad química y térmica, además de una notable solubilidad^{22, 32}.

1. Industria alpaquera

El Perú posee la mayor producción de *Vicugna pacos* (alpaca), 87%, la importancia en el desarrollo y crianza de esta especie, radica en la actividad económica de producción de fibra (mal llamada lana), además de carne y otros subproductos. Esto debido, a la enorme capacidad de la *Vicugna pacos* (alpaca) y la *Lama glama* (llama) para adaptarse a las grandes alturas (3800-4700 m.s.n.m.); posibilitando la utilización de extensas áreas de pastos naturales que de otra forma serían desperdiciadas y de la gran habilidad del habitante andino para su domesticación y uso textil²⁵.

La fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) es el pelo que cubre; el cual, proviene de dos razas, *Huacaya* y *Suri*. Estas razas tienen aspectos diferentes y presentan los siguientes colores básicos: blancos, beige, cafés, grises y negros, los que tienen a su vez diversas tonalidades y combinaciones

1.1 Productividad

Existen diversos factores que influyen en la cantidad y la calidad de la producción de fibra en camélidos sudamericanos, estos se clasifican en factores medioambientales externos y factores genéticos o internos. Los factores externos que modifican la respuesta productiva en *Vicugna pacos* (alpacas) son la alimentación^{26, 33}, la locación geográfica o lugar de pastoreo³⁴ y, en el caso del peso de vellón, es particularmente relevante considerar la frecuencia, año de esquila^{25, 26, 35} y la precipitación pluvial³⁶. La altitud no ejerce influencia ni sobre la cantidad ni la calidad de fibra^{26, 37}. Entre los factores internos que afectan el diámetro de fibra y peso de vellón resaltan el sexo, la edad, la raza, sanidad, estado fisiológico, condición corporal y color de vellón³⁸⁻⁴⁰.

El Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI), aprueba mediante resolución las Normas Técnicas Peruanas (NTP) para la categorización en vellón y la clasificación de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca); de acuerdo a lo cual, se tienen 6 categorías de fibras, tal como se aprecia en la Tabla 1.

Tabla 1Clasificación de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

CATEGORÍA	MICRONAJE ^a	LONGITUD ^b
Alpaca baby	≤23.0	≥65
Alpaca fleece	23.1-26.5	≥70
Alpaca médium fleece	26.6-29.0	≥70
Alpaca huarizo	29.1-31.5	≥70
Alpaca gruesa	>31.5	≥70
Alpaca corta	-	20-50

^a en μm , ^b en mm. Fuente: PNTP 231.301

Del total anual de producción de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca); en el Perú, 6.4 millones de kilogramos., más del 50% corresponde a calidades inferiores (huarizo y gruesas), 35% a fleece y 8% a baby alpaca (calidades superiores) y el resto son fibras cortas y mermas (paja, tierra, otros desperdicios, etc.)²⁵. En la Figura 1, podemos observar, la forma de clasificación de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca); dicha clasificación es realizada principalmente por los criadores de dicho camélido, para luego proceder a la venta de la misma.

**Figura 1:** Clasificación de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

1.2 Empresas en la región

En este contexto, la industria textil de fibra de camélidos ha logrado edificar importantes empresas, altamente especializadas y tecnificadas en el procesamiento y exportación de productos derivados de la fibra de los camélidos, generalmente ha estado desligada de la producción pecuaria, lo que no permitió una sana articulación productiva para generar mejores ingresos en la cadena de valor²⁵.

Esta industria se encuentra localizada principalmente en nuestra ciudad y ha alcanzado un nivel tecnológico de punta y por ello está considerada como la mejor de Sudamérica y una de las mejores a nivel mundial, contrariamente a lo que pasa en el nivel de la producción animal, el conglomerado textil de la ciudad está constituido por: GRUPO INCA, MICHELL & CIA, SARFATTY y PROMPEX.

En general, tanto en Perú como en Bolivia, se fabrican productos terminados con diseños y modelos propios, orientados a mercados de alta moda, aprovechando las excelentes características de las fibras especiales de camélidos andinos, tanto para el mercado nacional como internacional²⁶.

Las industrias de fibra de camélidos andinos, en Bolivia y Perú, mayoritariamente comercializan la fibra para exportación en materia prima semi procesada (tops, hilados, telas; hasta en un 70%) lo que ocasiona una gran debilidad en la determinación del precio, que generalmente se establece en los lugares de compra.

1.3 Características químicas de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

El pelo es una proteína compuesta de varios aminoácidos. La queratina del pelo es un polímero natural que presenta una composición química elemental: 50% de carbono, 16% de nitrógeno, 3.7% de azufre, 7% de hidrógeno y 23.5% de oxígeno. La fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) se diferencia por tener un mayor contenido de azufre, 4.19%⁴¹. En la Tabla 2, se muestra la composición de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca); en ella, podemos apreciar que se caracteriza por un alto contenido de fibra (75-82%).

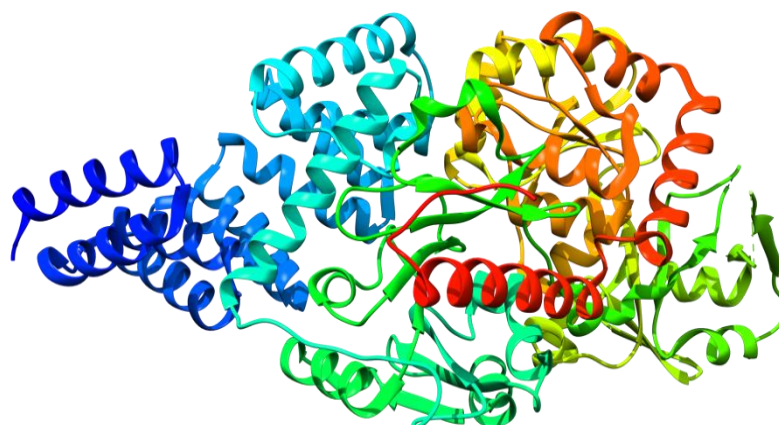
Tabla 2Composición de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)²⁷

COMPOSICIÓN	<i>Vicugna pacos</i> (ALPACA)
Fibra (%)	75-82
Suciedad y material vegetal (%)	3-10
Agua (%)	12
Sudor (%)	1
Grasa (%)	1-3

El porcentaje de fibra (Tabla 2), varía de acuerdo a la raza del animal así tenemos que en *Vicugna pacos* (alpaca) *Huacaya* color el porcentaje oscila entre 85-95%, mientras que en la *Vicugna pacos* (alpaca) *Huacaya* 68-88% y en la raza Suri 75-90%⁴².

2. Queratina

De acuerdo a su composición la queratina es una proteína fibrosa simple; ya que, en su estructura solo se observan α -aminoácidos; así mismo, de acuerdo a la función biológica que desempeña se halla en el grupo de las proteínas estructurales. La queratina se encuentra en el pelo, las uñas, las plumas, el algodón y la lana. Su estructura molecular está constituida por cadenas paralelas de α -hélices, enrolladas hacia la derecha formando fibras muy fuertes, la mayoría de las queratinas poseen grandes cantidades de cisteína⁴³.

**Figura 2:** Estructura de una de las formas de queratina

3. Líquidos iónicos

Hace cien años, el químico alemán Walden hizo un descubrimiento sorprendente: una sal pura (nitrato de etilamonio, EAN), la cual era líquida a temperatura ambiente. Hasta entonces, nunca se sospechó que los iones podrían formar un líquido a temperatura ambiente; a menos que, se diluyeran en un disolvente molecular^{1,44}.

EAN fue sorprendentemente similar al agua en muchos aspectos, ya era claro, incoloro, inodoro, con una densidad de tipo sólido (1.21g/mL) y poseía una viscosidad razonablemente alta. Sin embargo, la clave del hallazgo de Walden fue la conductividad eléctrica, una propiedad intrínseca a todos líquidos que contienen iones móviles^{1,45}. La conductividad de EAN era consistente con una composición de (casi) puramente aniones y cationes. Esta conclusión se basó en estudios anteriores a Walden, en los que se propone una relación entre la viscosidad, conductividad molar y la densidad de electrolitos acuosos. Por estas razones, Walden es ampliamente acreditado con la concepción del campo de sales líquidas, a pesar de los informes de trabajos anteriores en la creación de materiales similares, con puntos de fusión justo por encima de la temperatura ambiente^{1,10}.

La ciencia de sales líquidas o "líquidos iónicos" (IL) ha progresado a pasos agigantados desde los días de Walden. En particular, las última tres décadas se han caracterizado por un crecimiento exponencial en publicaciones, con descubrimientos que abarcan toda la química^{46,47}, tal es así ha superado sustancialmente sus raíces en la electroquímica y síntesis orgánica. Hoy en día, la investigación en IL es verdaderamente un área interdisciplinaria, con químicos, físicos, biólogos, ingenieros, y simuladores que los utilizan para hacer frente a importantes problemas científicos. Esto ha sido impulsado por el movimiento químico verde y la relativa facilidad con la que estos disolventes pueden integrarse en los sistemas existentes^{13,48-50}.

Los IL son sales con un punto de fusión bajo (por debajo de 100°C)³. En el artículo original de Walden en EAN, se describió a los materiales como "sales libres de agua... que se funden a temperaturas relativamente bajas, sobre 100°C". Esta definición se reafirmó y codificó en un taller de la OTAN en Creta en 2000¹.

Esta definición es importante ya que el campo es relativamente joven; el término "líquidos iónicos" fue acuñado originalmente en referencia a las escorias de silicato con puntos de fusión mayor a 1000K y materiales similares se han descrito en la literatura con nombres incluyendo "sales fundidas", "electrolito líquido puro", "sal líquida", "ionóforo" o "sal fundida a temperatura ambiente"^{1,13,51}.

3.1 Síntesis de líquidos iónicos

Los LI existen como líquidos a temperatura ambiente debido a su estructura química. El anión y catión se eligen precisamente para desestabilizar la fase sólida del cristal. Por lo tanto, si bien no existen reglas fijas a hacer un IL; en general, esto se puede lograr con una variedad de estructuras de iones mediante el equilibrio de las interacciones ión-ión y la simetría.

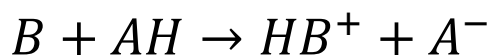
3.2 Clasificación de líquidos iónicos

Los IL, como disolventes en general, se suelen clasificar en función de estructura química; sin embargo, esta clasificación resulta difícil debido a la similitud con otros compuestos, dependiendo de si el anión, catión, o un grupo funcional se considera más importante¹.

Los dos tipos más comunes son los próticos y apróticos, basados en la división bien establecida entre donador (próticos) y aceptor (apróticos) de protones^{1,45}.

a. Líquidos Iónicos Próticos (PIL)

Se forman mediante la transferencia de un protón de un ácido de Bronsted a una base de Bronsted, de acuerdo con el Esquema 1. Esto conduce a características distintivas entre PIL y AIL, todos los PIL tienen un protón disponible para el enlace de hidrógeno, presión de vapor generalmente no despreciable, y algunos son medios destilables, donde su punto de ebullición se produce a una temperatura inferior a la descomposición⁴⁵. Esto significa que PILs son generalmente más simples y más baratos de preparar en comparación con otras clases IL ya que no hay subproductos.



Esquema 1: Formación de PIL a través de la transferencia protónica de ácido Bronsted (A) a una base Bronsted (B)

El proceso de transferencia de protones se puede mejorar mediante el uso de ácidos y/o bases más fuertes, por lo tanto, lleva a una mayor fuerza de conducción para la transferencia de protones.

Los valores de pK_a de los ácidos y las bases pueden ser considerados como una indicación de con qué fuerza se transferirá un protón desde el ácido a la base, aunque debe tenerse en cuenta que el pK_a que por lo general se considera para soluciones acuosas y puede no ser apropiado para los prospectos no acuosos⁴⁵.

Los cationes más utilizados en PILs están representados en la Figura 3, estos incluyen iones de amonio primario, secundario o terciario, iones imidazol mono o di sustituidos, caprolactama, y los iones de guanidinio⁴⁵.

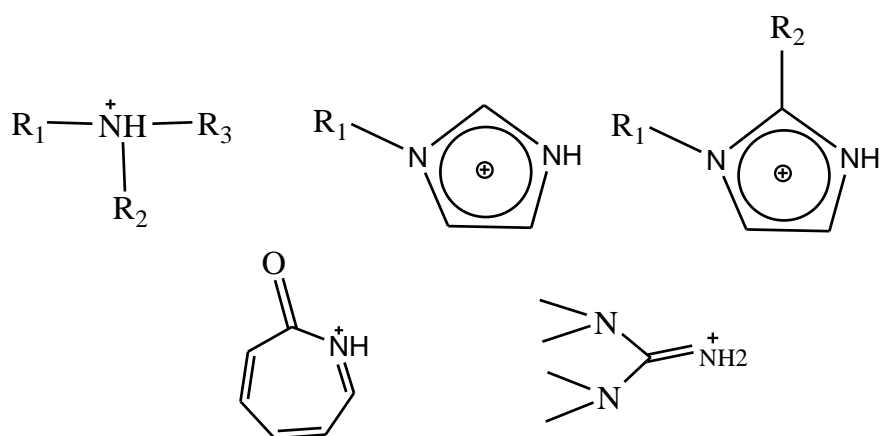


Figura 3: Cationes representativos usados en PIL

No se han representado la amplia gama de iones heterocíclicos que contienen nitrógeno en el anillo. El imidazol y otros anillos heterocíclicos pueden contener sustituyentes en cualquiera de los carbonos en el anillo, siempre y cuando el nitrógeno que contiene la carga positiva retenga un protón. Una gran variedad de aniones se han acoplado con estos cationes, los usados comúnmente se muestran en la Figura 4⁴⁵.

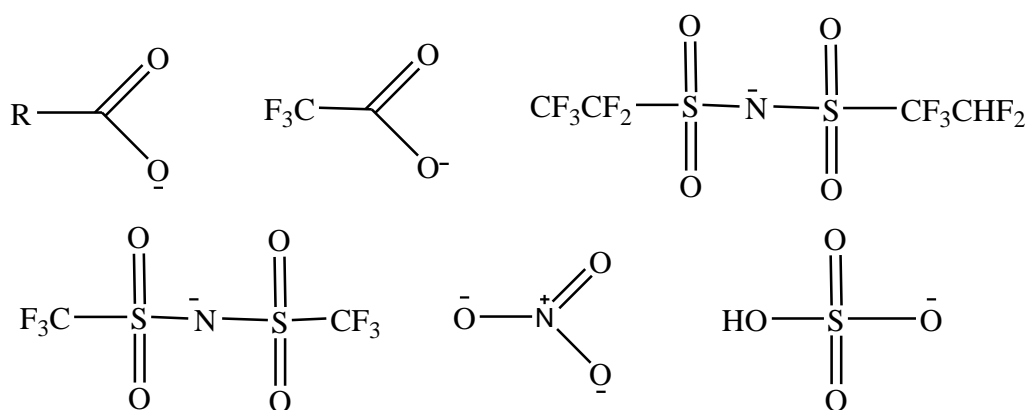


Figura 4: Aniones representativos usados en PIL

Estos aniones pueden ser ácidos orgánicos como carboxilatos, inorgánicos tal como el nitrato o sulfato de hidrógeno, fluorados tales como bis- (trifluorometanosulfonyl) imida (TFSI), ácido trifluoroacético (TFA), y bis (perfluoroethylsulfonyl) imida (BETI), tetrafluoroborato, o hexafluorofosfato)⁴⁵.

b. Líquidos Iónicos Apróticos (AIL)

Los AIL no comparten una característica estructural común al igual que los PIL, estos pueden abarcar una amplia gama de estructuras de aniones y cationes químicos, algunos de los cuales tienen la capacidad de formar enlaces puentes de hidrógeno, mientras que otros no^{1,2,7,52}.

La síntesis de AIL es generalmente más cara y complicada que la de los PIL, implicando a menudo reacciones múltiples. Esto es porque los iones se forman a partir de enlaces covalentes entre dos grupos funcionales. En la mayoría de casos, esto conduce a un disolvente que es más térmicamente y electroquímicamente estable que el correspondiente PIL^{1,13,14,53,54}.

c. Otras subclases de líquidos iónicos

Varias otras subclases IL son reportados en la literatura, en base a las distintas características estructurales, por ejemplo, un centro quiral (IL quiral), un átomo/grupo paramagnético (IL magnético), un ión divalente (IL divalente), un ión polimérico o polimerizable (IL poliméricos), un resto de fluorocarbono (IL fluorado)¹.

3.3 Propiedades de los líquidos iónicos

a. Pureza

Las impurezas, tales como agua, halogenuros, sales orgánicas que no han reaccionado y los compuestos orgánicos, fácilmente se acumulan en los IL. Los usuarios deben ser conscientes de las impurezas que son de esperar, ya que pueden influir en las propiedades disolventes y/o interferir con el biocatalizador^{15,48,55}.

b. Polaridad

Los IL son considerados generalmente como altamente polares, en razón de su naturaleza iónica, pero la realidad es mucho más accidentada. La polaridad del disolvente, que no debe confundirse con carácter hidrófilo, es un concepto complejo, y es muy poco probable que se defina una escala universal^{15,48,55}.

c. Propiedades disolventes y miscibilidad

Muchos compuestos son suficientemente solubles en IL para llevar a cabo reacciones. Con respecto a sus propiedades disolventes estas son muy diferentes de líquidos moleculares atómicos, diatómicos o apróticos, pero se ha llegado a la conclusión, que se asemejan a los líquidos polares próticos, tales como ACN, N-metilpirrolidona, o metanol^{5,15,48,56-58}.

d. Estabilidad y viscosidad

Son considerados altamente estables. Los IL dialquilimidazolio utilizados comúnmente son de hecho, termoestables hasta 300 ° C. Su viscosidad es alta comparada con disolventes moleculares y aumenta con la longitud de cadena, entre otros factores. En consecuencia, la difusión está destinada a ser lenta⁵⁵.

e. Líquidos iónicos: Aspectos verdes

Una importante fuerza impulsora detrás del desarrollo IL es el deseo de procedimientos más ecológicos. Se ha propuesto el uso de líquidos iónicos como alternativas ambientalmente amigables para disolventes orgánicos volátiles^{3, 56,57}.

3.4 Aplicaciones y perspectivas de líquidos iónicos próticos

Los PIL tienen aplicaciones en la cromatografía, en síntesis orgánica, en electroquímica, y como explosivos, así como aplicaciones adicionales en las que tener un protón disponible es esencial, como muchos usos biológicos y como medios conductores de protones^{5,47,53,57,58}.

Una aplicación potencialmente muy útil de líquidos iónicos apróticos polares, sería el uso de estos como un medio para la conversión de compuestos, tales como proteínas y carbohidratos, que son escasamente solubles en medios orgánicos comunes⁵⁵.

Hay un gran número de combinaciones de ácido-base potenciales que se puede utilizar para preparar nuevos PIL. Como una nueva clase de disolventes los PIL tienen una amplia gama de propiedades, aunque comparten en común que son solventes altamente polares, capaz de formar enlaces puente de hidrógeno⁴⁵.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales, reactivos y equipos

La investigación propuesta es de tipo descriptiva, prospectiva y aplicada. Así mismo de nivel explicativo. A continuación, se presentan los materiales, equipos y reactivos, utilizados en su realización:

1.1 Material de partida

Para los ensayos de hidrólisis de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), se recolectará material de desecho de las empresas presentes en la ciudad, tales como MICHELL & CIA S.A. e INCALPACA.TPX S.A.

1.2 Materiales

- Sistema de reflujo
- Termómetro
- Plancha de calentamiento
- Soportes y pinzas
- Material de vidrio: Balón de tres bocas, adaptadores, buretas, vasos de precipitado, pipetas, probetas, entre otros.

1.3 Reactivos

- Dietanolamina, 99.0%, Merck
- Trietanolamina, 99.0%, Merck
- Dietilamina, 99.5%, Sigma
- N,N- dimetiletanolamina, 9.5% P.A Sigma Aldrich
- Ácido fórmico, 98.0-100.0% P.A Loba-Chemie
- Ácido acético glacial, 100.0%, Merck
- Ácido fosfórico 88% Merck
- Ioduro de potasio, Merck
- Sulfato de cobre, Merck
- Metanol PA, Merck

- Tartrato de sodio y potasio, Merck
- Azul de Comassie G-250
- Etanol absoluto, Merck

1.4 Equipos

- Centrifuga Thermo IEC Centra CL2
- Equipo EASYPURE II
- Viscosímetro Brookfield
- Potenciómetro Orion 525-A
- Conductímetro Orion 162
- Balanza analítica Pioner Ohaus

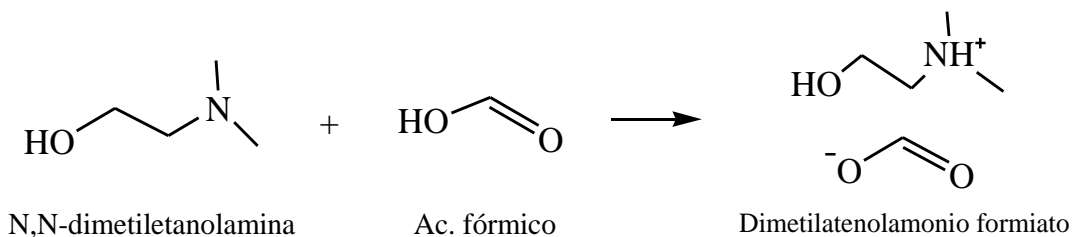
2. Metodología

En la ejecución de la presente investigación se decidió, dividir el trabajo en ocho etapas fundamentales, las cuales son detalladas a continuación:

2.1 Síntesis de líquidos iónicos próticos

Para la síntesis de líquidos iónicos próticos, se utilizó un balón de tres bocas, equipado con: un termómetro, una bureta y la tercera boca será clausurada para evitar contaminaciones.

Se colocó dentro del balón la amina, utilizada según sea el caso, en el volumen correspondiente a 0.1mol, que para la dietanolamina es 12mL, a la cual se le agregará el volumen correspondiente de ácido, utilizado según sea el caso; por ejemplo, para el ácido acético es 6mL. Mantener la mezcla en agitación constante por espacio de 1 hora³². Este procedimiento es el mismo para los ocho líquidos iónicos próticos que se utilizarán en esta investigación. Cabe mencionar que, los ácidos y bases utilizados para la síntesis se utilizaron sin purificación adicional. La reacción esperada en la síntesis de líquidos iónicos próticos se muestra en el Esquema 2.



Esquema 2: Reacción esperada en la síntesis de líquido iónico prótico (formiato de dimetiletanolamonio)

Una vez que la reacción se llevó a cabo, se procedió a un proceso de calentamiento del producto, a una temperatura de 160°C, en condiciones de agitación constante por un periodo de 2 horas, asegurando de esta forma el término de la reacción (ver Figura 5). Para eliminar el exceso de alguno de los reactivos, se realizó a un calentamiento adicional por un lapso de 1 hora, a una temperatura de 200°C.



Figura 5. Síntesis de líquidos iónicos próticos, 2 h agitación constante

2.2 Tratamiento de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

Lavar la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) las veces necesarias para eliminar todas las impurezas presentes en la misma, principalmente grasa, paja, excremento, tierra, entre otros; este lavado se realizará con detergente neutro. Una vez que se consiga una muestra limpia, se homogenizará la misma, para lo cual se procederá a cortar la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) en pequeñas porciones.

Una vez que se tienen pequeñas porciones de fibra, se realizará la eliminación de toda el agua presente en la misma, para lo cual se utilizará una estufa a 50 ° C durante 18 horas.

2.3 Hidrólisis de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

La hidrólisis de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), previamente limpia y seca, se realizará en un matraz de fondo redondo de dos bocas, equipado con un condensador de reflujo, añadiendo pequeñas porciones de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) hasta que la fibra adicionada no pueda ser vista, el procedimiento se realiza en agitación constante a una temperatura determinada; que en el caso de esta investigación varía en un rango de 95 a 155°C. El tiempo necesario para la hidrolisis de cada porción de fibra deberá ser anotado, así mismo, se deberá mantener un control constante en la variación de la coloración del líquido iónico prótico utilizado en cada ensayo de disolución hasta encontrar las condiciones óptimas del proceso.

