

Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

INFORME FINAL

Síntesis de dos nuevos biopolímeros de quitosano capaces de atrapar los iones cianuro y fosfato y el herbicida paraquat®.

Synthesis of two new chitosan biopolymers capable of entrapping cyanide and phosphate ions and the herbicide paraquat®.

Equipo de investigación

Coordinadora:

Licda. Diana Pinagel

Investigadora:

Licda. Jaqueline Carrera

Auxiliar de Investigación II:

Br. Luis Alberto Aguilar

27 de octubre de 2016

Instituto de Investigación Químicas y Biológicas

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán
Director General de Investigación

Ing. Agr. Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinador del Programa de Investigación

Licda. Diana Pinagel
Coordinador del proyecto.

Licda. Jaqueline Carrera
Investigadora

Luis Alberto Aguilar
Auxiliar de Investigación II

Partida Presupuestaria 4.8.63.1.81
Año de ejecución: 2016

Índice

1. Resumen / Abstract.....	2
2. Introducción.....	5
3. Marco teórico y estado del arte.....	6
4. Metodología.....	11
5. Resultados.....	14
6. Análisis y discusión de resultados.....	25
7. Conclusiones.....	35
8. Referencias.....	36
9. Apéndice.....	40
10. Actividades de gestión, vinculación y divulgación.....	43
11. Orden de pago.....	44

Índice de figuras

Imagen 1. Estructura del calix[4]pirrol atrapando al ion fosfato.....	10
Imagen 2. Espectro IR del producto del ensayo número 13.....	19
Imagen 3. Medio de reacción ensayo 1 de la etapa 1.....	40
Imagen 4. Productos de ensayos 1-4 de la etapa 1.....	40
Imagen 5. Medio de reacción ensayo 13 etapa 1.....	40
Imagen 6. Producto ensayo de la 13 etapa 1.....	41
Imagen 7. Medio de reacción síntesis biopolímeros I y II.....	41
Imagen 8. Bioplímero I recristalizado.....	41
Imagen 9. Turbidímetro y muestras de aguas filtradas.....	42
Imagen 10. Titulación del ion cianuro con el método de Liebig.....	42
Imagen 11. Determinación de paraquat® en muestras de agua filtrada.....	42

1. Resumen

Este proyecto, forma parte de una línea de investigación sobre la funcionalización del quitosano, que se ha venido trabajando en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia desde hace varios años. El objetivo de este estudio se dirigió hacia sentar bases metodológicas para el desarrollo del conocimiento y tecnología en el área de química supramolecular a través de la síntesis de dos nuevos polímeros, derivados del quitosano, para su aplicación en el campo de la remediación ambiental. Los objetivos específicos buscaron determinar las condiciones de equilibrio óptimas para sintetizar los complejos de inclusión con el quitosano y la β -ciclodextrina, y con el quitosano y el calix[4]pirrol de estructura más adecuada; exploraron la variación de la actividad clarificante del quitosano, utilizando ambos biopolímeros modificados de este; la capacidad de atrapar ión cianuro y ión fosfato por parte del biopolímero I; y probar la capacidad de las β -ciclodextrinas, del biopolímero II, para capturar pesticidas neutros, como el paraquat®.

Utilizando reacciones de sustitución electrofílica aromática, sustitución nucleofílica bimolecular, sustitución acilnucleofílica y oxidaciones selectivas, se estableció la metodología y se logró la síntesis de los dos biopolímeros. Se demostró que estos biopolímeros son capaces de encapsular iones cianuro, fosfatos y pesticidas neutros (paraquat®); y que pueden tener aplicación como filtros de agua, para desechos líquidos en las industrias extractivas, por su capacidad para atrapar cianuro libre; además de la industria agrícola, por su afinidad a iones fosfatos o pesticidas neutros.

Palabras claves: Calix[4]pirrol, β -ciclodextrina, química supramolecular, remediación ambiental, síntesis orgánica.

1. Abstract

This project is part of a research on the functionalization of chitosan, which has been working at the Faculty of Chemistry and Pharmacy for several years. The aim of this study went to sit methodological development of knowledge and technology in the area of supramolecular chemistry through the synthesis of two new polymers derived from chitosan, for application in the field of environmental remediation bases.

The specific objectives sought to determine optimal conditions for synthesizing balance inclusion complexes with chitosan and β -cyclodextrin, and with chitosan and the calix [4] pyrrole with the most suitable structure; explored the variation of the clarifier activity of chitosan, using both this modified biopolymers; the ability to trap cyanide ion and phosphate ion by the biopolymer I; and testing the ability of, β -cyclodextrins biopolymer II, to capture neutral pesticides like paraquat®.

Using electrophilic aromatic substitution reactions, bimolecular nucleophilic substitution, acilnucleophilic substitution and selective oxidations, methodology was established and the synthesis of the two biopolymers was achieved. It demonstrate that these biopolymers are capable of encapsulating cyanide ions, phosphate ions and neutral pesticides (paraquat®); and that they may have application as water filters for liquid waste in the extractive industries for its ability to trap free cyanide; in addition to the agricultural industry, for its affinity to phosphate ions or neutral pesticides.

Keywords: Calix [4] pyrrole, β -cyclodextrin, supramolecular chemistry, environmental remediation, organic synthesis.

2. Introducción

El quitosano es un polímero de unidades de α -D-[1,4] glucosamina, encontradas en exoesqueletos de crustáceos e insectos, este forma complejos de inclusión que han sido objeto de varias aplicaciones a nivel industrial, aprovechando sus propiedades fisicoquímicas, se han dado funcionalizaciones para mejorar su soporte, solubilidad, etc., sobre todo en el campo de la nanotecnología.

Los calix[4]pirroles son moléculas cíclicas, que son sintetizadas por la condensación de un compuesto carbonilo con pirrol, formando un macrociclo que es capaz de capturar aniones, como lo son el cianuro y el fosfato, estos dos aniones son causantes de varios problemas ambientales, el cianuro es altamente tóxico para los mamíferos y el fosfato produce el fenómeno llamado eutrofización en cuerpos de agua.

Las ciclodextrinas encapsulan moléculas neutras como por ejemplo pesticidas, los cuales muchos son difíciles de tratar por su alta solubilidad en agua. El paraquat® es un herbicida sumamente tóxico, pero que es posible capturarlo usando β -ciclodextrina.

El desarrollo de la química supramolecular, como una rama de la química, ha permitido el desarrollo de tecnología capaz de manipular las fuerzas intermoleculares e intramoleculares. Sin embargo en Guatemala no se ha reportado el uso de este conocimiento para la generación de valor agregado. Esto hace necesario que exista investigación básica que permita el desarrollo de los métodos de síntesis orgánica y la transferencia de tecnología involucrada.

En Guatemala, el problema del tratamiento de agua, por medio de biopolímeros generados por ciencia y tecnología guatemalteca se encuentra poco explorado. Debido a la problemática del recurso hídrico tan seria en el país, es necesario utilizar biopolímeros sintetizados y diseñados a partir de la problemática nacional.

El objetivo principal de la presente investigación fue utilizar el quitosano como material de soporte para formar dos biopolímeros capaces de capturar, en el caso del llamado biopolímero I iones cianuro y fosfatos, y en el caso del biopolímero II el herbicida paraquat®.

3. Marco teórico y estado del arte

3.1 Química supramolecular y complejos de inclusión

La química, en cuanto trata de los cambios que sufre la identidad de la materia, forzosamente debe ser una ciencia amplia y ramificada. De esta manera se ha desarrollado sobre todo entre finales del siglo XIX y el primer cuarto del siglo XX la teoría que ha permitido entender la estructura, los cambios y el porqué de estos llegando a la concepción de enlace, su clasificación, comportamiento y finalmente, a partir de estos, predicciones ulteriores.

De esta manera es posible comprender a la materia como un conjunto de entidades indivisibles con características únicas (llamadas átomos) que se combinan dependiendo del comportamiento de sus electrones, mediante enlaces, para formar estructuras compuestas, denominadas moléculas. Siendo estas últimas las que al agregarse forman la materia microscópica.

Aunque gran parte de la química se ha desarrollado para el entendimiento de la formación, estabilidad y cambio de las moléculas, no es el único ámbito de crecimiento, ni mucho menos, útil e ilustrativo. De esta manera se observan ciertas interacciones entre diferentes moléculas con la misma identidad y entre diferentes moléculas con identidad distinta, llamando a estas interacciones fuerzas intermoleculares. También se puede dar el caso en que diferentes partes de una misma molécula interactúen sin que se vea involucrado ningún enlace, gobernada por fuerzas intramoleculares.

Se puede entonces definir a la química supramolecular como la química que está más allá de la molécula, es decir, como aquella en la que las interacciones estudiadas serán las que se dan entre diferentes unidades moleculares y que no se deben a la formación o ruptura de enlaces. Por lo general formarán estructuras muy complejas debido a fuerzas intermoleculares e intramoleculares.

Dependiendo de la forma en que se den las interacciones entre las moléculas es posible definir a los compuestos de inclusión como estructuras en donde se tiene un compuesto más grande con una cavidad (por lo que en general se tiene un ciclo, llamado

macrociclo), en la que se acomoda una molécula más pequeña (Ej.: Enzimas) o compuestos de asociación, donde las interacciones se dan en el “exterior” de ambas moléculas.

