



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Programa de Doctorado en Ciencias con mención en Química

**SÍNTESIS DE UN SENSOR POLIMÉRICO HIDROFÍLICO Y SU APLICACIÓN
EN LA DETECCIÓN COLORIMÉTRICA DE PLAGUICIDAS FENÓLICOS,
MEDIANTE REACCIONES DE ACOPLAMIENTO DIAZOICO**

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química

SAUL ENRIQUE BUSTAMANTE FONSECA
CONCEPCIÓN-CHILE
2018

Profesor Guía: Dr. Bernabé L. Rivas Quiroz
Departamento de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad de Concepción

AGRADECIMIENTOS

“Cuando Dios te permita llegar a la cima, no lo hace para que te quedes ahí, lo hace para que desde lo alto puedas ver cuál será tu siguiente meta y bajas a conquistarla”.

Mis agradecimientos están dirigidos a todas las personas y entidades que hicieron posible la realización exitosa de esta investigación:

A mi madre Mirian Del Carmen Fonseca Monzón, por ser el aliciente principal de mi esfuerzo y dedicación. Por enseñarme a luchar humildemente por las metas que quiero ver realizadas.

A mi Director de tesis Dr. Bernabé L. Rivas, por su gran generosidad, paciencia y colaboración, además de sus valiosas enseñanzas y excelente aporte a mi formación académica. A los doctores José Miguel García, Saúl Vallejos, Félix García y demás integrantes del Grupo de Polímeros de la Universidad de Burgos-España, por todo su apoyo incondicional en las estancias realizadas a lo largo del desarrollo experimental de la tesis. A los doctores Julio Belmar, Bruno Urbano y Marcela Urzúa, miembros de la Comisión Evaluadora de Tesis, por sus correcciones y sugerencias.

A mis compañeros de estudio, Yadiris García, Juan David Giraldo y Daniela Belén, por su excelente amistad y ser cómplices de las largas jornadas de estudio en el transcurso del doctorado.

A los integrantes del Grupo de Polímeros Funcionales de la Universidad de Concepción-Chile, dirigido por el profesor Bernabé Rivas Quiroz: Dr. Bruno Urbano, Lorena Leiton, Elizabeth Elgueta; por compartir sus conocimientos en el área y acompañarme diariamente en la parte experimental de la investigación.

Mis más sinceros agradecimientos a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, CONICYT, por la Beca “Doctorado nacional para estudiantes extranjeros sin permanencia definitiva en Chile, año 2014”.

Tabla de contenido

	Pág.
Índice de Figuras.....	IX
Índice de Tablas.....	XIV
Resumen.....	XV
Abstract.....	XVI
Capítulo 1: Introducción.....	1
Marco teórico.....	1
1.1 Plaguicidas.....	1
1.2 Componentes de un plaguicida comercial.....	1
1.3 Clasificación de los plaguicidas.....	2
1.4 Compuestos fenólicos. Distribución en el medio ambiente y contaminación del agua.....	3
1.5 Compuestos fenólicos objeto de estudio.....	5
1.6 Teoría del color en el reconocimiento molecular.....	8
1.6.1 Teoría de orbitales moleculares.....	10

1.6.2	Modelo de color RGB.....	12
1.7	Sensores químicos.....	13
1.8	Estrategias en el diseño de sensores moleculares ópticos.....	14
1.9	Reacciones de acoplamiento diazoico en la síntesis de colorantes.....	17
1.10	Sensores cromogénicos soportados en matrices poliméricas.....	20
1.11	Problemática y antecedentes de la propuesta de tesis.....	23
1.12	Hipótesis.....	28
1.13	Objetivos.....	28
1.13.1	Objetivo general.....	28
1.13.2	Objetivos específicos.....	28
Capítulo 2: Materiales y Métodos.....		29
2.1	Solventes, reactivos y materiales.....	29
2.2	Técnicas espectroscópicas de análisis y caracterización térmica y mecánica.....	30
2.3	Síntesis y caracterización química de azoderivados en solución.....	30
2.3.1	Procedimiento general para la síntesis de azoderivados.....	32
2.3.2	Caracterización de 6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol (V).....	33

2.3.3	Caracterización de 4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol (VI).....	34
2.3.4	Caracterización de 4-(p-metilfenilazo)-1-naftol (VII).....	34
2.4	Síntesis y caracterización química del sensor polimérico y de azoderivados.....	34
2.4.1	Síntesis de P₁ (VP-MMA-4-VA, 0.05 mol% 4-VA, 100 μm de espesor)...	35
2.4.2	Síntesis de P₂ (VP-MMA-4-VA, 0.25 mol% 4-VA, 100 μm de espesor).....	35
2.4.3	Síntesis de P₃ (VP-MMA-4-VA, 10 mol% 4-VA, 100 μm de espesor).....	35
2.4.4	Síntesis de P_{4CT} (VP-MMA, 100 μm de espesor).....	36
2.4.5	Síntesis de P_{4CQ} (VP-MMA, 10 μm de espesor).....	36
2.4.6	Síntesis de P₅ (VP-MMA-4-VA, 1 mol% 4-VA, 10 μm de espesor).....	36
2.4.7	Síntesis de azoderivados en P₅.....	36
2.4.8.	Caracterización química de P_{4CQ}, P₅ y de azoderivados.....	37
2.4.8.1	P_{4CQ} (PV-MMA).....	37
2.4.8.2	P₅ (VP-MMA-4-VA).....	37
2.4.8.3	P_{5A} - Azoderivado de 3-MF.....	38
2.4.8.4	P_{5C} - Azoderivado de 2,4-DMF.....	38
2.4.8.5	P_{5D} - Azoderivado de 1-NAF.....	38

2.5	Caracterización térmica, mecánica y capacidad de hinchamiento en agua del sensor polimérico.....	38
2.6	Medidas preliminares para ajustar la cantidad de 4-vinilanilina en el sensor polimérico.....	40
2.7	Tiempo de respuesta colorimétrica del sensor polimérico.....	41
2.8	Estabilidad de la sal de diazonio dentro del sensor polimérico.....	42
2.9	Curvas de calibración colorimétricas con los fenoles de estudio.....	43
2.10	Determinación de los límites de detección y cuantificación de fenol del sensor polimérico, por espectroscopía de absorción UV-Vis y por parámetros RGB de color digital.....	44
Capítulo 3: Resultados y Discusión.....		46
3.1	Elucidación estructural de azoderivados sintetizados en solución.....	46
3.1.1	6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol (V, diazotación en orto con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).....	46
3.1.2	4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol (VI, diazotación en para con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).....	49
3.1.3	4-(p-metilfenilazo)-1-naftol (VII, diazotación en para con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).....	54
3.2	Elucidación estructural de los polímeros sintetizados y de azoderivados...	59

3.2.1	P _{4CQ} (VP-MMA).....	59
3.2.2	P ₅ (VP-MMA-4-VA).....	60
3.2.3	P _{5D} (VP- MMA-4-VA + 1-NAF).....	61
3.3	Propiedades térmicas y capacidad de hinchamiento en agua.....	62
3.4	Propiedades mecánicas.....	67
3.5	Tiempo de respuesta del sensor polimérico con un 0.05 mol% (P ₁) y 0.25 mol% (P ₂) de 4-VA.....	67
3.6	Estabilidad de la sal de diazonio dentro del sensor polimérico.....	68
3.7	Medidas colorimétricas.....	70
3.7.1	Colores obtenidos en la detección colorimétrica de los fenoles de estudio...	70
3.7.2	Evaluación de la interferencia del hidróxido de sodio en las medidas de UV-Vis.....	71
3.7.3	Curvas de calibración colorimétricas de los fenoles de estudio. Determinación de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de fenol del sensor polimérico por UV-Vis y RGB de color digital.....	72
	Conclusiones.....	80
	Perspectivas.....	81
	Referencias Bibliográficas.....	82
	Anexos.....	94

Anexo A:	Espectros FT-IR de azoderivados fenólicos sintetizados en P ₅	94
Figura A.1.	Espectro IR de P _{5A} (Azo 3-MF).....	94
Figura A.2.	Espectro IR de P _{5C} (Azo 2,4-DMF).....	94
Anexo B:	Curvas de calibración colorimétricas, UV-Vis y RGB de color digital de fenoles de estudio. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ).....	95
Figura B.1.	A) Fotografía digital de la reacción de P ₁ con 2-FF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. B) Espectros y curva de calibración UV-Vis a 464 nm, valores de LOD y LOQ. C) Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.....	95
Figura B.2.	A) Fotografía digital de la reacción de P ₁ con 2,4-DMF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. B) Espectros y curva de calibración UV-Vis a 432 nm, valores de LOD y LOQ. C) Curva de calibración RGB en relación a la componente "R", valores de LOD y LOQ.....	96
Figura B.3.	A) Fotografía digital de la reacción de P ₂ con 4-CIF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. B) Espectros y curva de calibración UV-Vis a 476 nm, valores de LOD y LOQ. C) Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ.....	97

Índice de Figuras

Pág.

Figura 1.1. Espectro ultravioleta-visible.....	8
Figura 1.2. Absorción de colores por una sustancia y colores observados o transmitidos.....	9
Figura 1.3. Formación de orbitales moleculares π y π^* por traslapamiento lateral de dos orbitales p.....	11
Figura 1.4. Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles en éstos.....	12
Figura 1.5. Desplazamiento batocrómico en la anilina inducido por el aumento del sistema conjugado.....	14
Figura 1.6. Sistema, unidad coordinante-unidad indicadora (proceso reversible).....	15
Figura 1.7. Sensor cromogénico en el cual se produce una interacción reversible del analito con la unidad coordinante.....	16
Figura 1.8. Sistema del dosímetro químico (proceso irreversible).....	16
Figura 1.9. Dosímetro químico que permite el reconocimiento del anión bisulfuro mediante una reacción química irreversible.....	17
Figura 1.10. Etapas en la formación de un compuesto azoico (azobenceno fenólico).....	18
Figura 1.11. Sensor azoico del tipo azobenceno que permite la detección colorimétrica de cisteína.....	19

Figura 1.12. Sensor azoico del tipo azobenceno que permite la detección visual del ion cianuro.....	19
Figura 1.13. Sensor polimérico que permite la detección colorimétrica de vapores de aminas biógenas.....	22
Figura 1.14. Sensor polimérico que permite el reconocimiento colorimétrico de hierro (III) en medio acuoso, en vino y en muestras de suero sanguíneo humano.....	23
Figura 1.15. Sensor cromogénico azoico que permite el reconocimiento del anión cianuro.....	24
Figura 1.16. Sensor cromogénico azoico que permite el reconocimiento selectivo del catión bario.....	24
Figura 1.17. Sensor cromogénico azoico que permite la detección de anfetamina.....	25
Figura 1.18. Síntesis de un derivado azoico que permite la identificación visual de 2-naftol.....	26
Figura 1.19. Síntesis de un azoderivado que permite el reconocimiento colorimétrico de estradiol.....	27
Figura 2.1. Reacciones de acoplamiento diazoico en solución con los fenoles ensayados (2,4-DMF, 3-MF y 1-NAF).....	31
Figura 2.2. Porta muestras hechos en impresora 3D. Estos contienen espacios redondos de 8 mm de diámetro donde se insertan los discos poliméricos.....	41

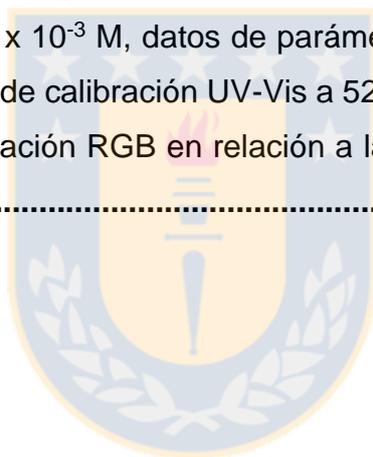
Figura 3.1. Espectro FT-IR del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol).....	46
Figura 3.2. Espectro RMN ¹ H del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol).....	48
Figura 3.3. Espectro RMN ¹³ C del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol).....	49
Figura 3.4. Espectro FT-IR del azoderivado VI (6-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol).....	50
Figura 3.5. Espectro RMN ¹ H del azoderivado VI (4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol).....	51
Figura 3.6. Espectro RMN ¹³ C del azoderivado VI (4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol).....	53
Figura 3.7. Espectro FT-IR del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol).....	54
Figura 3.8. Espectro RMN ¹ H del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol).....	55
Figura 3.9. Espectro RMN ¹³ C del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol).....	57
Figura 3.10. Espectro FT-IR de P _{4CQ} (MMA-VP).....	59
Figura 3.11. Espectro FT-IR de P ₅ (MMA-VP-4-VA).....	60
Figura 3.12. Espectro FT-IR de P _{5D} (MMA-VP-4-VA + 1-NAF).....	61

Figura 3.13. Superposición de los espectro FT-IR de P ₅ (MMA-VP-4-VA) y P _{5D} (MMA-VP-4-VA + 1-NAF).....	62
Figura 3.14. Termogramas TGA del sensor polimérico. A) Sin 4-VA (P _{4CT}), B) Con 0.05 mol% de 4-VA (P ₁) y C) Con 0.25 mol% de 4-VA (P ₂).....	63
Figura 3.15. Termogramas DSC del sensor polimérico. A) Sin 4-VA (P _{4CT}), B) Con 0.05 mol% de 4-VA (P ₁) y 0.25 mol% de 4-VA (P ₂).....	65
Figura 3.16. Tiempo de respuesta de las películas poliméricas P ₁ (0.05 mol% de 4-VA) y P ₂ (0.25 mol% de 4-VA), al sumergirlas en una solución básica (NaOH 0.1 M) 1.0 x 10 ⁻² M de 1-NAF.....	68
Figura 3.17. Ensayo de degradación, a través del tiempo, de la sal de diazonio formada en P ₁ a temperatura ambiente.....	69
Figura 3.18. Espectros UV-Vis, al diluir con agua destilada la solución básica madre de 3-MF.....	71
Figura 3.19. Espectros UV-Vis de los copolímeros P ₁ y P ₂ , usando discos de 100 μm de espesor.....	72
Figura 3.20. A) Fotografía digital de la reacción de P ₁ con 3-MF en el rango de 2.5 x 10 ⁻⁶ - 1.0 x 10 ⁻² M, datos de parámetros RGB y absorbancias. B) Espectros y curva de calibración UV-Vis a 440 nm, valores de LOD y LOQ. C) Curva de calibración RGB en relación a la componente “B”, valores de LOD y LOQ.....	74

Figura 3.21. A) Fotografía digital de la reacción de P₁ con 1-NAF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 509 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente “B”, valores de LOD y LOQ.....**75**

Figura 3.22. A) Fotografía digital de la reacción de P₂ con FENHEXA en el rango de 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 468 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente “B”, valores de LOD y LOQ.....**76**

Figura 3.23. A) Fotografía digital de la reacción de P₂ con 1,8-DHAQ en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-3} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 525 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente “R”, valores de LOD y LOQ.....**78**



Índice de Tablas

Pág.

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad.....	3
Tabla 1.2. Compuestos fenólicos objeto de estudio (ingredientes activos de plaguicidas). Algunas de sus propiedades fisicoquímicas.....	6
Tabla 1.3. Compuestos fenólicos objeto de estudio (sustancias tóxicas de importancia ambiental). Algunas de sus propiedades fisicoquímicas.....	7
Tabla 1.4. Rango de longitudes de onda de absorción y color observado.....	10
Tabla 2.1. Ensayo de la estabilidad de la sal de diazonio dentro de P ₁	42
Tabla 3.1. Capacidad de hinchamiento en agua, propiedades térmicas y mecánicas de P ₁ y P ₂	66
Tabla 3.2. Colores obtenidos a partir de la reacción de P ₁ (0.05 mol% 4-VA) y P ₂ (0.25 mol% 4-VA) con los fenoles de estudio.....	70
Tabla 3.3. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de los fenoles estudiados, al usar los copolímeros P ₁ y P ₂ . Rango de concentración molar utilizado.....	79

Resumen.

Muchos de los compuestos fenólicos usados en la preparación de plaguicidas o generados en su degradación, pueden depositarse en ecosistemas acuáticos, representando un riesgo potencial tanto para el medio ambiente como para la salud humana, debido a su alta toxicidad. Esto exige disponer de nuevos y cada vez más sofisticados sistemas de detección. En este sentido en los últimos años ha tomado gran importancia el diseño de sistemas de sensores para el reconocimiento colorimétrico de fenoles nocivos. En este aspecto, las reacciones de acoplamiento diazoico llevadas a cabo en matrices poliméricas representan una excelente técnica rápida y económica, puesto que permiten el reconocimiento visual de fenoles contaminantes.

En la presente tesis de doctorado se sintetizó un sensor polimérico hidrofílico, a partir de los monómeros vinílicos *N*-vinilpirrolidona, metacrilato de metilo y 4-vinilanilina (molécula sensora), con la capacidad de detectar fenoles nocivos a través de cambios de color. El sensor fue ensayado con: 2,4-dimetilfenol, 2-fenilfenol, 3-metilfenol, y fenhexamida (ingredientes activos de plaguicidas); 1-naftol, 4-clorofenol y 1,8-dihidroxiantraquinona (fenoles tóxicos de importancia ambiental). Con 0.05 mol% de 4-vinilanilina, el sensor polimérico es incoloro (P_1), y es capaz de reconocer: 2,4-dimetilfenol, con cambio de color a salmón claro y límite de detección (LOD: limit of detection) de 151 ppb; 2-fenilfenol y 3-metilfenol, con cambio de color a amarillo intenso y LODs de 133 y 135 ppb, respectivamente; 1-naftol, con cambio de color a rojo claro y LOD de 121 ppb. Al incrementar la concentración de 4-vinilanilina a 0.25 mol%, el sensor es incoloro (P_2), y es capaz de reconocer: 4-clorofenol, con cambio de color a naranja rojizo y LOD de 326 ppb; 1,8-dihidroxiantraquinona, con cambio de color a morado intenso y LOD de 276 ppb; fenhexamida, con cambio de color a café claro y LOD de 193 ppb. Los valores de LOD mencionados anteriormente, se determinaron por espectroscopía de absorción UV-Vis. La caracterización química del sensor polimérico se realizó por microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM). También se midieron algunas de sus propiedades térmicas tales como, temperatura de máxima degradación (T_{max}) y temperatura de transición vítrea (T_g), y mecánicas como el módulo de Young y porcentaje de deformación antes de la rotura.

Abstract

Many of the phenolic compounds used in the preparation of pesticides or generated during their degradation can be deposited in aquatic ecosystems, representing a potential risk for both the environment and human health due to its high toxicity. That requires new and increasingly sophisticated detection systems. In that sense, in recent years, the design of sensor systems for the colorimetric recognition of harmful phenols has taken great importance. In that aspect, the diazo coupling reactions carried out in polymeric matrices represent an excellent fast and economic technique, since they allow the visual recognition of contaminating phenols.

In this PhD thesis, a hydrophilic polymeric sensor was synthesized from the vinyl monomers *N*-vinylpyrrolidone, methyl methacrylate and 4-vinylaniline (sensor molecule), with the ability to detect harmful phenols through color changes. The sensor was tested with: 2,4-dimethylphenol, 2-phenylphenol, 3-methylphenol, and fenhexamide (active ingredients of pesticides); 1-naphthol, 4-chlorophenol and 1,8-dihydroxyanthraquinone (toxic phenols of environmental importance). With 0.05 mol% of 4-vinylaniline the polymeric sensor is colorless (P_1), and is able to recognize: 2,4-dimethylphenol, with a color change to light salmon and a limit of detection (LOD) of 151 ppb; 2-phenylphenol and 3-methylphenol, with a color change to intense yellow and a LOD of 133 and 135 ppb, respectively; 1-naphthol with a color change to light red and a LOD of 121 ppb. By increasing the concentration of 4-vinylaniline to 0.25 mol%, the sensor is colorless and is able to recognize: 4-chlorophenol, with a color change to reddish orange and a LOD of 326 ppb; 1,8-dihydroxyanthraquinone, with a color change to deep purple and a LOD of 276 ppb; fenhexamide, with a color change to light brown and a LOD of 193 ppb. The LOD values mentioned above, were determined by UV-Vis absorption spectroscopy. The chemical characterization of the polymeric sensor was carried out by Fourier Transform Infrared Microspectroscopy (FTIRM). Some of its thermal properties were also measured such as, maximum degradation temperature (T_{max}) y vitrea transition temperature (T_g), and mechanical such as, Young's modulus and percentage of deformation before breaking.

Capítulo 1: Introducción.

Marco teórico.

1.1. Plaguicidas.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (en inglés FAO) los define como “cualquier sustancia o mezclas de sustancias usadas para prevenir, destruir o controlar una plaga, incluyendo vectores de enfermedades humanas o de otros animales, especies no deseadas de plantas o animales que causen daños o interfieran con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de la madera o alimentos para animales, o sustancias que pueden administrarse a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye sustancias destinadas para usarlas como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, para prevenir la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas sobre cultivos antes o después de la cosecha, para proteger el deterioro durante el almacenamiento y transporte”.¹

En general, se puede decir que los plaguicidas son productos químicos utilizados para combatir o controlar animales, vegetales y hongos considerados plaga, cuando por su cantidad, pueden ocasionar daño a los cultivos, la salud o el ambiente. Hoy en día no se puede pensar en prescindir de los plaguicidas, sobre todo en la explotación agropecuaria, donde las plagas constituyen uno de los factores que ocasionan mayores pérdidas económicas, disminuyendo el rendimiento y aumentando los costos de producción.²

1.2. Componentes de un plaguicida comercial.

Sustancia o ingrediente activo: es el componente que le confiere la acción biológica al plaguicida y es además, el que contiene el efecto tóxico del producto.

Aditivos: son componentes inertes o adyuvantes, que se agregan al componente activo para mejorar las propiedades físicas y químicas de las formulaciones.

Adherentes: son adyuvantes destinados a aumentar la adherencia de un ingrediente activo.

Emulsionantes: son adyuvantes que permiten que el ingrediente activo se mezcle con el agua formando una emulsión y aumenta la estabilidad de ésta.

Humectantes: son adyuvantes que disminuyen la tensión superficial de un líquido aumentando la tendencia de éste a establecer contacto con la superficie de un sólido.³

1.3. Clasificación de los plaguicidas.

Debido a la gran variedad de plaguicidas, existen diferentes formas de clasificarlos, ya sea considerando la plaga a la que va dirigida la acción, su toxicidad o su estructura química.

- ❖ **Considerando la plaga a la que va dirigida la acción**, pueden clasificarse en: herbicidas, fungicidas, insecticidas, bactericidas, nematocidas, acaricidas, molusquicidas, rodenticidas, entre otros.⁴
- ❖ **Teniendo en cuenta su toxicidad**, la OMS realiza una clasificación de acuerdo al grado de peligrosidad o grado de toxicidad aguda.⁵ Esta clasificación es la que adoptan gran parte de los países de América Latina (Tabla 1.1).

La **toxicidad** puede definirse como la capacidad inherente de un plaguicida para producir daño a un organismo vivo o provocar su muerte.

Uno de los métodos utilizados para expresar la toxicidad es la dosis letal media (DL₅₀), que corresponde a la cantidad del producto necesaria para causar la muerte del 50 % de los organismos sobre los cuales se aplicó el ensayo.

Generalmente, los ensayos se hacen con ratas, y de estas mediciones se estima el efecto que puede tener en los seres humanos.³

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad.

Clase	DL ₅₀ Aguda (Ratas) mg/Kg de Plaguicida Formulado			
	Oral		Dérmica	
	Sólidos*	Líquidos*	Sólidos*	Líquidos*
Ia extremadamente peligroso	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib altamente peligroso	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
II moderadamente peligroso	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III ligeramente peligroso	más de 500	más de 2000	más de 1000	más de 4000

* Se refieren al estado físico del producto o formulación que se está clasificando.

❖ **De acuerdo con su estructura química**, los plaguicidas se clasifican en diferentes grupos o familias, dentro de los cuales se resaltan: los organoclorados, organofosforados, carbamatos, peritriinas y piretroides, derivados del ácido fenoxiacético, compuestos fenólicos, otros.⁶ En esta tesis nos referiremos solamente a un grupo relevante de plaguicidas, la familia de los compuestos fenólicos, por el daño que causan al medio ambiente, a la salud humana y por su gran demanda de uso.

1.4. Compuestos fenólicos. Distribución en el medio ambiente y contaminación del agua.

Los fenoles y sus derivados comúnmente existen en el medio ambiente. Estos compuestos pueden estar sustituidos con átomos de cloro (clorofenoles), pueden estar nitrados (nitrofenoles), metilados (cresoles o metilfenoles) o arilados (fenilfenoles).⁷ Pueden poseer además, dos núcleos fenólicos, como es el caso de las antraquinonas 1,8-dihidroxiladas.⁸

Existen fenoles de origen antropogénico en el medio ambiente, debido a la actividad de las industrias química, petrolera, farmacéutica o tintorera, entre otras. Los compuestos penetran los ecosistemas como resultado del drenaje de las aguas residuales municipales o industriales a las aguas superficiales.⁹ La presencia de fenoles en el medio ambiente también se debe a la producción y el uso de numerosos plaguicidas. El componente activo fenólico de tales productos, además de ejercer su acción biológica en el sitio de aplicación, puede alcanzar diferentes ecosistemas. Los plaguicidas fenólicos más usados y otros distintos a esta clase que por degradación producen este tipo de sustancias son: 2,4-dimetilfenol, 3-metilfenol, 2-fenilfenol, fenhexamida;¹⁰⁻¹² los fenoxiherbicidas tales como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)¹³ y el ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético (MCPA),¹⁴ que por biodegradación producen 2,4-diclorofenol, 2-clorofenol y 4-clorofenol (2,4-D),^{7,15} y 4-cloro-2-metilfenol (MCPA);¹⁶ el carbarilo (N-metilcarbamato de 1-naftilo), que por descomposición alcalina forma 1-naftol.¹⁷ Es importante mencionar que el 4-clorofenol también se puede formar en el tratamiento de aguas destinadas para el consumo humano, cuando se usa cloro para su desinfección.¹⁸

Otra sustancia fenólica que merece la atención es la 1,8-dihidroxiantraquinona, por demostrar un grado alto de toxicidad.¹⁹ Este compuesto es el núcleo principal del componente activo conocido como "Fisciona" (1,8-dihidroxi-3-metoxi-6-metilntraquinona),²⁰ empleado en la elaboración del plaguicida comercial "Regalia Maxx".

Algunos fenoles se forman por procesos naturales.²¹ Compuestos como el fenol y p-cresol, se originan a partir de compuestos no tóxicos tales como la tirosina.⁷ Además, un gran número de compuestos fenólicos clorados pueden formarse a través de procesos bioquímicos y geoquímicos.²²

Los compuestos fenólicos se han definido como contaminantes peligrosos debido a su toxicidad y persistencia en el medio ambiente.²³ Además de ser dañinos para los humanos y los animales, le dan un sabor y olor indeseable al agua potable.²⁴ En general, los contenidos de monofenoles, difenoles, tri- y tetrafenoles, en aguas naturales y aguas de bebidas oscilan entre 1 y 10 µg/L, aportando a estas un desagradable gusto "medicamentoso", cuyo umbral de percepción es tan bajo como 0.1 a 1.0 µg/L. Toxicológicamente, niveles de 1 mg/L (1 ppm), de fenoles en aguas naturales resultan tóxicos para los peces,

mientras que concentraciones menores afectan a otros organismos acuáticos, como moluscos, algas, protozoos y bacterias.²⁵ La FDA (Food and Drug Administration: Administración de Alimentos y Medicamentos), agencia del gobierno de los estados unidos responsable de la regulación de alimentos, establece que la concentración de fenol en el agua en botella no debe exceder 0.001 mg/L (1 ppb).²⁶

El ambiente acuático es altamente complejo y diverso. Incluye distintos tipos de ecosistemas tales como, lagos, arroyos, lagunas, ríos, estuarios, y las aguas profundas de los océanos. Todos ellos tienen diferentes componentes bióticos y abióticos con características únicas.²⁷ La contaminación de estos recursos hídricos por plaguicidas (incluyendo los del grupo fenólico), se da por diferentes vías, entre ellas están: por aplicación directa, arrastre del plaguicida de terrenos fumigados por acción de las aguas lluvias, por la fumigación aérea cerca de los cursos de agua, por la precipitación de lluvias que llevan partículas suspendidas y por los vertimientos industriales. De esta forma se puede señalar que el movimiento de los plaguicidas hacia las aguas superficiales depende de factores como: el tiempo entre la aplicación y la primera lluvia o riego que produzca arrastre, la intensidad de la lluvia, distancia entre las áreas tratadas y los cuerpos de aguas, cantidad de plaguicidas y método de aplicación, solubilidad en el agua y textura y contenido de humedad del suelo.²⁸

Los efectos de los plaguicidas en la salud humana pueden ser provocados entre otras causas por consumir agua con dichos contaminantes, frecuentemente en zonas rurales donde no se cuenta con sistemas de abastecimiento de agua potable.²⁹

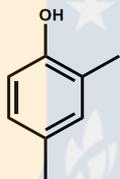
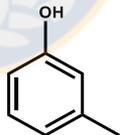
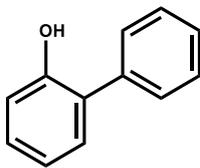
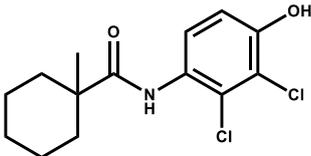
La acción tóxica de los compuestos fenólicos proviene de una toxicidad no especificada, relacionada con la hidrofobicidad y también a la generación de radicales orgánicos y especies reactivas del oxígeno. Los fenoles y sus derivados revelan capacidad peroxidativa, son hematotóxicos y hepatotóxicos, provocan mutagénesis y carcinogénesis hacia los seres humanos y otros organismos vivos.⁷

1.5. Compuestos fenólicos objeto de estudio.

En las Tablas 1.2 y 1.3, se muestran los nombres y algunas de las propiedades fisicoquímicas de los siete compuestos fenólicos objeto de estudio. Cuatro de

ellos son ingredientes activos de plaguicidas ampliamente usados en el sector agrario (ver Tabla 1.2). El 2,4-dimetilfenol y 3-metilfenol se usan conjuntamente en formulaciones líquidas con acción bactericida en el tratamiento de la enfermedad conocida como “*Agallas del Cuello*” en cultivos de almendros, manzanos, arándanos, vides, cerezos, entre otros.³⁰ El 2-fenilfenol, es un fungicida utilizado en tratamientos postcosecha en frutos cítricos.³¹ La fenhexamida, es un compuesto fenólico clorado, usado como fungicida de contacto para el control de “*brotitis*” (o moho gris), en diversos cultivos tales como vides, frutillas, tomates y kiwi, entre otros.³²

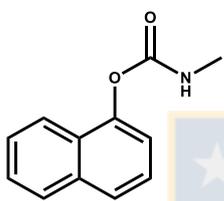
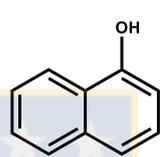
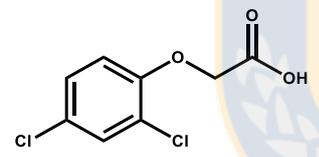
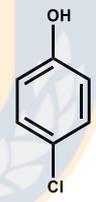
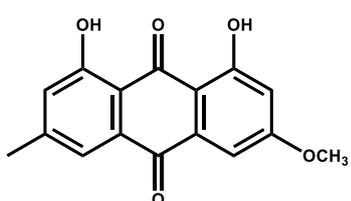
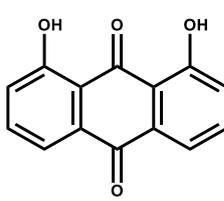
Tabla 1.2. Compuestos fenólicos objeto de estudio (ingredientes activos de plaguicidas). Algunas de sus propiedades fisicoquímicas.³³⁻³⁶

Nombre comercial del plaguicida/uso	Ingrediente activo	Estructura química	Solubilidad en agua (mg/L)/ 25°C	pKa/ 25°C
GALLEX (Bactericida)	2,4-dimetilfenol		7870	10.60
	3-metilfenol		22700	10.09
DECCO-OPP (Fungicida)	2-fenilfenol		700	9.55 ^b
TELDOR 50 WP (Fungicida)	Fenhexamida		20 ^a	7.30

a = 20 °C, b = 22.5 °C

Los tres compuestos restantes (ver Tabla 1.3), son sustancias fenólicas nocivas de gran importancia ambiental. Dos de ellas (1-naftol y 4-clorofenol), se forman como producto de la degradación de otro plaguicida y la tercera (1,8-dihidroxi-antraquinona) se estudia como modelo por poseer el núcleo principal del componente activo de un plaguicida comercial.

Tabla 1.3. Compuestos fenólicos objeto de estudio (sustancias tóxicas de importancia ambiental).³⁷⁻³⁹ Algunas de sus propiedades fisicoquímicas.⁴⁰⁻⁴²

Nombre comercial del plaguicida/uso	Ingrediente activo	Compuesto fenólico derivado o núcleo principal	Solubilidad en agua (mg/L)/ 25°C	pKa fenol/ 25°C
Carbaryl (Insecticida)	 Carbarilo	 1-naftol	866	9.34
2,4-D (Herbicida)	 Ácido 2,4-diclorofenoxiacético	 4-clorofenol	24000	9.41
Regalia Maxx (Fungicida)	 1,8-dihidroxi-3-metoxi-6-metilantraquinona	 1,8-dihidroxi-antraquinona	1.56	8.45 ^c

c = pKa1

Cabe señalar que en la redacción de esta tesis en algunas ocasiones se mencionará el término “plaguicida fenólico” para referirse al ingrediente activo (fenólico) del producto comercial.

Los compuestos fenólicos objeto de estudio, fueron detectados colorimétricamente en medio acuoso, para ello se emplearon reacciones de acoplamiento diazoico, llevadas a cabo en una matriz polimérica hidrofílica que actúa como sensor cromogénico. Los análisis se realizaron con dos cantidades diferentes de 4-vinilanilina en el sensor (0.05 y 0.25% en moles). Es importante anotar que los términos “matriz polimérica sensora” y “sensor polimérico” se tomarán como sinónimos en el escrito de esta tesis.