2.4 Caracterización del líquido iónico prótico

Para caracterizar los líquidos iónicos próticos sintetizados se realizarán mediciones de pH, conductividad, viscosidad y densidad.

a. pH

En el caso de la medida de pH, primero realizar la verificación operacional del potenciómetro de trabajo, utilizando para ello los buffers pH 4, 7 y 10. Colocar las muestras a ser analizadas en tubos de 50 mL y realizar la lectura correspondiente, teniendo cuidado de que el electrodo se encuentre correctamente sumergido dentro de la solución (posición vertical) y anotar la lectura respectiva.

b. Conductividad

Para realizar la medida de conductividad, se verifica el equipo utilizando para ello la solución patrón de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Una vez realizado este procedimiento, proceder sumergiendo el electrodo de forma que el bulbo se halle correctamente sumergido y anotar la lectura correspondiente.

c. Viscosidad

Para la medida de viscosidad, nivelar la burbuja del equipo, configurar la velocidad adecuada, insertar la aguja correspondiente (2, 3, 4, 5, etc.), ingresar la aguja a la muestra en forma oblicua para evitar la formación de burbujas en la muestra y así, no obstaculizar la lectura, posicionar la aguja en forma vertical y colocarla en el nivel correspondiente y anotar la lectura.

d. Densidad

Para la medida de densidad, utilizar un picnómetro de 24. 373 mL, colocar el líquido iónico prótico y calentar a 25 C; una vez que se llegue a esta temperatura, pesar el picnómetro y anotar la lectura. Realizar los cálculos necesarios para obtener el valor de densidad correspondiente.

2.5 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Los espectros infrarrojos fueron llevados a cabo con un espectrofotómetro FTIR Nicolet 8700, cuyo rango de fiabilidad es en la región del infrarrojo mediano ($4000 - 400\text{cm}^{-1}$), resolución de 4cm^{-1} , en cada corrida se realizaron un total de 75 barridas utilizando un detector DTGS. Las muestras líquidas o semilíquidas fueron preparadas en forma de película sobre ventanas de ioduro de cesio.

2.6 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN-1H y RMN-13C fueron tomados en un espectrómetro de 300 MHz. Los desplazamientos químicos se presentan en ppm en la escala de δ , y la constante de acoplamiento está dada en Hz., las corridas de RMN se llevaron a cabo para todos los líquidos iónicos próticos sintetizados. Los solventes utilizados fueron cloroformo deuterado y dimetilsulfóxido.

2.7 Separación de la mezcla queratina- líquido iónico prótico

Con el fin de obtener queratina regenerada la mezcla queratina – líquidos iónicos próticos, se lavó tres veces con metanol y sometida a centrifugación a

6000 rpm por 5 minutos luego de cada lavado y se recolectó el precipitado en placas Petri. Una vez realizado el procedimiento anterior las muestras fueron llevadas a la estufa a 50 °C durante 1 hora.

2.8 Cuantificación de queratina

Realizar un espectro de absorción a cada una de las muestras de disolución, para todas las temperaturas de trabajo, para lo cual se midió 2mL de muestra, esta se colocó en tubos eppendorf y fue centrifugada (Thermo IEC Centra CL2) por 10 minutos a 5000 rpm. Se tomó el sobrenadante y se realizó un barrido en el Espectrofotómetro Cary 60 UV-vis.

En este trabajo de investigación se utilizarán dos técnicas colorimétricas para cuantificar proteínas totales, ya que no se cuenta con una metodología específica para queratina. Estos son el método de Biuret y el método de Bradford.

- Preparación de reactivos

a. Reactivo de Biuret

Para la preparación de 200 mL del reactivo de Biuret, disolver 0.3 g de CuSO_4 y 1.2 g de tartrato de Na y K en 100 mL de agua destilada. Posteriormente añadir 60 mL de NaOH al 10% y 5 mL de IK (0.4 g en 10 mL), finalmente llevar a volumen con agua destilada. La solución final que tiene un color celeste intenso y translúcido se guardó en un frasco plastificado.

b. Reactivo de Bradford

Para la preparación de 200 mL del reactivo de Bradford, pesar 20 mg del reactivo azul Comassie G-250, adicionar 20 mL de H_3PO_4 al 88% y 10 mL de etanol absoluto. Llevar a volumen, filtrar y guardar en frasco ámbar en oscuridad, la solución tiene una coloración inicial marrón tenue.

- Preparación de las curvas de calibración

Para la elaboración de las curvas de calibración, preparar soluciones madre de 5000 y 500 ppm con albúmina de suero bovino (BSA). Luego calcular el volumen de las alícuotas necesarias para obtener concentraciones de 100, 250, 500, 750 y 1000 ppm en el caso del método de Biuret y 25, 50, 75, 100 y 150 ppm para el método de Bradford. Realizar este procedimiento se realizó por triplicado.

Adicionar a cada fiola 1 mL del reactivo correspondiente, observar el cambio de coloración (en el caso del método de Biuret, dejar reaccionar durante 30 minutos) y realizar la lectura de absorbancia a 545 nm para el método de Biuret y a 595 nm para el método de Bradford.

- **Lectura de muestras**

Para la lectura de las muestras tomar 400 μ L, adicionar 1 mL del reactivo de Biuret y llevar a 3 mL. En el caso del método de Bradford tomar 20 μ L, adicionar 1 mL del reactivo de Bradford recientemente preparado y llevar a 2 mL. Proceder a la lectura de absorbancia en las longitudes de onda mencionadas anteriormente.

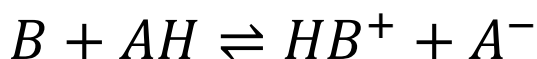
CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se procedió a sintetizar los Líquidos Iónicos Próticos (PILs), propuestos en nuestra investigación, mediante neutralización ácido - base según el procedimiento descrito en los artículos de referencia, como se detalla a continuación:

1. Síntesis de líquidos iónicos próticos

La síntesis de líquidos iónicos próticos procedió a través de la neutralización ácido – base, que consiste en la transferencia de un protón desde un ácido de Brønsted hasta una base del mismo tipo^{1,6,8,31,45,59-64} (Esquema 3), ocasionando la cesión de al menos un protón, el cual es capaz de promover puentes de hidrógeno^{6,17,62,65-67}.

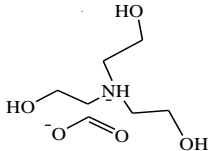
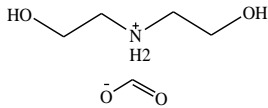
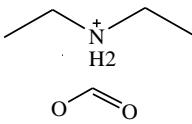
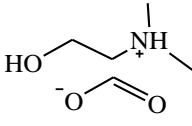
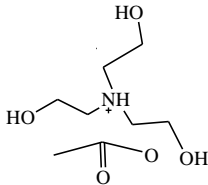
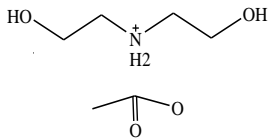
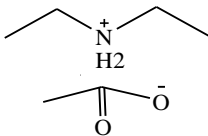
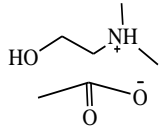


Esquema 3: Formación de líquidos iónicos próticos a través de la transferencia protónica de ácido Bronsted (A) a una base Bronsted (B)

Se sintetizaron ocho líquidos iónicos próticos (Tabla 3) por el método de neutralización; la base fue colocada inicialmente en un balón de tres bocas equipado con: un embudo de goteo, termómetro y la tercera boca fue clausurada para evitar contaminación. Se añadió gota a gota una cantidad equimolar del ácido, sobre el recipiente que contenía la base, la mezcla se mantuvo en agitación constante durante una hora. En la Tabla 3, se halla resumida la información de los nombres químicos, las estructuras químicas esperadas, el estado físico a temperatura ambiente de cada uno de los líquidos iónicos próticos respectivamente y finalmente la coloración de la sal resultante. Tres de los líquidos iónicos próticos, presentaron estado sólido a temperatura ambiente, estos fueron: formiato de trietanolamonio ([TEOA][HCOO]), acetato de trietanolamonio ([TEOA][CH₃COO]) y acetato de dietilamonio ([DEA][CH₃COO]), todos los líquidos iónicos próticos restantes presentaron estado líquido a temperatura ambiente. La coloración que presentaron, fue variada desde un color blanco para el [TEOA][HCOO], hasta un color caramelo oscuro en el caso de [TEOA][CH₃COO].

Tabla 3

Nombre, estructura, estado y apariencia de líquidos iónicos sintetizados

PILs	Estructura	Abreviatura	Estado	Apariencia
Formiato de trietanolamonio		[TEOA][HCOO]	Sólido	Cristales blancos
Formiato de dietanolamonio		[DEOA][HCOO]	Líquido	Cristales amarillo pálido
Formiato dietilamonio		[DEA][HCOO]	Líquido	Color caramelo
Formiato de dimetiletanolamina		[DMEA][HCOO]	Líquido	Color ligeramente amarillento
Acetato de trietanolamonio		[TEOA][CH3COO]	Sólido	Cristales caramelo oscuro
Acetato de dietanolamonio		[DEOA][CH3COO]	Líquido	Color caramelo claro
Acetato de dietilamonio		[DEA][CH3COO]	Sólido	Color caramelo claro
Acetato de dimetiletanolamina		[DMEA][CH3COO]	Líquido	Color amarillo pálido

Fuente: Elaboración propia

Adicionalmente, la temperatura fue controlada mediante un baño de hielo, debido a que la reacción de neutralización presentó exotermicidad^{68,69} en todos los casos (aproximadamente de 60°C a más), como se puede apreciar en la Figura 6.



Figura 6: Incremento de la temperatura al entrar en contacto el ácido y la amina, en la síntesis de PIL, alrededor de 60°C

El producto obtenido fue sometido a un calentamiento adicional por lapso de 1 hora, a una temperatura de 200°C, con el fin de eliminar el posible exceso de alguno de los reactivos (ver Figura 7). Una vez culminada la síntesis de líquidos iónicos próticos se evaluó sus principales características, particularmente en lo respecta a la transferencia de protones como se detalla a continuación.



Figura 7. Síntesis de líquidos iónicos próticos, 2 h agitación constante

Debido a que la síntesis de líquidos iónicos próticos se basa en un método de neutralización ácido-base^{62,70}, que conduce a la transferencia de protones desde el ácido

a la base. Cuando se presenta un equilibrio, fundamentalmente en una transferencia protónica, la base retorna el protón al ácido y viceversa¹⁷, siendo considerado una transferencia incompleta del protón. Para evitar este tipo de equilibrio, la literatura nos indica que se debe seleccionar el par ácido-base con una diferencia de pK_a mayor a 4^{17,45}.

En la Tabla 4, podemos observar el ΔpK_a de los ocho líquidos iónicos próticos sintetizados en nuestra investigación, el que presentó una diferencia de pK_a mayor fue el [DEA][HCOO], por lo tanto, de acuerdo a lo referido líneas arriba, debiera presentar una transferencia completa del protón. Por el contrario, el [TEOA][CH₃COO] presentó la menor diferencia de pK_a, por lo que la transferencia protónica fue incompleta.

Tabla 4
Diferencia de pK_a de los líquidos iónicos próticos sintetizados

PILs SINTETIZADOS	ΔpK _a ^c
[TEOA][HCOO]	4.009
[DEA][HCOO]	7.049
[DEOA][HCOO]	5.129
[DMEA][HCOO]	5.509
[TEOA][CH ₃ COO]	3.004
[DEA][CH ₃ COO]	6.044
[DEOA][CH ₃ COO]	4.129
[DMEA][CH ₃ COO]	4.504

^c los valores de pK_a fueron tomados de tablas de constantes

Con respecto a las características organolépticas de los líquidos iónicos próticos sintetizados, como se observa en la Tabla 3, podemos destacar que tanto la coloración como el estado físico que presentaron fue muy variable; por ejemplo, se obtuvo cristales blanquecinos en el caso del [TEOA][HCOO] y un líquido espeso, ligeramente amarillento cuando nos referimos al [DMEA][HCOO].

En la mayoría de los casos, los artículos científicos en lo que refiere a líquidos iónicos próticos, no realizan informe de las características organolépticas para sus productos sintetizados. Sin embargo; tenemos que, el producto de la síntesis del acetato de etilamonio es un líquido espeso, incoloro y transparente; mientras que el acetato de propilamonio es un líquido espeso, transparente o ligeramente amarillo⁶², en el caso del nitrato de N-butil-(N-hidroxietil) amonio y el trifluoro acetato de N-butil-(N-hidroxietil) amonio la mezcla de reacción cambió de incoloro a un líquido amarillento y viscoso⁷¹. En nuestro caso cinco productos de síntesis presentan características muy similares; es decir, son líquidos, tienden a ser más espesos que los reactivos iniciales y presentan coloraciones amarillentas.

De acuerdo al trabajo realizado por investigadores australianos, el producto final de la síntesis de [DMEA][HCOO] es un líquido incoloro³¹, pudiendo tener una ligera variación por efecto de impurezas; nuestro producto de síntesis para el mismo líquido iónico prótico, presentó una ligera coloración “amarillo pálido”, lo que puede ser explicado por una potencial presencia de impurezas en alguno de los reactivos, estando en concordancia con el grupo de investigación australiano.

2. Recolección y tratamiento de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

La fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) que fue utilizada en el presente proyecto se adquirió de la empresa distribuidora Pitata SAC, Arequipa, Perú. La muestra correspondía a la categoría de fibra corta de acuerdo a la clasificación dada por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI), raza *Huacaya* color blanco.

Para obtener una fibra sin impurezas, se sometió a un tratamiento de lavado en forma reiterada con detergente neutro, para así eliminar los contaminantes presentes en la misma (grasa, paja, tierra, excremento, etc.). Una vez limpia la muestra, se cortó en pequeños segmentos de fibra y se secó en estufa a 50 °C durante 18 horas (ver Figura 8).

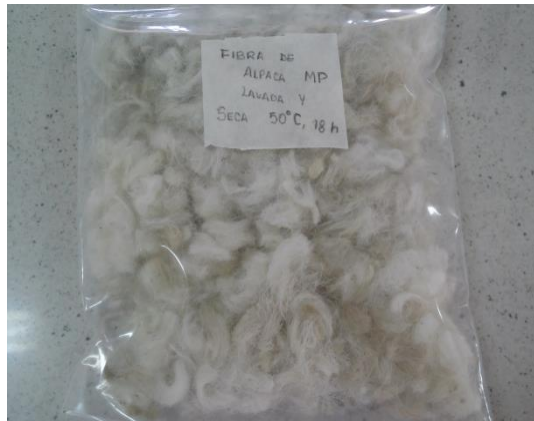


Figura 8. Fibra corta de *Vicugna pacos* (alpaca) Raza *huacaya* lavada y secada en estufa a 50° C por 18 h

3. Ensayos de disolución de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca)

Se llevaron a cabo pruebas preliminares de disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) con el sistema que se presenta en la Figura 9, se utilizó 5mL de líquido iónico prótico sintetizado y 10mg de fibra, la mezcla fue sometida a dos temperaturas, por un periodo máximo de 7 horas a condición de agitación constante.



Figura 9. Disolución de fibra corta de *vicugna pacos* (alpaca) Raza *huacaya* (lavada y secada en estufa por 18 h) en [DEOA][HCOO].

Los resultados de las pruebas de disolución realizadas se presentan en la Tabla 5, donde se muestra la temperatura de disolución (se tomaron dos temperaturas, 115 y

140°C), tiempo de disolución y solubilidad de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca). Para el caso de [TEOA][HCOO], [DEA][HCOO], [TEOA][CH₃COO] y [DEA][CH₃COO] no se presentó actividad de disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), a pesar de haber sido sometidos hasta el tiempo límite de disolución. Los líquidos iónicos próticos que presentaron actividad de disolución fueron en orden de mayor a menor solubilidad fueron [DMEA][HCOO] > [DEOA][HCOO] > [DEOA][CH₃COO], [DMEA][CH₃COO] con valores de 10 > 5 > 4 = 4, respectivamente. Los líquidos iónicos próticos [DMEA][HCOO] y [DEOA][HCOO] presentaron un tiempo de disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) de 3 horas.

Tabla 5

Pruebas de disolución para todos los líquidos iónicos próticos sintetizados

PILs	Tiempo ^a	Solubilidad ^b	Solubilidad ^c
[TEOA][HCOO]	>7	-	-
[DEA][HCOO]	>7	-	-
[DEOA][HCOO]	3	5	5
[DMEA][HCOO]	3	10	10
[TEOA][CH ₃ COO]	>7	-	-
[DEA][CH ₃ COO]	>7	-	-
[DEOA][CH ₃ COO]	5	4	4
[DMEA][CH ₃ COO]	5	4	4

^a (horas), ^b (mg fibra/mL líquidos iónicos próticos) a 115°C, ^c (mg fibra/mL líquidos iónicos próticos) a 140°C

Sin embargo; estas pruebas preliminares muestran que la solubilidad puede realizarse a menor tiempo (3 horas) que lo reportado en la bibliografía³¹. En la Figura 10, se puede apreciar la disolución completa de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) utilizando [DMEA][HCOO], ya que a simple vista no se observó restos del soluto. Así mismo, la cantidad de fibra hidrolizada en nuestra investigación es menor que la reportada en trabajos similares, que tienen como materia prima la queratina de las plumas (150mg/g)³¹; así como, los que utilizan como disolventes líquidos iónicos apróticos para extraer queratina a partir de plumas de pavo³², probablemente debido a la diferencia de composición en los tipos de materias primas utilizadas para cada investigación.



Figura 10 . Queratina disuelta en [DMEA][HCOO],
3 horas de agitación, 140°C.

A 115°C, ninguna de las muestras presentó capacidad de disolución, cuando incrementamos la temperatura a 140°C, pudimos observar que cuatro de los líquidos iónicos próticos presentaron capacidad de disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca). La combinación del incremento de temperatura y la agitación aumentan el superficie activa de los polímeros y de esta forma pueden ser accesibles al solvente perdiendo los puentes de hidrógeno y probablemente la ruptura de puentes disulfuro.

Por efecto de las pruebas preliminares, la investigación continuó con los dos líquidos iónicos próticos que presentaron la mayor solubilidad, estos fueron: formiato de dimetiletanolamina [DMEA][HCOO] y formiato de dietanolamina [DEOA][HCOO]. Por lo que, se procedió a la síntesis de estos líquidos iónicos próticos a mayor escala, manteniendo la relación equimolar, el producto obtenido se muestra en la Figura 11.



Figura 11: [DMEA][HCOO] y [DEOA][HCOO] sintetizados
a mayor escala

4. Caracterización de líquidos iónicos próticos

La característica más resaltante de los líquidos iónicos próticos es su ionicidad así tenemos que, idealmente la transferencia de protones es completa del ácido a la base, de manera que las únicas especies individuales presentes son el catión y el anión resultante. En realidad, existe la probabilidad de que la transferencia de protones sea incompleta, lo que resultará en la presencia de especies de ácidos y bases neutras⁴⁵.

Hasta el momento no existe ningún método "estándar" para la determinación de la ionicidad de los líquidos iónicos próticos, ni una clasificación en lo que debería considerarse "líquidos iónicos próticos puros". Por ello se han utilizado diferentes técnicas para proporcionar información sobre la ionicidad de estos, incluyendo RMN, cambios en las propiedades térmicas en función de la estequiometría, la espectroscopia de IR y la conductividad iónica en la forma de un diagrama de Walden^{45,72-76}. Estas técnicas generalmente dan una medida cualitativa de la naturaleza iónica de los líquidos iónicos próticos.

Así mismo, se han reportado que varias propiedades fisicoquímicas de líquidos iónicos próticos se correlacionan con la ΔpK_a ^{45,66,72,73}; es decir que, a mayor sea esta diferencia el líquido iónico prótico será considerado ideal.

4.1 Características físico químicas de líquidos iónicos próticos

Los parámetros físico químicos analizados fueron pH, densidad, viscosidad y conductividad para los líquidos iónicos próticos seleccionados anteriormente; para lo cual, se utilizó en el caso de la medida de pH el Potenciómetro Orion 525-A, que cuenta con un rango de medición de 0 a 14 y una resolución de 0.001. Para la medida de conductividad se utilizó el Conductímetro Orion 162, con un rango de medición de 0 a 199 μ S/cm, resolución de 0.1 μ S/cm; ambos equipos fueron previamente verificados para su correcto funcionamiento. Para la medida de viscosidad se utilizó el Viscosímetro Brookfield DV2T a 120 rpm, aguja número 4. En el caso de la determinación de densidad la lectura se realizó en la balanza analítica Pioneer Ohaus a 25°C utilizando un picnómetro con un volumen de 24.373mL, tal como se muestra en la Figura 12.



Figura 12: Instrumentos de medición utilizados en la lectura de pH, conductividad, viscosidad y densidad para [DMEA][HCOO] y [DEOA][HCOO]

Los resultados de las pruebas de caracterización fisicoquímica se muestran en la Tabla 6, se realizaron lecturas por triplicado de todos los parámetros.

Tabla.6

Características fisicoquímicas de líquidos iónicos próticos

Parámetros	[DMEA][HCOO]	[DEOA][HCOO]
pH	7.603 ± 0.006	7.203 ± 0.006
Conductividad ^a	4.847 ± 0.006	1.353 ± 0.008
Densidad ^b	1.095 ± 0.000	1.092 ± 0.000
Viscosidad ^c	110.0 ± 0.034	158.3 ± 0.053

^a($\mu\text{S}/\text{cm}$), ^b(g/mL), ^c(cP)

En cuanto a la densidad en relación al ΔpK_a , podemos observar en nuestra investigación que en el caso de [DEOA][HCOO] el $\Delta\text{pK}_a = 5.129$, y para [DMEA][HCOO] $\Delta\text{pK}_a = 5.509$, aunque ambos contienen el mismo anión pero diferente catión, el volumen molecular del [DEOA][HCOO] es mayor que el del [DMEA][HCOO], el ΔpK_a parece seguir el sentido contrario del volumen molecular, esto se halla en concordancia con observaciones realizadas para líquidos iónicos próticos que mantienen el mismo anión pero diferentes cationes⁷⁷, el autor (Chhotaray, et al. 2014) nos manifiesta que cuando esto se presenta la densidad va en sentido contrario del ΔpK_a , esto mismo podemos observar al comparar la densidad con respecto de la ΔpK_a .

Así mismo, los líquidos iónicos próticos estudiados tienen densidades que guardan relación con los valores reportados para el formiato de etilamonio con un valor de 1.039g/mL, propionato de etilamonio con 1.018g/mL, formiato de etanolamina 1.184g/mL, acetato de etanolamina con 1.176g/mL⁴⁵, formiato de dimetiletilendiamina con 1.030g/mL¹².

La densidad de los compuestos depende del tipo de aniones y cationes, tamaño y forma de los iones y las interacciones ión – ión. Generalmente, un mayor tamaño de aniones conduce a una mayor densidad y un volumen más grande del catión orgánico conduce a una menor densidad^{16,71,78,79}.

La longitud de la cadena del radical alquilo también tiene un efecto en las propiedades de los líquidos iónicos próticos, de acuerdo con investigaciones previas^{11,12,77,80}, la densidad y la velocidad del sonido disminuyen; mientras que, la viscosidad aumenta al incrementarse la longitud de la cadena alquilo en el lado catiónico. Lo que guarda relación en nuestra investigación, ya que en el caso del [DEOA][HCOO] al tener un radical alquilo más complejo, en el lado catiónico, presenta mayor viscosidad que el [DMEA][HCOO].

La conductividad de los líquidos iónicos próticos parece ser que se rige por su movilidad iónica y tiene un comportamiento similar a la viscosidad⁸¹⁻⁸⁴. Los iones más pequeños con pocas interacciones inter iónicas muestran altos valores de conductividad y viceversa. Por ejemplo, en un estudio realizado en el trifluoro acetato de N-butil-(N-hidroxietil) y el nitrato de N-butil-(N-hidroxietil) amonio la conductividad del trifluoro acetato muestra una disminución más significativa que el nitrato, debido a la menor movilidad y la desigualdad en el tamaño del anión⁷¹. Esta relación guarda concordancia con los valores obtenidos en esta investigación; tal es así que, el [DMEA][HCOO] al tener como catión a la dimetiletanolamina, un ión de menor volumen molecular que la dietanolamina, presenta un valor mayor de conductividad (4.847 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

El radical hidroxilo presente en la cadena lateral catiónica tiene un efecto pronunciado sobre todas las propiedades experimentales, debido al potencial puente de hidrógeno que pudiera encontrarse adicionalmente, además de las interacciones de Coulomb y Van der Waals^{45,77}.