Debido a la importancia de estos compuestos supramoleculares, a su uso extendido en diversos campos y al entendimiento que pueden proporcionar el comportamiento enzimático, el estudio de la química supramolecular ha generado un gran interés, lo cual se ha constatado en los numerosos artículos publicados y al surgimiento de revistas científicas especializadas.

3.2 Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de unidades de glucosa con enlaces alfa 1,4 – glucosídicos (entre los carbonos 1 de una subunidad y 4 de la siguiente), debido a que su origen es natural está presente solamente el estereoisómero D. Son obtenidas comercialmente por degradación enzimática microbiana, con lo que se obtiene solamente un isómero relativo de la ciclodextrina.

Según el número de unidades que formen la estructura macrocíclica reciben distintas notaciones, siendo la ciclodextrina de seis unidades la α - ciclodextrina, la de siete la β - ciclodextrina, la de 8 subunidades la γ - ciclodextrina y así sucesivamente (las mencionadas aquí son las más comunes y útiles).

Fueron descritas primeramente por Villiers en 1891, posteriormente se determinó su estructura de oligosacáridos. Aunque en un principio resultaron una curiosidad de laboratorio, entre 1935 y 1950 fueron estudiadas por Pringsheim y Cramer quienes postularon que eran capaces de formar complejos de inclusión.

La importancia de las ciclodextrinas como complejos de inclusión se hace obvia al revisar los estudios estructurales de los mismos. Se ha comprobado mediante difracción de rayos X que forman una estructura con forma de toroidal (un cono truncado) donde el carbono 6 queda en la parte estrecha y el hidroxilo unido al carbono 2 en la parte ancha. Además de esto, al realizar un modelo tridimensional de la estructura de las ciclodextrinas se observa que los grupos hidroxilo apuntan hacia el exterior de la molécula, mientras que hacia la cavidad interior se encuentra la parte central del ciclo (los carbonos e hidrógenos)

por lo que se obtiene una cavidad hidrofóbica en una estructura que es hidrofílica, dicho lo anterior, se evidencia que estos macrociclos serán útiles para encapsular compuestos hidrofóbicos en un ambiente hidrofílico, ocasionando, además de una mejor solvatación en agua, una mayor estabilidad termodinámica al compuesto que se encuentre dentro de la cavidad (huésped).

Lo anterior se observa tanto en sus propiedades físicas como en su menor reactividad frente a oxidantes o calor, entre otros. Las α , β y γ - ciclodextrinas son las más utilizadas debido a que la cavidad interior permite la inclusión de muchas moléculas de tamaño moderado, confiriéndoles estabilidad, mientras que las ciclodextrinas que poseen una mayor cantidad de monómeros presentan una cavidad demasiado grande.

3.3 Calix[4]pirrol

En los últimos años, se ha incrementado considerablemente el interés por la complejación de aniones, debido a que se ha constatado que juega un papel importante en muchos procesos biológicos y medioambientales.

Uno de los objetivos prioritarios a la hora de diseñar compuestos capaces de complejar a otros es conseguir una selectividad elevada, es decir, la capacidad de distinguir entre posibles entidades a complejar, lo que puede lograrse por diferencias en la estabilidad del complejo de inclusión formado.

En el proceso de desarrollo de nuevos compuestos capaces de complejar aniones se diseñaron en primer lugar estructuras macroheterocíclicas poseedoras de centros catiónicos del tipo amonio o guanidinio capaces de facilitar interacciones electrostáticas con el anión. En muchas ocasiones, sin embargo, estos ligandos no conducen al grado de selectividad necesario para ciertos sistemas, además de ser generalmente no biocompatibles. Otro método alternativo lo constituye la creación de estructuras macrocíclicas adecuadas para la formación de puentes de hidrógeno, con una geometría apropiada para el anión deseado.

Los calix-pirroles son macrociclos muy utilizados para este tipo de aplicaciones, se ha ensayado como un agente capaz de atrapar aniones fluoruro y, en menor extensión, de cloruro y acetato.

El calix[4]pirrol es un compuesto que fue descubierto por Baeyer en el siglo XIX, recibiendo entonces el nombre de meso-octametilporfirinógeno, y hoy día el de meso-octametilcalix[4]pirrol. El cambio de nomenclatura se debe al hecho de que la inexistencia de hidrógenos en las posiciones meso, al haber sido sustituidos por grupos alquilo, impide esta oxidación, mientras que al introducir un anión en la cavidad del macrociclo, los cuatro pirroles forman puentes de hidrógeno con dicho anión, adoptando el macrociclo la forma cónica de los sistemas calix.

El calix[4]pirrol constituye un ejemplo de sistema complejante no preorganizado, ya que el compuesto libre presenta una conformación 1,3-dialteranada, por lo que es necesario un cambio conformacional para que los nitrógenos de los cuatro anillos de pirrol puedan formar puentes de hidrógeno con el anión al complejarlo.

3.4 Biopolímeros a sintetizar:

Los biopolímeros propuestos fueron compuestos derivados del quitosano donde la función amina de la molécula del glucósido se une a la función ácida de los macrociclos formando una unión amida. El biopolímero I fue funcionalizado con un macrociclo de calix[4]pirrol y el biopolímero II fue funcionalizado con un macrociclo derivado de una β -ciclodextrina.

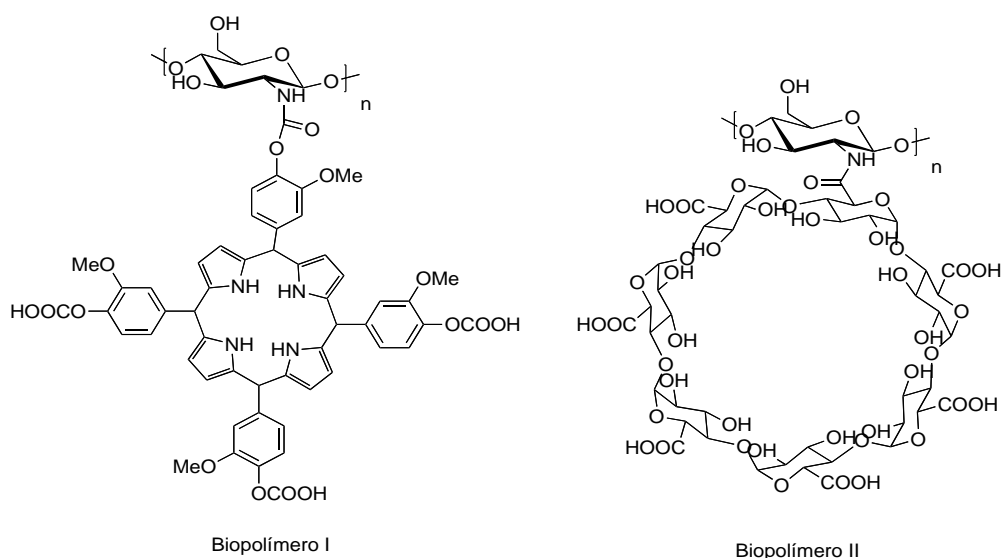
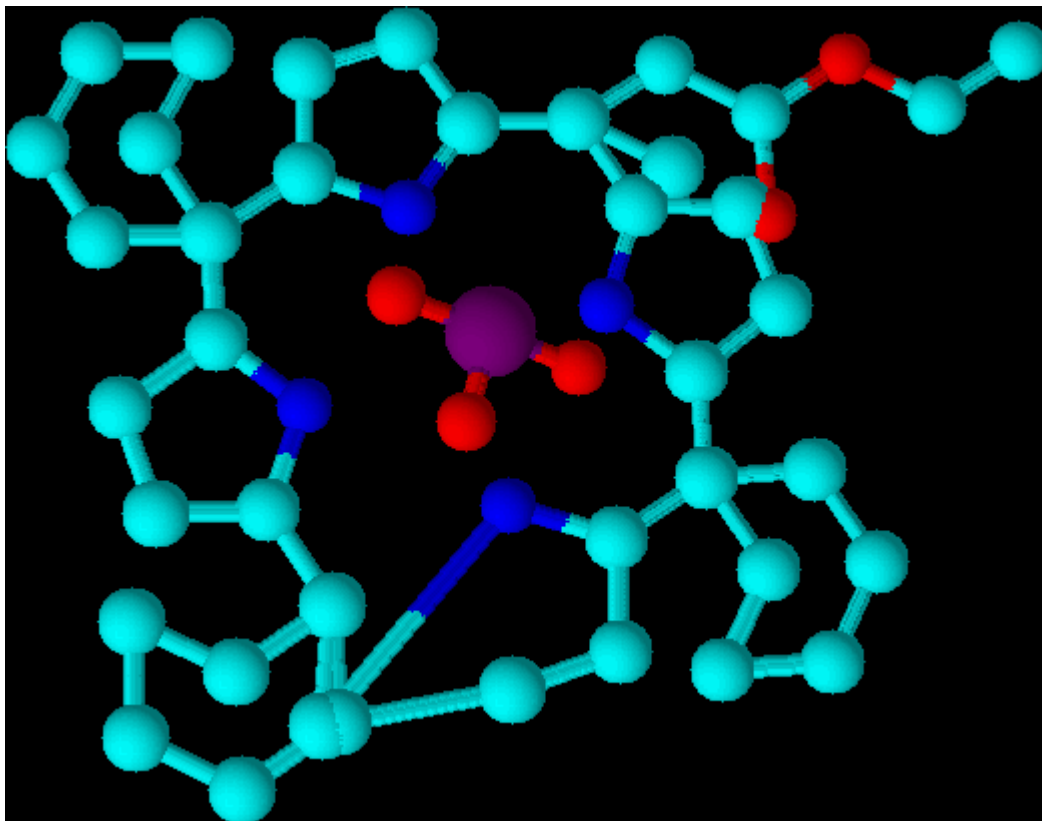