1.6. Teoría del color en el reconocimiento molecular.

El color se define como la impresión producida por un tono de luz en los órganos visuales, o más exactamente, es una percepción visual que se genera en el cerebro de los humanos y otros animales al interpretar las señales nerviosas procedentes de los fotorreceptores localizados en la retina del ojo, la que a su vez interpreta y distingue las distintas longitudes de onda que capta de la parte visible del espectro electromagnético (ver Figura 1.1).⁴³

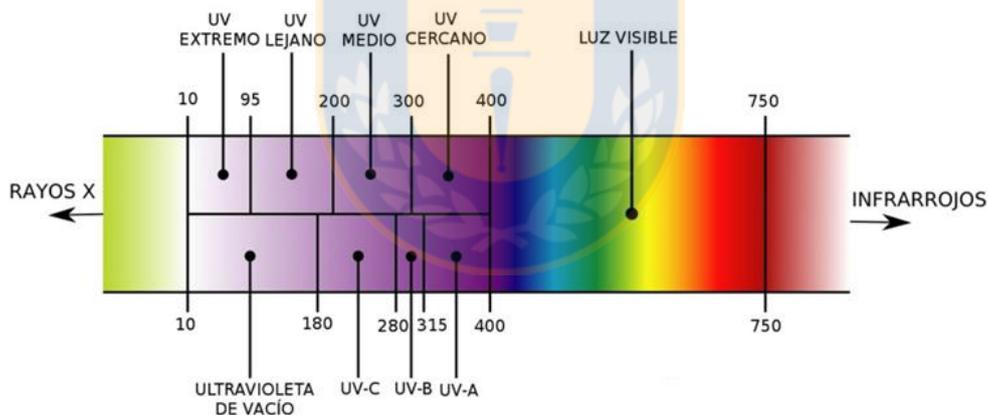


Figura 1.1. Espectro ultravioleta-visible.⁴⁴

Para que una sustancia sea activa en la región visible (380 - 750 nm), debe ser colorida. El que una sustancia tenga color, es debido a que absorbe ciertas frecuencias o longitudes de onda del espectro visible y transmite otras más. Por ejemplo: una solución es amarilla debido a que dentro de la región visible absorbe radiación en el rango de 435 a 480 nm. En este rango de longitud de onda se encuentra el color azul del visible, por lo que este compuesto absorbe el color azul y transmite los colores complementarios (rojo y verde), que dan

origen al color amarillo que presenta la solución (colores primarios de la luz: rojo, verde y azul, ver Figura 1.2).⁴⁵

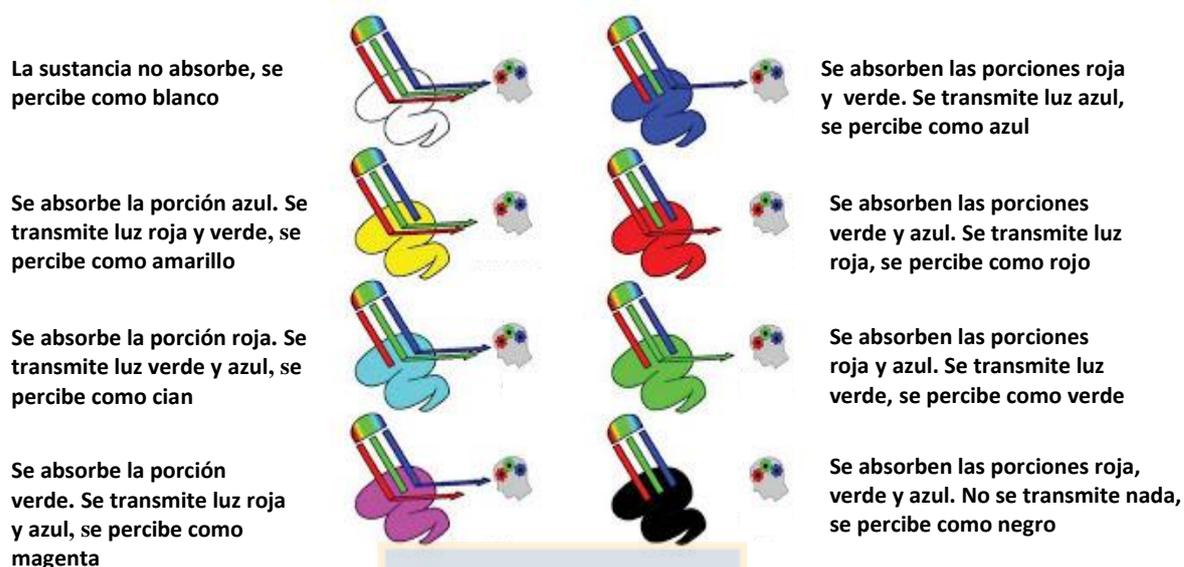


Figura 1.2. Absorción de colores por una sustancia y colores observados o transmitidos.⁴⁶

La absorción y transmisión de las longitudes de onda de la región visible de esta parte del espectro no es la misma en sustancias que den diferentes tonalidades de amarillo, por lo que se puede tener una gama diferente de tonalidades como: amarillo claro, amarillo oscuro, amarillo intenso, amarillo verdoso, entre otros. La Tabla 1.4 presenta una relación entre el rango de longitudes de onda en que absorbe el compuesto (color absorbido) y el color observado o transmitido.⁴⁵

La espectroscopía Ultravioleta y Visible (UV-Vis) es una de las técnicas más amplia y frecuentemente empleadas en el análisis químico. La base de esta técnica consiste en medir la intensidad del color (o de la radiación absorbida) a una longitud de onda específica comparándola con otra solución de concentración conocida (solución estándar) que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Beer-Lambert, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración.⁴⁷

Tabla 1.4. Rango de longitudes de onda de absorción y color observado.

Rango de longitud de onda (nm)	Color Absorbido	Color Transmitido (Observado)
100-190	Ultravioleta de vacío	Ninguno
190-380	Ultravioleta cercano	Ninguno
380-435	Violeta	Amarillo-Verde
435-480	Azul	Amarillo
480-500	Verde-azul	Naranja-Rojo
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarillo-verde	Violeta
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Verde-Azul
650-780	Rojo	Azul-Verde

El espectro Ultravioleta y Visible de las moléculas está asociado a transiciones electrónicas entre los diferentes niveles energéticos en ciertos grupos o átomos de la molécula, lo que se explica con la teoría de orbitales moleculares.

Los grupos de átomos que dan origen a la absorción en el UV cercano o UV de cuarzo, se conocen como grupos cromóforos. La mayoría de los grupos insaturados y heteroatómicos que tienen pares de electrones no compartidos, son cromóforos potenciales y estos grupos son la base de la elucidación de grupos estructurales en las moléculas activas en el UV cercano.⁴⁵

1.6.1. Teoría de orbitales moleculares.

Cuando dos átomos forman un enlace químico, los orbitales atómicos de cada uno de ellos se combinan para formar dos orbitales moleculares, uno de baja energía, el orbital enlazante y otro de mayor energía, el orbital antienlazante. Los enlaces covalentes que se originan entre los orbitales de dos átomos que se enlazan químicamente pueden ser de dos tipos y se conocen como enlaces σ y enlaces π .

Al efectuarse dicho enlace, se forman simultáneamente orbitales antienlazantes σ^* , en el caso de un orbital molecular enlazante σ , y π^* en el caso de un orbital molecular enlazante π . En la Figura 1.3, se observa de forma esquemática el segundo caso.

Los electrones que no participan en la formación de enlaces covalentes en la molécula, se denominan electrones n o no enlazantes. En las moléculas orgánicas los electrones n están localizados principalmente en los orbitales atómicos de átomos como: Nitrógeno, Oxígeno, Azufre y del grupo de los halógenos. Cuando un átomo o molécula absorbe energía, sus electrones son promovidos de su estado basal a un estado excitado y pasan a ocupar alguno de los orbitales antienlazantes.

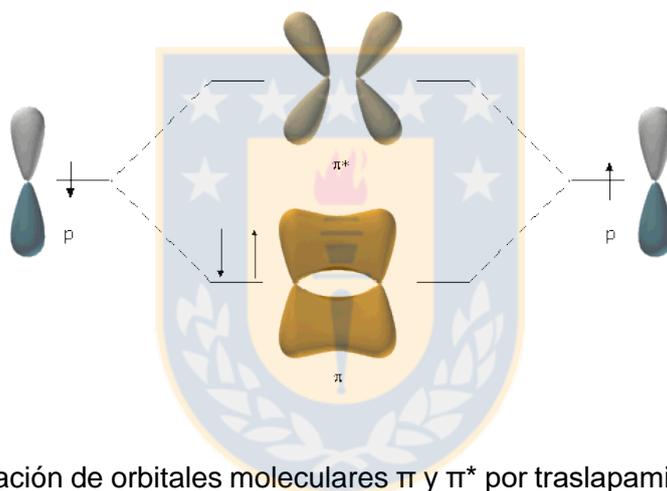


Figura 1.3. Formación de orbitales moleculares π y π^* por traslapamiento lateral de dos orbitales p.⁴⁸

El diagrama de energía para los orbitales moleculares enlazante, antienlazantes y no enlazante, así como las transiciones electrónicas posibles es el mostrado en la Figura 1.4, donde se representan las transiciones posibles en una molécula, es decir, $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$. De acuerdo a este diagrama, el orden energético en estas transiciones es: el de mayor energía $\sigma \rightarrow \sigma^*$ y el de menor energía $n \rightarrow \pi^*$.

Mientras menor sea la energía requerida para una determinada transición, mayor es la longitud de onda de la radiación que debe suministrarse para conseguir tal fin.⁴⁵

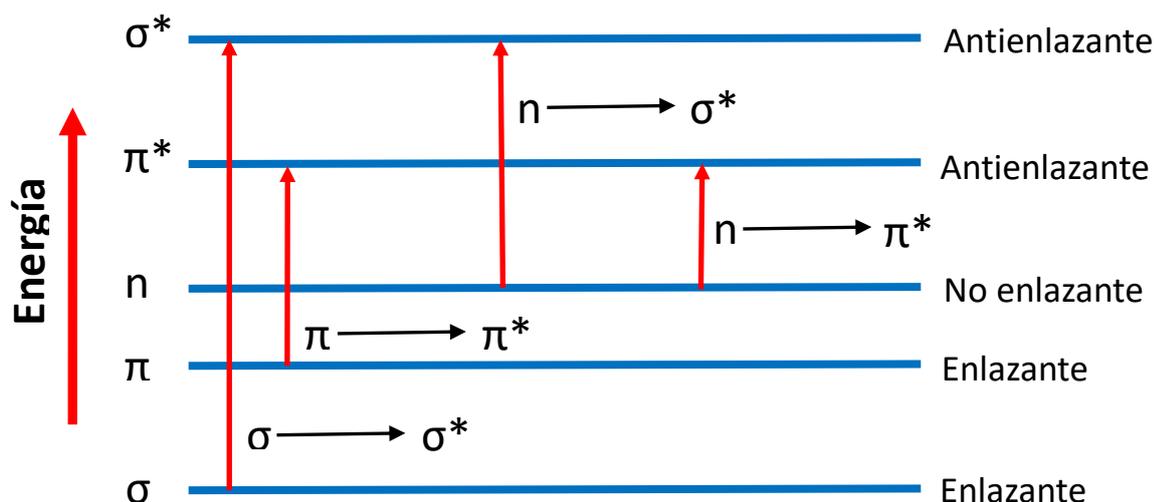


Figura 1.4. Diagrama de niveles energéticos para diferentes orbitales moleculares y las transiciones posibles en éstos.⁴⁵

1.6.2. Modelo de color RGB

La sigla RGB (en inglés red, green, blue; en español rojo, verde y azul), es la composición del color en términos de la intensidad de los colores primarios de la luz. RGB en términos prácticos es un modelo de color basado en la síntesis aditiva, con el que es posible representar un color mediante la mezcla por adición de los tres colores de luz primarios.

Para indicar con qué proporción se mezcla cada color, se asigna un valor a cada uno de los colores primarios, de manera que el valor "0" significa que no interviene en la mezcla y, a medida que ese valor aumenta, se entiende que aporta más intensidad a la mezcla.

Así, de manera usual, la intensidad de cada una de los componentes se mide según una escala que va del 0 al 255 y cada color es definido por un conjunto de valores escritos entre paréntesis (correspondientes a valores "R", "G" y "B") y separados por comas.

De este modo, el rojo se obtiene con (255,0,0), el verde con (0,255,0) y el azul con (0,0,255), obteniendo, en cada caso un color resultante monocromático. La ausencia de color, es decir el color negro, se obtiene cuando las tres componentes son 0 (0,0,0). La combinación de dos colores a su máximo valor de 255 con un tercero con valor 0, da lugar a tres colores intermedios. De esta forma, aparecen los colores amarillo (255,255,0), cian (0,255,255) y magenta

(255,0,255). El color blanco se forma con los tres colores primarios a su máximo valor (255,255,255).⁴³

1.7. Sensores químicos.

Los sensores químicos son definidos generalmente como dispositivos que informan de una transformación química mediante señales analíticas medibles. Por otra parte, el término quimiosensor, ha sido definido como molécula de origen abiótico que señala la presencia de materia o energía.⁴⁹

Los sensores químicos responden de manera distinta ante la interacción con un analito. Este hecho se debe a la naturaleza del sensor y permite clasificarlos en función al tipo de respuesta en: térmicos, de masas, electroquímicos, magnéticos y ópticos.⁵⁰

Un sensor óptico consiste en una molécula que contiene un grupo cromóforo o fluoróforo, y que al interaccionar con un analito produce cambios en las propiedades ópticas, ya sea en la absorción o en la fluorescencia, o en ambas. Los sensores ópticos que presentan cambios de color se conocen como “**sensores cromogénicos**” y aquellos que presentan cambios en sus propiedades fluorescentes se denominan “**sensores fluorogénicos**”.⁵¹ Los sensores ópticos cromogénicos son los que hacen parte del estudio de esta tesis.

Los sistemas cromogénicos han sido ampliamente utilizados en procesos de detección, ya que además de dar una respuesta muy rápida, requieren el uso de equipos y técnicas simples, las medidas son llevadas a cabo en tiempo real, se requiere poca cantidad de muestra y la detección puede ser realizada “a simple vista”.

Los compuestos coloreados presentan bandas de absorción en la zona comprendida entre aproximadamente 400 y 700 nm. En compuestos orgánicos se han realizado muchos estudios a fin de obtener correlaciones entre la estructura química de estos sistemas (colorantes) y el color que presentan. Así por ejemplo, está bien establecido que muchos colorantes tienen sistemas de enlaces conjugados que hacen que las diferencias de energías entre el HOMO y el LUMO correspondan exactamente con la zona visible del espectro electromagnético. También se sabe, que comparando sistemas similares, cuanto

más extendida está la conjugación en el sistema, menor es la diferencia entre el estado fundamental y el excitado, resultando en un desplazamiento de la banda de absorción hacia longitudes de onda mayores (desplazamiento batocrómico).⁵² Un desplazamiento batocrómico es lo que sucede precisamente en la formación de azobencenos derivados de anilina. La anilina presenta inicialmente una banda de absorción a 280 nm,⁵³ cuando su grupo amino es reemplazado por un grupo azo, el cual a su vez está conjugado con otro anillo aromático (Ar-N=N-Ar'), el azobenceno formado absorbe radiación electromagnética en el espectro visible (ver Figura 1.5), además su coloración es muy intensa.⁵⁴

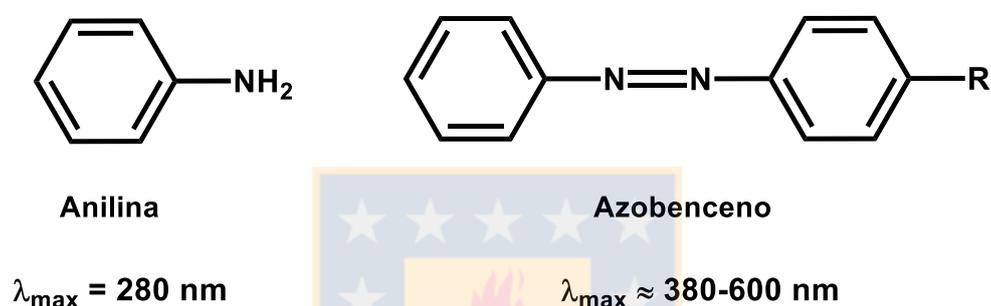


Figura 1.5. Desplazamiento batocrómico en la anilina inducido por el aumento del sistema conjugado. Fuente: elaboración propia.

1.8. Estrategias en el diseño de sensores moleculares ópticos.

En el diseño de sensores moleculares ópticos se requiere, en general, la participación de dos componentes: un centro de coordinación y una unidad generadora de señal o unidad indicadora. El primero tiene como función la coordinación de un cierto analito, mientras que la unidad indicadora cambia alguna de sus propiedades espectroscópicas (color o fluorescencia).⁵⁵

Este concepto se basa en los principios de la química de coordinación y por tanto, la coordinación del analito y el cambio de color o fluorescencia son en principio reversibles. De hecho la coordinación es una típica reacción química reversible en la cual los cambios en la concentración del analito determinan la cantidad relativa de especie coordinada y especie libre.⁵⁶

La mayoría de los sensores ópticos descritos en la literatura se basan en la aproximación “**unidad coordinante-unidad indicadora**”, es decir, son sistemas

que contienen un centro de coordinación unido covalentemente a una unidad generadora de señal o unidad indicadora.⁵⁵ En la Figura 1.6, se muestra el proceso que tiene lugar. Mediante un diseño adecuado del sensor se puede conseguir que la interacción reversible del analito con la unidad coordinante, produzca cambios en las propiedades espectrales de la unidad indicadora, como por ejemplo, variaciones en la intensidad de emisión (sensores fluorogénicos) o variación de color (sensores cromogénicos).

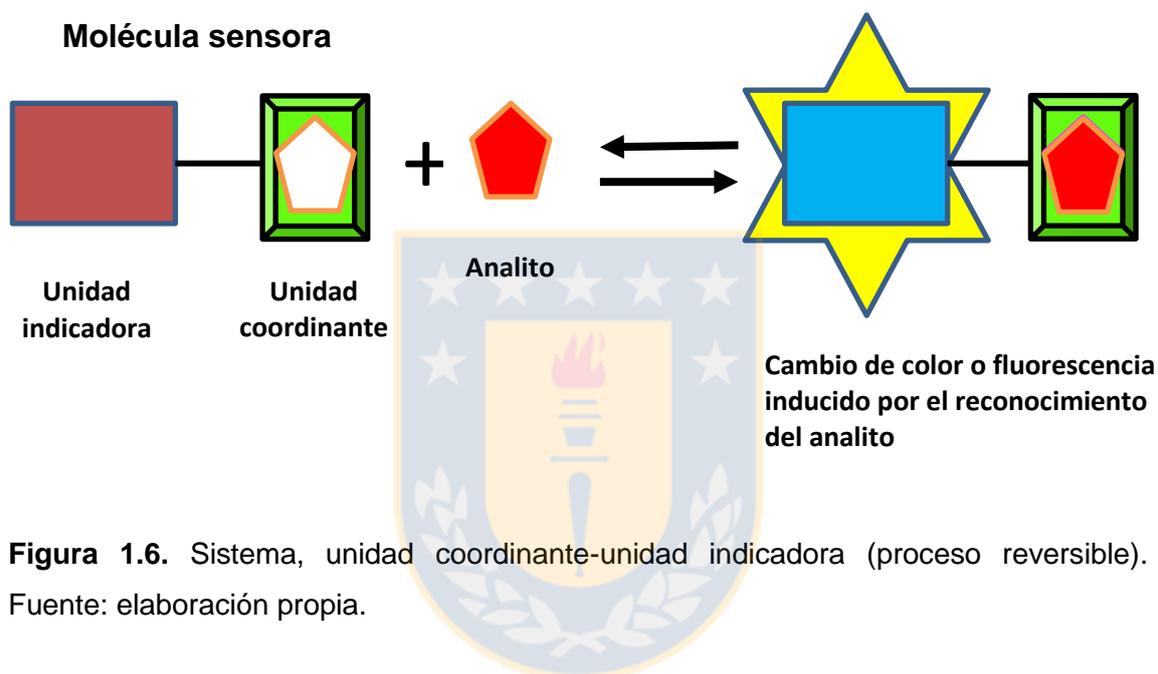


Figura 1.6. Sistema, unidad coordinante-unidad indicadora (proceso reversible). Fuente: elaboración propia.

El sistema mostrado en la Figura 1.7, es un ejemplo típico de este mecanismo. Este sensor consiste en una unidad coordinante (el grupo funcional tiourea), que es un grupo débilmente dador, conectado a través de un sistema conjugado de enlaces, con un grupo nitro electroceptor. Este compuesto es incoloro ($\lambda_{\text{max}} = 343 \text{ nm}$), pero cuando se coordina con aniones básicos como por ejemplo acetato, a través de interacciones de enlace de hidrógeno, se produce un desplazamiento hacia una longitud de onda mayor (con absorción a 450 nm) y el color de las disoluciones cambia de incoloro a amarillo.⁵⁷

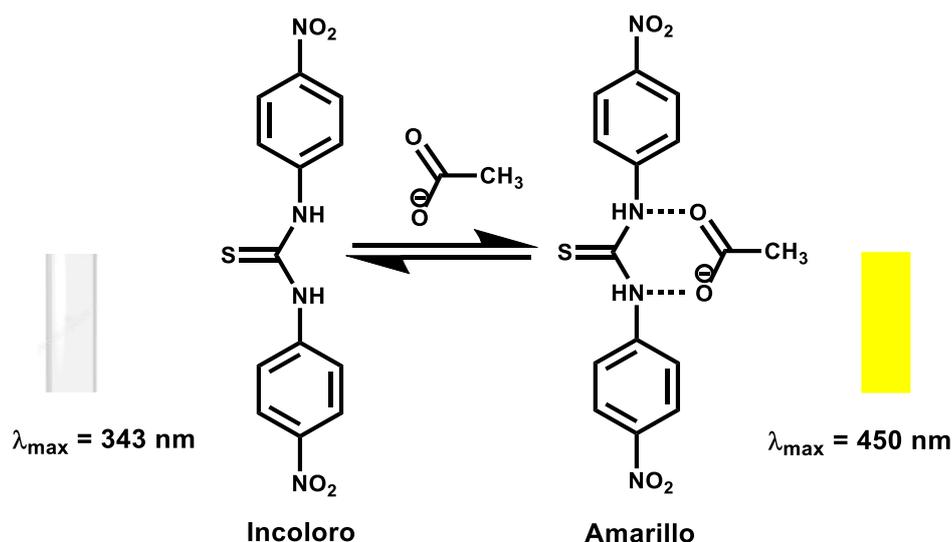


Figura 1.7. Sensor cromogénico en el cual se produce una interacción reversible del analito con la unidad coordinante.⁵⁷

Otra aproximación importante en el desarrollo de sensores moleculares ópticos se denomina “**dosímetro químico**”, en la cual el proceso de reconocimiento del analito no es reversible.⁵⁸ Este término hace referencia a todos los compuestos que son capaces de realizar la detección selectiva de un analito mediante una reacción química irreversible, y para el caso de sensores cromogénicos la reacción está asociada a un cambio de color (ver Figura 1.8).

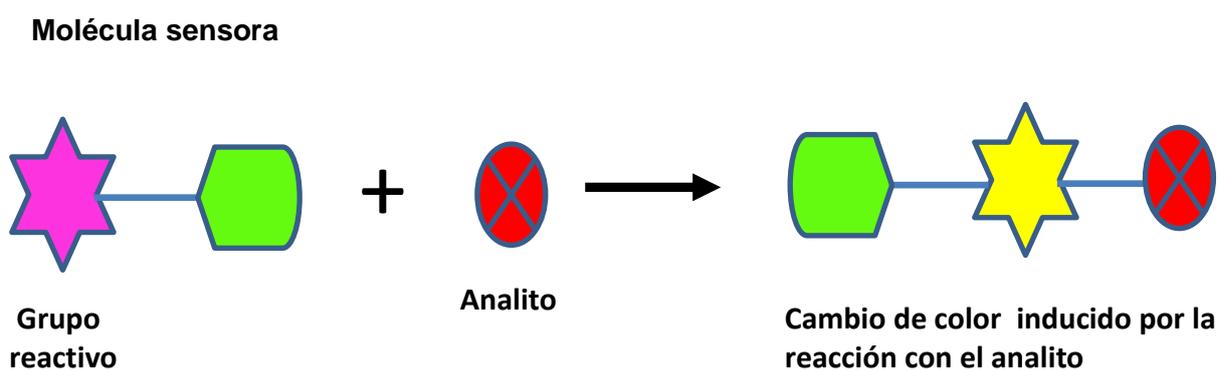


Figura 1.8. Sistema del dosímetro químico (proceso irreversible). Fuente: elaboración propia.

La Figura 1.9, muestra un ejemplo de un ensayo colorimétrico con un dosímetro químico, el cual corresponde a un derivado del 2,4,6-trifenilpirilio, que es capaz de detectar la presencia del anión bisulfuro. El derivado de color magenta disuelto en una mezcla de agua/acetonitrilo inicialmente presenta una banda de absorción alrededor de 540 nm, reacciona con el anión bisulfuro para dar el correspondiente tiopirilio de color azul con absorción a 580 nm.⁵⁹

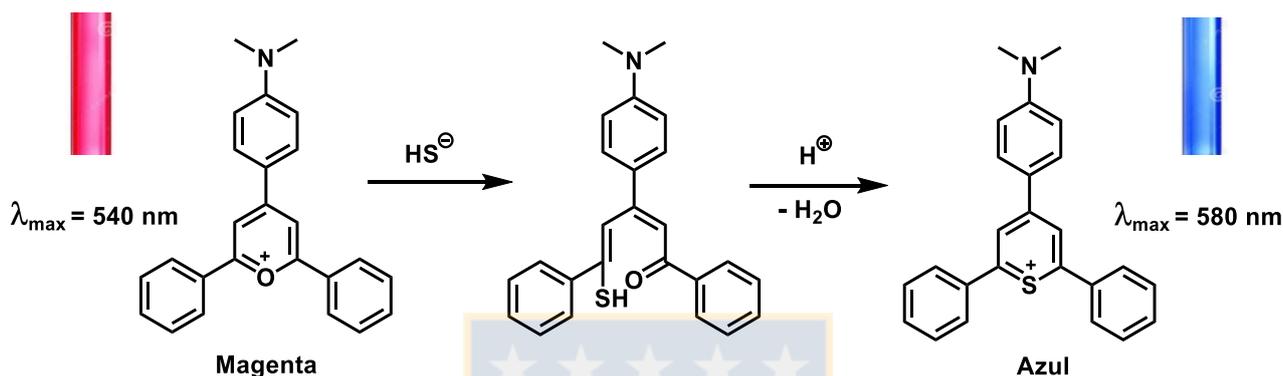


Figura 1.9. Dosímetro químico que permite el reconocimiento del anión bisulfuro mediante una reacción química irreversible.⁵⁹

En los últimos años, la aproximación del dosímetro químico ha sido muy empleada para preparar sistemas selectivos de detección de iones y especies neutras debido a su alta selectividad (la reacción solo se produce con el analito seleccionado), además suelen funcionar bien en agua o en medios acuosos.⁶⁰

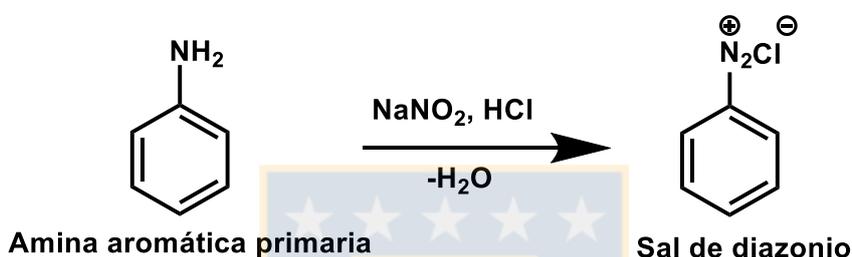
En este último sistema se basa el sensor polimérico sintetizado en esta tesis, el cual contiene como grupo reactivo, unidades de anilinas ancladas covalentemente, que al reaccionar con nitrito de sodio en medio ácido forma una sal de diazonio (incolora). Esta sal reacciona con los compuestos fenólicos de estudio y produce azoderivados que se pueden distinguir por sus diferentes coloraciones.

1.9. Reacciones de acoplamiento diazoico en la síntesis de colorantes.

Las reacciones de acoplamiento diazoico constituyen una de las rutas sintéticas más importantes en la preparación de colorantes, tales como el anaranjado de metilo y la tartracina, ampliamente usados en la industria textil y de alimentos, respectivamente.⁶¹ Un acoplamiento diazoico, es una reacción de sustitución

electrofílica aromática entre una sal de diazonio y un anillo aromático activado, siendo el producto de la reacción un azoderivado, que para el caso de los azobencenos, contiene dos anillos fenilos conectados por un enlace doble N=N. Los colorantes azoicos, del tipo azobencenos, se preparan en una reacción que consta de dos etapas,⁶² siendo la primera, la síntesis de un ion diazonio aromático, formado a partir de un derivado de anilina. El siguiente paso es el acoplamiento de la sal de diazonio con un compuesto aromático, que puede ser otro derivado de anilina o un fenol (ver Figura 1.10).

Etapas 1. Formación de la sal de diazonio.



Etapas 2. Ataque de bencenos activados sobre la sal de diazonio.

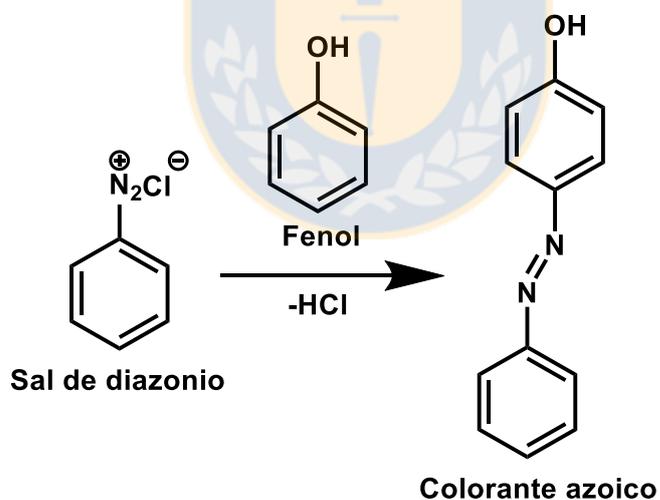


Figura 1.10. Etapas en la formación de un compuesto azoico (azobenceno fenólico).⁶²

Los colorantes azoicos son ampliamente utilizados como sensores en la detección colorimétrica de analitos. Por ejemplo, en el trabajo realizado por Zhang y colaboradores,⁶³ se muestra la síntesis de un sensor colorimétrico altamente selectivo hacia cisteína. El derivado azoico presenta inicialmente una banda de máxima absorción centrada en 515 nm. Tras la adición de diferentes

cantidades de cisteína en DMF-H₂O (9:1, v/v), se produce un desplazamiento hipsocrómico (hacia el azul) a 475 nm, con un cambio de color de rosa a amarillo (ver Figura 1.11).

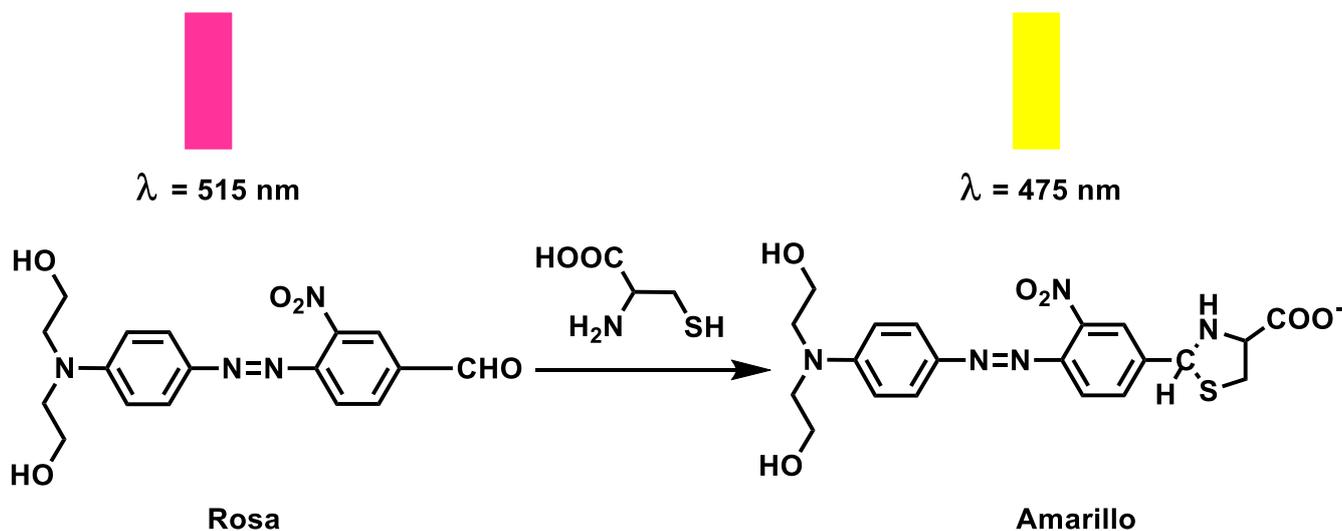


Figura 1.11. Sensor azoico del tipo azobenceno que permite la detección colorimétrica de cisteína.⁶³

Otro trabajo que muestra el uso de los colorantes azoicos como sensores colorimétricos de analitos es el realizado por Park y colaboradores,⁶⁴ quienes sintetizaron un azocompuesto de color amarillo claro que presenta una banda de máxima absorción a 390 nm en DCM/MeOH (10:1, v/v). En presencia de iones cianuros la absorbancia a 390 nm decrece, aparece una nueva banda de absorción a 560 nm y se aprecia un cambio de color a violeta oscuro (ver Figura 1.12).

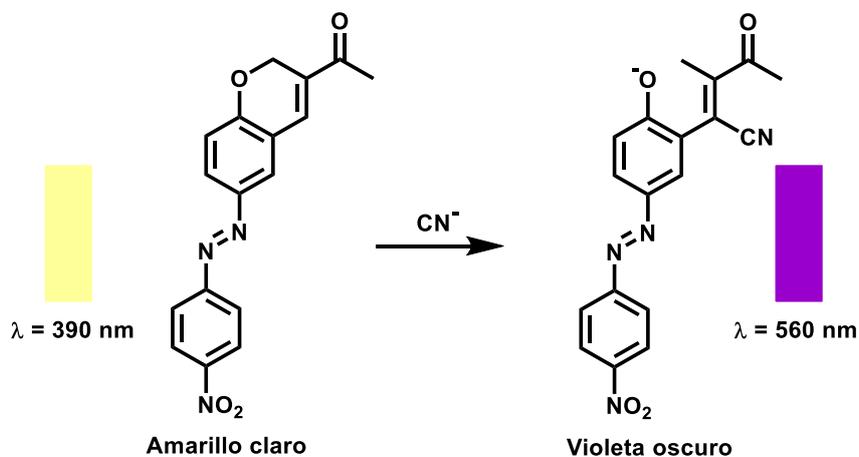


Figura 1.12. Sensor azoico del tipo azobenceno que permite la detección visual del ion cianuro.⁶⁴

1.10. Sensores cromogénicos soportados en matrices poliméricas.

Con el fin de aumentar la selectividad de ciertos sensores cromogénicos estos pueden ser soportados sobre diferentes matrices poliméricas.

Pueden existir varias estrategias para el anclaje de sensores sobre una matriz polimérica. Por ejemplo, mediante un enlace covalente polímero-sensor (funcionalización del polímero)⁶⁵ o por interacciones de adsorción superficial.⁶⁶ En otros casos el sensor queda ocluido o disperso⁶⁷ en una membrana polimérica o fase líquida muy viscosa.

En general, existen dos formas de funcionalizar un polímero: a) Por polimerización o copolimerización de monómeros que contienen los grupos funcionales deseados. Algunos de los monómeros clásicos más usados contienen grupos funcionales tales como carboxilos, hidroxilos u otros grupos en adición al doble enlace, este último permite su posterior copolimerización. Un clásico ejemplo de este primer caso, es la que se realiza sobre polímeros inertes como el polietileno, polipropileno, y policloruro de vinilo, con el fin de introducir en su cadena hidrocarbonada, grupos funcionales reactivos y b) Por modificación química de polímeros pre-formados. En esta vía tenemos dos posibilidades: partir de un polímero soluble inerte y proceder a su funcionalización o partir de materiales entrecruzados y por lo tanto, insolubles. Un ejemplo de este segundo caso, es la modificación química que se realiza sobre soportes poliméricos con el fin de adherir un ligando bioespecífico o un fármaco, para su uso en afinidad cromatográfica o como transportador de liberación controlada.⁶⁵

El uso de polímeros como soportes de reactivos cromogénicos es un amplio campo en estudio ya que pueden ser usados diferentes polímeros (según la especie a detectar y el tipo de sensor utilizado) como son: lipofílicos, iónicos, hidrofílicos o con especificidad molecular (MIP, polímeros de impresión molecular, por su nombre en inglés).⁶⁸ Además, el uso de matrices poliméricas posibilita un entorno más rígido, se puede controlar la relación hidrofilia/hidrofobia y se obtiene un incremento en la fotoestabilidad.