4.2 Espectroscopia infrarroja (FT-IR) de líquidos iónicos próticos

Todos los líquidos iónicos próticos fueron enviados para su análisis mediante FT-IR, en el Laboratorio de Materiales del Instituto Mexicano del Petróleo, con la colaboración de la Dra. Natalya Likanova Victoronova. Los líquidos iónicos próticos de mejor desempeño, se analizarán a continuación los cuales son: [DMEA] [HCOO] y [DEOA] [HCOO].

Para el [DMEA] [HCOO], es necesario observar en el espectro de FT-IR las señales correspondientes a los grupos funcionales principales, como es el carboxilo (suma del grupo carbonilo y grupo hidroxilo), la identificación de la amina cuaternaria, el grupo hidroxilo del etanol, como los grupos metilo. En la Figura 13, podemos observar que el pico que se halla marcado en la elipse de color rojo, con el número **1**, presenta una longitud de onda entre $1020 - 1220 \text{ cm}^{-1}$, según tablas esta vibración corresponde a la interacción entre un átomo de carbono y un nitrógeno, que pueden ser aminas primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias, normalmente esta vibración suele indicarse como una interacción sp^3-sp^3 entre el carbono y nitrógeno.

Con la presencia del pico entre las longitudes de onda $3200 - 3500 \text{ cm}^{-1}$, podríamos concluir en forma contundente que nos hallamos en presencia de una amina cuaternaria, pero en nuestro espectro, aunque tenemos la señal en la elipse **5** que corresponde a la vibración entre un enlace nitrógeno – hidrógeno, esta se halla solapada por la señal del grupo hidroxilo (elipse **4**), con una banda intensa y ancha entre las longitudes de $2400 - 3300 \text{ cm}^{-1}$, probablemente debido a un enmascaramiento por efecto esteárico de los sustituyentes de la amina.

Para el grupo carbonilo se presenta en la elipse **2**, en el rango de longitud de onda entre $1550 - 1650 \text{ cm}^{-1}$, con una banda en 1613 cm^{-1} , confirmando la presencia del anión formiato. Los grupos metilo estarán caracterizados por las vibraciones carbono – hidrógeno, esta señal la podemos encontrar en la elipse **3**, con un rango en la longitud de onda entre $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$, estas señales encontradas en el espectro de FT-IR, nos confirman los grupos funcionales esperados para nuestro líquido iónico prótico^{71,77,85}.

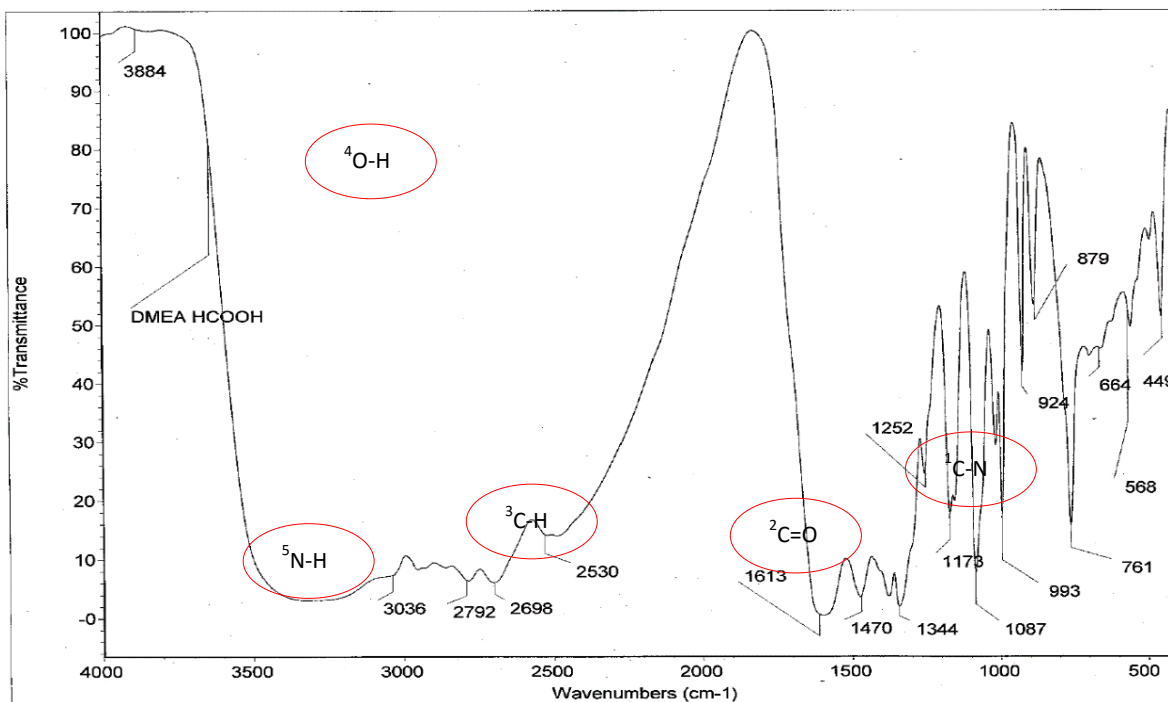


Figura 13: Espectro FT-IR de [DMEA] [HCOO]

Para el caso del [DEOA][HCOO], se debería esperar las señales correspondientes a los grupos funcionales como el carboxilo (suma de las funciones carbonilo e hidroxilo), la identificación de la amina cuaternaria, el grupo hidroxilo del etanol, y una fuerte señal acoplada de los hidrógenos enlazados al nitrógeno. El espectro para el [DEOA][HCOO] se muestra en la Figura 14, en ella podemos hallar con la elipse **1**, la señal correspondiente a la vibración del enlace carbono nitrógeno, característico para sistemas sp^3-sp^3 , el cual presenta un pico muy característico en 1339 cm^{-1} , en este caso la elipse **5**, nos muestra claramente la presencia de enlaces nitrógeno hidrogeno a una longitud de onda entre $3200 - 3500\text{ cm}^{-1}$, con un pico en 3479 cm^{-1} , lo que nos indica en forma contundente la presencia de este tipo de enlace, debido a la estructura, los dos hidrógenos que se hallan unidos al nitrógeno, pueden estar generando esta característica señal.

El grupo carbonilo, en la Figura 14 se halla claramente representado por una banda intensa en la longitud de onda de 1598 cm^{-1} (elipse **2**), con la presencia de la banda ancha entre $2400 - 3300\text{ cm}^{-1}$, correspondiente al grupo hidroxilo (elipse **4**), podemos concluir la existencia del anión. Adicionalmente, los enlaces carbono hidrógeno vibran en la región $2600 - 3000\text{ cm}^{-1}$,

correspondientes a los grupos CH₂ propios del etanol como se aprecia en la elipse 3.

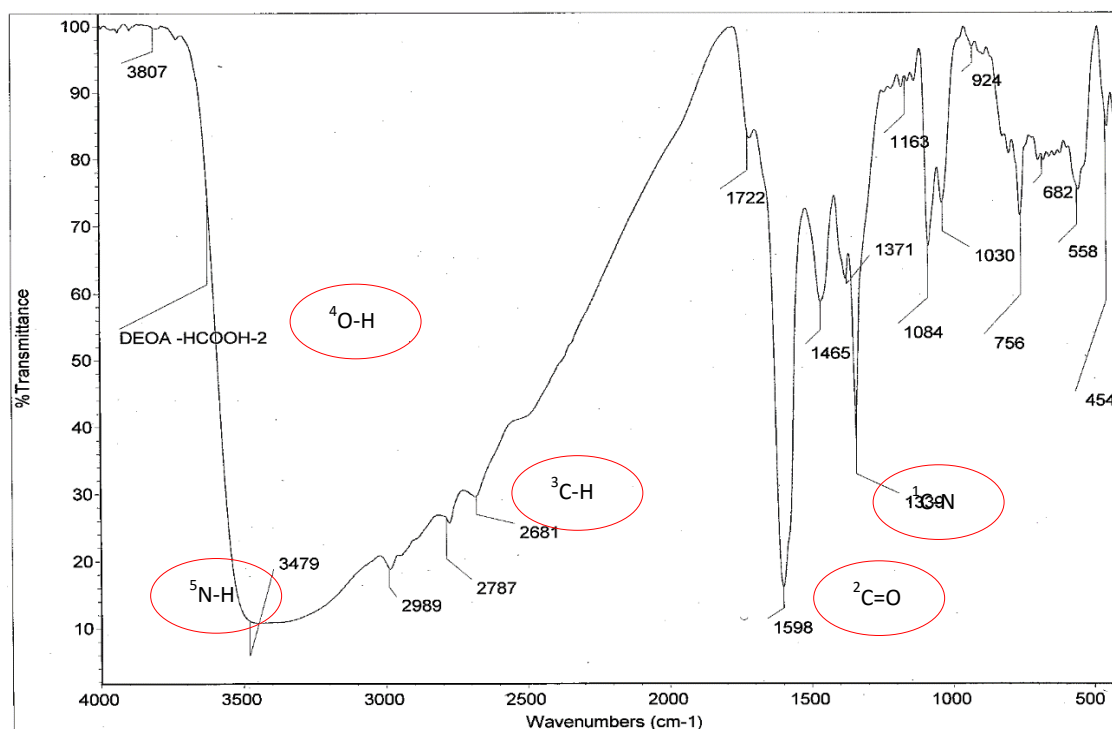


Figura 14: Espectro FT-IR de [DEOA] [HCOO]

Las señales obtenidas para los espectros FT-IR, están en concordancia con las reportadas en la literatura, tal es el caso de la banda en el rango de 3500 – 3200cm⁻¹, muestra el estiramiento del enlace N-H^{17,60,68,86}, O-H^{17,60,68,77}; mientras que la banda alrededor de 1600 cm⁻¹ confirma la presencia del carbonilo^{17,60,68,86}. Para el caso del estiramiento del enlace C-N la banda característica se encuentra entre 1220 – 1020cm⁻¹^{60,71}, lo cual también se halla reflejado en nuestro espectros.

En el anexo 1, depositamos la información de los espectros de FT-IR para los demás líquidos iónicos próticos sintetizados en el presente trabajo de investigación. En todos ellos encontramos las mismas características descritas líneas arriba para los dos líquidos iónicos próticos de mejor desempeño en la disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), lo que nos hace suponer que, al presentar todos los grupos funcionales esperados, son los líquidos iónicos próticos que esperábamos sintetizar.

4.3 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de líquidos iónicos próticos

Todos los líquidos iónicos próticos fueron enviados para su análisis mediante RMN-¹H y RMN-¹³C, al Laboratorio de Materiales del Instituto Mexicano del Petróleo, con la colaboración de la Dra. Natalya Likanova Victoronova. Los líquidos iónicos próticos de mejor desempeño, se analizarán a continuación los cuales son: [DMEA][HCOO] y [DEOA][HCOO].

El espectro de RMN-¹H del [DMEA] [HCOO], teóricamente deberíamos esperar una señal singlete que integres a 6 debido a los grupos metilo, un singlete que integra a uno, debido al hidrógeno que protona al nitrógeno, un singlete que integra a uno, correspondiente al protón unido al grupo carboxilo, un triplete y un cuarteto que integren a dos protones cada uno, correspondientes al CH₂ de la cadena alifática del alcohol y una última señal singlete que integra a uno, correspondiente al hidrógeno del grupo hidroxilo.

En la Figura 15, se muestra el espectro, con las señales en: 2.771(S), 3.069(T), 3.880(Q), 8.534(S) y 9.270(S), aparentemente solo poseemos 5 señales, pero revisando la literatura, podemos notar que el protón del hidroxilo y el protón de la amina cuaternaria se han solapado por lo que la señal de 9.270 a pesar de ser un singlete es un poco más ancha de lo normal. En la cual observamos que se ha producido la transferencia completa de protones en todo el líquido iónico prótico sintetizado, por la ausencia de la señal correspondiente al protón del hidroxilo del grupo carboxílico, también sabemos que ΔpK_a es mayor que 4^{17,45} como condición previa para la transferencia de protones completa⁸⁵.

En la Figura 16, se presenta el RMN-¹³C, deberíamos esperar cuatro señales correspondientes a los tipos de carbono presentes en nuestra estructura, y esto es corroborado en forma positiva en: 43.47: 56.49: 60.05: 169.25, claramente se observa lo esperado, es más con la presencia de la señal en 169.25 queda confirmada la presencia del formiato.

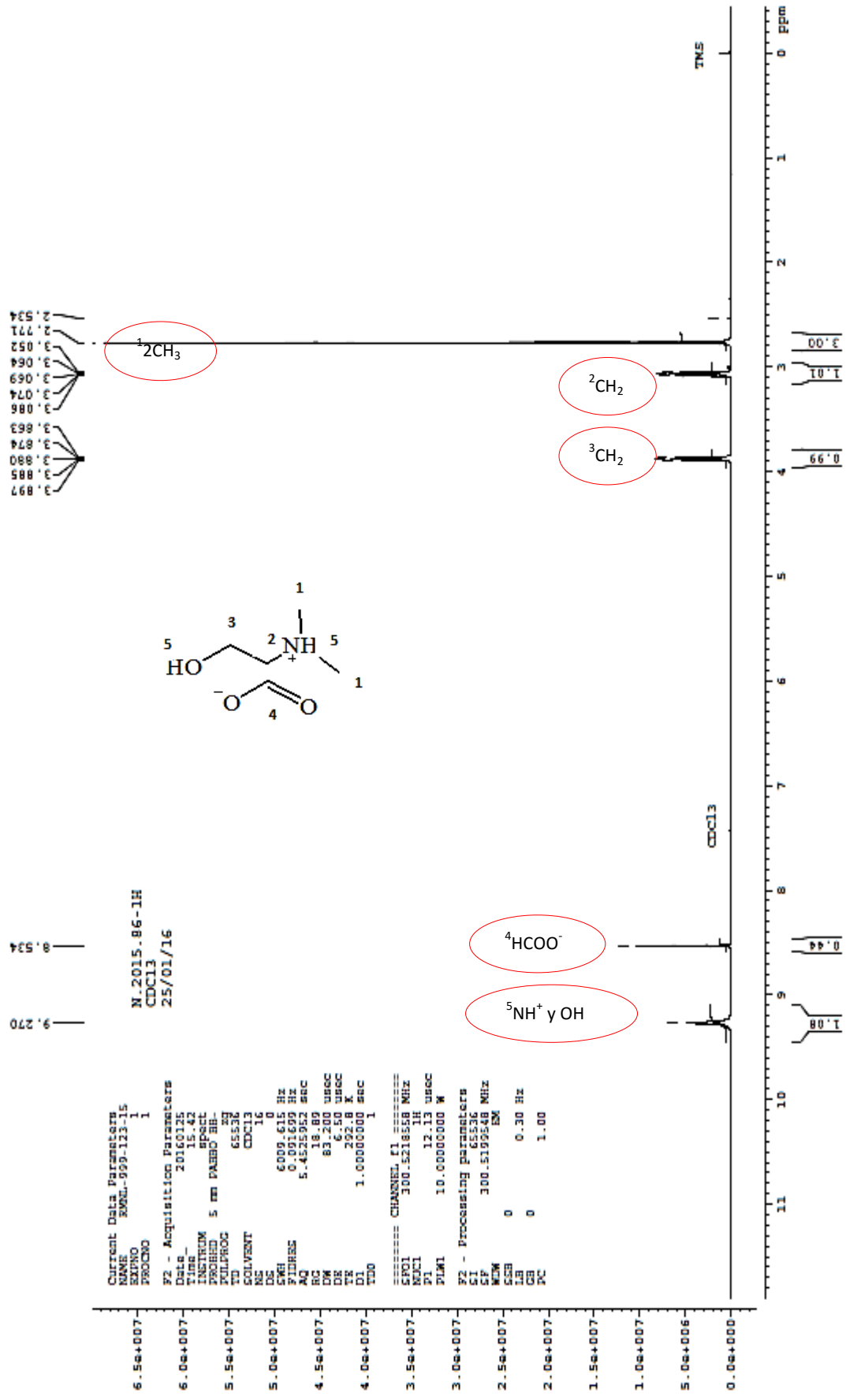


Figura 15: Espectro RMN-¹H de [DMEA][HCOO]

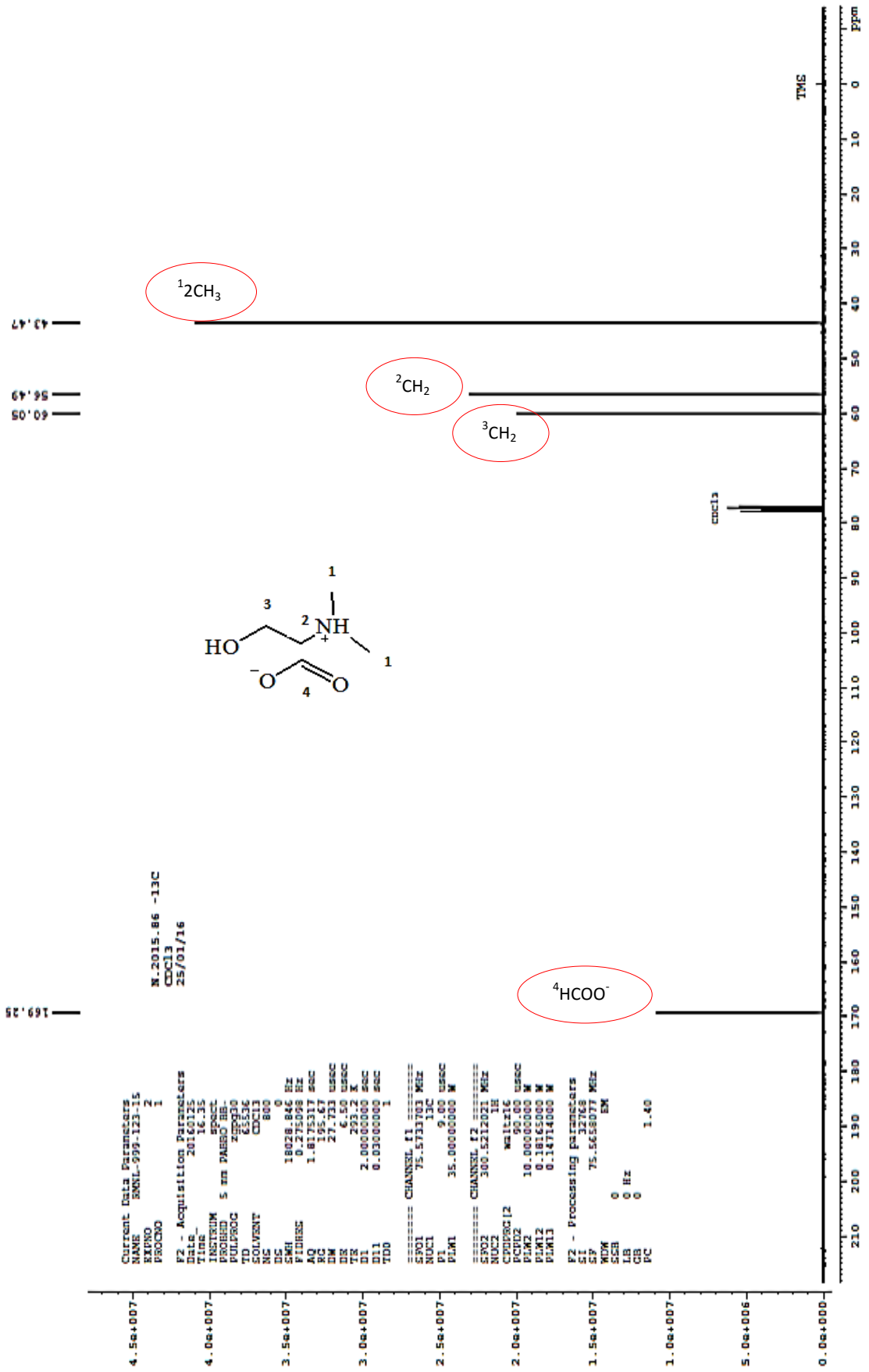


Figura 16: Espectro RMN-¹³C de [DMEA][HCOO]

Cuando obtuvimos el espectro de RMN-¹H para el [DEOA][HCOO], deberíamos esperar dos señales tripletes que integren cada una a cuatro protones, correspondientes a los CH₂ de los carbonos del etanol, una señal singlete que integre a dos debido a los grupos hidroxilo del etanol, una señal singlete que integre a dos, debido a los hidrógenos que protonan al nitrógeno y una señal adicional singlete que integre a uno correspondiente al protón del formiato.

Desde el espectro de RMN-¹H presentado en la Figura 17, el protón unido al átomo de carbono del formiato, presenta su señal característica en 8.528 ppm en forma de singlete, los protones de la amina cuaternaria unidas al nitrógeno, exhiben una señal singlete a 9.187 ppm que integran a dos protones lo que es esperado para nuestra estructura, en el rango de 3.097 – 3.940 ppm podemos observar una señal de cuadruplete, correspondiente a los grupos hidroxilo del etanol, a pesar de que este hidrógeno solo debería presentar una señal singlete, el cuadruplete es aceptado debido a la doble señal duplete correspondiente a la interacción del protón del hidroxilo con los protones del grupo amino en número de dos, por la libre rotación que presentan, un sextuplete en el rango de 3.117 – 3.219 ppm correspondiente al grupo CH₂ del etanol cercano al grupo amino, que al estar en libre rotación observa un ambiente incrementado por efecto del protón del hidroxilo y de los unidos al nitrógeno, generando la señal múltiple, en la región de 1.311 – 1.359 ppm tenemos un triplete correspondiente al grupo CH₂ del átomo de carbono más cercano al grupo hidroxilo.

Aunque el espectro de protones presenta múltiples corrimientos en las señales esperadas, esto podemos atribuirlo a la presencia del anión como del protón adicional en la amina cuaternaria.

Del espectro de RMN-¹³C, que se presenta en la Figura 18, podemos observar cinco señales, las cuales pueden ser asociadas a los diferentes tipos de átomos de carbono con ambientes diferentes. En 168.87 ppm tenemos la señal del carbono del grupo formiato, 56.32:54.66:47.59:8.60 ppm estas cuatro señales corresponden a los carbonos CH₂ del etanol, pero por efecto de la posición asimétrica del anión los ambientes a cada uno de los átomos de carbono se hacen diferentes, por lo que obtenemos este tipo de respuesta.