Imagen 1. Estructura del calix[4]pirrol del ciclohexanona y el acetoacetato de etilo atrapando el anión fosfato.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

4. Metodología

4.1 Etapa 1: Síntesis del calix[4]pirrol.

En un matraz de 250 ml, provisto de refrigerante de reflujo y tubo de cloruro de calcio, se colocaron 5 g de pirrol, medidos con balanza analítica, 7.5 g de vainillina y 2.5 g de fluoruro de boro, dichos reactivos se disolvieron en etanol y se calentaron a ebullición por espacio de tres horas. Se dejó enfriar, el precipitado apareció a medida que se enfrió el calix[4]pirrol formado. Se lavan los cristales con etanol frío y el producto puede ser caracterizado por IR y punto de fusión.

Metodología alternativa:

Se añadieron 5 moles de pirrol, recientemente destilado, y 5 moles del compuesto que contenía al grupo carbonilo (3.75 moles de ciclohexanona y 1.25 moles de acetoacetato de etilo) a 5 mL de metanol contenidos en un erlenmeyer de 10 mL, agitando suavemente hasta que se mezclaron. Se añadieron 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se agitó suavemente para que se mezclara con el contenido del Erlenmeyer. Se dejó reposar la mezcla durante 30 minutos mientras se formó el precipitado. Se enfrió la mezcla en un baño de hielo durante 5 minutos. Se filtró el precipitado y se lavó con 3 mL de metanol a 0°C. El producto se purificó por recristalización en acetona/agua, utilizando 25 mL de acetona y 2 mL de agua. Este producto se caracterizó por espectroscopía IR y por su punto de fusión. (Rodriguez, M., Gómez, F. 2008, p240-245)

4.2 Etapa 2: Funcionalización del calix[4]pirrol de la ciclohexanona y el acetato de etilo con la función ácido carboxílico.

En un matraz esférico de 100 ml se introdujeron 25 ml de acetona y se disolvieron 6.0 g del calix[4]pirrol sintetizado. Se agregaron gota a gota 5 mL de ácido sulfúrico al 10%. Se acopló un refrigerante, se agitó y calentó suavemente por 30 minutos. Una vez que finalizó el reflujo, se trasladó la mezcla de reacción a un vaso de precipitados de 100 mL y se dejó enfriar, luego se agregaron 10 mL de agua y se colocó en un baño de hielo por 5 minutos. Los cristales formados se lavaron con hexano y se caracterizan por punto de fusión, y se realizó una cromatografía en capa fina comparativa con el sustrato.

4.3 Etapa 3: Formación del biopolímero I.

En un balón de fondo plano de 100 mL se mezclaron de 2.0 g del ácido del calix[4]pirrol sintetizado y 10 gramo de quitosano en 50 mL de cloroformo, se enfrió a 10 °C y se le agregaron gota a gota, con ayuda de una ampolla de decantación, DCC (diciclohexilcarbodiimida) (aproximadamente 1.95 g) disuelta en dioxano seco (40 ml). Terminada la adición, se agitó por 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y se eliminó el solvente del filtrado. El crudo obtenido se lavó y se recristalizó. Se determinó el punto de fusión y una cromatografía en capa fina.

4.4 Etapa 4: Síntesis del óxido de la β -ciclodextrina.

En un balón de fondo redondo de 100 mL se mezclaron 5 g de β -ciclodextrina, con 1 g de DDQ (2,3-diciano-5,6-dicloroparabenzocinona) en dioxano (40 mL) y se agitó a temperatura ambiente, el óxido de la β -ciclodextrina precipitó al formarse. Este se filtró y se desecó. . Se determinó el punto de fusión y una cromatografía en capa fina.

4.5 Etapa 5: Formación del biopolímero II.

En un balón de fondo plano de 100 mL se mezclaron 1.0 g del óxido de β -ciclodextrina sintetizado y 10 gramos de quitosano en 50 mL de cloroformo, se enfriaron a 10 °C y se le agregó gota a gota, con ayuda de una ampolla de decantación, diciclohexilcarbodiimida (DCC) (aproximadamente 1.95 g) disuelta en dioxano seco (40 ml). Terminada la adición, se agitó por 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y se eliminó el solvente del filtrado. El crudo obtenido se lavó y se recristalizó. Se determinó el punto de fusión y una cromatografía en capa fina.

4.6 Etapa 6: Análisis de las propiedades de adsorción de los biopolímeros.

4.6.1 Evaluación de la actividad clarificante: En una columna cromatográfica de 20 cm de largo se colocaron 10 gramos del compuesto a evaluar y se empaco correctamente. Luego se hizo correr a través de la columna 25 mL de agua contaminada con turbidez conocida. Se midió la turbidez del agua eluida con un turbidímetro Hach 2100P ISO y la

diferencia se reportó como porcentaje de retención de partículas en suspensión. Este análisis se realizó al quitosano y a los biopolímeros I y II.

4.6.2 Evaluación de la capacidad de atrapar ión cianuro del biopolímero I: En una columna cromatográfica de 20 cm de largo se colocaron 10 gramos del biopolímero I y se empaco correctamente. Luego se hizo correr a través de la columna 25 mL de una solución de cianuro de potasio de concentración conocida. A la muestra de agua eluida de la columna se le realizó la determinación de la concentración del ion cianuro por medio del método de Liebig: se valora una disolución de cianuro con nitrato de plata y se forma el ión dicianoargenato (I). Se añade una cantidad estequiométrica de ión plata, el primer exceso de ión plata da lugar a una turbidez permanente por formación de dicianoargenato (I) de plata, poco soluble. El resultado se reportó como porcentaje de retención del ion cianuro. Este análisis se realizó al quitosano y al biopolímero I. (Ayres, G. 1970)

4.6.3 Evaluación de la capacidad de atrapar ión fosfato del biopolímero I: En una columna cromatográfica de 20 cm de largo se colocaron 10 gramos del biopolímero I y se empaco correctamente. Luego se hizo correr a través de la columna 25 mL de una solución de fosfato de sodio de concentración conocida. A la muestra de agua eluida de la columna se le realizó la determinación de fosforo total en agua por digestión ácida, por el método del ácido ascórbico. El resultado se reportó como porcentaje de retención del ion fosfato. Este análisis se realizó al quitosano y al biopolímero I. (Eaton, A. 2005, sección 4-153)

4.6.4 Evaluación de la capacidad de atrapar el herbicida paraquat®: En una columna cromatográfica de 20 cm de largo se colocaron 10 gramos del compuesto a evaluar y se empaco correctamente. Luego se hizo correr a través de la columna 25 mL de agua contaminada con una concentración conocida de paraquat®. A la muestra de agua eluida se le determinó la concentración de paraquat® presente por el método espectrométrico visible 969.09 establecido por la AOAC para la cuantificación de este herbicida con ditionito de sodio. (Latimer, G. 2016, método 969.09)

5. Resultados

Tabla 1. Síntesis del calix[4]pirrol precursor del Biopolímero I (Etapas 1 y 2)

Ensayo	Sustratos	Catalítico	Medio de reacción/ Método	Resultados
1	Vainillina + Pirrol	Trifloruro de boro	Etanol /Reflujo 3 horas	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón oscuro chicloso.*
2	Vainillina + Pirrol	Trifloruro de boro	Etanol/Ultrasonid o 30 minutos	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón oscuro chicloso.*
3	Vainillina + Pirrol	Trifloruro de boro	Etanol/Agitación mecánica por 24 horas	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón oscuro chicloso.*
4	Vainillina + Pirrol	Ácido acético glacial	Etanol/Agitación mecánica por 24 horas	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un

				producto marrón oscuro chicloso.*
5	Acetona + Pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/Agitación por 5 minutos, reposo 30 minutos	Precipitado color crema, finos cristales en suspensión, aislados con ayuda de centrifuga. Cumple con las características físicas reportadas para el calix [4]pirrol de la acetona.**
6	Vainillina + Pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/Agitación por 5 minutos, reposo 30 minutos	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón oscuro chicloso.*
7	Vainillina + Pirrol	Ácido sulfúrico al 10% en metanol	Metanol/Agitación por 5 minutos, reposo 30 minutos	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón oscuro chicloso.*
8	Vainillina + Pirrol	Trifloruro de boro	Metanol/Agitación por 5 minutos y reposo 30 minutos	Precipitado color marrón, con apariencia resinosa, higroscópico, de fácil autooxidación a un producto marrón

				oscuro chicloso.*
9	9.1) 4-hidroxibenzaldehído + Pirrol 9.2) 4-hidroxi-4-metil-penten-2-ona + pirrol 9.3) 4- hidroxiacetofenona + pirrol 9.4) 4-hidroxi-4metilpentanona + pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/ Agitación por 5 minutos y reposo 30 minutos	Los productos 9.1, 9.2 y 9.4 obtenidos poseen características muy similares al producto obtenido con la molécula original de vainillina, posibles productos de descomposición por autooxidación de los sustratos.* La reacción 9.3 no produjo ningún precipitado. únicamente una solución cambiante de color con el tiempo, de verde a marrón oscuro.
10	Ciclohexanona + Pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/ Agitación por 5 minutos y reposo 30 minutos	Formación de un precipitado color crema. Finos cristales**
11	Ciclopentanona + Pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/ Agitación por 5 minutos y reposo 30 minutos	Formación de un precipitado color blanco. Finos cristales. **
12	Acetoacetato de etilo + Pirrol	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/ Agitación por 5 minutos y reposo	No hay formación de precipitado en el tiempo esperado y