El uso de materiales poliméricos aumenta considerablemente la selectividad del sensor, no obstante, a la hora de elegir o diseñar un polímero que pueda ser utilizado para estos fines, se necesita observar las siguientes características: I)

El polímero debe poseer una alta capacidad de absorción de los compuestos específicos y fundamentalmente una elevada selectividad frente a éstos; II) En aplicaciones acuosas el material debe ser resistente a la hidrólisis por agua caliente y a disoluciones acuosas ligeramente ácidas o básicas. En otros medios, el polímero ha de ser resistente a disolventes orgánicos y aceites; III) El comportamiento del polímero no debe verse afectado sensiblemente con los cambios de temperatura y deberá tener una adecuada resistencia química y IV) El polímero debe estar libre de contaminación de cualquier tipo, en particular trazas de metales o iones metálicos.

El anclaje químico de sensores selectivos de analitos, en materiales poliméricos adecuados, permite su empleo en medios acuosos, con independencia de la naturaleza química del sensor y su afinidad hacia el medio. Además de la eficiencia del sensor, en términos de selectividad y sensibilidad, la estructura macroscópica del polímero debe proveer una adecuada difusión de la molécula objetivo al seno de la matriz polimérica. En este sentido, las redes poliméricas con grados de hinchamiento controlables, ofrecen condiciones adecuadas para la difusión de los analitos.⁶⁹

En la Figura 1.13 se muestra un ejemplo de un sensor polimérico cromogénico, el cual se sintetizó a partir de los monómeros vinílicos 2-hidroxietilacrilato (componente hidrofílico) y una metacrilamida que contiene el grupo 2,4,6-trinitrobenceno (actúa como molécula sensora y componente hidrofóbico), en una relación molar en porcentaje 97/3, respectivamente. Se usó como iniciador radical térmico 2,2'-azo-bis-isobutironitrilo (AIBN, 1% en peso) y como agente entrecruzante dimetacrilato de etilenglicol (10 mol%). El sensor detecta la presencia de vapores de aminas biógenas en muestras de pescado y carne, con cambio de color de amarillo a rojo a una temperatura de 25 °C en un periodo de 12 días.⁷⁰

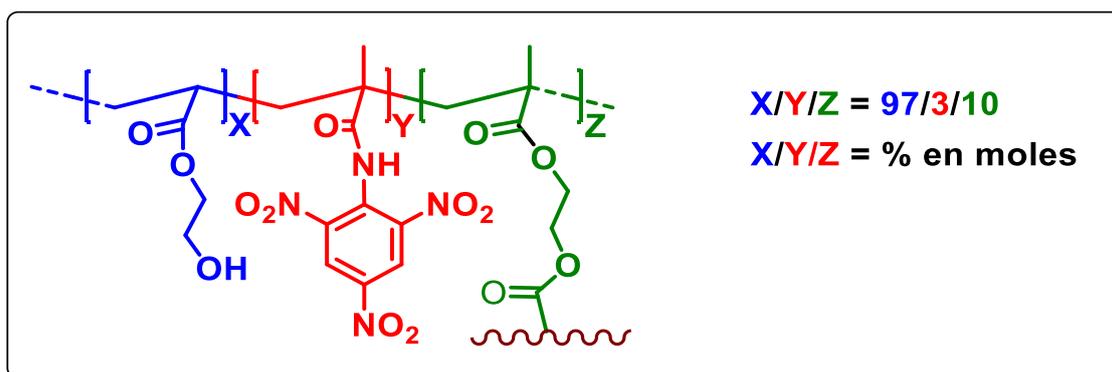


Figura 1.13. Sensor polimérico que permite la detección colorimétrica de vapores de aminas biógenas.⁷⁰

Otro trabajo importante en el diseño de sensores poliméricos cromogénicos es el reportado por Vallejos y colaboradores, quienes sintetizaron un polímero capaz de detectar y cuantificar, colorimétricamente, la presencia de Fe (III) en medio acuoso, vino y en muestras de suero sanguíneo humano. El sensor polimérico se sintetizó a partir de los monómeros vinílicos *N*-vinilpirrolidona (componente hidrofílico), acrilato de 2-hidroxietilo (componente hidrofílico) y un derivado de una metacrilamida que contiene el grupo 5-cloro-8-hidroxiquinolina (actúa como molécula sensora y le confiere a la matriz polimérica propiedades hidrofóbicas), en una relación molar en porcentaje 74/25/1, respectivamente. Se usó como agente entrecruzante dimetacrilato de etilenglicol (10 mol%) y como iniciador radical térmico AIBN (1% en peso) (ver Figura 1.14). Se obtuvo una delgada película polimérica de 200 μm de espesor, la cual presentó un porcentaje de hinchamiento en agua de 65% y un tiempo de respuesta colorimétrica de 15 min. La adición sucesiva de cantidades diferentes de suero sanguíneo humano en el rango de 1.1 – 10.6 ppm, provoca un cambio de color en el sensor de incoloro a verde marrón y la aparición de una nueva banda de absorción a 681 nm. Así mismo, la adición de cantidades diferentes de hierro (III) (en el rango de 0-50 ppm), a una solución acuosa del polímero lineal, permitió calcular por UV-Vis, los límites de detección (142 ppb) y cuantificación (431 ppb).⁷¹

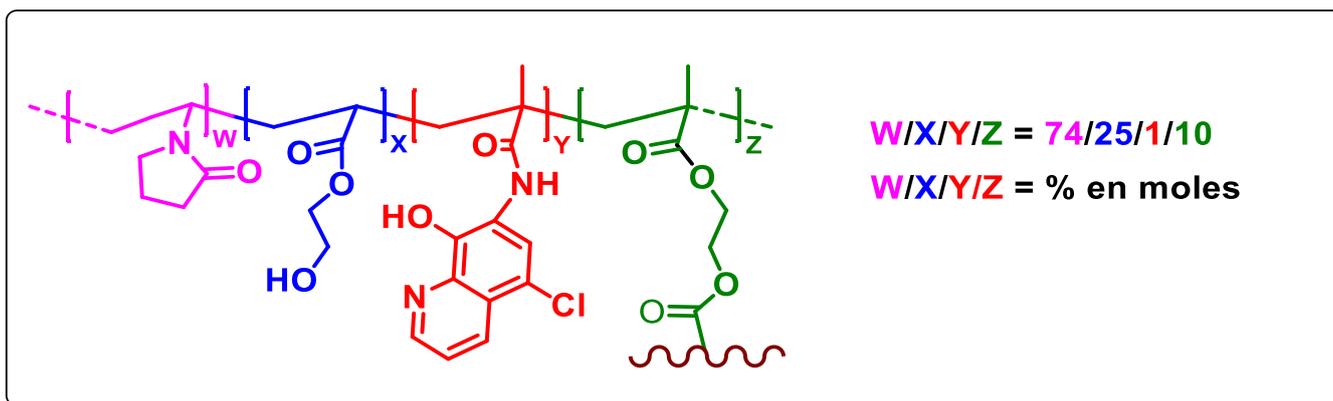


Figura 1.14. Sensor polimérico que permite el reconocimiento colorimétrico de hierro (III) en medio acuoso, en vino y en muestras de suero sanguíneo humano.⁷¹

1.11. Problemática y antecedentes de la propuesta de tesis.

En la actualidad, en el mundo se emplean diariamente cantidades enormes de plaguicidas fenólicos, con el propósito de combatir ciertas plagas y enfermedades, asegurando así la productividad en el campo y la inversión económica.⁷² Sin embargo, el manejo inadecuado de este tipo de productos químicos, trae como consecuencia que sus componentes activos (o los compuestos generados en su degradación), se depositen finalmente en ecosistemas acuáticos, donde pueden causar un gran daño a la salud humana y al medio ambiente. El uso de aguas contaminadas con este tipo de sustancias nocivas, facilita el ingreso a los alimentos de nuestra dieta alimentaria, a niveles que rebasan el límite máximo de residuos permitido, lo cual es motivo de preocupación, ya que la mayoría de países de América Latina carece de mecanismos para detectar y cuantificar la presencia de este tipo de compuestos, al igual que los efectos tóxicos que puedan resultar a largo plazo.⁷³

En los últimos años ha aumentado el interés en el desarrollo de sensores cromogénicos, con el fin de detectar la presencia de especies tóxicas, tanto iónicas como neutras en sistemas acuosos. Una de las reacciones más empleadas para tal fin, son las reacciones de acoplamiento diazoico. Por ejemplo, en el trabajo realizado por Tomasulo y colaboradores,⁷⁴ se muestra la síntesis de un dosímetro químico, basado en la reacción de adición nucleofílica del anión cianuro a un sustrato electrofílico. El dosímetro químico consiste de una [1,3] oxazina que contiene un grupo azoico. La reacción de la oxazina (de

color amarillo muy claro, con absorción a 381 nm) con el anión cianuro, produce una especie muy estable de color rojizo y una nueva banda de absorción a 581 nm (ver Figura 1.15).

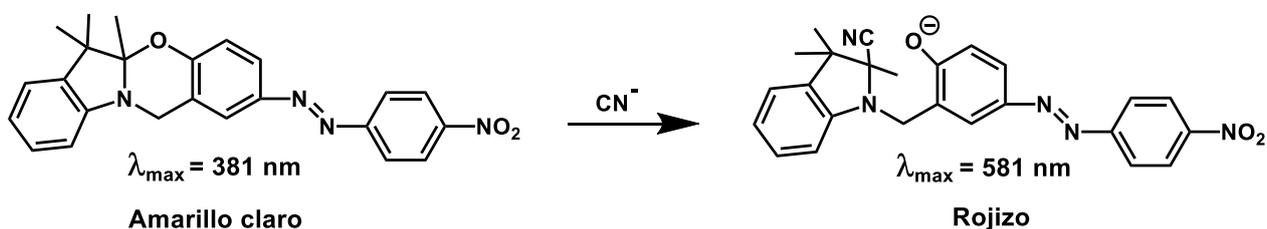


Figura 1.15. Sensor cromogénico azoico que permite el reconocimiento del anión cianuro.⁷⁴

En la literatura se encuentran variados ejemplos de sensores cromogénicos azoicos utilizados en la detección de especies iónicas. La mayoría de los sensores iónicos, sobre todo en los inicios, estaban diseñados para el reconocimiento de cationes. Los cationes son más pequeños y tienen energías de solvatación menores que los aniones. Además, son especies que no están saturadas electrónicamente, por lo que interaccionarían eficazmente con cualquier receptor que sea rico en electrones. Uno de los primeros trabajos que describía un cambio de color selectivo fue el de F. Vögtle,⁷⁵ quien sintetizó un quimiosensor azoico, que resultó ser selectivo para cationes Ba^{2+} . Vögtle y colaboradores llegaron a la conclusión de que el cambio de color que sufre el colorante azoico se debe a que el catión Ba^{2+} tiene el tamaño de la cavidad del ciclo, y por su alta densidad de carga, interacciona fuertemente con el par de electrones libres del nitrógeno cíclico (ver Figura 1.16).

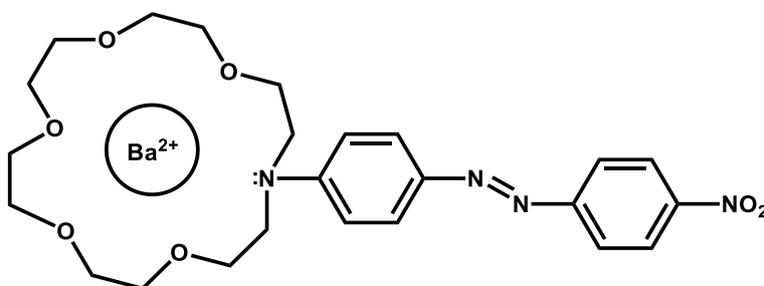


Figura 1.16. Sensor cromogénico azoico que permite el reconocimiento selectivo del catión bario.⁷⁵

Es difícil lograr el reconocimiento selectivo de especies neutras mediante la formación de complejos supramoleculares, es decir, sin que se produzca un enlace covalente. Los sensores desarrollados hasta el momento se basan en una reacción química con alguno de los grupos funcionales presentes en la molécula receptora (dosímetros químicos), que en algunas ocasiones pueden transcurrir de manera reversible, aunque involucren la formación de un enlace covalente. Un ejemplo es el trabajo reportado por Mohr y colaboradores,⁷⁶ quienes sintetizaron un colorante azoico, el cual soportado en finas capas de PVC plastificado, experimenta una reacción química reversible con anfetamina y cambia su color de azul a rojo. El sensor cromogénico tiene un límite de detección de 0.1 mmol L^{-1} (ver Figura 1.17).

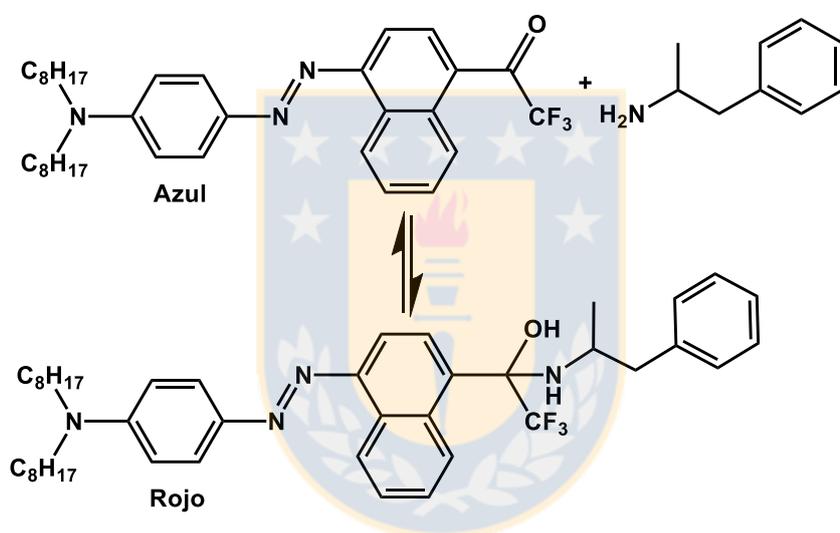


Figura 1.17. Sensor cromogénico azoico que permite la detección de anfetamina.⁷⁶

Para el caso de la detección de fenoles, el método estándar oficial según la sociedad americana para pruebas y materiales (ASTM, por su nombre en inglés), se basa en el acoplamiento de estos compuestos con 4-aminoantipirina en medio alcalino, extrayendo el compuesto derivado coloreado con cloroformo. Sin embargo, las principales desventajas de este procedimiento son: (i) operaciones tediosas; (ii) el uso de grandes cantidades de CHCl_3 , un disolvente que causa el deterioro de la capa de ozono; y (iii) algunos compuestos fenólicos no pueden ser extraídos con cloroformo.⁷⁷

Otros métodos colorimétricos se han desarrollado mediante el uso de reacciones que dan origen a compuestos coloridos, empleando: 3-metil-2-benzotiazolinona

hidrazona,⁷⁸ monobromuro de yodo,⁷⁹ complejo de hierro (III)/1,10-fenantrolina,⁸⁰ y las alternativas recientes se basan en el uso de mediciones espectrofotométricas UV en fase sólida⁸¹ o detección electroquímica.⁸² No obstante, estos procedimientos son muy laboriosos, consumen grandes cantidades de reactivos, requieren de equipos costosos o no son lo suficientemente sensibles como para ser apropiados en la determinación de la concentración de fenol en los niveles que establece la ley.

Se han empleado varias familias de compuestos orgánicos en la detección colorimétrica de fenoles. Sin embargo, los colorantes azoicos siguen siendo los más ampliamente utilizados, debido a que sus procedimientos sintéticos son más sencillos y sus propiedades espectroscópicas están bien definidas.⁸³ En el trabajo realizado por Gung y colaboradores,⁸⁴ se presenta la síntesis de una serie de compuestos azoicos, preparados a partir de reacciones de distintas anilinas con varios fenoles. Los derivados azoicos presentan colores característicos que los permiten diferenciar fácilmente. Por ejemplo, la reacción de 2-naftol con 4-nitroanilina genera un azocompuesto de color rojo intenso (ver Figura 1.18).

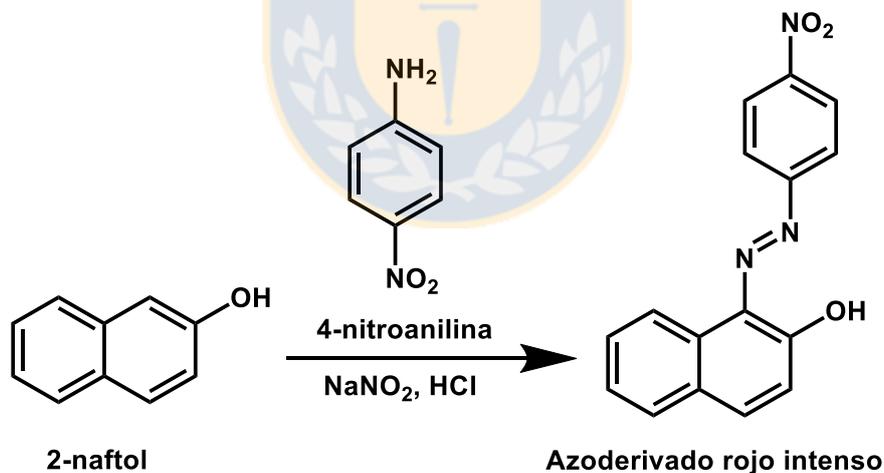


Figura 1.18. Síntesis de un derivado azoico que permite la identificación visual de 2-naftol.⁸⁴

Otro estudio que muestra la detección de fenoles a través de reacciones de acoplamiento diazoico, es el reportado por Han y colaboradores,⁸⁵ quienes sintetizaron un sensor capaz de detectar, colorimétricamente, trazas de estrógenos fenólicos naturales. En el acoplamiento de la sal de diazonio con los estrógenos ensayados, se forman azoderivados con colores característicos y

bandas de absorción diferentes. Por ejemplo la reacción de estradiol con la sal de diazonio, origina un azocompuesto de color naranja intenso, con absorción a 500 nm (ver Figura 1.19).

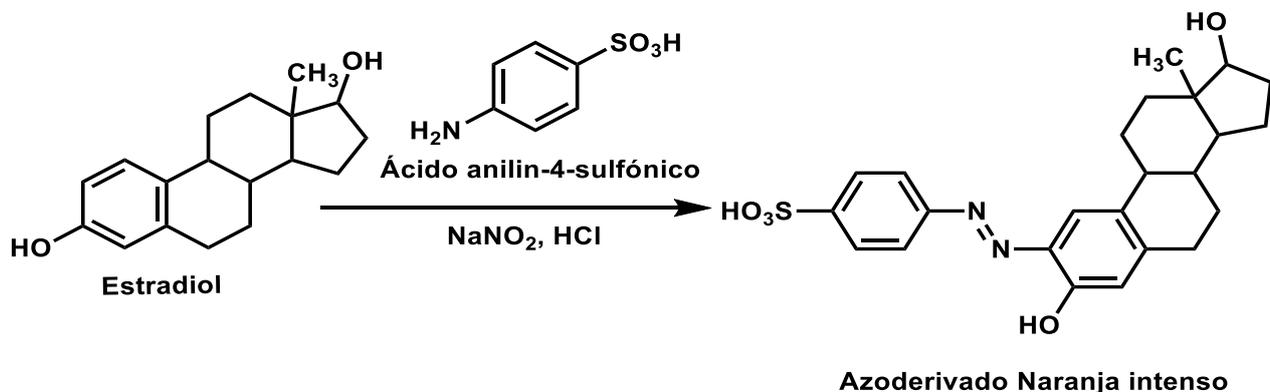


Figura 1.19. Síntesis de un azoderivado que permite el reconocimiento colorimétrico de estradiol.⁸⁵

A pesar de los esfuerzos que se hacen cada día por sintetizar sensores cromogénicos capaces de detectar concentraciones bajas de fenol en sistemas acuosos, la gran mayoría de las investigaciones que se realizan en este campo, se llevan a cabo con moléculas específicas que limitan su aplicación en disolución, generalmente en solventes orgánicos, lo que impide su futura aplicación medioambiental (donde el medio es siempre acuoso). Por ello, en la presente tesis, se sintetizó una matriz polimérica con propiedades hidrofílicas, que actúa como sensor colorimétrico de fenoles nocivos, a partir de los monómeros vinílicos metacrilato de metilo (componente hidrofóbico), *N*-vinilpirrolidona (componente hidrofílico) y 4-vinilanilina (molécula sensora). El sensor polimérico, tiene excelentes aplicaciones en medio acuoso, al tratarse de un material de dureza e hidrofilia controlable (lo que facilita la difusión de los fenoles de estudio hacia su interior), con buenas propiedades de detección cromogénica y transparente a la radiación, lo que permite su acoplamiento a sistemas de análisis espectroscópicos, por ejemplo ultravioleta-visible.

Con la síntesis de este sensor polimérico se espera obtener un dispositivo muy sensible, capaz de detectar colorimétricamente, concentraciones muy bajas de fenoles nocivos, lo que constituiría un gran aporte científico al análisis de sustancias contaminantes de ecosistemas acuáticos, asociadas al deterioro de la salud humana.

1.12. HIPÓTESIS

A través de reacciones de acoplamiento diazoico, llevadas a cabo en una matriz polimérica hidrofílica que actúa como sensor, será posible la detección colorimétrica de plaguicidas fenólicos en medio acuoso. Esta detección dependerá, tanto del grado de hinchamiento en agua como de la cantidad de molécula sensora (4-vinilanilina), presente en el material copolimérico.

1.13. OBJETIVOS

1.13.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar una matriz polimérica hidrofílica que actúe como sensor colorimétrico de fenoles nocivos (plaguicidas y sustancias tóxicas de importancia ambiental), en medio acuoso, a través de reacciones de acoplamiento diazoico.

1.13.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar una matriz polimérica sensora mediante copolimerización radicalaria, usando los monómeros vinílicos *N*-vinilpirrolidona (componente hidrofílico), metacrilato de metilo (componente hidrofóbico) y 4-vinilanilina (molécula sensora).
2. Realizar ensayos de detección colorimétrica en medio acuoso con fenoles nocivos, ajustando las cantidades del componente hidrofílico, componente hidrofóbico y molécula sensora en la matriz copolimérica.
3. Determinar los límites de detección y cuantificación de fenol del sensor polimérico a través de técnicas colorimétricas (UV-Vis y RGB de color digital).
4. Caracterizar química, térmica y mecánicamente la matriz polimérica sensora.

Capítulo 2: Materiales y Métodos.

2.1. Solventes, reactivos y materiales.

Todos los reactivos y solventes son comerciales y se usaron sin purificación adicional, al menos que se indique lo contrario. Los monómeros 4-vinilanilina (4-VA) (97%), *N*-vinilpirrolidona (VP) (99%) y metacrilato de metilo (MMA) (99%), fueron suministrados por Sigma-Aldrich. El iniciador radical térmico 2,2'-azo-bis-isobutironitrilo (AIBN) (98%) fue adquirido de Acros Organics y recristalizado dos veces a partir de metanol.

Los compuestos fenólicos de estudio 2,4-dimetilfenol (2,4-DMF) (98%), 3-metilfenol (3-MF) (98%), 2-fenilfenol (2-FF) (99%), 1-naftol (1-NAF) (99%), 4-clorofenol (4-CIF) (99%), fenhexamida (FENHEXA) (99%) y 1,8-dihidroxiانtraquinona (1,8-DHAQ) (96%), fueron suministrados por Sigma-Aldrich.

Para la síntesis de azoderivados en solución, se usaron soluciones básicas de algunos de los compuestos de estudio, preparadas a partir de hidróxido de sodio (99-100%, adquirido de Merck), y usando agua ultrapura (agua UP), obtenida de un sistema de purificación de agua Milli-Q®. En estas síntesis también se utilizaron los reactivos 4-metilanilina (4-MA) (99.6%), nitrito de sodio (99.999%) y ácido clorhídrico concentrado (37%), todos ellos proporcionados por Sigma-Aldrich.

Para las reacciones en solución, efectuadas a baja temperatura, se emplearon baños de hielo-agua. Las temperaturas indicadas se refieren a las del baño externo. Todas estas reacciones se hicieron con agitación magnética.

En la síntesis del sensor polimérico, se usaron placas de vidrio de 15 cm de largo x 15 cm de ancho con un espesor de 4 mm, y con 2 orificios de 6 mm de diámetro, uno ubicado en el vértice superior izquierdo y el otro en el vértice inferior derecho. Para garantizar que el polímero sintetizado no se adhiriera a la superficie de las placas, estas fueron silanizadas con una solución de diclorodimetilsilano (98%) en tolueno (99.9%), al 15% v/v, ambos suministrados por Merck.

Para la inyección de la mezcla de monómeros se usaron jeringas de plástico de 5 mL, proporcionadas por VWR - Part of Avantor (B. Braun).

2.2. Técnicas espectroscópicas de análisis y caracterización térmica y mecánica.

Los espectros infrarrojos, tanto de la matriz polimérica sensora en su forma original, como de los azoderivados coloreados formados en esta, fueron realizados empleando un haz de luz sincrotrón, proveniente de un acelerador de partículas (sincrotrón ALBA, Barcelona-España), mediante la técnica FTIRM (Microespectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier), en modo transmisión, usando un microscopio Hyperion 3000 acoplado al espectrómetro Vertex 70 (Bruker, Alemania). Por otra parte, los obtenidos a partir de los azocompuesto sintetizados en solución, fueron registrados con un espectrómetro JASCO FT/ IR-4200, usando pastillas de KBr.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se realizaron en disolución usando como disolvente, dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6), mediante el empleo de un espectrómetro Varian Inova-400 MHz.

Los espectros UV-Vis fueron registrados en un espectrofotómetro Varian Cary 300 Bio, en cubetas de cuarzo de 1 cm de lado y a una temperatura controlada de 25°C. Así mismo, los valores RGB fueron obtenidos a partir de fotografías digitales, tomadas con una cámara digital Samsung J7 Prime (resolución de 13 MP), las cuales fueron procesadas a través de la aplicación ColorMeter.

Los datos del análisis termogravimétrico (TGA) se registraron en un equipo TGA Q50 V20.10 Build 36. Así mismo, los obtenidos del análisis calorimétrico (DSC) fueron registrados en un equipo DSC Q200 V24.4 Build 116.

Las propiedades mecánicas del sensor polimérico se determinaron en un equipo Shimadzu EZ Test Compact Table-Top Universal. Se aplicó una velocidad de extensión de 5 mm/min a una temperatura de 20°C.

2.3. Síntesis y caracterización química de azoderivados en solución.

Con el fin de caracterizar los azocompuestos coloreados que se forman en el sensor polimérico, se realizaron las reacciones de acoplamiento diazoico en

solución, utilizando como referencia el método reportado por I. B. OBOT y colaboradores.⁸⁶ Para tal efecto, se tomó como modelo la reacción entre la 4-metilánilina y los plaguicidas fenólicos 2,4-DMF (un anillo aromático, acoplamiento en orto), 3-MF (un anillo aromático, acoplamiento en para) y 1-NAF (dos anillos aromáticos, acoplamiento en para) (ver Figura 2.1).

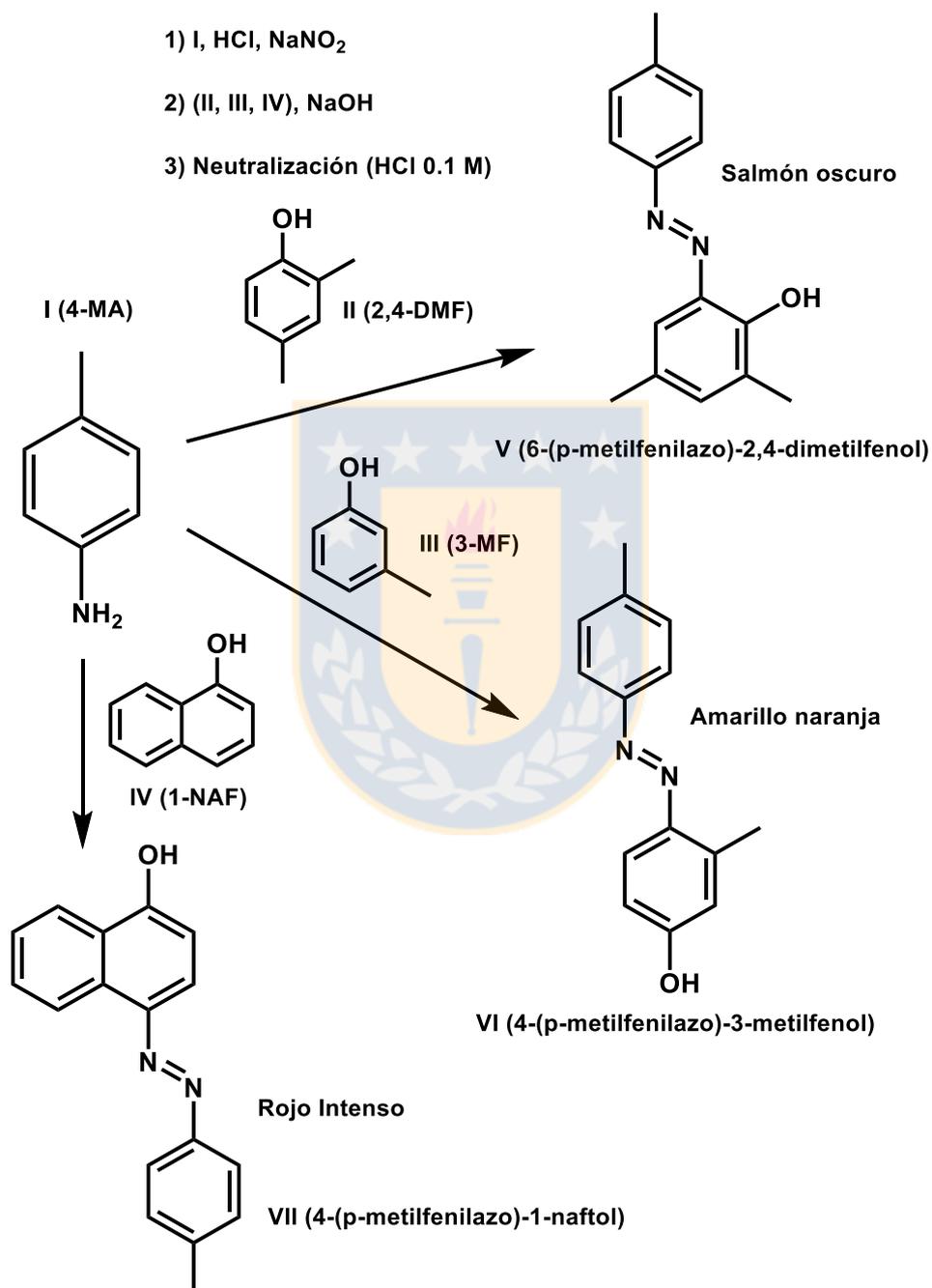


Figura 2.1. Reacciones de acoplamiento diazoico en solución con los fenoles ensayados (2,4-DMF, 3-MF y 1-NAF). Fuente: elaboración propia.

2.3.1. Procedimiento general para la síntesis de azoderivados.

Consideraciones importantes: Cuando las aminas primarias aromáticas (por ejemplo la anilina), son tratadas con nitrito de sodio en medio ácido (HCl o H₂SO₄), se forman las sales de diazonio. Para todas estas aminas, la reacción es muy general puesto que sus grupos sustituyentes tales como halógenos, nitro, sulfónico, alquílico, entre otros, no interfieren. Los iones de diazonio aromáticos se acoplan bien con sustratos activos como las aminas aromáticas y los fenoles. La sustitución se da mayoritariamente en para respecto al grupo activante, a no ser que esta posición ya esté ocupada, en cuyo caso la sustitución se da en orto. Para el caso de los fenoles, estos deben ser disueltos previamente en medio alcalino débil, donde se convierten en especies más activantes (fenóxidos), puesto que los fenoles en sí mismos no son lo suficientemente reactivos para atacar a las sales de diazonio.⁸⁷

La cantidad de NaNO₂ es la estequiométrica, pero el HCl debe estar en exceso para prevenir la diazotación parcial y condensación. Si la diazotación ocurre satisfactoriamente, la amina debe encontrarse en disolución acuosa ácida. Una vez formada, la sal de diazonio no se aísla y debe ser utilizada rápidamente en la etapa siguiente, puesto que las reacciones de diazotación generalmente son exotérmicas y las sales de diazonio se descomponen con facilidad si no se enfría el sistema y se las hace reaccionar en el tiempo establecido.⁸⁸ Para poder efectuar la diazotación generalmente es necesario mantener la temperatura de reacción normalmente entre 0 – 5 °C.⁸⁹

a) Preparación de soluciones básicas con los fenoles de estudio (2,4-DMF, 3-MF y 1-NAF).

Estas soluciones se prepararon disolviendo 5 mmol de cada fenol en 7.5 mL (20.62 mmol) de NaOH 2.75 M. Posteriormente, estas fueron enfriadas, usando un baño de agua-hielo, manteniendo la temperatura a 0 °C.

b) Preparación de la sal de diazonio.

En un erlenmeyer de 250 mL, se agitó una mezcla de 4-MA (0.537 g, 5 mmol), agua (40 ml) y ácido clorhídrico concentrado (2.5 ml, 30.15 mmol) hasta que se obtuvo una solución transparente. Esta solución se enfrió a 0°C en un baño de

agua-hielo y se adicionaron gota a gota 5 mL de una solución acuosa de nitrito de sodio (0.375 g, 5.43 mmol), asegurando que la temperatura se mantuviera por debajo de 0 °C. Se agitó la solución durante 40 minutos más.

c) Acoplamiento diazoico.

Una vez formada la sal de diazonio, se adicionó la solución básica de fenol previamente preparada, formándose una mezcla líquida bien concentrada (de color amarillo ocre para el azocompuesto V, amarillo verdoso para el VI y rojo pardo para el VII).

d) purificación de los azocompuestos obtenidos.

La mezcla líquida de cada azocompuesto fue filtrada a presión reducida y al filtrado obtenido se le agregaron gotas de HCl 0.1 M hasta neutralización total, formándose así, precipitados de color homogéneo (salmón oscuro para el azocompuesto V, amarillo naranja para VI y rojo intenso para VII). Posteriormente, se pasó a realizar la caracterización química por RMN ¹H de cada uno de estos azoderivados. Este análisis mostró que los azoderivados VI y VII estaban bastante puros. Por su parte el azoderivado V tenía ciertas impurezas, por lo que fue necesario recrystalizarlo a partir de ácido acético glacial.

2.3.2. Caracterización de 6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol (V).

Se obtuvieron cristales en forma de agujas muy finas de color salmón oscuro (rendimiento: 52%). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 11.64 (s, 1H, OH); 7.86 (d, 2H, Ar); 7.43 (s, 1H, Ar); 7.36 (d, 2H, Ar); 7.10 (s, 1H, Ar); 2.36 (s, 3H, CH₃); 2.24 (s, 3H, CH₃); 2.18 (s, 3H, CH₃). **RMN ¹³C** (100.58 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 150.00, 149.40, 141.85, 137.14, 135.72, 130.41, 128.36, 126.70, 124.24, 122.79, 21.51, 20.37, 15.78. **FT-IR.** Número de onda (cm⁻¹): ν(O-H) (3670-3124); ν(C-H) (3025: Ar); ν(C-H, asim) (2918: CH₃); ν(C-H, sim) (2856: CH₃); ν(C=C) (1606: Ar); ν(N=N) (1484, azo); ν(C-OH) (1265: fenol); ν(C-H) (863: Ar 1,2,4,6-tetrasustituido); ν(C-H) (826: Ar 1,4-disustituido).