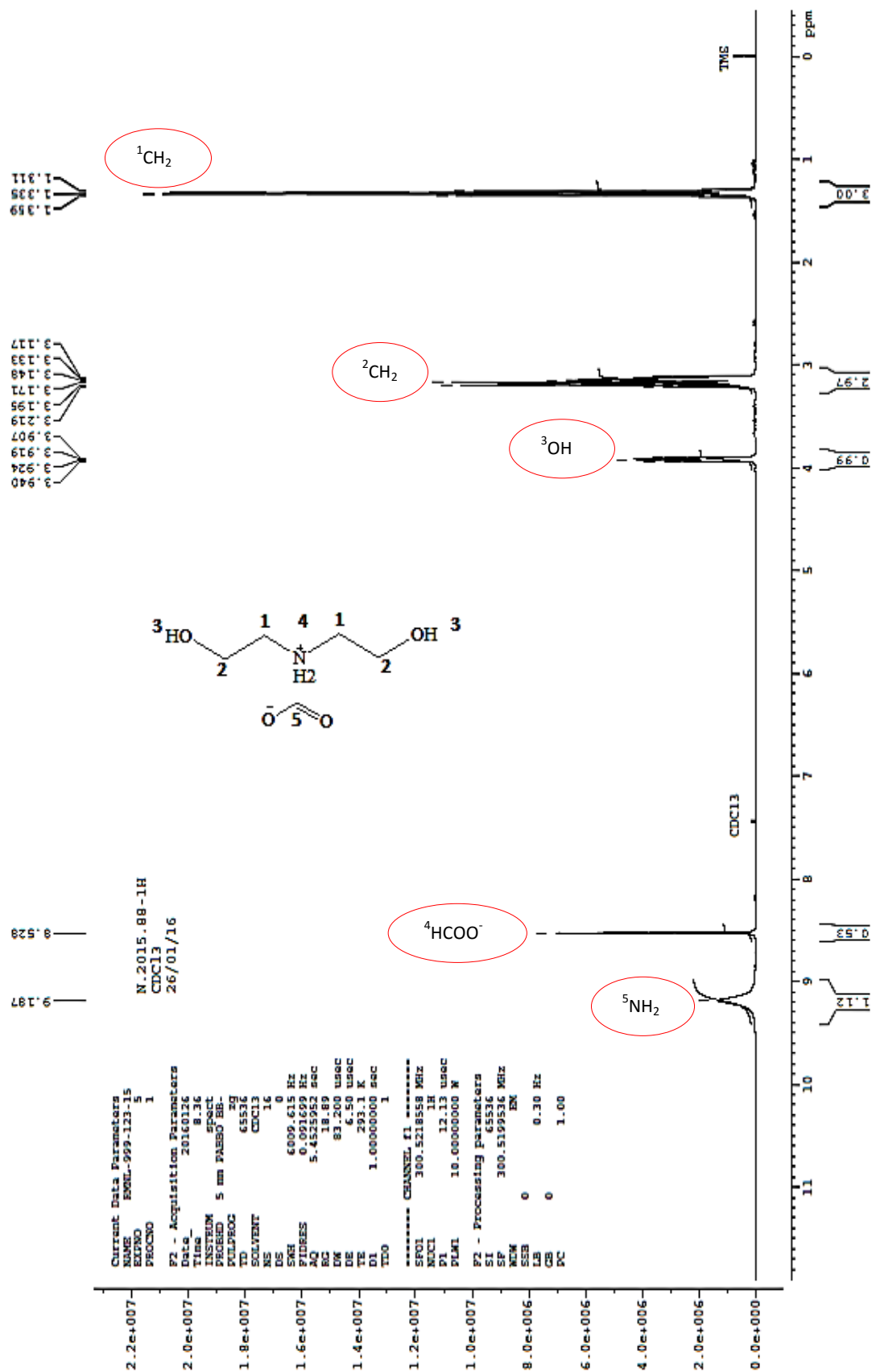


Figura 17: Espectro RMN- ^1H de [DEOA] [HCOO]

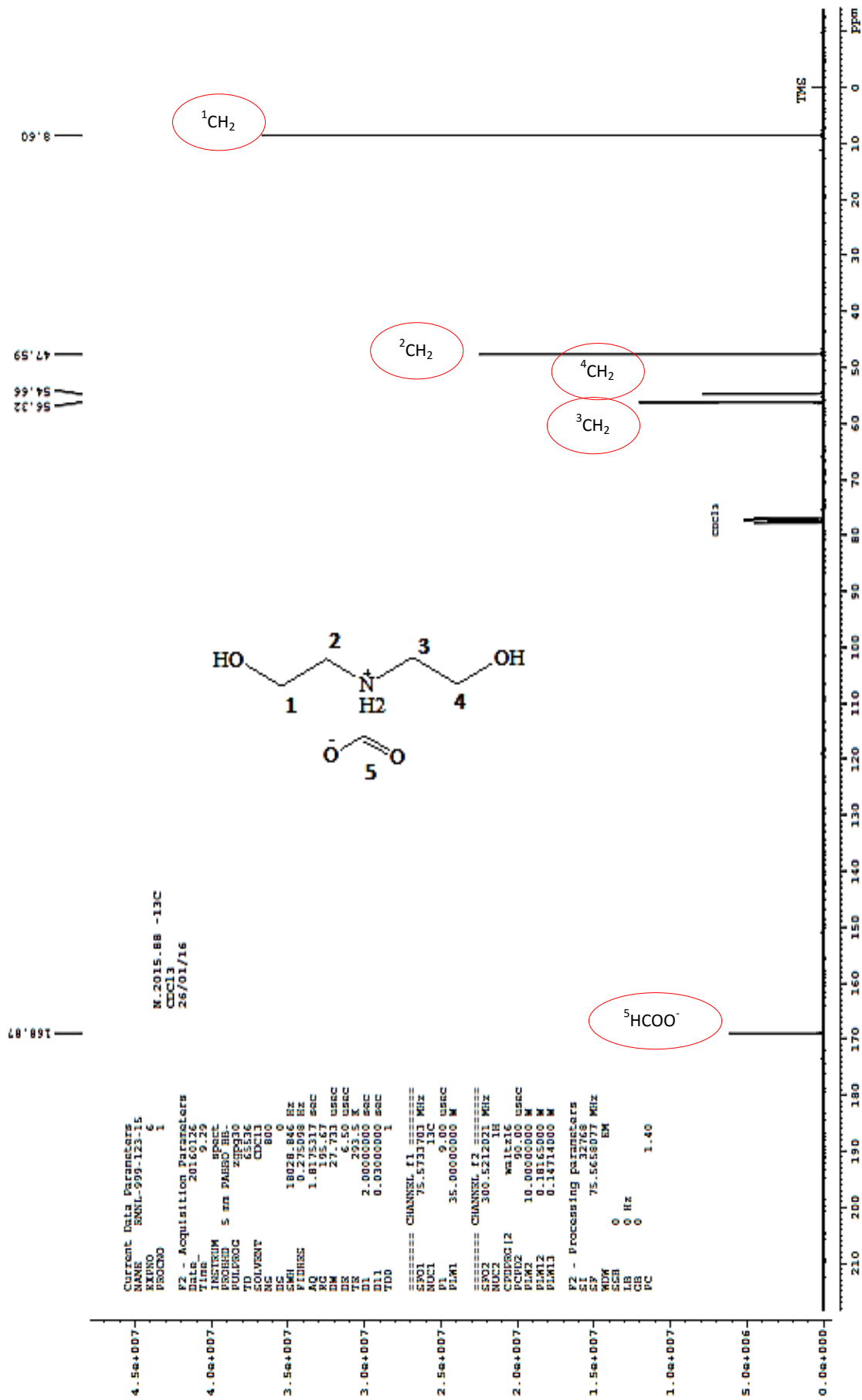


Figura 18: Espectro RMN- ^{13}C de [DEOA] [HCOO]

En lo que respecta a la caracterización de líquidos iónicos próticos por RMN-¹H, en la literatura se hallan reportadas las señales que corresponden al formiato de piridinio⁸⁵ y formiato de propilamonio⁶⁸, los cuales están formados por el mismo anión con el que se trabajó en nuestra investigación, el protón que corresponde al anión formiato tiene una señal singlete a 8.16 y 8.46 respectivamente, que integran a uno; este valor es muy similar al obtenido para los líquidos iónicos próticos [DMEA][HCOO] y [DEOA][HCOO] sintetizados en este estudio, que presentan la misma señal singlete en 8.534ppm y 8.528ppm.

De la misma forma en la investigación realizada por Idris et al³¹; se presenta las señales que corresponden a los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C para el [DMEA][HCOO], en las cuales se observan que los desplazamientos reportados para los protones de la amina cuaternaria y del etanol, poseen una señal singlete a 9.39ppm, un valor muy cercano al encontrado en nuestra investigación (9.270ppm); así mismo, la señal que integra al protón del anión formiato es un singlete a 8.42ppm, valor similar al nuestro (8.534ppm). En cuanto a las señales que integran a los grupos CH₂, de la cadena alifática del alcohol, se tiene un cuarteto a 3.78ppm y un triplete que integra a dos protones a 2.94ppm, en nuestro caso las mismas señales se hallan a 3.880ppm y 3.069ppm. Por último, el singlete que integra a seis protones de los grupos CH₃, presenta un desplazamiento a 2.65ppm, en nuestro caso esta señal se encuentra a 2.771ppm.

En lo que respecta a los espectros de RMN-¹³C, las señales que la literatura reporta para el [DMEA][HCOO] (168.4, 60.3, 56.3 y 43.4)³¹ y para el [DMEA][CH₃COO] (177.98, 60.90, 57.15, 43.92, 22.69)¹⁷, son muy similares a las encontradas en este trabajo (169.25, 60.05, 56.49 y 43.47). Para el caso del [DEOA][HCOO], la señal que representa al carbono del anión formiato tiene un desplazamiento a 184,8⁸⁷, en nuestro caso se halla a 168.87; las señales que corresponden a los carbonos CH₂ del etanol se encuentran a 56.1, 48.7⁸⁷; lo que se encuentra en oposición al espectro que se realizó en nuestra investigación ya estas señales se hacen se desdoblan para darnos un numero de cuatro a 56.32, 54.66, 47.59, 8.60; probablemente debido a que, presentan diferentes ambientes en la molécula; aunque también podría atribuirse esta característica, a la frecuencia del equipo utilizado en cada caso.

En el anexo 2 podemos encontrar los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C para los líquidos iónicos próticos sintetizados que no mostraron los resultados esperados en la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca).

4.4 Ecotoxicidad y biodegradabilidad de líquidos iónicos próticos

Los líquidos iónicos próticos son un grupo bastante nuevo y prometedor de moléculas con una amplia variedad de posibles estructuras así como usos^{13,14,88,89}. Son considerados potencialmente “verdes”, pero su impacto sobre el medio ambiente no se ha estudiado lo suficiente, especialmente cuando se trata de ecotoxicidad en suelos, donde podemos encontrar puntos de vista muy diversos de los distintos grupos de investigación^{86,90}.

En los reportes científicos, encontramos estudios comparativos de la ecotoxicidad de suelos por parte de los líquidos iónicos próticos (derivados de aminas alifáticas y ácidos orgánicos) y líquidos iónicos apróticos (imidazolio sustituido y cloruro de piridinio) hacia tres especies de plantas terrestres (*Allium cepa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*) y microorganismos del suelo que participan en la transformación de carbono y nitrógeno. Los líquidos iónicos próticos no han mostrado ningún efecto tóxico en la mayoría de las pruebas realizadas. Los valores de DL₅₀ para los líquidos iónicos próticos son varios órdenes de magnitud más bajos que los líquidos iónicos apróticos en todas las pruebas realizadas⁹¹.

Además, hemos hallado estudios de la biodegradabilidad y toxicidad de los líquidos iónicos próticos, encontrando que el alargamiento de la cadena alquímica tiende a aumentar el impacto negativo de los líquidos iónicos próticos hacia los organismos y los sistemas biológicos en estudio. De acuerdo con estos resultados, el acetato de metiletanolamina y pentanoato de metiletanolamina; son los líquidos iónicos próticos menos y más tóxicos, respectivamente⁶. Los líquidos iónicos próticos parecen tener un potencial de biodegradación en el suelo, mientras que líquidos iónicos apróticos exhiben efectos inhibidores hacia la actividad de la microbiota⁹¹.

Estos hallazgos indican que los líquidos iónicos próticos pueden ser considerados menos tóxicos y más seguros para el medio ambiente a nivel de

suelos que los líquidos iónicos apróticos^{87,91}. Aunque mientras más compleja es la amina utilizada mayor es la toxicidad^{87,91}.

En cuanto a la toxicidad acuática estudios recientes demuestran que los líquidos iónicos próticos (formiato de 2-hidroxi-etanolamina, butanoato de 2-hidroxi-etanolamina, formiato de 2-hidroxi-dietanolamina, acetato de 2-hidroxi-dietanolamina, propionato de 2-hidroxi-dietanolamina, butanoato de 2-hidroxi-dietanolamina, isobutanoato de 2-hidroxi-dietanolamina, pentanoato de 2-hidroxi-dietanolamina, butanoato de 2-hidroxi-trietanolamina y pentanoato de 2-hidroxi-trietanolamina) tienen valores de DL₅₀ por encima de 100mg/L, lo que demuestra que no tienen ninguna toxicidad a nivel acuático⁹².

De estas investigaciones se puede deducir que, en general, los líquidos iónicos apróticos con estructura molecular más compleja tienen una mayor tendencia a causar efectos tóxicos en los organismos acuáticos que los líquidos iónicos próticos que tienen un menor tamaño molecular y estructura relativamente más simple.

La evaluación comparativa de riesgos, mostró que los líquidos iónicos próticos en términos de toxicidad, así como en términos de biodegradabilidad, son mucho más seguros que los líquidos iónicos apróticos. Este hecho, junto con su bajo costo de producción, síntesis simple y posibles aplicaciones, sugiere que tienen un potencial perfil “más verde”, entre otros líquidos iónicos y una buena perspectiva para un uso más amplio⁹².

En el caso de nuestra investigación, el anión formiato presenta una estructura simple y tamaño molecular menor; de igual forma, la dimetil-etanolamina y la dietanolamina son cationes que no tienen gran complejidad; por lo que, podríamos asumir según la información presentada líneas arriba, que no deberían causar efectos tóxicos en sistemas terrestres y acuáticos.

5. Parámetros óptimos de disolución de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca)

5.1 Temperatura

Para determinar los parámetros óptimos de disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), se consideraron las mismas condiciones utilizadas en las pruebas

preliminares (matraz de fondo redondo de tres bocas equipado con un condensador de reflujo), el proceso se llevó a cabo en un rango entre 95°C y 155°C.

La solubilidad de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) se obtuvo mediante la adición sucesiva de porciones de 10mg de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) para cada uno de los líquidos iónicos próticos seleccionados cuyo volumen base fue de 5mL; la adición procedió cuando la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) inicial no podía ser observada a simple vista, todo esto acompañado de agitación mecánica constante a 200 rpm, cada ensayo tuvo una duración de 270 minutos. La temperatura se definió en un rango de variación de 10°C, entre cada conjunto de pruebas.

Para el caso de [DEOA] [HCOO], el incremento de la temperatura no tuvo efecto en la capacidad de disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), como se puede apreciar en la Figura 19, línea roja. Cuando analizamos la estructura de este líquido iónico prótico, podemos observar claramente que los grupos hidroxilo del etanol le confieren una mayor polaridad, lo que nos hace suponer que probablemente la naturaleza de los enlaces en la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), son más susceptibles a disolventes de baja polaridad.

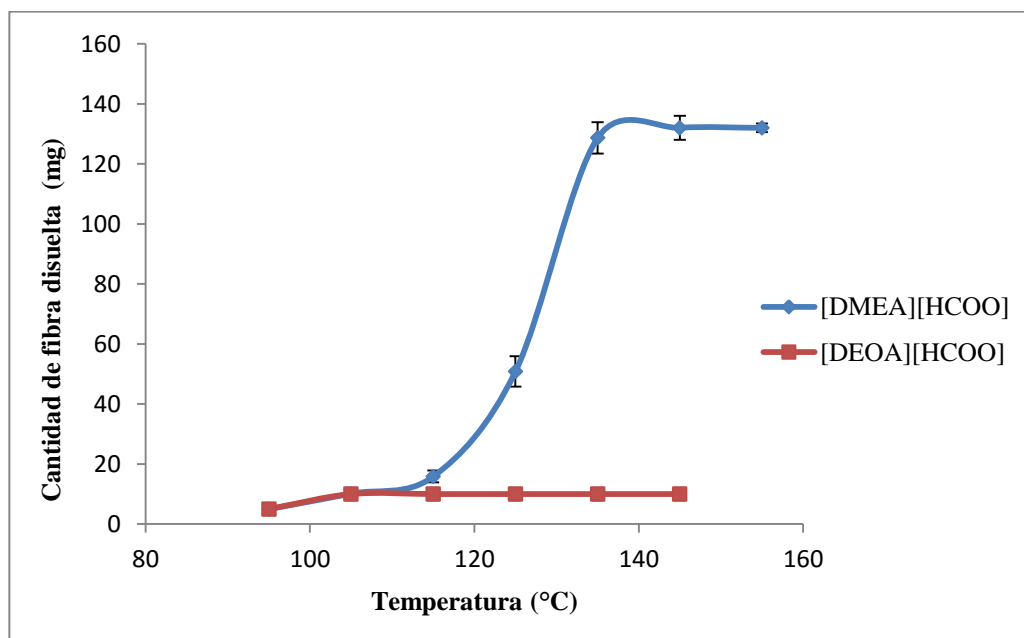


Figura 19: Cantidad de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) disuelta en función de la temperatura, 270 minutos con agitación constante de 200 rpm

El comportamiento de la disolución, en el caso de [DMEA] [HCOO], en el rango de 95 – 105°C, no observamos un incremento de la disolución, a la temperatura de 115°C, observamos un ligero incremento, siendo realmente sustancial la variación desde 125°C hacia adelante, llegando a la región de máxima disolución a 145°C, por encima de dicha temperatura la disolución no varía, como se puede apreciar en la Figura 19, líneas azules.

La coloración de la disolución es apreciable en una directa relación, ya que a menores disoluciones la coloración fue amarillo pálido, y se fue oscureciendo a medida que incrementaba la disolución, esto también fue reportado cuando se disolvió queratina de plumas³².

Con el líquido iónico prótico de mejor respuesta de disolución, la temperatura óptima se encuentra en el rango de 135 – 145°C. Además, si consideramos el gasto energético que supone el incremento en 10°C más al rango promedio, la aplicación más rentable sería la de menor temperatura (135 – 145°C).

5.2 Tiempo

En la Figura 20; podemos apreciar, para el caso del [DMEA] [HCOO] un incremento en la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) conforme transcurre el tiempo, línea azul. En el intervalo de 60 a 240 minutos, se observa un incremento exponencial de disolución de fibra, hasta llegar a un máximo de disolución (132mg) el cual, fue obtenido en 270 minutos; pasado este tiempo, la cantidad de fibra disuelta permaneció constante; por lo que, los ensayos concluyeron en 330 minutos.

Para el caso del [DEOA] [HCOO], ver línea roja Figura 20, el incremento del tiempo no tuvo un mayor efecto en la cantidad de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) disuelta; tal es así, que al cabo de 330 minutos y con solo 10mg de fibra disuelta, se dieron por concluidas las pruebas para este líquido iónico prótico.

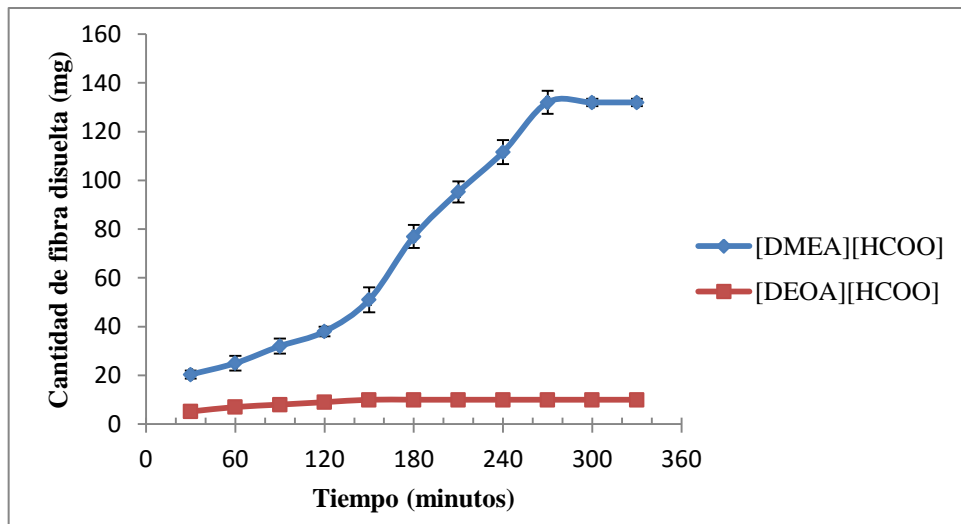


Figura 20: Cantidad de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) disuelta en función de la tiempo, 145°C, agitación constante de 200 rpm

Por lo tanto, el tiempo óptimo de disolución para el líquido iónico prótico de mejor respuesta ([DMEA] [HCOO]), es 270 minutos; con lo que se ha logrado disolver 132mg de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca).

Los parámetros óptimos de disolución reportados en la literatura son muy diversos; así tenemos, cuando se hace uso de una mezcla de líquidos iónicos apróticos como el cloruro de imidazol, sulfito de sodio y agua se puede extraer rápidamente la queratina de las plumas de aves, el método es de alta eficiencia no sólo para el tratamiento de las plumas de desecho, sino también para la recuperación de queratina de alto valor con un tiempo de extracción de 60 minutos a 90°C³². En cambio, si la mezcla se realiza con sulfito ácido de sodio la disolución máxima se obtuvo a 80°C durante 4 horas²². Mientras que otros estudios demuestran que la temperatura de disolución tiene un impacto significativo en las características fisicoquímicas de los materiales a base de queratina regenerada. Cuando la temperatura se incrementa de 120 a 180 °C, el contenido de cistina en la queratina se reduce drásticamente resultando ventajoso con respecto al tratamiento térmico de la queratina como se demuestra en el moldeo por compresión²¹.

Si consideramos la cinética de los procesos de disolución, como se aprecia en la Figura 19, la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) para el [DMEA] [HCOO] tiene una cinética de primer orden y en el caso del [DEOA] [HCOO] el comportamiento de los datos nos indica que tienen una cinética de

orden cero; por lo tanto, la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) se rige por las siguientes ecuaciones, según sea el caso:

- Orden 0, con respecto al [DEOA][HCOO]

$$[A] = [A]_0 - kt$$

- Orden 1, con respecto al [DMEA] [HCOO]

$$[A] = [A]_0 e^{kt}$$

De acuerdo a las observaciones anteriores, los parámetros óptimos de disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) fueron: 145°C, durante 4.5 horas y manteniendo agitación constante a 200rpm. Con estos parámetros se ha logrado disolver 132mg de fibra en 5mL de [DMEA] [HCOO]. Este valor es similar a lo reportado para la disolución de plumas con líquidos iónicos próticos³¹. Sin embargo, este valor es más bajo que la solubilidad en líquidos iónicos apróticos en los cuales se disolvió plumas en presencia de NaHSO₃²².

6. Separación y recuperación de la mezcla queratina – líquidos iónicos próticos

En la Figura 21, podemos observar el proceso seguido para obtener queratina recuperada (lavado, centrifugado y secado), en la imagen de la derecha se observa la queratina recuperada y seca, luego de ser separada del [DMEA] [HCOO]. Este proceso se realizó para todas las temperaturas de trabajo con el fin de calcular el porcentaje de recuperación en cada caso.

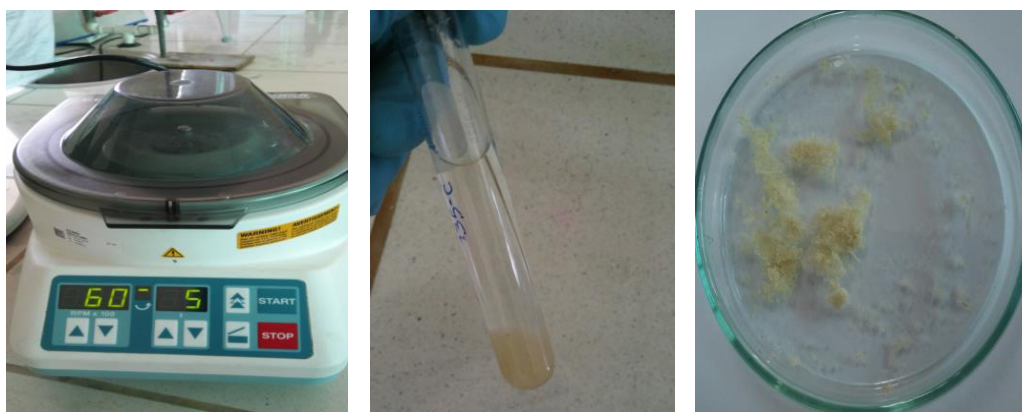


Figura 21: Proceso de obtención de queratina recuperada, luego del lavado con metanol, centrifugado y secado

La mezcla del líquido iónico prótico y metanol, fue colectada en un vaso de precipitado, para estudiar su posible reutilización. El uso de metanol en el proceso de recuperación, es fundamentalmente para disminuir la polaridad del medio y de esta forma lograr que la proteína precipite.

6.1 Porcentaje de recuperación de queratina de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

Para determinar el porcentaje de recuperación de queratina regenerada se utilizó el método gravimétrico, mediante la cual se logró determinar que a 145°C se obtiene el mayor porcentaje de recuperación, tal como se muestra en la Figura 22, podemos observar un mayor incremento en el rango de 125°C a 135°C. Así mismo, cabe mencionar que en el intervalo de 135°C a 155°C el porcentaje de recuperación es muy similar.

Ya que el objetivo principal de esta investigación es determinar las condiciones óptimas para la disolución de queratina de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), el mayor rendimiento que es 47.19% se logró a la temperatura de 145 °C.