			30 minutos	tampoco hay ningún cambio en el color de la mezcla de reacción. Luego de 24 horas hay un producto suspendido en el medio de reacción, que no puede ser aislado.
13	Ciclohexanona (3 moles) + Acetoacetato de etilo (1 mol) + Pirrol (4 moles)	Ácido sulfúrico concentrado	Metanol/ Agitación por 5 minutos y reposo 30 minutos	Formación de un precipitado color blanco. Finos cristales.

*Producto obtenido no cumple con las características repostadas en la literatura de los calix[4]pirroles.

** Este producto no es útil para la siguiente etapa de síntesis, debido a que no puede funcionalizarse para que reaccione con el quitosano.

Tabla 2. Resultados y rendimientos de las reacciones de síntesis del calix [4]pirrol y su funcionalización. (Etapas 1 y 2)

Ensayo	Sustratos	Producto	Punto de fusión del producto	Porcentaje de rendimiento de reacción
5	Acetona + Pirrol	Calix [4]pirrol de la acetona	260°C	15.12%
10*	Ciclohexanona + Pirrol	Calix [4]pirrol de la ciclohexanona	131°C	68.15%
11	Ciclopentanona + Pirrol	Calix [4]pirrol de la ciclopentanona	153°C	46.43%
13*	Ciclohexanona + Acetoacetato de etilo + Pirrol	Calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el acetoacetato de	240°C	53.36%

		etilo (1)		
Hidrólisis Ensayo 13*	Calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el acetoacetato de etilo (1) + Ácido sulfúrico 10%	Calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el ácido acetoacético (1)	263°C	71.21%

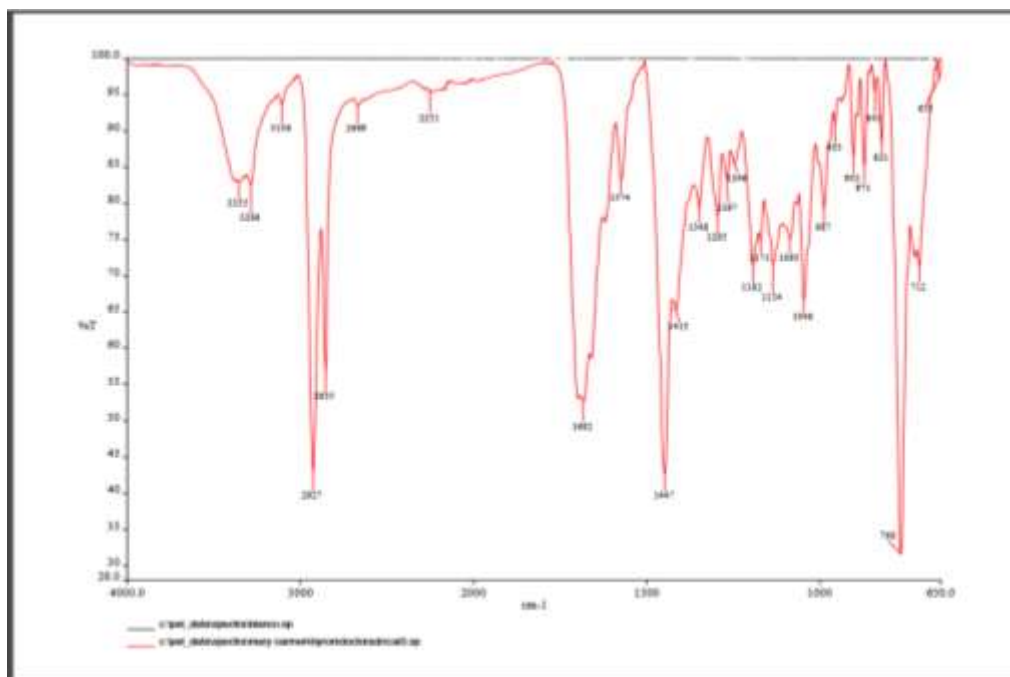
*Las reacciones se realizaron por triplicado para evaluar la reproductibilidad de la metodología propuesta y los resultados reportados son el valor promedio.

Tabla 3: Relación de frentes para sustratos y productos sintetizados de las etapas 1 y 2, por cromatografía en capa fina (Etapas 1 y 2)

Sustancia	Distancia recorrida (cm)	Rf
Ciclohexanona	4.6	0.71
Ciclopentanona	5.2	0.80
Acetoacetato de etilo	0.6	0.05
Pirrol	4.3	0.66
Producto ensayo 10	2.8	0.43
Producto ensayo 11	3.1	0.48
Producto ensayo 13	1.9	0.29
Producto ensayo 13 hidrolizado	0.8	0.12

Se utilizó una fase móvil de hexano/acetato de etilo (70:30) y placa cromatográfica en capa fina con recubrimiento de sílica gel, la placa fue revelada utilizando una cámara de yodo y luz UV.

Imagen 2. Espectro IR del producto del ensayo número 13: Calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el acetoacetato de etilo (1) (Etapa 6)



Fuente: Datos experimentales obtenidos con un Espectrómetro FT-IR Thermo Scientific Nicolet iS5. Laboratorio privado.

Tabla 4. Síntesis del biopolímero I a partir del quitosano y el calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el acetoacetato de etilo (1) (Etapa 3)

Producto obtenido: características	Sustratos y reactivos	Medio de reacción/ Método	Técnica de purificación	Punto de fusión/ Porcentaje de rendimiento
Biopolímero I: Sólido granular muy suelto de color blanco	Quitosano + calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el ácido acetoacético (1) + DCC	Dioxano/ Agitación por 24 horas	Lavados con hexano y recristalización	152°C 56.16%

La reacción se realizó por duplicado para evaluar la reproductibilidad de la metodología propuesta y los resultados reportados son el valor promedio.

Tabla 5. Relación de frentes para sustratos y el biopolímero I sintetizado, por cromatografía en capa fina. (Etapa 3)

Sustancia	Distancia recorrida (cm)	Rf
Quitosano	1.5	0.27
Calix [4]pirrol de la ciclohexanona (3) y el ácido acetoacético (1)	2.2	0.40
Biopolímero I	0.7	0.13

Se utilizó una fase móvil de hexano/diclorometano (60:40) y placa cromatográfica en capa fina con recubrimiento de sílica gel, la placa fue revelada utilizando una cámara de yodo y luz UV.

Tabla 6. Síntesis del óxido de la β -ciclodextrina a partir de β -ciclodextrina (Etapa 4)

Producto obtenido: características	Sustratos y reactivos	Medio de reacción/ Método	Técnica de purificación	Punto de fusión
Óxido de β -ciclodextrina: Polvo muy fino de color blanco hueso.	de β -ciclodextrina + DDQ	Dioxano / Agitación por 4 horas	Lavados con dioxano frío	236°C

Tabla 7. Relación de frentes para el sustrato y el óxido de la β -ciclodextrina sintetizado, por cromatografía en capa fina. (Etapa 4)

Sustancia	Distancia recorrida (cm)	Rf
β -Ciclodextrina	0.9	0.16
Óxido de la β -ciclodextrina	2.4	0.44

Se utilizó una fase móvil de hexano/diclorometano (80:20) y placa cromatográfica en capa fina con recubrimiento de sílica gel, la placa fue revelada utilizando una cámara de yodo y luz UV.

Tabla 8. Síntesis del biopolímero II a partir del quitosano y el óxido de la β -ciclodextrina (Etapa 5)

Producto obtenido: características	Sustratos y reactivos	Medio de reacción/ Método	Técnica de purificación	Punto de fusión/ % rendimiento
Biopolímero II: Sólido cristalino muy compacto de color blanco	Quitosano + óxido de la β -ciclodextrina + DCC	Dioxano/ Agitación por 24 horas	Lavados con hexano y recristalización	264°C / 68.42%

La reacción se realizó por duplicado para evaluar la reproductibilidad de la metodología propuesta y los resultados reportados son el valor promedio.