2.3.3. Caracterización de 4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol (VI).

Se obtuvo un sólido de color amarillo naranja (rendimiento: 61%). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 11.07 (s, 1H, OH); 7.67 (d, 2H, Ar); 7.53 (d, 1H, Ar); 7.30 (d, 2H, Ar); 6.75 (s, 1H, Ar); 6.66 (d, 1H, Ar); 2.58 (s, 3H, CH₃); 2.34 (s, 3H, CH₃). **RMN ¹³C** (100.58 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 161.02, 151.06, 143.65, 140.91, 140.61, 130.21, 122.61, 117.43, 117.16, 114.32, 21.39, 17.62. **FT-IR.** Número de onda (cm⁻¹): ν(O-H) (3659-3318); ν(C-H) (3022: Ar); ν(C-H, asim) (2923: CH₃); ν(C-H, sim) (2807: CH₃); ν(C=C) (1597: Ar); ν(N=N) (1465, azo); ν(C-OH) (1247: fenol); ν(C-H) (831 y 815: Ar 1,3,4-trisustituido); ν(C-H) (855: Ar 1,4-disustituido).

2.3.4. Caracterización de 4-(p-metilfenilazo)-1-naftol (VII).

Se obtuvo un sólido de color rojo intenso (rendimiento: 40%). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 11.06 (s, 1H, OH); 8.86 (d, 1H, Ar); 8.21 (d, 1H, Ar); 7.83 (d, 2H, Ar); 7.80 (d, 1H, Ar); 7.67 (t, 1H, Ar); 7.56 (t, 1H, Ar); 7.37 (d, 2H, Ar); 7.01 (d, 1H, Ar), 2.37 (s, 3H, CH₃). **RMN ¹³C** (100.58 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm): 157.89, 151.32, 140.84, 139.89, 132.96, 130.33, 128.06, 125.82, 124.86, 123.02, 122.85, 122.81, 114.04, 108.78, 21.57. **FT-IR.** Número de onda (cm⁻¹): ν(O-H) (3737-3290); ν(C-H) (3043: Ar); ν(C-H, asim) (2919: CH₃); ν(C-H, sim) (2851: CH₃); ν(C=C) (1625: Ar); ν(N=N) (1448, azo); ν(C-OH) (1271: fenol); ν(C-H) (816: Ar 1,4-disustituido); ν(C-H) (754: Ar 1,2,3,4-tetrasustituido).

2.4. Síntesis y caracterización química del sensor polimérico y de azoderivados.

Cabe aclarar que la detección colorimétrica de los siete fenoles de estudio, se realizó con dos cantidades diferentes de 4-VA (molécula sensora) en la matriz copolimérica, es decir, con películas que contenían 0.05 mol% (denominada P₁, 100 μm de espesor) y 0.25 mol% (denominada P₂, 100 μm de espesor) de esta molécula sensora. Por consiguiente, el término “síntesis del sensor polimérico” hace referencia a la síntesis de estas dos películas poliméricas. Además de estas, se sintetizó otra que contenía 10 mol% de 4-VA (denominada P₃), la cual se usó en los ensayos de detección colorimétrica.

Por otro lado, dado que la caracterización química del sensor polimérico y de sus azoderivados se realizó por FTIRM (empleando un haz de luz sincrotrón), fue necesaria la síntesis de dos películas poliméricas de 10 μm de espesor, una que contenía solo VP y MMA (denominada P_{4CQ}, relación mol%: 50/50, se usó como blanco) y otra que contenía, además de estos dos monómeros, 1 mol% de 4-VA (denominada P₅).

Por otra parte, para la caracterización térmica del sensor polimérico, se sintetizó otra película polimérica que solo contenía VP y MMA (denominada P_{4CT}, 100 μm de espesor, relación mol%: 50/50), la cual se usó como blanco.

2.4.1. Síntesis de P₁ (VP-MMA-4-VA, 0.05 mol% 4-VA, 100 μm de espesor).

Para la síntesis de esta película se usaron 8.04 mmol de VP, 8.04 mmol de MMA y 8.06×10^{-3} mmol de 4-VA, en una relación molar en porcentaje 49.975/49.975/0.05, respectivamente. Se usó además, 0.104 mmol (1% en peso/1700 mg totales) del iniciador radical térmico 2,2'-azo-bis-isobutironitrilo (AIBN). La polimerización se llevó a cabo entre dos placas de vidrio silanizadas (con moldes de polietileno de 100 μm de espesor), a 60 °C durante 12 horas, obteniéndose una delgada película polimérica incolora y transparente, del mismo grosor del molde y con buenas propiedades de manejabilidad.

2.4.2. Síntesis de P₂ (VP-MMA-4-VA, 0.25 mol% 4-VA, 100 μm de espesor).

Esta película se sintetizó de la misma forma que en el caso anterior, con las cantidades monoméricas que se indican a continuación: 8.03 mmol de VP, 8.03 mmol de MMA y 4.0×10^{-2} mmol de 4-VA, en una relación molar en porcentaje 49.875/49.875/0.25, respectivamente. Además, se usaron 0.104 mmol (1% en peso/1700 mg totales) de AIBN, obteniéndose una delgada película polimérica de 100 μm de espesor incolora y transparente, también con buenas propiedades de manejabilidad.

2.4.3. Síntesis de P₃ (VP-MMA-4-VA, 10 mol% 4-VA, 100 μm de espesor).

Esta película se sintetizó de la misma manera que en el numeral 2.4.1, con las cantidades monoméricas que se indican a continuación: 7.15 mmol de VP, 7.15 mmol de MMA y 1.6 mmol de 4-VA, en una relación molar en porcentaje 45/45/10, respectivamente. Además, se usaron 0.104 mmol (1% en peso/1700

mg totales) de AIBN obteniéndose una delgada película polimérica de 100 μm de espesor, de color amarillo claro y poco transparente.

2.4.4. Síntesis de P_{4CT} (VP-MMA, 100 μm de espesor).

Esta película polimérica se sintetizó siguiendo el mismo procedimiento del numeral 2.4.1, con las cantidades monoméricas indicadas a continuación: 8.05 mmol de VP y 8.05 mmol de MMA, en una relación molar en porcentaje 50/50, respectivamente. Se usaron además 0.104 mmol (1% en peso/1700 mg totales) de AIBN, obteniéndose una delgada película de 100 μm de espesor, incolora y transparente.

2.4.5. Síntesis de P_{4CQ} (VP-MMA, 10 μm de espesor).

Esta película polimérica se sintetizó siguiendo el mismo procedimiento del numeral 2.4.1, con las cantidades monoméricas indicadas a continuación: 0.71 mmol de VP y 0.71 mmol de MMA, en una relación molar en porcentaje 50/50, respectivamente. Se usaron además 9.1×10^{-3} mmol (1% en peso/150 mg totales) de AIBN, y en este caso, no se empleó molde de polimerización. Se obtuvo una delgada película de aproximadamente 10 μm de espesor, incolora y transparente.

2.4.6. Síntesis de P₅ (VP-MMA-4-VA, 1 mol% 4-VA, 10 μm de espesor).

Esta película polimérica se sintetizó en las mismas condiciones que en el caso anterior, con las cantidades monoméricas que se indican a continuación: 0.70 mmol de VP, 0.70 mmol de MMA y 0.014 mmol de 4-VA, en una relación molar en porcentaje 49.5/49.5/1, respectivamente. Además, se usaron 9.1×10^{-3} mmol de AIBN (1% en peso/150 mg totales), y al igual que en el caso anterior, no se usó molde de polimerización. Se obtuvo una delgada película polimérica de color amarillo muy claro y transparente de aproximadamente 10 μm de espesor.

2.4.7. Síntesis de azoderivados en P₅.

a) Preparación de soluciones básicas con todos los fenoles de estudio.

En 7 frascos con tapa-rosca (63 mL y 14 cm de alto) se disolvieron 0.4 g de NaOH en 10 mL de agua destilada. Posteriormente, se adicionaron 0.4 g de

fenol, se taparon los frascos y se agitó vigorosamente hasta obtener una mezcla totalmente homogénea.

b) Preparación de la sal de diazonio.

En 7 frascos con tapa-rosca (63 mL y 14 cm de alto) se disolvieron 0.1 g NaNO_2 en 10 mL de agua destilada. Luego, se añadió 1 ml HCl 37%, se taparon los frascos y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. Se cortaron 7 tiras de 2 cm de largo y 1 cm de ancho a partir de P_5 , luego estas se sumergieron en cada uno de los frascos. Los frascos se taparon y se dejaron a temperatura ambiente por un periodo de 40 min.

c) Acoplamiento diazoico.

Una vez formada la sal de diazonio dentro de las tiras copoliméricas (incolores), se retiraron de la solución ácida, se secaron por ambos lados usando papel secamanos y se adicionaron, una a una, dentro de cada solución básica de fenol previamente preparada. Se formaron colores característicos en cada tira polimérica así: amarillo naranja para los azoderivado de 3-MF (P_{5A}) y 2-FF (P_{5B}), salmón oscuro para el de 2,4-DMF (P_{5C}), rojo intenso para el de 1-NAF (P_{5D}), café oscuro para el de FENHEXA (P_{5E}), naranja rojizo para el de 4-CIF (P_{5F}) y morado rojizo para el de 1,8-DHAQ (P_{5G}).

2.4.8. Caracterización química de P_{4CQ} , P_5 y de azoderivados.

Con el fin de obtener un referente de comparación, se mostrarán para P_5 , solo las señales IR de los azoderivados formados a partir del 3-MF (P_{5A}), 2,4-DMF (P_{5C}) y 1-NAF (P_{5D}), dado que estos mismos se obtuvieron en solución.

2.4.8.1. P_{4CQ} (PV-MMA). FT-IR. Número de onda (cm^{-1}): $\nu_{(\text{O-H})}$ (3715-3083: VP, absorción de agua); $\nu_{(\text{C-H, asim})}$ (2982: VP y MMA); $\nu_{(\text{C-H, sim})}$ (2948: VP y MMA); $\nu_{(\text{C=O})}$ (1732: MMA); $\nu_{(\text{C=O})}$ (1665: VP); $\nu_{(\text{CH})}$ (1440: MMA, VP y 4-VA); $\nu_{(\text{C-N-C})}$ (1390: VP); $\nu_{(\text{C-C-O})}$: $[\text{C-(O=C)-O}]$ (1290: MMA); $\nu_{(\text{C-O-C})}$ $[\text{O=C-O-C}]$ (1148: MMA).

2.4.8.2. P_5 (VP-MMA-4-VA). FT-IR. Número de onda (cm^{-1}): $\nu_{(\text{N-H})}$, $\nu_{(\text{O-H})}$ (3721-3072: 4-VA, VP); $\nu_{(\text{C-H, asim})}$ (2991: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(\text{C-H, sim})}$ (2950: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(\text{C=O})}$ (1718: MMA); $\nu_{(\text{C=O})}$ (1661: VP); $\nu_{(\text{N-H})}$ (1515: 4-VA), $\nu_{(\text{CH})}$ (1434:

MMA, VP y 4-VA); $\nu_{(C-N-C)}$ (1377): VP); $\nu_{(C-C-O)}$: [C-(O=C)-O] (1279: MMA); $\nu_{(C-O-C)}$: [O=C-O-C] (1141: MMA).

2.4.8.3. P_{5A} - Azoderivado de 3-MF. FT-IR. Número de onda (cm^{-1}): $\nu_{(O-H)}$ (3705-3060: 3-MF, VP); $\nu_{(C-H, asim)}$ (2982: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C-H, sim)}$ (2951: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C=O)}$ (1725: MMA); $\nu_{(C=O)}$ (1655: VP); $\nu_{(N=N)}$ (1592, azo); $\nu_{(CH)}$, (1430: MMA, VP y 4-VA); $\nu_{(C-N-C)}$ (1383: VP); $\nu_{(C-C-O)}$: [C-(O=C)-O] (1290: MMA); $\nu_{(C-O-C)}$: [O=C-O-C] (1142: MMA).

2.4.8.4. P_{5C} - Azoderivado de 2,4-DMF. FT-IR. Número de onda (cm^{-1}): $\nu_{(O-H)}$ (3716-3073: 2,4-DMF, VP); $\nu_{(C-H, asim)}$ (2997: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C-H, sim)}$ (2948: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C=O)}$ (1729: MMA); $\nu_{(C=O)}$ (1661: VP); $\nu_{(N=N)}$ (1566: azo), $\nu_{(CH)}$ (1431: MMA, VP y 4-VA); $\nu_{(C-N-C)}$ (1383: VP); $\nu_{(C-C-O)}$: [C-(O=C)-O] (1267: MMA); $\nu_{(C-O-C)}$: [O=C-O-C] (1143: MMA).

2.4.8.5. P_{5D} - Azoderivado de 1-NAF. FT-IR. Número de onda (cm^{-1}): $\nu_{(O-H)}$ (3707-3065: 1-NAF, VP); $\nu_{(C-H, asim)}$ (2990: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C-H, sim)}$ (2949: VP, MMA y 4-VA); $\nu_{(C=O)}$ (1716, MMA); $\nu_{(C=O)}$ (1649, VP); $\nu_{(N=N)}$ (1573, azo), $\nu_{(CH)}$ (1432, MMA, VP y 4-VA); $\nu_{(C-N-C)}$ (1381), VP); $\nu_{(C-O)}$: [C-(O=C)-O] (1274, MMA); $\nu_{(C-O-C)}$: [O=C-O-C] (1141, MMA).

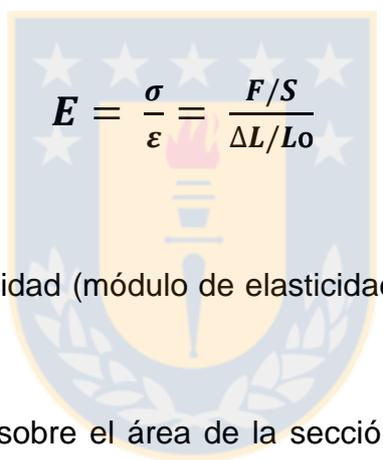
2.5. Caracterización térmica, mecánica y capacidad de hinchamiento en agua del sensor polimérico.

El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó con el fin de conocer, tanto la temperatura de máxima degradación (T_{max}), como las temperaturas a las cuales P₁ y P₂ se degradan en un 5 (T_5) y 10% (T_{10}), lo que permite evaluar la estabilidad térmica del sensor polimérico. Para el análisis, se usaron muestras con una masa aproximada de 5 mg en atmósfera de nitrógeno, a una velocidad de escaneo de $10\text{ }^{\circ}C\text{ min}^{-1}$ hasta $800\text{ }^{\circ}C$. En estas mismas condiciones, se determinó T_5 , T_{10} y T_{max} para la película P_{4CT} (blanco).

De otro lado, el análisis DSC se realizó para determinar las transiciones térmicas que sufren P₁ y P₂ en el ensayo calorimétrico, lo que nos da una idea de la estructura interna de estos materiales. El análisis se llevó a cabo en atmósfera de N₂, empleando entre 5-6 mg de muestra, con una rampa de calentamiento de

20 °C min⁻¹ hasta 200 °C. Usando estas condiciones, se hizo este mismo análisis para la película copolimérica P_{4CT} (blanco).

El módulo de elasticidad o módulo de Young, se realizó con el fin de conocer la relación existente, entre los incrementos de tensión aplicados en el ensayo de tracción y los incrementos de deformación producidos en P₁ y P₂. Este ensayo sirvió además, para saber el porcentaje de deformación de estos copolímeros antes de la rotura. El análisis fue realizado a 20 °C, empleando tiras de 50 mm de longitud y 5 mm ancho, cortadas a partir de películas poliméricas de 0.1 mm (100 μm) de espesor. Se usaron abrazaderas mecánicas, aplicando una velocidad de extensión de 5 mm/min. Se analizaron al menos seis muestras para cada polímero y los datos se promediaron. El módulo de Young y el porcentaje de deformación antes de la rotura, están definidos por las Ecuaciones 1 y 2, respectivamente.⁹⁰


$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{F/S}{\Delta L/L_0} \quad (1)$$

Donde:

E, es el módulo de elasticidad (módulo de elasticidad longitudinal o módulo de Young).

σ, es la tensión ejercida sobre el área de la sección transversal del polímero (tensión = fuerza/área).

ε, es la deformación unitaria, entendida como la relación entre el cambio de longitud (**ΔL**) con respecto a la longitud inicial (**L₀**).

$$\% D = \varepsilon \times 100 = \frac{l-l_0}{l_0} \times 100 = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

% D: es el porcentaje de deformación o elongación antes de la rotura.

ε, es la deformación o alargamiento unitario del material polimérico, y se define como el cociente entre el cambio de longitud o alargamiento experimentado (**l**) y su longitud inicial (**l₀**).

Por otro lado, para determinar la capacidad de hinchamiento en agua del sensor polimérico con un 0.05 mol% (P₁) y 0.25 mol% (P₂) de 4-VA, se procedió de la siguiente manera: muestras de P₁ y P₂ se secaron en una estufa a 60 °C por 30 min, pasado este tiempo se retiraron los copolímeros de la estufa, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se pesaron en una balanza analítica (P₁ = 10.52 mg y P₂ = 10.03 mg). Posterior a esto, las muestras se sumergieron en 20 mL de agua destilada durante 40 minutos (para alcanzar el equilibrio), se secó muy bien el agua no absorbida y se pesó nuevamente (P₁ = 16.94 mg y P₂ = 15.45 mg). El porcentaje de hinchamiento en agua (PHA) de P₁ y P₂ se calculó a través de la Ecuación 3.

$$PHA = \frac{W_h - W_s}{W_s} \times 100 \quad (3)$$

Donde *Wh* y *Ws* denotan el peso de la muestra polimérica hinchada y seca respectivamente.

2.6. Medidas preliminares para ajustar la cantidad de 4-vinilanilina en el sensor polimérico.

Con el fin de ajustar la cantidad necesaria de 4-VA, molécula implicada en la formación de los azoderivados coloreados en el sensor, se realizaron medidas preliminares colorimétricas por UV-Vis. Como no se sabía si el color que se iba a formar en el sensor polimérico iba a ser muy intenso, y por consiguiente iba a saturar el detector del UV-Vis, se decidió escoger uno de los fenoles (1-Naftol) y adicionar la cantidad justa de 4-VA para evitar tal inconveniente. Para esto, se sintetizaron películas poliméricas con 0.05, 0.25 y 10 mol% de 4-VA, denominadas P₁, P₂ y P₃, respectivamente (ver numerales 2.4.1 - 2.4.3). En las medidas UV-Vis, la línea base se hizo con las dos cubetas vacías (solo cuarzo). Posteriormente, se midió la absorbancia de cada película (usando discos de 8 mm de diámetro) en su forma original (VP-MMA-4-VA), sumergidas en agua destilada y usando porta muestras de poliácido láctico (ver Figura 2.2).

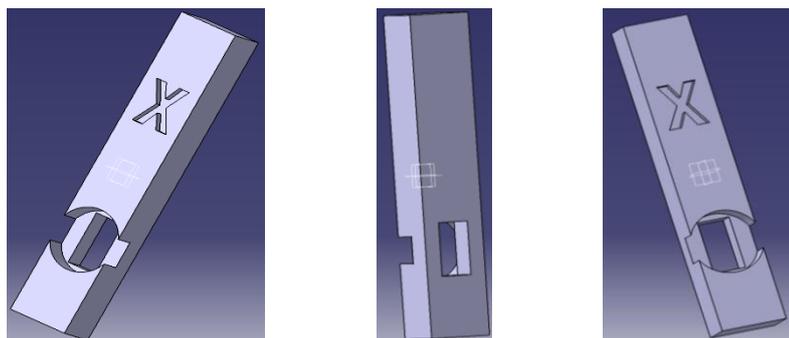


Figura 2.2. Porta muestras hechos en impresora 3D. Estos contienen espacios redondos de 8 mm de diámetro donde se insertan los discos poliméricos. Fuente: elaboración propia.

Luego, se vaciaron las cubetas con una pipeta (sin mover los discos del porta muestras), se rellenaron de disolución ácida de nitrito de sodio (10 mL H₂O, 1 mL HCl 37%, 0.1 g NaNO₂) y se dejó que la reacción transcurriera por un periodo de 40 minutos. Pasado este tiempo, se vaciaron las cubetas del mismo modo y se rellenaron de disolución básica de 1-naftol (10 mL H₂O, 0.4 g de NaOH, 0.4 g 1-naftol), formándose el azoderivado de color rojo dentro de los discos. Los resultados mostraron que solo P₁ y P₂ cumplían con los requisitos para realizar los ensayos de detección colorimétrica, ya que no saturaban el detector del UV-Vis.

2.7. Tiempo de respuesta colorimétrica del sensor polimérico.

Para medir el tiempo en que el sensor polimérico da una respuesta colorimétrica, se realizaron cinéticas de reacción con las películas P₁ y P₂. Para esto se escogió uno de los fenoles (1-NAF). Se usaron discos de 8 mm de diámetro, cortados a partir de películas de P₁ y P₂. Para la formación del azoderivado, se siguió el mismo procedimiento descrito en el numeral anterior, usando las mismas cantidades tanto de solución ácida de nitrito de sodio, como de solución básica de 1-NAF. El seguimiento de la reacción se hizo midiendo la absorbancia a 550 nm (color rojo formado), en función del tiempo, por un periodo de 3 horas con el fin de alcanzar el equilibrio. Se registró un espectro cada 60 segundos.

2.8. Estabilidad de la sal de diazonio dentro del sensor polimérico.

Este ensayo se realizó con el fin de evaluar el tiempo que duraba en degradarse la sal de diazonio dentro del sensor polimérico. El estudio se llevó a cabo con P₁ durante 13 días (ver tabla 2.1).

Tabla 2.1. Ensayo de la estabilidad de la sal de diazonio dentro de P₁.

Número de Disco	Tiempo (horas)
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	6
7	7
8	24
9	48
10	72
11	96
12	120
13	144
14	168
15	192
16	216
17	240
18	264
19	288
20	312

El análisis se hizo por triplicado, para ello, se diazotaron de 60 discos de 8 mm de diámetro durante 60 min, cortados a partir de P₁. Se emplearon 20 discos por ensayo. Para la diazotación se usó una solución ácida de nitrito de sodio (10 mL

H₂O, 1 mL HCl 37% y 0.1 g NaNO₂). Una vez diazotados los discos se retiraron de la disolución ácida, se secó el agua superficial con papel seca manos y se guardaron en viales herméticos SNAP-CAP. Posteriormente, se sumergieron en una disolución básica de 1-naftol (1.0 x 10⁻² M, preparada a partir de NaOH 0.1 M) cada hora, y después cada día según lo establecido en la Tabla 2.1. Después de la séptima hora del primer día, cada disco se mantuvo en la solución básica durante 24 horas (día a día hasta completar 13 en total). Pasados los 13 días, se sacaron y se lavaron varias veces con NaOH 0.1 M con el fin de extraer el 1-NAF que quedó sin reaccionar. Luego de estar bien lavados se fotografiaron, y el color rojo formado se midió por RGB de color digital.

2.9. Curvas de calibración colorimétricas con los fenoles de estudio.

Teniendo ya definidas las películas poliméricas que iban a ser usadas en la detección colorimétrica de los fenoles de estudio, es decir P₁ y P₂ (ver numeral 2.6), se empezaron a realizar las diferentes curvas de calibración colorimétricas (reacción de la sal de diazonio formada en P₁ o P₂, con un rango de concentración fenólica definido, lo cual origina el azoderivado con un incremento en su coloración). Inicialmente se evaluó la interferencia del NaOH en las medidas de UV-Vis, por lo que se hicieron dos curvas de calibración preliminares, usando para ello P₁ y 3-MF. Se partió de una solución básica de 3-MF con una concentración de 1.0 x 10⁻² M (preparada a partir de una disolución acuosa 0.1 M de NaOH), que se empleó como solución madre. En este ensayo, la misma solución acuosa 0.1 M de NaOH, se usó como solvente para preparar el resto de las soluciones básicas (en el rango de concentración definido, ver curva de calibración B). Para la formación del azoderivado se empleó una solución ácida de NaNO₂ (10 mL de agua, 0.1 g de NaNO₂ y 1 mL HCl 37%) y discos de 8 mm de diámetro (ver numeral 2.6). Las dos curvas de calibración se realizaron de la siguiente manera:

Curva de calibración A: 10 puntos comprendidos entre 2.5 x 10⁻⁶ y 1.0 x 10⁻² M de 3-MF, diluyendo la solución madre con agua destilada.

Curva de calibración B: 10 puntos comprendidos entre 2.5 x 10⁻⁶ y 1.0 x 10⁻² M de 3-MF, diluyendo la solución madre con disolución acuosa 0,1 M de NaOH.

Al efectuar el análisis por UV-Vis, tanto con las diluciones con agua, como con las diluciones con hidróxido de sodio, se observó que en el segundo caso el ajuste es bueno, con formación de una banda de absorción centrada en 440 nm (amarillo intenso).

Para las curvas de calibración con el resto de fenoles, se estableció como rango de trabajo, concentraciones entre 2.5×10^{-6} y 1.0×10^{-2} M (10 puntos), con excepción de la FENHEX y 1,8-DHAQ, cuyos rangos fueron de 1.0×10^{-5} – 1.0×10^{-2} M (10 puntos) y 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-3} M (9 puntos, debido a su solubilidad), respectivamente. Estas curvas de calibración se realizaron a partir de los colores obtenidos, al sumergir los discos de P₁ o P₂ (previamente diazotados), en cada solución básica de fenol del rango establecido. Con el fin de alcanzar el equilibrio, los discos se dejaron sumergidos por un periodo de 12 horas y para eliminar el exceso de fenol, estos fueron lavados varias veces durante todo un día con disolución acuosa de NaOH 0.1 M. Luego de estar bien lavados, cada disco se midió por UV-Vis y se le tomó una fotografía digital.

2.10. Determinación de los límites de detección y cuantificación de fenol del sensor polimérico, por espectroscopía de absorción UV-Vis y por parámetros RGB de color digital.

Luego de realizar las medidas UV-Vis y fotografiar cada disco, se determinaron los límites de detección y cuantificación de fenol del sensor polimérico (tanto para P₁ como para P₂). Para el caso de UV-Vis, se construyó una curva de calibración de absorbancia vs concentración molar fenólica (usando el rango establecido). De esta gráfica, se seleccionaron los datos que tuvieron un comportamiento lineal ($y = mx + b$) y se calculó: **s**, que corresponde a la pendiente de la curva de calibración en la región de baja concentración de analito y **SD**, que hace referencia a la desviación estándar del blanco (es la desviación estándar de la componente “y” en la regresión lineal). Con estos valores se determinaron los límites de detección (**LOD**) y cuantificación (**LOQ**) por medio de las Ecuaciones 4 y 5, respectivamente.⁹¹

$$LOD = \frac{3.3 \times SD}{s} \quad (4)$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{s} \quad (5)$$

Con respecto a los parámetros RGB de color digital, LOD y LOQ se determinaron usando las mismas ecuaciones 4 y 5, con la diferencia de que los valores **s** y **SD** se calcularon a partir de la curva de calibración de la componente “B” vs concentración molar fenólica, empleando los datos de comportamiento lineal.

Los datos de LOD y LOQ, calculados a través de las dos técnicas mencionadas, se expresaron en partes por billón (ppb) y partes por millón (ppm), según el caso.



Capítulo 3: Resultados y Discusión.

3.1. Elucidación estructural de azoderivados sintetizados en solución.

3.1.1. 6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol (V, diazotación en orto con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).

La Figura 3.1, muestra el espectro FT-IR del azoderivado V, en el que se notan las señales de sus grupos funcionales que evidencian su síntesis. Se observa una banda ancha entre 3670 y 3124 cm^{-1} , que corresponde a la frecuencia de tensión del enlace O-H. Así mismo, aparece una señal a 3025 cm^{-1} , relativa a las tensiones C-H insaturadas del anillo aromático. Las vibraciones de tensión simétrica y antisimétrica de los enlaces C-H saturados, aparecen a 2856 y 2918 cm^{-1} , respectivamente. Las frecuencias de tensión de los dobles enlaces C=C aromáticos, se observan a 1604 cm^{-1} . La banda más importante es la correspondiente a la del grupo azo, que presenta una frecuencia de tensión de 1484 cm^{-1} , semejante a lo informado en la literatura.⁹²⁻⁹⁴

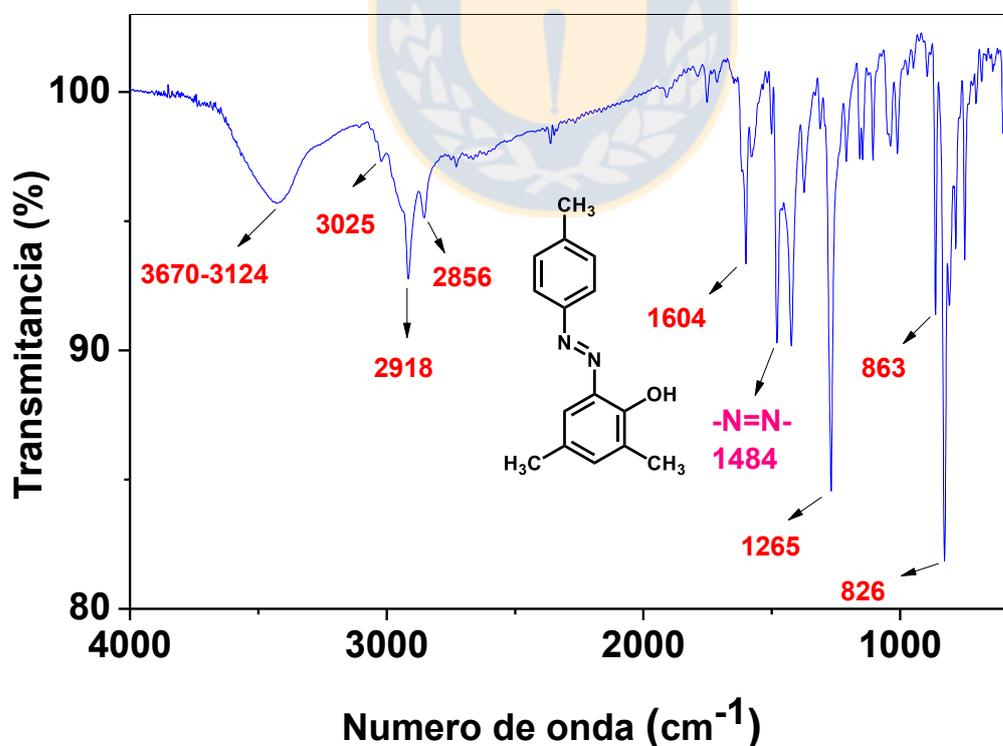


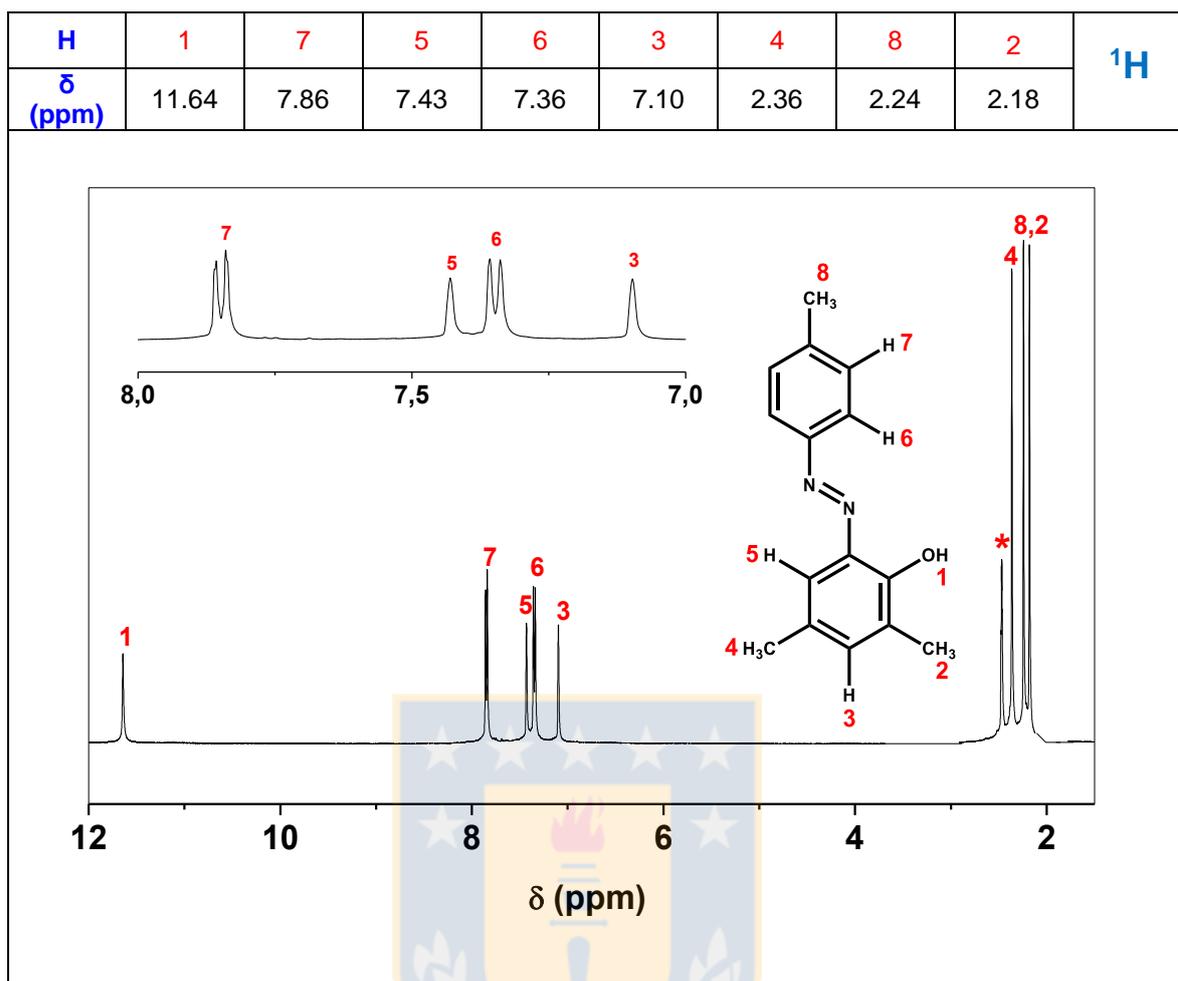
Figura 3.1. Espectro FT-IR del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol). Fuente: elaboración propia.

Por otra parte, la tensión C-OH del grupo fenólico aparece a 1256 cm^{-1} . Las flexiones fuera del plano de los enlaces C-H, correspondientes a los anillos aromáticos 1,2,4,6-tetrasustituido y 1,4-disustituido se observan a 863 y 826 cm^{-1} , respectivamente.

En la Figura 3.2, se muestra el espectro RMN ^1H del azoderivado V, donde se observan las señales de los diferentes tipos de hidrógenos que confirman su síntesis. Los singletes que aparecen a campo alto a 2.18, 2.36 y 2.24 ppm, que integran cada uno para tres hidrógenos, corresponden a hidrógenos metílicos sin acoplar. Las dos primeras señales pertenecen a los hidrógenos metílicos H^2 y H^4 del anillo fenólico y la última, a los hidrógenos metílicos H^8 del anillo proveniente de la anilina (que por simplicidad lo llamaremos anillo anilínico). La señal a campo más bajo con un desplazamiento de 11.64 ppm, que integra para 1 hidrógeno y que aparece como singlete, corresponde al hidrógeno H^1 enlazado al átomo electronegativo de oxígeno.

El resto de señales son aromáticas y se registran entre 7 y 8 ppm. Dentro de estas, se notan dos singletes que integran cada uno para un hidrógeno, con δ : 7.10 y 7.43 ppm y pertenecen a los hidrógenos H^3 y H^5 sin acoplar del anillo fenólico. Las señales más intensas con desplazamientos químicos de 7.36 y 7.86 ppm, que integran cada una para dos hidrógenos, son debidas a los hidrógenos H^6 y H^7 del anillo anilínico, y dado que acoplan entre sí, aparecen como dobletes.