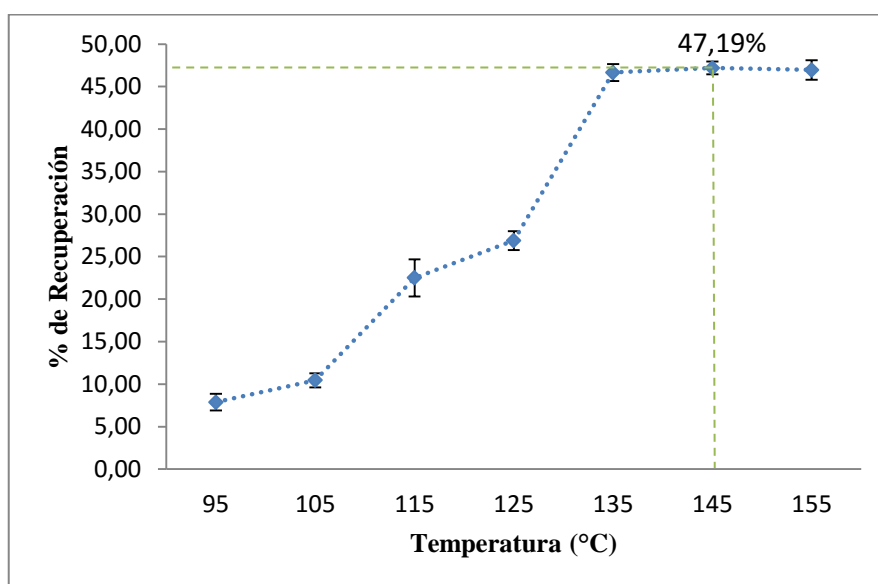


Figura 22: Efecto de la temperatura en el porcentaje de recuperación de queratina a partir de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca)

Si bien, el porcentaje de recuperación obtenido (47.19%) es menor que el reportado por otros investigadores, que utilizan líquidos iónicos

apróticos como el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio para la disolución de lana oveja (57%)²¹ o como los que utilizan mezclas de: líquidos iónicos apróticos y Na₂SO₃ para la disolución de plumas de pavo (75.10%)³², líquidos iónicos apróticos y NaHSO₃ para la disolución de plumas de pollo (21%)²². La variación, se debe fundamentalmente a que la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) se diferencia de estas matrices, por tener un mayor contenido de azufre, 4.19%^{93,94}.

6.2 Destilación y reutilización del líquido iónico prótico

Una propiedad realmente útil de muchos líquidos iónicos próticos es que son fácilmente destilables, siempre y cuando la temperatura de descomposición sea mayor que la de ebullición. Cuando la temperatura de descomposición es menor que la de ebullición, el mecanismo procede a través de una simple transferencia de protones que retorna del catión al anión para reformar el ácido y la base original⁴⁵.

Los líquidos iónicos próticos que son adecuados para la destilación comprometen su ionicidad, sabemos que una fuerte transferencia protónica es esencial para la buena ionicidad⁴⁵; mientras que, por el contrario, la destilación requiere un anión débilmente básico; de lo contrario, el líquidos iónico prótico se someterá a la descomposición antes de hervir.

La mezcla de [DMEA] [HCOO] fue destilada a 70°C para remover todo el metanol presente, tal como se muestra en la Figura 23. En la literatura recomiendan una doble destilación fraccionada, sin embargo, en nuestra investigación no se pudo obtener una recuperación efectiva.



Figura 23: Destilación de la mezcla líquidos iónicos próticos-metanol, 70 °C

Luego del proceso de destilación descrito líneas arriba, se realizaron pruebas que indiquen la posible reutilización de los líquidos iónicos próticos, siguiendo el mismo esquema presentando en la Figura 9. Este proceso se realizó a las condiciones óptimas que fueron determinadas anteriormente (145°C a 200 rpm); sin embargo, no se obtuvieron los resultados esperados y se decidió dar por finalizado los ensayos luego de aproximadamente 3 horas de mantener el sistema de disolución.

7. Cuantificación de proteínas totales a partir de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca)

Debido a no contar con una técnica específica para queratina, se optó por cuantificar las proteínas totales; se tomó esta determinación ya que fundamentalmente la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), está constituida por la proteína queratina.

En primer lugar, se realizó un espectro de absorción a cada una de las muestras de disolución, en todas las temperaturas de trabajo, obteniendo la longitud de onda de máxima absorbancia a 280nm, como se muestra en la Figura 24, que corresponde a proteínas totales y una absorbancia máxima de 1.368.

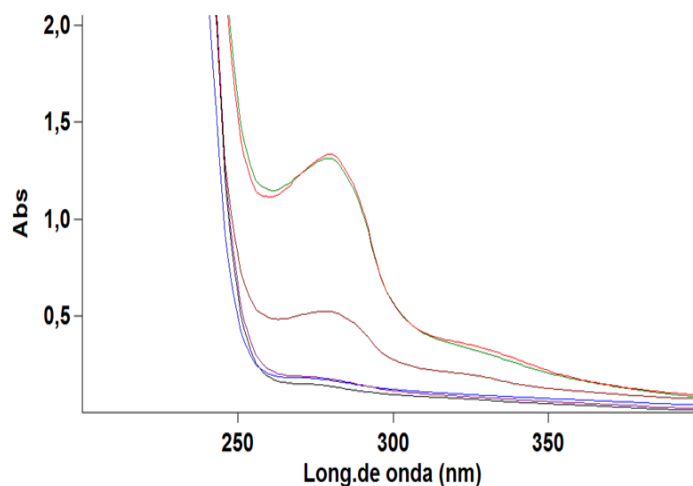


Figura 24: Espectros de absorción de la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) en [DMEA][HCOO] en un intervalo de temperaturas de 95 a 145°C

En la Figura 24, del espectro se observa un aumento en la absorbancia conforme al incremento en la temperatura en el proceso de disolución. De acuerdo a todos los

ensayos de disolución realizados, la coloración de la mezcla se intensifica con la adición de mayor cantidad de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) disuelta en el líquido iónico prótico. Por tanto, era de esperar que los sistemas tratados a mayores temperaturas, presentaran mayor absorbancia.

Además, se decidió utilizar dos métodos colorimétricos para la cuantificación de proteínas totales debido a su bajo costo y sencillez; para lo cual, se preparó una curva de calibración con albúmina de suero bovino (BSA) y se determinó la concentración de proteína total.

7.1 Método de Biuret

En la Figura 25, podemos apreciar de derecha (blanco, el primer tubo) a izquierda (1000 ppm, el sexto tubo) el cambio de coloración de celeste a morado, debido a la formación de un complejo coloreado entre el Cu^{2+} y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. El séptimo tubo, es nuestra muestra problema, que se realizó para poder verificar la respuesta positiva al reactivo de Biuret.

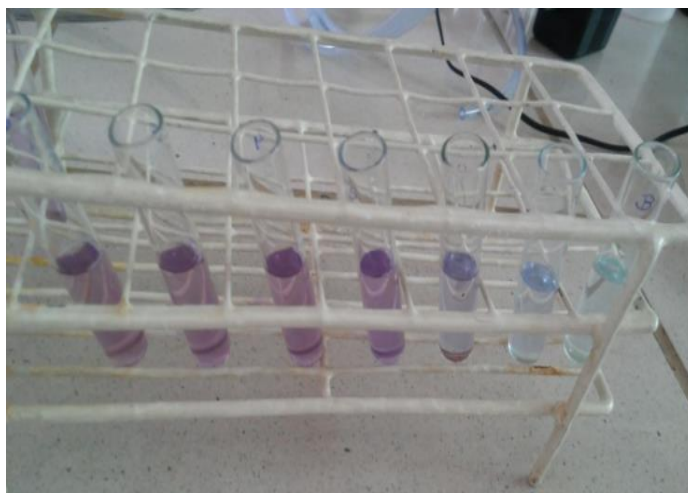


Figura 25: Variación de coloración, método de Biuret

En la Figura 26, se observa el coeficiente de regresión lineal (r^2), el cual tiene un valor de 0.9994; este valor está muy cercano a la unidad por lo que podemos afirmar que existe una buena correlación entre la concentración de proteína y la respuesta del equipo

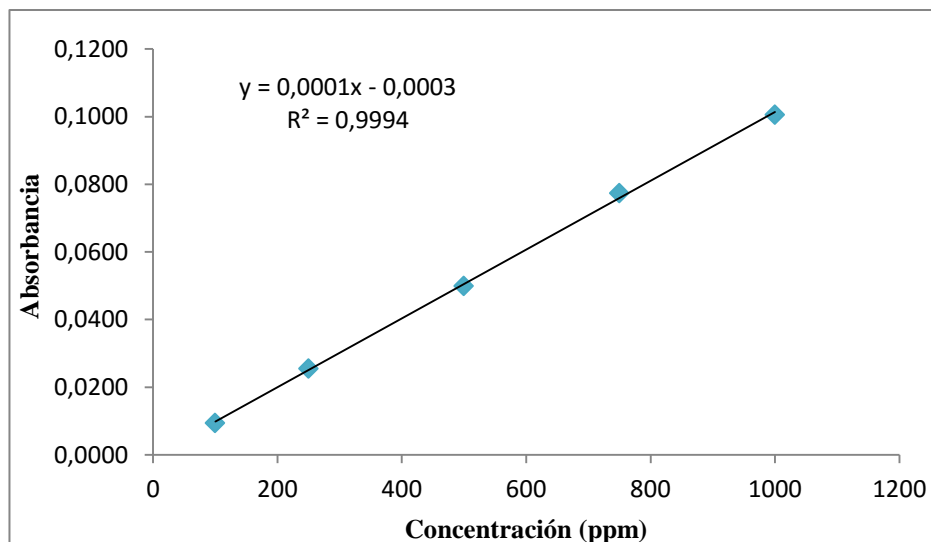


Figura 26: Curva de calibración método de Biuret

- **Lectura de muestras**

Para la lectura de las muestras se tomaron 400 μ L para cada temperatura de trabajo, a estas se adicionaron 1mL del reactivo de Biuret y se enrazó a 3mL. Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados se muestran en la Figura 27. Se aprecia claramente que, la concentración de proteínas totales se incrementa conforme aumenta la temperatura llegando a un máximo de 7725ppm el cual corresponde a 145°C, que es la temperatura óptima de disolución determinada en el punto 5.

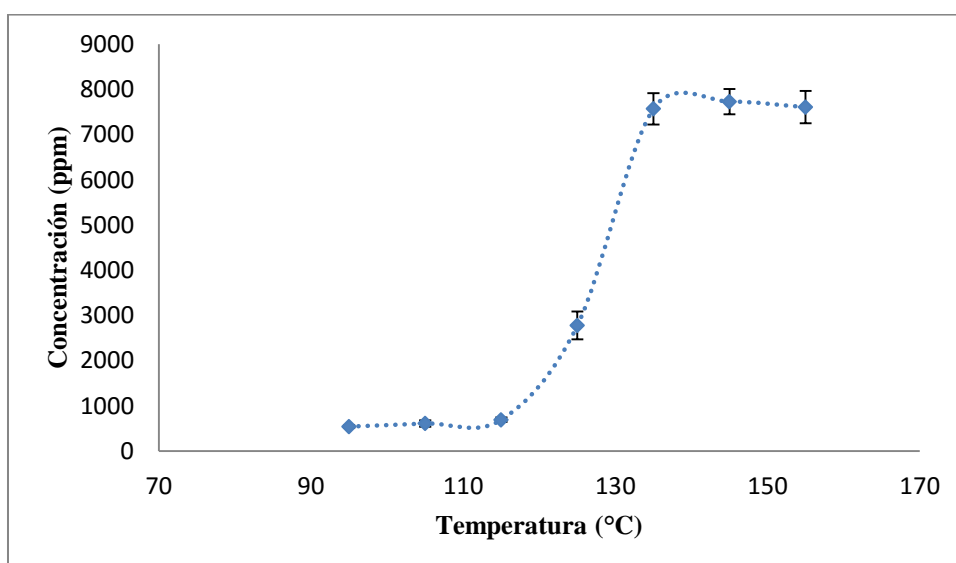


Figura 27: Concentración de proteína total en función a la temperatura, método de Biuret

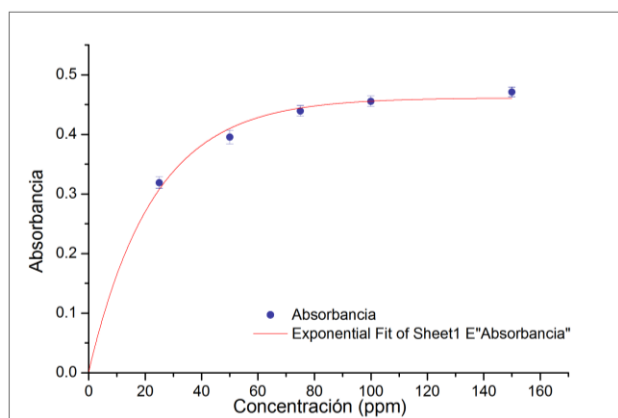
7.2 Método de Bradford

Se adicionó 1mL del reactivo de Bradford recientemente preparado a cada punto de la curva, se observó un cambio de coloración inmediato, posteriormente se realizó la lectura de absorbancia a 595nm. En la Figura 28, se muestra el cambio de coloración de marrón tenue a celeste intenso que se debe a la formación del complejo proteína colorante, podemos apreciar ello en las fiolas del lado izquierdo de la imagen presentada a continuación.



Figura 28: Variación en la coloración método de Bradford

Luego de haber realizado la lectura por triplicado de los patrones de calibración observamos que este método no tiene tendencia lineal. Por lo que, se realizó el cálculo del modelo matemático que mejor se ajuste a la respuesta del equipo haciendo uso del software OriginPro 9.0, tal como se muestra en la parte superior de la Figura 29.



Model	Exponential		
Equation	$y = y_0 + A \cdot \exp(R_0 \cdot x)$		
Reduced Chi-Sqr	1.55944E-4		
Adj. R-Square	0.9951		
		Value	Standard Error
Absorbancia	y0	0.46125	0.00847
	A	-0.45933	0.01458
	R0	-0.04381	0.0037

Figura 29: Arriba curva de calibración método de Bradford, abajo modelo matemático con el mejor ajuste

El modelo matemático que mejor se ajustó a la respuesta del equipo con un r^2 de 0.9951, es el modelo exponencial cuya ecuación y variables se muestran en la parte inferior de la Figura 29.

- **Lectura de muestras**

Para la lectura de las muestras se tomaron 20 μ L para cada una de las temperaturas de trabajo de la disolución de la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), se añadió 1mL del reactivo de Bradford recientemente preparado y se llevó a 2mL. Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados se muestran en la Figura 30.

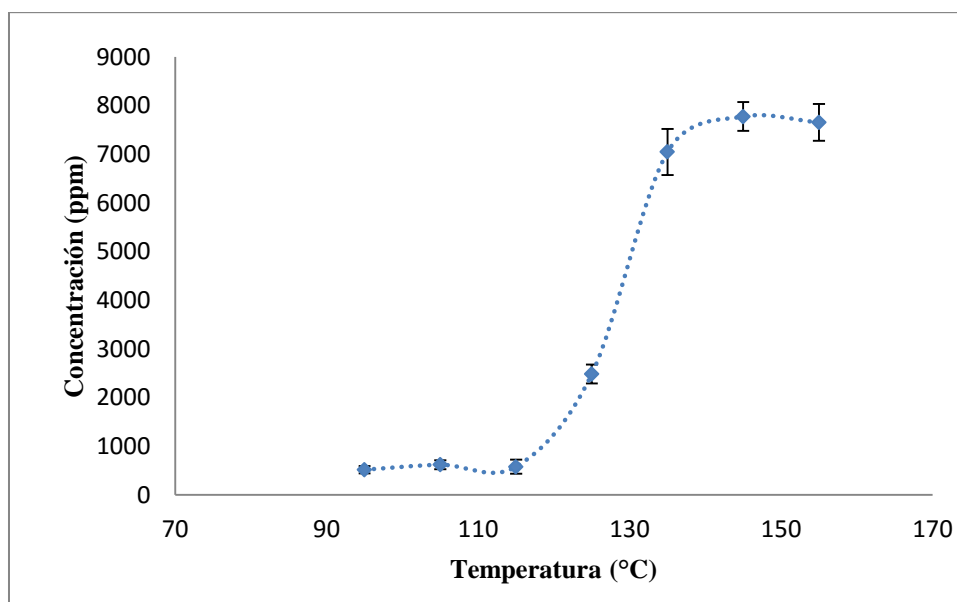


Figura.30: Concentración de proteína total en función a la temperatura, método de Bradford

La concentración de proteínas totales se incrementa conforme aumenta la temperatura llegando a un máximo de 7772ppm el cual corresponde a 145°C, que es la temperatura óptima de disolución.

Así mismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe diferencia significativa entre ambos métodos de cuantificación de proteínas. Esto se muestra en la Tabla 7, de los números reportados desde el análisis ANOVA, encontramos que no existe diferencia significante, a un nivel de 0.05 para ambos métodos.

Tabla.7

Análisis de varianza método de Biuret y método de Bradford

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7249.7173	1	0.0005	0.9822	4.7472
Dentro de los grupos	167540885.1780	12			
Total	167548134.8953	13			

En la literatura encontramos que las fibras naturales de origen animal tienen la siguiente composición: 20 -30 % de proteínas⁴¹, rango que varía de acuerdo a la especie⁹⁵, en su mayor parte queratina, 2% de lípidos y 70% de agua y sales minerales. En nuestra investigación, hemos determinado que el contenido de proteína totales en la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca), se encuentra alrededor de 29.26% y 29.44% (método de Biuret y Bradford respectivamente), lo que se hallan en concordancia con lo reportado en la literatura.

De todo lo anterior, podemos afirmar que el líquido iónico prótico [DMEA][HCOO], presenta características fisicoquímicas ideales para la disolución de fibras de *Vicugna pacos* (alpaca), quien se diferencia de las demás queratinas por la presencia de puentes disulfuro adicionales.

CONCLUSIONES

Como conclusiones de la presente tesis, podemos considerar entre las más relevantes:

- La temperatura óptima para la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) en [DMEA] [HCOO] es de 145°C, que se halla por debajo de la temperatura de descomposición del líquido iónico prótico.
- El tiempo máximo de disolución para la fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) usando el [DMEA] [HCOO] fue de 4 horas y 30min (270min).
- La máxima cantidad de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca) a ser disuelta fue de 26.4 gramos por litro de líquido iónico prótico.
- La proteína total cuantificada fue: 7725ppm (método de Biuret) y 7772ppm (método de Bradford).

RECOMENDACIONES

Las recomendaciones que nos surgen a partir del presente estudio, son las siguientes:

- Se debe realizar un estudio económico para evaluar la viabilidad de la disolución de fibra de *Vicugna pacos* (alpaca).
- Los estudios de ingeniería deben extenderse a la determinación de la temperatura vítrea del polímero para potenciales procesos de extrusión.
- Se sugiere el estudio de la capacidad de disolución de los líquidos iónicos próticos con otras matrices; por ejemplo, fibra de *Lama glama* (llama) u *Ovis aries* (oveja).

BIBLIOGRAFÍA

1. Hayes, R.; Warr, G. G.; Atkin, R. Structure and Nanostructure in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2015**, *115*, 6357-6426.
2. Binnemans, K. Ionic Liquid Crystals. *Chemical Reviews* **2005**, *105*, 4148-4204.
3. Binnemans, K. Lanthanides and Actinides in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2592-2614.
4. Dupont, J.; de Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z. Ionic Liquid (Molten Salt) Phase Organometallic Catalysis. *Chemical Reviews* **2002**, *102*, 3667-3692.
5. Lei, Z.; Dai, C.; Chen, B. Gas Solubility in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2014**, *114*, 1289-1326.
6. Oliveira, M. V. S.; Vidal, B. T.; Melo, C. M.; de Miranda, R. d. C. M.; Soares, C. M. F.; Coutinho, J. A. P.; Ventura, S. P. M.; Mattedi, S.; Lima, Á. S. (Eco)toxicity and biodegradability of protic ionic liquids. *Chemosphere* **2016**, *147*, 460-466.
7. Andersson, G.; Ridings, C. Ion Scattering Studies of Molecular Structure at Liquid Surfaces with Applications in Industrial and Biological Systems. *Chemical Reviews* **2014**, *114*, 8361-8387.
8. Baghbanian, S. M.; Farhang, M. Protic [TBD][TFA] ionic liquid as a reusable and highly efficient catalyst for N-formylation of amines using formic acid under solvent-free condition. *Journal of Molecular Liquids* **2013**, *183*, 45-49.
9. Harrap, B. S.; Heymann, E. Theories of Viscosity Applied to Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **1951**, *48*, 45-67.
10. Haumann, M.; Riisager, A. Hydroformylation in Room Temperature Ionic Liquids (RTILs): Catalyst and Process Developments. *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 1474-1497.
11. Moschovi, A. M.; Ntais, S.; Dracopoulos, V.; Nikolakis, V. Vibrational spectroscopic study of the protic ionic liquid 1-H-3-methylimidazolium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide. *Vibrational Spectroscopy* **2012**, *63*, 350-359.
12. Mumford, K. A.; Pas, S. J.; Linseisen, T.; Statham, T. M.; Johann Nicholas, N.; Lee, A.; Kezia, K.; Vijayraghavan, R.; MacFarlane, D. R.; Stevens, G. W. Evaluation of the protic ionic liquid, N,N-dimethyl-aminoethylammonium formate for CO₂ capture. *International Journal of Greenhouse Gas Control* **2015**, *32*, 129-134.
13. Pinkert, A.; Marsh, K. N.; Pang, S.; Staiger, M. P. Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose. *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 6712-6728.

14. Plaquet, J.-C.; Levillain, J.; Guillen, F.; Malhiac, C.; Gaumont, A.-C. Ionic Liquids: New Targets and Media for α -Amino Acid and Peptide Chemistry. *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 5035-5060.
15. Ranke, J.; Stolte, S.; Störmann, R.; Arning, J.; Jastorff, B. Design of Sustainable Chemical Products The Example of Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2183-2206.
16. Anouti, M.; Vigeant, A.; Jacquemin, J.; Brigouleix, C.; Lemordant, D. Volumetric properties, viscosity and refractive index of the protic ionic liquid, pyrrolidinium octanoate, in molecular solvents. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2010**, *42*, 834-845.
17. Sharma, G.; Gardas, R. L.; Coronas, A.; Venkatarathnam, G. Effect of anion chain length on physicochemical properties of N,N-dimethylethanolammonium based protic ionic liquids. *Fluid Phase Equilibria* **2016**, *415*, 1-7.
18. Devlin, T. M.: *Bioquímica libro de texto con aplicaciones químicas*, 2004. pp. 126.
19. Bulaj, G. Formation of disulfide bonds in proteins and peptides. *Biotechnol. Adv.* **2005**, *23*, 87.
20. Cardamone, J. M. Investigating the microstructure of keratin extracted from wool: Peptide sequence (MALDI-TOF/TOF) and protein conformation (FTIR). *J. Mol. Struct.* **2010**, *969*, 97.
21. Ghosh, A.; Clerens, S.; Deb-Choudhury, S.; Dyer, J. M. Thermal effects of ionic liquid dissolution on the structures and properties of regenerated wool keratin. *Polymer Degradation and Stability* **2014**, *108*, 108-115.
22. Wang, Y.-X.; Cao, X.-J. Extracting keratin from chicken feathers by using a hydrophobic ionic liquid. *Process Biochemistry* **2012**, *47*, 896-899.
23. Aguirre, F; Matta, W; Montero, J. Producción comercial de fibra fina de alpaca mediante tecnologías de reproducción asistida y crianza semi-intensiva. Programa de Maestría en administración de empresas. *Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas*.**2011**.
24. Instituto Peruano de la alpaca y camélidos IPAC. PNTP 231.301 - Fibra de alpaca clasificada.
25. Producción textil de fibras de camélidos sudamericanos en el área altoandina de Bolivia, Ecuador y Perú. Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial Subdivisión de Promoción de Inversión y Tecnología. **2006**.