Tabla 9. Relación de frentes para los sustratos y el biopolímero II sintetizado, por cromatografía en capa fina. (Etapa 5)

Sustancia	Distancia recorrida (cm)	Rf
Quitosano	1.3	0.22
Óxido de la β -ciclodextrina	2.8	0.47
Biopolímero II	0.4	0.07

Se utilizó una fase móvil de hexano/diclorometano (60:40) y placa cromatográfica en capa fina con recubrimiento de sílica gel, la placa fue revelada utilizando una cámara de yodo y luz UV.

Tabla 10. Resultados evaluación de actividad clarificante (Etapa 6)

Compuesto utilizado como filtro para evaluar turbidez en agua contaminada	Medición (Unidades nefelométricas de turbidez)	Porcentaje de retención de partículas suspendidas
Agua sin filtrar	17.08 NTU	No aplica
Quitosano	7.74 NTU*	54.68%
Biopolímero I	5.86 NTU**	65.69%
Biopolímero II	2.08 NTU***	87.79%

*Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.304 y un coeficiente de variación de 3.94%.

** Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.230 y un coeficiente de variación de 3.93%.

*** Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.148 y un coeficiente de variación de 7.09%.

Tabla 11. Resultados análisis de retención de cianuro por parte del Biopolímero I (Etapa 6)

Compuesto utilizado como filtro para evaluar la capacidad de retención del ión cianuro disuelto en agua.	Medición de iones cianuro en agua filtrada (Concentración en partes por millón)	Porcentaje de retención
Agua sin filtrar	260.0 ppm	No aplica
Quitosano	252.3 ppm*	2.96%
Biopolímero I	93.4 ppm**	64.08%

*Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 2.19 y un coeficiente de variación de 0.86%.

**Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 1.87 y un coeficiente de variación de 2.00%.

Tabla 12. Resultados análisis de retención de fosfato por parte del Biopolímero I (Etapa 6)

Compuesto utilizado como filtro para evaluar la capacidad de retención del ión fosfato disuelto en agua	Medición de iones fosfato en agua filtrada (concentración en partes por millón)	Porcentaje de retención
Agua sin filtrar	0.511 ppm	No aplica
Quitosano	0.497 ppm*	2.74%
Biopolímero I	0.084 ppm**	83.56%

* Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.005 y un coeficiente de variación de 1.00%.

**Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.003 y un coeficiente de variación de 4.16%.

Tabla 13. Resultados análisis de retención del herbicida paraquat® por parte del Biopolímero I y II (Etapa 6)

Compuesto utilizado como filtro para evaluar la capacidad de retención del herbicida paraquat® disuelto en agua	Cuantificación de paraquat® en agua filtrada (concentración en partes por millón)	Porcentaje de retención
Agua sin filtrar	0.058 ppm	No aplica
Quitosano	0.052 ppm*	10.34%
Biopolímero I	0.031 ppm**	46.55%
Biopolímero II	0.007 ppm***	87.93%

* Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.001 y un coeficiente de variación de 4.15%.

**Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.003 y un coeficiente de variación de 7.69%.

***Se realizaron 5 repeticiones obteniendo una desviación estándar de 0.0006 y un coeficiente de variación de 8.30%.

5.1 Matriz de resultados en base a los objetivos de la investigación

Objetivo específico	Resultado esperado	Resultado obtenido
<p>1. Sintetizar dos biopolímeros a partir de: 1) quitosano y calix[4]pirrol, y 2) quitosano y β-ciclodextrina. Los procesos de síntesis deben producir rendimientos de reacción mayores al 50% del producto esperado.</p>	<p>Desarrollo de metodologías para la síntesis de los dos biopolímeros, los cuales se deben evaluar para determinar si son el producto deseado de las reacciones.</p>	<p>Se establecieron las 2 metodologías completas para sintetizar los biopolímeros I y II produciendo 56.16% y 68.42% de rendimiento de las reacciones respectivamente. Se desarrollaron las metodologías de síntesis de los sustratos funcionalizados, para las reacciones con el quitosano y producir los biopolímeros I y II. Se realizaron ensayos físicoquímicos para garantizar que los productos de reacción corresponden a los biopolímeros esperados.</p>
<p>2. Evaluar los cambios de la actividad clarificante del quitosano, utilizando los dos biopolímeros modificados de este.</p>	<p>Verificar que la actividad clarificante de los dos biopolímeros no sea menor a la del quitosano (sustrato de la reacción).</p>	<p>Se determinó que el biopolímero I tiene una capacidad de adsorber un 65.69 % de partículas en suspensión en muestras de agua contaminada (actividad clarificante) y el biopolímero II un 87.79%,</p>

		frente al 54.68% que presentó el quitosano.
3. Evaluar la capacidad de atrapar ión cianuro y ion fosfato por parte del biopolímero I y la capacidad de atrapar el Paraquat® por parte del biopolímero II.	Comprobar la capacidad de los biopolímeros de atrapar los aniones y moléculas propuestas.	Se determinó que el biopolímero I tiene la capacidad de atrapar un 64.08% de iones cianuro y el 83.56% de iones fosfato, en solución acuosa. Se determinó que el biopolímero II tiene una capacidad de retener el 87.93% del herbicida paraquat® y el biopolímero I un 46.55% en solución acuosa.

5.2 Impacto esperado

A partir de reactivos sencillos se potenció la síntesis de dos biopolímeros de origen natural y se contribuyó desde la ciencia básica a la resolución de problemas ambientales y al desarrollo económico del país, mejorando los procesos extractivos del subsuelo guatemalteco. Además se colocó a Guatemala en el mapa de los países que trabaja con quitosano y contribuyó a la investigación científica en nanomateriales, ya que las cavidades que se obtuvieron, están en el orden de nanómetros por lo que pueden ser potenciales polímeros para acomplejar otras moléculas.

Siendo Guatemala un país netamente agrícola, dependiente de los países industrializados en el uso de tecnología para biorremediación ambiental, el desarrollo potencial de estos biopolímeros contribuye a una mejor transferencia de conocimiento de la academia al campo.

6. Análisis y discusión de resultados

6.1 Síntesis del calix-pirrol y su funcionalización

En los últimos años el interés en la protección del medio ambiente, no sólo por el uso de productos elaborados a partir de recursos renovables naturales, sino también por el tratamiento de los contaminantes emergentes, es un tema que rápidamente va en aumento por sus múltiples aplicaciones.

Los trabajos de síntesis de biopolímeros son una respuesta a los movimientos verdes que buscan la reducción en la generación de desechos no biodegradables. Los biopolímeros se definen como polímeros que se derivan de fuentes renovables y que son biodegradables.

El quitosano es un biopolímero lineal de unidades de β -[1,4]-D-glucosamina que posee un grupo amino en su estructura y éste le confiere a la molécula un valor de pKa que ronda los 6,5, razón por la cual posee una ligera carga positiva, lo que puede generar un centro nucleofílico en la molécula sobre el cual se pueden dirigir reacciones para hacer modificaciones en el polímero, que le confieran características específicas.

La etapa 1 de la investigación buscó la elaboración de una metodología capaz de generar un biopolímero derivado del quitosano al que se adicionaría el calix-pirrol, como material adsorbente, basándose en las teorías de química supramolecular sobre los “fenómenos de inclusión”. El grupo más importante de compuestos utilizados en química supramolecular son los macrociclos, que incorporan los posibles sitios de unión para moléculas huésped. Estos macrociclos tienen diferentes grados de preorganización en sus cavidades, es decir las posiciones relativas de los sitios de unión pueden estar rígidamente fijadas en el espacio, para dirigir pares solitarios de electrones en la cavidad central, o pueden tener mayores grados de libertad conformacional. Los calix-pirrol son macrociclos que tienen la capacidad de atrapar aniones y moléculas neutras en medio de su estructura.

En química supramolecular hay un acto implícito de diseño en el uso de moléculas existentes, o en la síntesis de nuevas moléculas, para preparar conjuntos moleculares que tienen cualidades particularmente deseables. Al diseñar el biopolímero I se decidió utilizar como sustrato para la reacción de la formación del calix-pirrol a la vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), debido a que cuenta con una función carbonilo que puede reaccionar con el pirrol, por medio de una sustitución electrofílica aromática con catálisis ácida, para producir el calix[4]pirrol. La funcionalización del calix-pirrol para unirlo al quitosano se realizaría por medio del grupo hidroxilo de la vainillina, oxidándolo para producir un perácido. La vainillina fue seleccionada como sustrato también debido a que es una molécula de origen natural considerada como un sustrato amigable en los postulados de química verde.

Se planteó como objetivo metodológico que el procedimiento a establecer debería producir un 50% de rendimiento, como mínimo. El primer ensayo para determinar la metodología se realizó con el procedimiento propuesto para la etapa 1. El resultado se muestra en la Tabla 1 y el producto obtenido no cumple con las características físicas esperadas por lo que se concluye que la reacción produce posibles productos de descomposición por la oxidación de los sustratos debido al medio de reacción (Imagen 3). Por lo que se procede a hacer modificaciones a las condiciones de reacción (Ensayos 2-4) disminuyendo la energía del medio y cambiando el catalítico (un ácido de Lewis por un ácido de Bronsted-Lowry), pero los resultados son los mismos que en el ensayo 1, por lo que se decide cambiar la metodología (Imagen 4).