Por otro lado, la Figura 3.3, muestra el espectro RMN ^{13}C , en el cual se aprecian las señales de los diferentes tipos de carbono del azoderivado V que demuestran su síntesis. La señal que aparece a campo más bajo, 150.00 ppm, corresponde al carbono C^1 unido al átomo electronegativo de oxígeno. Los desplazamientos químicos que se registran a 126.70 y 149.40 ppm, se refieren a los carbonos cuaternarios C^6 y C^9 unidos a los átomos de nitrógeno del grupo azo. Así mismo, las señales que aparecen a 128.36, 135.72 y 141.85 ppm, corresponden a los carbonos cuaternarios C^2 , C^4 y C^{12} , enlazados a grupos metilos, respectivamente.



*Solvente: DMSO-d₆

Figura 3.2. Espectro RMN ¹H del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol). Fuente: elaboración propia.

Al considerar el nitrógeno (átomo dador de electrones) que está unido al carbono C⁶ del anillo fenólico, los carbonos C⁵ (*orto*) y C³ (*para*), tienen una densidad electrónica alta, debido a la resonancia del anillo. Esto origina apantallamiento y hace que C⁵ (más cerca del nitrógeno) y C³ (más alejado del nitrógeno), tengan desplazamientos químicos de 124.24 y 137.14 ppm, respectivamente. Este mismo comportamiento se observa para el carbono C¹⁰ que está en posición *orto* con respecto al carbono unido al nitrógeno anilínico, cuyo desplazamiento químico es de 122.79 ppm, en comparación con el desplazamiento químico del carbono C¹¹ (130.41 ppm) que está en posición *meta*. Por otro lado, las señales que aparecen a campo alto a 21.51, 20.37 y 15.78 ppm, corresponden a los carbonos metílicos C⁸, C¹³ y C⁷, respectivamente, por tratarse de carbonos más apantallados y con hibridación SP³.

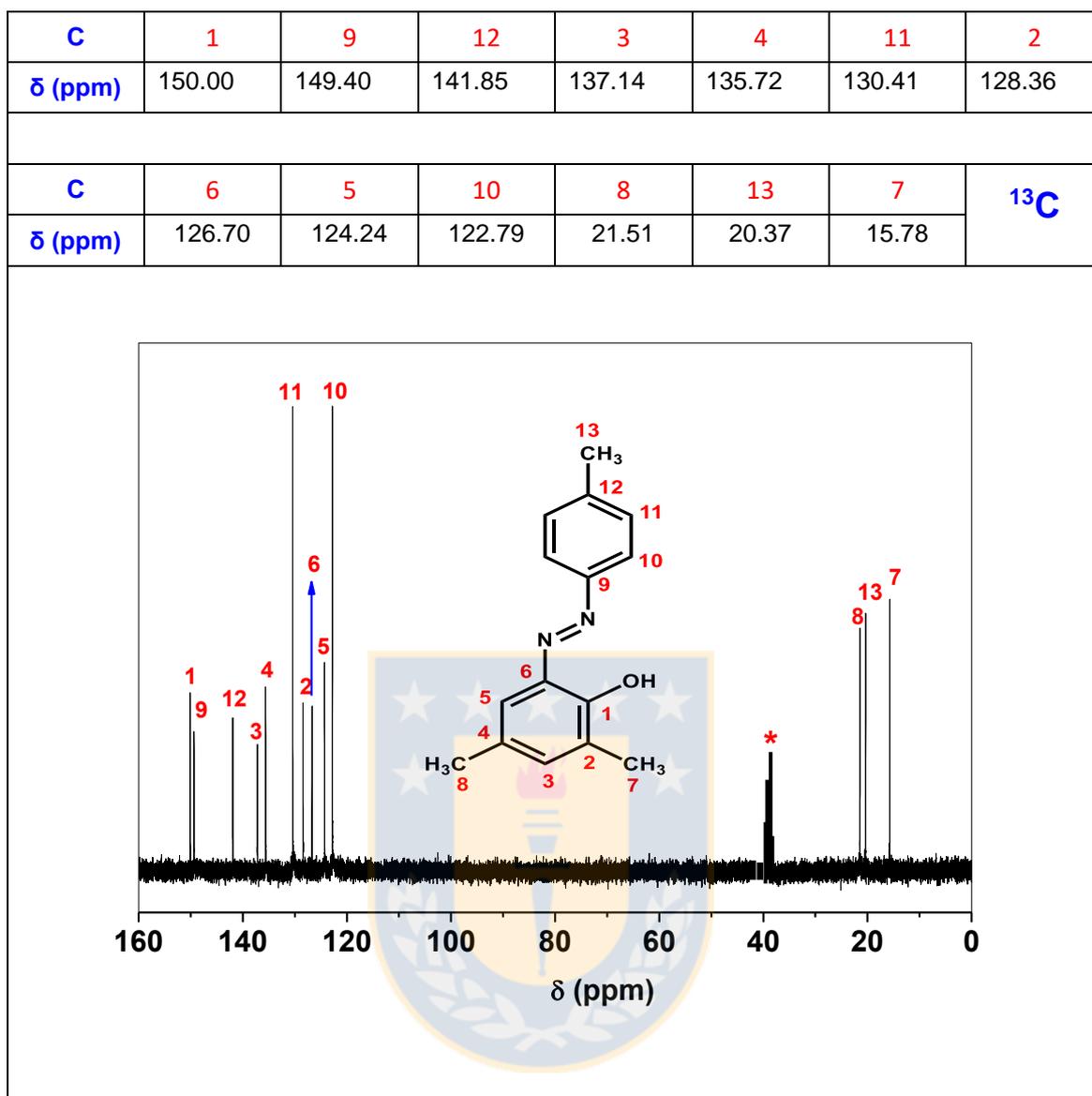


Figura 3.3. Espectro RMN ¹³C del azoderivado V (6-(p-metilfenilazo)-2,4-dimetilfenol). Fuente: elaboración propia.

3.1.2. 4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol (VI, diazotación en para con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).

La Figura 3.4, muestra el espectro FT-IR, en el que se observan las señales de los diferentes grupos funcionales presentes en el azoderivado VI, lo que evidencia su síntesis. La frecuencia de tensión del enlace O-H aparece entre 3659 y 3318 cm⁻¹. La señal a 3022 cm⁻¹, corresponde a las tensiones de los

enlaces C-H insaturados. Las tensiones simétrica y antisimétrica de los enlaces C-H saturados, aparecen a 2847 y 2923 cm^{-1} , respectivamente. La frecuencia de tensión de los dobles enlaces C=C, se registran a 1597 cm^{-1} .

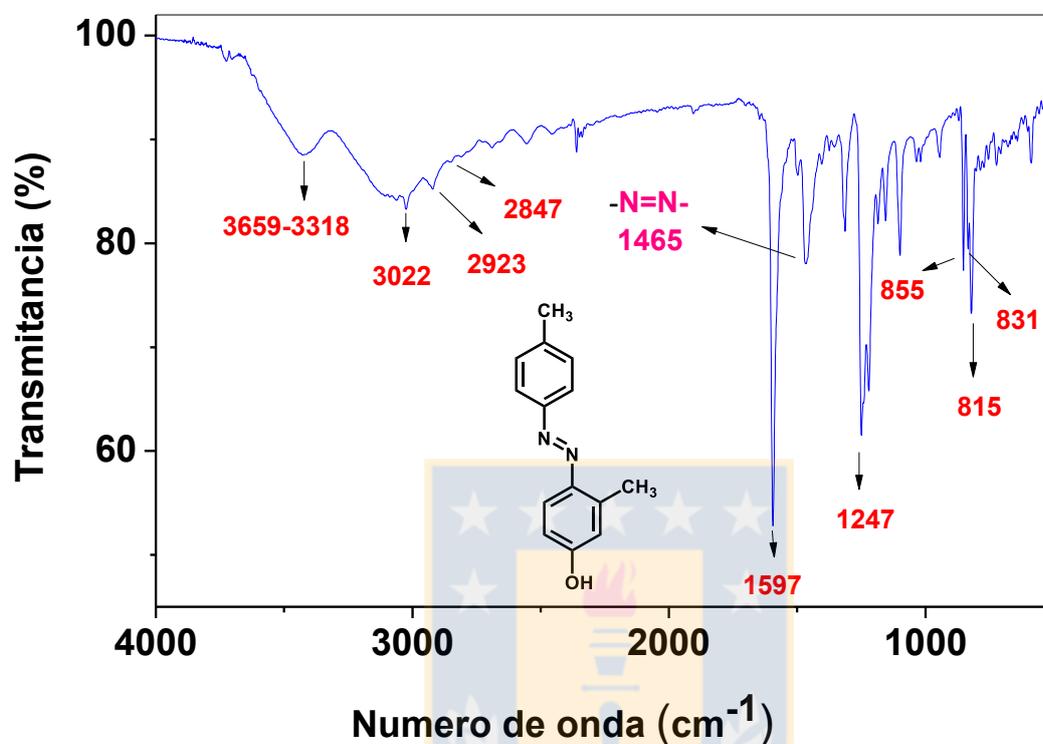


Figura 3.4. Espectro FT-IR del azoderivado VI (4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol). Fuente: elaboración propia.

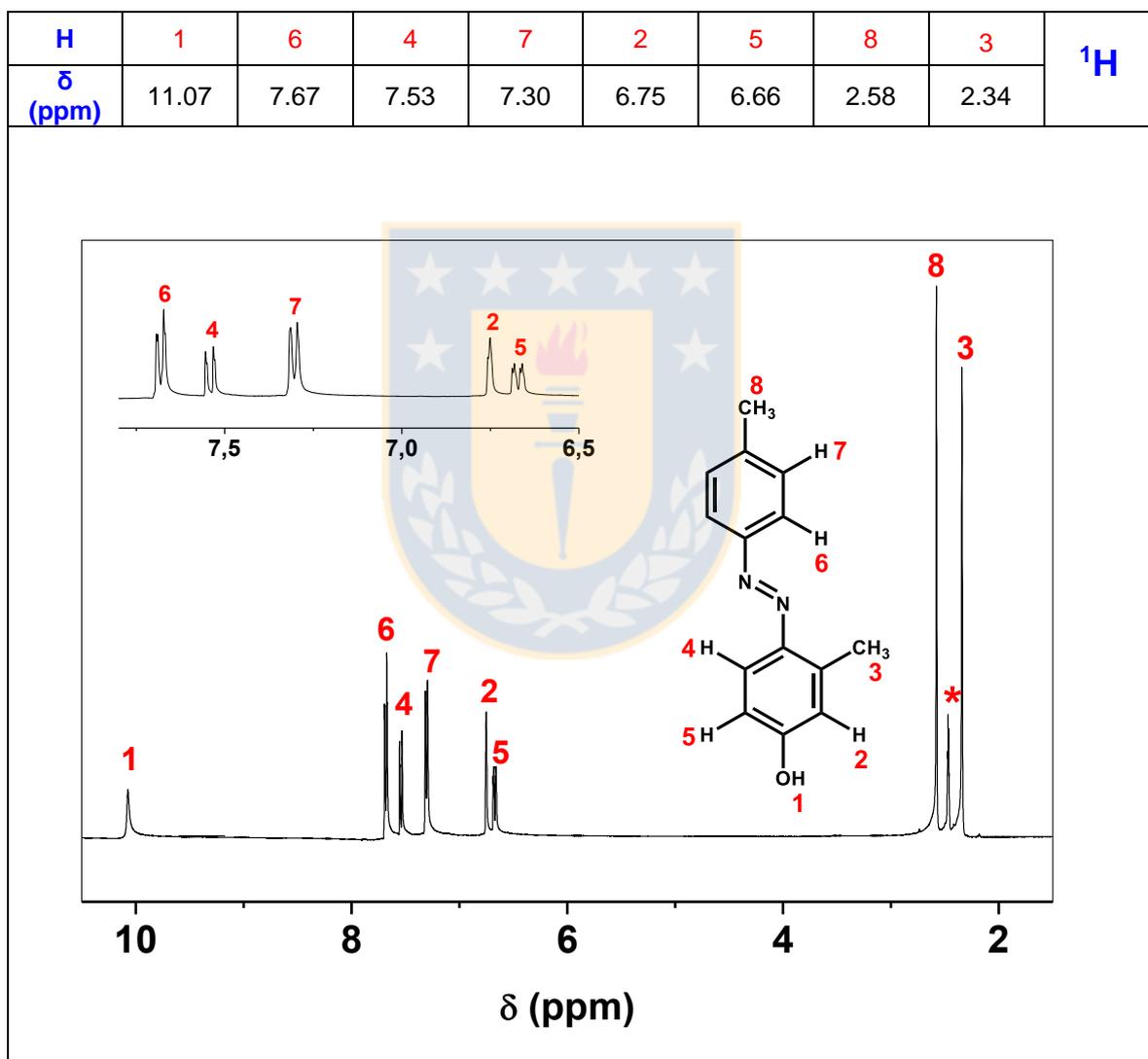
Por otra parte, el grupo azo presenta una frecuencia de tensión de 1465 cm^{-1} , análoga a la reportada en la literatura.⁹²⁻⁹⁴ La señal a 1247 cm^{-1} corresponde a la tensión C-OH del grupo fenólico.

Existe una marcada diferencia entre este azoderivado y el anterior, y es debida al patrón de sustitución del anillo aromático fenólico, presente en ambos azocompuestos. En el azoderivado V, este anillo presenta cuatro sustituciones, en comparación con las tres que presenta en el azoderivado VI. Este patrón de sustitución se ve reflejado en las flexiones fuera del plano de los enlaces C-H de ambos espectros, donde aparece solo una banda de mediana intensidad para el anillo fenólico tetrasustituido (V), con frecuencia de tensión de 863 cm^{-1} y dos bandas, una de baja intensidad y otra de intensidad media, para el anillo fenólico

trisustituido (VI), con frecuencias de tensiones de 831 y 815 cm^{-1} , respectivamente.

Por otro lado, las flexiones fuera del plano C-H del anillo anilínico disustituido del azoderivado VI, presentan una frecuencia de tensión de 855 cm^{-1} (banda de mediana intensidad).

En la Figura 3.5, se muestra el espectro RMN ^1H del azoderivado VI, donde se notan las señales de los diferentes tipos de hidrógeno que ratifican su síntesis.



*Solvente: DMSO-d_6

Figura 3.5. Espectro RMN ^1H del azoderivado VI (4-(p-metilfenilazo)-3-metilfenol).
Fuente: elaboración propia.

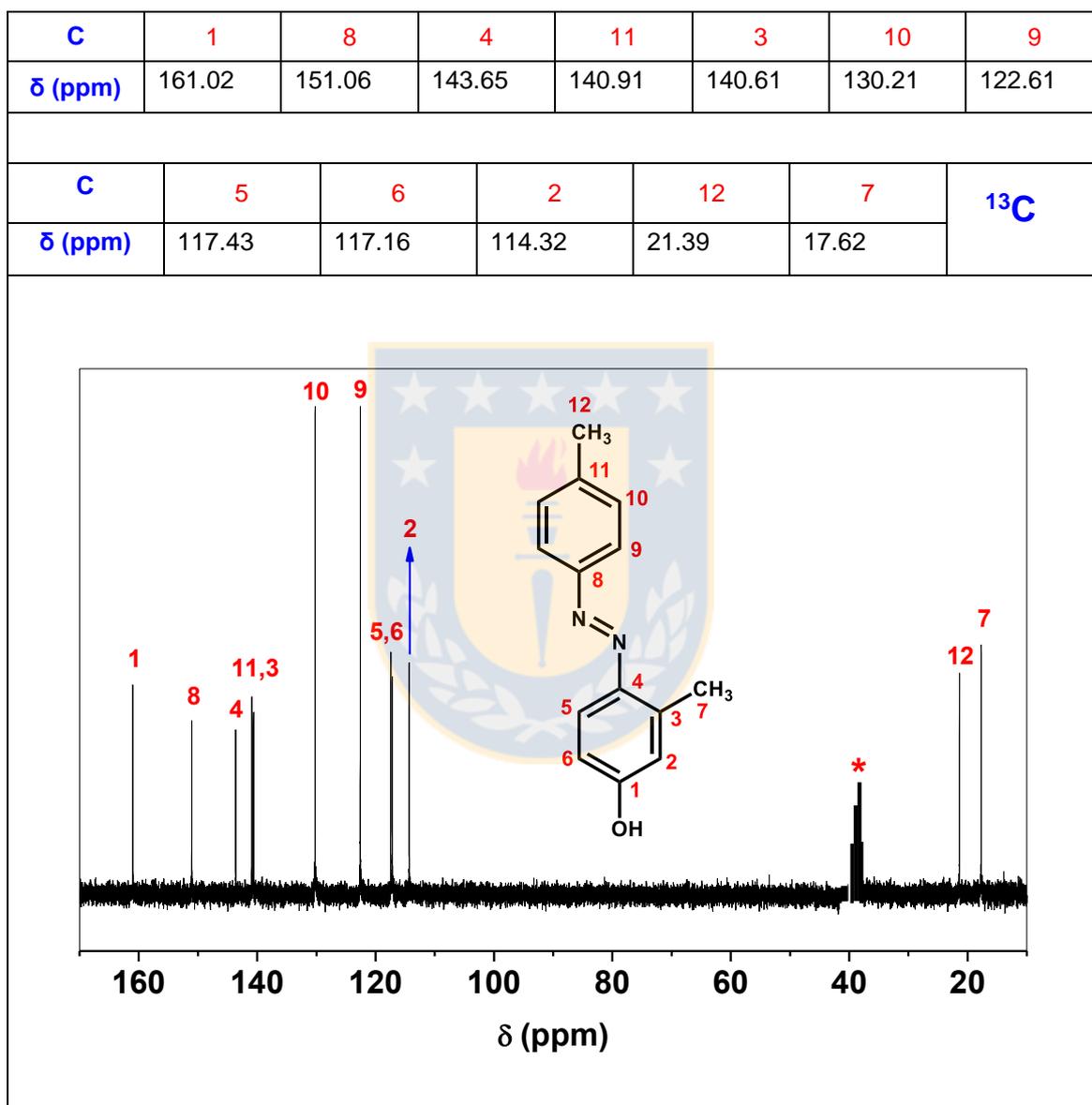
Los singletes observados a campo alto a 2.34 y 2.58 ppm que integran cada uno para tres hidrógenos, corresponden a los hidrógenos metálicos sin acoplar H³ y H⁸, respectivamente. El desplazamiento químico observado a campo más bajo (11.07 ppm), que integra para un hidrógeno y que aparece como singlete, corresponde al hidrógeno H¹ del grupo OH fenólico. Otro singlete se observa a 6.75 ppm e integra para un hidrógeno y se refiere al hidrógeno H² sin acoplar del anillo fenólico. Las señales a 6.66 y 7.53 ppm, que integran cada una para un hidrógeno, son debidas a los hidrógenos H⁵ y H⁴ del anillo fenólico, respectivamente, y puesto que estos acoplan entre sí, aparecen como dobletes. Las señales más intensas con desplazamientos químicos de 7.30 y 7.67 ppm, que integran cada una para dos hidrógenos, corresponden a los hidrógenos H⁷ y H⁶ del anillo anilínico y debido a su acoplamiento aparecen como dobletes.

En la Figura 3.6, se muestra el espectro RMN ¹³C del azoderivado VI, en el que se aprecian las señales de los diferentes tipos de carbono que ratifican su síntesis. La señal que se registra a campo más bajo a 161.02 ppm, corresponde al Carbono C¹, enlazado al átomo electronegativo de oxígeno. Los desplazamientos químicos que aparecen a 143.65 y 151.06 ppm, corresponden a los carbonos cuaternarios C⁴ y C⁸ (unidos a los átomos de nitrógeno del grupo azo), respectivamente. De igual forma, las señales que aparecen a 140.61 y 140.91 ppm, corresponden a los carbonos cuaternarios C³ y C¹¹ enlazados a grupos metilos.

Los desplazamientos químicos a campos más altos, inducidos por las posiciones *orto* y *para* (mayor densidad electrónica), se ven también reflejados en este azocompuesto. Por ejemplo, los carbonos C² (con desplazamiento químico de 114.32 ppm) y C⁶ (con desplazamiento químico de 117.16 ppm), que están en posición *orto* con respecto al carbono unido al oxígeno del grupo OH fenólico, son los que se encuentran más apantallados, por lo que aparecen a campo más altos. Lo mismo ocurre con el carbono C⁹ (con desplazamiento químico de 122.61 ppm), que está en posición *orto* con respecto al carbono unido al nitrógeno anilínico, si se le compara con el carbono C¹⁰ (con desplazamiento químico de 130.21 ppm) que está en posición *meta* (menor densidad electrónica). Así mismo, el carbono C⁵ (con desplazamiento químico de 117.43

ppm), que está en posición *orto* con respecto al carbono unido al nitrógeno del grupo azo, también se encuentra apantallado.

Por otra parte, las señales que aparecen a campo alto a 17.62 y 21.39 ppm, corresponden a los carbonos metílicos C⁷ y C¹², respectivamente, debido a que son carbonos más apantallados y que presentan hibridación SP³.



*Solvente: DMSO-d₆

Figura 3.6. Espectro RMN ¹³C del azoderivado VI (4-(*p*-metilfenilazo)-3-metilfenol).

Fuente: elaboración propia.

3.1.3. 4-(p-metilfenilazo)-1-naftol (VII, diazotación en para con respecto al carbono unido al grupo OH fenólico).

La Figura 3.7, muestra el espectro FT-IR del azoderivado VII, donde se notan las señales características de sus grupos funcionales que indican su síntesis. La frecuencia de tensión del enlace O-H aparece como una banda intensa y más aguda entre 3685 y 3288 cm^{-1} . El conjunto de señales que aparecen justo después de 3000 cm^{-1} se refieren a las tensiones de los enlaces C-H insaturados, cabe destacar la de mayor intensidad, con una frecuencia de tensión de 3236 cm^{-1} . Las vibraciones de tensión simétrica y antisimétrica de los enlaces C-H saturados, aparecen a 2851 y 2919 cm^{-1} , respectivamente. La frecuencias de tensión de los dobles enlaces C=C se registran a 1625 cm^{-1} . El grupo azo por su parte, presenta una frecuencia de tensión de 1448 cm^{-1} , similar a lo reportado en la literatura.^{86,95}

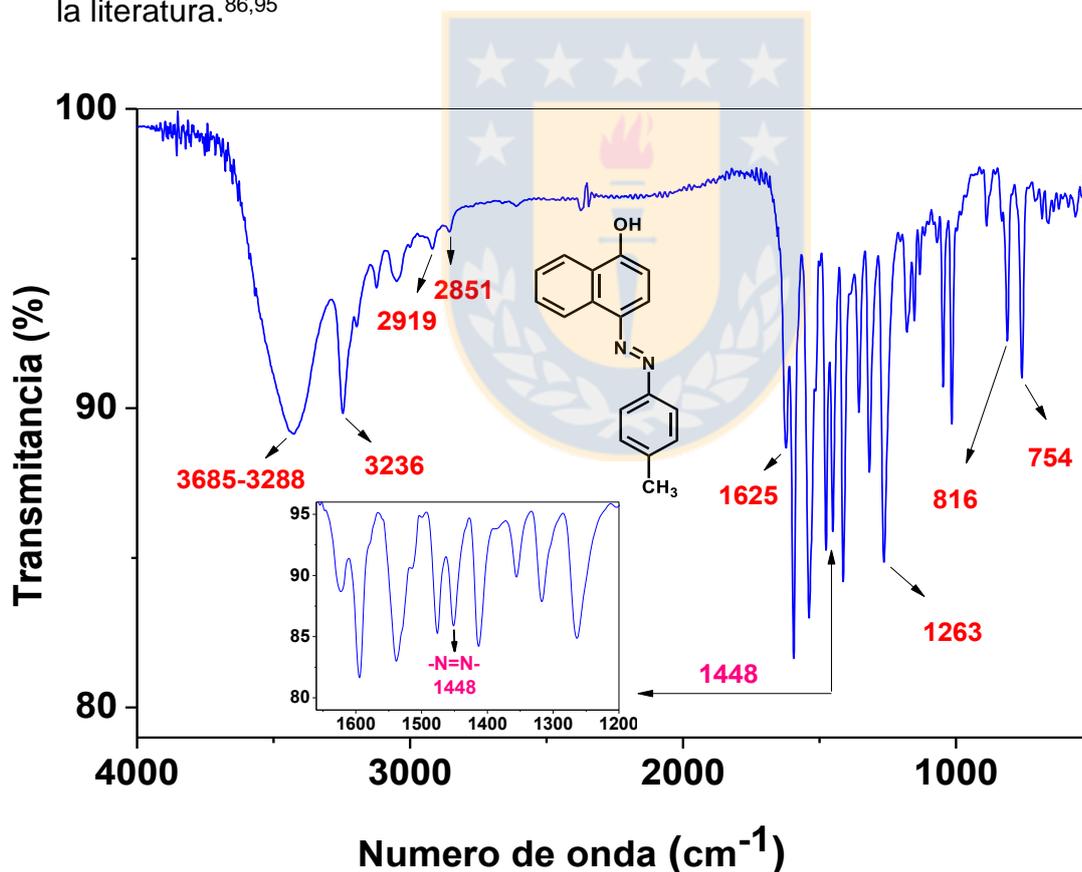
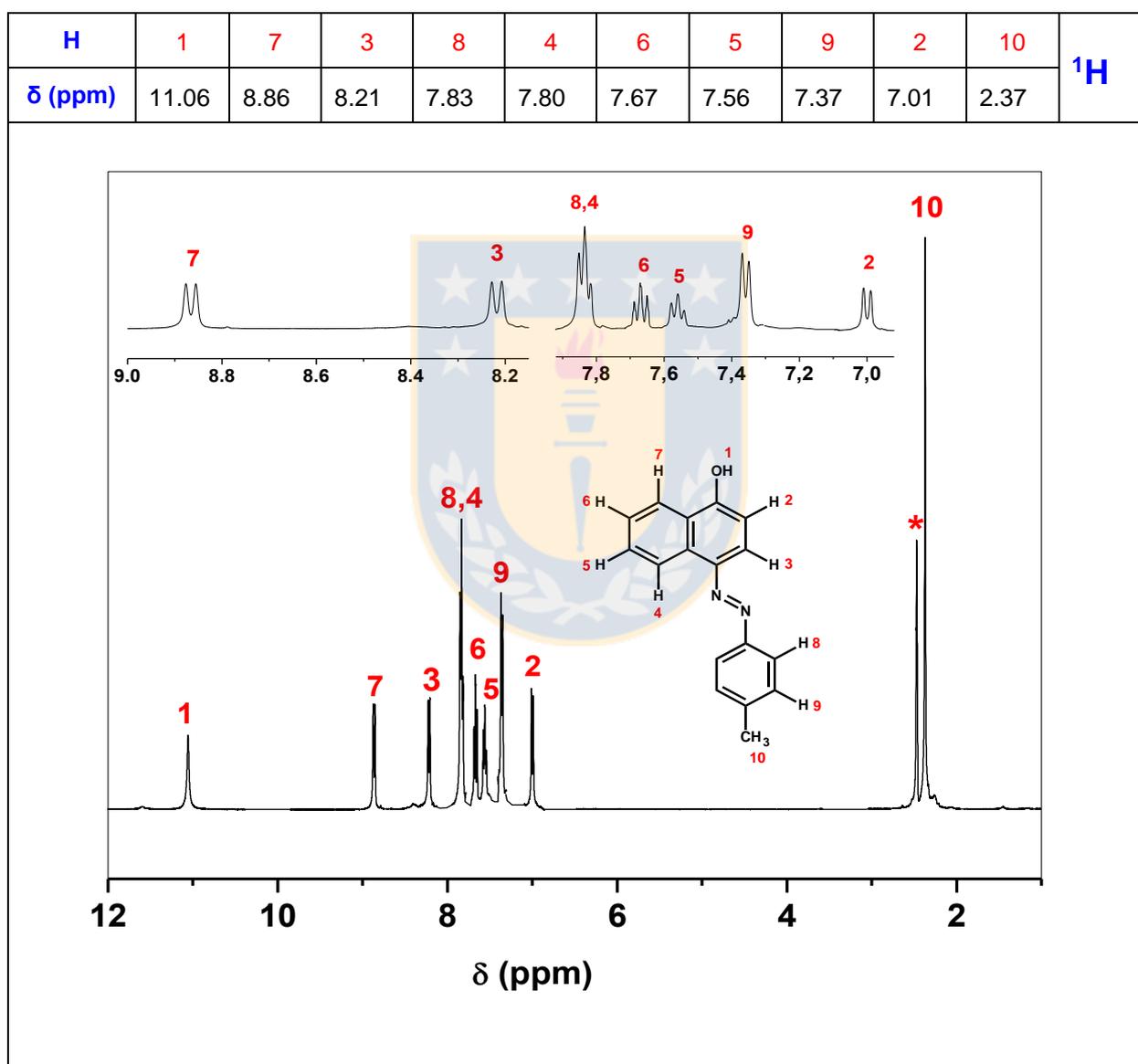


Figura 3.7. Espectro FT-IR del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol). Fuente: elaboración propia.

La tensión C-OH del grupo fenólico, se registra a 1263 cm^{-1} . Las flexiones fuera del plano de los enlaces C-H de los anillos aromáticos 1,2,3,4-tetrasustituido (anillo fenólico) y 1,4-disustituido (anillo anilínico), aparecen a 754 y 816 cm^{-1} , respectivamente.

La Figura 3.8, muestra el espectro RMN ^1H del azoderivado VII, donde se aprecian las señales de los diferentes tipos de hidrógenos que ratifican su síntesis.



*Solvente: DMSO-d_6

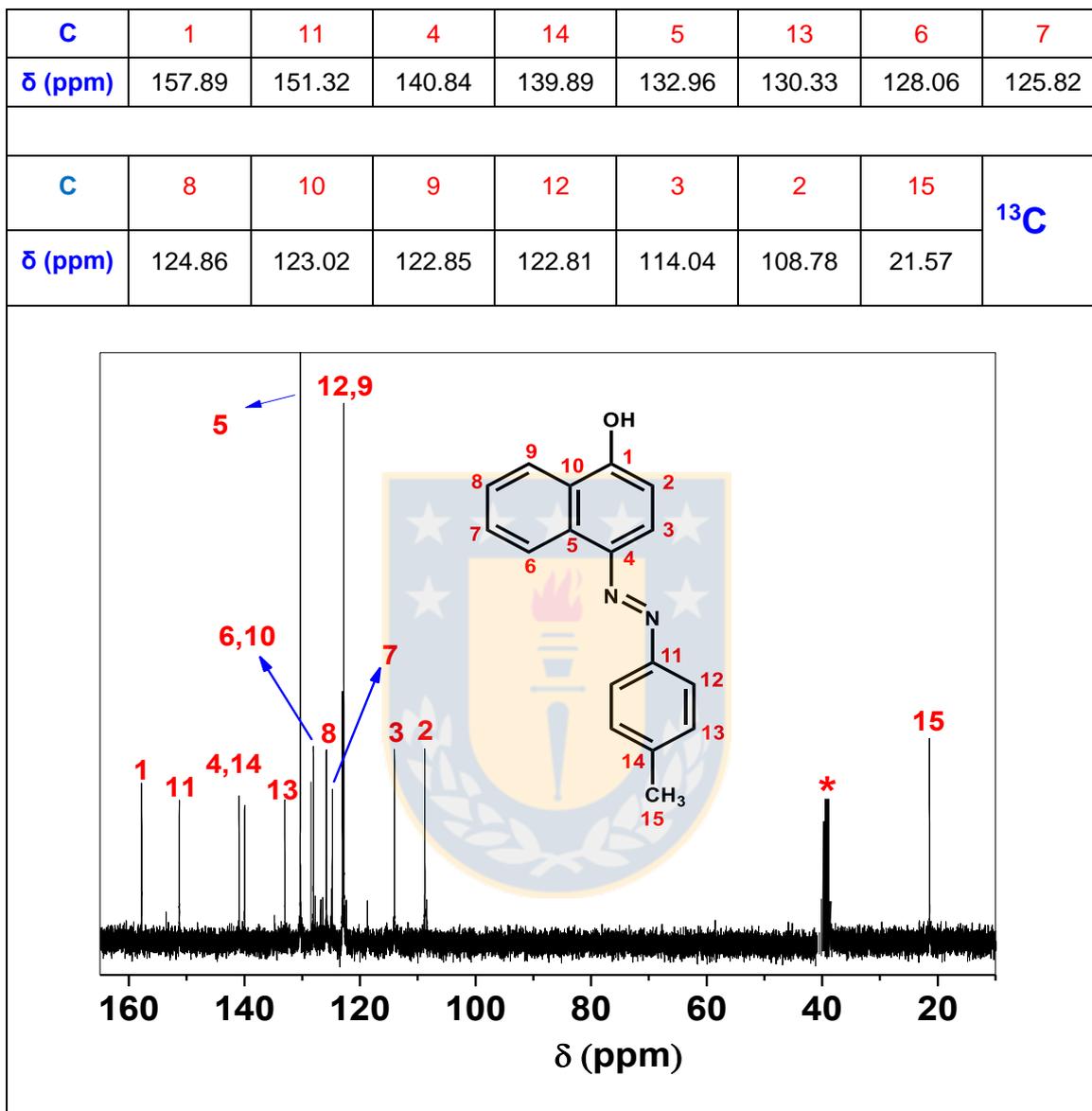
Figura 3.8. Espectro RMN ^1H del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol). Fuente: elaboración propia.

A diferencia de los espectros anteriores, todos los hidrógenos del grupo fenólico no son equivalentes, por tratarse ahora del grupo naftol. El hidrógeno con mayor desplazamiento químico es H¹ (11.06 ppm), por estar unido al átomo electronegativo de oxígeno, y debido a que no acopla con ningún otro hidrógeno, aparece como singlete. Los hidrógenos con menor desplazamiento químico, son los del grupo metilo, es decir los H¹⁰ (2.37 ppm), los cuales se encuentran apantallados, y puesto que no acoplan con otros hidrógenos, aparecen como singletes.

Por otro lado, de todos los hidrógenos de la región aromática, el más apantallado es H² (7.01 ppm), debido a que está en posición *orto* con respecto al carbono unido al oxígeno dador de electrones. A pesar de que el Hidrógeno H³ (8.21 ppm) se encuentra en posición *orto* con respecto al átomo de carbono unido al nitrógeno, que también es donador de electrones, la influencia del oxígeno sobre este es mucho mayor, puesto que aparece desapantallado, probablemente por encontrarse en posición *meta* con respecto al átomo de carbono unido al oxígeno, donde habría menor densidad electrónica. Estos dos hidrógenos (H² y H³) acoplan entre sí, por tanto, aparecen como dobletes. Este mismo comportamiento (*orto-meta*), se observa para los hidrógenos H⁸ (7.83 ppm) y H⁹ (7.37 ppm) del grupo anilínico, donde el grupo metilo ahora es el que domina el desplazamiento químico. H⁹ está en posición *orto* con respecto al carbono unido al grupo metilo, por lo que aparece más apantallado, H⁸ por el contrario, está en posición *meta* y por ende menos apantallado. Estas dos señales integran cada una para dos hidrógenos, y debido a su acoplamiento, aparecen como dobletes.

Los desplazamientos químicos que aparecen a 7.80 y 8.86 ppm, corresponden a los hidrógenos H⁴ y H⁷, respectivamente, y debido a que acoplan entre sí, aparecen como dobletes. Los hidrógenos H⁵ y H⁶, con desplazamientos químicos de 7.56 y 7.67 ppm se pueden reconocer fácilmente, dado que cada uno de ellos tiene dos hidrógenos vecinos con los cuales acoplan, por lo tanto aparecen como tripletes.

La Figura 3.9, muestra el espectro RMN ^{13}C del azoderivado VII, donde se observan las señales de los diferentes tipos de carbonos que demuestran su síntesis.