26. Quispe, E; Poma, A; Purroy, A. Características productivas y textiles de la fibra de alpacas de raza huacaya. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* **2013**,7, 1-29.
27. Wang, X; Wang, L; Liu, X. The Quality and Processing Performance of Alpaca Fibres: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC. 03/128 **2003**, 132.
28. Carpio, M. La fibra de camélidos. En: Novoa y Flores. Producción de rumiantes menores: Alpacas. Lima: RERUMEN **1991**, 297-359.
29. Zárate, A. Asistencia técnica dirigida en caracterización y clasificación de fibra de alpaca. Extensión y Proyección social UNALM **2012**.
30. Fedorov, M.V; Kornyshev, A.A. Ionic Liquids at Electrified Interfaces. *Chemical Reviews* **2014**, 5, 2978-3036.
31. Idris, A.; Vijayaraghavan, R.; Patti, A. F.; MacFarlane, D. R. Distillable Protic Ionic Liquids for Keratin Dissolution and Recovery. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2014**, 2, 1888-1894.
32. Ji, Y.; Chen, J.; Lv, J.; Li, Z.; Xing, L.; Ding, S. Extraction of keratin with ionic liquids from poultry feather. *Separation and Purification Technology* **2014**, 132, 577-583.
33. Russel, A; Redden, H. The effect of nutrition on fibre growth in the alpaca. *Animal Science* 1997, 64, 509-512.
34. Quispe, E; Alfonso, L; Flores, A; Guillén, H; Ramos, Y. Bases to an improvement program of the alpacas in highland region at Huancavelica-Perú. *Archivos de. Zootecnia* **2009**, 58, 705-716.
35. Ruiz de Castilla, M. Genética y Mejoramiento de los Animales Domésticos. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco Perú **2004**, 286.
36. Bustinza, V. La alpaca, conocimiento del gran potencial andino. Puno. Universidad. Nacional del Altiplano **2001**, 343.
37. Braga, W; Leyva, V; Cochran, R. The effect of altitude on alpaca (*Lama pacos*) fiber production *Small Ruminants* **2007**, 68, 323–328.
38. McGregor, B; Butler, K. Sources of variation in fibre diameter attributes of Australian alpacas and implications for fleece evaluation and animal selection. *Journal of Agricultural. Research* **2004**, 55, 433-442.

39. Renieri, C; Pacheco, C; Valbonesi, A; Frank, E; Antonini, M. Programa de mejoramiento genético en camélidos domésticos. *Archivo. Latinoamericano.de Producción. Animal* **2007**, 15, 205-210.
40. Oria, I; Quicaño, I; Quispe, E; Alfonso, L. Variabilidad del color de la fibra de alpaca en la zona altoandina de Huancavelica-Perú. ITEA. *Animal Genetic Resources Information* **2009**, 45, 79-84.
41. Lira, E. M. P. Análisis científico de fibras arqueológicas. *Conserva* **2002**, 6.
42. Rosas, A. Estudio de las Principales Características de la Fibra de Alpaca Grasienda y de las Condiciones de su Proceso de Lavado. Universidad Nacional de Ingeniería.
43. Acuña, A. Química Orgánica. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José. Costa Rica **2006**, 313-315.
44. Hallett, J.P; Welton, T. Room-Temperature Ionic Liquids: Solvents for Synthesis and Catalysis. 2. *Chemical Reviews* **2011**, 111, 3508-76.
45. Greaves, T. L.; Drummond, C. J. Protic ionic liquids: properties and applications. *Chem Rev* **2008**, 108, 206-237.
46. Haumann, M; Riisager, A. Hydroformylation in Room Temperature Ionic Liquids (RTILs): Catalyst and Process Developments *Chemical Reviews* **2008**; 108, 1474-97.
47. Hapiot, P; Lagrost, C. Electrochemical Reactivity in Room-Temperature Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2008**; 108, 2238-64.
48. Martins, M.A; Frizzo, C.P; Moreira, D.N; Zanatta, N; Bonacorso, H.G. Ionic Liquids in Heterocyclic Synthesis. *Chemical Reviews* **2008**, 108, 2015-50.
49. Sun, X; Luo, H; Dai, S. Ionic Liquids-Based Extraction: A Promising Strategy for the Advanced Nuclear Fuel Cycle. *Chemical Reviews* **2012**, 112, 2100-28.
50. Zakrzewska, M.E; Bogel-Łukasik, E; Bogel-Łukasik, R. Ionic Liquid-Mediated Formation of 5-Hydroxymethylfurfural—A Promising Biomass-Derived Building Block *Chemical Reviews*. **2011**, 111, 397-417.
51. Zhang, Q; Shreeve, J.M. Energetic Ionic Liquids as Explosives and Propellant Fuels: A New Journey of Ionic Liquid Chemistry. *Chemical Reviews* **2014**, 114, 10527-74.
52. Welton, T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. *Chemical Reviews* **1999**, 99, 2071-84.

53. Chang, T-M; Dang, L.X. Recent Advances in Molecular Simulations of Ion Solvation at Liquid Interfaces *Chemical Reviews* **2006**, 106, 1305-22.
54. Martins, M.A; Frizzo, C.P; Tier, A.Z; Moreira, D.N; Zanatta, N; Bonaccorso, H.G. Update 1 of: Ionic Liquids in Heterocyclic Synthesis. *Chemical Reviews* **2014**, 114.
55. Pârvulescu, V.I; Hardacre, C. Catalysis in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2007**, 107, 2615-65.
56. Van Rantwijk, F; Sheldon, R.A. Biocatalysis in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2007**; 107, 2757-85.
57. Dupont, J; de Souza, R.F; Suarez, P.A. Ionic Liquid (Molten Salt) Phase Organometallic Catalysis. *Chemical Reviews* **2002**, 102, 3667-92.
58. Jutz, F; Andanson, J.M; Baiker, A. Ionic Liquids and Dense Carbon Dioxide: A Beneficial Biphasic System for Catalysis. *Chemical Reviews* **2011**, 111, 322-53.
59. Lei, Z; Chen, B; Li, C; Liu, H. Predictive Molecular Thermodynamic Models for Liquid Solvents, Solid Salts, Polymers, and Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2008**, 108, 1419-55.
60. Rashid, T.; Kait, C. F.; Regupathi, I.; Murugesan, T. Dissolution of kraft lignin using Protic Ionic Liquids and characterization. *Industrial Crops and Products* **2016**, 84, 284-293.
61. Santos, D.; Costa, F.; Franceschi, E.; Santos, A.; Dariva, C.; Mattedi, S. Synthesis and physico-chemical properties of two protic ionic liquids based on stearate anion. *Fluid Phase Equilibria* **2014**, 376, 132-140.
62. Adam, C.; Bravo, M. V.; Mancini, P. M. E. Molecular solvent effect on the acidity constant of protic ionic liquids. *Tetrahedron Letters* **2014**, 55, 148-150.
63. Hou, M.; Xu, Y.; Han, Y.; Chen, B.; Zhang, W.; Ye, Q.; Sun, J. Thermodynamic properties of aqueous solutions of two ammonium-based protic ionic liquids at 298.15K. *Journal of Molecular Liquids* **2013**, 178, 149-155.
64. Hoerning, A.; Ribeiro, F. R. G.; Cardozo Filho, L.; Lião, L. M.; Corazza, M. L.; Voll, F. A. P. Boiling point elevation of aqueous solutions of ionic liquids derived from diethanolamine base and carboxylic acids. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2016**, 98, 1-8.
65. Renda, C. M.; Patel, Y. K.; Henshaw, L. R.; Munson, K. T.; Fiebig, O. C.; Tran, A. T.; Shriver, J.; Cruz, J.; Yu, L.; Vaden, T. D. Thermodynamic and conductivity

- properties of acetic acid — EMIMOAc ionic liquid solutions. *Journal of Molecular Liquids* **2016**, *216*, 710-715.
66. Watanabe, M.; Nakayama, C.; Yasuda, H.; Harada, M.; Iida, M. Interactions of nickel(II) ions in protic ionic liquids comprising N-hexyl(or N-2-ethylhexyl)ethylenediamines. *Journal of Molecular Liquids* **2016**, *214*, 77-85.
 67. Watanabe, H.; Doi, H.; Saito, S.; Matsugami, M.; Fujii, K.; Kanzaki, R.; Kameda, Y.; Umebayashi, Y. Hydrogen bond in imidazolium based protic and aprotic ionic liquids. *Journal of Molecular Liquids*.
 68. Russina, O.; Caminiti, R.; Méndez-Morales, T.; Carrete, J.; Cabeza, O.; Gallego, L. J.; Varela, L. M.; Triolo, A. How does lithium nitrate dissolve in a protic ionic liquid? *Journal of Molecular Liquids* **2015**, *205*, 16-21.
 69. Singh, V.; Chhotaray, P. K.; Banipal, P. K.; Banipal, T. S.; Gardas, R. L. Volumetric properties of amino acids in aqueous solutions of ammonium based protic ionic liquids. *Fluid Phase Equilibria* **2015**, *385*, 258-274.
 70. Xiao, L.; Su, D.; Yue, C.; Wu, W. Protic ionic liquids: A highly efficient catalyst for synthesis of cyclic carbonate from carbon dioxide and epoxides. *Journal of CO2 Utilization* **2014**, *6*, 1-6.
 71. Talavera-Prieto, N. M. C.; Ferreira, A. G. M.; Simões, P. N.; Carvalho, P. J.; Mattedi, S.; Coutinho, J. A. P. Thermophysical characterization of N-methyl-2-hydroxyethylammonium carboxylate ionic liquids. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2014**, *68*, 221-234.
 72. Losetty, V.; Chennuri, B. K.; Gardas, R. L. Synthesis, spectroscopic characterization and acoustic, volumetric, transport and thermal properties of hydroxyl ammonium based ionic liquids. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2016**, *92*, 175-181.
 73. Yoshizawa, M. X., W.; Angell, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15411.
 74. MacFarlane, D. R. P., J. M.; Johansson, K. M.; Forsyth, S. A.; Forsyth, M. *Chem. Commun.* **2006**, 1905.
 75. Nuthakki, B. G., T. L.; Krodkiewska, I.; Weerawardena, A.; Burgar, M. I. M., R. J.; Drummond, C. *J. Aust. J. Chem* **2007**, *60*, 21.
 76. Noda, A. S., M. A. B. H.; Kudo, K.; Mitsushima, S.; Hayamizu, K.; Watanabe, M. *J. Phys. Chem B* **2003**, *107*, 4024.
 77. Xu, W. C., E. I.; Angell, C. A. *J. Phys. Chem B* **2003**, *107*, 6170.

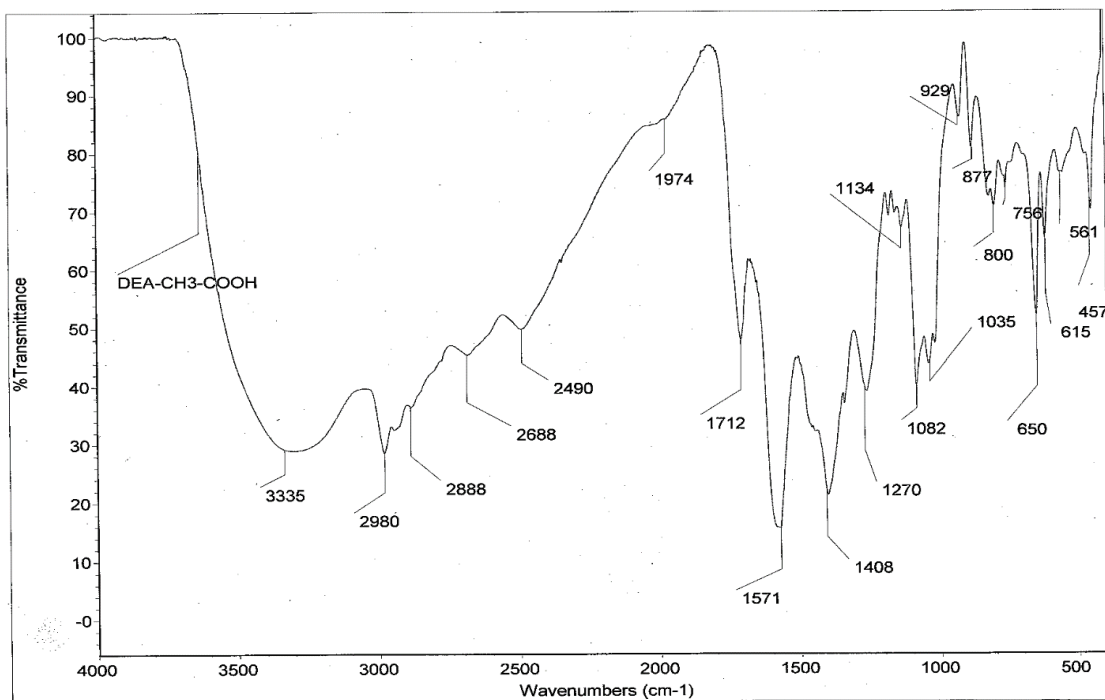
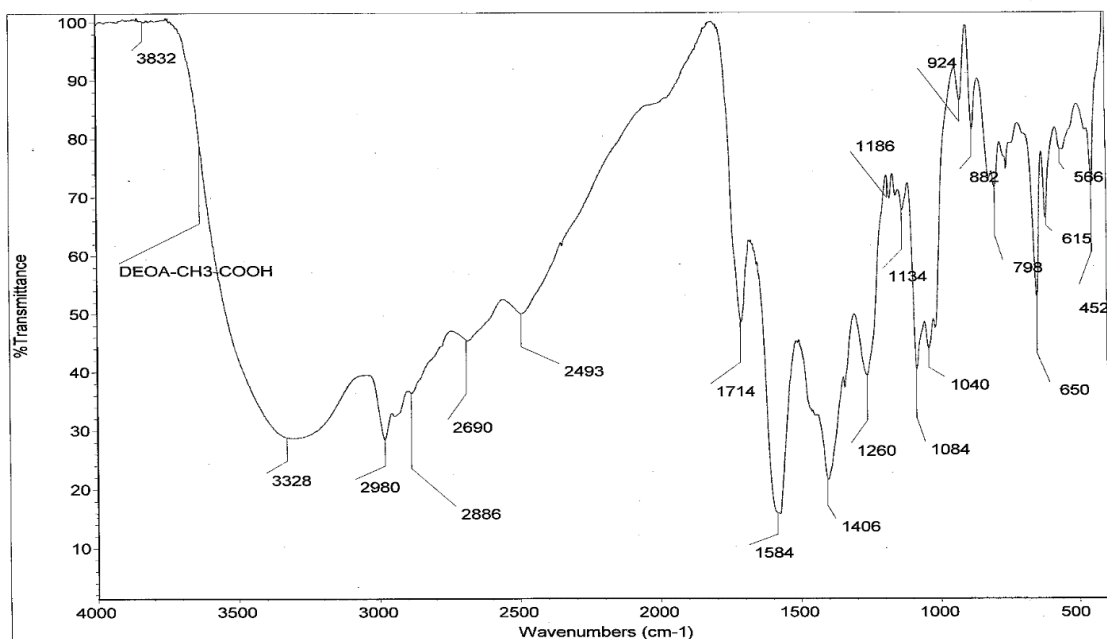
78. Chhotaray, P. K.; Gardas, R. L. Thermophysical properties of ammonium and hydroxylammonium protic ionic liquids. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2014**, *72*, 117-124.
79. Zhou, Z. B. M., H.; Tatsumi, K. *Chem.-Eur. J.* **2005**, *11*, 752.
80. Allen, M. E., D. F.; Lumry, R. *J. Solution Chem.* **1985**, *14*, 549.
81. Govinda, V.; Madhusudhana Reddy, P.; Bahadur, I.; Attri, P.; Venkatesu, P.; Venkateswarlu, P. Effect of anion variation on the thermophysical properties of triethylammonium based protic ionic liquids with polar solvent. *Thermochimica Acta* **2013**, *556*, 75-88.
82. Hirao, M. S., H.; Ohno, H. *J. Electrochem. Soc* **2000**, *147*, 4168.
83. Bonhote, P. D., A. P.; Papageorgiou, N.; Kalyanasundaram, K.; Gratzel, M. *Inorg. Chem* **1996**, *35*, 1168.
84. Bagnò, A. B., C.; Chiappe, C.; D'Amico, F.; Lord, J. C. D.; Pieraccini, D. R., F. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1624.
85. Zhou, Z. B. M., H.; Tatsumi, K. *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 1636.
86. Álvarez, V. H.; Mattedi, S.; Martín-Pastor, M.; Aznar, M.; Iglesias, M. Synthesis and thermophysical properties of two new protic long-chain ionic liquids with the oleate anion. *Fluid Phase Equilibria* **2010**, *299*, 42-50.
87. Kulhavy, J.; Andrade, R.; Barros, S.; Serra, J.; Iglesias, M. Influence of temperature on thermodynamics of protic ionic liquid 2-hydroxy diethylammonium lactate (2-HDEAL) + short hydroxylic solvents. *Journal of Molecular Liquids* **2016**, *213*, 92-106.
88. Oliveira, L. M. C.; Ribeiro, F. R. G.; Alcantara, M. L.; Pisoni, G. O.; Cabral, V. F.; Cardozo-Filho, L.; Mattedi, S. High pressure vapor-liquid equilibria for binary methane and protic ionic liquid based on propionate anions. *Fluid Phase Equilibria*.
89. Lang, X.-D.; Yu, Y.-C.; Li, Z.-M.; He, L.-N. Protic ionic liquids-promoted efficient synthesis of quinazolines from 2-aminobenzonitriles and CO₂ at ambient conditions. *Journal of CO₂ Utilization*.
90. Welton, T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 2071-2084.
91. van Rantwijk, F.; Sheldon, R. A. Biocatalysis in Ionic Liquids. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2757-2785.

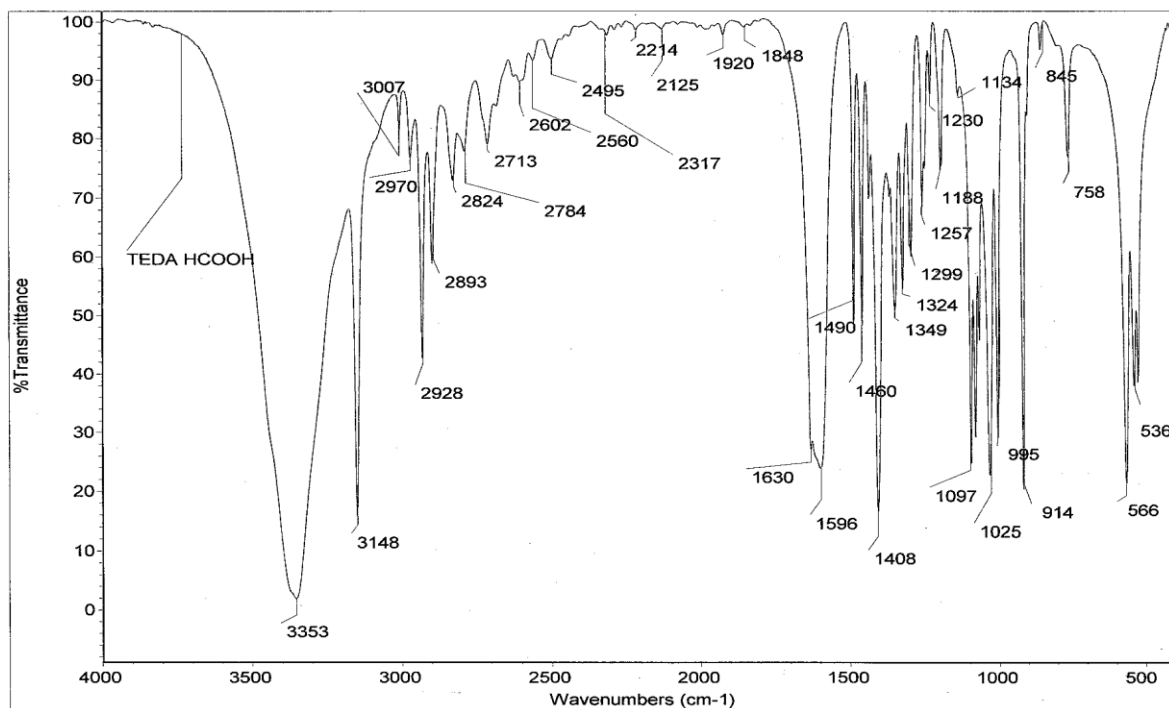
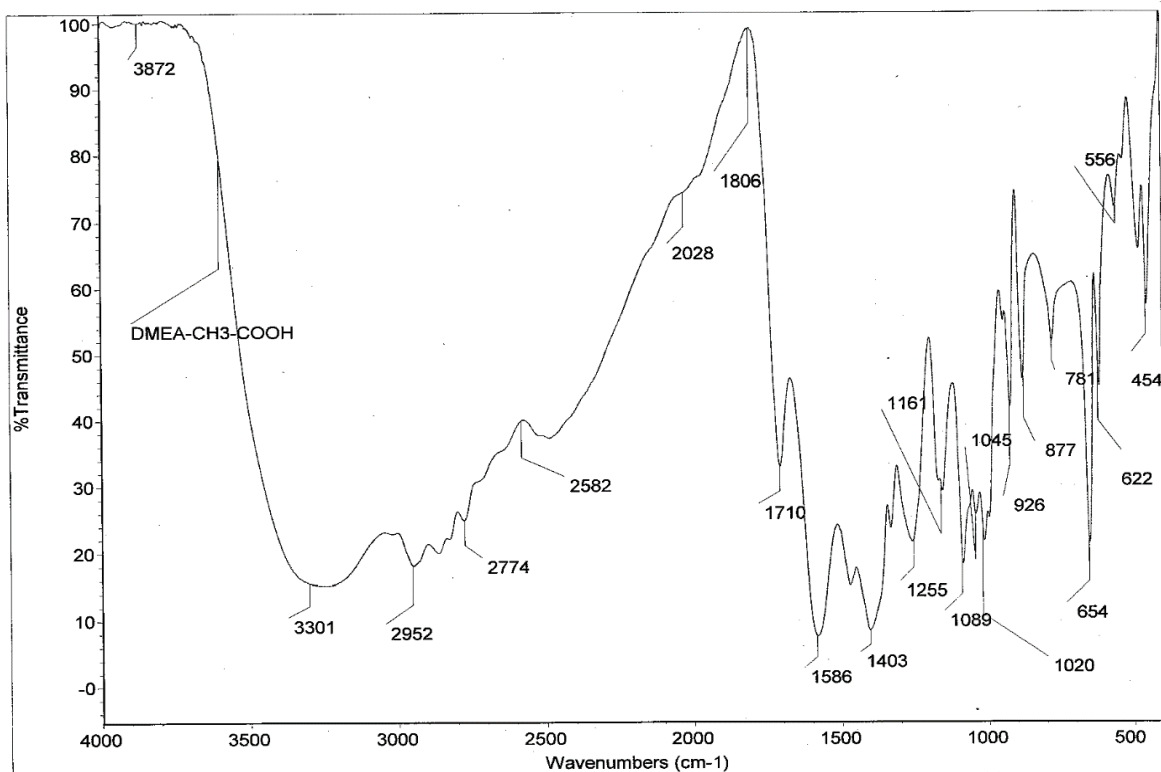
92. Peric, B.; Sierra, J.; Martí, E.; Cruañas, R.; Garau, M. A. A comparative study of the terrestrial ecotoxicity of selected protic and aprotic ionic liquids. *Chemosphere* **2014**, *108*, 418-425.
93. Peric, B.; Sierra, J.; Martí, E.; Cruañas, R.; Garau, M. A.; Arning, J.; Bottin-Weber, U.; Stolte, S. (Eco)toxicity and biodegradability of selected protic and aprotic ionic liquids. *Journal of Hazardous Materials* **2013**, *261*, 99-105.
94. Eysaguirre, M. P. Análisis científico de fibras arqueológicas. *Conserva* **2012**, *6*.
95. Fortunati, E.; Aluigi, A.; Armentano, I.; Morena, F.; Emiliani, C.; Martino, S.; Santulli, C.; Torre, L.; Kenny, J. M.; Puglia, D. Keratins extracted from Merino wool and Brown Alpaca fibres: Thermal, mechanical and biological properties of PLLA based biocomposites. *Materials Science and Engineering: C* **2015**, *47*, 394-406.
96. Morante, R.; , F. G.; , A. B.; , I. C.; , M. A. P.-C. a. J. P. G. Genetic improvement for alpaca fibre production in the Peruvian Altiplano: the Pacamarca experience. *Animal Genetic Resources Information* **2003**, *45*, 37-43.