Se prueba la metodología propuesta por Rodríguez y Gómez (2008) para la síntesis de calix[4]pirrol a partir de acetona y pirrol, utilizando ácido sulfúrico como catalítico (ensayo 5). La reacción tiene resultados satisfactorios, ya que se produce el precipitado esperado pero con un rendimiento muy bajo (15.12%). Este producto no es posible funcionalizarlo para la reacción de la siguiente etapa de la síntesis del biopolímero I por lo que se decide utilizar esta metodología con la vainillina. Los resultados de los ensayos 6-8 siguen generando la oxidación de los sustratos por lo que se descarta la vainillina como sustrato para la síntesis del calix-pirrol.

El ensayo 9 muestra 4 diferentes moléculas que se seleccionaron para sintetizar con ellas el calix-pirrol debido a que son compuestos bifuncionales, poseen un grupo carbonilo, para reaccionar con el pirrol, y un grupo hidroxilo que luego puede funcionalizarse para enlazarlo al quitosano. Se utilizó la metodología de Rodríguez y Gómez (2008) obteniendo resultados no satisfactorios en todos los casos.

Se decidió probar la metodología de Rodríguez y Gómez (2008) con moléculas de cetonas líquidas con un mayor número de átomos de carbono que la acetona y se hicieron ensayos con la ciclohexanona y la ciclopentanona (ensayos 10 y 11) obteniendo en ambos casos precipitados con las características físicas esperadas y buenos rendimientos. Ambas moléculas no pueden funcionalizarse para reaccionar con el quitosano, por lo que no son útiles como sustratos para la siguiente fase, pero nos confirman que la metodología de Rodríguez y Gómez (2008) si puede modificarse utilizando otros sustratos de mayor tamaño.

Se decide buscar un compuesto bifuncional que posea la función carbonilo, pero sin la presencia del grupo hidroxilo, ya que todos los ensayos con este grupo presente en la molécula han dado problemas en los resultados. Se selecciona al grupo éster como parte de la molécula, ya que este grupo funcional puede utilizarse para generar el ácido carboxílico por una hidrólisis, y de esta manera el ácido posee la adecuada reactividad para producir la amida correspondiente con las unidades de glucosamina del quitosano en las condiciones establecidas para la etapa 3. De esta manera se realiza la funcionalización del sustrato de la etapa 2.

El ensayo 12 se realiza con el acetoacetato de etilo, molécula que posee un grupo éster y un grupo cetona en su estructura. No hay evidencia de reacción en el medio luego del tiempo establecido, por lo que se hacen algunas modificaciones en las condiciones y proporciones de los sustratos sin tener resultados satisfactorios. Luego de 24 horas el medio de reacción se torna turbio con un sólido suspendido que no puede ser aislado. No hay ninguna información reportada sobre las características físicas del calix-pirrol del

acetoacetato de etilo, por lo que no se descarta como sustrato. Se realiza una sustitución en el ensayo 13 para mejorar las características físicas del producto, la metodología seguida es la de Rodríguez y Gómez (2008), para ello se utiliza una relación molar de 3 moles de ciclohexanona (se selecciona debido a que es la reacción con el mejor rendimiento establecido en esta investigación), 1 mol de acetoacetato de etilo y 4 moles de pirrol (Imagen 5). El resultado es un precipitado color blanco que posee las características físicas esperadas, luego de tres repeticiones se estableció la reproductibilidad del método con un rendimiento promedio de 53.36%. El sólido fue purificado por recristalización. Se caracterizó por medio del punto de fusión (240°C), el cual fue significativamente distinto al punto de fusión del calix-pirrol de la ciclohexanona (131°C), lo que da un indicio que la reacción produjo un producto diferente y con una alta pureza, ya que el rango de fusión de los productos fue de menos de 2°C. Los resultados de la cromatografía en capa fina (Tabla 3) indican que el producto obtenido en el ensayo 13 es distinto en su estructura molecular al obtenido en el ensayo 10 y es distinto de los sustratos, lo que lleva a concluir que la reacción produjo el calix [4]pirrol del ciclohexanona y el acetoacetato de etilo (Imagen 6). La cromatografía en capa fina también indica que el calix-pirrol obtenido no es una mezcla de productos, ya que produjo únicamente una mancha en la placa cromatográfica al evaluarlo después de su purificación.

En los artículos consultados no se encuentra reportado la síntesis de calix[4] pirrol con base en ciclohexanona y acetoacetato de etilo, sin embargo si se encuentra información reportada para calix[4]pirroles con base en ciclohexanona y ácido pirúvico o con ácido levulínico, en estas investigaciones consultadas reportan características parecidas a los sólidos que se han obtenido en la realización de esta parte experimental especialmente los valores en puntos de fusión son muy parecidos al sólido obtenido, lo que nos da indicios de que el sólido obtenido tiene propiedades físicas parecidas al sólido reportado de calix[4] pirroles con base en otras moléculas con similares estructuras químicas a las utilizadas en la realización de este trabajo de investigación (Akar, A., 2005).

El análisis del espectro IR del producto del ensayo 13 (Imagen 1) nos da información que confirma los enlaces formados en la nueva molécula sintetizada del

calix[4]pirrol del ciclohexanona y el acetoacetato de etilo. El pico en 1682 y en 1447 son característicos del grupo acetato, los picos en 2927 y 1415 indican la presencia del ciclohexano y finalmente los picos en 4286, 2855 y 1574 confirman la presencia del pirrol. Este producto de reacción se hidroliza por catálisis ácida (ácido sulfúrico al 10%) para generar el sustrato funcionalizado para la etapa 3. Los resultados del punto de fusión y la cromatografía de capa fina confirman la reacción de hidrólisis para la formación del calix[4]pirrol del ciclohexanona y el ácido acetoacético, ya que la función éster se vuelve un ácido carboxílico.

6.2 Síntesis del biopolímero I

El biopolímero I se sintetizó con la metodología propuesta para la etapa 3, utilizando el reactivo DCC (diciclohexilcarbodiimida) como activador del ácido carboxílico para que se produjera la reacción con el grupo amino del quitosano y se generara la unión con el calix-pirrol por medio de la formación del grupo amida. Se utilizó un solvente con una constante dieléctrica baja, cloroformo, y la reacción se llevó a cabo a baja temperatura (Imagen 7) para minimizar las reacciones colaterales del reactivo y así mejorar el porcentaje de rendimiento de la reacción, el cual fue de 56.16% (Tabla 4) por lo que se logra el objetivo de la metodología de tener un rendimiento promedio mayor al 50% (Imagen 8). El biopolímero I se caracterizó por la determinación del punto de fusión (152°C) el cual fue distinto de los sustratos, lo que evidencia el cambio en su estructura molecular; y con el rango de fusión menor a 2°C se concluye que se obtuvo un producto con un alto grado de pureza. Los resultados de la cromatografía en capa fina (Tabla 5) confirman lo anterior ya que el producto de la reacción posee un Rf distinto al de los sustratos.

6.3 Síntesis del biopolímero II

La etapa 4 y 5 de la investigación buscaba la creación de una metodología para la síntesis de un biopolímero a partir de quitosano y β -ciclodextrina.

La β -ciclodextrina es un producto de origen natural que se genera por una reacción enzimática de las dextrinas del almidón (un biopolímero). Son macrociclos capaces de atrapar en su estructura moléculas neutras solubles en agua.

La etapa 4 consistió en funcionalizar la β -ciclodextrina para que reaccione con el quitosano, para ello se generó el óxido de la β -ciclodextrina por medio de una reacción con DDQ (2,3-diciano-5,6-dicloroparabenzquinona), que es un fuerte agente oxidante que se utilizó para que convertir el grupo hidroxilo de la β -ciclodextrina en un grupo ácido carboxílico. Esta reacción fue necesaria para generar siete unidades de ácido carboxílico en cada molécula β -ciclodextrina, y cada uno de estos grupos carbonilo son el centro de reacción para que se forme la amida con los grupos amino del quitosano. Los resultados de la síntesis se muestran en las tablas 6 y 7 y evidencian que la reacción procedió como era esperado, por lo que se concluye que el producto obtenido es el óxido de la β -ciclodextrina.

En la etapa 5 se utilizó la misma metodología con la que se produjo el biopolímero I, y se obtuvo un producto con las características físicas esperadas y con un mejor rendimiento (68.42%, se alcanza el objetivo de la metodología de tener un rendimiento promedio mayor al 50%.) que el obtenido con el biopolímero I (Tabla 8), esto debido a que el sustrato, el óxido de la β -ciclodextrina, poseía siete unidades de ácido carboxílico (debido a la oxidación realizada con el DDQ) en su estructura, dando como resultado un aumento en la efectividad de este reactivo para generar la reacción de formación del grupo amida con el quitosano; el biopolímero I únicamente poseía un grupo ácido carboxílico en la estructura del calix-pirrol que podía unirse al quitosano. Esto produjo un sólido muy compacto, distinto en su estado al biopolímero I que era un sólido granular muy suelto (con una consistencia como la de la leche en polvo), el biopolímero II en cambio generó cristales debido a una red muy compleja entre el polímero y el macrociclo.