*Solvente: DMSO-d_6

Figura 3.9. Espectro RMN ^{13}C del azoderivado VII (4-(p-metilfenilazo)-1-naftol). Fuente: elaboración propia.

Los desplazamientos químicos a campo más bajo, corresponden a los carbonos C^1 (157.89 ppm, unido al oxígeno del grupo fenólico), C^{11} (151.32 ppm, unido al nitrógeno anilínico) y C^4 (140.84 ppm, unido al nitrógeno del grupo azo), por estar enlazados a átomos electronegativos, y por lo tanto, desapantallados. Otra señal que aparece a campo bajo corresponde al carbono C^{14} (139.89 ppm), por tratarse

de un carbono cuaternario. Por otro lado, la señal que se registra a campo más alto se refiere al carbono metílico C¹⁵ (21.57 ppm), por ser un carbono con hibridación sp³ muy apantallado.

Por otra parte, los carbonos C² (114.04 ppm) y C³ (108.78 ppm), siguen el comportamiento normal de las posiciones *orto* con respecto al átomo donador de electrones. C² está en posición *orto* con respecto al átomo de carbono, unido al grupo OH fenólico. Así mismo, C³ está en esta misma posición, considerando el átomo de carbono unido al nitrógeno del grupo azo. Por estar en estas posiciones ricas en electrones, estos carbonos se encuentran apantallados y por lo tanto, con menor desplazamiento químico, con un efecto más marcado sobre C², por ser el oxígeno más electronegativo que el nitrógeno. Desplazamientos químicos similares se presentan por el comportamiento *orto-meta*. Por ejemplo, el carbono C¹² (122.81 ppm) que está en posición *orto* con respecto al carbono unido al nitrógeno anilínico, se encuentra más apantallado que el carbono C¹³ (130.33 ppm), que está en posición *meta*.

Los desplazamientos químicos que se registran a 123.02 y 132.96 ppm son debidos a los carbonos cuaternarios C¹⁰ y C⁵, respectivamente, apareciendo un tanto más apantallado C¹⁰, por estar en posición *orto* con respecto al carbono unido al átomo de oxígeno. Así mismo, al encontrarse solo a un enlace del carbono C¹⁰, el carbono C⁹ (122.85 ppm), está más apantallado que el carbono C⁶, cuyo desplazamientos químicos es de 128.06 ppm.

Por otro lado, las señales que se registran a 124.86 y 125.82 ppm, corresponden a los carbonos C⁸ y C⁷, respectivamente, y debido a que tienen ambientes químicos parecidos, presentan desplazamientos químicos similares.

3.2. Elucidación estructural de los polímeros sintetizados y de azoderivados.

3.2.1. P_{4CQ} (VP-MMA)

La Figura 3.10, muestra el espectro FT-IR de P_{4CQ}, donde se observan las señales características de sus grupos funcionales que ratifican su síntesis. Se nota una banda ancha e intensa con una frecuencia de tensión entre 3220 y 3640 cm⁻¹, ocasionada probablemente por la tensión O-H de moléculas de agua

absorbidas por la VP presente en el copolímero, el cual es bastante higroscópico.⁹⁶ Las vibraciones de tensión simétrica y antisimétrica de los enlaces C-H saturados, se observan a 2948 y 2982 cm^{-1} , respectivamente. Las señales a 1732 y 1665 cm^{-1} , se refieren a las tensiones C=O de los grupos carbonilos de MMA (éster) y VP (cetona cíclica), respectivamente. Las vibraciones de doblaje de deformación fuera de fase (asimétricas), de los enlaces C-H del grupo metilo, aparecen a 1440 cm^{-1} . Las frecuencias de tensión de los enlaces C-N-C (VP), se observan a 1390 cm^{-1} .

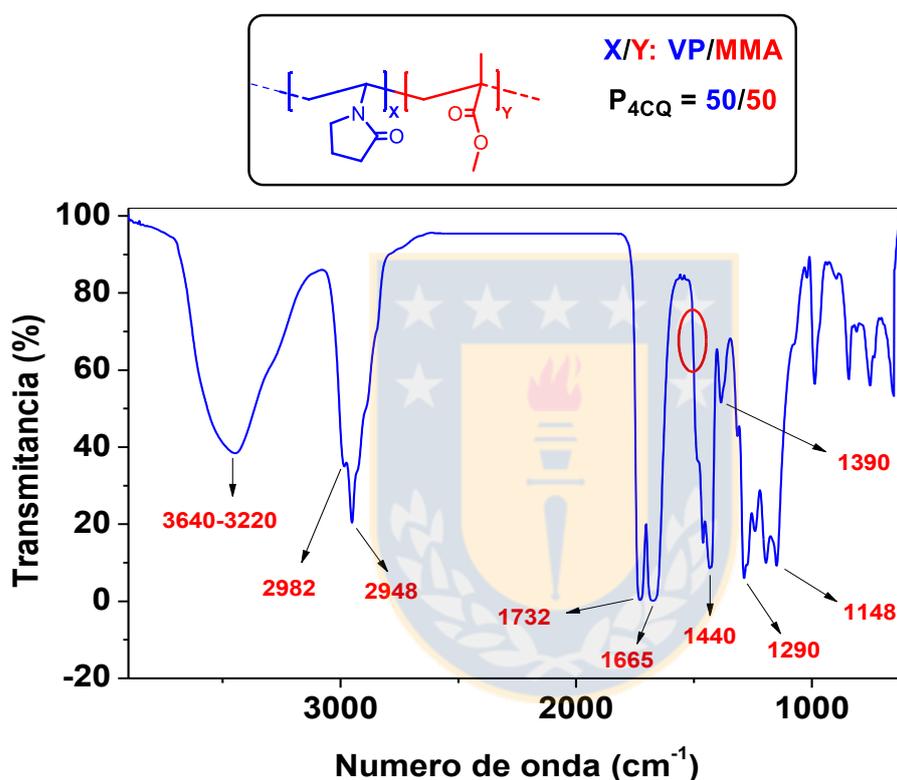


Figura 3.10. Espectro FT-IR de P_{4CQ} (MMA-VP). Fuente: elaboración propia.

El grupo éster del MMA presenta dos frecuencias de tensión, una que corresponde a la tensión C-C-O (C-(O=C)-O), que se registra a 1290 cm^{-1} y otra que se refiere a la tensión C-O-C (O=C-O-C), que aparece a 1148 cm^{-1} .

3.2.2. P₅ (VP-MMA- 4-VA)

La Figura 3.11, muestra el espectro FT-IR de P₅, donde se notan las señales características de sus grupos funcionales que demuestran su síntesis. Este espectro es muy parecido al espectro del copolímero anterior (P_{4CQ}). La única

diferencia significativa es la aparición de una nueva señal centrada en 1515 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de flexión (en forma de tijeras) del enlace N-H de la 4-VA, la cual está presente en P₅ y ausente en P₄ (ver zona marcada dentro del círculo en ambos espectros).

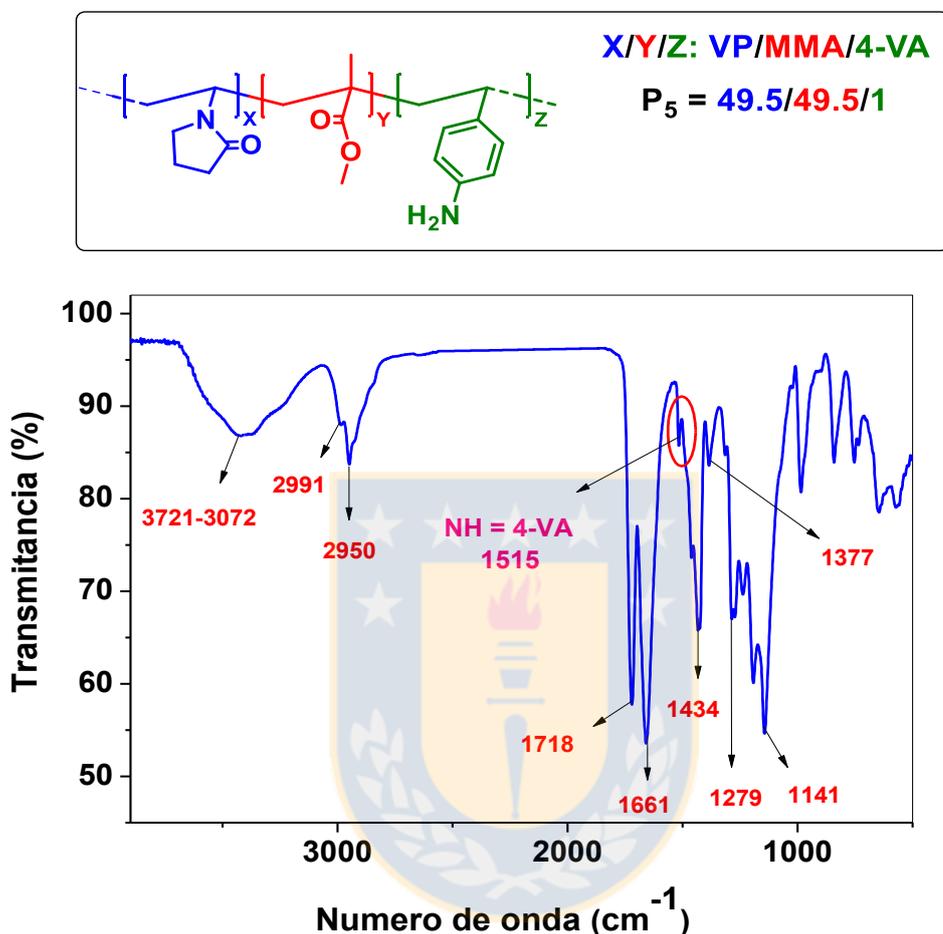


Figura 3.11. Espectro FT-IR de P₅ (MMA-VP-4-VA). Fuente: elaboración propia.

Cabe aclarar que las frecuencias de tensión de los enlaces N-H ($-\text{NH}_2$) que normalmente se observan como dos bandas entre aproximadamente 3400 y 3500 cm^{-1} no aparecen, probablemente por solapamiento con la banda de la VP (higroscópica), que aparece en esta misma región (ver numeral 3.2.1).

3.2.3. P_{5D} (VP-MMA-4-VA + 1-NAF).

Al comparar los espectros obtenidos a partir de los azoderivados P_{5A}, P_{5C} y P_{5D}, se nota que conservan las señales características de los azocompuestos sintetizados en solución (VI (3-MF), relacionado con P_{5A}; V (2,4-DMF), asociado

con P_{5C} y VII (1-NAF), relacionado con P_{5D}). Las señales registradas por estos tres azoderivados son muy parecidas, por lo que se analizará solo uno de ellos, el P_{5D} (los espectros de los azoderivados P_{5A} y P_{5C}, se pueden observar en el Anexo A (ver Figuras A.1 (P_{5A}) y A.2 (P_{5C})).

La Figura 3.12, muestra el espectro FT-IR de P_{5D}, donde se observan las señales características de sus grupos funcionales que ratifican su síntesis.

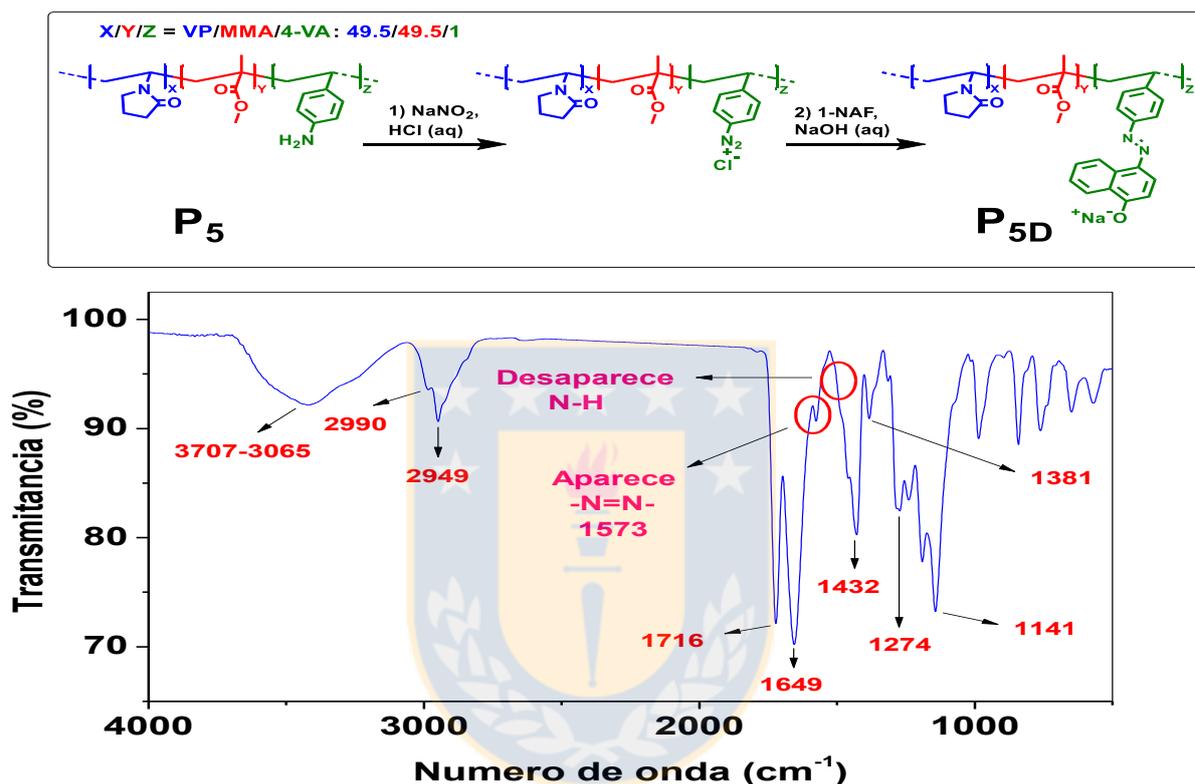


Figura 3.12. Espectro FT-IR de P_{5D} (MMA-VP-4-VA + 1-NAF). Fuente: elaboración propia.

Las señales del espectro P_{5D} son muy similares a las del espectro P₅. El cambio más importante es la desaparición de la banda de flexión de los enlaces N-H (correspondientes al grupo amino de la 4-VA presente en P₅), y la aparición de una nueva banda a 1573 cm⁻¹, perteneciente a la frecuencia de tensión del grupo azo formado en P_{5D}. Esta frecuencia de tensión es semejante a las reportadas en la literatura para compuestos análogos de azobencenos.^{97,98}

La Figura 3.13 muestra de forma ampliada la superposición de los espectros P₅ y P_{5D} en la zona de 1800 a 1500 cm⁻¹, donde se aprecia mejor la desaparición

de la banda N-H y la aparición de la nueva banda del grupo azo, lo que confirma la síntesis del azoderivado P_{5D}.

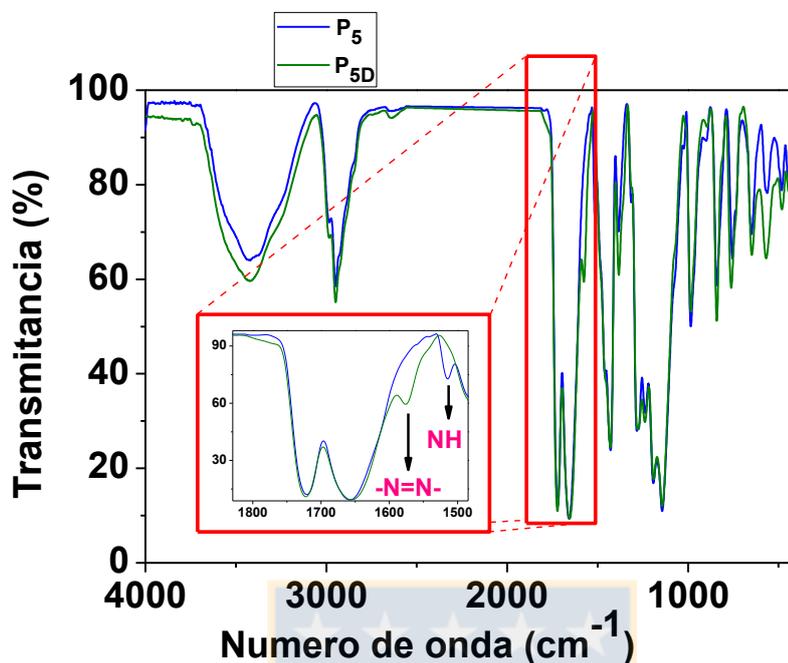


Figura 3.13. Superposición de los espectro FT-IR de P₅ (MMA-VP-4-VA) y P_{5D} (MMA-VP-4-VA + 1-NAF). Fuente: elaboración propia.

3.3. Propiedades térmicas y capacidad de hinchamiento en agua.

La Figura 3.14 muestra los termogramas TGA de las películas poliméricas P₁ (B) y P₂ (C). Se aprecian temperaturas muy similares y elevadas en la descomposición máxima (T_{max}) de estos materiales copoliméricos, (en la Figura 3.14, T_{max} corresponde al máximo de la derivada de la masa en función de la temperatura, gráficas de color azul). Para P₁, esta temperatura se registra a 411 °C y para P₂ a 422 °C (un tanto más elevada debido a la mayor cantidad de 4-VA, lo que origina un incremento de las fuerzas intermoleculares), con un promedio de 416.5 °C. Si se compara esta última temperatura con la T_{max} (389 °C) del copolímero sin las unidades de anilina (P_{4CT} (MMA-VP), Figura 3.14 (A)), se observa que cuando está presente 4-VA en la matriz polimérica, hay un aumento en la T_{max} de 27.5 °C, lo que podría estar asociado a las interacciones de las cadenas copoliméricas de P₁ y P₂, a través de enlaces de hidrógeno, por parte de los grupos aminos presentes en las unidades de anilina. Como resultado, en el proceso de degradación se requiere energía, tanto para vencer

este tipo de fuerzas intermoleculares como para romper los enlaces covalentes comonoméricos, lo que se manifiesta en un incremento de T_{max} .

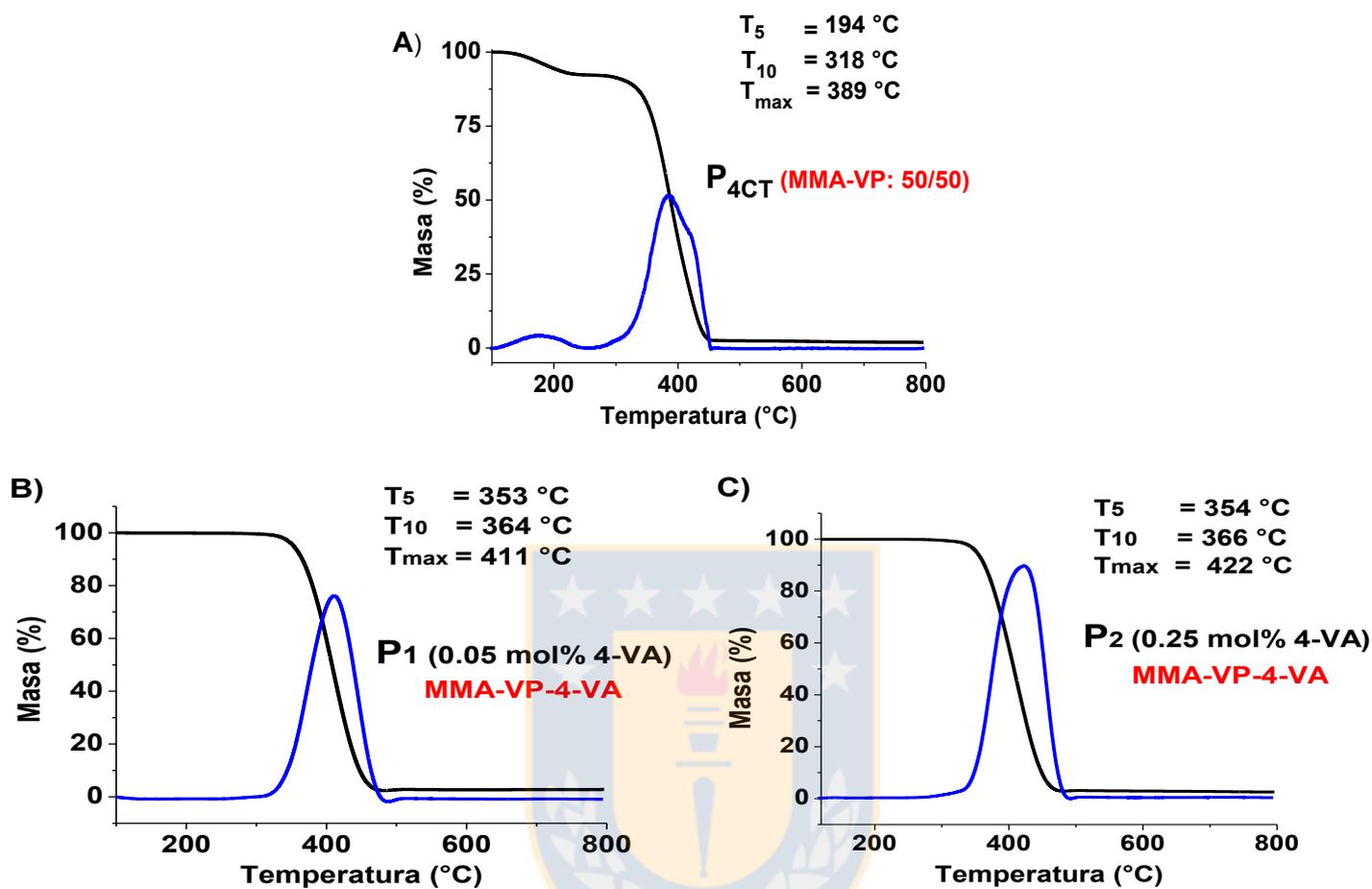


Figura 3.14. Termogramas TGA del sensor polimérico. A) Sin 4-VA (P_{4CT}), B) Con 0.05 mol% de 4-VA (P₁) y C) Con 0.25 mol% de 4-VA (P₂). Fuente: elaboración propia.

Así mismo, las temperaturas a las cuales P₁ y P₂ pierden el 5 (T_5) y 10% (T_{10}) de su masa, son altas y muy parecidas. Para P₁, estas temperaturas corresponden a 353 y 364 °C, respectivamente, para P₂ a 354 y 366 °C. El hecho de que estos dos copolímeros tengan T_5 y T_{10} altas, les confieren excelentes propiedades térmicas en su uso como sensor polimérico, teniendo en cuenta que los ensayos colorimétricos se realizan a temperatura ambiente. Si se considera T_5 para ambos copolímeros (P₁ y P₂), se necesitaría una temperatura promedio de 353.5 °C para degradar solo el 5% del sensor polimérico.

La similitud entre los valores T_5 , T_{10} y T_{max} de P_1 y P_2 (ver Tabla 3.1), podría estar relacionada con las bajas concentraciones de 4-VA en estos copolímeros (P_1 : 0.05 mol% y P_2 : 0.25 mol%). Aunque la concentración de 4-VA en P_2 es 5 veces la de P_1 , aún no es lo suficientemente alta como para provocar un cambio significativo en las propiedades térmicas.

Por otro lado, las derivadas trabajadas para los termogramas B (P_1) y C (P_2) presentan un solo máximo, lo que indica que la degradación térmica ocurre en una sola etapa. En los dos casos, la principal pérdida de masa ocurre por encima de 300 °C, lo cual evidencia que no existe ninguna otra reacción de descomposición por debajo de esta temperatura, lo que indica su estabilidad térmica.

La Figura 3.15, muestra los termogramas DSC de P_1 y P_2 (B), donde se observan las transiciones térmicas que sufren estos materiales copoliméricos. En esta figura también se presenta el termograma DSC de la matriz copolimérica sin el monómero de anilina ((A), P_{4CT} (MMA-VP)). En un análisis previo realizado en P_1 , P_2 y P_{4CT} (calentamiento hasta 500 °C, no mostrado), se demostró que no existen evidencias de comportamiento cristalino o semicristalino, puesto que estos materiales son copolímeros con unidades comonoméricas totalmente distintas, lo que origina fuertes irregularidades en su estructura (no hay un ordenamiento regular entre las cadenas) y por lo tanto, la tendencia a formar sólidos amorfos. Las propiedades amorfas de estos materiales (P_1 , P_2 y P_{4CT}), explica que en sus termogramas solo se observe temperatura de transición vítrea (T_g).

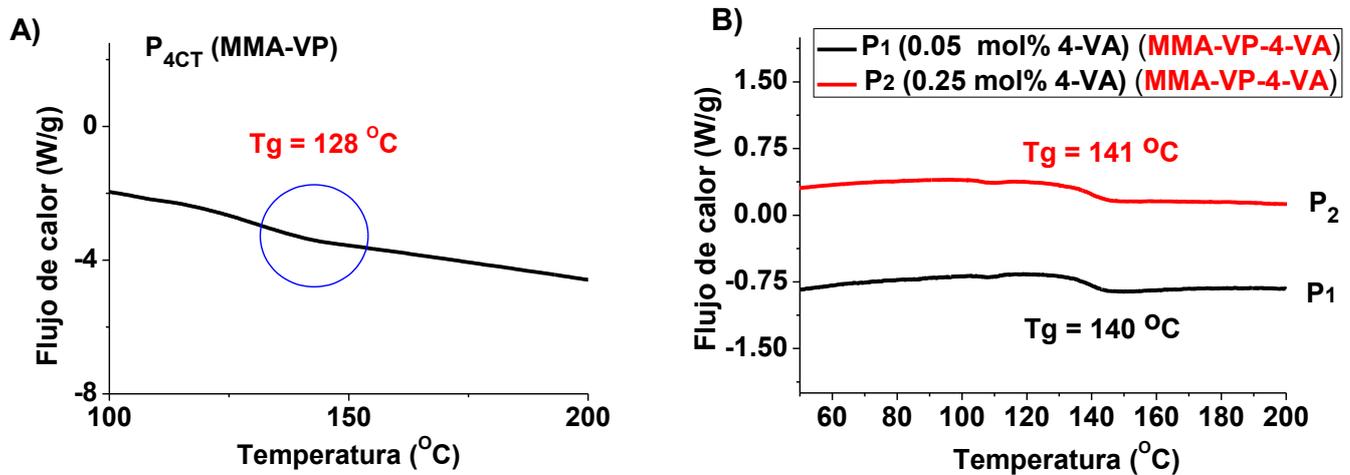


Figura 3.15. Termogramas DSC del sensor polimérico. A) Sin 4-VA (P_{4CT}), B) Con 0.05 mol% de 4-VA (P₁) y 0.25 mol% de 4-VA (P₂). Fuente: elaboración propia.

Los termogramas de P₁ y P₂ son muy similares, con una T_g promedio de 140.5 °C. Al comparar esta T_g con la obtenida en el termograma de P_{4CT} (128 °C, blanco), se nota que cuando está presente 4-VA en la matriz polimérica, hay un aumento en la T_g de 12.5 °C, lo que evidencia que las fuerzas intermoleculares en P₁ y P₂ son mayores. Las T_gs de P₁ y P₂ muestran que a temperatura ambiente estos materiales copoliméricos se utilizan por debajo de su temperatura de transición vítrea, donde existe una mayor rigidez y dureza. Esto último puede entenderse de la siguiente manera: a temperaturas altas P₁ y P₂ están en forma de líquidos muy viscosos en la que pueden pasar rápidamente de una conformación a otra, y al enfriarlos se vuelven cada vez más elásticos, hasta que llegan a la temperatura de transición vítrea, T_g, donde se convierten en sólidos duros, rígidos y frágiles. Debido a que disminuye la temperatura, los copolímeros se contraen porque sus cadenas se mueven menos y se atraen más (las interacciones por enlaces de hidrógenos son aún más fuertes). Dado que va disminuyendo el volumen libre, es decir, los espacios entre las moléculas, los segmentos de las cadenas tienen cada vez menos lugar para girar, hasta que al llegar a T_g, dejan de hacerlo, y los copolímeros se ponen rígidos y en esas condiciones se vuelven vítreos, es decir frágiles o quebradizos, y sus cadenas aunque todavía vibran ya no pueden girar para cambiar su posición, y por ende, no tienen la manera de amortiguar los impactos. A esta restricción del

movimiento molecular también contribuye por supuesto, la falta de suficiente energía debido a las temperaturas más bajas.⁹⁹

Tabla 3.1. Capacidad de hinchamiento en agua, propiedades térmicas y mecánicas de P₁ y P₂.

Película Polimérica	Capacidad de Hinchamiento	Propiedades Mecánicas		Propiedades Térmicas			
		Módulo de Young (MPa)	Deformación Antes es de la rotura (%)	T _g (°C)	T ₅ (°C)	T ₁₀ (°C)	T _{max} (°C)
4-vinilanilina (mol%)	Agua (%)						
P ₁ (0.05)	61	494	15	140	353	364	411
P ₂ (0.25)	54	566	14	141	354	366	422

La semejanza entre las T_gs de P₁ y P₂, muestra que cuando se incrementa 5 veces la concentración de 4-VA en el sensor copolimérico (al pasar de un 0.05 mol% (P₁) a 0.25 mol% (P₂)), no se produce un cambio significativo en su comportamiento vítreo (T_g).

Por otra parte P₁ y P₂, presentan porcentajes de hinchamiento del 61 y 54%, respectivamente (ver tabla 3.1), lo que está de acuerdo con los porcentajes de 4-VA en el sensor. Al aumentar la concentración de este comonomero de un 0.05 mol% (P₁) a 0.25 mol% (P₂), se obtiene una disminución en la capacidad de hinchamiento en agua de un 7%. Esto indica que a medida que se incrementa la concentración de 4-VA en el sensor, se obtiene un material cada vez más rígido, con incremento de sus fuerzas intermoleculares (tipo enlaces de hidrógeno), lo que disminuye a la vez el espacio entre las cadenas copoliméricas, dando lugar a un material más compacto con la capacidad de acomodar menos moléculas de agua. El hecho de que P₁ y P₂ tengan estos buenos porcentajes de hinchamiento en agua, favorece la adecuada difusión de los fenoles de estudio (en medio acuoso), hacia al interior de la matriz polimérica, lo que explica las buenas respuesta colorimétricas observadas.

3.4. Propiedades mecánicas.

En la Tabla 3.1, se resumen los valores obtenidos en el comportamiento mecánico de P₁ y P₂. Se observan módulos de elasticidad (módulo de elasticidad longitudinal o módulo de Young) medianamente cercanos y moderados. Para P₁ se obtuvo un valor de 494 MPa y para P₂ de 566 MPa (promedio: 530 MPa), lo que está en concordancia con los T_{gs} observados, dado que se trata de materiales que se utilizan por debajo de su temperatura de transición vítrea, donde existe una mayor rigidez, lo que les confiere una moderada resistencia a la deformación. Estos valores están de acuerdo con lo reportado en la literatura para polímeros que se comportan como plásticos semirrígidos (módulo de elasticidad: 150-3500 MPa).¹⁰⁰ Según la norma ASTM los plásticos rígidos son aquellos que tienen un módulo superior a 700 MPa y los semirrígidos entre 70 y 700 MPa.¹⁰¹ Los porcentajes de deformación antes de la rotura para P₁ y P₂ son muy parecidos, 15 y 14%, respectivamente. Estos valores son muy cercanos a los que presentan los polímeros que se comportan como plásticos semirrígidos (20-800%).¹⁰⁰ Son un poco más bajo de lo habitual, probablemente por la temperatura con la que se hizo el ensayo (20 °C). Es bien sabido que las propiedades mecánicas de muchos plásticos cambian rápidamente con pequeñas variaciones de temperatura. Cuando la temperatura disminuye se produce una contracción gradual del material, lo que resulta en una disminución en el volumen libre y un aumento de las fuerzas de cohesión. Se puede establecer de forma general que al disminuir la temperatura, la elongación se reduce, mientras que el módulo de elasticidad aumenta.¹⁰¹

3.5. Tiempo de respuesta del sensor polimérico con un 0.05 mol% (P₁) y 0.25 mol% (P₂) de 4-VA.

Los tiempos en los que P₁ y P₂ dan una respuesta colorimétrica al reaccionar con 1-NAF (fenol de referencia), se observan en la Figura 3.16. En el análisis se midió el color rojo formado a 550 nm (λ_{\max} del azoderivado de 1-NAF).

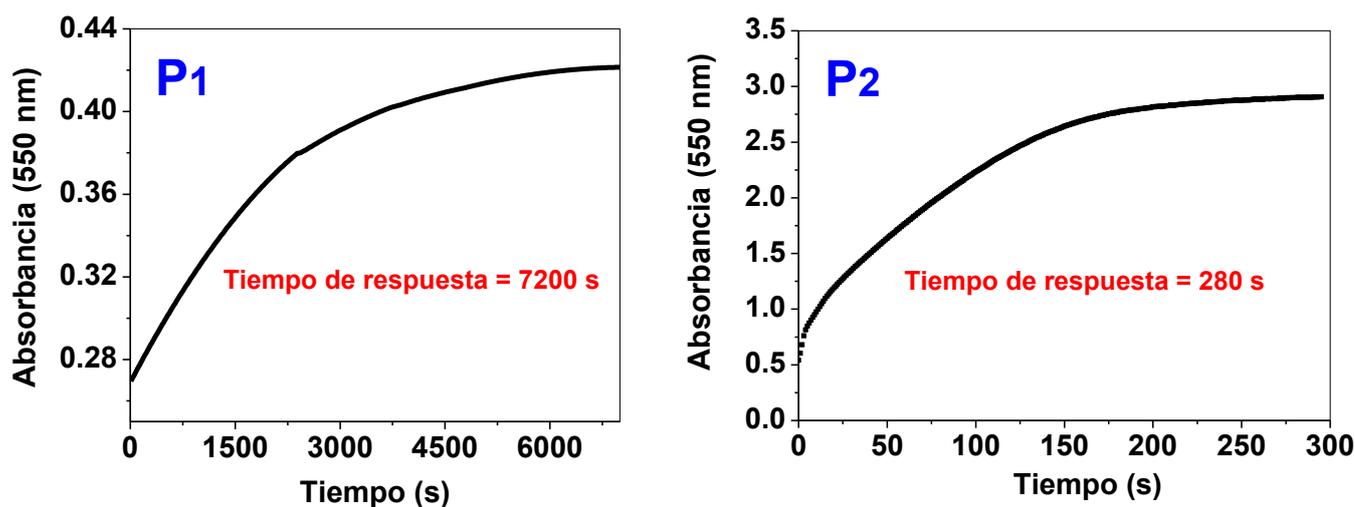


Figura 3.16. Tiempo de respuesta de las películas poliméricas P₁ (0.05 mol% de 4-VA) y P₂ (0.25 mol% de 4-VA), al sumergirlas en una solución básica (NaOH 0.1 M) 1.0 x 10⁻² M de 1-NAF. Fuente: elaboración propia.

Se nota que las respuestas colorimétricas que experimentan las películas poliméricas P₁ y P₂ cuando se sumergen en una solución básica 1.0 x 10⁻² M de 1-NAF, es del orden de los segundos. Sin embargo, la respuesta colorimétrica que experimenta P₂ es mucho más rápida que la que experimenta P₁, lo que está relacionado con la concentración de 4-VA en el sensor. Al aumentar la concentración de este monómero en la matriz polimérica de 0.05 mol% (P₁) a 0.25 mol% (P₂), el tiempo gastado en completarse totalmente la reacción se reduce de 7200 s (120 min) a 280 s (4.7 min), respectivamente, con una diferencia de 6920 s (115.3 min). Esto es lógico, debido a que la velocidad de una reacción se incrementa cuando hay mayor cantidad de moléculas reaccionantes.

Es importante aclarar que cuando se habla de la reacción de P₁ o P₂, se hace referencia a la reacción de la sal de diazonio (formada previamente dentro de estas), con el fenol de estudio ensayado.