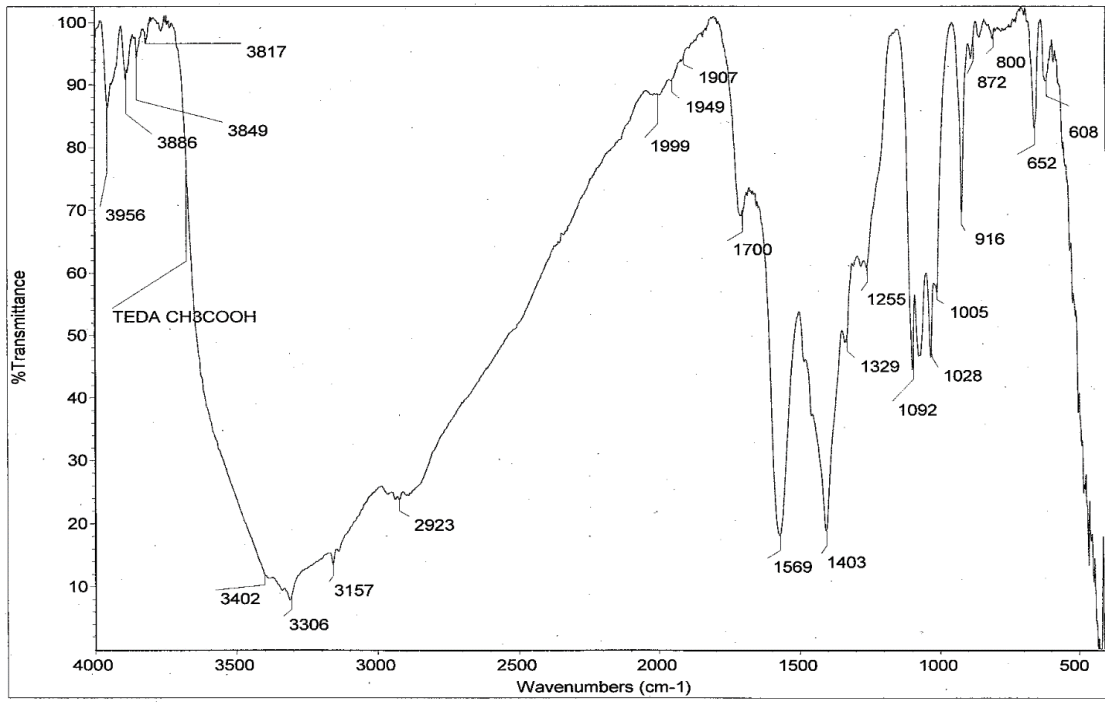
ANEXOS

ANEXO 1

ESPECTROS IR PARA LOS LIQUÍDOS IONICOS PROTICOS SINTETIZADOS QUE NO PRESENTARON CAPACIDAD DE DISOLVER FIBRAS DE *Vicugna pacos* (ALPACA)

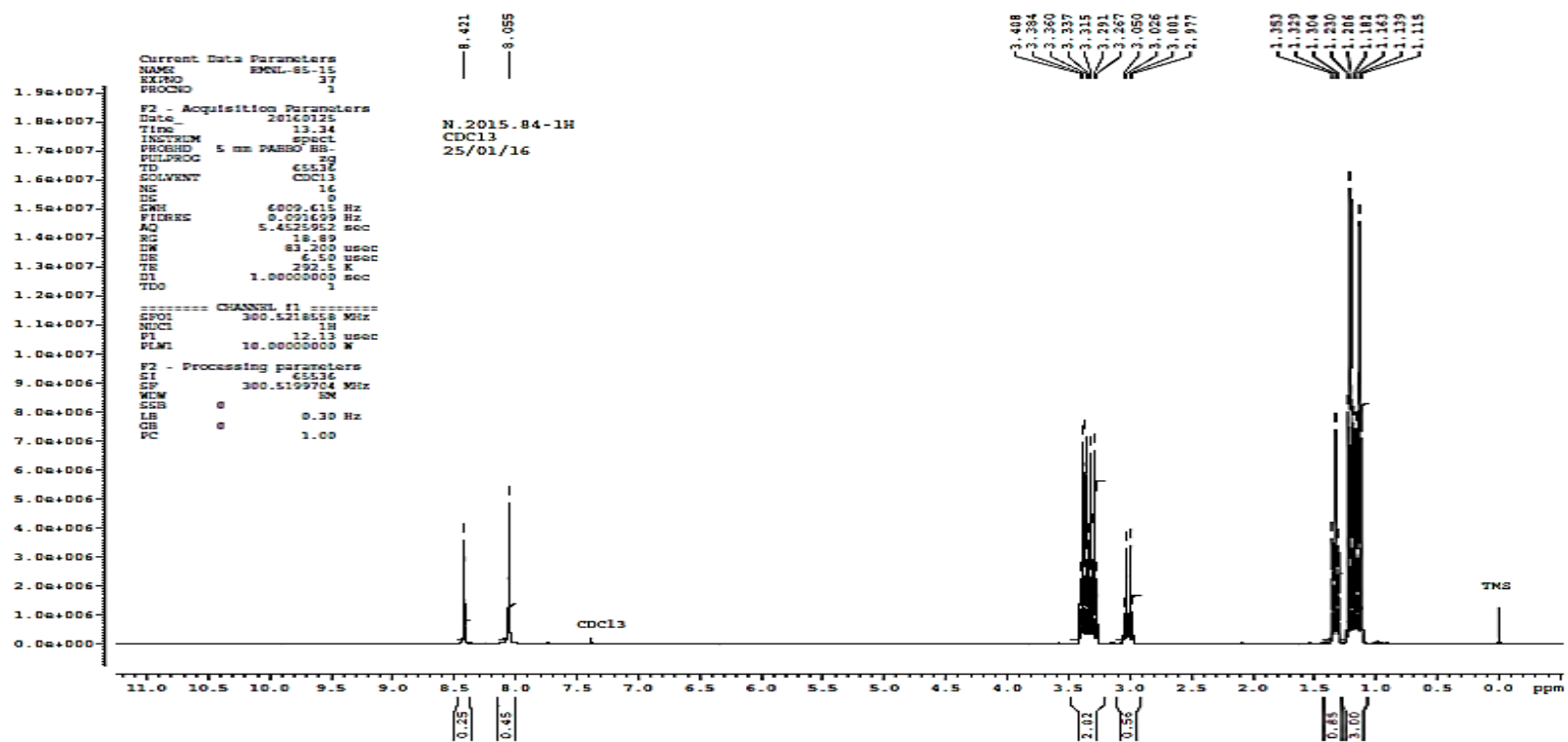




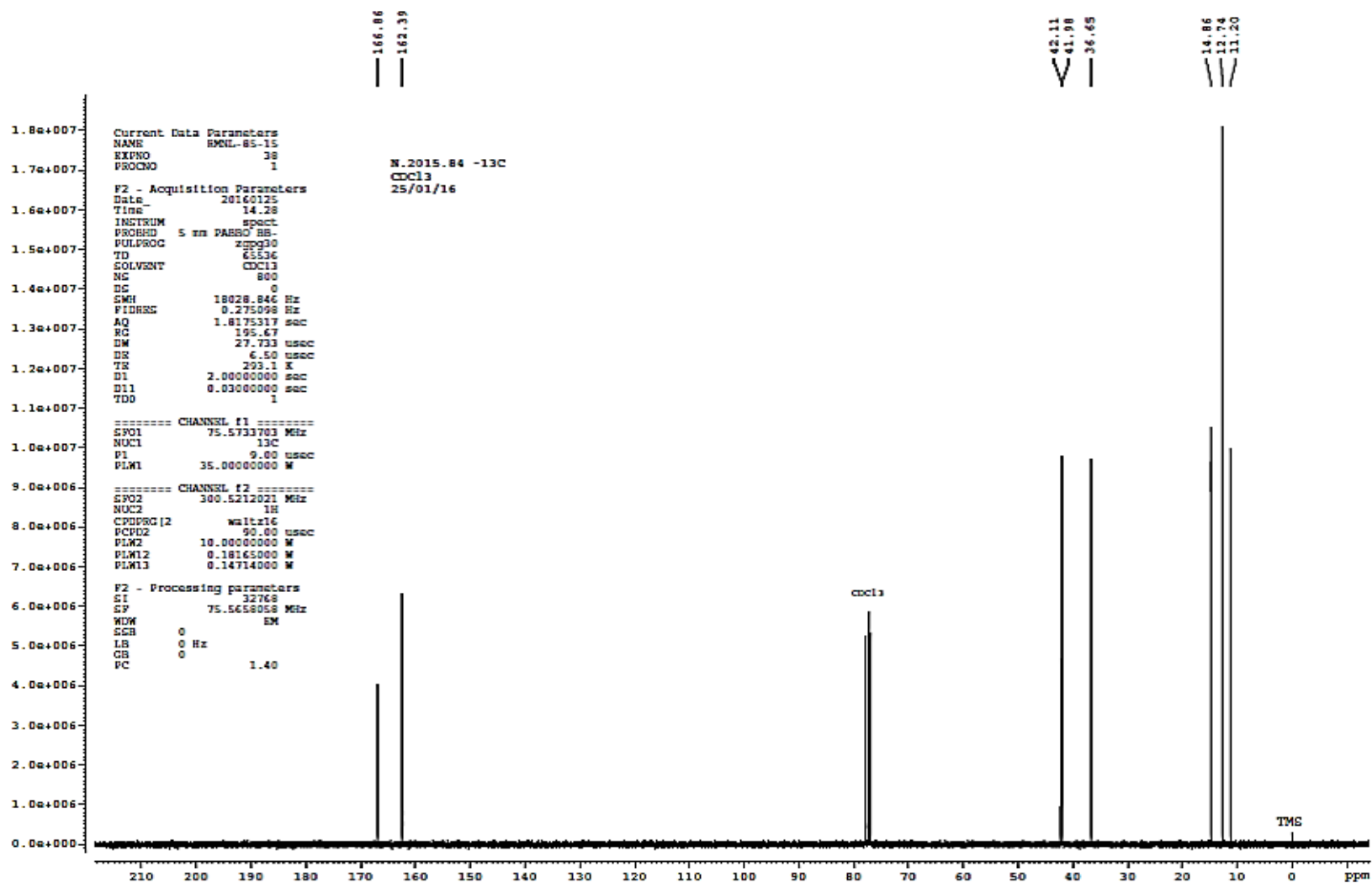


ANEXO 2

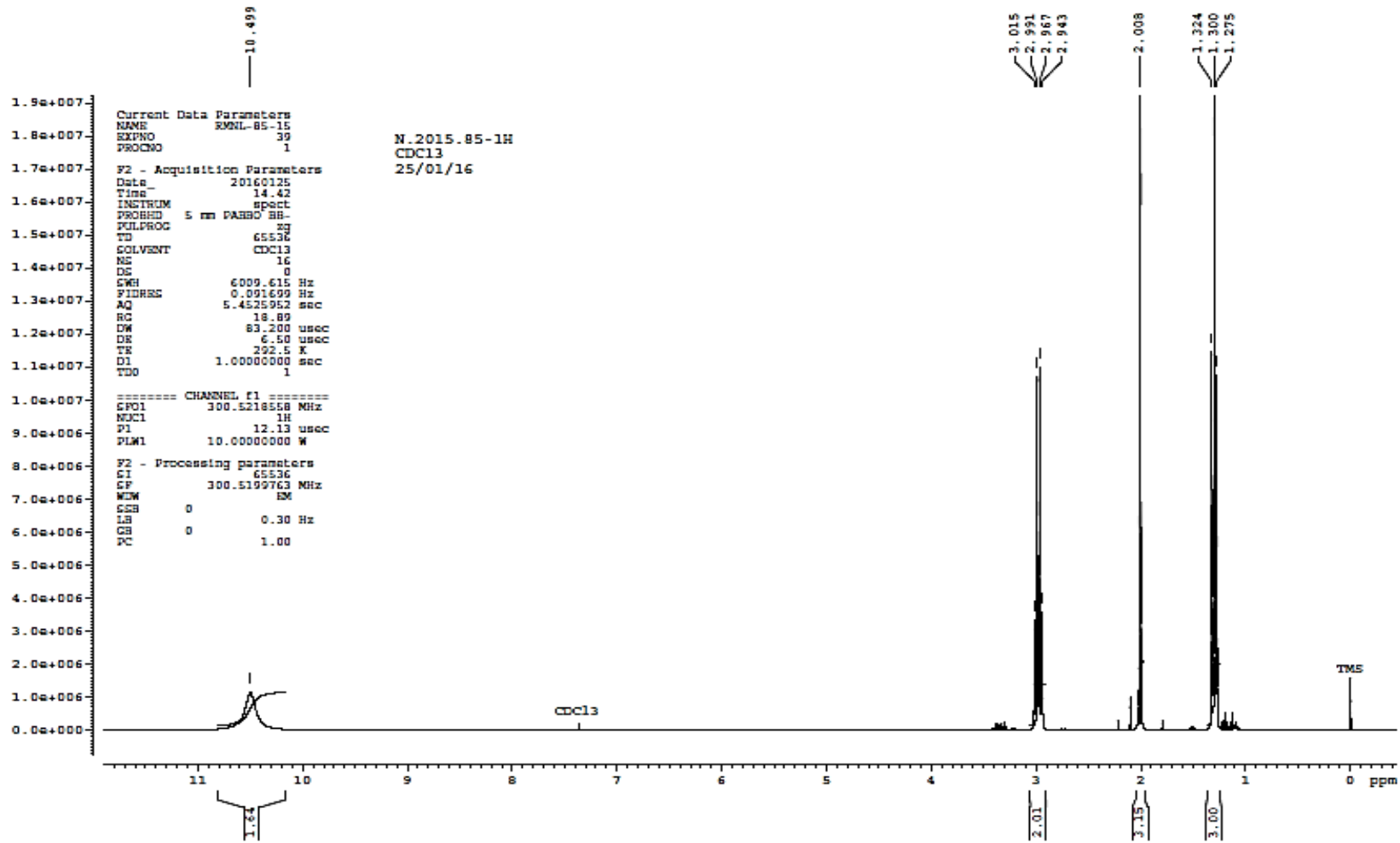
ESPECTROS RMN PARA LOS LIQUÍDOS IÓNICOS PRÓTICOS SINTETIZADOS QUE NO PRESENTARON CAPACIDAD DE DISOLVER FIBRAS DE *Vicugna pacos* (ALPACA)