El biopolímero II se caracterizó por la determinación del punto de fusión (264°C) el cual fue distinto de los sustratos, lo que evidencia el cambio en su estructura molecular; y con el rango de fusión menor a 2°C se concluye que se obtuvo un producto con un alto

grado de pureza. La diferencia tan marcada entre los puntos de fusión del biopolímero I y II se debe a que el biopolímero II formó redes más complejas al unirse la β -ciclodextrina con 7 unidades de glucosamina del quitosano, en cambio el biopolímero I no perdió la estructura lineal del quitosano debido a que los calix-pirrol sólo podían unirse uno por cada unidad de glucosamina del quitosano. Los resultados de la cromatografía en capa fina (Tabla 9) confirman lo anterior ya que el producto de la reacción posee un R_f distinto al de los sustratos.

6.4 Evaluación de la capacidad clarificante

En base a lo reportado teóricamente se conoce la propiedad de atrapar partículas en suspensión que posee el quitosano y que lo hacen tener muchas aplicaciones como agente clarificante en diferentes industrias. Con el desarrollo de estos dos nuevos biopolímeros se deseaba comprobar si existía un cambio significativo en esta propiedad debido al cambio estructural obtenido por la adición de los dos macrociclos a la molécula de quitosano. Debido al enfoque verde de esta investigación se decidió evaluar el quitosano como agente clarificante de muestras de agua contaminada (Imagen 9).

Los resultados demuestran que ambos biopolímeros presentan diferencias significativas en cuanto al porcentaje promedio de adsorción de partículas en suspensión (reportado en unidades nefelométricas) en comparación con el quitosano aislado (Tabla 10). La diferencia establecida para el biopolímero II, el cual presentó el valor más alto en medida de adsorción de turbidez en muestras de agua contaminada, fue de 33.11% más que el quitosano, esto probablemente se deba a la estructura tridimensional más compleja que adquirió el nuevo biopolímero por sus varias interacciones entre el macrociclo y el quitosano. Otra razón se debe a que el macrociclo del biopolímero II también tiene la capacidad de atrapar en su estructura partículas en suspensión y debido a que el tamaño del macrociclo de la β -ciclodextrina es mayor que el del calix-pirrol, hay una probabilidad mayor de que pueda atrapar moléculas más grandes suspendidas en el agua que el biopolímero I.

El biopolímero I presentó una diferencia de 11.01% más de capacidad de adsorber turbidez que el quitosano. Por lo que se puede concluir que los cambios estructurales realizados en las moléculas por la adición de macrocillos mejora favorablemente la capacidad de retener partículas en suspensión y disminuir la turbidez .

Ambos polímeros mostraron su capacidad para ser utilizados como filtros de aguas contaminadas con partículas suspendidas en procesos de remediación ambiental.

6.5 Evaluación de la capacidad de atrapar aniones por parte del biopolímero I

En base a estudios realizados y fundamentados en los principios de la química supramolecular se ha demostrado la capacidad de ciertos macrocillos, como los calix-pirrol, de atrapar aniones en solución. Esta capacidad no ha sido probada con los iones fosfato y cianuro debido al bajo interés presentado en los países desarrollados. En Guatemala estos aniones son frecuentemente encontrados como contaminantes emergentes del agua, por lo que es necesario el desarrollo de métodos para eliminarlos.

El biopolímero 1, dotado de un macrociclo de calix-pirrol presentó una capacidad de retención del ion cianuro (Tabla 11) del 64.08% de una muestra de agua contaminada con este anión. Demostrando que el biopolímero I tiene capacidad de atrapar iones de cianuro en solución acuosa. Se realizó un análisis comparativo con el quitosano, el cual no presenta una eficiente retención del ion cianuro al utilizarlo como filtro para aguas contaminadas. Por lo que se concluye que la capacidad de adsorción del cianuro en el biopolímero se debe al calix-pirrol introducido en la estructura de la nueva molécula.

También se evaluó la capacidad de atrapar el ion fosfato del biopolímero I y presentó un resultado del 83.56% de retención de este anión al utilizar este producto como filtro para una muestra de agua contaminada (Tabla 12). Lo que demuestra la afinidad del macrociclo del calix-pirrol por las cargas negativas, ya que el fosfato posee tres cargas negativas y el cianuro únicamente una. Esto se debe a que hacia el centro del calix-pirrol se

encuentran dirigidos los nitrógenos del pirrol que por la resonancia de esta molécula, estos átomos de nitrógeno pueden poseer cargas positivas, que serían las responsables de interactuar con los aniones para dejarlos retenidos supramolecularmente en el calix. Se realizó también un análisis comparativo con el quitasano, siendo casi despreciable su capacidad de atrapar el ión fosfato. Queda demostrado entonces que el biopolímero I tiene la capacidad de atrapar iones fosfato en solución acuosa y este efecto es debido al calix-pirrol en su estructura.

Se puede concluir que el biopolímero I puede ser utilizado como un filtro biodegradable para retener iones cianuro y fosfato disueltos en aguas contaminadas. Este biopolímero puede ser utilizado para desechos líquidos en las industrias extractivas, por su capacidad para atrapar cianuro libre y en la industria agrícola, por su afinidad a iones fosfatos.

6.6 Evaluación de la capacidad de atrapar el herbicida paraquat® por parte de los biopolímeros I y II

Finalmente se evaluó la capacidad de ambos biopolímeros de atrapar al herbicida paraquat® en muestras de agua contaminada. Esta prueba se tenía programada únicamente para el biopolímero II debido a que los antecedentes indicaban que el macrociclo de la β -ciclodextrina tiene la propiedad de atrapar moléculas neutras de tamaño moderado, esto debido a que hacia el centro del macrociclo de unidades de glucosa se dirigen los grupos hidroxilo que tienen la fuerza suficiente para retener moléculas que poseen enlaces con un momento dipolar elevado. Sin embargo hay publicaciones sobre el uso del calix[6,8]areno como material adsorbente del paraquat®, y debido a que los calix-areno tienen cierta similitud en su estructura con el calix-pirrol se decidió probar la efectividad del biopolímero I como adsorbente de este analito (García-Sosa, I., 2010).

Los resultados demuestran la alta efectividad por parte del biopolímero II para atrapar el paraquat® en su estructura, ya que retiene el 87.93% de este analito al utilizarlo como filtro en muestras de agua contaminada. (Tabla 13) El biopolímero I no presentó una

efectividad tan elevada, únicamente retiene el 46.55% del paraquat®, lo que lleva a concluir que los grupos hidroxilo de la β -ciclodextrina son los responsables de la retención de esta molécula, ya que los calix-arenos también poseen grupos hidroxilo dirigidos hacia el centro del calix y presentan una elevada efectividad para retener el paraquat®. Se realizó el análisis comparativo con el quitosano y este presentó una adsorción de únicamente el 10.34%, lo que lleva a concluir que la alta capacidad de retención de paraquat® del biopolímero II se debe a la adición del macrociclo de la β -ciclodextrina en su estructura.

Queda demostrado entonces que el biopolímero II tiene una elevada capacidad de atrapar el herbicida paraquat® en solución acuosa y el biopolímero I tiene una capacidad moderada de retener este mismo analito. Por lo que el biopolímero II puede tener una importante aplicación en la industria agrícola, por su alta capacidad de atrapar el paraquat® disuelto.

7. Conclusiones

- 7.1 Se logró desarrollar la metodología para producir el calix[4]pirrol funcionalizado para reaccionar con el quitosano, el cual se sintetizó a partir de pirrol, ciclohexanona y acetoacetato de etilo. Las reacciones involucradas en estas etapas de la investigación producen rendimientos mayores al 50%.
- 7.2 Se comprobó la efectividad de la metodología propuesta para sintetizar el Biopolímero I a partir de quitosano y calix[4]pirrol y se establecieron las condiciones para desarrollar la reacción con un rendimiento mayor al 50%.
- 7.3 Se comprobó la efectividad de la metodología propuesta para sintetizar el Biopolímero II a partir de quitosano y β -ciclodextrina (previamente funcionalizada para ésta reacción) y se establecieron las condiciones para desarrollar la reacción con un rendimiento mayor al 50%.
- 7.4 Los biopolímero I y II poseen un efecto clarificante, al utilizarlos como filtros de aguas contaminadas, mayor que el del quitosano. Los cambios estructurales realizados en las moléculas de los biopolímeros I y II, por la adición de los macrocilos al quitosano, mejoran favorablemente la capacidad de retener partículas en suspensión y disminuir la turbidez.
- 7.5 Se demostró que el biopolímero I tiene la capacidad de atrapar iones cianuro y fosfato en solución acuosa y se determina que este efecto es debido al calix-pirrol en su estructura.
- 7.6 Se determinó que el biopolímero II tiene una elevada capacidad de atrapar el herbicida paraquat® en solución acuosa y el biopolímero I tiene una capacidad moderada de retener esta molécula.
- 7.7 La estructura de la β -ciclodextrina, incluida en el biopolímero II, es la responsable de la capacidad de adsorción del paraquat® al utilizar el biopolímero como filtro de aguas contaminadas con este herbicida.
- 7.8 Los biopolímeros sintetizados pueden tener aplicación como filtros de agua, para desechos líquidos en las industrias extractivas, por su capacidad para atrapar cianuro libre; además de la industria agrícola, por su afinidad a iones fosfatos o pesticidas neutros.