3.6. Estabilidad de la sal de diazonio dentro del sensor polimérico.

El tiempo en que la sal de diazonio se mantiene sin degradar dentro del sensor polimérico se observa en la Figura 3.17. El análisis fue realizado a temperatura ambiente (promedio, 18 °C), tomando como referencia la reacción de la sal de diazonio formada en P₁ con 1-NAF, a través de la técnica RGB de color digital.

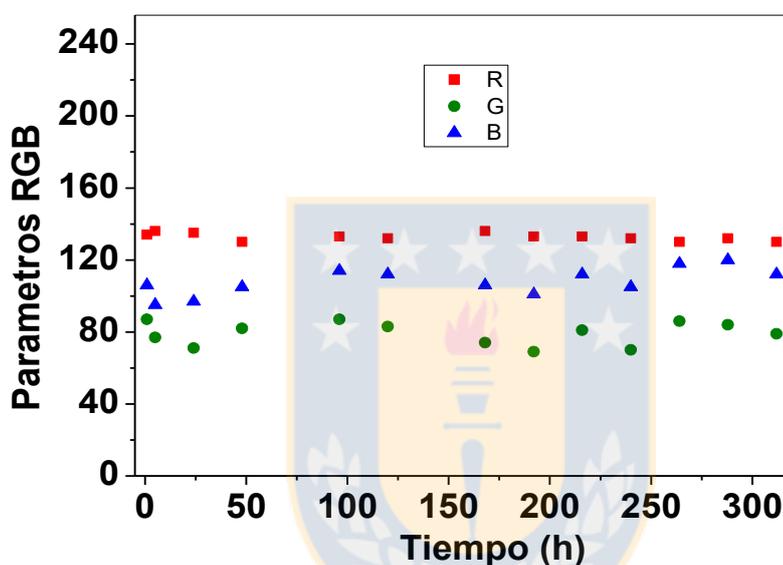
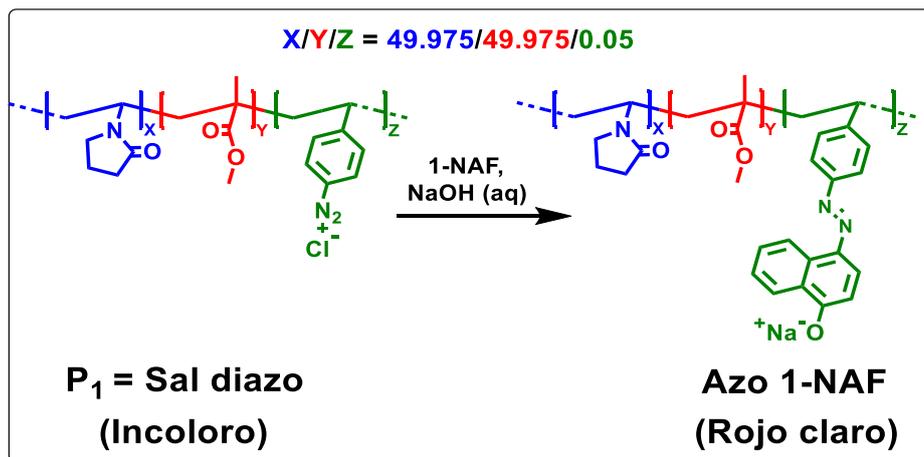


Figura 3.17. Ensayo de degradación, a través del tiempo, de la sal de diazonio formada en P₁ a temperatura ambiente. Fuente: elaboración propia.

En el estudio se midió el color rojo formado, como indicador de la estabilidad de la sal de diazonio. Se puede observar que en un periodo de 312 horas (13 días), el color rojo se mantiene prácticamente constante, es decir, no hay un cambio de coloración asociado a productos de degradación. Esto es de suma importancia para las futuras aplicaciones del sensor polimérico en muestras reales, dado que se podrían comercializar las sales de diazonio de los copolímeros P₁ y P₂ para obtener detecciones colorimétricas en un solo paso, además se garantizaría que en un periodo de 13 días las respuestas colorimétricas no se verían afectadas por problemas de descomposición, que en este caso particular sería de tipo térmica, puesto que es bien sabido que las sales de diazonio se degradan por efectos de temperatura.⁶²

3.7. Medidas colorimétricas.

3.7.1. Colores obtenidos en la detección colorimétrica de los fenoles de estudio.

En la Tabla 3.2, se muestran los colores obtenidos en la detección colorimétrica de los fenoles estudiados, al usar el sensor polimérico con un 0.05 mol% (P_1) y 0.25 mol% (P_2) de 4-VA. Los rangos de concentración molar utilizados, se pueden apreciar en la Tabla 3.3.

Como se observa en la Tabla 3.2, los fenoles tales como 2,4-DMF, 3-MF, 2-FF y 1-NAF pueden ser detectados con un 0.05 mol% de 4-VA en el sensor (con P_1), mientras que 4-CIF, FENHEX y 1,8-DHAQ se detectan con un 0.25 mol% (con P_2). Se pueden notar cambios de color característicos en P_1 y P_2 (inicialmente incoloros) que dependen del fenol utilizado. Por ejemplo, en presencia de 1-NAF y 2,4-DMF, P_1 cambia a rojo claro y salmón claro, respectivamente, mientras que con 3-MF y 2-FF se torna amarillo intenso, con una tonalidad mayor en 2-FF. Por otra parte, P_2 en presencia de 4-CIF, 1,8-DHAQ y FENHEXA, se torna naranja rojizo, morado intenso y café claro, respectivamente.

Tabla 3.2. Colores obtenidos a partir de la reacción de P_1 (0.05 mol% 4-VA) y P_2 (0.25 mol% 4-VA) con los fenoles de estudio.

Fenol de estudio	P_1
3-MF	
1-NAF	
2-FF	
2,4-DMF	
Fenol de estudio	P_2
4-CIF	
FENHEXA	
1,8-DHAQ	

3.7.2. Evaluación de la interferencia del hidróxido de sodio en las medidas de UV-Vis.

Como se mencionó en el numeral 2.3.1, para favorecer la reacción de acoplamiento diazoico, los fenoles deben encontrarse en su forma fenóxida, por lo que deben ser disueltos previamente en medio alcalino débil (NaOH). Esto ocasiona que los azoderivados fenólicos obtenidos también se encuentren en su forma fenóxida, es decir, desprotonados. Es bien sabido que los equilibrios ácido-base de muchas moléculas orgánicas se ven afectados notablemente por cambios de pH.¹⁰² Este factor también influye marcadamente en la posición de las bandas de absorción en el UV-Vis. Para el caso de los fenoles la especie desprotonada (fenóxida), absorbe a una mayor longitud de onda que la protonada, lo cual está relacionado con el mayor carácter electrón-dador del grupo (OH)⁻ hacia el anillo aromático.⁴⁵

La Figura 3.18, muestra la curva de calibración UV-Vis, obtenida de la reacción de P₁ con 3-MF (copolímero y fenol de referencias) en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, al diluir las soluciones de 3-MF con agua destilada.

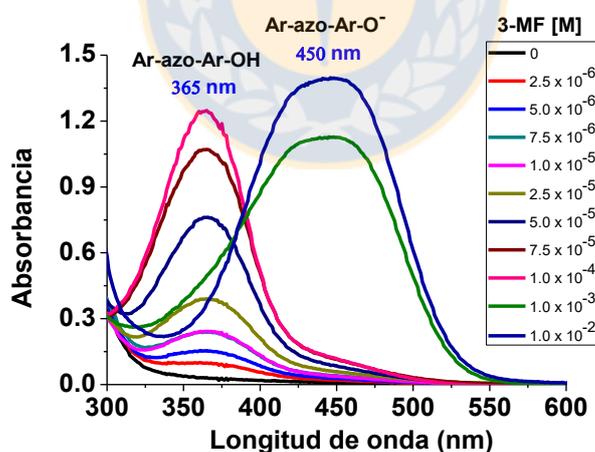


Figura 3.18. Espectros UV-Vis, al diluir con agua destilada la solución básica madre de 3-MF. Fuente: elaboración propia.

Se nota que las dos primeras medidas más concentradas (que corresponden a 0.1 M y 0.01 M con respecto al NaOH), aparecen a 440 nm (amarillo intenso), sin embargo, las siguientes medidas se registran a 365 nm (amarillo muy claro). Esto último indica que el medio no es lo suficientemente básico para lograr la

forma desprotonada del fenol. Lo que se registra a 440 nm es la banda de color del azoderivado en su forma fenóxida (Ar-azo-Ar-O⁻), y lo que se observa a 365 nm es la banda del azocompuesto en su forma protonada (Ar-azo-Ar-OH). Con base en lo anterior, se decidió diluir el resto de las soluciones fenólicas madres con NaOH 0.1 M, con el fin de obtener el fenol desprotonado, lo que a su vez produce colores más intensos.

3.7.3. Curvas de calibración colorimétricas de los fenoles de estudio. Determinación de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de fenol del sensor polimérico por UV-Vis y RGB de color digital.

En la Figura 3.19, se muestran los espectros UV-Vis del sensor polimérico con un 0.05 mol% (P₁) y 0.25 mol% (P₂) de 4-VA. Se notan longitudes de onda de máxima absorción de 285 y 290, respectivamente, correspondientes a las unidades de anilinas presentes en los copolímeros, lo que está de acuerdo con lo citado en la literatura.¹⁰³⁻¹⁰⁵

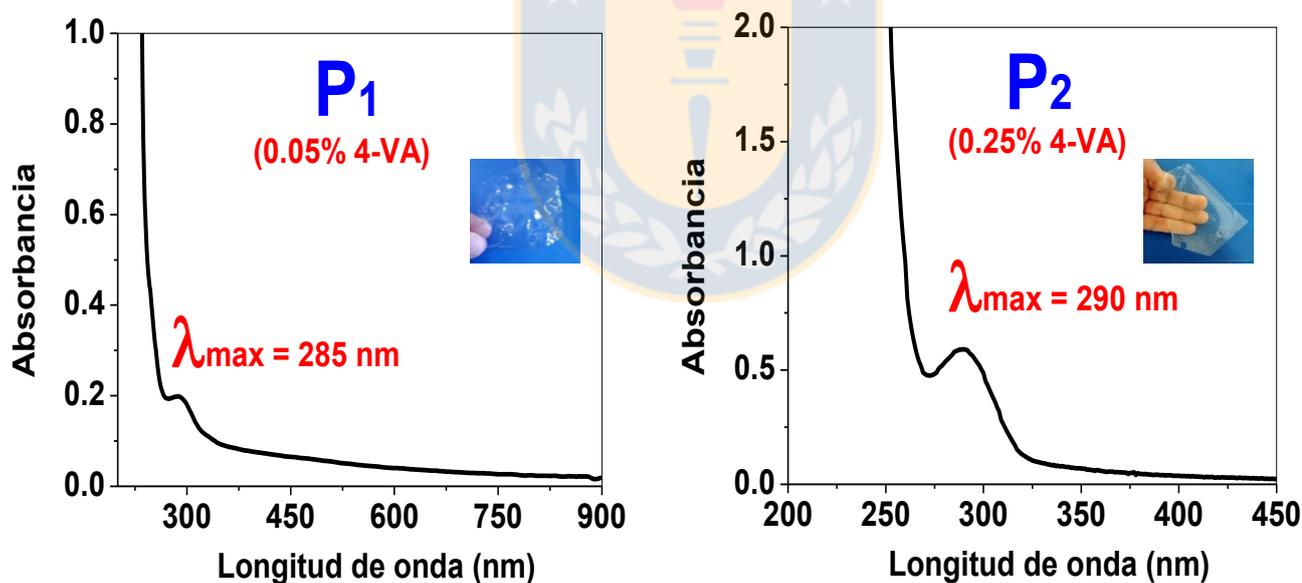


Figura 3.19. Espectros UV-Vis de los copolímeros P₁ y P₂, usando discos de 100 μm de espesor. Fuente: elaboración propia.

En los apartados que siguen, se presentarán los datos de absorbancias y parámetros RGBs empleados en la construcción de las curvas de calibración colorimétricas UV-Vis y RGB de color digital, que permitieron determinar los

límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de fenol del sensor polimérico. Así mismo, se mostrará una fotografía digital después de la inmersión de P₁ o P₂ en las soluciones básicas que contienen diferentes cantidades de fenol, en el rango de concentración molar estudiado (todas las imágenes obtenidas se pueden visualizar de forma resumida en la Tabla 3.2). Se analizarán los resultados para 3-MF y 1-NAF (detectados con P₁), así como para FENHEXA y 1,8-DHAQ (detectados con P₂). Los resultados para el resto de los fenoles, se pueden apreciar en el anexo B (ver Figuras B.1 (2-FF), B.2 (2,4-DMF) y B.3 (4-CIF)).

La Figura 3.20, presenta los resultados obtenidos para 3-MF. Se observa en la imagen (A), que a medida que se aumenta la concentración fenólica, la intensidad del color (amarillo), también se incrementa, lo que se ve reflejado en el crecimiento gradual de la nueva banda de absorción formada a 440 nm (B). Esto es lógico, dado que la intensidad del color desarrollado en las películas poliméricas, es proporcional a la cantidad de compuesto cromogénico presente.

Se nota un desplazamiento batocrómico (hacia el rojo) de 155 nm con respecto a la absorción inicial (285 nm), lo que corresponde a la absorción del nuevo compuesto amarillo formado, el azoderivado de 3-MF. La curva de calibración UV-Vis (B), presenta la variación de la absorbancia (a 440 nm), en función de la concentración molar de 3-MF. Se obtienen valores de LOD y LOQ de 135 y 408 ppb, respectivamente. Para el caso de la curva de calibración RGB (C), se representó la variación de la componente "B" frente a la concentración molar de 3-MF, lográndose valores de LOD y LOQ de 27 y 82 ppb.

Por otro lado en la Figura 3.21, se muestran los resultados obtenidos para 1-NAF. Se aprecia que la intensidad del color rojo, se incrementa con el aumento de la concentración de 1-NAF (A). En este caso se produce un desplazamiento batocrómico de 224 nm, y está relacionado con la absorción del nuevo compuesto rojo obtenido (el azoderivado de 1-NAFT). A partir de la curva de calibración UV-Vis (B), se obtuvieron valores de LOD y LOQ de 121 y 369 ppb, respectivamente. Así mismo, con la curva RGB (C), se obtienen valores de LOD y LOQ de 181 y 547 ppb.

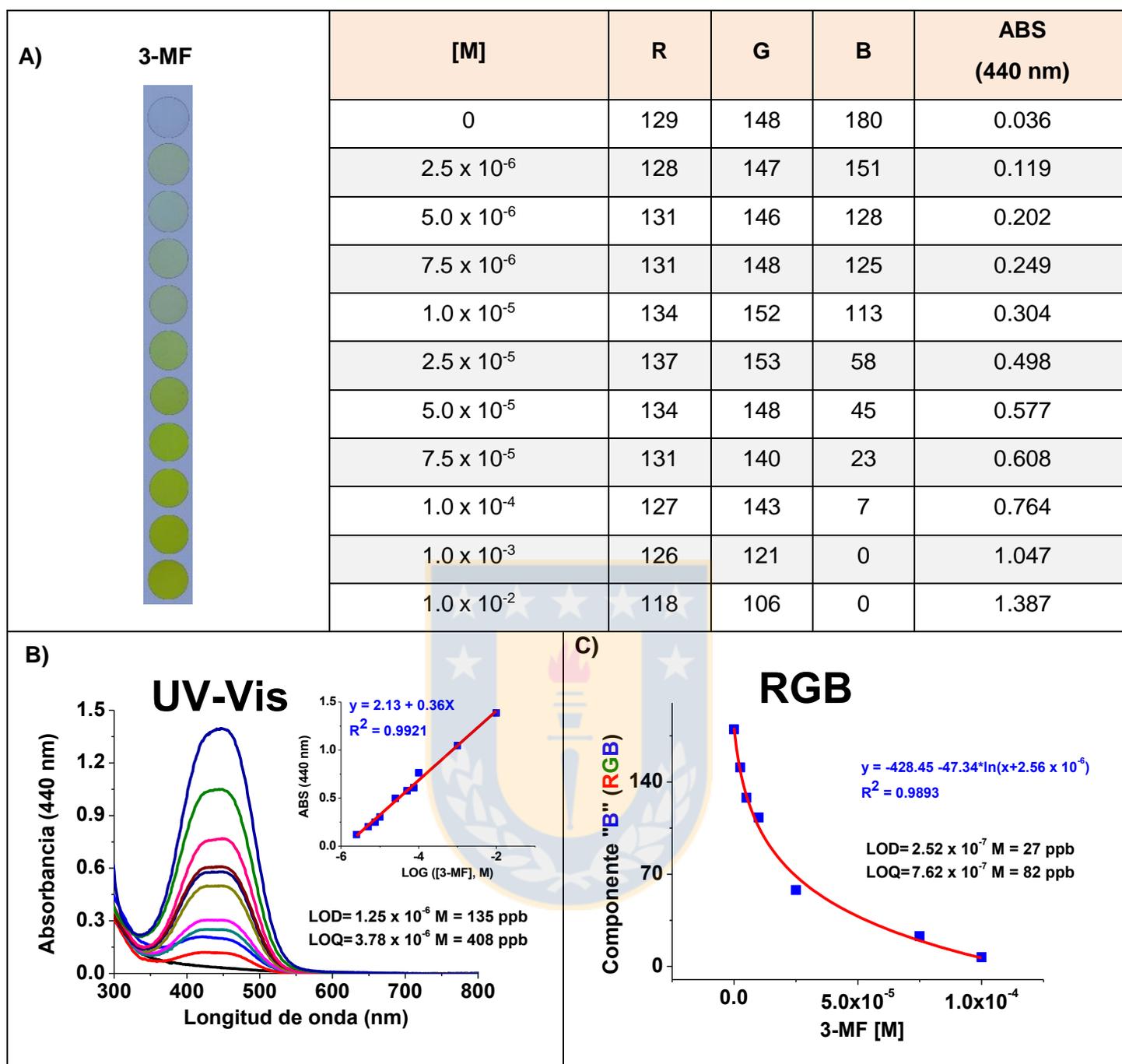


Figura 3.20. A) Fotografía digital de la reacción de P₁ con 3-MF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 440 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

Al comparar las absorbancias alcanzadas con los azoderivados de 3-MF (1.387) y 1-NAF (0.671), a una concentración de 1.0×10^{-2} M, se observa que la intensidad del color lograda con el primero es mucho mayor que la alcanzada

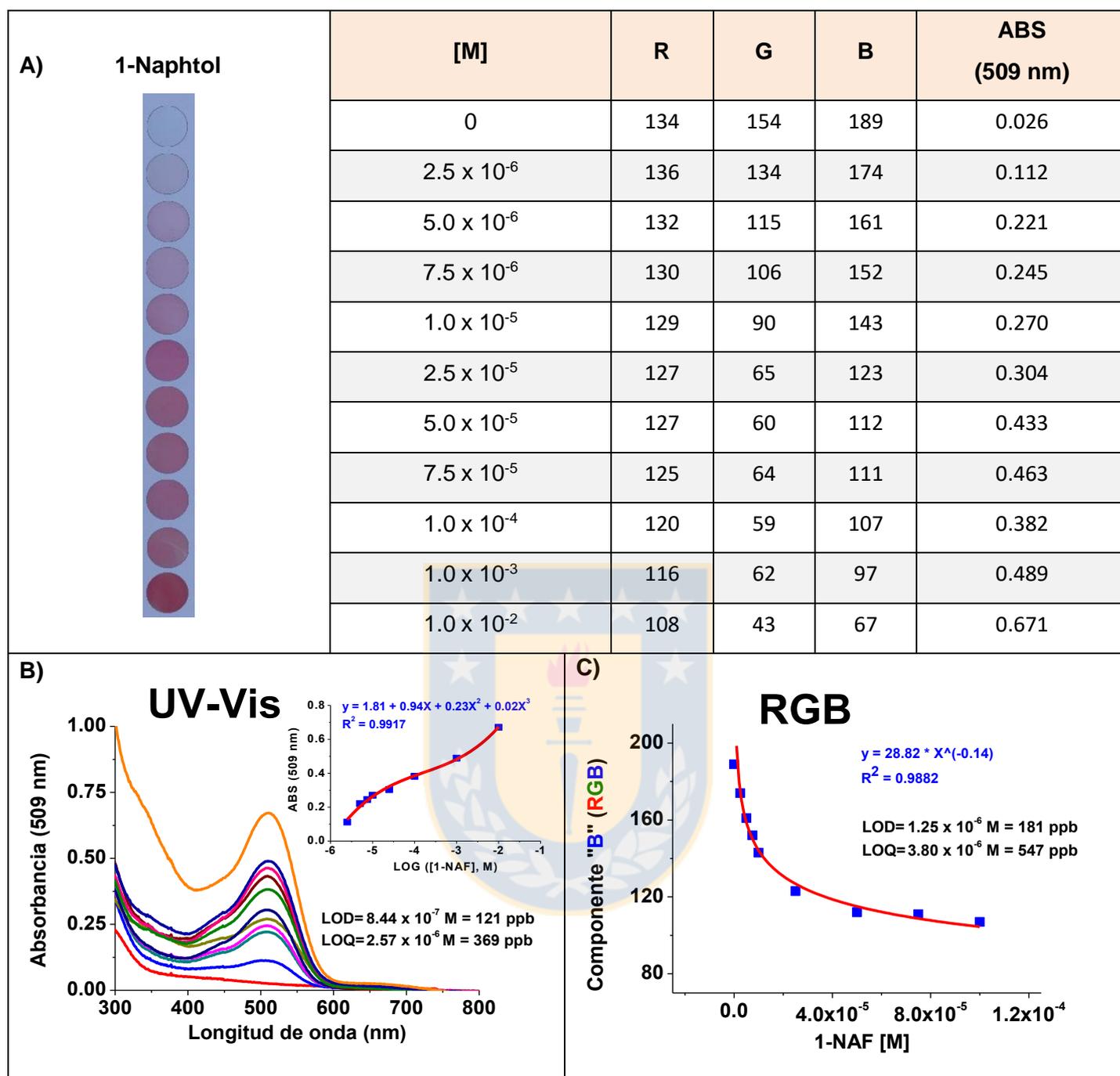


Figura 3.21. A) Fotografía digital de la reacción de P1 con 1-NAF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 509 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

con el segundo, lo que está de acuerdo con los porcentajes de rendimiento obtenidos en solución (3-MF = 61% y 1-NAF = 40%), teniendo en cuenta que a

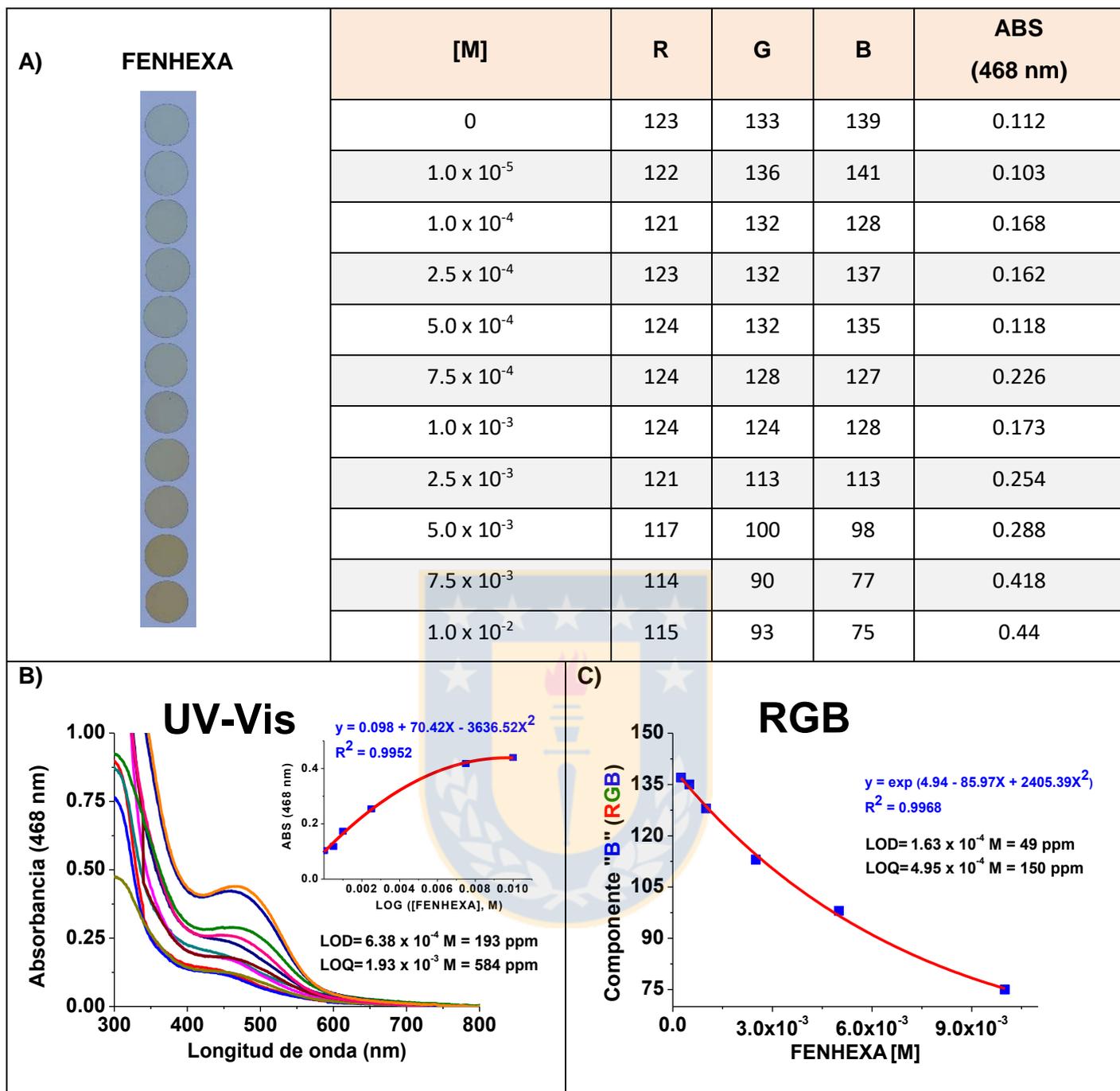


Figura 3.22. A) Fotografía digital de la reacción de P2 con FENHEXA en el rango de 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 468 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

mayor concentración de azoderivado, mayor intensidad del color.

La Figura 3.22, muestra los resultados obtenidos para FENHEXA. Se nota que la intensidad del color (café), aumenta con el incremento de la concentración de

FENHEXA (A). Se observa un desplazamiento batocrómico de 178 nm. Con la técnica UV-Vis (B), se consiguen valores de LOD y LOQ de 193 y 584 ppm, respectivamente. Con la técnica RGB (C), se alcanzan valores de 49 y 150 ppm.

La Figura 3.23, presenta los resultados obtenidos para 1,8-DHAQ. Se aprecia, que al igual que en los casos anteriores, la intensidad del color (morado) se incrementa con el aumento de la concentración de 1,8-DHAQ (A). En este caso se logra el mayor de los desplazamientos batocrómicos, 235 nm. Los valores obtenidos para LOD y LOQ por UV-Vis (B), corresponden a 276 y 836 ppb, respectivamente. Por RGB (componente R), se consiguen valores de LOD y LOQ de 1.84 y 5.59 ppm.

Es importante anotar que para obtener buenos resultados colorimétricos (intensidades más altas) con FENHEXA y 1,8-DHAQ, se requieren concentraciones de 0.25 mol% de 4-VA en el sensor polimérico (P₂), alcanzándose valores de LOD y LOQ, por UV-Vis y RGB, del orden de ppm (con excepción de la 1,8-DHAQ, que muestra valores de LOD del orden de ppb por UV-Vis). Cuando se adiciona un 0.05 mol% de 4-VA, el color que se forma es demasiado tenue, lo que dificulta la identificación visual.

Los valores de LOD y LOQ de todos los fenoles estudiados se resumen en la Tabla 3.3. En esta también se detallan los rangos de concentración molar utilizados. Se observa que al usar P₁, se alcanzan valores de LOD y LOQ bastante bajos, del orden de las partes por billón (ppb), tanto por UV-Vis como por RGB de color digital. Por UV-Vis, los valores más altos se obtienen con 2,4-DMF (LOD = 151 ppb y LOQ = 457 ppb), mientras que los más bajos con 1-NAF (LOD = 121 ppb y LOQ = 369 ppb). Así mismo, por RGB, los valores más altos se logran con 2,4-DMF (LOD = 300 ppb y LOQ = 910 ppb), y los más bajos con 3-MF (LOD = 27 ppb y LOQ = 82 ppb).

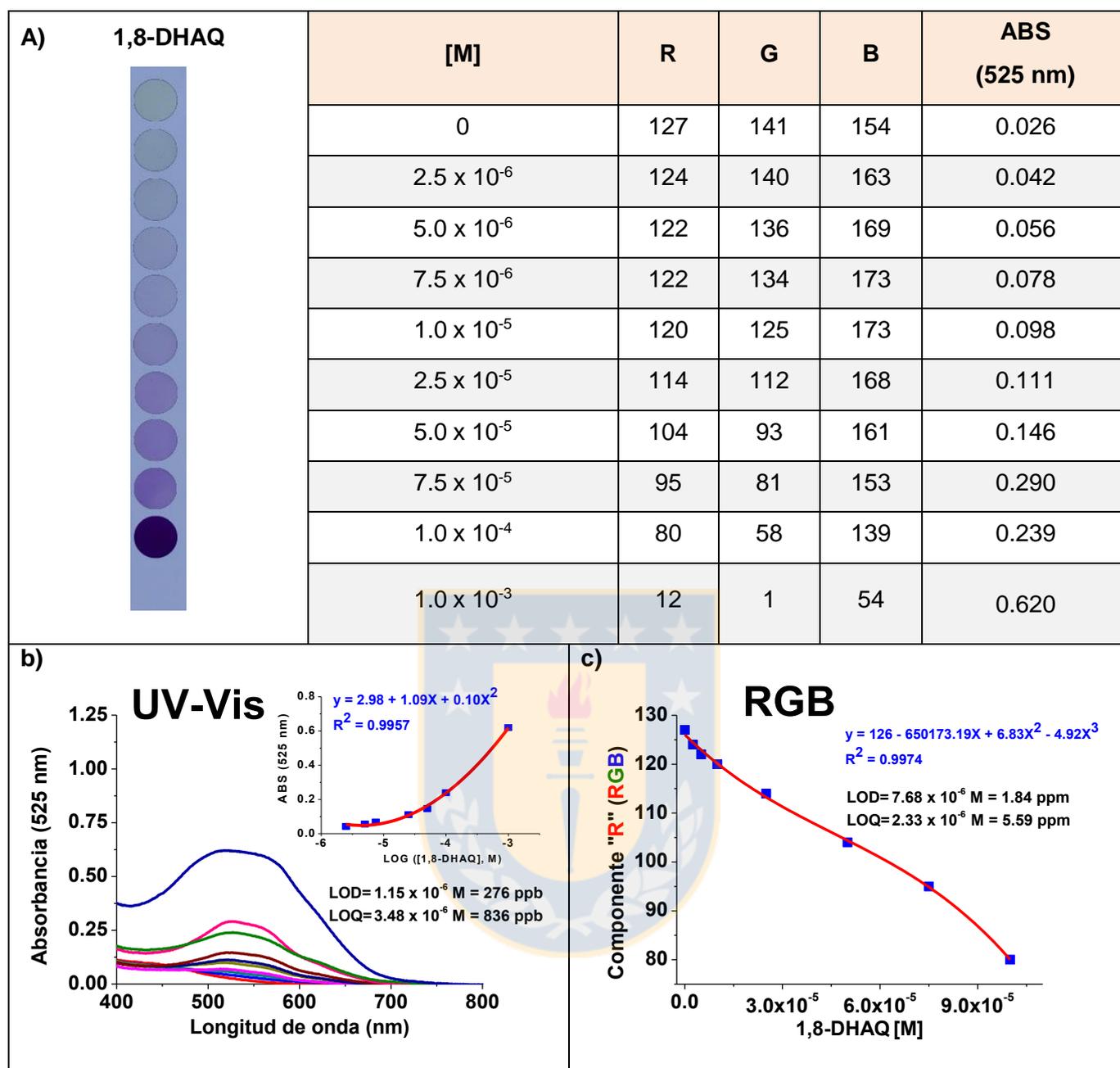


Figura 3.23. A) Fotografía digital de la reacción de P_2 con 1,8-DHAQ en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-3} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 525 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "R", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

Siguiendo este mismo orden de ideas, se nota que al usar P_2 , se alcanzan valores de LOD y LOQ que oscilan entre las partes por billón y partes por millón, a través de las dos técnicas mencionadas. Por UV-Vis, los valores más altos se obtienen con FENHEXA (LOD = 193 ppm y LOQ = 584 ppm), mientras que los

más bajos con 1,8-DHAQ (LOD = 276 ppb y LOQ = 836 ppb). Por RGB los valores más altos se logran con FENHEXA (LOD = 49 ppm y LOQ = 150 ppm), y los más bajos con 4-CIF (LOD = 782 ppb y LOQ = 2.37 ppm).

Tabla 3.3. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de los fenoles estudiados, al usar las películas poliméricas P₁ y P₂. Rango de concentración molar utilizado.

Fenol de estudio	Película polimérica	Rango [M]	UV-Vis		RGB	
			LOD (ppb)	LOQ (ppb)	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
3-MF	P ₁	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-2}$	135	408	27	82
1-NAF	P ₁	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-2}$	121	369	181	547
2-FF	P ₁	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-2}$	133	402	207	627
2,4-DMF	P ₁	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-2}$	151	457	300	910
4-CIF	P ₂	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-2}$	326	987	782	2.37*
FENHEXA	P ₂	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$	193*	584*	49*	150*
1,8-DHAQ	P ₂	$2.5 \times 10^{-6} - 1.0 \times 10^{-3}$	276	836	1.84*	5.59*

*Concentración = (ppm) P₁ = 0.05 mol% de 4-VA P₂ = 0.25 mol% de 4-VA

Conclusiones.

- Se sintetizó un sensor polimérico cromogénico por copolimerización radicalaria que presenta una relación hidrofilia/hidrofobia óptima para el reconocimiento colorimétrico de fenoles nocivos.
- A través de reacciones de acoplamiento diazoico y mediante el empleo de 0.05 y 0.25 mol% de 4-VA en el sensor polimérico, es posible la detección colorimétrica de bajas concentraciones de fenoles nocivos en medio acuoso, con un límite de detección, por UV-Vis, de 121 ppb.
- Dado que se alcanzan temperaturas de degradación altas, el material polimérico tiene excelentes propiedades térmicas para ser usado como sensor, teniendo en cuenta que los ensayos colorimétricos se realizan a temperatura ambiente.
- Puesto que en el análisis calorimétrico el sensor copolimérico solo presenta temperatura de transición vítrea (T_g), indica que se trata de un copolímero amorfo.
- El comportamiento mecánico mostrado por el sensor polimérico, lo clasifica como un plástico semirrígido, puesto que presentan una moderada resistencia a la deformación.

Perspectivas.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la presente tesis, algunos aspectos que pueden ser estudiados en futuras investigaciones son:

- Evaluar la interferencia, en la detección colorimétrica, de otros compuestos que también posean anillos aromáticos activados, tales como aminas aromáticas secundarias y terciarias, con el fin de verificar la selectividad del sensor polimérico sintetizado.
- Determinar la composición de monómeros en la matriz polimérica sensora, una vez ocurrida la polimerización, con el propósito de saber las cantidades exactas que hay de cada uno de ellos. Con esto se tendrían las concentraciones reales de 4-vinilanilina, implicadas en la detección colorimétrica.
- Ensayar otros sistemas copoliméricos tales como metacrilato de 2-hidroxietilo (componente hidrofílico), metacrilato de 2-etoxietilo (componente hidrofóbico) y 4-vinilanilina (4-VA, molécula sensora) con el fin de comparar propiedades hidrofílicas y colorimétricas en el reconocimiento de los fenoles ensayados.
- Realizar pruebas de detección colorimétrica con una muestra real, proveniente de una fuente hídrica que se sospeche que esté contaminada con algunos de los plaguicidas fenólicos estudiados, con el propósito de comprobar la efectividad del sensor polimérico sintetizado.