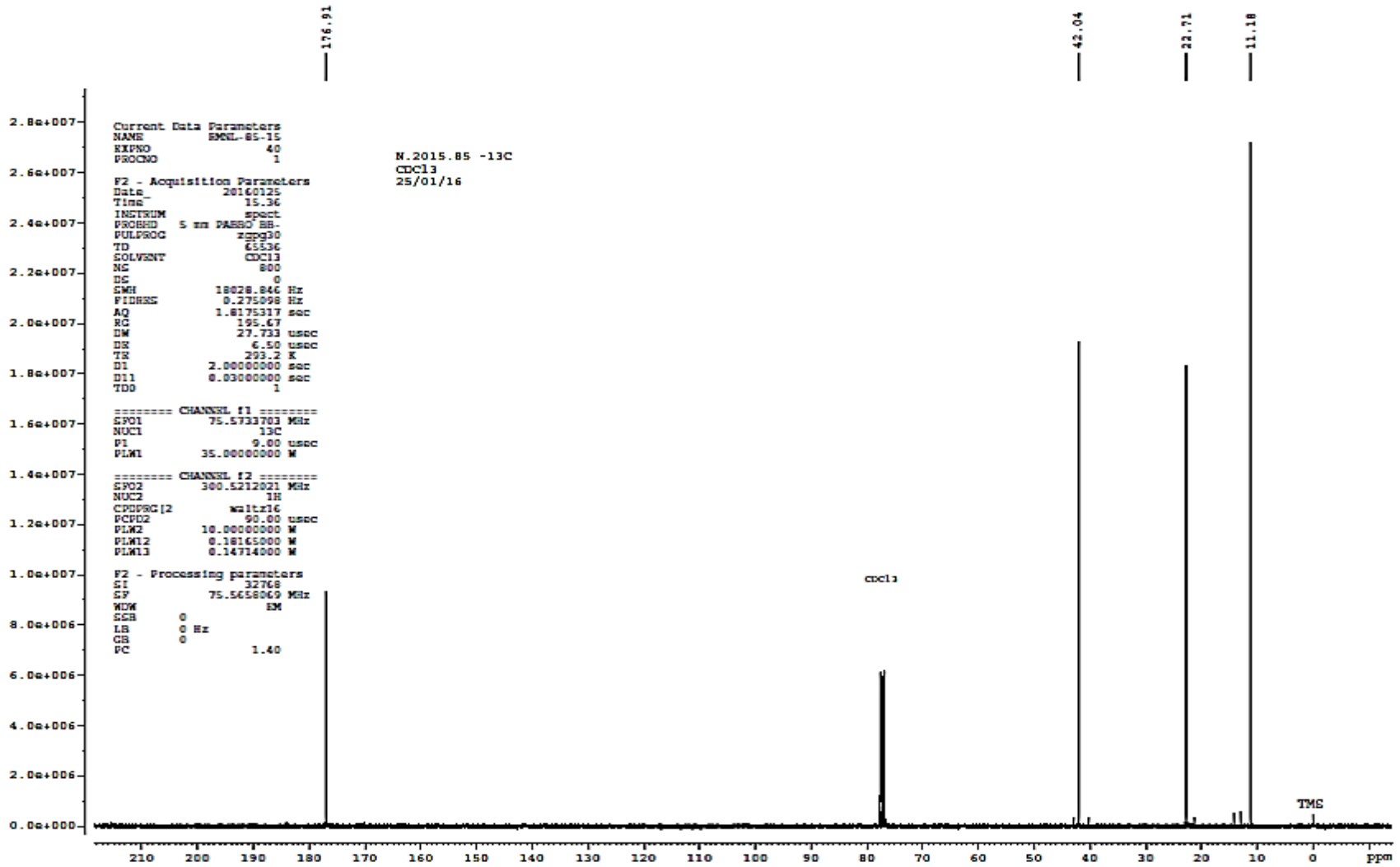
[DEA][HCOO] ¹H RMN



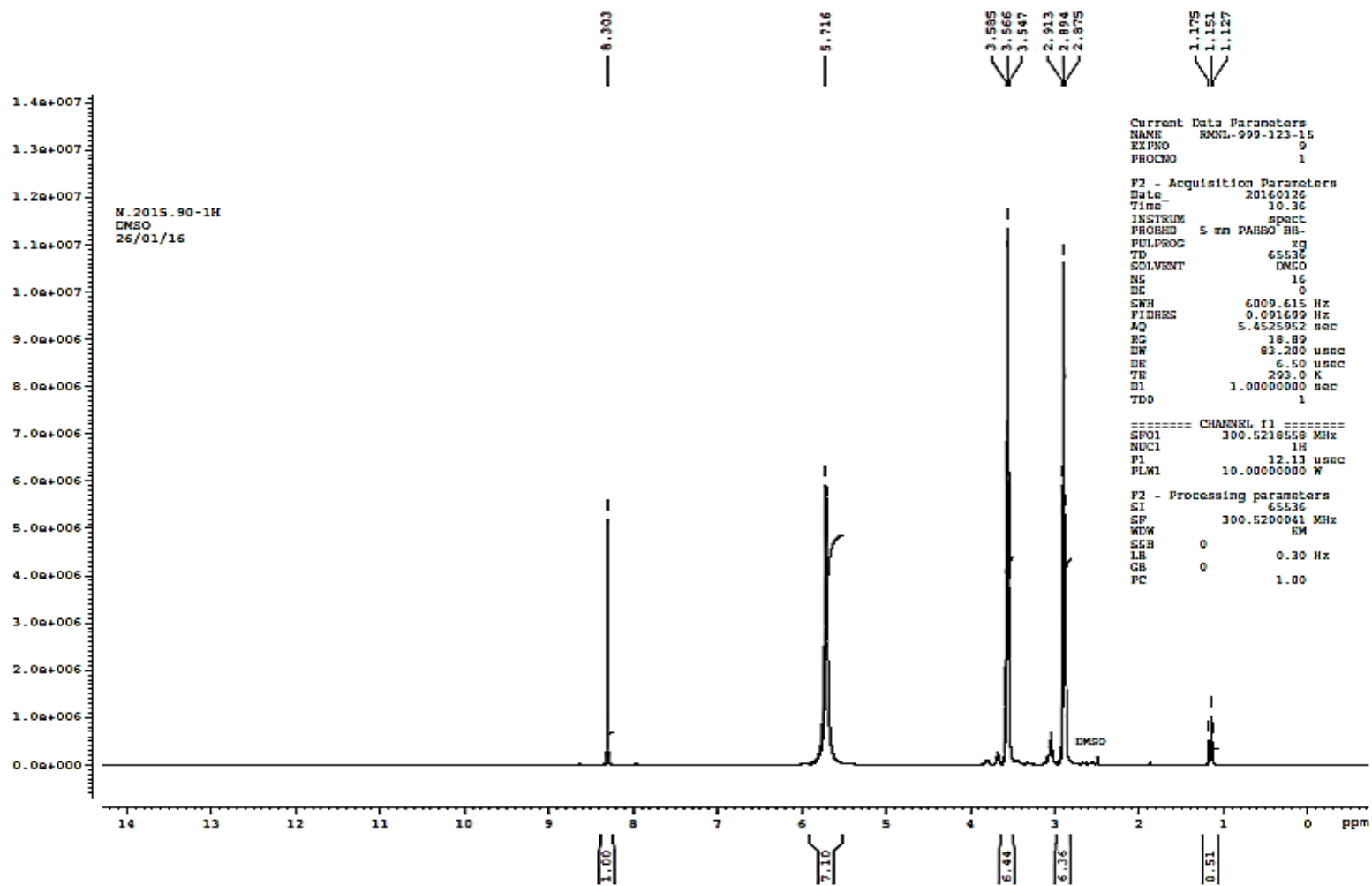
[DEA][HCOO] ¹³C RMN



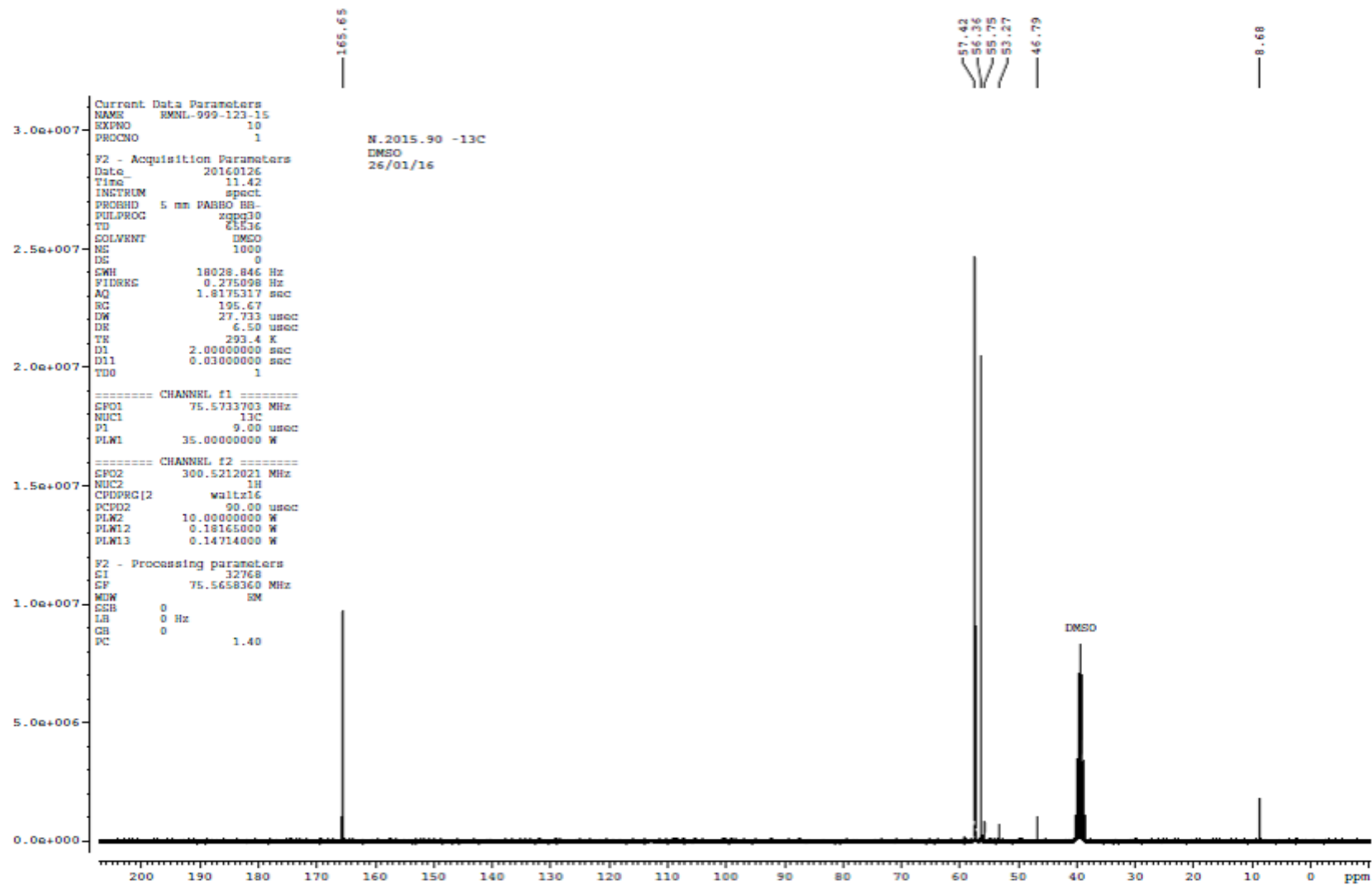
[DEA][CH₃COO] ¹H RMN



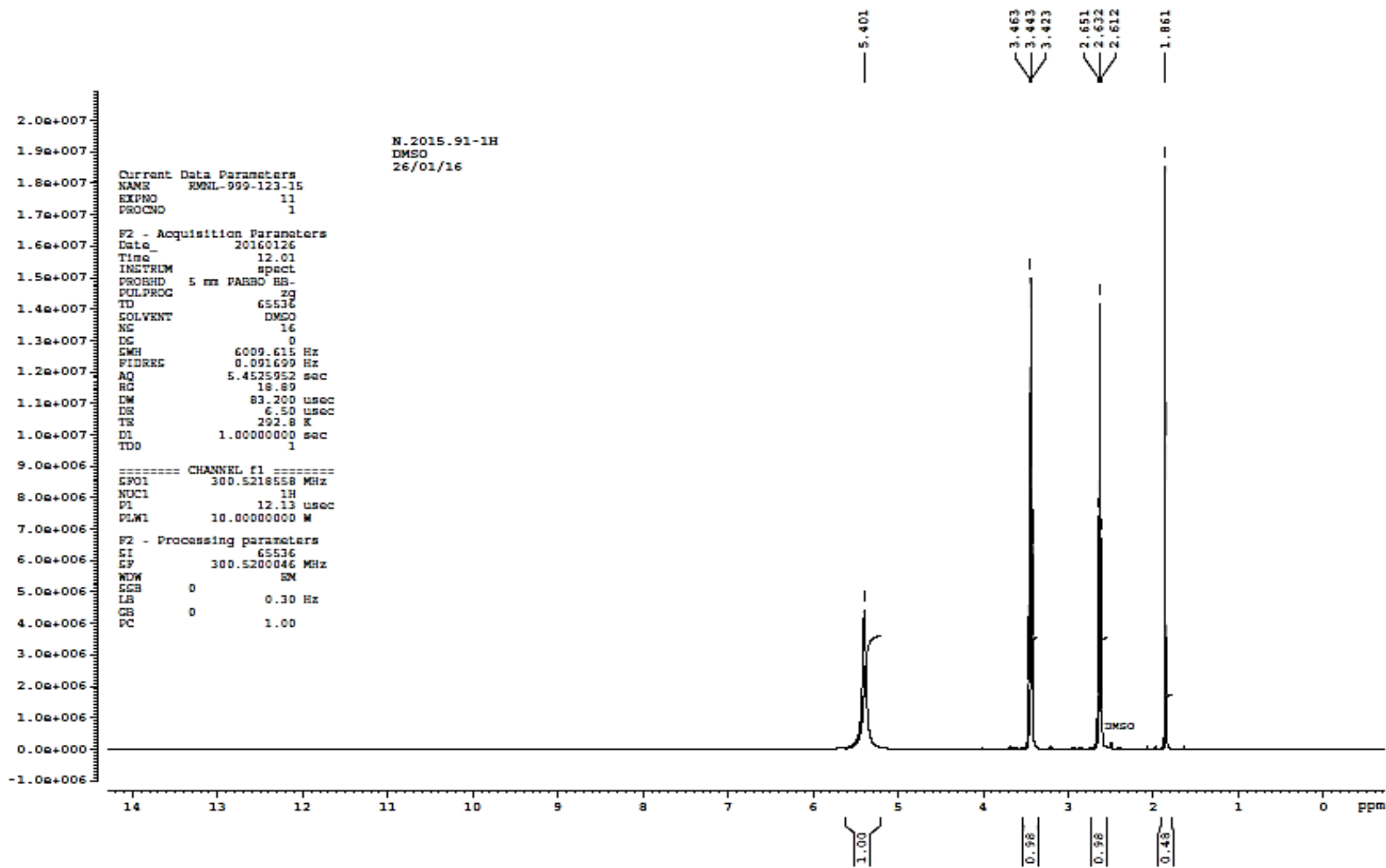
[DEA][CH₃COO] ¹³C RMN



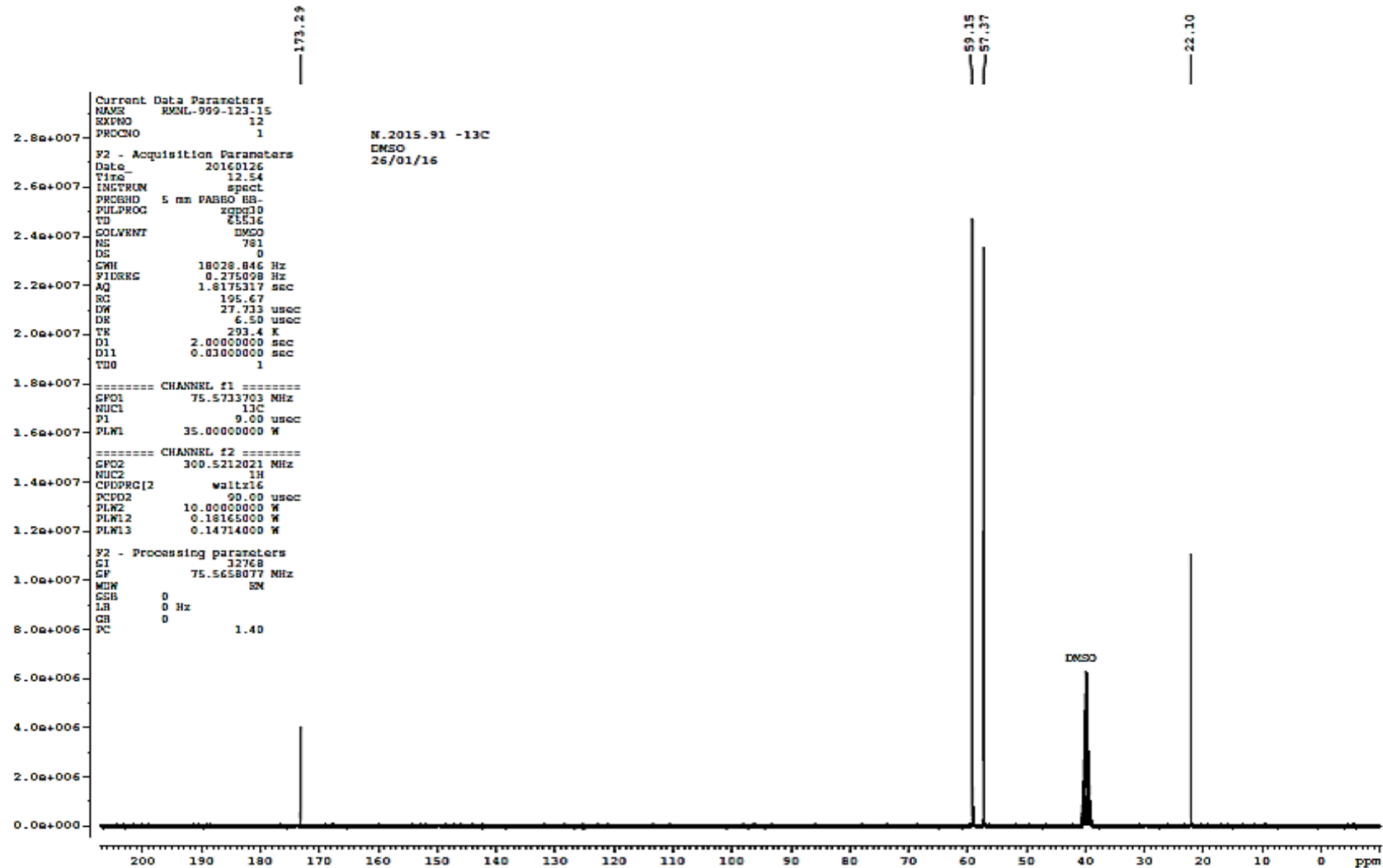
[TEOA][HCOO] ¹H RMN



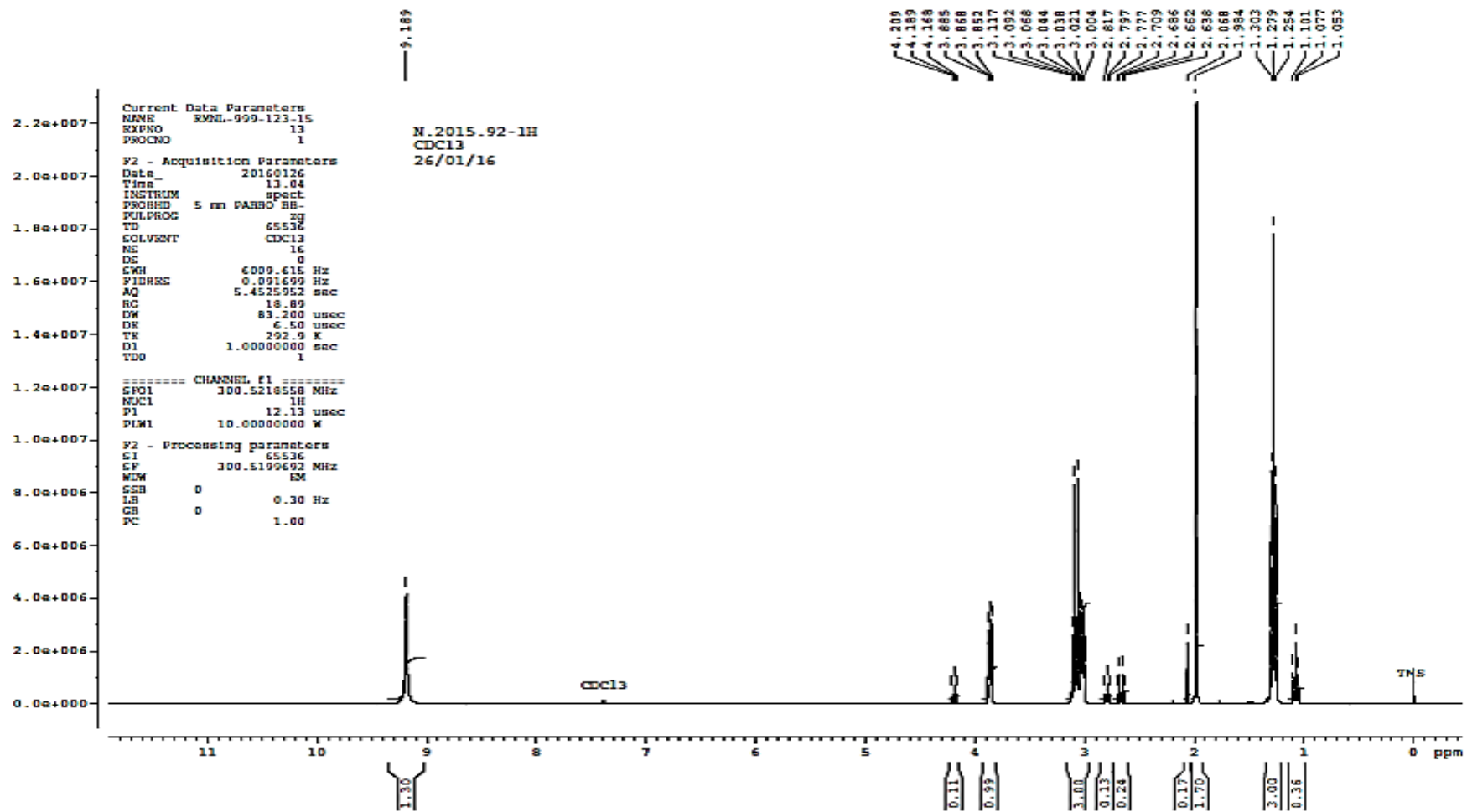
[TEOA][HCOO] ¹³C RMN



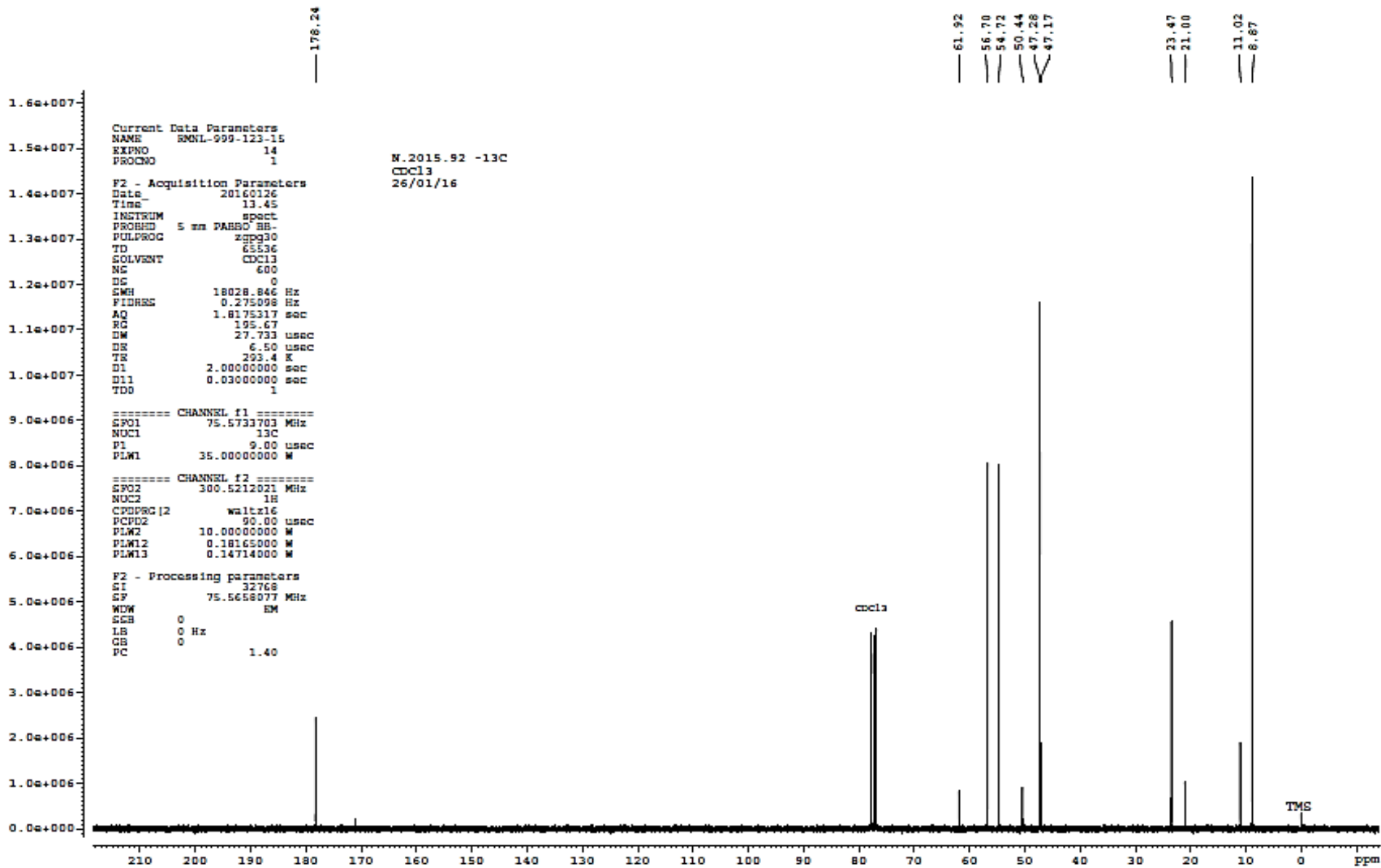
[TEOA][CH₃COO] ¹H RMN



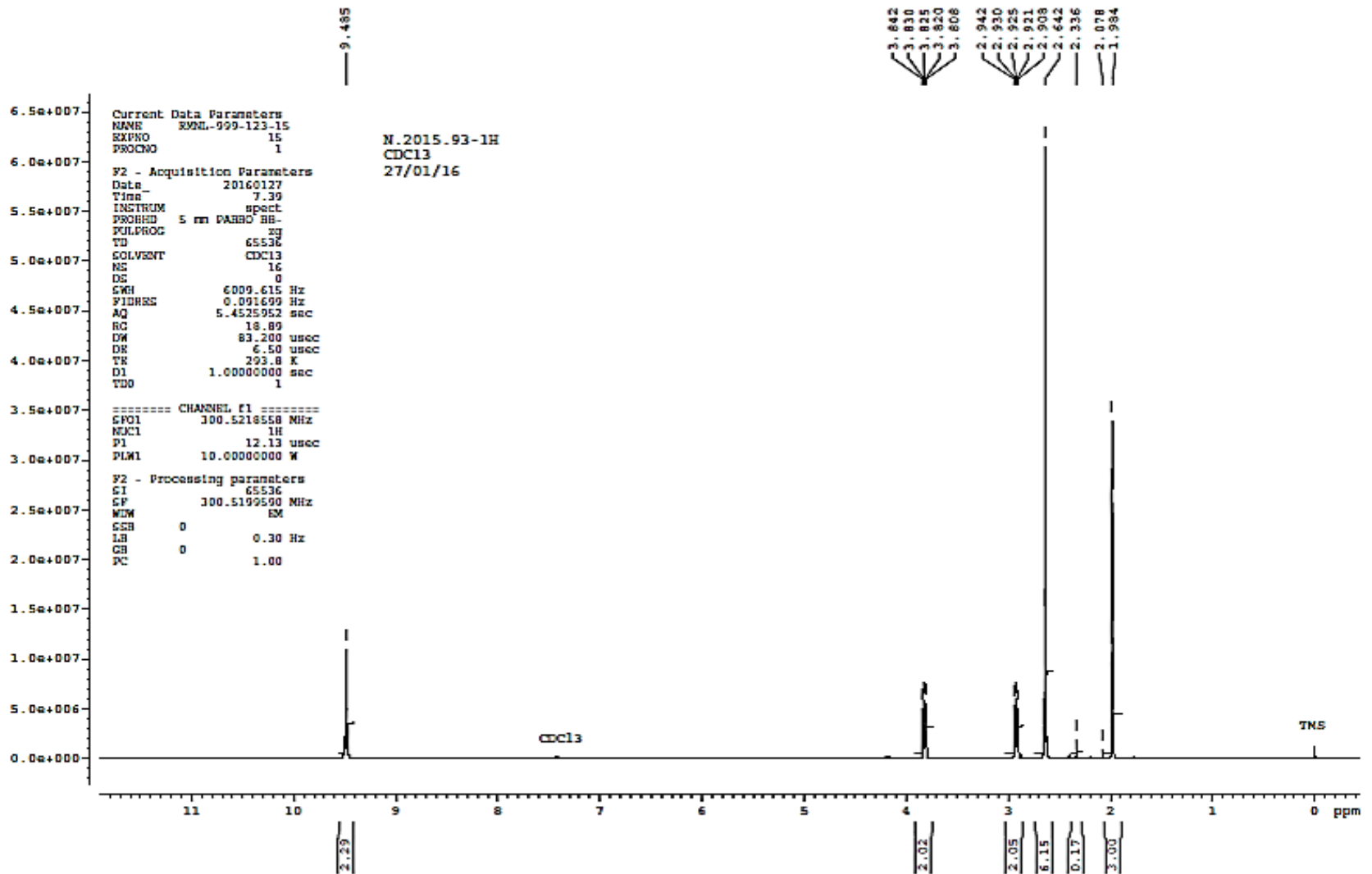
[TEOA][CH₃COO] ¹³C RMN



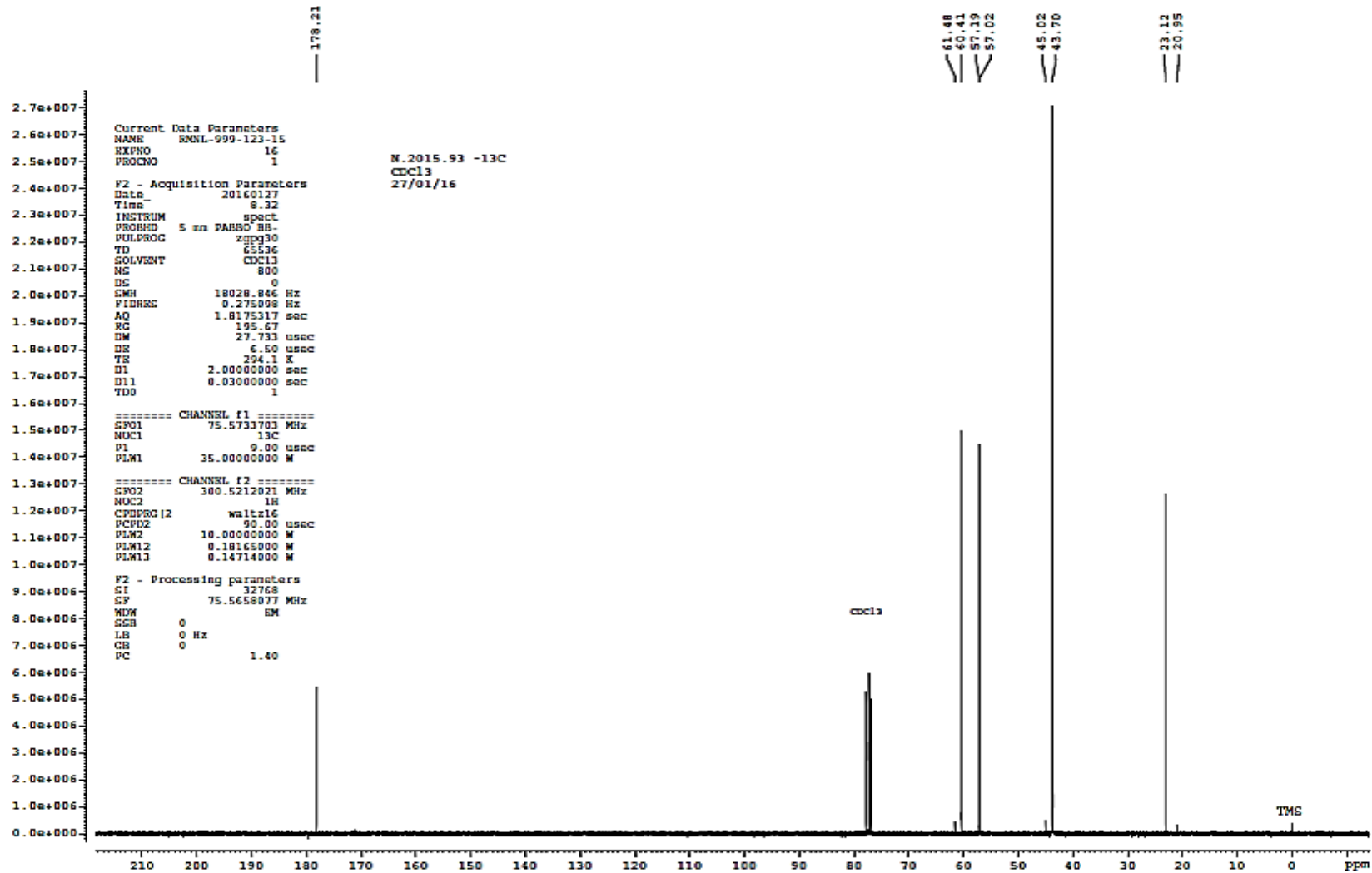
[DEOA][CH₃COO] ¹H RMN



[DEOA][CH₃COO] ¹³C RMN



[DMEA][CH₃COO] ¹H RMN



[DMEA][CH₃COO] ¹³C RMN