8. Referencias

- Akar, A., Aydogan, A. (2005) Synthesis of Mes-tetra Acid and Ester Functionalized Calix (4)pyrroles. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 42(6), 931-934.
- Anzenbacher Jr, P., Nishiyabu, R., & Palacios, M. A. (2006). N-confused calix [4] pyrroles. *Coordination chemistry reviews*, 250(23), 2929-2938.
- Ayres, G. (1970). *Análisis Químico Cuantitativo*. Madrid, España. Ediciones del Castillo S.A. Segunda edición.
- Bartoli, R. (2002). Binding of Acetylcholine and Tetramethylammonium to a Cyclophane Receptor: Anion's Contribution to the Cation- π Interaction. *Journal of American Chemical Society*, 124, 8307-8315.
- Berlicka, A., Pacholska, E., & Latos-Grażyński, L. (2003). 10, 15-di (4-pyridyl)-5, 20-di (4-tolyl)-21-thiaporphyrin as a building block for porphyrin coordination arrays. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 7(01), 8-16.
- Bernardino, C.-C. (2002). Complexation of Calix[4]arene With Alkali Metal Cations: Conformational Binding Selectivity and Cation- π Driven Inclusion. *Supramolecular Chemistry*, 14(1), 57-66.
- Billes, M.-Z. (2002). Ab Initio Equilibrium Geometry and Vibrational Spectroscopic Study of 25,26,27,28- tetrahydroxycalix[4]arene. *Supramolecular Chemistry*, 14(5), 451-459.
- Bonomo, L., Solari, E., Toraman, G., Scopelliti, R., Floriani, C., & Latronico, M. (1999). A cylindrical cavity with two different hydrogen-binding boundaries: the calix [4] arene skeleton screwed onto the meso-positions of the calix [4] pyrrole†. *Chemical Communications*, (23), 2413-2414.
- Cafeo, G., Gargiulli, C., Gattuso, G., Kohnke, F. H., Notti, A., Occhipinti, S., ... & Parisi, M. F. (2002). Recognition and binding of paraquat® dichloride by

- cyclodextrin/calix [6] pyrrole binary host systems. *Tetrahedron letters*, 43(45), 8103-8106.
- D'aprano, S. M. (1999). Complexation of Li⁺, Na⁺ and K⁺ Ions by [222], [222D], [221], [221D] Cryptands in Acetonitrile at 25 °C: Conductometric Determination of the True Thermodynamic Formation Constants. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 35, 451-465.
- Danil de Namor, A.-A. N. (2011). Calixarene and Resorcurene Based Receptors: From Structural and Thermodynamic Studies to the Synthesis of a New Mercury(II) Selective Material. *Journal of Physical Chemistry B*, 115, 6922-6939.
- Danil de Namor, Z.-O. H. (1999). Solution Thermodynamics of the Reactants and Product Involved in the Complexation of a Calix(4)arene Derivative and the Silver Cation in Various Solvents. *Journal of Physical Chemistry B*, 103, 366-371.
- Dolenský, B., Kroulík, J., Král, V., Sessler, J. L., Dvůráková, H., Bour, P., ... Lynch, V. (2004). Calix [4] phyrins. Effect of peripheral substituents on conformational mobility and structure within a series of related systems. *Journal of the American Chemical Society*, 126(42), 13714-13722.
- Eaton, A. (Ed.) (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. New York, USA. American Public Health Association, American Water Works Association.
- Furer, B. Z. (2006). DFT and IR spectroscopic analysis of p-tert-butylthiacalix[4]arene. *Spectrochimica Acta Part A*, 63, 207-212.
- García-Sosa, I., Ramírez, F. (2010). Synthesis, solid and solution studies of paraquat dichloride calixarene complexes. Molecular modelling. *Journal of the Mexical Chemical Society*. 54(3), 143-152.

- Geier III, G. R., & Lindsey, J. S. (2004). Effects of aldehyde or dipyrromethane substituents on the reaction course leading to *meso*-substituted porphyrins. *Tetrahedron*, *60*(50), 11435-11444.
- Geier, G. R., & Lindsey, J. S. (1999). N-confused tetraphenylporphyrin and tetraphenylsapphyrin formation in one-flask syntheses of tetraphenylporphyrin. *The Journal of organic chemistry*, *64*(5), 1596-1603.
- Geier, G. R., Haynes, D. M., & Lindsey, J. S. (1999). An efficient one-flask synthesis of N-confused tetraphenylporphyrin. *Organic letters*, *1*(9), 1455-1458.
- Ghosh, A. (2004). A Perspective of One- Pot Pyrrole–Aldehyde Condensations as Versatile Self- Assembly Processes. *Angewandte Chemie International Edition*, *43*(15), 1918-1931.
- Ju Xie, W. P. (2013). Theoretical study on halide anion recognitions by pyrrole- and benzene-strapped calix[4]pyrroles. *Computational and Theoretical Chemistry*, *1*-8.
- Koenig, L. K. (20 de June de 1979). Host-Guest Complexation. 16. Synthesis and Cation Binding Characteristics of Macrocyclic Polyethers Containing Convergent Methoxyaryl Groups. *Journal of the American Chemical Society*, *101*(13), 3553-3566.
- Latimer, G. (Ed.) (2016). *The Official Methods of Analysis of AOAC International. United States of America*. AOAC International.
- Mikus, A., Bielińska, M. E., Lipińska, T., & Ostrowski, S. (2011). Synthesis of *meso*-TPP Revisited: Its “Green-Oriented” Optimization Under Controlled Microwave Heating. *Synthetic Communications*, *41*(24), 3703-3713.
- Park, J. H., Cho, Y. W., Chung, H., Kwon, I. C., & Jeong, S. Y. (2003). Synthesis and characterization of sugar-bearing chitosan derivatives: aqueous solubility and biodegradability. *Biomacromolecules*, *4*(4), 1087-1091.

- Pushpan, S. K., Srinivasan, A., Anand, V. R. G., Chandrashekar, T. K., Subramanian, A., Roy, R., ... & Sakata, Y. (2001). Inverted meso-Aryl Porphyrins with Heteroatoms; Characterization of Thia, Seleno, and Oxa N-Confused Porphyrins. *The Journal of organic chemistry*, 66(1), 153-161.
- Rodríguez, M., Gómez, F. (2008). *Curso experimental en química orgánica*. Madrid, España. Editorial Síntesis.
- Sessler, J. L., Gross, D. E., Cho, W. S., Lynch, V. M., Schmidtchen, F. P., Bates, G. W., & Gale, P. A. (2006). Calix [4] pyrrole as a chloride anion receptor: solvent and counteraction effects. *Journal of the American Chemical Society*, 128(37), 12281-12288.
- Takeda, Y. (1980). A conductance study of the complexation reaction of Dibenzo -24 - crown - 8 with Alkali Metal Ions in Propylene Carbonate and Methanol. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 53(6), 1720-1722.
- Verdejo, B., Gil-Ramírez, G., & Ballester, P. (2009). Molecular Recognition of Pyridine N-Oxides in Water Using Calix [4] pyrrole Receptors. *Journal of the American Chemical Society*, 131(9), 3178-3179.

9. Apéndice

9.1 Imágenes

Imagen 3. Medio de reacción ensayo 1 de la etapa 1



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 4. Productos de ensayos 1-4 de la etapa 1 (izquierda a derecha).



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 5. Medio de reacción ensayo 13 etapa 1.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 6. Producto ensayo de la 13 etapa 1.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 7. Medio de reacción síntesis biopolímeros I y II (izquierda a derecha)



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 8. Biopolímero I recristalizado



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 9. Turbidímetro y muestras de aguas filtradas para evaluar la propiedad clarificante



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 10. Titulación del ion cianuro con el método de Liebig.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

Imagen 11. Determinación de paraquat® en muestras de agua filtradas con los biopolímeros I y II



Fuente: Datos experimentales obtenidos en la realización del proyecto, edificio T-12, USAC

10. Actividades de gestión, vinculación y divulgación

Se divulgaron los resultados de la investigación completa en los cursos del departamento de Química Orgánica (Química Orgánica I, Química Orgánica III, Química Orgánica V) que se imparten en la escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Se divulgaron los resultados por medio de conferencias y actividades dentro de la escuela de Química a profesionales y estudiantes: Simposio de química aplicada, día del químico 2016, organizado por la Escuela de Química, USAC.

Se someterán los resultados de la investigación a la Revista Ciencia, Tecnología y Salud; editada por DIGI.

11. Orden de pago

Listado de todos los integrantes del equipo de investigación.

Contratados por contraparte y colaboradores	
Br. Luis Alberto Aguilar Prado	Auxiliar II

CONTRATADOS POR LA DIRECCIÓN GENEAL DE INVESTIGACIÓN					
Nombre	Categoría	Registro de Personal	PAGO DIGI		FIRMA
			SI	NO	
Licda. Diana Pinagel	Coordinadora	7823		✓	
Licda. Jaqueline Amelia Carrera Monterroso	Investigador I	20111066	✓		

 Licda. Diana Pinagel
 Coordinador del proyecto de investigación
 Universitario

 Dra. Hilda Valencia de Abril
 Vo.Bo. Coordinador del programa

 Vo.Bo. Coordinador General de programas
 Ing. Agr. Julio Rufino Salazar