Referencias Bibliográficas.

1. Organización De Las Naciones Unidas Para La Alimentación Y La Agricultura (FAO). *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas*. 1–35 (2006). Available at: <http://www.fao.org/3/a-a0220s.pdf>. (Accessed: 10th January 2018).
2. Fernández, Nancy; Pujol, Ercilia; Maher, E. Los Plaguicidas Aquí Y Ahora. *Escritura en Ciencias* 1–121 (2012). Available at: <http://repositorio.educacion.gov.ar/dspace/bitstream/handle/123456789/110363/01plaguicidas.pdf?sequence=1>. (Accessed: 10th January 2018).
3. Soissa, H., Molinos, S., Maige, W. & Gonzalez, A. Prevención de Riesgos en el Uso de Plaguicidas. *Asociación Chilena de Seguridad* 1–48 (2005) Available at: <http://www.sigweb.cl/wp-content/uploads/biblioteca/ManualPlagicidas.pdf>. (Accessed: 10th January 2018).
4. Martínez-Valenzuela, C. & Gómez-Arroyo, S. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **23**, 185–200 (2007).
5. Copplestone, J. F. The development of the WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard. *Bull. World Health Organ.* **66**, 545 (1988).
6. Benítez, R. Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: un estado del arte. *Trab. Ambient.* **1**, 1–97 (2012).
7. Michałowicz, J. & Duda, W. Phenols-Sources and Toxicity. *Polish J. Environ. Stud.* **16**, (2007).
8. Zain, S. M. & Ng, S. W. 1, 8-Dihydroxyanthraquinone. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **61**, o2921–o2923 (2005).
9. Michałowicz, J. & Duda, R. O. W. Analysis of chlorophenols, chlorocatechols, chlorinated methoxyphenols and monoterpenes in communal sewage of Iodz and in the Ner river in 1999-2000. *Water, Air,*

Soil Pollut. **164**, 205–222 (2005).

10. Zhao, L. & Lee, H. K. Determination of phenols in water using liquid phase microextraction with back extraction combined with high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **931**, 95–105 (2001).
11. Tayama, S., Kamiya, N. & Nakagawa, Y. Genotoxic effects of o-phenylphenol metabolites in CHO-K1 cells. *Mutat. Res. Toxicol.* **223**, 23–33 (1989).
12. Teng, Y. *et al.* Endocrine disruptors fludioxonil and fenhexamid stimulate miR-21 expression in breast cancer cells. *Toxicol. Sci.* **131**, 71–83 (2012).
13. Islam, F. *et al.* Potential impact of the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environ. Int.* (2017).
14. Iglesias, A. *et al.* Adsorption of MCPA on goethite and humic acid-coated goethite. *Chemosphere* **78**, 1403–1408 (2010).
15. Brillas, E., Calpe, J. C. & Casado, J. Mineralization of 2, 4-D by advanced electrochemical oxidation processes. *Water Res.* **34**, 2253–2262 (2000).
16. Rahemi, V., Garrido, J., Borges, F., Brett, C. M. A. & Garrido, E. Electrochemical sensor for simultaneous determination of herbicide MCPA and its metabolite 4-chloro-2-methylphenol. Application to photodegradation environmental monitoring. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 4491–4499 (2015).
17. Maggio, R. M., Damiani, P. C. & Olivieri, A. C. Four-way kinetic-excitation-emission fluorescence data processed by multi-way algorithms. Determination of carbaryl and 1-naphthol in water samples in the presence of fluorescent interferents. *Anal. Chim. Acta* **677**, 97–107 (2010).
18. Roche, P., Tondelier, C. & Benanou, D. Influence of NOM chlorination on halophenols: appearance and control on a water treatment plant. (2009).

-
19. Lampi, M. A. *et al.* Photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*: Ultraviolet-mediated effects and the toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon photoproducts. *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 1079–1087 (2006).
 20. Lin, L.-C., Nalawade, S. M., Mulabagal, V., Yeh, M.-S. & Tsay, H.-S. Micropropagation of *Polygonum multiflorum* Thunb and quantitative analysis of the anthraquinones emodin and physcion formed in in vitro propagated shoots and plants. *Biol. Pharm. Bull.* **26**, 1467–1471 (2003).
 21. Fuchs, G., Boll, M. & Heider, J. Microbial degradation of aromatic compounds—from one strategy to four. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 803–816 (2011).
 22. Hoekstra, E. J., De Weerd, H., De Leer, E. W. B. & Brinkman, U. A. T. Natural formation of chlorinated phenols, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans in soil of a Douglas fir forest. *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2543–2549 (1999).
 23. Montaña, M., Gutleb, A. C. & Murk, A. J. Persistent toxic burdens of halogenated phenolic compounds in humans and wildlife. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 6071–6081 (2013).
 24. Alshehri, S. M., Naushad, M., Ahamad, T., Alothman, Z. A. & Aldalbahi, A. Synthesis, characterization of curcumin based ecofriendly antimicrobial bio-adsorbent for the removal of phenol from aqueous medium. *Chem. Eng. J.* **254**, 181–189 (2014).
 25. Galvín, R. M. *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas.* (Ediciones Díaz de Santos, 2003).
 26. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. *Resúmenes de Salud Pública - Fenol 1–9* (2008). Available at: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs115.html. (Accessed: 22nd March 2018).
 27. Orta Arrazcaeta, L. Contaminación de las aguas por plaguicidas

-
- químicos. *Fitosanidad* **6**, (2002).
28. Niño Barrero, Y. F. Determinación del nivel de exposición a plaguicidas por consumo de agua de pozo y la relación con los posibles efectos en la salud de la población residente en la Vereda Chorrillos del sector rural de Suba. (Universidad Nacional de Colombia, 2010).
29. Ongley, E. D. *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos*. (Food & Agriculture Org., 1997).
30. GALLEX. *AgBIOChem* 1–2 Available at:
[http://www.kellysolutions.com/erenewals/documentsubmit/KellyData/NC/pesticide/Product Label/40230/40230-2/40230-2_GALLEX_12_11_2013_2_07_22_PM.pdf](http://www.kellysolutions.com/erenewals/documentsubmit/KellyData/NC/pesticide/Product%20Label/40230/40230-2/40230-2_GALLEX_12_11_2013_2_07_22_PM.pdf). (Accessed: 16th February 2017).
31. Ministerio de Agricultura y Pesca, A. y M. A. (España). Resolución de la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *DECCO-OPP* 1–4 (2009). Available at:
<http://www.mapama.gob.es/agricultura/pags/fitos/registro/productos/pdf/24751.pdf>. (Accessed: 15th January 2018).
32. Bayer CropScience AG. TELDOR 50% WP. *Fungicida mojable* (2006). Available at:
http://www.cropscience.bayer.cl/upfiles/etiquetas/teldor_50_wp_05-05-2006.pdf? (Accessed: 15th January 2018).
33. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database*; *CID=7771* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7771>. (Accessed: 16th February 2017).
34. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database*; *CID=342* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/342>. (Accessed: 16th February 2017).
35. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound*

-
- Database; CID=7017* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7017>. (Accessed: 16th February 2017).
36. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database; CID=213031* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/213031>. (Accessed: 16th February 2017).
37. Anasac Chile S.A. *CARBARYL 85 WP (SAG 1498)* Available at:
<http://www.anasac.cl/agropecuario/wp-content/uploads/Etiqueta-04-Carbaryl-85-WP.pdf>. (Accessed: 16th January 2018).
38. Neumeister, L. RIESGOS DEL HERBICIDA 2,4 – D. *Pesticides Action Network* 1–31 (2014). Available at:
<http://www.rapaluruquay.org/agrotoxicos/Prensa/Riesgos-del-herbicida-2,4D.pdf>. (Accessed: 16th January 2018).
39. Servicio Agrícola y Ganadero. *REGALIA MAXX (SAG 2869)* (2016). Available at:
http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/etiqueta_regalia_maxx_02.11.2016.pdf. (Accessed: 16th January 2018).
40. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database; CID=7005* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7005#section=Top>. (Accessed: 16th January 2018).
41. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database; CID=4684* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4684#section=Top>. (Accessed: 16th January 2018).
42. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database; CID=2950* Available at:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2950#section=Top>. (Accessed: 16th January 2018).

-
43. EcuRed. *Modelo RGB* Available at: https://www.ecured.cu/Modelo_RGB. (Accessed: 17th January 2018).
44. Natural D+I - Desarrollo Infantil. *Fototerapia Syntonic: el poder de la Luz* Available at: <http://www.desarrolloinfantil.es/optometria-comportamental/vision-y-aprendizaje/fototerapia-syntonic-el-poder-de-la-luz/>. (Accessed: 12th April 2018).
45. Skoog, D.A., Leary, J.J. & Holler, F.J. *Principios de Análisis Instrumental*. (McGraw-Hill, 1998).
46. Mind42. *Tema 8. La energía, Las Fuerzas y Los Cambios - Color* Available at: <https://mind42.com/mindmap/2c5ae560-89fe-4dd0-b444-d768750f78e9?rel=gallery>. (Accessed: 12th April 2018).
47. Yurkanis, P. *Química orgánica*. (Pearson-Prentice Hall, 2008).
48. Página Web del Departamento de Física Aplicada de la Universidad de Córdoba (rabfis15). *Teoría De Los Orbitales Moleculares* Available at: http://rabfis15.uco.es/weiqo/Tutorial_weiqo/Hoja8P1.html. (Accessed: 12th April 2018).
49. Bell, T. W. & Hext, N. M. Supramolecular optical chemosensors for organic analytes. *Chem. Soc. Rev.* **33**, 589–598 (2004).
50. Hahm, J. Functional polymers in protein detection platforms: Optical, electrochemical, electrical, mass-sensitive, and magnetic biosensors. *Sensors* **11**, 3327–3355 (2011).
51. Moragues, M. E., Martínez-Máñez, R. & Sancenón, F. Chromogenic and fluorogenic chemosensors and reagents for anions. A comprehensive review of the year 2009. *Chem. Soc. Rev.* **40**, 2593–2643 (2011).
52. Zollinger, H. *Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments*. (John Wiley & Sons, 2003).
53. Yadav, M. K., Sharma, B. & Sharma, G. Perturbation of absorption spectra properties of 4, 5-Dimethyl-2-nitro aniline by polar, non-polar solvents and substituents. *Der. Pharma. Chem.* **3**, 59–65 (2011).

-
54. Al-Rubaie, L. & Mhessn, R. J. Synthesis and characterization of azo dye para red and new derivatives. *J. Chem.* **9**, 465–470 (2012).
55. Martinez-Manez, R. & Sancenón, F. Fluorogenic and chromogenic chemosensors and reagents for anions. *Chem. Rev.* **103**, 4419–4476 (2003).
56. Bowman-James, K. Alfred Werner revisited: the coordination chemistry of anions. *Acc. Chem. Res.* **38**, 671–678 (2005).
57. Kato, R., Nishizawa, S., Hayashita, T. & Teramae, N. A thiourea-based chromoionophore for selective binding and sensing of acetate. *Tetrahedron Lett.* **42**, 5053–5056 (2001).
58. Basurto, S. *et al.* New chromogenic probes into nanoscopic pockets in enhanced sensing protocols for amines in aqueous environments. *Org. Lett.* **7**, 5469–5472 (2005).
59. Jiménez, D. *et al.* A new chromo-chemodosimeter selective for sulfide anion. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 9000–9001 (2003).
60. Yang, X.-F., Wang, L., Xu, H. & Zhao, M. A fluorescein-based fluorogenic and chromogenic chemodosimeter for the sensitive detection of sulfide anion in aqueous solution. *Anal. Chim. Acta* **631**, 91–95 (2009).
61. Negrulescu, A., Patrulea, V., Mincea, M., Moraru, C. & Ostafe, V. The adsorption of tartrazine, congo red and methyl orange on chitosan beads. *Dig. J. Nanomater. Biostructures* **9**, 45–52 (2014).
62. Wade, L. G. *Química Orgánica*. (Pearson Prentice Hall, 2004).
63. Zhang, D. *et al.* Highly selective colorimetric sensor for cysteine and homocysteine based on azo derivatives. *Tetrahedron Lett.* **47**, 7093–7096 (2006).
64. Park, S., Hong, K.-H., Hong, J.-I. & Kim, H.-J. Azo dye-based latent colorimetric chemodosimeter for the selective detection of cyanides in aqueous buffer. *Sensors Actuators B Chem.* **174**, 140–144 (2012).

-
65. Martinelli, M., Froimowicz, P., Calderón, M. & Strumia, M. MATERIALES POLIMÉRICOS FUNCIONALIZADOS. *Rev. Iberoam. Polímeros* **4**, 30–47 (2003).
66. Chen, H., Yuan, L., Song, W., Wu, Z. & Li, D. Biocompatible polymer materials: role of protein--surface interactions. *Prog. Polym. Sci.* **33**, 1059–1087 (2008).
67. Kunzelman, J., Crenshaw, B. R., Kinami, M. & Weder, C. Self-Assembly and Dispersion of Chromogenic Molecules: A Versatile and General Approach for Self-Assessing Polymers. *Macromol. Rapid Commun.* **27**, 1981–1987 (2006).
68. Thoelen, R. *et al.* A MIP-based impedimetric sensor for the detection of low-MW molecules. *Biosens. Bioelectron.* **23**, 913–918 (2008).
69. San José Pascual, N. & others. Síntesis de polímeros que incorporan sistemas receptores de aniones: estudio de sus aplicaciones como dosímetros y sensores. (Universidad de Burgos, 2007).
70. Pablos, J. L., Vallejos, S. & Muñoz, A. Solid Polymer Substrates and Coated Fibers Containing 2, 4, 6-Trinitrobenzene Motifs as Smart Labels for the Visual Detection of Biogenic Amine Vapors. *Chem. Eur. J.* **21**, 8733–8736 (2015).
71. Vallejos, S. *et al.* Solid sensory polymer substrates for the quantification of iron in blood, wine and water by a scalable RGB technique. *J. Mater. Chem. A* **1**, 15435–15441 (2013).
72. Badii, M. H. & Varela, S. Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *CULCyT* (2015).
73. Hernández, A. F. *et al.* Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology* **307**, 136–145 (2013).
74. Tomasulo, M. & Raymo, F. M. Colorimetric detection of cyanide with a chromogenic oxazine. *Org. Lett.* **7**, 4633–4636 (2005).
75. Dix, J. P. & Vögtle, F. Ion-Selective Crown Ether Dyes. *Angew. Chemie*

Int. Ed. English **17**, 857–859 (1978).

76. Mohr, G. J., Wenzel, M., Lehmann, F. & Czerney, P. A chromoreactand for optical sensing of amphetamines. *Anal. Bioanal. Chem.* **374**, 399–402 (2002).
77. Ródenas-Torralba, E., Morales-Rubio, Á. & De La Guardia, M. Determination of phenols in waters using micro-pumped multicommutation and spectrophotometric detection: an automated alternative to the standard procedure. *Anal. Bioanal. Chem.* **383**, 138–144 (2005).
78. Goulden, P. D., Brooksbank, P. & Day, M. B. Determination of submicrogram levels of phenol in water. *Anal. Chem.* **45**, 2430–2433 (1973).
79. Bosch, F., Font, G. & Mañes, J. Ultraviolet spectrophotometric determination of phenols in natural and waste waters with iodine monobromide. *Analyst* **112**, 1335–1337 (1987).
80. Koch, S., Ackermann, G. & Lindner, P. Application of redox reactions in spectrophotometry—II Detection and spectrophotometric determination of phenolic compounds with the iron (III)/1, 10-phenanthroline complex. *Talanta* **39**, 693–696 (1992).
81. Rama, M. J. R., Medina, A. R. & Diaz, A. M. A simple and straightforward procedure for monitoring phenol compounds in waters by using UV solid phase transduction integrated in a continuous flow system. *Microchim. Acta* **141**, 143–148 (2003).
82. Christophersen, M. J. & Cardwell, T. J. Determination of total phenols in waters and wastewaters using flow injection with electrochemical detection; an alternative to the standard colorimetric procedure. *Anal. Chim. Acta* **323**, 39–46 (1996).
83. Ros-Lis, J. V *et al.* Signalling Mechanisms in Anion-Responsive Push-Pull Chromophores: The Hydrogen-Bonding, Deprotonation and Anion-Exchange Chemistry of Functionalized Azo Dyes. *European J. Org.*

-
- Chem.* 2449–2458 (2007).
84. Gung, B. W. & Taylor, R. T. Parallel combinatorial synthesis of azo dyes: A combinatorial experiment suitable for undergraduate laboratories. *J. Chem. Educ* **81**, 1630 (2004).
85. Han, X., Pienpinijtham, P., Zhao, B. & Ozaki, Y. Coupling reaction-based ultrasensitive detection of phenolic estrogens using surface-enhanced resonance Raman scattering. *Anal. Chem.* **83**, 8582–8588 (2011).
86. Mkpenie, V., Ebong, G., Obot, I. B. & Abasiokong, B. Evaluation of the effect of azo group on the biological activity of 1-(4-methylphenylazo)-2-naphthol. *J. Chem.* **5**, 431–434 (2008).
87. Waring, D. R. & Hallas, G. *The Chemistry and Application of Dyes*. (Springer Science & Business Media, 2013).
88. DeTar, D. F. & Ballentine, A. R. The Mechanisms of Diazonium Salt Reactions. II. A Redetermination of the Rates of the Thermal Decomposition of Six Diazonium Salts in Aqueous Solution¹. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 3916–3920 (1956).
89. Karabiyik, H., Iskeleli, N. O., Albayrak, C. & Agar, E. Conformational analysis and crystal structure of (E)-3-methyl-4-(p-tolyldiazenyl) phenol. *Struct. Chem.* **18**, 87–93 (2007).
90. W. D. Callister and D. G. Rethwisch. *Materials science and engineering*. (John Wiley & Sons, Inc., 2011).
91. Singh, S. *et al.* Development and validation of a RP-HPLC method for estimation of prulifloxacin in tablet dosage form. *Indian J. Pharm. Sci.* **73**, 577 (2011).
92. Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. & Bryce, D. L. *Spectrometric identification of organic compounds*. (John Wiley & Sons, 2014).
93. SCHARPF, S. C. Estudio experimental de tintura de tejidos sintéticos para la preparación de muestras de referencia. (Universidad Politécnica

-
- de Valencia, 2015).
94. Cetisli, H., Karakus, M., Erdem, E. & Deligöz, H. Synthesis, metal complexation and spectroscopic characterization of three new azo compounds. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **42**, 187–191 (2002).
 95. Rosalyn, P. D. S., Senthil, S., Kannan, P., Vinitha, G. & Ramalingam, A. Investigation on substituent effect in novel azo-naphthol dyes containing polymethacrylates for nonlinear optical studies. *J. Phys. Chem. Solids* **68**, 1812–1820 (2007).
 96. Zaporotskova, I. V & Shinkarev, R. V. Superfine drug-eluting polyvinylpyrrolidone based coating for biliary stents. *Comput. Model. NEW Technol.* **19**, 23–28 (2015).
 97. Saxena, R., Singh, A. K. & Sambi, S. S. Synthesis of a chelating polymer matrix by immobilizing Alizarin Red-S on Amberlite XAD-2 and its application to the preconcentration of lead (II), cadmium (II), zinc (II) and nickel (II). *Anal. Chim. Acta* **295**, 199–204 (1994).
 98. Zhang, Y. *et al.* Photochromism and holographic recording in polymer film containing chiral azo molecules derived from amino acid. *Opt. Mater. (Amst)*. **22**, 187–192 (2003).
 99. Kalogeras, I. M. in *Encyclopedia of Polymer Blends*: (ed. Avraam I. Isayev) 1–134 (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016).
 100. Odian, G. *Principles of polymerization*. (John Wiley & Sons, 2004).
 101. Beltrán, M. I. & others. Tema 1. Estructura y propiedades de los polímeros. *Tecnol. los Polímeros* (2011).
 102. Van der Schueren, L. & De Clerck, K. The use of pH-indicator dyes for pH-sensitive textile materials. *Text. Res. J.* **80**, 590–603 (2010).
 103. Refat, M. S., Sadeek, S. A. & Khater, H. M. Electronic, infrared, and ¹HNMR spectral studies of the novel charge-transfer complexes of o-tolidine and p-toluidine with alternation pi-acceptors (3, 5-dinitro benzoic acid and 2, 6-dichloroquinone-4-chloroimide) in CHCl₃ solvent.

Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. **64**, 778–788 (2006).

104. Augugliaro, V. *et al.* Photodegradation kinetics of aniline, 4-ethylaniline, and 4-chloroaniline in aqueous suspension of polycrystalline titanium dioxide. *Res. Chem. Intermed.* **26**, 413–426 (2000).
105. Thomas, O. & Burgess, C. *UV-visible spectrophotometry of water and wastewater.* (Elsevier, 2017).



Anexos.

Anexo A: Espectros FT-IR de azoderivados fenólicos sintetizados en P₅.

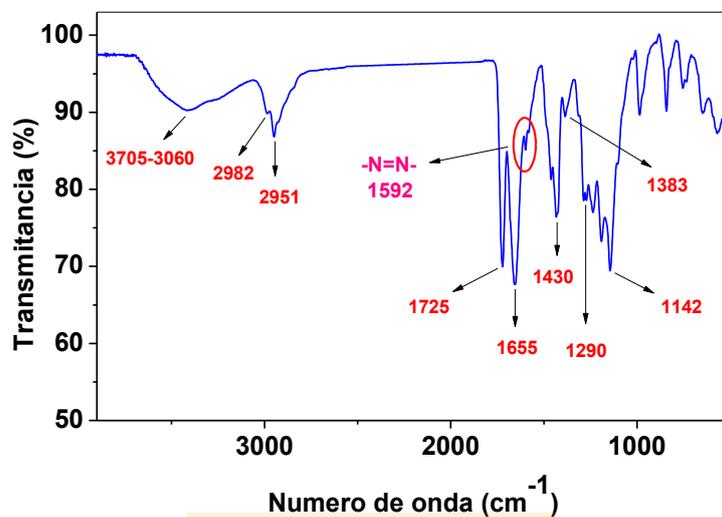


Figura A.1. Espectro IR de P_{5A} (Azo 3-MF). Fuente: elaboración propia

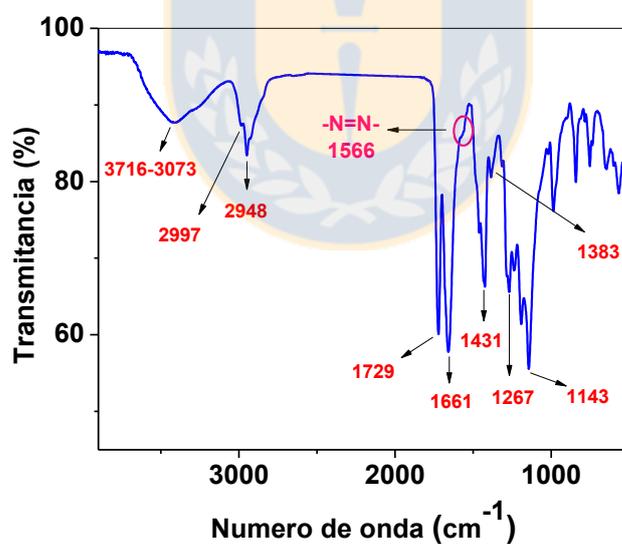


Figura A.2. Espectro IR de P_{5C} (Azo 2,4-DMF). Fuente: elaboración propia

Anexo B: Curvas de calibración colorimétricas, UV-Vis y RGB de color digital de fenoles de estudio. Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ).

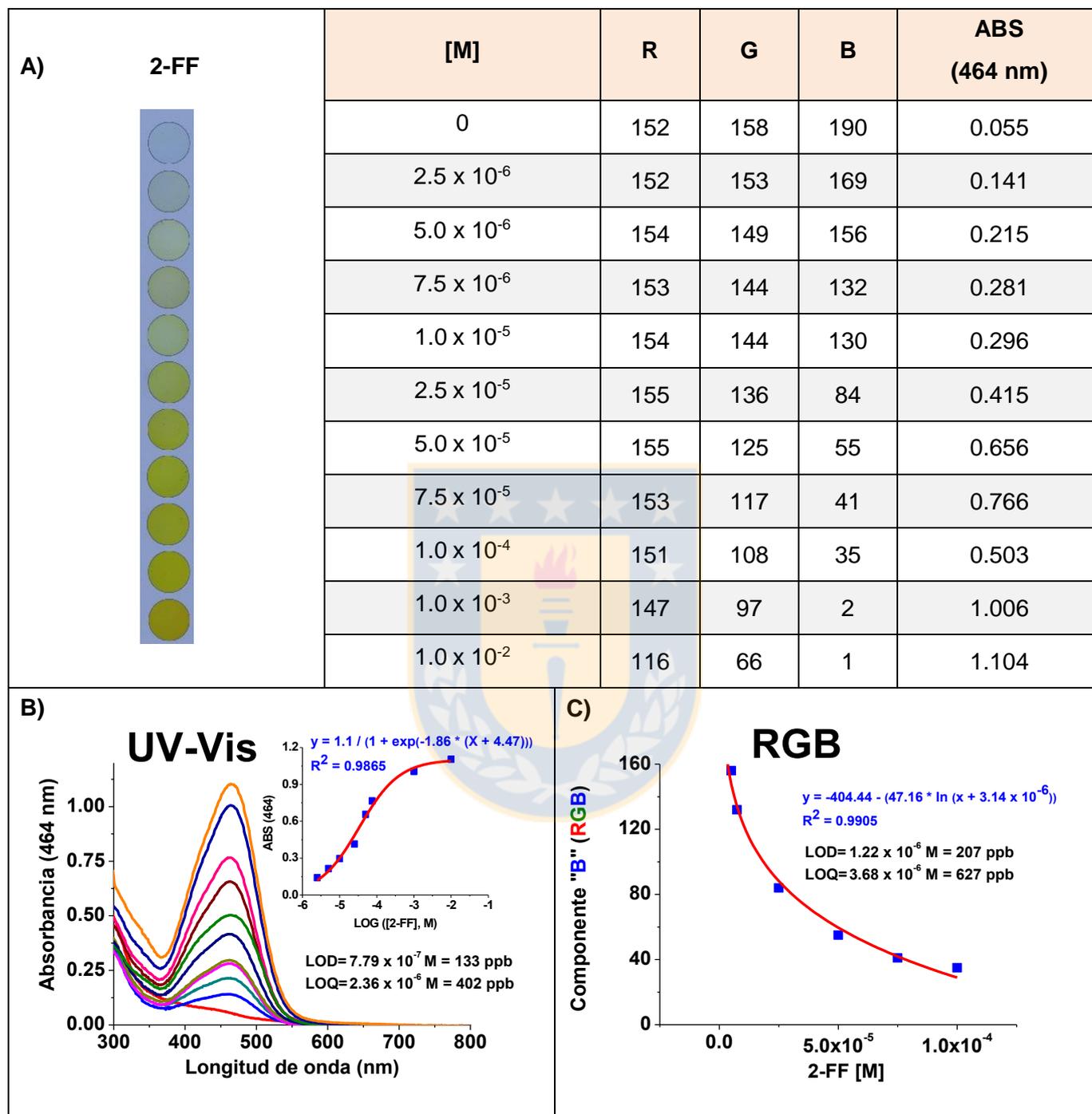


Figura B.1. **A)** Fotografía digital de la reacción de P₁ con 2-FF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 464 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

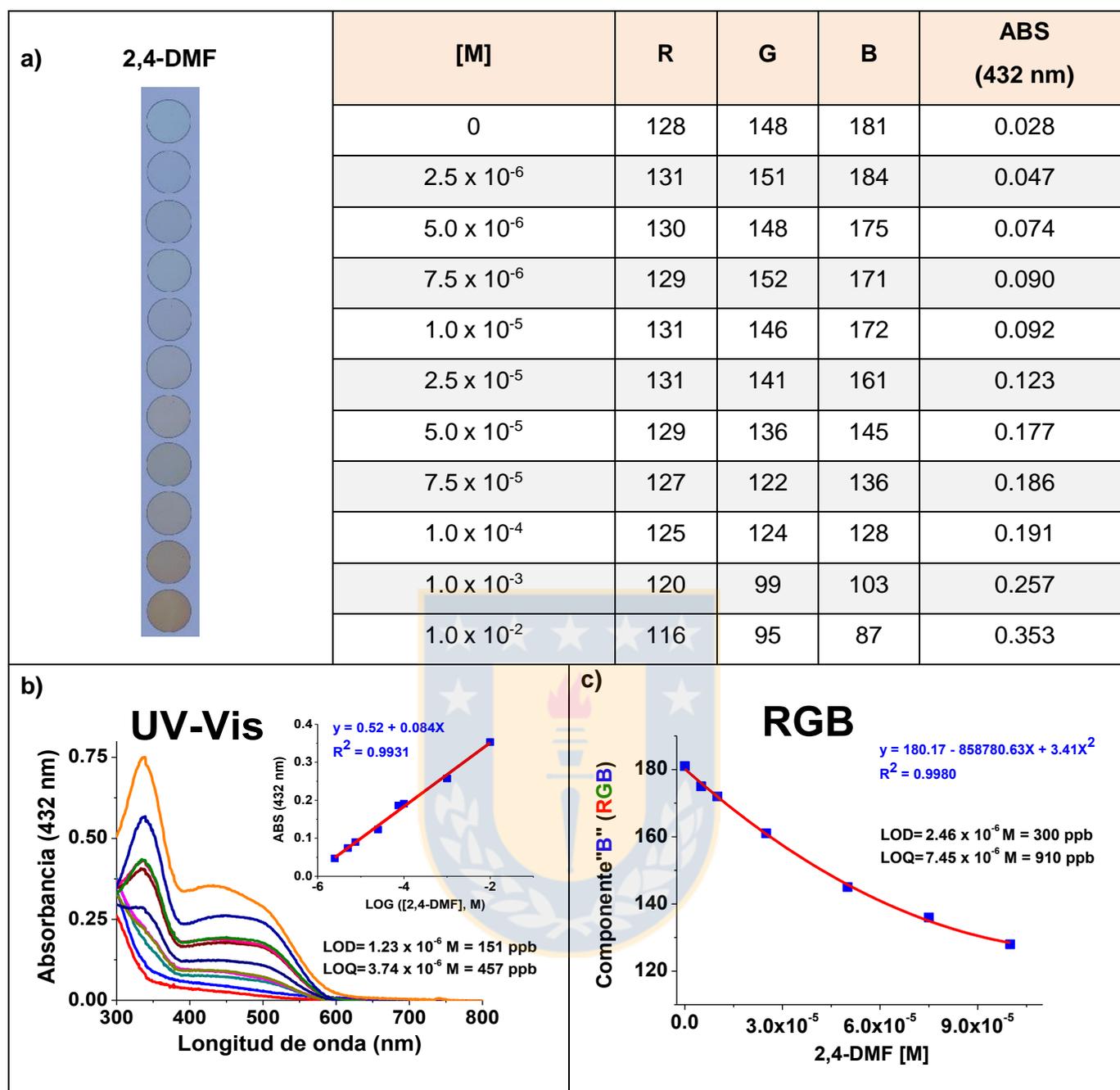


Figura B.2. A) Fotografía digital de la reacción de P_1 con 2,4-DMF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 432 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "R", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.

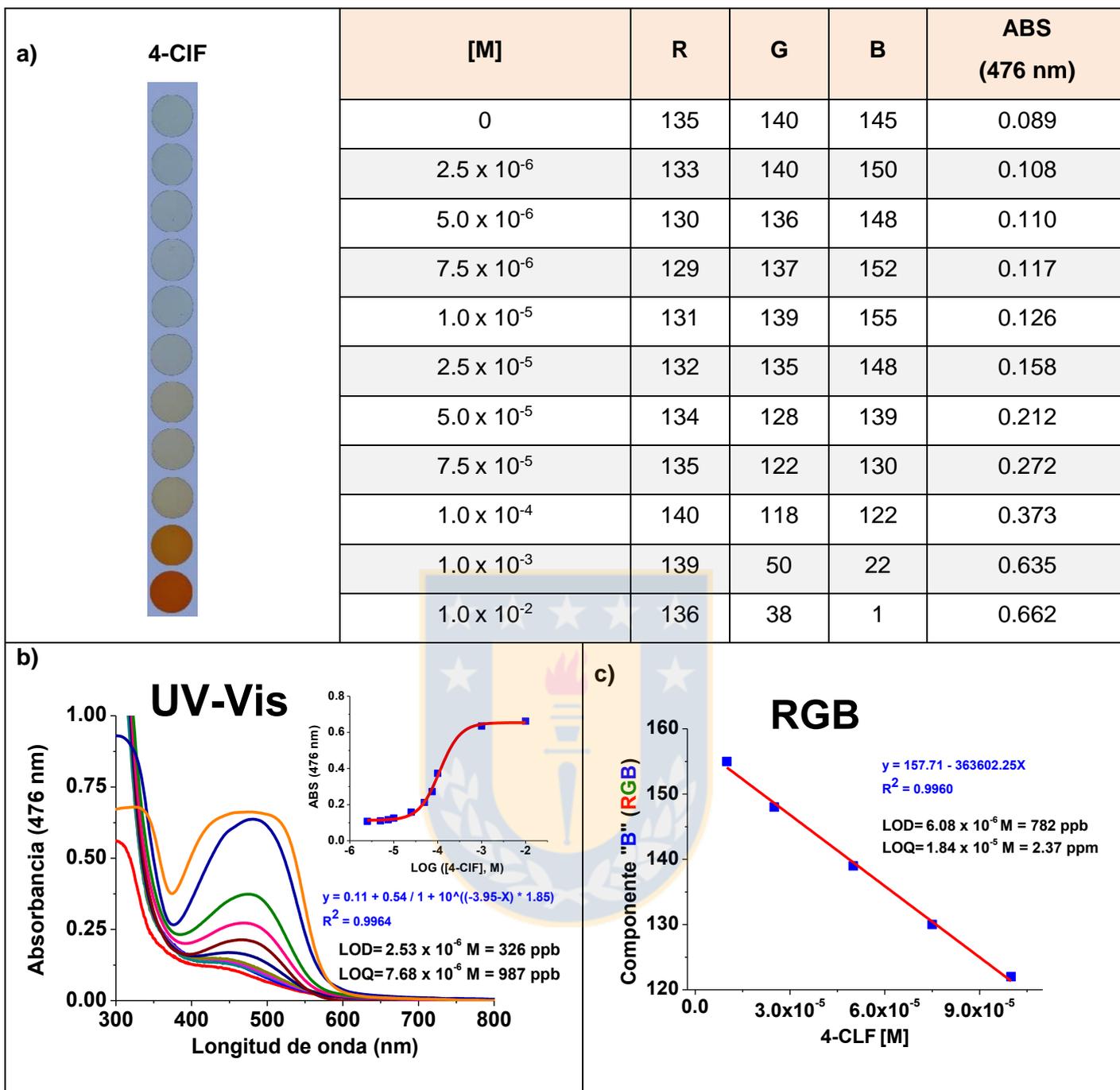


Figura B.3. A) Fotografía digital de la reacción de P_2 con 4-CLF en el rango de 2.5×10^{-6} - 1.0×10^{-2} M, datos de parámetros RGB y absorbancias. **B)** Espectros y curva de calibración UV-Vis a 476 nm, valores de LOD y LOQ. **C)** Curva de calibración RGB en relación a la componente "B", valores de LOD y LOQ. Fuente: elaboración propia.